

不同处理方法对穿龙薯蓣种子萌发的影响

杨利民*, 宋 波, 韩 梅, 林春新

吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

摘 要: 目的 研究低温砂层积处理后不同发芽温度(10、15、20、25、30 ℃)及不同质量浓度的赤霉素(GA₃)和萘乙酸(NAA)对穿龙薯蓣种子萌发的影响。方法 采用培养皿培养法,对种子设置低温层积、不同质量浓度的GA₃和NAA浸种处理,观察记录种子发芽率和发芽势并进行统计分析。结果 穿龙薯蓣种子经4 ℃低温砂层积后,在25 ℃条件下发芽率和发芽势最高,分别为80.00%和53.33%;而采用100 mg/L GA₃直接浸泡未层积种子24 h,发芽率和发芽势可达66.65%和48.35%;1 mg/L NAA浸泡12 h发芽率和发芽势为58.35%和43.35%;采用低温砂层积发芽进程最快,种子第6天开始发芽,第12天发芽完毕。结论 采用4 ℃低温砂层积60 d后在25 ℃下进行催芽或采用100 mg/L GA₃进行催芽处理有利于穿龙薯蓣种子萌发。

关键词: 穿龙薯蓣; 层积; 赤霉素; 萘乙酸; 种子萌发

中图分类号: R282.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)06-0755-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.06.023

Effects of different treatments on seed germination of *Dioscorea nipponica*

YANG Li-min, SONG Bo, HAN Mei, LIN Chun-xin

College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: Objective To study the effects of different temperature conditions (10, 15, 20, 25, and 30 ℃) and different concentration of gibberellin (GA₃) and naphthalene acetic acid (NAA) on the germination responses of *Dioscorea nipponica* seeds. **Methods** The seed germination rate and germination vigor were recorded and analyzed statistically, through setting conditions including cold stratification and soaking treatment with different concentration of GA₃/NAA in culture dishes. **Results** After sand stratification at 4 ℃, the germination percentage and germination vigor of *D. nipponica* seeds were the highest of 80.00% and 53.33% at 25 ℃, respectively. After soaking in 100 mg/L GA₃ for 24 h without stratification, the germination percentage and vigor of *D. nipponica* seeds were 66.65% and 48.35%, respectively; After soaking in 1 mg/L NAA for 12 h, the germination percentage and germination vigor were 58.35% and 43.35%, respectively. The germination process treated with low temperature sand stratification was the fastest. The seeds began to germinate at the day 6, and germinated completely within 12 d. **Conclusion** The seeds should germinate at 25 ℃ after sand stratification at 4 ℃ for 60 d, or the seeds without stratification would germinate after being treated with 100 mg/L GA₃.

Key words: *Dioscorea nipponica* Makino; stratification; gibberellin; naphthalene acetic acid; seed germination

穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 为薯蓣科薯蓣属多年生缠绕草质藤本,又名穿山龙、穿地龙、穿龙骨;在我国分布于东北、西北、华北、华东及四川等地,而东北地区资源最为丰富,世界各地对于穿龙薯蓣的栽培也有所扩大^[1]。其根茎是生产治疗心血管疾病药物的主要药源,其有效成分是用于合成多种甾体激素类药物(可的松、强的松等)和避孕类药物的薯蓣皂苷元的重要原料之一,具有很

高的药用价值。穿龙薯蓣的根茎作为药用已有悠久的历史,具有祛风止痛、舒筋活血、止咳平喘等功效^[2],可用于治疗慢性气管炎、劳损扭伤、冠心病以及心绞痛等。近年来,薯蓣皂苷在抗癌、降血糖、免疫调节、防治心血管疾病等诸多方面的作用也日益引起全世界的关注^[3]。随着穿龙薯蓣药材需求量增加,造成了对野生资源的过度采挖,破坏日渐严重;开展穿龙薯蓣栽培技术研究是保障药材安全供

