

外源赤霉素对紫斑牡丹种子萌发的影响

李婉茹¹, 张双羽¹, 唐红¹, 何丽霞²

(1 甘肃农业大学 林学院, 兰州 730070; 2 甘肃省牡丹工程研究中心, 兰州 730046)

摘要:以紫斑牡丹种子为试验材料, 研究不同浓度的赤霉素(GA₃)处理对种子生根以及生根过程中营养物质、酶活性和内源激素水平变化的影响, 为探讨紫斑牡丹种子萌发机制提供依据。结果表明:(1)GA₃处理能够促进种子生根, 并以300 mg/L GA₃处理对种子生根效果最好, 与对照相比可提前14.67 d生根, 生根率可达71.00%。(2)与对照相比, GA₃处理可以在0~15 d时促进种子淀粉水解和可溶性糖的积累, 并加速可溶性蛋白的消耗, 在0~30 d促进过氧化物酶(POD)活性的提高, 从而促进种子萌发生根。(3)在种子沙藏生根过程中, 种子脱落酸(ABA)含量呈下降趋势, 赤霉素(GA)、玉米素核苷(ZR)和吲哚乙酸(IAA)含量均表现出先上升后下降的趋势, 与对照相比, GA₃处理可使种子GA、ZR和IAA的含量在沙藏前期明显上升, 以解除种子休眠。研究发现, 外源GA₃处理可以调控紫斑牡丹种子内源激素含量和POD活性的变化, 促进营养物质转化, 从而提前解除种子休眠使其萌发。

关键词:紫斑牡丹; 种子生根; 赤霉素; 内源激素

中图分类号: Q945.34; S685.11 文献标志码: A

Effect of Exogenous Gibberellic Acid on *Paeonia rockii* Seeds Germination

LI Wanru¹, ZHANG Shuangyu¹, TANG Hong¹, HE Lixia²

(1 College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730000, China; 2 Gansu Engineering Research of Peony, Lanzhou 730046, China)

Abstract: The study used seeds of *Paeonia rockii* treated with different concentrations of gibberellic acid (GA₃) to investigate the effects of rooting and the variation of nutritious substances, enzyme activity and endogenous hormones content during different rooting stages to provide a basis for clarifying the mechanism of seed germination. The results showed that: (1) GA₃ treatment could effectively promote the rooting of seeds. 300 mg/L GA₃ treatment was the best to promote rooting with the highest rooting rates of 71.00% and made the first seed rooting time shorter 14.67 days than control treatment. (2) Compared with the control, GA₃ treatment could promote hydrolysis of the starch, soluble sugar accumulation and soluble protein consumption of seeds in the first 15 days. It also could accelerate improvement of activity of peroxidase (POD) in the first 30 days. (3) During sand stratification process, abscisic acid (ABA) content decreased gradually, gibberellic acid (GA), zeatin riboside (ZR) and indole-3-acetic acid (IAA) contents increased first and then decreased. Compared with the control, GA₃ treatment could increase the contents of GA, ZR and IAA which significantly improve dormancy breaking. The study found that GA₃ treatment can regulate the contents of endogenous hormones, POD activity and the transformation of nutrients, thus seeds of *Paeonia rockii* can break dormancy and germinate in advance.

Key words: *Paeonia rockii*; seed rooting; gibberellic acid (GA₃); endogenous hormones

收稿日期: 2019-07-13; 修改稿收到日期: 2019-09-22

基金项目: 甘肃省牡丹工程研究中心项目(XZ20181120); 甘肃省科技支撑计划项目(1604NKCA053)

作者简介: 李婉茹(1995-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事观赏植物栽培与应用方面研究。E-mail: jilala304@163.com

* 通信作者: 唐红, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事园林观赏植物遗传育种研究。E-mail: gsth@21cn.com

紫斑牡丹 (*Paeonia rockii*) 是芍药科芍药属牡丹组木本植物, 因其花瓣基部有一个明显的斑块而得名^[1]。紫斑牡丹具有抗旱、抗寒和适应性强的优点^[2], 在甘肃境内具有广泛的栽培基础。近年来有研究发现紫斑牡丹籽油具有较好的食用保健价值^[3], 因此紫斑牡丹作为油料兼观赏木本植物, 具有极大的经济效益和开发前景。目前种子繁殖仍是紫斑牡丹大规模培育的重要方法, 然而其种子萌发成苗困难^[4], 给紫斑牡丹的规模化生产带来了极大挑战。

种子萌发是一个复杂的生理生化变化过程, 与内部贮藏的营养物质和激素含量变化密切相关^[5]。首先, 种子内贮藏的营养物质主要有脂肪、蛋白质和淀粉。在种子萌发过程中, 脂类物质可以分解为糖和蛋白质; 种子内部的淀粉水解为可溶性糖, 而可溶性糖是种子生命活动中的主要呼吸基质, 参与能量代谢^[6]; 种子中的可溶性蛋白参与各种代谢活动, 为生命活动提供物质基础^[6]。过氧化物酶 (peroxidase, POD) 是植物体内参与各种生理活动的一类氧化酶, 在种子萌发中也有重要作用^[5]。其次, 种子的休眠和萌发与种子内源激素的变化有关。脱落酸 (abscisic acid, ABA) 能够抑制酶活性, 影响代谢和相关蛋白合成, 进而抑制种子萌发^[7-9]。赤霉素 (gibberellic acid, GA) 可以增强酶活性, 促进种子萌发^[10]。玉米素核苷 (zeatin riboside, ZR) 是一种结合态的细胞分裂素 (cytokinin, CTK), 能够促进细胞分裂^[11], 而吲哚乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA) 则能够促进细胞伸长, 因而促进种子萌发^[12]。ABA、GA、ZR 和 IAA 及其相互作用对种子萌发具有重要的调节作用^[12-14]。

