

沙葱种皮特性、种胚及种子浸提液与种子休眠的关系

王晓娟, 张凤兰, 杨忠仁, 郝丽珍*

内蒙古农业大学农学院, 内蒙古自治区野生特有蔬菜种质资源与种质创新重点实验室, 呼和浩特010019

摘要: 本文以沙葱休眠种子为试材, 检测其种皮透水性、透气性、超微结构、种胚休眠及种子浸提液。结果表明, 酸蚀种子吸水12 h达饱和, 吸水率是完整种子的2倍; 其呼吸强度最大值是完整种子的1.36倍。酸蚀处理使种子表面结构破损, 角质层脱落, 种孔露出。沙葱种子离体胚接种培养后2~3 d, 种胚开始萌发, 萌发率达85%。沙葱完整种子与粉碎种子的浸提液对白菜种子发芽率、苗高、根长均有抑制作用, 且随着浓度的提高而增强。

关键词: 沙葱; 种子; 种子浸提液; 休眠

Relationship between Characteristic of *Allium mongolicum* Seed Coat, Embryo, Seed Leach Liquor and Seed Dormancy

WANG Xiao-Juan, ZHANG Feng-Lan, YANG Zhong-Ren, HAO Li-Zhen*

College of Agronomy, Inner Mongolia Agriculture University, Inner Mongolia Key Laboratory of Germplasm and Germplasm Enhancement of Wild and Special Vegetable, Hohhot 010019, China

Abstracts: The water permeability, air permeability, seed coat ultrastructure, embryo dormancy and seed leach liquor of *Allium mongolicum* seed were determined. The results showed that etched seed was saturated with water after 12 h, its water absorption rate was twice that of the whole seed, and its respiration intensity maximum was 1.36 times of the whole seed. Etching damaged the seed surface structure, made the cuticle shedding and micropyle exposed. The *in vitro* embryo of *Allium mongolicum* seed began to germinate after culture inoculation of 2–3 d, and germination rate reached 85%. The leach liquor of the whole and etched seed both had an inhibiting effect on the germination rate, seedling height and root length of Chinese cabbage. As the concentration increased, the inhibition enhanced.

Key words: *Allium mongolicum*; seed; seed leach liquor; dormancy

沙葱属百合科葱属, 别名蒙古韭、蒙古葱, 是蒙古高原特有种, 为多年生旱生草本植物(包颖2000), 不仅具有固沙和防止水土流失的重要生态价值, 且是一种营养价值和药用价值(马毓泉1985)极高的沙生蔬菜(斯琴巴特尔和刘新民2002; 胡宁宝等2008; 张凤兰等2009)。随着近年来沙葱加工业的发展, 毁灭式采挖严重, 导致野生沙葱的自然分布区域及群落面积日益缩小(贺访印等2007)。然而人们在开展沙葱种子萌发特性及驯化栽培的研究中发现, 沙葱种子具有的休眠特性给人工播种栽培带来了出苗率低及出苗不齐的生理障碍(杨忠仁等2007; 郝丽珍等2008; 鄂圆圆等2008; 苗春乐等2008)。但关于沙葱种子休眠原因的研究未见报道。

通常种皮障碍、种胚发育状况、内源萌发抑制物等是引起植物种子休眠的主要原因(卡恩

1989)。因此, 本文从沙葱种皮特性、种胚发育状况及内源抑制物质等方面, 探索沙葱种子的休眠原因, 从而丰富沙葱种子生理的研究内容, 为打破休眠、提高出苗率提供理论依据。

材料与方法

本文以采自内蒙古自治区鄂尔多斯毛乌素沙地处于休眠期的饱满沙葱(*Allium mongolicum* Regel.) 种子为实验材料[千粒重为(3.98±0.2) g, 含水量为7.56%]。实验所用白菜种子为‘秋珍白六号’, 纯度98%, 净度98%, 发芽率85%以上, 含水量小于7%。