收稿日期: 2012-07-14

基金项目: 国家科技重大专项(2011ZX09401-305-10-03); 吉林省科技发展计划重大项目(20075022)

作者简介: 杨利民(1962—),男,吉林省双辽人,教授,博士生导师,主要从事药用植物生态与资源可持续利用研究。

*通信作者 杨利民 Tel: (0431)84533086 E-mail: ylmh777@126.com

给的主要途径,对于穿龙薯蓣而言,无性繁殖技术虽然简单易行,但大都是以根茎作为种源,这在一定程度上减少了产量,同时因为未知的生长周期而影响薯蓣的市场开发^[4],种子是植物体遗传信息的重要载体,应对育种和生产极其重要,而穿龙薯蓣种子的发芽率很低,直接播种萌发率只有30%左右,为此,进行穿龙薯蓣种子发芽处理技术研究,对提高萌发率具有重要生产应用价值。目前破除种子休眠方法有物理、化学、生物方法,包括机械、射线、电场、层积和激素处理等^[5-8],本研究采用低温砂层积、赤霉素(GA₃)和萘乙酸(NAA)处理的方法打破种子休眠,诱导种子萌发,旨在探讨穿龙薯蓣种子的萌发特性,为穿龙薯蓣的种子育苗提供技术支持。

1 材料

2009年9月末,在吉林省吉林市左家采集成熟野生种子,经吉林农业大学中药材学院韩梅教授鉴定为薯蓣科穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 的种子。HPG—320H 人工气候培养箱(哈尔滨东联电子技术开发有限公司)。

2 方法

2.1 低温砂层积处理

将沙子过20目筛,用0.1%~0.3% KMnO₄溶液浸泡消毒30 min,用蒸馏水冲洗至无色,红外线干燥箱烘干;称取500 g穿龙薯蓣种子,按种子-沙子(容积比1:2)混合,加适量水拌匀,程度以手握成团,张手即散即可,装入塑料盘内,上层再铺一层细沙,放入4℃冰箱内,层积处理60 d,层积期间保持沙层湿润。

将层积过的种子用70%乙醇溶液浸泡5 min进行消毒处理,之后将种子用蒸馏水冲洗净,采用培养皿培养法,放入铺有两层滤纸的已灭菌培养皿中,每个培养皿20粒,3次重复,人工气候箱恒温遮光培养,5组处理的温度分别为10、15、20、25、30℃,对照组CK(25℃)为未层积种子。定期给种子浇水,每天观察并记录种子萌发时间和发芽数。

2.2 不同激素处理

2.2.1 GA₃处理 设50、100、150、200 mg/L 4个不同质量浓度的GA₃溶液,将种子在25℃恒温条件下分别浸种于不同质量浓度的GA₃溶液12、24、36 h,将种子用蒸馏水冲洗净,采用培养皿培养法,每皿20粒,3次重复,人工气候箱25℃恒温遮光培养,以清水处理为对照。

2.2.2 NAA处理 设0.1、1、5、10 mg/L 4个不同质量浓度的NAA溶液,将种子在25℃恒温条件下分别浸种于不同质量浓度的NAA溶液6、12、24 h,将种子用蒸馏水冲洗净,采用培养皿培养法,每皿20粒,3次重复,人工气候箱25℃恒温遮光培养,以清水处理为对照。