牡丹 (*Paeonia ostii*) 种子具有双休眠的特性, 包括下胚轴和上胚轴的休眠, 尤其是上胚轴的休眠更为典型^[15], 因此在播种繁殖中种子难以萌发, 从而影响后续栽培。目前有许多研究表明, 只有当牡丹种子根长 ≥ 4 cm 时, 才能进一步施加有效措施打破上胚轴休眠^[16-17]。GA 作为一种植物激素, 对于打破种子休眠促进萌发方面具有重要作用^[18-19]。目前, 已有研究发现适宜浓度的 GA₃ 处理可以解除大花黄牡丹 (*Paeonia ludlowii*)^[20]、黄牡丹 (*Paeonia lutea*)^[21] 和卵叶牡丹 (*Paeonia qiui*)^[22] 等种子的下胚轴休眠, 促进胚根生长。

目前, 关于打破甘肃紫斑牡丹种子下胚轴休眠的最佳 GA₃ 浓度, 以及在生根过程中种子的生理生化和内源激素的变化还未见报道。因此本试验探究

不同浓度的 GA₃ (0、100、200、300、400、500 mg/L) 处理对紫斑牡丹种子生根的影响, 以及生根过程中种子营养物质含量、POD 活性和内源激素水平的动态变化, 为进一步探讨紫斑牡丹种子打破休眠和萌发的机理提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料培养与处理

紫斑牡丹种子于 2018 年 8 月采自甘肃省兰州市省科技厅南山绿化基地。采收后紫斑牡丹种子先在室温条件下阴干 7 d。种子用清水冲洗后, 取下沉的大小均匀的饱满种子, 再用 0.5% KMnO₄ 浸泡消毒 2 h, 用超纯水冲洗干净后用于后续试验^[14]。分别用清水 (CK) 和 100、200、300、400、500 mg/L 的 GA₃ 溶液浸泡种子 24 h, 将种子与河沙 (经高温灭菌) 按体积比 1 : 3 混匀^[17], 在 15~20 °C 人工气候箱中沙藏, 保持河沙湿度, 每 15 d 换 1 次沙子。

1.2 指标测定

1.2.1 萌发指标 每个处理 100 粒种子, 3 个重复。定期观察生根情况, 记录第一粒种子生根时间, 计算处理 80 d 时生根率, 以及主根长 ≥ 4 cm 的种子百分率和霉变率^[14, 22]; 计算公式如下:

$$\text{生根率} \% = (L_1 / L_0) \times 100 \%$$

$$\text{主根长度} \geq 4 \text{ cm 百分率} \% = (L_2 / L_0) \times 100 \%$$

$$\text{霉变率} \% = (L_3 / L_0) \times 100 \%$$

式中, L_1 为实验种子中萌发生根种子粒数, 以胚根突破种皮为标准; L_2 为实验种子主根长度 ≥ 4 cm 的生根种子粒数; L_3 为实验种子中霉烂种子粒数; L_0 为实验种子粒数

1.2.2 种子营养指标和 POD 活性 分别于处理后 0、15、30、45、75 d, 取种子去除根部和种皮^[23], 进行可溶性糖、淀粉、可溶性蛋白含量和 POD 活性的测定^[24]; 可溶性糖、淀粉、可溶性蛋白含量和 POD 活性分别采用蒽酮比色法^[25]、高氯酸蒽酮比色法^[25]、考马斯亮蓝比色法^[25] 和愈创木酚法^[24] 进行测定。

1.2.3 种子内源激素含量 分别于处理前和处理后 15、30、45、75 d, 取种子去除根部和种皮^[23], 进行 ABA、GA、ZR 和 IAA 含量的测定^[14]。ABA、GA、ZR 和 IAA 含量采用酶联免疫法 (ELISA) 测定, 所用试剂盒购自于上海酶联生物科技有限公司, 依照试剂盒说明书进行操作。

1.3 数据处理与分析

试验数据采用 Excel 2010 和 SPSS 20.0 进行分析和作图。

2 结果与分析

2.1 GA₃ 处理对紫斑牡丹种子生根的影响

GA₃ 处理可以促进紫斑牡丹种子生根,缩短种子生根时间,提高生根率(表 1)。其中,紫斑牡丹种子的首粒种子生根时间在各浓度 GA₃ 处理下均比对照显著降低,且随着 GA₃ 浓度升高呈逐渐降低趋势,降幅为 9.09%~39.39%;紫斑牡丹种子的生根率和主根长度≥4 cm 的生根种子百分率均随 GA₃ 浓度的提高而表现出先上升后下降的趋势,但除 500 mg/L 处理外均显著高于相应对照,并均在 GA₃ 浓度为 300 mg/L 时达到最大值,此时比相应对照分别显著提高了 62.58%和 207.24%;另外,种子霉变率随着 GA₃ 浓度升高而逐渐显著升高,在 GA₃ 浓度为 500 mg/L 时(17.67%)比对照提高了 231.52%,并与其他处理具有显著差异。综合以上

