

影响滇重楼种子萌发及胚根生长因素的研究*

王艳芳, 唐 玲, 李荣英, 李 戈[△]

(中国医学科学院北京协和医科大学药用植物研究所云南分所, 云南景洪 666100)

〔摘 要〕目的: 为滇重楼种子育苗提供理论指导。方法: 采用去除种皮、不同温湿度处理、赤霉素处理、不同种子来源实验, 观察滇重楼种子萌发及胚根生长情况。结果: 种皮及低温对滇重楼种子萌发及胚根生长的抑制作用明显; 外源赤霉素在常温下对滇重楼种子的萌发没有影响, 但可以打破低温对滇重楼种子萌发及胚根生长的抑制作用; 滇重楼种子萌发和胚根生长的适合湿度范围较宽; 不同来源的种子, 主要由于成熟度的差异, 种子萌发及胚根生长情况差异明显。结论: 在滇重楼种子育苗过程中, 要选择成熟果实的种子, 去除种皮和赤霉素处理均可提高滇重楼种子发根率和发根速度。

〔关键词〕滇重楼种子; 种皮; 温度; 赤霉素; 湿度; 种子成熟度

中图分类号: R282.2 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2012)02—0028—02

滇重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. – Mazz 是 2010 年版《中国药典》收载的重楼药材基原植物之一, 是“云南白药”、“宫血宁”等多种中成药的主要原料^[1]。滇重楼可以应用根茎或种子进行繁育, 但由于滇重楼种子存在二次发育特性, 种子繁殖一直未能在生产上应用。研究表明^[2~3], 滇重楼果实成熟时, 里面种子的种胚生长停留在球形期, 种子从采集当年的 9~12 月到第二年冬季之前完成形态成熟及各器官的发育, 在此过程中, 胚根最先突破种皮, 当胚根长于 1.5cm 时可判断种子完成胚根及胚芽发育, 大田表现为种子只发根不出苗, 发育完全的胚芽需经过第二年冬季低温打破胚轴的休眠到第三年春季才出苗, 且出苗率很低。孟繁蕴等^[4~5]将滇重楼种子的二次发育归属为形态-生理后熟休眠类型, 认为温度和萌发抑制物等都是影响其休眠的关键因素。本文以滇重楼种子发根率和胚根发育长短为指标, 研究种皮、湿度、外源激素、种子成熟度等因素对滇重楼种子二次发育过程中种子萌发及胚根生长的影响, 旨在为滇重楼种子种苗繁育提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 2010 年 9 月末到 11 月末在云南境内武定、鹤庆、镇沅收集的 3 份新鲜滇重楼种子(表 1), 各种源均经过本研究通讯作者李戈鉴定。其中武定种子分去皮和带皮保存, 其他 2 份均去皮保存, 各供试材料与湿沙(湿沙以手握成团落地即散为度)按重量 1:4~1:6 比例混合, 置于 20℃ 恒温人工气候箱里保存。

表 1 各供试材料信息

材料	收集时间	收集地点	种子来源
鹤庆种子	2010-9-30	大理鹤庆县	野生
镇沅种子	2010-10-29	思茅镇沅县	野生
武定种子	2010-11-29	楚雄武定县	栽培

1.2 方法

1.2.1 种皮处理及温度实验

随机选取武定带皮和去皮种子各 6 份, 每份 100~500 粒不等, 放入纱布袋, 置于人工气候箱, 分 20℃ 恒温沙藏 85d、20-10-20℃ 变温沙藏 115d (60d-30d-25d) 统计总的发根率和各长度胚根所占比例, 每个处理 3 个重复。

* 收稿日期: 2011—09—05 修回日期: 2011—12—22
作者简介: 王艳芳 (1983~), 女, 云南景洪人, 实习研究员, 主要从事中药材栽培技术研究。△ 通讯作者: 李戈, Tel: 13578168580, E-mail: lige19800221@163.com.