收稿 2011-02-28 修定 2011-05-13

资助 国家自然科学基金(30660110)和教育部科学技术研究重点项目(206027)。

* 通讯作者(E-mail: haolizhen_1960@163.com; Tel: 0471-4318467)。

取沙葱完整种子和酸蚀种子(即用98%的浓硫酸酸蚀5 min,再用流水冲洗24 h的种子)各100粒置于小烧杯中,加入蒸馏水浸没种子,然后置于25 °C的恒温培养箱中吸水。以后定期(前2 d日间每隔3 h测定1次,之后日间每隔6 h,夜晚隔12 h测定)捞出种子,用定量滤纸吸干种子表面水分,在1/1 000电子天平上称重,至种子重量不再变化为止。每处理重复4次,计算出吸水率(%)=(吸水后重量-吸水前重量)/吸水前重量×100%。

取沙葱完整种子和酸蚀种子各1 g,在室温下水浸泡一定时间后,用美国Licor公司的LI-6400光合作仪测定其呼吸强度,每个处理重复4次(张艳杰2007)。

取沙葱完整种子和酸蚀种子不经任何处理粘在载物台上,喷金镀膜后在日立S-530扫描电镜下观察种子表面、种孔及横断面结构,记录并拍照。

取处于休眠期新鲜饱满的沙葱种子,用蒸馏水浸泡12 h(使种子充分吸水膨胀,种皮变软,易于分离种胚)。将种子置于超净工作台上,无菌水冲洗数次后,用70%酒精浸泡40 s,再用0.1% HgCl₂消毒7 min,无菌水冲洗4次,于无菌条件下剥出种胚接种到MS基本培养基中,置于25 °C、光照12 h的恒温光照培养箱中进行培养,观察种胚萌发情况。

将沙葱完整种子和粉碎种子分别按0.05 g·mL⁻¹(水)进行浸提,在0~4 °C恒温条件下密闭浸提24 h,在白天间隔1 h震荡1次,以使其充分浸提,重复5次,将滤液混合后于旋转蒸发仪上浓缩蒸干、定

容,制备浓度为10 g·mL⁻¹原浸提液。试验时,分别稀释至原浸提液20%、40%、60%和80%备用。分别吸取3 mL浸提液加入至90 mm培养皿中,用白菜种子做生物测定,以同体积蒸馏水作为对照,每个处理50粒种子,重复4次。白菜种子在25 °C黑暗条件下培养,24 h测定白菜种子发芽率(以露出子叶为发芽标准),48 h测其苗高、根长(李铁华2004)。

采用SAS软件对数据进行统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异显著。

结果与讨论

1 沙葱种子的透水性

图1表明,沙葱完整种子与酸蚀种子两者间吸水速率明显不同,酸蚀种子前3 h吸水量直线性上升,3~12 h吸水速率较快,12 h后吸水速率开始减缓,至达到饱和为止,吸水率为73.7%;而完整种子在0~45 h吸水速率相对平缓上升,种子吸水12 h,吸水率为36.8%,45 h后吸水速率减慢,直至达到饱和时吸水率为56.8%,且酸蚀处理可以明显提高种子发芽率。这表明,沙葱种子吸水速度较慢,吸水达到饱和需要的时间较长,而酸蚀处理可以提高吸水速率。

有些种子的种皮存在透水、透气性障碍,使种子不能与外界进行水气交换而处于休眠状态。沙葱种子吸水速度较慢,这可能与种皮的结构有关。按照卡恩的理论,种子吸水率达到40%就达到种子萌发生理需求,沙葱完整种子浸种12~15 h时