分析可知,外源 300 mg/L GA₃ 处理对紫斑牡丹种子生根的促进效果最好。

2.2 GA₃ 处理对紫斑牡丹种子生根过程中营养物质含量和 POD 活性的影响

2.2.1 淀粉含量 各浓度 GA₃ 处理下紫斑牡丹种子淀粉含量在生根过程种子均呈现出逐渐下降的趋势,同时随着 GA₃ 处理浓度升高表现出下降的趋势(表 2)。其中,各处理(0、100、200、300、400 和 500 mg/L)紫斑牡丹种子淀粉含量在处理 15 d 时比处理 0 d 时分别显著下降了 8.53%、14.51%、17.09%、32.21%、27.19 和 24.84%,而在最终处理 75 d 时分别显著下降了 36.72%、38.26%、40.69%、56.19%、52.09%和 45.18%。由此可以看出,外源 GA₃ 处理能够加速紫斑牡丹种子生根过程中淀粉的水解,并以 300 和 400 mg/L GA₃ 处理下淀粉含量变化幅度较大,其最终种子淀粉含量显著低于其他处理。

表 1 GA₃ 处理下紫斑牡丹种子生根的变化

Table 1 The seed rooting of *Paeonia rockii* under different GA₃ concentration treatments

GA ₃ (mg·L ⁻¹)	首粒种子生根时间 First seed rooting time/d	生根率 Rooting rate/%	主根长度≥4 cm 百分率 Rate of root length ≥4 cm/%	霉变率 Mildewing rate/%
0(CK)	44.00±1.73a	43.67±3.06d	13.67±1.16e	5.33±1.53e
100	40.00±2.00b	53.33±2.52c	18.67±1.16d	6.67±0.58de
200	37.33±2.31b	60.33±2.52b	30.67±1.16b	8.33±0.58cd
300	29.33±2.31c	71.00±1.00a	42.00±2.00a	9.33±0.58c
400	28.00±0.00c	62.00±2.65b	25.33±0.58c	13.67±1.16b
500	26.67±2.31c	43.00±2.65d	14.33±0.58e	17.67±2.52a

注:表中数据为平均值±标准差,同列数据后标有不同字母者表示处理间在 0.05 水平上差异显著

Notes: Values are performed as mean values ± standard errors. The different letters in the same column indicate significant difference among treatments at 0.05 level

表 2 不同浓度 GA₃ 处理紫斑牡丹种子生根过程中淀粉含量的变化

Table 2 The changes in starch content of *P. rockii* seeds during rooting at different GA₃ concentrations

GA ₃ (mg·L ⁻¹)	淀粉含量 Starch content/%				
	0 d	15 d	30 d	45 d	75 d
0(CK)	24.62±1.05Aa	22.52±0.45Aa	19.03±1.29Ba	17.37±1.34BCa	15.58±1.39Ca
100	24.75±1.51Aa	21.16±0.71Bab	17.99±0.74Cab	16.98±0.11CDab	15.28±1.05Dab
200	24.23±0.79Aa	20.09±0.53Bbc	17.25±0.24Cbc	15.46±0.78Dbc	14.37±0.55Dab
300	24.49±1.01Aa	16.44±1.16Be	13.89±0.61Ce	11.87±0.39De	10.73±0.36Dc
400	24.46±0.89Aa	17.81±1.09Bcd	15.31±0.91Cde	13.20±0.92Dde	11.72±0.92Dc
500	24.88±0.50Aa	18.70±1.66Bde	16.13±0.95Ccd	14.28±0.99CDcd	13.64±0.81Db

注:表中数据为平均值±标准差,同列数据后标有不同小写字母者表示处理间在 0.05 水平上差异显著,同行数据后标有不同大写字母者表示时期在 0.05 水平上差异显著;下同

Notes: Values are performed as mean values ± standard errors. The different normal letters in the same column indicate significant difference among treatments at 0.05 level, while the different capital letters in the same row indicate significant difference among stages at 0.05 level. The same as below

2.2.2 可溶性糖含量 各个 GA_3 处理紫斑牡丹种子可溶性糖含量在生根过程中均表现出先上升后下降的趋势,且在生根前期(0~30 d)均明显高于对照(表3)。其中,0、100和200 mg/L GA_3 处理的种子可溶性糖含量在30 d时达到最大值,较0 d时分别显著提高了127.39%、142.74%和184.18%;300、400和500 mg/L GA_3 处理的种子可溶性糖含量在15 d时达到了最大值,较0 d时分别显著提高了171.54%、149.49%和130.61%。由此可知, GA_3 处理紫斑牡丹种子可以促进其生根前期可溶性糖的积累,而300 mg/L GA_3 处理的变化幅度明显大于其他处理。

2.2.3 可溶性蛋白含量 如表4所示,各个 GA_3 处理紫斑牡丹种子可溶性蛋白含量在生根过程中均表现出先下降后上升的趋势,但均不同程度低于处理前(0 d)。其中,0、100、200 mg/L 处理种子可溶性蛋白含量在30 d时达到最低值,300、400和500 mg/L 处理可溶性蛋白含量均在处理15 d时达到最低值;0~500 mg/L 处理最低值比0 d时分别降低了14.87%、13.39%、20.97%、22.15%、20.15%和17.46%,而各处理最终可溶性蛋白含量较相应最低

