

层积处理对打破白魔芋实生种子休眠的影响^①

邓慧君, 刘海利, 牛 义, 张盛林

西南大学 园艺园林学院/南方山地园艺学教育部重点实验室/重庆市高校魔芋研究中心, 重庆 400715

摘要:对白魔芋实生种子分别进行 4℃层积、室内常温层积和 25℃层积处理,应用酶联免疫吸附法(ELISA)测定其内源激素的质量比,并结合发芽试验,探讨种子中内源激素质量比的变化与其休眠萌发的关系.结果表明:①种子经层积处理后发芽率明显高于对照,其中,以 25℃层积处理的种子发芽率最高.②3种层积处理的种子中 IAA, GA₃, ZT 质量比均呈现先升高后降低的趋势,且在层积末期其质量比均高于对照,而 ABA 与之相反,ABA 质量比呈现“V”型变化趋势;所有激素均在层积 40~60 d 时出现峰值.③3种处理的种子中 $\omega_{IAA}/\omega_{ABA}$, $\omega_{GA_3}/\omega_{ABA}$, ω_{ZT}/ω_{ABA} 比值均呈倒“V”型变化趋势,可见,在层积处理 40~60 d 时,促进萌发的激素质量比较高,而抑制萌发的激素 ABA 质量比较低.

关键词:白魔芋;实生种子;内源激素;层积处理;休眠

中图分类号: S632.3

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2018)07-0038-06

白魔芋是天南星科(Araceae)魔芋属(*Amorphophallus Blume*)多年生宿根性草本植物,主要分布在亚洲和非洲的一些国家和地区^[1],而我国主要栽培区域是南方各省的山地丘陵地区^[2].魔芋富含人体所需的多种氨基酸和微量元素^[3],是目前为止发现的唯一能大量合成葡甘聚糖的植物^[4].而葡甘聚糖具有水溶性、增稠性等理化性质,以及改善脂质和糖类代谢、调节肠道功能等生理功能^[5];此外,葡甘聚糖也常作为添加剂添加到保健食品中,尤其在现代“三高”人群日益增多的情况下,魔芋的功效就显得尤为显著.

目前,魔芋主要以球茎繁殖为主,用种量大,储藏、运输时极易受损伤,病菌感染几率增加^[6-7].其次,魔芋长期无性繁殖,其种性严重退化,种芋长期带病菌栽培,导致抗病性下降,魔芋的品质及产量均受到严重影响^[8].利用魔芋实生种子进行繁殖,不仅可以保持种性,发挥杂种优势,还可以减少病菌传播,提高繁殖系数^[9].但是,在自然条件下,魔芋实生种子的休眠期较长,出苗率低且出苗不整齐^[10],这成为魔芋实生种子栽培应用的主要限制因素,其原因尚不清楚.目前有关魔芋实生种子解除休眠的方法已有报道,彭凤梅^[10]、李川^[11]、陆红叶^[12]等分别对解除魔芋种子休眠的方法进行了研究,但未对其作层积相关处理研究,且其休眠机制尚不清楚.本研究对白魔芋实生种子进行不同层积处理,探究内源激素的质量比变化对种子休眠与萌发的影响,了解魔芋实生种子的休眠特性,掌握休眠期间内源激素的变化规律,旨在对快速提高实生种子的发芽率提供理论依据,同时对实生种子栽培有一定的实践指导意义.

① 收稿日期: 2017-11-20

基金项目: 重庆市科委社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2017shms-kjfp80041).

作者简介: 邓慧君(1991-),女,硕士研究生,主要从事蔬菜育种及相关生理研究.

通信作者: 张盛林,研究员,硕士研究生导师.

1 材料与方法

1.1 材料及处理

2016 年 12 月采自四川省雷波县自然授粉的白魔芋实生种子. 种子千粒质量为 171.86 g, 含水率为 65.42%.

将刚采收的白魔芋实生种子洗去果浆、果皮后, 于恒温干燥箱中 35 ℃ 失水处理, 失水 10% 左右后, 用高温消毒处理后的干河砂分别进行 4 ℃ 低温层积、室内常温层积和 25 ℃ 暖温层积. 层积处理前, 即 12 月 16 日取材一次作为对照, 之后每隔 20 d 随机取样一次, 共取样 6 次, 将取样后的种子迅速投入液氮中, 然后置于 -80 ℃ 超低温冰箱保存备用.

