

GA₃ 浸种对大白杜鹃种子萌发的影响

黄承玲^{1,2}, 周洪英^{1,2}, 陈训^{3,*}, 高贵龙³

¹ 贵州大学林学院, 贵阳 550025; ² 贵州省植物园, 贵阳 550004; ³ 贵州科学院, 贵阳 550001

摘要: 用不同浓度的 GA₃ 浸种大白杜鹃种子并测定其萌发结果表明, 不同浓度 GA₃ 处理均能增强大白杜鹃种子活力, 极显著提高种子发芽率和发芽势, 其中 500 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种处理的效果最明显。GA₃ 处理使种子的可溶性蛋白质含量降低, MDA 含量下降, 而 SOD、POD 和 CAT 活性增强。这表明 GA₃ 浸种后能增强抗氧化酶的活性, 降低膜脂过氧化程度, 从而促进种子提前萌发。

关键词: 大白杜鹃; GA₃; 浸种; 萌发

Effects of GA₃ Immersion on Germination of Seeds in *Rhododendron decorum* Franch.

HUANG Cheng-Ling^{1,2}, ZHOU Hong-Ying^{1,2}, CHEN Xun^{3,*}, GAO Gui-Long³

¹ Forestry College of Guizhou University, Guiyang 550025, China; ² Guizhou Botanical Garden, Guiyang 550004, China; ³ Guizhou Academy of Science, Guiyang 550001, China

Abstract: To understand the influencing mechanism of GA₃ on seed germination of *Rhododendron decorum* Franch., the seeds were soaked in solutions with different GA₃ concentrations. The results showed that all treatments could enhance the activity of seeds and improve the rate of germination, especially treated with 500 mg·L⁻¹ GA₃, which had the rate of germination improved remarkably, the contents of soluble protein and MDA decreased, while the activities of SOD, POD and CAT from the seeds increased. It indicated that after soaked with GA₃ the seeds enhanced the activity of antioxidant enzymes and decreased the membrane lipid peroxidation.

Key words: *Rhododendron decorum* Franch.; GA₃; seed immersion; germination

大白杜鹃是杜鹃科杜鹃属常绿灌木或小乔木。枝条粗壮, 花大, 呈粉红色, 产于我国云南、贵州等地, 生于海拔 1 700~1 900 m 的山坡常绿阔叶林或山地灌丛中, 是极好的观赏花木(陈训和巫华美 2003)。有报道云锦杜鹃等高山杜鹃的种子萌发率不高, 而且不同种类的萌发情况不同(金培锋等 2007; 张乐华等 2006; 张长芹等 1992; 耿玉英 2001), 而对大白杜鹃的研究报道几乎空白。本试验研究了赤霉素(GA₃)浸种对大白杜鹃种子萌发的影响, 旨在为其繁殖培育提供参考。

材料与方 法

大白杜鹃(*Rhododendron decorum* Franch.)种子于 2008 年 11 月采于贵州省百里杜鹃自然保护区向阳生长的同一株健壮母树。采回后于通风处放置, 待完全干燥后轻碾, 将蒴果里的种子筛出来, 拣净杂物, 室温干藏备用。种子呈黄褐色, 细小, 千粒重为 0.21 g。种子萌发实验在光照培养箱(上海

跃进医疗器械厂, 型号 SPX-150-GB)中进行, 设定温度为 25 °C, 光照 14 h·d⁻¹, 种子用 70% 酒精消毒 30 s 后再用蒸馏水冲洗数遍, 1% 次氯酸钠消毒 15 min, 蒸馏水冲洗干净, 用消毒后的海绵作萌发基质, 将其铺在培养皿中, 然后将不同浓度 GA₃ 浸种处理 2 h 后的大白杜鹃种子整齐排列在海绵上, 每日注意观察记录萌发情况, 并保证水分充足。每种处理为 100 粒种子, 实验重复 3 次。另外准确称取 0.10 g 种子, 对其进行消毒方法同上, 用不同浓度 GA₃ 溶液浸泡 2 h 后将种子用蒸馏水清洗 5 次, 直接测定可溶性蛋白质含量、抗氧化保护酶活性和丙二醛含量。用蒸馏水浸泡相同时间的种子为对照作同样的测定, 实验重复 3 次。

