

腊肠树种子休眠与解除的方法研究

杨鹭生, 李娟, 李国平* (武夷学院生态与资源工程学院, 福建武夷山 354300)

摘要 [目的]探讨腊肠树种子休眠与解除的方法。[方法]通过热水浸泡、机械脱种皮、设置不同 KNO_3 和 GA_3 溶液浓度, 分别对腊肠树种子进行处理, 探讨解除腊肠树种子休眠的方法。对种子周围的胶质以及包围种胚的种皮分别进行研磨、浸提, 测定其提取液对白菜种子发芽率的影响。[结果]95 °C 热水和机械脱种皮处理的腊肠树种子的发芽最好, 能有效解除种子休眠。而 KNO_3 和 GA_3 浸种对种子萌发和休眠解除没有明显效果。腊肠树果实中存在抑制种子萌发和使种胚处于休眠状态的抑制物。[结论]该研究可为进一步探讨腊肠树种子休眠机制提供参考。

关键词 种子休眠; 腊肠树; 破除休眠; 抑制物质; 白菜种子发芽测定

中图分类号 S722.1⁴ 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)06-0093-03

Study on the Methods of Seed Dormancy and Dissolution of *Cassia fistula* L.

YANG Lu-sheng, LI Juan, LI Guo-ping (School of Ecology and Resources Engineering, Wuyi University, Wuyishan, Fujian 354300)

Abstract [Objective] To study the methods of seed dormancy and dissolution of *Cassia fistula* L. [Method] The seeds of sausages were treated by hot water soaking, mechanical seed coating, potassium nitrate and gibberellin solution concentration respectively, so as to explore the way to relieve dormancy of *Cassia fistula* L. seeds. [Result] The results showed that the treatments of 95 °C hot water and removing seed capsule had significant effects on increasing seed germination. The treatments of KNO_3 and GA_3 were non significant for dormancy breaking. The germination inhibitor in seeds of *Cassia fistula* were determined through bioassay method. The bioassay indicated that methanol extracts from seed coat and the colloid outside seed had significant inhibition effects on cabbage seed germination. [Conclusion] The study can provide reference for further study the mechanism of *Cassia fistula* L. seed dormancy.

Key words Seed dormancy; *Cassia fistula* L.; Breaking dormancy; Inhibitor substance; Cabbage seed germination bioassay

种子休眠是指那些有生命力的种子受到某些外界条件或内在因素的影响, 使种子一时不能或难以发芽的一种自然现象^[1]。它也是种子植物为适应环境变化的一种重要特性, 可使种子在最合适的时候发芽^[2]。但种子的休眠特性则成为育苗的重要障碍, 尤其是那些具有生理休眠特性的种子, 需复杂或长时间的催芽过程方可萌发, 这给农林业生产造成一定程度的麻烦。对种子休眠的研究, 有助于阐明物种对于不可预知或多变环境的适应能力, 对了解物种的持续和种群繁殖更新具有重要意义。目前, 对于种子休眠特性的研究主要分2个要点^[3]: 第一, 休眠的形成及其机制。主要是研究种子在发育过程中怎样形成休眠及在其过程中有关的遗传与环境因子的相互作用。第二, 休眠的破除及其机制。如何有效解除种子休眠、各种休眠解除方法的作用机制、种子休眠的自然丧失及其各作用因子与机制等是研究重点。因此, 研究种子休眠特性, 对于长期贮存种子、科学有效地解除休眠都有重要意义。

腊肠树(*Cassia fistula*)是豆科决明属, 原产热带非洲, 在印度、缅甸和斯里兰卡也有分布^[4]。腊肠树为落叶乔木, 偶数羽状复叶, 总状花序下垂, 花冠黄色, 鲜艳, 夏季5—7月开花。荚果筒状长条形, 熟果呈黑褐色, 腊肠树因此得名。在我国南部和西南部各省区有栽培, 是优良的庭院树、行道树^[5]。花美果奇的腊肠树是一种美丽的庭园观赏树, 其各部分的功效相继被发现, 其价值逐渐被人们所认知^[6]。目前对

其的研究尚处于初级阶段。对其种子的休眠解除方法越来越受到人们的关注。为此, 该研究对腊肠树种子休眠解除方法进行探讨, 以期对腊肠树生产和育种工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 腊肠树种子, 于2010年7月15日采自莆田学院北区门口, 用小刀去除种子外胶质, 收集种子, 在室温下晾干, 保存于4 °C冰箱中。白菜种子, 购于莆田天九湾蔬菜种子店。