1.2 方法

1.2.1 发芽率

发芽试验前, 用 10% 的 NaClO 溶液对种子浸泡 15 min 左右进行消毒处理. 将处理后的种子均匀撒在培养皿中, 3 层滤纸作为发芽床, 每皿 30 粒, 3 次质复. 后置于 25 ℃ 恒温恒湿培养箱中. 发芽期间, 保持滤纸湿润, 每 10 d 喷洒一次多菌灵. 每 2 d 统计种子发芽率. 直到发芽结束.

$$\text{发芽率} \% = (\text{正常发芽种子数} / \text{发芽试验种子总数}) \times 100 \%$$

1.2.2 内源激素含量的测定

种子在冰浴的磷酸缓冲液中漂洗, 滤纸拭干, 准确称取 0.2 g~0.5 g, 放入 5 mL 的匀浆管中. 按质量 (mg) 与体积 (mL) 比为 1:4 的比例加入 4 倍体积的匀浆介质于匀浆管中, 在冰浴条件下, 快速剪碎种子. 匀浆管下端置于冰水混合物中, 将捣杆垂直插入套管中, 上下转动研磨 6~8 min, 充分研碎, 制成 20% 的匀浆液. 接着用组织捣碎机以 10 000~15 000 r/min 的转速研磨制成 20% 组织匀浆, 后进行镜检观察. 将制备好的 20% 匀浆液用低温低速离心机以 4 000 r/min 的转速离心 15 min, 取上清液进行测定. 测定方法采用酶联免疫法 (ELISA), 所用试剂盒购于上海优选生物公司. 所有样品重复测定 2 次, 取平均值.

1.3 数据统计

所得数据用 EXCEL 作图并进行统计分析.

2 结果与分析

2.1 不同层积处理下白魔芋实生种子发芽率的变化

试验结果表明, 白魔芋实生种子的发芽率在不同层积处理下存在差异. 由图 1 可知, 未经层积处理的种子, 其发芽率仅为 10%; 经过层积处理的种子, 其发芽率有明显提高. 其中, 种子在 4 ℃ 层积处理下层积 60 d 时, 发芽率明显下降, 且低于层积处理 40 d 的种子的发芽率. 常温层积 80 d 时, 发芽率有所下降, 而在 100 d 时其发芽率又保持在一个较高水平. 种子在 25 ℃ 层积处理过程中, 发芽率逐渐上升. 以上结果表明, 白魔芋实生种子经层积处理后均能有效解除种子休眠并促进萌发, 在 25 ℃ 层积处理下效果最好.

2.2 白魔芋实生种子中 ABA 质量比的变化

白魔芋实生种子中 ABA 质量比 ω_{ABA} 的变化呈现出“V”字型的变化趋势. 在层积初期种子中 IAA 质量比 ω_{IAA} 呈现出先明显下降, 层积一段时间后, 又明显上升的状态. 由图 2 可知, 经层积处理后的种子其 ω_{ABA} 均低于对照. 其中, 4 ℃ 层积和 25 ℃ 层积处理的种子其 ω_{ABA} 在层积处理 40 d 时达极值 (326.17 ng/g 和 391.03 ng/g), 分别是对照的 0.5 倍和 0.6 倍, 常温层积处理的种子其 ω_{ABA} 在层积 60 d 时达峰值 (452.54 ng/g), 最小值是对照的 0.7 倍. 在层积末期, 经过不同层积处理的种子其 ω_{ABA} 均趋于一致. 这 3 种不同层积处理中, 4 ℃ 层积处理的种子其 ω_{ABA} 波动最明显, 且峰值最小, 而常温层积处理的种子 ω_{ABA} 波动最小.