1.2.2 赤霉素实验

随机选取武定去皮种子 18 份，每份 100 ~ 500 粒不等，分别设 100×10^{-6} 和 600×10^{-6} 赤霉素浸种 24h 处理，以不处理的为空白对照，然后将对照和经赤霉素处理的种子置于人工气候箱，分 20℃ 恒温沙藏 85d、20 - 10 - 20℃ 变温沙藏 115d，统计总的发根率和各长度胚根所占比例，每个处理 3 个重复。

1.2.3 沙藏湿度实验

随机选取武定去皮种子 12 份，每份 30 ~ 60 粒不等，使用营养袋，以沙子为基质，设置 4 个不同的沙藏湿度（表 2），置于 20℃ 恒温人工气候箱，每日称重，补足失去的水分，85d 后统计总的发根率和各长度胚根所占比例，每个湿度梯度水平 3 个重复。

表 2 沙藏湿度设计

编号	水/mL	土壤/mL	比/%
1	20	300	7
2	40	300	13
3	60	300	20
4	80	300	27

1.2.4 不同种子来源

选择野生种源的鹤庆、镇沅去皮种子及栽培种源的武定去皮种子各 3 份，每份 100 ~ 500 粒不等，放入纱布袋，置于 20℃ 恒温人工气候箱，一定时间后统计总的发根率和各长度胚根所占比例。

1.3 数据处理与统计

本实验用胚根长度和发根率来表示重楼种子胚根的萌发及生长情况，各指标计算方法：

发根率 = 规定沙藏日期内发根种子粒数 * 100% / 供试种子粒数；

胚根长度 = 规定沙藏日期内胚根达一定长度的种子 * 100% / 供试种子粒数；

数据采用 SPSS 软件进行 S - N - K 方差分析。

2 结果与分析

2.1 种皮与温度

种皮对重楼种子萌发及胚根生长的抑制作用很明显（表 3）。在一定时间内，无论是在 20℃ 恒温条件下，还是在 20 - 10 - 20℃ 变温情况下，去皮

重楼种子的发根率都明显高于带皮种子，同时去皮重楼种子各长度胚根比例均明显高于带皮种子。

重楼种子在 20℃ 恒温沙藏一定时间完成形态后熟后，胚根突破胚乳开始生长，但放入 10℃ 低温环境下，胚根生长受抑制，待放入 20℃ 恒温箱后胚根再次开始生长，但胚根生长情况不及一直恒温沙藏 85d 的对照处理（表 3）。

表 3 温度及种皮对种子萌发及胚根生长的影响

处理		沙藏时间	发根率	胚根长度/%	
		d	%	1.5 ~ 0.5cm	> 1.5cm
恒温	去皮	85	77.45	23.84	12.42
	带皮	85	6.83	1.52	0.27
变温	去皮	115	23.81	3.62	2.22
	带皮	115	1.60	0.31	0.97

2.2 赤霉素处理

表 4 赤霉素对种子萌发及胚根生长的影响

条件	处理	沙藏时间	发根率	胚根长度/%	
		d	%	1.5 ~ 0.5cm	> 1.5cm
	对照	85	77.45a	23.84a	12.42a
恒温	100ppm	85	83.25a	14.59a	7.88a
	600ppm	85	84.73a	17.03a	7.47a
	对照	115	23.81b	3.62b	2.22b
变温	100ppm	115	68.61a	9.50a	27.77a
	600ppm	115	67.07a	8.95a	32.40a

注：同列中不同字母表示各处理的差异达到显著水平（ $P < 0.05$ ），S - N - K 方差分析，下表同。

赤霉素处理实验中（表 4），20℃ 恒温情况下，赤霉素处理对种子萌发及胚根生长情况影响不显著（ $P > 0.05$ ），20 - 10 - 20℃ 变温情况下，未经赤霉素处理的对照种子受低温影响，115d 后发根率和各长度胚根比例均较低，赤霉素处理的发根率和各长度胚根比例均较高，与对照的存在显著差异（ $P < 0.05$ ），说明赤霉素处理可以打破低温对种子萌发及胚根生长的抑制作用。