值分别升高了7.88%、7.00%、18.25%、24.88%、18.93%和8.21%。由此可知,与对照相比, GA_3 处理可以促进紫斑牡丹种子生根前期可溶性蛋白的消耗,其中300 mg/L GA_3 处理的变化幅度最大。

2.2.4 过氧化物酶(POD)活性 各个浓度 GA_3 处理紫斑牡丹种子的POD活性在生根过程中均呈现出先上升后下降的趋势;同时随着 GA_3 浓度的升高,种子的POD活性也表现出先升后降的趋势,并均在300 mg/L 处理时达到最大值(表5)。其中,对照和100 mg/L 的 GA_3 处理下的紫斑牡丹种子的POD活性在45 d时达到最大值,较0 d时分别提高了211.07%和173.98%,其他浓度 GA_3 处理(200、300、400和500 mg/L)的种子POD活性则均在30 d时达到了最大值,较0 d时分别显著提高了167.81%、259.10%、223.59%和178.67%;处理75 d时,各浓度处理种子POD活性与其最大值相比降低了43.00%~64.99%,但仍不同程度高于0 d时的水平。综合来看, GA_3 处理可以促进紫斑牡丹种子在生根前期POD活性的提高,其中300 mg/L GA_3 处理种子的POD活性在各个阶段均高于其他处理。

表3 不同浓度 GA_3 处理的紫斑牡丹种子生根过程中可溶性糖含量的变化

Table 3 The changes in soluble sugar content of *P. rockii* seeds during rooting at different GA_3 concentrations

GA_3 /(mg · L ⁻¹)	可溶性糖含量 Soluble sugar content/%				
	0 d	15 d	30 d	45 d	75 d
0(CK)	10.77±0.06Eb	13.34±0.07Df	24.49±1.00Ac	21.49±0.02Bb	18.93±0.41Ca
100	10.81±0.65Eb	14.61±0.26De	26.24±0.96Abc	20.61±1.19Bb	18.60±0.19Cab
200	10.24±0.05Db	18.68±0.08Cd	29.10±1.08Aa	22.56±0.60Ba	17.87±0.11Cbc
300	13.00±0.56Ea	35.30±0.75Aa	25.34±0.16Bbc	19.48±0.08Cc	14.34±1.05Dd
400	12.67±0.63Ea	31.61±0.97Ab	25.01±0.78Bbc	20.42±0.13Cbc	17.43±0.63Dc
500	13.10±0.75Ea	30.21±0.04Ac	24.94±0.83Bbc	23.21±0.49Ca	18.40±0.11Dabc

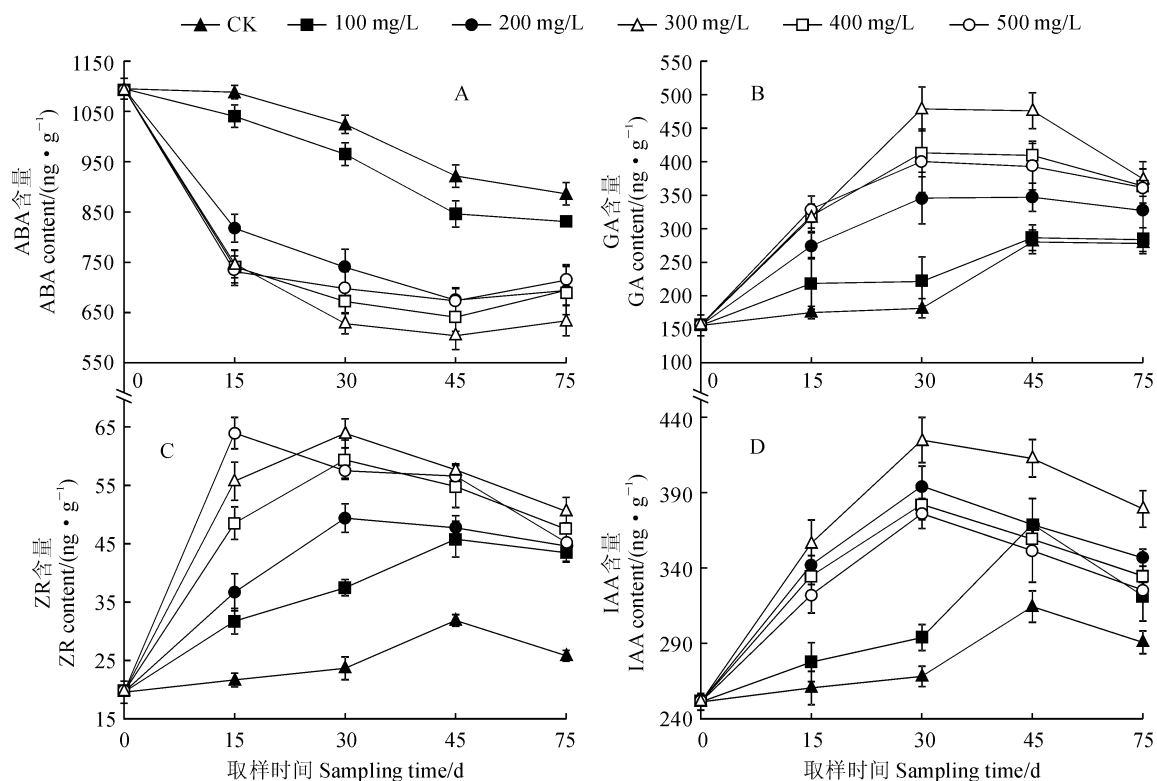
表4 不同浓度 GA_3 处理的紫斑牡丹种子生根过程中可溶性蛋白含量的变化

Table 4 The changes in soluble protein content of *P. rockii* seeds during rooting at different GA_3 concentrations