收稿 2010-03-03 修定 2010-05-21

资助 贵州省重大科技攻关项目(黔科合重大专项[2007]6005)和国家农业成果转化课题(2007GB2F200289)。

* 通讯作者(E-mail: chenxunke1956@163.com; Tel: 0851-5812465)。

GA₃ 设 3 个处理浓度: 100、250 和 500 mg·L⁻¹。

以胚芽伸出种子一半为萌发。自萌动之日起每天记录发芽情况。依据每天的发芽记录计算发芽率。发芽率(%)=(n/N)×100, 式中 n 为正常发芽的种子数; N 为测定样品种子数。萌发后第 8 天计算发芽势, 发芽势是指规定的时间内正常发芽的种子数占测定样品种子总数的百分率。

取 0.1 g 种子于研钵中, 加 5 mL 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0)及少量石英砂, 在冰浴中研磨提取, 匀浆于 2 °C 15 000×g 冷冻离心 10 min, 上清液即为酶提取液。此酶液用来测定超氧化物歧化酶(superoxidismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性和丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量。酶活性及 MDA 含量的测定参照赵世杰等(1998)的方法。SOD 活性测定是以前抑制氮蓝四唑(NBT)光反应 50% 为一个单位酶活性; CAT 活性用紫外光比色测定, 以每分钟 OD₂₄₀ 减少 0.01 为一个单位酶活性; POD 活性用愈创木酚法测定, 以每分钟 OD₄₇₀ 增加 0.1 为一个单位酶活性。SOD 活性单位用 U·mg⁻¹ (蛋白)表示, POD 和 CAT 活性单位为 U·mg⁻¹ (蛋白)·min⁻¹。MDA 含量用 TBA 反应法测定, 可溶性蛋白质用考马斯亮蓝法测定。

对数据进行方差分析, 差异显著性运用最小显著差数法(LSD 检验)进行多重比较。用 Excel 和 Origin 软件进行处理并作图。

结果与讨论

1 GA₃ 浸种对种子萌发的影响

从表1可以看出, 与不作处理的相比, GA₃浸种的种子开始萌发的天数明显缩短, 250 和 500 mg·L⁻¹ GA₃ 浸种处理种子仅培养 4 d 种子开始萌发, 而不作处理的需要 10 d, 缩短了 6 d。同时, GA₃ 浸种明显提高了种子萌发的发芽率和发芽势, GA₃浓度越高, 越能促进种子萌发, 差异达到极显著($P<0.01$), 500 mg·L⁻¹ GA₃浸种处理的发芽率和发芽势最高, 与不作处理的相比, 分别提高了 58.7% 和 53.0%。可见, 一定浓度范围的GA₃浸种可以显著提高种子的发芽率和发芽势, 这与夏含嫣等(2006)对仙客来种子、王晓蓓等(2007)对荆条种子、李赫男和周盟(2008)对黄花乌头、任秋萍等(2008)对一串红种子、刘凤等(2009)对毛竹的研究一致, 但这些相关研究中GA₃浓度超过一定浓度后, 发芽率和发芽势会降低, 而本试验在 100~500 mg·L⁻¹ 浓度范围内, GA₃ 浓度越高, 发芽率和发芽势也越高, 有待于进一步扩大浓度范围试验。

表1 GA₃ 浸种对种子萌发的影响

Table 1 Effect of GA₃ on seed germination in soaking seeds

GA ₃ 浓度 /mg·L ⁻¹	开始萌发日期(月 - 日)	萌发时间 /d	发芽率 /%	发芽势 /%
0	08-06	10	26.0 ^D	22.3 ^D
100	08-02	6	54.7 ^C	39.7 ^C
250	07-31	4	73.0 ^B	56.3 ^B
500	07-31	4	84.7 ^A	75.3 ^A