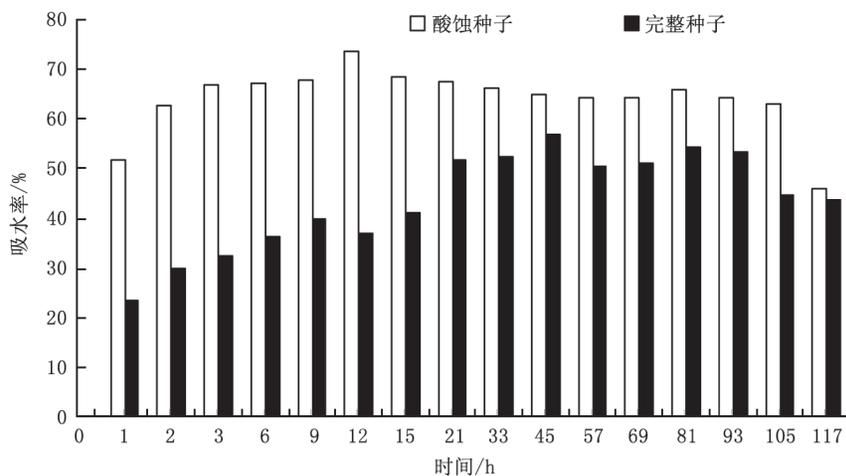


图1 沙葱种子的吸水率变化

Fig.1 Change in water absorption of *A. mongolicum* seeds

吸水率为36.8%~41.2%, 吸水45 h达到饱和时吸水率为56.8%, 已能满足萌发需求, 这与杨忠仁等(2007)的研究结果沙葱种子浸种最佳时间为12 h相符。在外界环境水分充足且给予足够浸种时间的前提下, 种皮的透水性不良不是引起种子休眠的主要原因, 但是沙葱多生长于荒漠带的砂地、沙漠边缘、低山山地及半干旱山坡, 那里降水少, 且降水多集中于7~9月, 在沙葱种子萌发的时候外界不能供给充足的水分, 而种皮结构使沙葱种子存在吸水速度较慢, 吸水达到饱和和需要的时间较长的障碍, 因此种皮透水性不良也是引起种子休眠的原因之一, 但不是主要原因。

2 沙葱种子的透气性

沙葱干种子呼吸强度较弱, 完整种子为 $0.102 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, 酸蚀种子为 $0.134 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, 随着浸泡时间的延长, 二者呼吸强度呈上升趋势, 完整种子至60 h达最大值($0.456 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 酸蚀种子至30 h达最大值($0.618 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), 后者为前者的1.36倍, 之后缓慢降低, 整个变化呈S型曲线(图2)。说明沙葱种子透气性较差, 酸蚀处理可以提高沙葱种子的透气性。

沙葱酸蚀种子呼吸速率明显高于完整种子, 这主要是由于致密的种皮结构影响了种子内外气体交换, 限制了氧气的进入, 更高的氧分压可以使种子内存在的抑制物分解进而促进种子的萌发, 另外氧有助于乙烯产生打破休眠, 因此种皮透气性差是引起沙葱种子休眠的原因之一(邢勇和武月

琴2003)。

3 沙葱种皮的超微结构观察

许多植物种子均有物理性的种壳休眠特性, 但发生最多、休眠程度最深的是硬实种子, 如豆科、百合科、茄科等(杨期和等2003)。沙葱种子属瘦果, 外形呈倒卵形, 背部隆起, 腹面内凹, 形成三棱, 种皮黑色略带光泽, 胚弯曲, 较发达, 包藏于胚乳之中。其风干种子的种皮较坚硬, 由外种皮和内种皮组成。在扫描电镜下显示完整种子种皮表面凸凹不平, 强角质化, 纹饰清晰可见, 斑块呈不规则六边形, 表面中部明显隆起, 排列较规则(图3-A); 将种皮横断面结构放大400倍进行观察, 外种皮由排列紧密的厚壁细胞组成(图3-B)。种孔不明显, 表面由厚壁细胞组成(图3-C)。

酸蚀处理的种子表面变得平整, 纹饰不清晰, 种皮表面出现不规则块状破损, 有的部位角质层已脱落(图3-D)。从种皮横切面可以看出, 外种皮角质层基本被硫酸腐蚀掉, 细胞结构遭到破坏, 种皮厚度变薄, 内种皮结构和细胞排列未发生变化(图3-E)。种孔厚壁细胞脱落, 露出种孔(图3-F)。

沙葱种子种皮、种孔由厚壁细胞组成, 强角质化, 结构致密, 吸水后的种子存在较强的机械束缚作用, 胚芽或胚根的生长力不足以穿透种皮, 这与百合科种子具硬实现象难以萌发相符(杨期和等2006), 也是引起休眠的原因之一。

