

极度濒危植物大果木莲种子的休眠与萌发

潘睿^{1,2}, 孙卫邦^{1,*}

¹中国科学院昆明植物研究所昆明植物园, 昆明 650204; ²中国科学院研究生院, 北京 100039

摘要: 大果木莲种子具吸水性, 胚未完全发育。新鲜种子 25 °C 下的萌发率仅 2%, 在 30/20 °C 和 20/10 °C 的条件下 30 d 内分别有 27% 和 36% 种子萌发。在 20/10 °C 下, 1 000 mg·L⁻¹ 浓度的 GA₃ 可以有效打破种子休眠。冷层积 120 d 的种胚生长不显著, 大果木莲种子具有条件休眠特性, 属于浅度简单型形态生理休眠。种子经冷层积 60 d 的萌发率最高, 而后下降, 提示其可能有休眠循环现象。

关键词: 大果木莲; 种子; 条件休眠; 形态生理休眠; 休眠循环

Seed Dormancy and Germination of the Critically Endangered *Manglietia grandis* Hu et Cheng

PAN Rui^{1,2}, SUN Wei-Bang^{1,*}

¹Kunming Botanical Garden, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Abstract: The seeds of *Manglietia grandis* Hu et Cheng had good water-absorption and the embryos were underdeveloped. Only 2% fresh seeds germinated at 25 °C, while the germination rate could reach 27% and 36% under the condition at 30/20 °C and 20/10 °C during 30 days, respectively. Seeds dormancy could be broken by 1 000 mg·L⁻¹ GA₃ effectively at 20/10 °C. Embryos did not grow markedly during 120 days cold stratification, indicating the seeds were conditionally dormant, which belonged to morphophysiological simple dormancy. When the seeds had been in cold stratification for 60 days the germination rate was maximum and then decreased, indicating that the seeds could have dormancy cycles.

Key words: *Manglietia grandis* Hu et Cheng; seeds; conditional dormancy; morphophysiological dormancy; dormancy cycle

大果木莲是木兰科(Magnoliaceae)木莲属的植物, 属于国家II级重点保护野生植物(傅立国1992), 零星分布于广西西南部与云南东南部(刘玉壶1996)。最近调查发现, 中国境内的大果木莲有1 200~1 500株成熟个体, 其可能的分布范围约4 908 km², 而主要分布区云南东南的实际占有面积约0.3 km²。因此大果木莲被世界自然保护联盟(International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, IUCN)评估为极度濒危植物(Cicuzza等2007)。大果木莲叶大而浓绿, 花大而芳香, 可作我国南方地区城市庭园的观赏树种; 又因其木材细致, 具有耐腐耐湿而不易被虫蛀的特性, 也是一种难得的优良用材树种(傅立国1992)。种子繁殖是大果木莲主要的繁殖途径, 但有关大果木莲种子休眠与萌发的研究尚未见报道。本文对大果木莲种子的休眠类型与萌发条件进行了相关的研究, 以期为该物种的种质资源的有效保存与可持续利用提

供基础资料。

材料与方法

试验用大果木莲(*Manglietia grandis* Hu et Cheng)种子于2008年10月采集于云南马关和麻栗坡。采集后的大果木莲种子需用清水浸泡24 h, 洗去外部假种皮后于通风干燥处摊晾, 阴干后即可用于实验, 不立即进行实验的种子置于4 °C冰箱中保存。

为研究种子的吸水性, 取30粒大果木莲种子, 气干状态下称量其干重, 加入蒸馏水, 置于25 °C恒温箱中吸涨。前12 h, 每隔2 h取出一次进行称

收稿 2009-09-17 修定 2009-09-30

资助 国际植物园保护联盟中国木兰科项目(6206/R4331)和云南省中青年学术与技术带头人项目(2006PYo1-48)。

* 通讯作者(E-mail: wbsun@mail.kib.ac.cn; Tel: 0871-5223622)。

重,用滤纸吸去种子表面的水分,并用1/1 000精度的电子天平迅速称重;而后每隔12 h取出称重一次,直至吸水达饱和状态为止。以种子重量随吸水时间的变化表示吸水率,重复3次。

鉴定种子各部位生物浸提液时,称取大果木莲种子的中种皮及胚乳(包含胚)各8 g,研碎后加入60 mL蒸馏水,置于25 °C恒温箱中浸提12 h,再震荡12 h。过滤,滤液即为浸提液。取15 cm培养皿,内放置2层滤纸,每皿排放50颗白菜(*Brassica pekinensis*)种子,分别取10 mL上述2种滤液及胚乳滤液与100 mg·L⁻¹ GA₃的混合液(V/V=1:1)加入各皿中,放入25 °C恒温箱中暗培养。24 h与48 h后分别测定发芽率,以蒸馏水为对照,每组实验重复3次。

