

· 中药农业 ·

黄精种子萌发及出苗特点研究[△]傅飞龙¹, 丁自勉¹, 马存德², 魏建和¹, 李先恩¹, 祁建军^{1*}

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所 教育部重点

实验室濒危药材繁育国家工程实验室, 北京 100193;

2. 陕西步长制药有限公司, 陕西 西安 710075)

[摘要] 目的: 研究黄精种子休眠的特点, 探索其萌发的适合条件。方法: 按照种子检验规程要求测定了黄精种子的基本特性, 包括千粒重、种子活力等。应用不同温度层积方法探索黄精种子萌发特征。同时测定了黄精种子抑制物对白菜种子萌发的影响。结果: 黄精种子平均胚率为56.39%, 浸种72 h的饱和吸水率为36.81%; 新鲜种子、4℃湿沙和25℃干燥储存半年种子的种子活力率为100%、98.67%、96.67%; 黄精种子及小球茎中存在不同程度的发芽抑制物; 15、20、25℃层积的黄精种子均能萌发, 但萌发时间、发芽率及萌发后发育情况存在差异, 4℃层积种子不能发芽; 种子萌发形成小球茎后进入休眠状态, 4℃层积60 d处理后出苗率为93.33%。结论: 黄精种子25℃可以正常萌发, 但存在上胚轴休眠特性, 需要一定低温打破休眠后才能出苗。

[关键词] 黄精; 种子; 休眠; 温度层积

Studies on Germination and Emergence Characteristic of *Polygonatum sibiricum* Red. SeedFU Feilong¹, DING Zimian¹, MA Cunde², WEI Jianhe¹, LI Xianen¹, QI Jianjun^{1*}

(1. Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine

Ministry of Education, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of

Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;

2. Xi'an Buchang Pharmaceutical Co. Ltd., Xi'an 710075, China)

[Abstract] **Objective:** To study the dormancy characteristic of *Polygonatum sibiricum* Red. seed and explore the suitable condition for its germination. **Methods:** In accordance with the requirement of seed inspection rule, the basic characteristics of *Polygonatum sibiricum* Red. seed were determined including the thousand-grain weight, seed vigor and so on. The seed germination characteristics were explored by the temperature stratification. Also, the seed inhibition effect on germination of Chinese cabbage seeds was determined. **Results:** The average embryo rate of *Polygonatum sibiricum* Red. was 56.39% and the saturated water absorption was 36.81%; The viability of fresh seeds was 100%, and the viability was 98.67% and 96.67% respectively after six months of storage at 4℃ and 25℃; There were different levels of germination inhibitors in seeds and small bulbs of *Polygonatum sibiricum* Red.; The seeds of *Polygonatum sibiricum* Red. can germinate at 15, 20 and 25℃, but the germination time and rate were different at different temperature conditions; Seeds gone into dormant after the small bulb had grown to a certain stage. The emergence rate was 93.33% after 60 days at 4℃. **Conclusion:** The seeds of *Polygonatum sibiricum* Red. could germinate normally at 25℃, but there were epicotyl dormancy and needed a certain low temperature to break dormancy before emergence.

[Keywords] *Polygonatum sibiricum* Red.; seeds; dormancy; temperature stratification

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.8.020

[△] [基金项目] 中国医学科学院医学与健康科技创新工程经费资助(2016-I2M-2-003); 陕西省科技厅项目(2015KTSST01-05); 陕西省科学技术研究发展计划项目(2015SF2-32)

* [通信作者] 祁建军, 研究员, 研究方向: 药用植物生物技术研究; Tel: (010)57833431, E-mail: jjqi@implad.ac.cn

黄精 *Polygonatum sibiricum* Red. 为百合科黄精属多年生草本植物, 集药用、食用和观赏价值于一身。目前, 野生黄精资源已远不能满足生产需要, 人工栽培是解决黄精药材短缺的主要渠道^[1]。黄精有两种繁殖方式: 种子的有性繁殖和根茎的无性繁殖。由于目前黄精种植处于野生变家种的时期, 收集野生黄精进行无性繁殖比较多, 但这样的繁殖效率低, 妨碍大面积种植推广。黄精的结实率高, 成熟植株平均每株可产生 200 粒左右种子, 利用种子育苗移栽, 是解决黄精野生变家种的重要途径。但是, 黄精种子存在休眠问题, 自然生长条件下出苗期长, 出苗不整齐等。本试验开展了黄精种子的特性及其萌发和出苗规律研究, 旨在为开展黄精种苗繁育提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试黄精种子 2016 年 11 月采自步长制药陕西略阳黄精 GAP 基地, 经祁建军研究员鉴定为黄精 *Polygonatum sibiricum* Red. 种子。黄精果子当年采集后, 去掉果皮, 每个果子约有种子 5 粒左右。发芽用种子采用新鲜的种子晾干表面水分后, 直接进行下一步实验。种子基本特性实验使用阴干后的种子。