4 沙葱种胚休眠特性的检测

具有胚休眠特性的植物, 即使裸露的胚置于

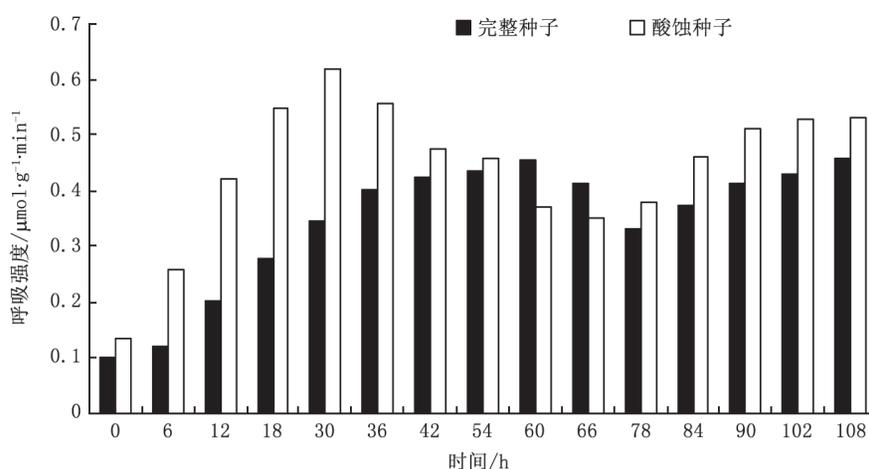


图2 沙葱种子呼吸强度的变化

Fig.2 Change in respiration intensity of *A. mongolicum* seeds

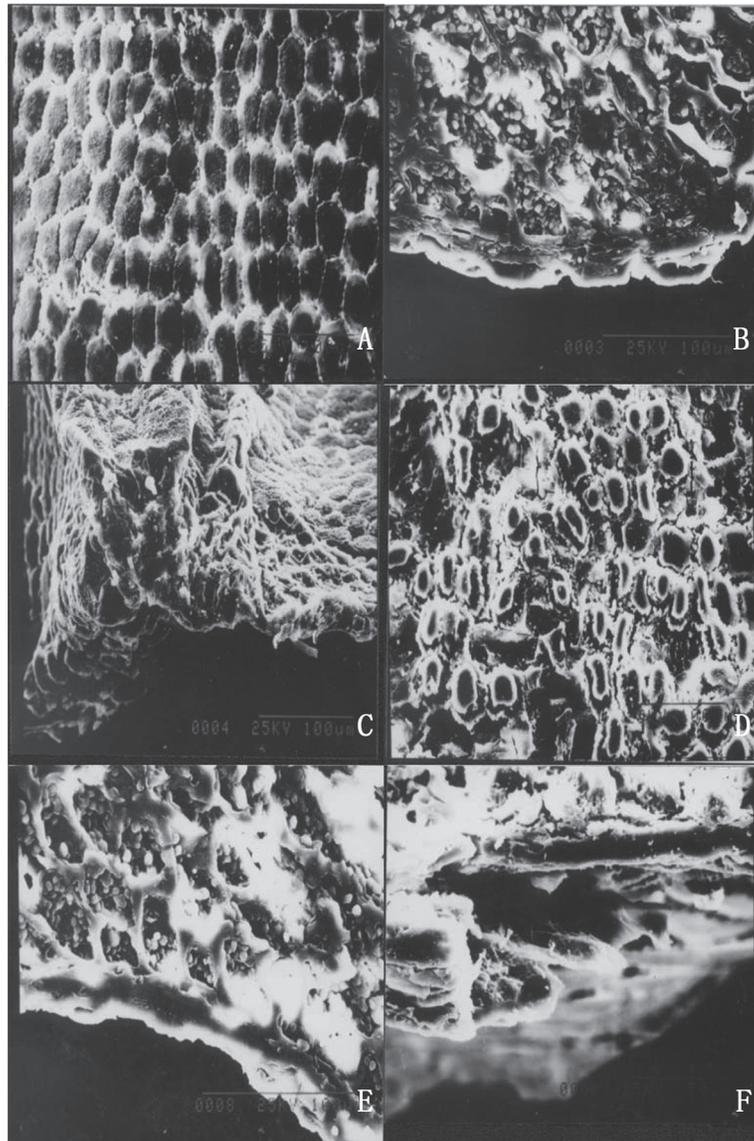


图3 沙葱种皮的超微结构

Fig.3 The ultrastructure of *A. mongolismus* seed coat

A: 完整种子外种皮表面结构($\times 200$); B: 完整种子种皮横断面结构($\times 400$); C: 完整种子种孔结构($\times 200$); D: 酸蚀种子外种皮表面结构($\times 200$); E: 酸蚀种子种皮横断面结构($\times 400$); F: 酸蚀种子种孔结构($\times 200$)。