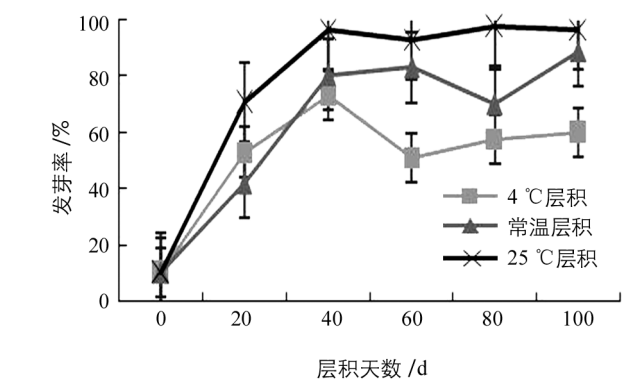


图 1 不同层积处理的种子的发芽率

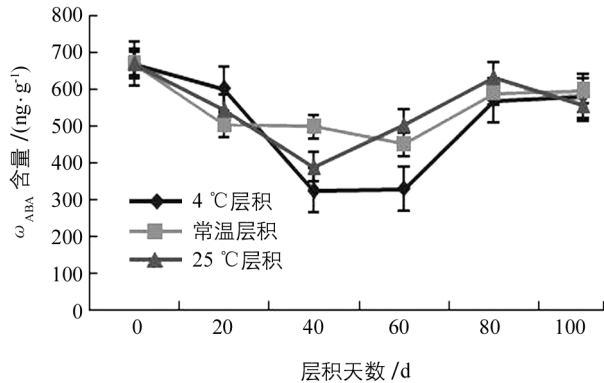


图 2 不同层积处理的种子中 ω_{ABA} 的变化

2.3 白魔芋实生种子中 GA₃ 质量比的变化

在不同层积处理过程中,白魔芋实生种子中 GA₃ 质量比(ω_{GA_3})变化整体趋势是先逐渐升高,达到峰值后又逐渐降低的趋势(图 3). 其中,4 °C 层积和常温层积在层积初期,种子中 ω_{GA_3} 下降至最低值(92.99 ng/g 和 73.19 ng/g),随着层积时间的延长,经层积处理的种子中 ω_{GA_3} 均升高,在层积 60 d 时达峰值(147.97 ng/g, 128.8 ng/g 和 183.79 ng/g),分别是对照的 1.4 倍、1.3 倍和 1.8 倍;在层积 80 d 时, ω_{GA_3} 又逐渐降低,并在层积 100 d 时下降至与对照接近. 这 3 种不同层积处理下,25 °C 层积处理的种子 ω_{GA_3} 在整个层积过程中均高于常温层积和 4 °C 层积,而常温层积的种子中 ω_{GA_3} 在整个过程中处于最低值.

2.4 白魔芋实生种子中 IAA 质量比的变化

在层积过程中,从整体趋势看,不同层积处理下白魔芋实生种子中 IAA 质量比 ω_{IAA} 变化是先升高后逐渐降低的趋势. 在层积初期, ω_{IAA} 均是急剧升高,随着层积时间的延长, ω_{IAA} 达一峰值,接着 ω_{IAA} 逐渐下降,在层积末期, ω_{IAA} 趋于平缓. 由图 4 可知,经过层积处理的种子中 ω_{IAA} 均高于对照,其中 4 °C 层积和 25 °C 层积处理的种子中 ω_{IAA} 均在层积 40 d 时达最大(78.83 ng/g 和 71.27 ng/g),分别是对照的 1.9 倍和 1.6 倍;常温层积处理的种子在层积 60 d 时 ω_{IAA} 达最大(63.71 ng/g),是对照的 1.8 倍;在层积末期,不同层积方式下 ω_{IAA} 无明显差异. 在 3 种不同层积处理下,4 °C 层积处理的种子其 ω_{IAA} 波动最大,且峰值最大,常温层积的种子其 ω_{IAA} 波动最小.