1.2 设备与试剂

1.2.1 主要设备和仪器。 恒温水浴锅(HH-S 1、上海跃进医疗器械厂)、研钵、烧杯(500、250 mL)、保鲜膜、培养皿($d = 12, 15 \text{ cm}$)、滤纸(11、14 cm)、玻璃棒、量筒(100、10 mL)、三角瓶、MDF-U4086S型超低温冰箱(日本三洋)、Sartorius BS224S电子天平(德国赛多利斯)。

1.2.2 主要试剂。 KNO_3 溶液、 GA_3 溶液、80% 甲醇溶液。

1.3 方法

1.3.1 破除休眠处理。

1.3.1.1 热水处理。 将3份50粒种子分别置于3个250 mL烧杯后, 分别添加60、80和95 °C热水置入盛有一定体积水的相应温度恒温水浴锅中, 轻轻抖动烧杯, 以确保所有种子均匀受热, 处理3 min后, 用于萌发, 测定其发芽率、发芽势, 以不做任何预处理的种子作为对照(CK)。

1.3.1.2 机械脱种皮处理。 取100粒腊肠树种子(预先经80 °C热水处理3 min), 用经消毒过的小刀小心地破损其种子, 以脱其种皮, 避免伤到其种胚, 再将其放入指定的培养皿中。以未脱种皮的腊肠树种子作为对照(CK)。再将该100粒种子(脱种皮和未脱种皮2类)分别放入含有消毒砂子的培养皿内, 加入清水进行培养, 测定发芽率和发芽势。

基金项目 福建省科技创新平台建设计划项目(2017N2005); 福建省科技厅战略性新兴产业重点项目(2014N0030); 国家级大学生创新创业训练计划(201610397006)。

作者简介 杨鹭生(1964—), 女, 福建莆田人, 高级实验师, 从事生物资源开发与利用研究。* 通讯作者, 教授, 从事植物种质资源与开发利用研究。

收稿日期 2017-11-29

1.3.1.3 KNO₃ 处理^[7]。设0.1%、0.3%、0.5% KNO₃ 处理,以蒸馏水作为对照(CK)。各处理随机选50粒腊肠树种子(腊肠树种子预先经80℃热水处理3 min),浸泡24 h后,进行萌发培养,测定发芽率和发芽势。

1.3.1.4 GA₃ 处理。设100、150、200、250 mg/L GA₃ 溶液处理,其他同“1.3.1.3”。

1.3.1.5 发芽条件与数据收集。以上各处理取腊肠树种子,放在含砂子的培养皿中,25℃光培养,第8天计算发芽势,第12天计算发芽率,种子的萌发以胚芽突破种皮0.5 cm为萌发标准。重复3次。

发芽势 = 第8天发芽种子数/种子总数 × 100%

发芽率 = 第12天发芽种子数/种子总数 × 100%

1.3.2 抑制物的生物测试法^[8]。

1.3.2.1 果实不同部分抑制物的提取。甲醇提取物:取数个幼嫩的腊肠树果实,将腊肠树果实进行处理,取其种子周围的胶质和包围种子的种皮2部分,分别研钵磨碎,再使用80%甲醇浸提,接着把试验材料分别放入三角瓶,用保鲜膜封口,置于5℃冰箱中浸提24 h,浸提液过滤,连续浸提3次,将3次浸提液合并;利用电热恒温水浴锅在35℃下待甲醇自然蒸发干净,稀释浸提液到20 mL;而后加入重蒸馏水稀释到1倍,作为浸提处理液A,另取5 mL A溶液,用100 mL量筒稀释5倍,作为B溶液,用于后续发芽测定。重复3次。

1.3.2.2 白菜种子发芽试验。白菜种子发芽测定随机选取3 × 100粒白菜种子,然后用蒸馏水在常温下浸泡6 h,接着置于培养皿($d = 12$ cm)中,培养皿中放置滤纸1张($d = 11$ cm),每皿添加5 mL待测液,发芽温度25℃,48 h后统计发芽率。以纯水测定白菜在同上条件下的发芽率为对照(CK)。重复3次。以胚根露出,种皮脱落为发芽标准。

2 结果与分析

2.1 热水处理对腊肠树种子发芽的影响 由表1可知,将水温从60℃升高到95℃,测定种子发芽率。当处理时间为3 min,水温达到95℃时,种子平均发芽率最高,达83.4%。这表明不同水温浸种处理后腊肠树种子的发芽率明显提高。

表1 热水处理对腊肠树种子发芽的影响

Table 1 Effect of hot water treatment on seed germination of *Cassia fistula* L.