同列数字旁不同大写字母表示在 1% 水平上差异显著, 种子开始培养日期均为 7 月 28 日。

2 GA₃ 浸种对种子可溶性蛋白质含量的影响

种子的萌发离不开蛋白质的参与, 植物体内的可溶性蛋白质大多数是各类代谢酶类, 所以可溶性蛋白含量的变化一定程度上反应了植物体内的代谢变化(颜启传 2001)。图 1 表明, GA₃ 浸种后种子的可溶性蛋白质含量极显著下降。3 个处理浓度之间 100 mg·L⁻¹ GA₃ 处理的可溶性蛋白质含量最低, 与对照和其他处理均呈极显著差异, 而 250 与 500

mg·L⁻¹ GA₃ 浸种处理的可溶性蛋白质含量差异不显著。

不同浓度的 GA₃ 浸种使种子的可溶性蛋白质含量明显下降, 加快了大白杜鹃种子细胞的代谢, 使种子中可溶性蛋白质快速酶解成种子萌发所需的物质, 从而促进了种子的提前萌发, 但浓度不同这种酶促作用有差异, 以 100 mg·L⁻¹ GA₃ 处理的促进效果最明显。

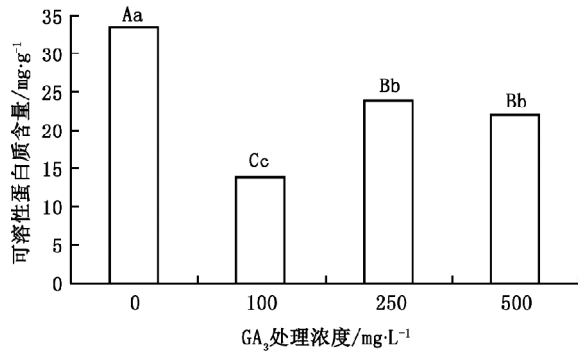
图1 GA₃浸种对种子可溶性蛋白质含量的影响

Fig.1 Effect of GA₃ on soluble protein content in soaking seeds

不同大写字母表示在1%水平上差异显著, 不同小写字母表示在5%水平上差异显著。

3 GA₃浸种对种子抗氧化保护酶活性的影响

植物细胞代谢过程中会产生活性氧(reactive oxygen species, ROS), 在正常生长和代谢情况下, 细胞内ROS的产生和清除处于一种动态平衡。

SOD第一个参与ROS的清除反应, 催化超氧阴离子自由基歧化成H₂O₂。然后POD和CAT将H₂O₂还原成为没有毒性的水。这样, 产生活性氧和清除活性氧保持平衡状态, 使植物免受伤害(陈鸿鹏和谭晓风2007)。从表2可以看出, 250 mg·L⁻¹ GA₃处理的SOD活性和其他处理相比差异显著, 100和500 mg·L⁻¹ GA₃处理与对照相比差异不显著。GA₃浸种后, 种子中POD活性有所增强, 100 mg·L⁻¹ GA₃处理的POD活性最高, 与对照相比差异显著, 其他2个处理的POD活性与对照相比差异不显著, 3个浓度处理间差异不显著。GA₃浸种后CAT活性增加, 但随着浓度的增加, 活力又逐渐下降, 100和250 mg·L⁻¹ GA₃处理的CAT活性与对照差异显著, 当GA₃浓度增大到500 mg·L⁻¹时, CAT活性与对照相比没有差异。GA₃浸种明显增强了种子的SOD、CAT和POD的活性, 保护种子在萌发过程中免受超氧自由基的伤害, 从而提高种子活力, 这一结果与周广栋等(2005)、刘凤等(2009)、李海平和任彩

表2 GA₃浸种对种子抗氧化酶活性的影响Table 2 Effect of GA₃ on antioxidant enzyme activity in soaking seeds

GA ₃ 浓度/mg·L ⁻¹	SOD活性/U·mg ⁻¹ (蛋白)	POD活性/U·mg ⁻¹ (蛋白)·min ⁻¹	CAT活性/U·mg ⁻¹ (蛋白)·min ⁻¹
0	56.43 ^{bc}	14.16 ^b	4.30 ^c
100	54.70 ^{bc}	16.62 ^a	8.84 ^a
250	65.53 ^a	16.32 ^{ab}	5.40 ^b
500	58.77 ^b	16.56 ^{ab}	4.00 ^c