2.3 数据处理

采用DPS v7.05版软件对数据进行统计分析,以Excel 2010绘图。

3 结果与分析

3.1 温度对穿龙薯蓣种子萌发的影响

低温砂层积后在不同温度下培养的穿龙薯蓣种子,在25℃条件下发芽率最高,发芽率达到80.00%,明显高于未层积种子对照组的发芽率31.65%,10℃发芽率最低,只有3.33%;25℃处理的种子第6天开始发芽,第12天发芽完毕,发芽势达53.33%,发芽进程良好,发芽率与发芽势均最高;20℃处理的种子次之,第8天开始发芽,第18天发芽完毕,发芽势为51.67%;10℃处理的种子最差,第18天才开始发芽,第23天发芽完毕,发芽势为4%,发芽进程缓慢,发芽率亦最低;25℃处理与10、15℃处理及CK处理种子的发芽率和发芽势差异显著($P<0.05$),25℃处理与20、30℃处理条件下的种子发芽率和发芽势差异不显著。低温会使穿龙薯蓣种子停留在吸水的停滞时期,妨碍了与萌发有关的主要代谢活动的进行,从而使其萌发的初始和过程时间延长,而温度高时同样也不适于种子的萌发^[9]。因此,低温砂层积后穿龙薯蓣种子的最适发芽温度应选择25℃。见图1和表1。

3.2 不同GA₃质量浓度和浸泡时间对穿龙薯蓣种子萌发的影响

GA₃对穿龙薯蓣种子萌发的影响见表2,经过不

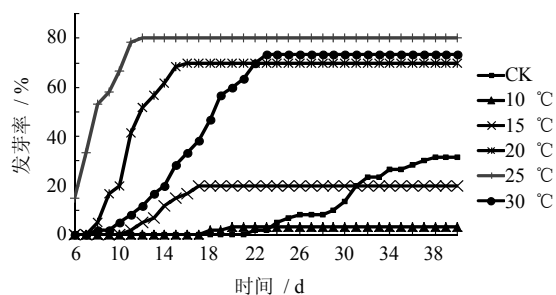


图1 温度对穿龙薯蓣种子萌发的影响

Fig. 1 Effects of different temperatures on seed germination of *D. nipponica*

表1 温度对穿龙薯蓣种子萌发的影响

Table 1 Effects of different temperatures on seed germination of *D. nipponica*

处 理	发芽开始 时间 / d	发芽完毕 时间 / d	发芽率 / %	发芽势 / %
CK	22	38	31.65 b	20.00 b
10 °C	18	23	3.33 c	3.33 b
15 °C	11	19	20.00 b	15.00 b
20 °C	8	18	70.00 a	51.67 a
25 °C	6	12	80.00 a	53.33 a
30 °C	8	25	73.33 a	46.67 a

不同小写字母表示在 5%水平上差异显著,下同

Different lowercase letters mean significant differences at 5% level, same as below

同质量浓度 GA_3 溶液浸泡不同时间后,其发芽率与发芽势有着显著的不同,在浸泡 12 h 时,随着质量浓度的增加而增加,而在浸泡 24 h 时,随着质量浓度的增加先升高后降低,在浸泡 36 h 时,随着质量浓度的增加而降低。发芽率与发芽势最大均值出现在质量浓度 100 mg/L,浸泡时间 24 h 时,分别为 66.65%和 48.35%,其发芽进程亦最快,在第 10 天开始发芽,第 22 天发芽完毕,比其他条件处理的发芽进程均快,并且此条件下的发芽率和发芽势与其他处理存在显著差异 ($P<0.05$)。因此,处理穿龙薯蓣种子发芽的 GA_3 最适质量浓度为 100 mg/L,浸

泡时间为 24 h。

3.3 NAA 质量浓度和浸泡时间对穿龙薯蓣种子萌发的影响

NAA 对穿龙薯蓣种子萌发的影响见表 3,经过不同质量浓度 NAA 溶液浸泡不同时间后,其发芽率与发芽势也有着显著不同,在浸泡 6 h 时,随着质量浓度的增加而增加,而在浸泡 12 h 时,随着质量浓度的增加先升高后降低,在浸泡 24 h 时,随着质量浓度的增加而降低;发芽率与发芽势最大值均出现在质量浓度 1 mg/L,浸泡时间 12 h 时,分别为 58.35%和 43.35%,其发芽进程亦最快,在第 11 天发芽开始,第 24 天发芽完毕,比其他条件处理的发芽进程均快,并且此条件下的发芽率和发芽势与其它处理存在显著差异 ($P<0.05$),则穿龙薯蓣种子发芽的 NAA 最适质量浓度为 1 mg/L,浸泡时间为 12 h。