处理 Treatment	发芽始 见天数 Number of days of germina- tion//d	发芽持 续天数 Duration of germina- tion//d	平均发 芽势 Average germinating potential %	平均发 芽率 Average germination rate//%
60℃	6	12	49.4	61.4
80℃	5	11	69.4	75.4
95℃	5	10	78.6	83.4
室温 Room tem- perature (CK)	7	12	22.0	32.6

2.2 机械脱种皮处理对腊肠树种子发芽的影响 由表2可知,脱种皮腊肠树种子处理的发芽势为78.6%,发芽率为

85.4%,与CK相比,发芽势上升了56.6个百分点,发芽率上升了52.8个百分点。

表2 机械脱种皮处理对腊肠树种子发芽的影响

Table 2 Effect of mechanical deseed treatment on seed germination of *Cassia fistula* L.

处理 Treatment	发芽始 见天数 Number of days of germina- tion//d	发芽持 续天数 Duration of germina- tion//d	平均发 芽势 Average germinating potential %	平均发 芽率 Average germination rate//%
脱种皮 Removal of seed coat	5	9	78.6	85.4
未脱种皮 Do not remove of seed coat(CK)	7	12	22.0	32.6

2.3 KNO₃ 处理对腊肠树种子发芽的影响 由表3可知,经80℃热水处理3 min后的腊肠树种子,再浸泡在不同浓度KNO₃ 溶液中24 h后,结果测出经0.3% KNO₃ 处理的腊肠树种子的发芽率最高为56.0%。与CK相比,可知不同浓度KNO₃ 处理对种子发芽率和发芽势均有一定的促进作用。

表3 KNO₃ 浓度对腊肠树种子发芽的影响

Table 3 Effect of KNO₃ concentration on seed germination of *Cassia fistula* L.

KNO ₃ 浓度 KNO ₃ concen- trotisn//%	发芽始 见天数 Number of days of germina- tion//d	发芽持 续天数 Duration of germina- tion//d	平均发 芽势 Average germinating potential %	平均发 芽率 Average germination rate//%
0.1	7	12	27.4	39.4
0.3	5	11	49.4	56.0
0.5	5	11	43.4	49.4
0(CK) Distilled water	7	12	22.0	32.6

2.4 GA₃ 处理对腊肠树种子发芽的影响 由表4可知,100~250 mg/L GA₃ 溶液浸泡种子24 h,种子的萌发天数和发芽持续天数略微变化,但与CK相比,GA₃ 浸种后种子发芽率和发芽势均有提高。不同浓度GA₃ 浸种均可以促进种子萌发,以200 mg/L GA₃ 浸种24 h处理效果较好,发芽率达到

表4 GA₃ 处理对腊肠树种子发芽的影响

Table 4 Effect of GA₃ concentration on seed germination of *Cassia fistula* L.

GA ₃ 浓度 GA ₃ concentra- tion//mg/L	发芽始 见天数 Number of days of germina- tion//d	发芽持 续天数 Duration of germina- tion//d	平均发 芽势 Average germinating potential %	平均发 芽率 Average germination rate//%
100	7	12	29.4	41.4
150	7	12	40.4	47.4
200	6	10	51.4	59.4
250	6	11	42.4	51.4
0(CK)	7	12	22.0	32.6

59.4%,表明 GA₃ 浸种对解除腊肠树种子的休眠有一定作用。

2.5 发芽抑制物对白菜种子萌发效果的影响 由表 5 可知,加入甲醇相浸提液白菜种子的发芽率低于 CK,可能是甲醇相浸提液中所含的抑制物可抑制白菜种子的发芽,降低白

菜种子发芽率。甲醇相浸提液在种子外胶质和种皮中,浓度越高则抑制程度越强。从以上分析得知,腊肠树种子周围的胶质以及包围种胚的种皮确实存在抑制种子萌发和使种胚处于休眠状态的抑制物,尤其是胶质层对腊肠树种子发芽率的影响程度较高。

表 5 腊肠树果实不同部分浸提液对白菜种子萌发的影响

Table 5 Effect of different extracts of fruit of *Cassia fistula* L. on the seed germination of Chinese Cabbage

处理 Treatment	浸提液 Extract	白菜种子发芽率 Seed germination rate of Chinese Cabbage//%			
		一号培养皿 No. 1 culture dish	二号培养皿 No. 2 culture dish	三号培养皿 No. 3 culture dish	平均值 Average
种子外胶质 Seed external colloid	A	0	0	0	0
	B	95	98	97	97
种皮 Seed coat	A	15	18	14	16
	B	95	97	96	96
	0(CK)	97	98	98	98

3 讨论

该试验通过不同温度热水处理腊肠树种子 3 min,结果表明,高温热水对其种子萌发的影响明显,特别是在 95 °C 时,其发芽率达到最高,表明高温在一定程度上破坏了坚硬种皮的结构而又不伤及内部种胚,增强了种皮透性,同时满足了种子生长萌发所需水分和氧气,从而促进了内部的生理生化进程。