GA_3 /(mg · L ⁻¹)	可溶性蛋白含量 Soluble protein content/%				
	0 d	15 d	30 d	45 d	75 d
0(CK)	10.29±0.31Aa	10.19±0.32Aa	8.76±0.41Cbc	9.35±0.09Bcd	9.45±0.13Ba
100	10.23±0.19Aa	10.12±0.10Aa	8.86±0.16Cb	9.22±0.04Bd	9.48±0.18Ba
200	10.54±0.14Aa	10.11±0.04Ba	8.33±0.14Ec	9.57±0.12Dbc	9.85±0.12Ca
300	10.43±0.52Aa	8.12±0.16Cc	9.55±0.28Ba	9.89±0.18ABa	10.14±0.27Aa
400	10.52±0.79Aa	8.40±0.22Bbc	9.21±0.25ABab	9.75±0.22ABab	9.99±1.62ABa
500	10.48±0.37Aa	8.65±0.42Cb	9.19±0.25Bab	9.25±0.04Bd	9.36±0.04Ba

表 5 不同浓度 GA₃ 处理的紫斑牡丹种子生根过程中 POD 活性的变化Table 5 The changes in activity of peroxidase of *P. rockii* seeds during rooting at different GA₃ concentrations

GA ₃ /(mg · L ⁻¹)	POD 活性 POD activity/(U · g · min ⁻¹)				
	0 d	15 d	30 d	45 d	75 d
0(CK)	65.87±7.38Dd	85.49±4.88Ce	117.18±14.60Bf	204.90±9.78Ab	116.78±12.50Bbc
100	89.56±0.99Db	96.71±3.47CDe	171.46±8.62Be	245.38±10.12Aa	106.73±3.28Cc
200	100.52±1.52Da	185.92±12.97Bc	269.20±20.43Ac	143.85±11.33Cc	107.64±3.74Dc
300	105.72±2.80Da	269.20±20.43Ba	379.64±17.51Aa	269.26±21.40Ba	140.52±10.57Ca
400	100.46±2.62Da	214.90±8.44Bb	334.33±14.81Ab	206.73±3.28Bb	122.83±9.00Cb
500	77.79±3.88Dc	159.26±12.39Bd	216.78±12.50Ad	127.98±17.07Cc	75.89±4.49Dd

图 1 不同 GA₃ 浓度处理下紫斑牡丹种子生根过程中内源激素含量的变化Fig. 1 The changes of endogenous hormone contents in seeds of *Paeonia rockii* during rooting stage under different GA₃ concentrations

2.3 GA₃ 处理对紫斑牡丹种子生根过程中内源激素含量的影响

2.3.1 ABA 含量 图 1, A 显示, 各浓度 GA₃ 处理紫斑牡丹种子在沙藏生根过程中 ABA 含量均呈下降的趋势; 与 CK 相比, 经过 GA₃ 处理后种子 ABA 含量均表现出明显下降趋势, 并以 300 mg/L 处理降幅最大, 其各个阶段的 ABA 含量均低于其他处理。其中, 300 mg/L 处理种子 ABA 含量在 15 d 时比处理前(1 095.31 ng/g)降低了 31.82%, 在 45 d 时达到最低值(603.81 ng/g), 比处理前降低 42.41%, 随后又略微增高(633.62 ng/g)。可见,

GA₃ 处理可以明显降低种子生根前期的 ABA 含量, 从而促进种子生根。

2.3.2 GA 含量 随着沙藏生根时间的延长, 紫斑牡丹种子 GA 含量呈先上升后下降的趋势; 各浓度处理种子 GA 含量均不同程度高于同期 CK, 并由高到低始终表现为 300、400、500、200、100 mg/L(图 1, B)。其中, 300、400 和 500 mg/L GA₃ 处理的 GA 含量在 0~30 d 时迅速上升, 于 30 d 时达到最大值, 此时相较于处理前分别升高了 207.35%、165.38% 和 159.60%, 随后在 45~75 d 时又逐渐下降; 而 100 和 200 mg/L 处理的 GA 含量在 45 d 时达到最

大值。综合表1可知,GA₃处理可以促进种子生根前期GA的积累,从而使种子提前萌发生根。

2.3.3 ZR含量 紫斑牡丹种子ZR含量随沙藏时间的增加同样表现出先上升后下降的趋势,但各处理达到最大值的时间不同,且各GA₃处理始终明显高于同期对照(图1,C)。其中,300、400和500 mg/L GA₃处理的ZR含量在0~15 d时上升幅度最大,与处理前相比分别增加了185.11%、148.24%和227.29%,300和400 mg/L GA₃处理的ZR含量在30 d时达到最大值,而500 mg/L GA₃处理则在15 d时达到最大值后持续下降;200和100 mg/L GA₃处理的ZR含量始终低于以上3个处理,分别在30 d和45 d达到最大值。由此可知,各浓度GA₃处理均可以促进紫斑牡丹种子生根前期ZR的大量积累,但是过高浓度GA₃处理的ZR含量在短期内迅速升高后持续下降,低浓度GA₃处理则积累量和速度均较低。