潮湿基质上,也仍然保持休眠状态(付婷婷等2009),如种胚尚未发育完全引起的形态休眠(赵永华等2001)及种胚本身生理障碍引起的生理休眠(林松明等2006)。将休眠沙葱种子离体胚接种培养后2~3 d,种胚开始萌发,萌发率达85%。说明休眠期的沙葱种子的种胚离体培养的萌发率较高,也在一定程度上证明抑制萌发的物质不存在于种胚,主要存在于种皮内。

5 沙葱种子浸提液对白菜种子生长的影响

种子内存在抑制物质也是种子休眠的重要因

素,抑制物质是指可以推迟或抑制同种或异种植物种子发芽的物质(黄耀阁等1994;于海莲等2009),既可以是内源有机酸、生物碱、激素等(Feurtado等2007;He和Gan 2004),也可以是外源的,即其他植物体或种子产生的,但最重要的抑制物质是内源的,且分布非常广泛(孔祥海2002)。从图4可以看出,与对照相比,不同浓度沙葱完整种子浸提液使白菜种子发芽率分别降低了7%、9%、12%、15%,而粉碎种子浸提液使白菜种子发芽率分别降低了9%、11%、12%、17%,白菜种子发芽率随着

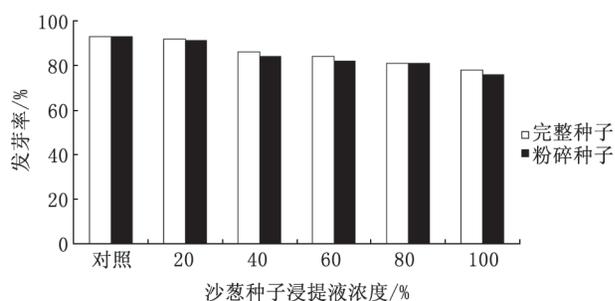


图4 不同浓度的沙葱种子浸提液对白菜种子发芽率的影响
Fig.4 Effects of leach liquor of *A. mongolicum* seed of different concentration on the germination rate of Chinese cabbage seeds

浸提液浓度的增加呈逐渐降低的趋势。

如图5所示, 沙葱种子浸提液浓度为20%的白

菜苗高与对照无明显差异, 其余浓度均起抑制作用, 100%沙葱完整和粉碎种子浸提液处理的白菜苗高分别为对照的67.27%和66.36%。说明随着浸提液浓度的增大, 白菜苗高生长受抑制的程度明显增强。方差分析表明, 各处理与对照相比差异均达显著水平, 但2个处理之间苗高差异不显著。在实验中还观察到, 随着浸提液浓度的增加, 白菜苗高逐渐降低, 同时白菜幼苗根茎处还出现一定程度的膨大现象, 这些都是畸形苗和异状苗的表现形式。

如图6所示, 与对照相比, 20%的沙葱种子浸提液处理对白菜根长有明显的促进作用, 其余浓度均起抑制作用, 100%完整种子、粉碎种子浸提液处理的白菜根长分别为对照的62.96%、 59.26%。