1.2 方法

1.2.1 种子特性测定 千粒重、种子胚的观测。参照《林木种子检验规程》(GB 2772-1999) 相关规定, 采用百粒重法测定种子千粒重。40 ℃ 浸泡 48 h 后种子用于胚观察, 并计算胚率。

$$\text{胚率} = \frac{\text{胚纵长}}{\text{胚乳纵长}} \times 100\%$$

种皮透水性测定。选取 4 份 1.0 g 阴干的黄精种子分别于三角瓶中, 加 30 mL 蒸馏水, 分别置于 15、25、45、55 ℃ 恒温箱中, 定期 (15、25 ℃ 每 8 h, 45、55 ℃ 每 1 h) 取出, 用滤纸吸干种子表面水分, 称重, 计算种子吸水率, 重复 3 次。

$$\text{种子吸水率} = \frac{\text{吸水后种子质量} - \text{吸水前种子质量}}{\text{吸水前种子质量}} \times 100\%$$

种子活力测定。供试黄精种子为新鲜种子、4 ℃ 沙藏储存和 25 ℃ 常温干燥储存 6 个月的种子。分别随机选取 100 粒, 40 ℃ 温水浸泡 48 h, 沿种子胚轴纵切, 取带胚的一半, 浸于 0.3% 的 TTC 溶液

中, 在 25 ℃ 黑暗条件下 24 h 后, 观察胚染成红色种子数并计算种子活力, 对照为 60 ℃ 水浸 2 h 灭活种子, 重复 3 次。胚染为红色的种子视为有活力的活种子, 未染色的种子视为没有活力的死种子。

$$\text{种子活力} = \frac{\text{染成红色种子数}}{\text{试验种子总数}} \times 100\%$$

1.2.2 温度层积对黄精种子发芽的影响 分别选取 50 粒黄精种子, 在 4、15、20、25 ℃ 等 4 个温度水平, 沙藏层积 90 d, 每隔 3 d 统计黄精种子发芽率, 重复 3 次, 每个重复 50 粒种子。黄精种子发芽以突破种皮的胚根长度超过种子自身的长度视为种子萌发。

$$\text{发芽率} = \frac{\text{发芽种子数}}{\text{实验种子数}} \times 100\%$$

1.2.3 温度层积对黄精种子小球茎生长的影响 将 25 ℃ 层积刚发芽, 根茎长约 0.5 ~ 0.6 cm, 小球茎未明显膨大的种子, 分别置于 4、15、20、25 ℃ 等 4 个温度水平的人工气候箱中进行层积, 层积时间统一为 90 d, 定期 (前 30 d 每 3 d, 后 60 d 每 10 d) 取出种子, 测量小球茎膨大的直径以及种子芽和根的生长变化。每个处理 30 粒种子, 重复 3 次。

1.2.4 低温层积对黄精种子出苗率的影响 将 25 ℃ 层积已发芽, 小球茎直径长约 0.2 ~ 0.3 cm, 0.4 ~ 0.5 cm 和 0.5 ~ 0.6 cm 的种子, 分别 4 ℃ 低温层积处理 15、30、45、60 d 后转移至 25 ℃ 培养, 统计出苗率, 重复 3 次。以芽出土并展开第一片真叶视为出苗。

$$\text{出苗率} = \frac{\text{出苗数}}{\text{层积种子数}} \times 100\%$$

1.2.5 抑制物的生物测定 选取 10 g 上述供试种子, 在 40 ℃ 恒温箱中用 20 mL 蒸馏水浸泡一段时间 (6、12、24、30、48 h) 后, 过滤, 取滤液, 以蒸馏水为对照, 在铺有 2 层滤纸培养皿中, 分别加入水浸液 4 mL, 均匀摆放 100 粒白菜种子, 25 ℃ 恒温条件培养。24 h 后统计白菜种子发芽率 (以胚根长度达种子长度的 1/2 为发芽标准), 重复 3 次。

$$\text{白菜种子发芽率} = \frac{\text{白菜种子发芽数}}{\text{白菜种子实验数}} \times 100\%$$

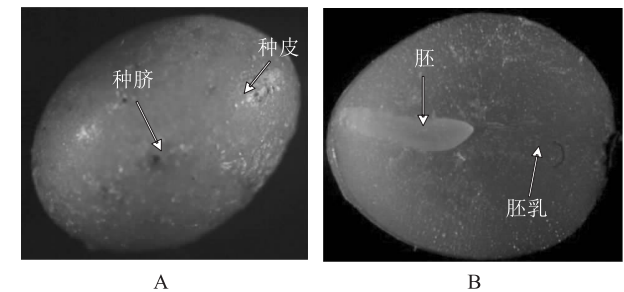
小球茎水浸液对白菜种子的发芽影响。选取 25 ℃ 层积已萌发且小球茎直径约 0.5 ~ 0.6 cm 的种子, 分别置 4、15、20、25 ℃ 恒温箱继续沙藏层积 2 个月后, 取出 1 g 磨碎, 在 40 ℃ 恒温箱中用 15 mL 蒸馏水浸泡 6 h 后, 超声提取 1 h, 过滤。分别取上