2.3.4 IAA含量 紫斑牡丹种子IAA含量随沙藏时间的增加也表现出先增加后降低的趋势,且各GA₃处理的IAA含量均始终大于同期CK,并以300 mg/L最高,200、400、500 mg/L次之,100 mg/L最低(图1,D)。其中,200、300、400和500 mg/L GA₃处理的IAA含量均在30 d时达到最大值,分别比处理前上升了57.08%、69.24%、52.23%和49.78%,随后又逐渐下降;而100 mg/L处理的IAA含量在45 d时达到最大值。由此可知,各浓度GA₃处理均可以促进紫斑牡丹种子生根前期IAA的积累,促进其萌发生根。

3 讨论

紫斑牡丹种子在自然状态下萌发成苗比较困难^[4]。本试验发现,GA₃处理紫斑牡丹种子可以缩短首粒种子生根时间,其中300 mg/L GA₃处理可以使种子比对照提前14.67 d生根,80 d时生根率可以达到71.00%,而自然状态下的野生紫斑牡丹种子在240 d时生根率才达到76.00%^[4]。随着GA₃浓度的提高,紫斑牡丹种子的生根率和主根长度≥4 cm种子的生根百分率呈现出先上升后下降的趋势,而种子的霉变率则不断上升。其中,紫斑牡丹种子在300 mg/L GA₃处理80 d时生根率比对照提高了62.58%,主根长度≥4 cm种子的生根百分率比对照提高了207.24%,500 mg/L GA₃处理80 d时种子霉变率为17.67%,比对照提高了231.52%。这说明GA₃处理能够促进紫斑牡丹种

子生根和生根整齐度,但是过高浓度的GA₃处理会使种子易发生霉变^[26],本试验中最适合紫斑牡丹种子生根的GA₃浓度为300 mg/L。

淀粉是种子中最主要的贮藏物质,其在种子萌发过程中经酶的作用被分解为小分子的可溶性糖,可溶性糖作为主要呼吸底物,参与种子生理代谢,为种子萌发提供能量^[5]。本试验中300、400和500 mg/L GA₃处理的紫斑牡丹种子淀粉含量在0~15 d迅速下降,而与此同时上述GA₃浓度处理种子的可溶性糖含量迅速上升,结合各处理首粒种子生根时间,说明这个阶段淀粉大量水解为可溶性糖从而为种子生根提供能量,其中300 mg/L GA₃处理种子淀粉和可溶性糖含量变化幅度最大。随着种子根系的伸长,植物体内的淀粉和可溶性糖消耗变慢,说明种子内淀粉和可溶性糖的合成与消耗可能同时存在,这与黄珍^[27]在华重楼和王志芳^[28]在黄牡丹种子萌发上的研究结果类似。可溶性蛋白包括酶类、多肽和部分贮藏蛋白,其含量的高低可间接反映各种代谢活动的强弱^[25]。紫斑牡丹种子在生根过程中,种子可溶性蛋白含量呈现出先下降后上升的趋势,其中300、400和500 mg/L GA₃处理的可溶性蛋白含量在0~15 d显著下降,后又逐渐上升。这可能是由于在紫斑牡丹种子萌发初期,首先利用种子内游离的氨基酸和贮藏蛋白来合成新物质和提供能量;随后各种代谢活动所需的酶类大量合成,参与后续种子萌发生根,可溶性蛋白的含量又开始升高^[5],这与张梅娟等^[24]对芍药种子的研究结果一致。由以上淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白的含量变化规律可知,GA₃可以促进紫斑牡丹种子内部营养物质的转化,激发种子萌发活性,从而促进种子萌发。

Robert^[29]提出磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)在整个呼吸作用中的增强是休眠种子萌发的重要条件,而POD与PPP途径有密切联系。同时,有研究表明,IAA氧化酶可能作为一种POD同工酶,影响IAA的含量,从而影响种子萌发^[30]。本研究紫斑牡丹种子在生根过程中,各个浓度GA₃处理种子的POD活性均先上升后下降;而200、300、400和500 mg/L GA₃处理的种子POD活性在0~30 d迅速上升,结合各个处理的首粒种子生根时间来看,这一阶段POD活性的提高,可能影响到了PPP途径,从而促进种子生根。说明GA₃处理可以提高种子的POD活性,促进种子萌发;而种子生根后,随着根系的伸长,POD活性开始逐渐降低。这一变化与黄智等^[31]在西瓜种子和张

梅娟等^[24]在芍药种子萌发上的研究结果一致。

内源激素含量的变化可以影响种子内部营养物质的转化、物质合成和萌发^[6]。本研究中 GA₃ 处理打破紫斑牡丹种子休眠使其生根的过程中,种子中 ABA、GA、ZR 和 IAA 含量均发生了明显变化,说明紫斑牡丹种子的休眠和萌发是多种激素综合作用的结果。一般认为,ABA 是抑制种子萌发的重要原因之一^[10]。本研究表明,紫斑牡丹种子萌发过程中 ABA 呈下降的趋势,经过 GA₃ 处理的 ABA 含量下降幅度明显大于 CK,与云南重楼(*Paris polyphylla*)^[32]、芍药(*Paeonia lactiflora*)^[33] 等种子萌发过程中变化一致。同时,紫斑牡丹种子生根后期 ABA 含量又有略微上升,推测可能与种子上胚轴休眠有关^[25],具体还有待于进一步的研究。GA 能够加速种子体内各种物质的代谢与合成,从而促进种子萌发^[34]。本试验结果表明,GA 含量在紫斑牡丹种子生根时达到最大值,其中 200、300、400 和 500 mg/L GA₃ 处理的 GA 含量比 CK 提前 15 d 达到了最大值。说明外源 GA₃ 处理可以促进紫斑牡丹种子体内 GA 的累积,从而使提前使种子下胚轴突破种皮,这与钱仙云^[14]在凤丹、陆秀君等^[35]在天女木兰(*Magnolia sieboldii*)上研究结果一致。同时,紫斑牡丹种子 ZR 和 IAA 含量在种子生根过程中也表