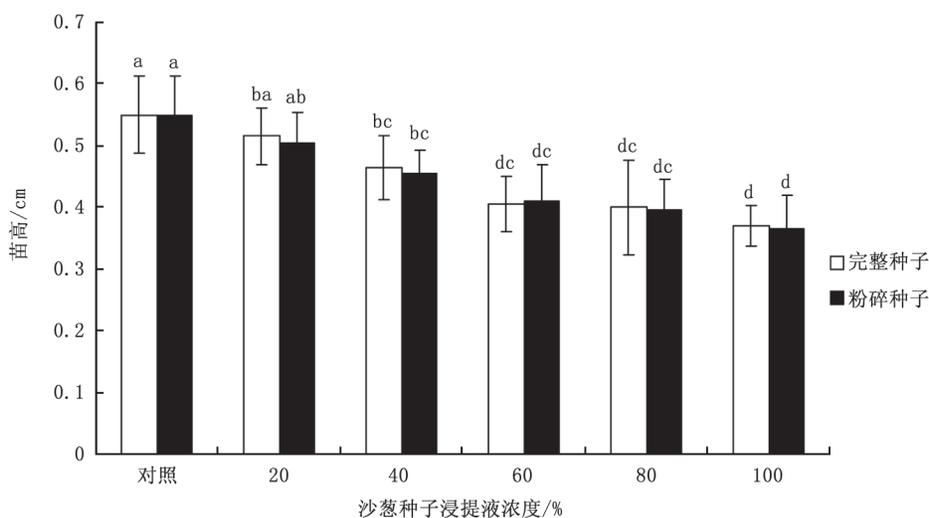


图5 不同浓度的沙葱种子浸提液对白菜苗高的影响

Fig.5 Effects of leach liquor of *A. mongolicum* seed of different concentrations on the seedling height of Chinese cabbage

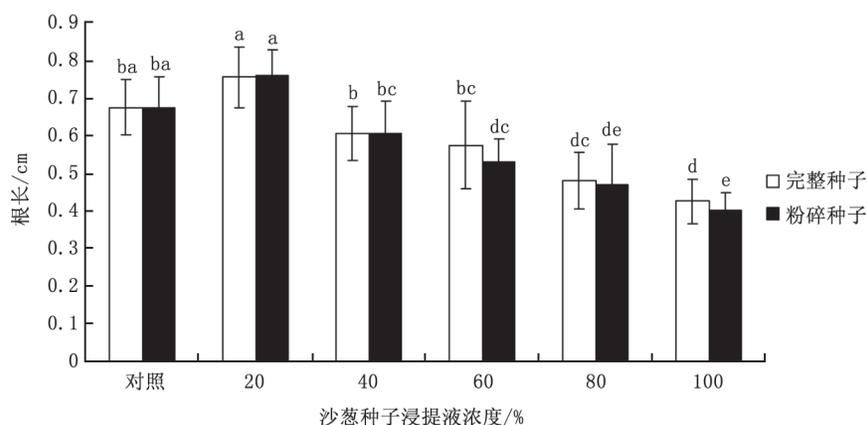


图6 不同浓度沙葱种子浸提液对白菜根长的影响

Fig.6 Effects of leach liquor of *A. mongolicum* seed of different concentrations on the root length of Chinese cabbage

低浓度沙葱种子浸提液对白菜的根长表现出一定的促进作用, 而高浓度抑制其生长。方差分析表明, 各处理与对照相比差异均达显著水平, 各处理间相比差异不显著。

植物种子中存在萌发抑制物质是导致种子休眠的一个主要因素(卡恩1989), 种子中的很大一部分发芽抑制物质是一些简单的小分子有机物质, 其中有一部分是水溶性的(叶长丰和戴心维1994)。沙葱种子浸提液对白菜种子的发芽率有抑制作用, 其不仅能抑制种子发芽、影响幼苗生长, 甚至还能造成幼苗出现畸形生长等情况, 说明沙葱种子含有抑制萌发的水溶性内源抑制物质是引起休眠的原因之一, 这与于婧报道的百合科川贝母种子含有水溶性发芽抑制物质相符(于婧等2008)。