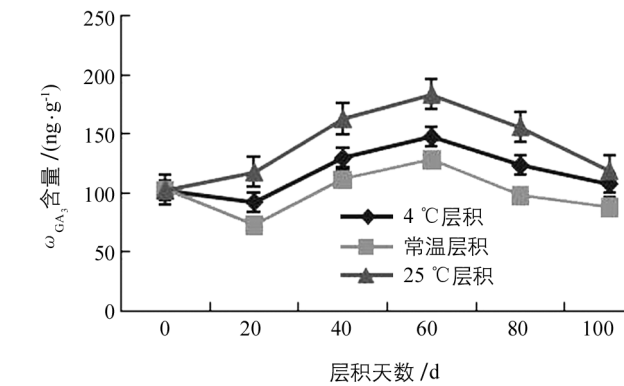


图 3 不同层积处理的种子中 ω_{GA_3} 的变化

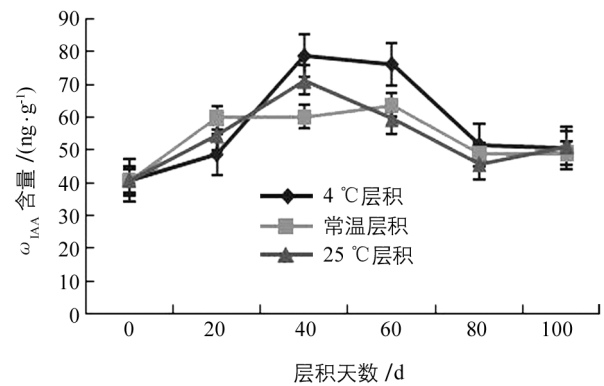


图 4 不同层积处理的种子中 ω_{IAA} 的变化

2.5 不同层积过程中种子中 ZT 质量比的变化

在层积处理中,白魔芋实生种子中 ZT 质量比 ω_{ZT} 的整体变化趋势是先逐渐升高,升高至一峰值后又逐渐降低的趋势. 在层积初期,种子中 ω_{ZT} 逐渐升高,4 °C 层积和 25 °C 层积处理的种子在层积 60 d 时上升至峰值(90.8 ng/g 和 100.15 ng/g),常温层积处理的种子在层积 40 d 时上升至峰值(82.45 ng/g),

随着层积时间的延长,层积 60 d 时 ω_{ZT} 又逐渐降低,在层积 100 d 时均下降至最小值. 由图 5 可知,经过层积处理的种子中的 ω_{ZT} 在层积 80 d 前均高于对照(0 d),而在层积 100 d 时种子中的 ω_{ZT} 低于对照,分别是 57.51 ng/g、52.52 ng/g、62.87 ng/g. 在这 3 种不同层积处理下,种子中 ω_{ZT} 均呈显著性变化,其中,25 ℃ 层积处理的种子 ω_{ZT} 在整个层积过程中均高于常温层积和 4 ℃ 层积,常温层积的种子中 ω_{ZT} 在整个过程中处于最低值.

2.6 白魔芋实生种子 4 种内源激素质量比的比值的变化规律

随着层积时间的延长,不同层积处理下的种子中各激素含量的比值变化波动较大. $\omega_{IAA}/\omega_{ABA}$, $\omega_{GA_3}/\omega_{ABA}$, ω_{ZT}/ω_{ABA} 比值的变化趋势基本一致,在层积初期均逐渐上升,随着层积天数的增加,各激素比值均上升至一峰值,后逐渐下降(图 6). 其中, $\omega_{IAA}/\omega_{ABA}$ 比值的整体变化趋势与 ω_{IAA} 的变化一致. 4 ℃ 层积和 25 ℃ 层积处理的种子中 $\omega_{IAA}/\omega_{ABA}$ 比值在处理 40 d 时达最大,常温层积的种子中 $\omega_{IAA}/\omega_{ABA}$ 比值在处理 60 d 时达最大,但在层积结束时, $\omega_{IAA}/\omega_{ABA}$ 比值处于一个较低水平. 在 4 ℃ 层积和 25 ℃ 层积处理时 $\omega_{GA_3}/\omega_{ABA}$ 和 ω_{ZT}/ω_{ABA} 比值均在处理 60 d 时达到峰值,后均逐渐下降至对照接近. 25 ℃ 层积处理时的 $\omega_{GA_3}/\omega_{ABA}$ 和 ω_{ZT}/ω_{ABA} 在 40 d 时达到峰值. 不同层积处理中种子的激素比值变化均是常温层积的波动最小,4 ℃ 层积和 25 ℃ 层积处理的激素比值波动较大. 由此可见,种子的休眠与萌发不仅与种子中内源激素的含量有关,还与各激素间的平衡关系有关.