研究胚的发育时,取新鲜种子、4 °C下冷层积60 d和120 d的种子以及临界发芽(种子已萌发但胚根未突破种皮)的种子各20颗,分别浸泡在蒸馏水中24 h(临界发芽的种子不用浸泡),取出后用滤纸拭干其表面水分,并测量其纵长。用解剖刀将种子纵切,然后将胚取出,放在显微镜下观察。测量其长度,计算胚种比(E:S)。

进行新鲜种子萌发时,首先对大果木莲种子进行表面消毒,使用0.1%的高锰酸钾浸泡30 min,流水冲洗。萌发试验的光照周期为光12 h/暗12 h,光照条件为10.8 μmol·m⁻²·s⁻¹。改变其他生理条件,观察其对大果木莲种子萌发的影响。各组实验条件如下。(1)温度。取12 cm的培养皿,内放置2层滤纸,每皿排放25颗种子,分别置于25 °C、30/20 °C、25/15 °C、20/10 °C及15/6 °C的培养箱中培养(变温处理时间均为12 h),并时常加蒸馏水以保持湿润。(2) GA₃处理。分别取25颗经表面消毒的大果木莲种子于50、500和1 000 mg·L⁻¹的GA₃溶液中浸泡48 h,然后置于铺有2层滤纸的12 cm培养皿中,分别在25 °C、25/15 °C和20/10 °C培养箱中培养,以蒸馏水为对照。(3)低温层积处理。将大果木莲种子与珍珠岩以1:3的比例混合,加水湿润,基质含水量以“手握成团,松手即散”为宜。混合后装入透气性良好的塑料袋中,置于4 °C的冰箱中分别层积40、60、80、100和120 d。层积过程中要保持其基质的通风透气,并适当予以补充水分。进行萌发实验时,取25颗种子置于培养皿中,在25 °C恒温培养箱中进行培养。以上各

组实验均在培养50 d时统计萌发率,种子萌发以胚根突破种皮1 mm为标准。每组实验重复4次。

实验结果

1 大果木莲种子的吸水性

大果木莲种子的假种皮红色肉质;中种皮黑色硬质;内种皮透明膜质,与中种皮结合在一起不易分开;胚乳发达,且富含油脂。图1显示,大果木莲种子在前12 h内吸水率上升较明显,种子重量明显增加。12 h到24 h吸水速率亦较快,24 h之后则处于缓慢吸水阶段,48 h时到达饱和状态。说明大果木莲种子的中种皮透水性好,不影响种子对水分的有效吸收。

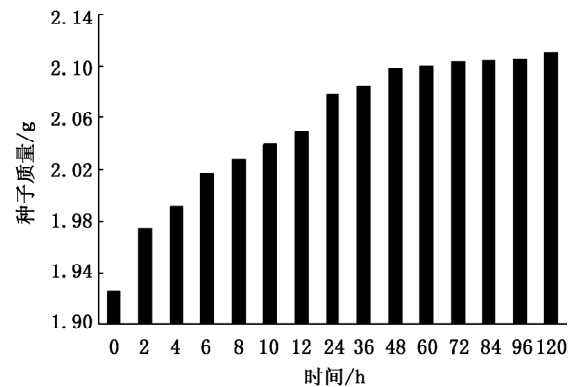


图1 大果木莲种子的吸水性

Fig.1 Water-absorbability of *M. grandis* seeds

2 种子浸提液的生物鉴定

由表1可知,大果木莲种子的胚乳(包含胚)含有发芽抑制物,中种皮则不含有抑制物质,胚乳浸提液的抑制作用可以部分的被100 mg·L⁻¹GA₃所抵消。抑制物质的成分待定,其作用可延缓白菜种子的萌发速率。胚乳浸提液在48 h时对白菜种子的萌发抑制作用已不明显,但对胚根的生长仍然有一定的抑制作用。

3 胚的发育

大果木莲种子的胚很小,位于种子的尖端部位,显微镜下观察已经分化出子叶和胚根。由表2可知,新鲜种子的胚长0.11 cm,在4 °C下冷层积60 d后为0.12 cm,层积120 d后则为0.13 cm。胚的生长幅度很小,胚种比(E:S)由原来的0.13增至0.15。临界萌发种子的胚生长明显,达0.62 cm,胚种比增至0.71。这说明,大果木莲种子的胚属于已分化但未完全发育,是形态上的休眠。

表1 大果木莲种子各组分浸提液对白菜种子萌发的影响

Table 1 Effects of water extracts from different components of *M. grandis* seeds on germination of *Brassica pekinensis* seeds