由于腊肠树种子具有坚硬的外壳,为了使试验能更好地进行,因此在探讨机械脱种皮、KNO₃ 和 GA₃ 对其休眠解除影响前,笔者先对腊肠树种子进行 80 °C 高温热水处理 3 min,然后再经机械脱种皮处理以及 KNO₃ 和 GA₃ 溶液浸泡处理。结果表明,经过上述处理的腊肠树种子,与对照相比都不同程度地提高了种子发芽能力,经机械脱种皮处理种子的发芽势和发芽率显著提高,说明机械脱种皮使水分和空气通过破损的种皮直接进入种胚中,使其能快速发芽。

KNO₃ 作为一种强氧化剂,主要通过强迫性供氧促进代谢,从而促进种子萌发^[9]。而且钾作为植物体内各种重要酶的活化剂,能促进糖分运输、转化及氮代谢作用^[10],而且能激活种子脱氢酶活性和增强呼吸强度^[11],调节溶液水势,减缓种子吸水过程,使种子能在萌发前有充足的时间对膜系统进行修复和重要酶系的活化,同时改善细胞内环境和代谢状态,进而促进种子萌发;KNO₃ 作为营养元素,还可被种子吸收,改善种子内营养状况,促进其萌发^[12]。而赤霉素的加入使种子的激素比例有所变化,这就使处于休眠状态的种胚能伸长生长,当种胚长度达到一定程度时,其种皮破裂种子萌发^[13]。该试验结果显示,KNO₃ 溶液和 GA₃ 溶液浸泡处理的种子发芽率和发芽势虽有所提高,但对腊肠树种子的萌发影响较小,说明 KNO₃ 和 GA₃ 浸种对种子萌发和休眠解除无明显效果,二者不是导致其处于休眠状态的原因。

为了证实腊肠树果实内是否存在抑制物抑制种子生长,该研究取种子周围的胶质以及包围种胚的种皮,分别进行研

磨、浸提,再测定其对白菜种子发芽率,结果显示,腊肠树果实中胶质存在抑制物能抑制种子萌发和使种胚处于休眠状态。

4 结论

95 °C 热水和机械脱种皮处理的腊肠树种子发芽最好,能有效解除休眠,是解除种子休眠的重要措施。而经 KNO₃ 和 GA₃ 浸种对种子萌发和解除休眠有一定促进作用,但发芽较为缓慢。通过种子周围的胶质以及包围种胚的种皮进行白菜发芽检测试验,得出腊肠树果实中的胶质确实存在能抑制种子萌发和使种胚处于休眠状态的抑制物。从以上试验得出抑制腊肠树种子休眠的主要原因是其致密坚硬的种皮,它抑制了种胚与水分和空气的交换,使腊肠树种子处于休眠状态。该试验可为进一步研究腊肠树种子休眠机制提供参考依据。

参考文献

- [1] 吴小娟. 珊瑚朴种子萌发特性及嫩枝扦插繁殖技术研究[D]. 南京:南京林业大学,2006.
- [2] 潘琳,徐程扬. 种子休眠与萌发过程的生理调控机理[J]. 种子,2010,29(6):42-47.
- [3] 胡小文. 豆科植物种子休眠形成与破除机制研究[D]. 兰州:兰州大学,2008.
- [4] 陈定如. 朱缨花、金凤花、腊肠树、酸豆[J]. 广东园林,2007,29(4):79-80.
- [5] 陈松河. 优良观赏树种——腊肠树[J]. 中国花卉盆景,2002(1):17.
- [6] 马洁,张丽霞,管艳红. 腊肠树的栽培与利用[C]//2005 国际傣医药学术会议. 北京:《中国民族医药杂志》社,2005.
- [7] 刘自刚. 桔梗种子休眠解除方法研究[J]. 种子,2009,28(1):72-74.
- [8] 史锋厚,朱灿灿,沈永宝,等. 南京椒种子的萌发与休眠[J]. 福建林学院学报,2008,28(1):48-51.
- [9] 杨彩宏,冯莉,岳茂峰. 化学试剂和 GA₃ 处理对稗草种子萌发的影响[J]. 广东农业科学,2009(9):118-120.
- [10] 袁学军,刘建秀,张婷婷,等. 硝酸钾对假俭草抗寒性和草绿期的影响[J]. 草地学报,2007,15(4):363-366,370.
- [11] 李庆梅,孙玉玲. 几种理化处理对秦岭冷杉种子萌发特性的影响[J]. 种子,2007,26(4):41-44.
- [12] 陈娟,雷霖,王磊,等. 4 种化学试剂浸种对桔梗种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 西北农业学报,2010,19(4):100-105.
- [13] 刘自刚. 外源激素破除桔梗种子休眠的方法研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(20):8458-8459.