3.4 3 种处理方法效果比较

低温砂层积、 GA_3 、NAA 在各自最适条件下对穿龙薯蓣种子萌发的影响比较表 4,3 种处理方法对穿龙薯蓣种子的发芽率均有显著提高,与 CK 均存在显著性差异 ($P<0.05$)。相比之下穿龙薯蓣种子经低温砂层积后 25 °C 处理效果最好,发芽率与发芽势均最高,比最适 GA_3 处理(质量浓度 100 mg/L,浸泡时间 24 h)分别高 13.35%和 4.98%,比最适 NAA 处理(质量浓度 1 mg/L,浸泡时间 12 h)分别

表2 GA_3 对穿龙薯蓣种子萌发的影响Table 2 Effects of GA_3 on seed germination of *D. nipponica*

处理	浸泡时间 / h	质量浓度 / (mg·L ⁻¹)	发芽开始时间 / d	发芽完毕时间 / d	发芽率 / %	发芽势 / %
CK	0	0	22	38	31.65 cd	20.00 ef
1	12	50	14	30	30.00 d	21.65 def
2	12	100	12	29	41.65 bc	25.00 cde
3	12	150	12	28	45.00 b	28.35 cd
4	12	200	11	26	46.65 b	28.35 cd
5	24	50	12	28	41.65 bc	36.65 b
6	24	100	10	22	66.65 a	48.35 a
7	24	150	10	27	50.00 b	21.65 def
8	24	200	25	38	23.35 de	15.00 f
9	36	50	12	29	51.65 b	31.65 bc
10	36	100	12	32	43.35 b	20.00 ef
11	36	150	15	34	30.00 d	15.00 f
12	36	200	26	37	18.35 e	15.00 f

表3 NAA对穿龙薯蓣种子萌发的影响

Table 3 Effects of NAA on seed germination of *D. nipponica*

处理	浸泡时间 / h	质量浓度 / (mg·L ⁻¹)	发芽开始时间 / d	发芽完毕时间 / d	发芽率 / d	发芽势 / %
CK	0	0	22	38	31.65 defg	20.00 de
1	6	0.1	13	34	33.35 def	25.00 bcd
2	6	1	13	33	35.00 cde	26.65 bcd
3	6	5	12	30	36.65 cde	28.35 bc
4	6	10	12	29	40.00 bcd	31.65 b
5	12	0.1	11	26	48.35 b	38.35 a
6	12	1	11	24	58.35 a	43.35 a
7	12	5	25	39	28.35 efg	23.35 cd
8	12	10	29	40	23.35 gh	20.00 de
9	24	0.1	22	30	43.35 bc	25.00 bcd
10	24	1	12	32	40.00 bcd	23.35 cd
11	24	5	12	40	25.00 fgh	15.00 ef
12	24	10	28	40	16.65 h	13.35 f

表4 3种处理方法对穿龙薯蓣种子萌发比较影响

Table 4 Effects of three treatments on seed germination of *D. nipponica*

处 理	发芽开始 时间 / d	发芽完毕 时间 / d	发芽率 / %	发芽势 / %
CK	22	38	31.65 c	20.00 b
低温砂层积 25 ℃	6	12	80.00 a	53.33 a
GA ₃	10	22	66.65 ab	48.35 a
NAA	11	24	58.35 b	43.35 a

高 21.65%和 9.98%，低温砂层积后 25 ℃处理与最适 GA₃处理差异不显著，与最适 NAA 处理差异显著 ($P<0.05$)；低温砂层积后 25 ℃处理发芽进程也最快，第 6 天开始发芽，第 12 天发芽完毕，分别比 GA₃快 4 d 和 10 d，比 NAA 快 5 d 和 12 d。因此确定穿龙薯蓣种子萌发的最适条件为低温砂层积处理后于 25 ℃条件下培养。