浸提液	发芽率/%		48 h 的胚根长/cm
	24 h	48 h	
对照	83.33±0.03 ^a	88.67±0.03 ^a	3.42±0.12 ^a
中种皮	79.33±0.03 ^a	88.00±0.02 ^a	3.07±0.10 ^b
胚乳	64.67±0.11 ^b	85.33±0.06 ^a	2.71±0.05 ^c
胚乳+GA ₃ (W/V=1:1)	72.67±0.08 ^{ab}	87.33±0.01 ^a	2.83±0.07 ^c

同一列数字旁字母不同表示在 $P \leq 0.05$ 水平差异显著。

表2 不同时期大果木莲种子胚大小及胚种比(E:S)

Table 2 The embryo size and ratio of embryo/seed (E:S) of *M. grandis* at different growth periods

胚	胚长/cm	胚种比(E:S)
新鲜种子胚	0.11±0.01 ^b	0.13±0.01 ^b
冷层积 60 d 胚	0.12±0.01 ^b	0.14±0.01 ^b
冷层积 120 d 胚	0.13±0.01 ^b	0.15±0.02 ^b
临界发芽种子胚	0.62±0.09 ^a	0.71±0.09 ^a

同一列数字旁字母不同表示在 $P \leq 0.05$ 水平差异显著。

4 影响种子萌发的因素

4.1 温度 表3显示,大果木莲的种子在25℃恒温条件下萌发率只有2%,在15/6℃下根本不萌发,未经任何处理在25/15℃下的萌发率却可达82%。在30/20℃下,大果木莲种子于16d开始萌发,最终萌发率为47%。而在20/10℃下的萌发率介于30/20℃与25/15℃之间,为63%。

表3 不同温度下大果木莲种子的萌发率

Table 3 The germination percentage of *M. grandis* seeds at different temperatures

萌发温度	始萌发天数/d	30 d 萌发率/%	50 d 萌发率/%
25℃	25	2±0.07 ^c	2±0.07 ^d
30/20℃	16	27±0.12 ^b	47±0.12 ^c
25/15℃	22	41±0.08 ^a	82±0.05 ^a
20/10℃	23	36±0.07 ^{ab}	63±0.04 ^b
15/6℃	-	0 ^c	0 ^d

“-”表示缺省。同一列数字旁字母不同表示在 $P \leq 0.05$ 水平差异显著。

4.2 GA₃ 表4显示,GA₃在25℃下可以有效打破大果木莲种子的休眠,随着GA₃浓度的升高,种子的萌发率也随之升高。在20/10℃下,大果木莲种

子的萌发率在500 mg·L⁻¹和1000 mg·L⁻¹GA₃时达到84%,具有明显的促进作用。25/15℃下,GA₃作用不明显,各处理间差异不显著,萌发率均在70%左右。

表4 GA₃对大果木莲种子萌发的影响Table 4 Effects of GA₃ on seed germination of *M. grandis*

GA ₃ 浓度/mg·L ⁻¹	萌发率/%		
	25℃	25/15℃	20/10℃
0	1±0.02 ^c	78±0.05 ^a	55±0.13 ^b
50	18±0.07 ^c	76±0.10 ^a	40±0.07 ^c
500	37±0.17 ^b	70±0.20 ^a	84±0.06 ^a
1000	66±0.07 ^a	68±0.09 ^a	84±0.06 ^a

同一列数字旁字母不同表示在 $P \leq 0.05$ 水平差异显著。

4.3 冷层积处理 大果木莲种子在4℃下层积60d后,萌发率可达80%,几乎完全打破了种子的休眠。冷层积40、80和100d只是部分的打破种子的休眠。层积120d后种子的萌发率更是大幅度下降,只有35%(表5)。大果木莲种子在层积60d后萌发率开始下降,100d时有所增加但与60d相比仍

表5 层积处理对大果木莲种子萌发率的影响

Table 5 Effects of cold stratification on seed germination of *M. grandis*

层积处理/d	始萌发天数/d	萌发率/%
40	15	58±0.07 ^{bc}
60	13	80±0.10 ^a
80	13	51±0.08 ^c
100	15	66±0.05 ^b
120	14	35±0.06 ^d