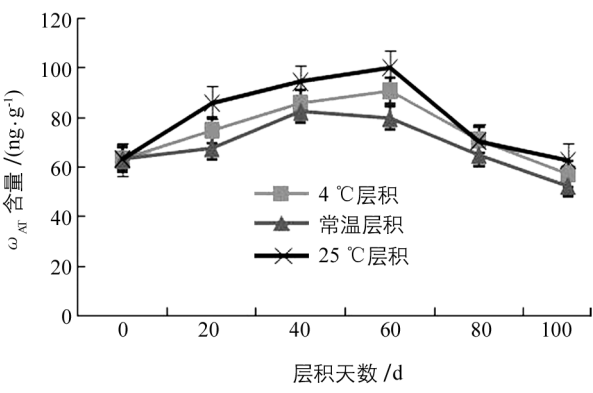


图 5 不同层积处理的种子中 ZT 质量比的变化

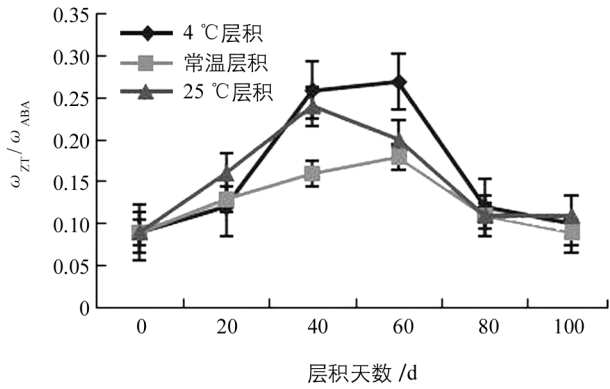
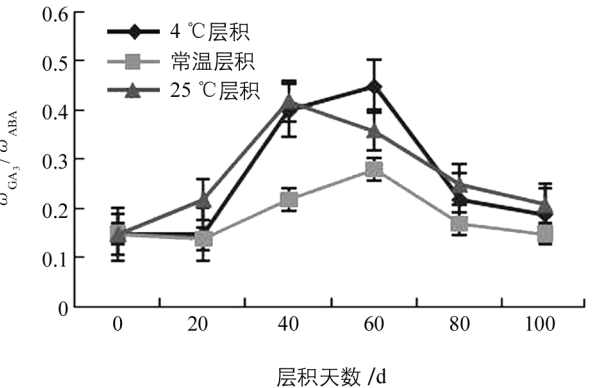
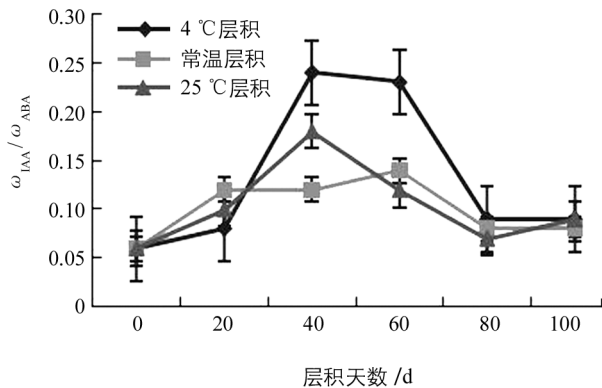