4 讨论

穿龙薯蓣种子经低温砂层积后，在 25 ℃条件下萌发最好。李勣等^[10]研究证明穿龙薯蓣种子有休眠特性，休眠原因是种子及翼翅中含有抑制种子发芽的物质。本实验种子发芽率达到 80.00%，比李勣的研究结果稍高 (76%)，而李勣未给出最佳发芽温度与发芽势，本研究得出最佳发芽温度为 25 ℃，发芽势为 53.33%。在利用种子进行穿龙薯蓣育苗繁殖时，应掌握好其萌发的最适温度。

GA₃ 处理穿龙薯蓣种子最佳萌发条件为质量浓度 100 mg/L，浸泡 24 h。适当质量浓度的 GA₃ 溶液可促进种子胚细胞发生较大幅度的伸长^[11]，从而提早进入生长阶段，而高质量浓度的 GA₃ 溶液会抑制穿龙薯蓣种子的萌发。因此在生产中需要注意对其质量浓度和浸泡时间的控制。

NAA 处理穿龙薯蓣种子最佳萌发条件为浓度 1 mg/L，浸泡 12 h。一定质量浓度的 NAA 溶液能有效改善种皮通透性和吸胀率，激活种胚细胞^[12]，本实验得出最适 NAA 处理穿龙薯蓣种子发芽率为 58.35%，适当质量浓度 (1 mg/L) 较有利于促进穿龙薯蓣种子萌发，低质量浓度和高质量浓度均不利于其萌发。

以上 3 种处理结果比较表明，穿龙薯蓣种子采用 4 ℃低温砂层积 60 d 后在 25 ℃条件下培养效果最好，既可以缩短其发芽时间，又能提高种子的发芽率和发芽势。此方法在穿龙薯蓣育苗上有很大的应用前景，应在实际生产中加以推广应用，若没有层积条件，建议直接采用 100 mg/L GA₃ 溶液浸泡 24 h 进行催芽处理。

参考文献

- [1] 刘丽娟, 金德祥, 牛志多, 等. 穿龙薯蓣最佳采收期的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(12): 1879-1881.
- [2] 杜虹韦. 穿龙薯蓣与盾叶薯蓣研究开发概况 [J]. 中医药学报, 2010, 38(3): 131-134.

- [3] 于春月, 张特立, 徐东花. 穿龙薯蓣的研究现状 [J]. 黑龙江中医药, 2008(1): 51-53.
- [4] Tschannen A B, Escher F, Stamp P. Post-harvest treatment of seed tubers with gibberellic acid and field performance of yam (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) in Ivory Coast [J]. *Expl Agric*, 2005, 41(2): 175-186.
- [5] 吴鸿雁, 孟祥才. 中药材种子与中药材生产 [J]. 种子, 2008, 27(7): 118-120.
- [6] 鱼小军, 王 芳, 龙瑞军. 破除种子休眠方法研究进展 [J]. 种子, 2005, 24(7): 46-49.
- [7] 张辰露, 孙 群, 梁宗锁. 药用植物种子生理特性及处理技术 [J]. 现代中药研究与实践, 2005, 19(1): 59-64.
- [8] 刘建成, 刘新元, 刘 冰, 等. 不同处理对川东獐牙菜种子萌发的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 367-371.
- [9] 莫 英, 兰利琼, 卿人韦, 等. 盾叶薯蓣种子萌发条件及诱导外植体愈伤的研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2004, 41(4): 837-841.
- [10] 李 勐, 张 杰, 熊 英, 等. 穿龙薯蓣种子休眠机理的初步研究 [J]. 中国野生植物资源, 2009, 28(4): 48-53.
- [11] 潘春柳, 吕惠珍, 彭玉德, 等. 外源激素处理对线叶唇柱苣苔种子萌发的影响 [J]. 种子, 2011, 30(1): 24-27.
- [12] 李 旭, 王垠敦, 张卫君. 不同 NAA、IAA、IBA 处理对苦瓜种子萌发的影响 [J]. 广东农业科学, 2008(12): 47-48.