同一列数字旁字母不同表示在 $P \leq 0.05$ 水平差异显著。

有显著差异。表明大果木莲种子可能有休眠循环现象, 此阶段正是种子进入次生休眠的体现。

讨 论

种子休眠是指在适宜萌发的条件下, 成熟的种子仍不能萌发的特性(Bewley 1997)。Baskin 和 Baskin (2004a) 将种子休眠划分为生理休眠(physiological dormancy)、形态休眠(morphological dormancy)、形态生理休眠(morphophysiological dormancy)、物理休眠(physical dormancy)和联合休眠(combinational dormancy) 5 大类。新鲜成熟的种子可能是休眠或非休眠的, 有时也同时具备这 2 种特性。浅度生理休眠(nondeep physiological dormancy)的种子随着休眠状态的从有到无或者从无到有都会经历一个休眠状态的连续过程(Baskin 和 Baskin 1998)。而这个连续过程中的各个休眠状态, 即介于完全休眠和非休眠之间的休眠状态, 称之为条件休眠(conditional dormancy)(Baskin 等 2005)。条件休眠种子的萌发率低于其完全解除休眠状态下的萌发率。判断种子是否具有条件休眠可给予种子能够打破其生理休眠的各种处理, 观察种子的萌发条件是否会扩展。此外, 种子在成熟时可能已经处于条件休眠的某一状态, 所以可能或者不会进入完全休眠状态。

大果木莲种子的种皮透水性良好, 胚很小, 已分化但发育不完全。拥有未完全发育胚的种子可能具有生理休眠或形态生理休眠(Baskin 和 Baskin 2005)。大果木莲新鲜种子在 25 °C 下 30 d 的萌发率只有 2%, 具有形态生理休眠的特性。30/20 °C、25/15 °C 和 20/10 °C 下, 30 d 内种子的萌发率分别为 27%、41% 和 36%, 继续培养至 50 d 时, 萌发率分别增至 47%、82% 和 63%。20/10 °C 时 GA₃ 有效的打破了种子的生理休眠, 萌发率增至 84%。由此说明, 种子萌发的条件有所扩展, 大果木莲的新鲜种子具有条件休眠的特性。

大果木莲种子在 25/15 °C 下的萌发率达到 82%, 其种胚并不要求 0~10 °C 的层积处理来打破形态生理休眠。实验中的新鲜种子胚以及层积 60 d 和 120 d 种子的胚彼此之间差异性并不显著, 只有临界萌发种子的胚才明显的生长。这说明大果木莲的种子具有浅度简单型形态生理休眠(nondeep

simple morphophysiological dormancy), 冷层积可以打破其休眠中的生理休眠组成。

由上分析可以总结, 大果木莲的新鲜种子属于形态生理休眠类型, 其形态生理休眠的生理休眠组成是浅度的(nondeep)。

在浅度生理休眠的休眠连续状态中, 已经脱离了休眠状态但不萌发的种子再次进入休眠状态, 称之为次生休眠(secondary dormancy)(Baskin 和 Baskin 2004b)。这样, 具有浅度生理休眠的种子在完全休眠与非休眠状态下可能经历的循环称之为休眠循环(Baskin 和 Baskin 1985)。休眠循环现象并不罕见, 许多杂草种子都会经历每年一次的休眠循环。大果木莲种子经过不同时间的冷层积后, 其萌发率在 60 d 时达到最高, 这说明层积 60 d 是行之有效的打破其原有休眠的方法, 而之后的层积处理会导致种子长期处于低温潮湿的环境中, 极易进入次生休眠而产生休眠循环, 与实验结果吻合。说明大果木莲极可能存在种子休眠循环的现象。

参考文献

- 傅立国(1992). 中国植物红皮书——稀有濒危植物(第一册). 北京: 科学出版社
- 刘玉壶(1996). 中国植物志(第30卷, 第1分册). 北京: 科学出版社, 89~91
- Baskin CC, Baskin JM (1985). The annual dormancy cycle in buried weed seeds: A continuum. *BioScience*, 35: 492~498
- Baskin CC, Baskin JM (1998). *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego: Academic Press
- Baskin CC, Baskin JM (2004a). Determining dormancy breaking and germination requirements from the fewest seeds. *Ex situ plant conservation: supporting species survival in the wild*. Washington, D.C.: Island Press, 162~179
- Baskin CC, Baskin JM (2005). Undeveloped embryos in dwarf seeds and implications for assignment to dormancy class. *Seed Sci Res*, 15: 357~360
- Baskin CC, Baskin JM, Yoshinaga A (2005). Morphophysiological dormancy in seeds of six endemic lobelioid shrubs (Campanulaceae) from the montane zone in Hawaii. *Can J Bot*, 83: 1630~1637
- Baskin JM, Baskin CC (2004b). A classification system for seed dormancy. *Seed Sci Res*, 14: 1~16
- Bewley JD (1997). Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 9: 1055~1066
- Cicuzza D, Newton A, Oldfield S (2007). *The red list of Magnoliaceae*. Cambridge: Lavenham Press, 26