图 6 不同层积处理的种子中各内源激素比值的变化

3 结论与讨论

大量研究表明,激素对种子休眠的诱导和萌发的促进方面起着重要作用^[13]. ABA 作为种子休眠诱导的关键因子,主要通过促进种子贮藏蛋白和脂肪的合成,促进种子脱水耐性和种子休眠的诱导,从而抑制种子萌发^[14]. 作为 ABA 的拮抗因子 GA^[15],它能促进核酸酶、蛋白水解酶等的表达,从而解除休眠,促进种子萌发^[16]. 而 IAA 对种子的休眠同样有着有正向调控作用^[17]. ZT 是高等植物中存在的较多的细胞分裂素,有研究^[18]认为,ZT 能克服抑制物的作用,从而打破种子休眠,促进萌发. 本研究中,种子中 ω_{ABA} 呈现先下降后逐渐升高,在层积结束时, ω_{ABA} 低于对照的变化趋势,而 ω_{GA_3} 整体变化趋势呈现倒“V”型,先升高后逐渐降低,并在层积 60 d 时达峰值,在层积末期 ω_{GA_3} 高于对照,这可能是由于其增加了植物种子内部水解酶的合成,并对破损细胞膜进行了修复,从而提高种子的活力及发芽率^[19]. ω_{IAA} 整体变化趋势是先升高后降低,与陆秀君^[20]的试验结果类似,但在层积末期 ω_{IAA} 高于对照,说明种子经过层积处理对于种子休眠的释放及萌发的促进有一定作用. ω_{ZT} 的变化与紫椴种子^[21] ω_{ZT} 的变化一致,同样是倒“V”型,且在层积末期, ω_{ZT} 高于对照. 说明 ZT 具有抵消发芽抑制物质的作用,调控种子发育中的物质和能量代谢^[22].

种子休眠的解除与萌发的过程中,不仅与某一类激素含量的高低有关,还取决于各激素直接的平衡关系^[19]. 本研究中, $\omega_{GA_3}/\omega_{ABA}$, $\omega_{IAA}/\omega_{ABA}$, ω_{ZT}/ω_{ABA} 比值均呈现出先升高后逐渐降低的趋势,说明在这期间,种子中萌发促进物质与萌发抑制物质之间的平衡被打破,这对种子的休眠的解除有促进作用. 种子在层积末期, $\omega_{GA_3}/\omega_{ABA}$, $\omega_{IAA}/\omega_{ABA}$, ω_{ZT}/ω_{ABA} 均较低,说明种子内含有较高 ω_{ABA} 可能是魔芋实生种子休眠的主要原因. 在层积 40~60 d 时,各激素比值均达最大值,且 4℃ 低温层积和 25℃ 层积在层积 40~60 d 时,种子内 ω_{ABA} 值较小,而 ω_{IAA} , ω_{GA_3} , ω_{ZT} 较大,种子休眠与萌发最关键激素 $\omega_{GA_3}/\omega_{ABA}$ 比值也最大,说明此时有利于解除休眠,促进种子萌发.

综上所述,经过层积处理的种子,其促进种子萌发物质 IAA、GA₃、ZT 均在层积一段时间后由一个峰值下降,而诱导休眠物质 ABA 在层积一段时间后下降至最低值后又上升,这可能是由于种子在层积 40~60 d 时休眠被解除,但继续层积,没有提供给种子适宜的环境萌发,导致种子进入了二次休眠. 由种子发芽试验可知,经层积处理的种子发芽率均高于对照,其中 25℃ 层积处理的种子有较高水平的发芽率. 由此推断,25℃ 层积 40~60 d 时能有效破除魔芋实生种子的休眠,提高其发芽率. 据此,本研究的结果可为魔芋实生种子的贮藏及实生苗的培育提供参考依据.

参考文献:

- [1] 刘佩瑛,张盛林. 中国的魔芋产业 [J]. 畜牧市场,2002(12): 37—38.
- [2] 牛 义,张盛林,王志敏,等. 中国魔芋资源的研究与利用 [J]. 西南农业大学学报(自然科学版),2005,27(5): 634—638.
- [3] 刘佩瑛. 魔芋学 [M]. 北京: 中国农业出版社,2004.
- [4] 尉 芹,马希汉. 魔芋开发利用研究综述 [J]. 西北林学院学报,1998,13(3): 62—67.
- [5] 魏恩慧,吴继红,刘 冰,等. 魔芋葡甘聚糖的性质及在食品中的应用 [J]. 食品工业,2016(5): 239—242.
- [6] 陈国爱,郭邦利,刘 婷,等. 魔芋新品种选育研究进展 [J]. 长江蔬菜,2015(4): 5—7.
- [7] 钟伏付,苏 娜,杨廷宪,等. 魔芋品种选育与改良研究进展 [J]. 湖北农业科学,2011,50(3): 446—449.
- [8] 谢春梅,何丽萍,吴华英,等. 魔芋实生种子利用的研究进展 [J]. 中国种业,2005(7): 15—17.
- [9] 张国云,杨俊华. 魔芋种子繁殖技术 [J]. 蔬菜,2006(3): 16.
- [10] 彭凤梅,王晓鹏,谢世清. 温度和药剂处理对白魔芋实生种子萌发的影响 [J]. 种子,2004,23(4): 50—51,75.
- [11] 李 川. 白魔芋种子发芽过程中的生理生化研究 [D]. 重庆: 西南大学,2006.
- [12] 陆红叶,王 迪,潘嘉琦,等. 赤霉素对珠芽魔芋种子萌发的影响 [J]. 农学学报,2017,7(2): 59—62.
- [13] 傅家瑞. 植物激素在种子休眠中的调节作用 [J]. 中山大学学报(自然科学版),1974(3): 105—112.