综上所述, 沙葱种子休眠主要由种皮障碍及存在内源抑制物引起, 关于抑制物的成分、激素含量与沙葱种子休眠的关系, 还有待于进一步研究。

参考文献

- 包颖(2000). 内蒙古葱属植物的地理分布. 内蒙古师范大学学报, 29 (2): 130~134
- 鄂圆圆, 郝丽珍, 王萍, 杨忠仁, 袁德正, 王六英, 赵清岩(2008). 沙葱种子光休眠特性研究. 2008园艺学进展(第八辑): 560
- 付婷婷, 程红焱, 宋松泉(2009). 种子休眠的研究进展. 植物学报, 44 (5): 629~641
- 郝丽珍, 杨忠仁, 张凤兰, 王萍, 黄振英(2008). 沙葱种子萌发后几种营养物质的动态变化及其营养价值. 林业科学, 44 (6): 148~152
- 贺访印, 刘世增, 严子柱, 马全林(2007). 野生沙葱的资源分布与保护利用. 中国野生植物资源, 26 (2): 14~17
- 胡宁宝, 杨忠仁, 王萍, 张凤兰, 陈桂华, 李晓静, 赵清岩, 郝丽珍(2008). 沙葱种子几种营养成分含量的研究. 安徽农业科学, 36 (13): 5376~5377
- 黄耀阁, 崔树玉, 鲁歧, 牛洪斌, 赵春雨, 韩宝瑞, 杨继祥, 李向高(1994). 西洋参种子抑制物质的初步研究. 吉林农业大学学报, 16 (2): 9~14
- 卡恩AA (1989). 种子休眠和萌发的生理生化. 北京: 农业出版社, 37~40
- 孔祥海(2002). 抑制物质与种子休眠. 龙岩师专学报, 20 (6): 50~52
- 李铁华(2004). 木荷种子休眠与萌发特性的研究. 种子, 6: 15~17
- 林松明, 徐迎春, 蔡志仁, 程明(2006). 打破凤丹种子上胚轴休眠的研究. 江苏农业科学, (1): 84~86
- 马毓泉主编(1985). 内蒙古植物志(第8卷). 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 191~198
- 苗春乐, 郝丽珍, 王萍, 杨忠仁, 李红艳, 王六英, 赵清岩(2008). NaCl胁迫对沙葱种子生活力及抗氧化酶活性的影响. 华北农学报, 23 (4): 172~175
- 斯琴巴特尔, 刘新民(2002). 蒙古韭的营养成分及民族植物学. 中国草地, 24 (3): 52~54
- 邢勇, 武月琴(2003). 种子休眠与致休眠因子. 生物学教学, 28 (5): 7~8
- 杨期和, 叶万辉, 宋松泉, 殷寿华(2003). 植物种子休眠的原因及休眠的多形性. 西北植物学报, 23 (5): 837~843
- 杨期和, 尹小娟, 叶万辉(2006). 硬实种子休眠的机制和解除方法. 植物学通报, 23 (1): 108~118
- 杨忠仁, 郝丽珍, 张凤兰, 王萍, 刘杰才, 李晓静, 张进文, 胡宁宝, 赵清岩, 王六英(2007). 沙葱种子的萌发特性和几种贮藏物质含量的变化. 植物生理学通讯, 43 (1): 173~175
- 叶长丰, 戴心维(1994). 种子学. 北京: 中国农业出版社, 162~188
- 于海莲, 李凤兰, 赵翠格, 郭惠红(2009). 南方红豆杉种子发芽抑制物质的初步研究. 北京林业大学学报, 31 (5): 79~83
- 于婧, 魏建和, 陈士林, 代勇, 杨成民(2008). 川贝母种子休眠及萌发特性的研究. 中草药, 39 (7): 1081~1084
- 张凤兰, 杨忠仁, 郝丽珍, 刘建文, 胡宁宝(2009). 五种野生蔬菜叶片营养成分分析. 华北农学报, 24 (2): 164~169
- 张艳杰(2007). 南方红豆杉种子休眠机理的研究[博士论文]. 南京: 南京林业大学
- 赵永华, 杨世林, 刘惠卿, 刘铁城(2001). 西洋参种胚形态后熟过程中种子内源激素变化动态及其对种胚发育的调节. 中草药, 32 (2): 159~162
- Feurtado J, Yang J, Ambrose SJ, Cutler AJ, Abrams SR, Kermod AR (2007). Disrupting abscisic acid homeostasis in western white pine (*Pinus monticola* Dougl. Ex D. Don) seeds induces dormancy termination and changes in abscisic acid catabolites. *Plant Growth Regul*, 26: 46~54
- He YH, Gan SS (2004). A novel zinc-finger protein with a proline-rich domain mediates ABA-regulated seed dormancy in Arabidopsis. *Plant Mol Biol*, 54: 1~9