现出先升高后降低的趋势,其中 GA₃ 处理种子 ZR 和 IAA 含量的变化幅度大于 CK,与其 GA 含量变化趋势类似;300、400 和 500 mg/L GA₃ 处理的 ZR 和 IAA 含量在 30 d(即种子突破种皮)时达到最大值,又说明 ZR 和 IAA 作为促进种子萌发的物质,外源 GA₃ 处理可以促进紫斑牡丹种子 ZR 和 IAA 在沙藏前期的累积,从而调节种子的萌发,这与高成华^[36]对刺五加(*Acanthopanax senticosus*)种子的相关研究结果一致。

综上所述,本试验通过研究外源 GA₃ 处理对紫斑牡丹种子生根的影响,以及在生根过程中营养物质、POD 活性和内源激素水平的变化可以看出,GA₃ 处理可以促进紫斑牡丹种子提前生根,并提高生根率,并以 300 mg/L GA₃ 处理效果最好,与对照相比可以提前 14.67 d 生根,生根率可达 71.00%,主根长度 ≥ 4 cm 的生根种子百分率 42.00%。同时,外源 GA₃ 处理可加速紫斑牡丹种子在沙藏前期淀粉的水解、可溶性糖的累积和可溶性蛋白的消耗以及 POD 活性的提高。另外,GA₃ 处理还可使种子中促进种子萌发的激素(GA、ZR 和 IAA)含量增加,抑制萌发的激素(ABA)含量的下降。因此,外源 GA₃ 可提高紫斑牡丹种子萌发活性,从而促进种子提前萌发生根。

参考文献:

- [1] 成仿云,李嘉珏,陈德忠,等. 中国紫斑牡丹[M]. 北京:中国林业出版社,2005: 1-2.
- [2] 鞠志新. 东北地区牡丹生态适应性及抗寒性研究[D]. 北京:北京林业大学,2011.
- [3] 马君义,朱建朝,盛爱霞,等. 永靖紫斑牡丹籽油与凤丹牡丹籽油理化性质与脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂,2018,43(1): 147-150.
MA J Y, ZHU J Z, SHENG A X, et al. Physicochemical properties and fatty acid compositions of seed oils of *Paeonia rockii* and *Paeonia ostii* cultivated in Yongjing[J]. *China Oils and Fats*, 2018,43(1): 147-150.
- [4] 景新明,郑光华,裴颜龙,等. 野生紫斑牡丹和四川牡丹种子萌发特性及与其致濒的关系[J]. 生物多样性,1995,(2): 84-87.
JING X M, ZHENG G H, PEI Y L, et al. A study on the relationship between seed germination of wild *Paeonia rockii* and *P. szechuanica* and their endangerment [J]. *Biodiversity Science*, 1995,(2): 84-87.
- [5] 高荣岐,张春庆. 种子生物学[M]. 北京:中国农业出版社,2009: 37-43,211.
- [6] 卡恩. 种子休眠和萌发的生理生化[M]. 王沙生,等译. 北京:中国农业出版社,1989: 37-40.
- [7] KUCERAA B, COHNA M A, METZGERA G L, et al. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination [J]. *Seed Science Research*, 2005, 15(4): 281-307.
- [8] NAMBARA E, OKAMOTO M, TATEMATSU K, et al. Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination [J]. *Seed Science Research*, 2010,20(2): 55-67.
- [9] GRAEBER K, LINKIES A, MULLER K, et al. Cross-species approaches to seed dormancy and germination: conservation and biodiversity of ABA-regulated mechanisms and the *Brassicaceae* DOG1 genes [J]. *Plant Molecular Biology*, 2010,73: 67-87.
- [10] KERMODE A R. Role of abscisic acid in seed dormancy [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2005,24: 319-344.
- [11] 王三根. 细胞分裂素在植物抗逆和延衰中的作用[J]. 植物学通报,2000,17(2): 121-126,167.
WANG S G. Roles of cytokinin on stress-resistance and delaying senescence in plants [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2000,17(2): 121-126,167.
- [12] 杨万霞,方升佐. 青钱柳种子综合处理过程中内源激素的动态变化[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2008,(5): 85-88.
YANG W X, FANG S Z. Dynamic changes of endogenous hormones in *Cyclocarya paliurus* seed during stratification