- [14] 江 玲, 万建民. 植物激素 ABA 和 GA 调控种子休眠和萌发的研究进展 [J]. 江苏农业学报, 2007, 23(4): 360—365.
- [15] KOORNNEEF M, JORNA M L, SWAN B V D, et al. The Isolation of Absciscic Acid (ABA) Deficient Mutants by Selection of Induced Revertants in Non-germinating Gibberellin Sensitive Lines of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh [J]. Theoretical & Applied Genetics, 1982, 61(4): 385—393.
- [16] NAMBARA E, AKAZAWA T, MCCOURT P. Effects of the Gibberellin Biosynthetic Inhibitor Uniconazole on Mutants of *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 1991, 97(2): 736—738.
- [17] 谷丽萍, 郭永清, 沈永宝, 等. 两种层积处理方式对北美鹅掌楸种子 4 种内源激素物质含量变化的影响 [J]. 西部林业科学, 2009, 38(1): 87—90.
- [18] 田义新, 杨继祥, 李向高, 等. 玉米素、乙烯利对人参种子休眠的理化影响 [J]. 种子, 1993, 9(6): 19—22.
- [19] 罗 珊, 康玉凡, 夏祖灵. 种子萌发及幼苗生长的调节效应研究进展 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(2): 28—32.
- [20] 陆秀君, 梅 梅, 刘月洋, 等. GA₃ 和变温层积对天女木兰种子萌发及内源激素的影响 [J]. 西北植物学报, 2014, 34(9): 1828—1835.
- [21] 杨立学, 王海南, 张 琳, 等. 低温层积过程中紫椴种子内源激素含量的变化 [J]. 经济林研究, 2012, 30(2): 15—18.
- [22] 吴元奇, 冷亦峰, 夏 超, 等. 不同休眠玉米种子内源激素的含量测定和分析 [J]. 草业学报, 2015, 24(12): 213—219.

Effects of Stratification Treatments on Dormancy in *Amorophallus albus* Seeds

DENG Hui-jun, LIU Hai-li, NIU Yi, ZHANG Sheng-lin

School of Horticulture and Landscape, Southwest University / Key Laboratory of Southern Mountain Horticulture,
Ministry of Education / Konjac Research Center of Chongqing Universities, Chongqing 400715, China

Abstract: *Amorophallus albus* seeds were treated with stratification at 4 °C, room temperature and 25 °C, then enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the contents of endogenous hormones in them, and a germination test was made to study the relationship between endogenous hormone contents and seed dormancy/germination. The results showed that the germination rate of seeds treated with stratification was significantly higher than that of the control, and the germination rate of seeds treated with stratification at 25 °C was the highest. The contents of IAA, GA₃ and ZT in the seeds increased first and then decreased in all stratification treatments and were higher than those of the control at the end of the treatment. In contrast, ABA showed a V-shaped change. All the hormones studied showed a peak value at 40—60 d stratification. IAA/ABA, GA₃/ABA and ZT/ABA in the treated seeds all showed an inverted “V” trend of change, which suggested that during the 40-60d stratification treatment the contents of germination-promoting hormones were relatively high and the content of the germination-inhibiting hormone ABA was relatively low.

Key words: *Amorophallus albus*; seed; endogenous hormone; stratification treatment; dormancy

责任编辑 潘春燕