同列数字旁不同小写字母表示在5%水平上差异显著。

文(2009)的研究结果相符。

4 GA₃浸种对丙二醛(MDA)含量的影响

过剩自由基的毒害之一是引发或加剧膜脂过氧化作用, MDA是膜脂过氧化的直接产物。如图2所示, GA₃浸种后, 种子MDA含量下降, 这一结果与周广栋等(2005)、刘凤等(2009)的研究结果相符。随着浓度的增大, MDA下降的幅度越大。当GA₃浓度增大到250和500 mg·L⁻¹时, MDA含量与对照相比, 差异极显著。GA₃浸种后MDA含量降低, 原因可能是GA₃具有修复受损细胞膜的功能, 能降低膜脂过氧化程度。

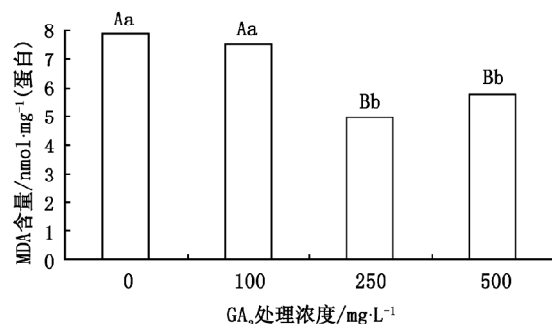
图2 GA₃浸种对种子MDA含量的影响

Fig.2 Effect of GA₃ on MDA content in soaking seeds

不同大写字母表示在1%水平上差异显著, 不同小写字母表示在5%水平上差异显著。

参考文献

- 陈鸿鹏, 谭晓风(2007). 超氧化物歧化酶(SOD)研究综述. 经济林研究, 25 (1): 59~65
- 陈训, 巫华美(2003). 中国贵州杜鹃花. 贵阳: 贵州科技出版社, 23~24
- 耿玉英(2001). 大白花杜鹃的迁地保护及种子繁殖. 中国植物园, (6): 136~143
- 金培锋, 边才苗, 杨武杰, 柯嘉铭(2007). 云锦杜鹃种子繁育及幼树移栽试验. 浙江林业科技, 27 (2): 34~37
- 李海平, 任彩文(2009). 赤霉素浸种对苦荞种子萌发生理特性的影响. 山西农业科学, 37 (2): 19~21
- 李赫男, 周盟(2008). 不同化学药剂对黄花乌头种子萌发的影响. 吉林农业科技学院学报, 17 (4): 5~7
- 刘凤, 曹帮华, 蔡春菊, 唐全, 曹玉翠, 贾波(2009). GA₃提高毛竹种子活力的机理探索. 西南林学院学报, 29 (1): 22~25
- 任秋萍, 李会青, 张演义, 蔡燕(2008). 外源 GA₃ 及酸化处理对一串红种子萌发的影响. 种子, 27 (5): 43~46
- 王晓蓓, 韩烈保, 刘春霞(2007). 优良水土保持灌木——野生荆条种子发芽实验研究. 辽宁林业科技, (4): 30~32
- 夏含嫣, 杜红梅, 黄丹枫(2006). GA₃ 处理对仙客来种子萌发的影响. 种子, 25 (4): 15~17
- 颜启传(2001). 种子学. 北京: 中国农业出版社, 115
- 张长芹, 冯宝钧, 赵革, 吕正伟, 杨增宏(1992). 杜鹃花的种子繁殖. 云南植物研究, 14 (1): 87~91
- 张乐华, 刘向平, 王凯红, 王兆宏, 李晓花(2006). 杜鹃属植物种子育苗研究. 园艺学报, 33 (6): 1361~1364
- 赵世杰, 刘华山, 董新纯(1998). 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科技出版社
- 周广栋, 王秀峰, 魏珉, 尹燕东(2005). 提高甜椒种子活力的方法及机理初探. 西北农业学报, 14 (3): 89~93