2.3 沙藏湿度

表 5 沙藏湿度对种子萌发及胚根生长的影响

体积比	沙藏时间	发根率	胚根长度/%	
	d	%	1.5 ~ 0.5 cm	> 1.5cm
7	85	66.91b	27.23a	2.90a
13	85	78.35a	22.87a	6.81a
20	85	71.10ab	26.14a	17.60a
27	85	65.37b	17.68a	14.91a

由于沙子的持水能力弱，在 7% ~ 27% 的湿度范围内，包括了沙子的水势范围，本研究发现重楼种子在整个实验的沙藏湿度范围内种子均有萌发，方差分析表明，在 13% 湿度下重楼种子的发根率显著高于 7% 湿度和 27% 湿度 ($P < 0.05$)，但各湿度之间胚根生长长度不存在显著差异 ($P > 0.05$)，且发根率均高于 65% (表 5)，所以作者认为重楼种子萌发及胚根生长受沙藏湿度影响不大。

2.4 不同种子来源

表 6 种子来源对种子萌发及胚根生长的影响

材料	沙藏时间	发根率	胚根长度/%	
	d	%	1.5 ~ 0.5 cm	> 1.5cm
武定种子	85	77.45a	23.84a	12.42a
镇沅种子	115	38.73b	16.37b	2.03b
鹤庆种子	115	0c	0c	0b

武定种子为栽培种源，种子采收于果皮变黄开裂后，种皮较软，去皮容易，沙藏 85d 后，发根率达 77.45%，显著高于其他两个种源 ($P < 0.05$)，各长度胚根比例也显著高于其他两个种源 ($P < 0.05$)。镇沅种子和鹤庆种子均采自野外，采集时间较早，果皮青绿未开裂，种皮僵硬，去皮困难，沙藏 115d 后，镇沅种子发根率为 38.73%，胚根长度比武定种子短很多，鹤庆种子几乎全部腐烂，发根率为 0 (表 6)。

3 讨论

3.1 种皮对种子萌发及胚根生长的影响

种皮的作用首先是保护种子应对外界不良环境，新鲜的重楼种皮是由具有叶肉和一定肉质化程度的多浆疏水物质构成^[4]，可以避免种子在野外干燥环境下过快失水干燥死亡，还有报道种子的种

皮有抑制种子萌发的作用^[6]。作者推测种皮的这种抑制作用可能是重楼种子长期适宜自然环境的结果，如果没有种皮的抑制作用，种子在土壤中可能提前萌发，遇到冬季低温时胚根还没有达到要求的长度，胚芽也还未形成，造成种子无法破土出苗，从而对种子造成损伤。从此意义讲，种皮的抑制作用可以保护种子安全过冬。至于种皮抑制种子萌发及生长的机制，有许多不同看法^[4,6]，有人认为是疏水的种皮含有抑制物质，或阻止了种子内部的萌发抑制物质的溢出，具体到重楼种子种皮的抑制机理还需要进一步的研究。

3.2 低温对种子萌发及胚根生长的影响

重楼种子休眠和萌发是一个非常奇特的现象，同样是低温在重楼种子发育的不同时期作用是不同的，在重楼种子两冬一夏的休眠史中，第二个冬天是打破重楼种子胚轴休眠的关键环境因素^[5]，但第一个冬天却可能是抑制重楼种子萌发及胚根生长的主要外界因素^[2]，陈翠^[7]等研究表明，重楼种子胚根的最适萌发温度在 18 ~ 20℃ 之间，高温或低温都会不同程度的抑制重楼种子萌发和胚根生长，9℃ 时发根率为 0。本实验观察 10℃ 低温对重楼种子萌发及胚根生长的影响，发现低温仍会抑制种子萌发和胚根的生长，并且在低温处理后还会影响重楼种子胚根在最适温度下的萌发及生长速度，这可能是温度的突然转换，种子内部与萌发相关的激素等物质相应需要转换造成的一个时间滞后，至于是否会对种子最后总的发根率造成影响，以及重楼种子胚根可以耐受的最低温是多少，还需要进一步研究。