- [J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Natural Sciences Edition), 2008, (5): 85-88.
- [13] 郭少玲, 高 健, 徐有明, 等. ^{60}Co γ 辐射对毛竹种子萌发过程中内源激素含量的影响[J]. 中国农学通报, 2013, **29**(25): 26-31.
GUO S L, GAO J, XU Y M, *et al.* Effect of ^{60}Co γ rays radiation on endogenous hormone during seed germination[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2013, **29**(25): 26-31.
- [14] 钱仙云. 温度与 GA_3 解除凤丹种子休眠的生理代谢变化及其对幼苗质量的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2009.
- [15] 郑相穆, 周阮宝, 谷丽萍, 等. 凤丹种子的休眠和萌发特性[J]. 植物生理学通讯, 1995, (4): 260-262.
ZHENG X M, ZHOU R B, GU L P, *et al.* The properties of dormancy and germination of *Paeonia suffruticosa* [J]. *Plant Physiology Communications*, 1995, (4): 260-262.
- [16] 黄青云. 解除休眠处理对凤丹种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 亚热带植物科学, 2008, **37**(4): 35-37.
HUANG Q Y. Effects on germination and growth of seedling with different treatments for seeds of *Paeonia ostia* [J]. *Subtropical Plant Science*, 2008, **37**(4): 35-37.
- [17] 成仿云, 杜秀娟. 低温与赤霉素处理对‘凤丹’牡丹种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 园艺学报, 2008, (4): 553-558.
CHENG F Y, DU X J. Effects of chilling and gibberellic acid on the seed germination and seedling growth in *Paeonia ostia* ‘Fengdan’ [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2008, (4): 553-558.
- [18] 孙红阳. 水曲柳种子的萌发与次生休眠解除过程中物质转化的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.
- [19] 肖志成. 三角槭种子休眠机理及解除方法的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2006.
- [20] 马 宏, 李正红, 张艳丽, 等. 大花黄牡丹种子休眠的解除[J]. 林业科学, 2012, **48**(9): 62-67.
MA H, LI Z H, ZHANG Y L, *et al.* Release of seed dormancy of *Paeonia ludlowii* [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2012, **48**(9): 62-67.
- [21] 姜方芳. 黄牡丹种子休眠与萌发特性及苗木的抗旱性初步研究[D]. 昆明: 西南林学院, 2008.
- [22] 任鸿雁. 油用牡丹的种子萌发和容器育苗试验研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2016.
- [23] 林松明. 激素与低温处理对凤丹种子萌发及幼苗生长的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [24] 张梅娟, 谢 军, 孙骞凯, 等. 低温及贮藏年份对芍药种子生根及其生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2018, **38**(6): 1 118-1 127.
ZHANG M J, XIE J, SUN J K, *et al.* Effect of low temperature and storage years of rooting and physiological characters of peony seeds [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, **38**(6): 1 118-1 127.
- [25] 任秀霞. 低温调控‘凤丹’牡丹种子下胚轴萌发机理的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [26] 邱鹏飞. 赤霉素浸种对沙冬青、花棒、柠条种子萌发的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010.
- [27] 黄 珍, 罗 忠, 张 鹏, 等. GA_3 对华重楼种子萌发过程中生理指标的影响[J]. 时珍国医国药, 2016, **27**(8): 1 993-1 996.
HUANG Z, LUO Z, ZHANG P, *et al.* Effects of gibberellic acid on physiological characteristics during seed germination in *Paris polyphylla* [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2016, **27**(8): 1 993-1 996.
- [28] 王志芳. 黄牡丹种子萌发及其营养物质和内源激素的动态变化研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.
- [29] ROBERTS E H. Oxidative processes and the control of seed germination [M]//HEYDECKER W. *Seed Ecology*. London: Butterworth, 1972: 189-218.
- [30] 武禄光. 过氧化物酶在色木槭种子休眠向萌发转变中的作用[J]. 东北林业大学学报, 1987, (6): 8-14.
WU L G. Preliminary research on function of peroxidase in *Acer mono* seed dormancy to germination [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 1987, (6): 8-14.
- [31] 黄 智, 戴思慧, 马凌珂, 等. 西瓜种子萌发过氧化物酶活性变化的研究[J]. 湖南农业科学, 2010, (9): 43-45.
HUANG Z, DAI S H, MA L K, *et al.* Changes of peroxidase activity in the seed germination of watermelon [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2010, (9): 43-45.
- [32] 苏海兰, 周先治, 李 希, 等. 云南重楼种子萌发过程内源激素含量及酶活性变化研究[J]. 核农学报, 2018, **32**(1): 141-149.
SU H L, ZHOU X Z, LI X, *et al.* Dynamic changes of enzyme and endogenous of *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* seed during different stages of germination [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, **32**(1): 141-149.
- [33] 金 彪, 丁 玲, 何小弟, 等. 芍药种子露地播种和低温贮藏过程中内源激素含量的变化[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2006, (1): 45-48.
JIN B, DING L, HE X D, *et al.* Changes of endogenous hormones during outdoor sowing and cold storage of *Paeonia lactiflora* seeds [J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Natural Sciences Edition), 2006, (1): 45-48.
- [34] BRADY S M, COURT P M. Hormone cross-talk in seed dormancy [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2003, 22: 25-31.
- [35] 陆秀君, 梅 梅, 刘月洋, 等. GA_3 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): 1 828-1 835.
LU X J, MEI M, LIU Y Y, *et al.* Effect of treatment with GA_3 and variable temperature stratification on germination and endogenous hormones of *Magnolia sieboldii* seeds [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, **34**(9): 1 828-1 835.
- [36] 高成华. 外源 GA 对刺五加种子后熟过程中内源激素含量变化的影响[J]. 种子, 2016, **35**(1): 35-37.
GAO C H. Effects of exogenous GA on the endogenous hormones content of *Acanthopanax senticosus* harms in ripening [J]. *Seed*, 2016, **35**(1): 35-37.