3.3 赤霉素对种子萌发及胚根生长的影响

袁理春等^[2]研究结果表明，在适温条件下，由于重楼种子内部各种激素水平平衡，外源赤霉素对重楼种子的二次发育没有明显促进作用。本实验在常温下研究结果与袁理春相似，同时发现赤霉素可以打破低温对滇重楼种子萌发及胚根生长的抑制作用。根据孟繁蕴^[5]的研究，低温会使重楼种子内赤霉素的含量下降，而本研究中外源赤霉素的加入，补充了低温造成的赤霉素的不足，使重楼种子在低温下可以正常萌发。

3.4 种子来源对种子萌发及胚根生长的影响

本实验中，野生种源重楼种子和栽培种源重楼种子萌发及胚根生长情况差异明显，经分析作者认

为不同来源种子由于其本身的遗传差异和生长环境的影响可能造成其种子萌发及胚根生长不同,但在本实验中作者认为各来源种子成熟度不同可能是导致种子萌发及胚根生长差异的主要因素。实验中三分不同来源种子中,镇沅和鹤庆种源属于野生重楼种子,在野外属于随见随采的情况,成熟度很难保证,而家种的武定重楼种子可以等到完全成熟再采集,保证了种子的成熟度。所以作者建议,在生产中,要尽量选择在正常生长期,成熟度好的栽培重楼种子作为种源进行种苗繁育,这样才可以确保种子的正常萌发,提高种子的萌发速度和萌发率。

另外,重楼种子胚根萌发和生长对土壤湿度的适应范围很大,说明湿度可能不是引起重楼种子休眠的关键因素。

[参考文献]

[1] 武姗姗,高文远,段宏泉,等. 重楼化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2004, 35 (3): 344 -

347.

[2] 袁理春,陈翠,杨丽云,等. 温度和赤霉素对重楼种子二次发育的影响 [J]. 种子, 2003, (5): 33 -34.
[3] 陈翠,康平德,杨丽云,等. 云南重楼种苗繁育技术 [J]. 中国现代中药, 2010, 12 (2): 23 -24.
[4] 黄玮,孟繁蕴,张文生,等. 重楼种子休眠机理研究 [J]. 中国农学通报, 2008, 24 (12): 242 -246.
[5] 孟繁蕴,汪丽娅,张文生,等. 重楼种胚休眠和发育过程中内源激素变化的研究 [J]. 中医药学报, 2006, 34 (4): 36 -38.
[6] 魏建和,李昆同,程惠珍,等. 种子成熟度及种皮对北柴胡和三岛柴胡种子萌发的影响 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28 (7): 614 -617.
[7] 陈翠,杨丽云,吕丽芬,等. 云南重楼种子育苗技术研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32 (19): 1979 -1983.

(编辑: 岳胜难)

Study on Factors Influencing the Seed Germination and Radicle Growth of *Paris polyphylla* Smith var *yunnanensis* (Franch.) Hand. - Mazz
WANG Yan - fang, TANG Ling, LI Rong - ying, LI Ge
(Institute of Medicinal Plant Development Yunnan Branch, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Jinghong 666100, China)

[ABSTRACT] Objective: To explore the factors influencing the seed germination and radicle growth, and provide technical guidance for seed breeding and reproduction of *Paris polyphylla*. Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. - Mazz. Methods: To study the effect of seed coat, temperature, GA₃, humidity, different provenance on the seed germination and radicle growth of *Paris polyphylla*. Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. - Mazz. Results: The seed coat and Low temperature has a obvious inhibitory effect for the seed germination and radicle growth of *Paris polyphylla*. Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. - Mazz; GA₃ can break the inhibition on seed germination and radicle growth caused by low temperature; The seed has a broad range of humidity for seed germination and radicle growth; The seeds from different provenance, largely because of the different maturity, get a completely differences on seed germination and radicle growth. Conclusion: in the seed breeding process for *Paris polyphylla* *yunnanensis* (Franch.) Hand. - Mazz, We should select good maturity seeds for the seed breeding, Both removing the seed coat and GA₃ treatment can improve the seed germination and radicle growth rate.

[KEY WORDS] seed of *Paris polyphylla*. Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. - Mazz; seed coat; temperature; GA₃; humidity; seed maturity