述滤液，以蒸馏水为对照，进行白菜种子生物测定，方法同上。

2 结果与分析

2.1 黄精种子的特性

2.1.1 种子及胚形态 黄精种子外观有 2 个或 3 个棱呈不规则卵圆形，鲜种子表面为淡黄白色，有光泽，种脐明显，呈深褐色圆点状(图 1, A)。阴干后呈黄褐色，光泽消失，种皮质地坚硬，千粒重为 31.38 g。胚位于种子中部，沿种子中轴呈棒状结构，占据种子小部分空间，平均胚长为(4.27 ± 0.26) mm，胚率为(56.39 ± 6.11)%，且胚结构简单，分化不明显，没有明显的胚芽、胚轴、胚根和子叶的分化。胚乳占据种子大部分空间，排列致密，细胞质浓厚(图 1, B)。黄精种子及胚形态长度的测量结果见表 1。



注：A. 黄精种子外观；B. 种子纵切面显示胚和胚乳

图 1 黄精种子外观及纵切面

表 1 种子及胚的形态观测

种子部位	均值/mm	标准差	最小值/mm	最大值/mm
种子长度	4.43	0.288	4.00	5.00
种子宽度	4.13	0.248	3.54	4.90
种子厚度	3.53	0.259	3.12	4.02
胚长度	2.50	0.291	1.98	3.14
胚乳长	4.27	0.361	3.32	4.94
胚率/%	56.39	6.110	45.76	73.09

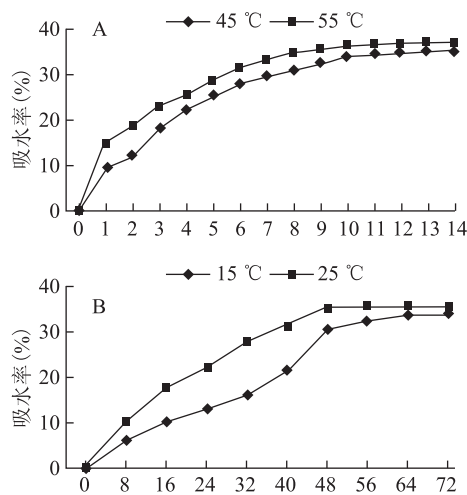
2.1.2 种皮透水性 黄精种子在 45、55 ℃ 浸种(图 2, A)后，吸胀较快，浸种 8 h 后吸水高峰结束，12 h 后吸胀结束进入吸水饱和期，饱和吸水率分别为(34.75 ± 0.51)%和(36.81 ± 1.48)%；黄精种子在 15、25 ℃ 浸种(图 2, B)后，缓慢吸胀，分别在 64 h 和 48 h 后吸胀结束进入吸水饱和期，饱和吸水率分别为(34.16 ± 1.11)%和(35.58 ± 0.61)%。结果证明，黄精种子透水性较好，其种皮

虽存在一定的机械阻力但不是影响其种子萌发的主要原因。

2.1.3 种子活力测定 有活力的黄精种子(图 3, A)与无活力的种子(图 3, B)，其种子活力和发芽率结果见表 2。新鲜种子、4 ℃ 湿沙和 25 ℃ 干燥储存种子的活力和发芽率无显著差异。说明经过半年储存后黄精种子的活力没有下降 25 ℃ 下均可以很好地萌发。

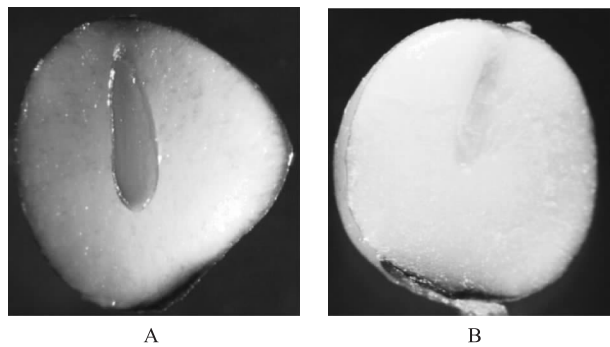
2.2 黄精种子萌发和出苗特性

2.2.1 种子萌发和出苗过程的形态变化 黄精种子在 25 ℃ 温度沙藏 2 周后，胚根(图 4, A, K)从种脐处突破种皮露白。并继续向种外伸长(图 4, B)，并



注：A. 45、55 ℃；B. 15、25 ℃

图 2 不同温度条件下黄精种子吸水率曲线



注：A. 活种子的胚染成红色；B. 无活力种子的胚未染色

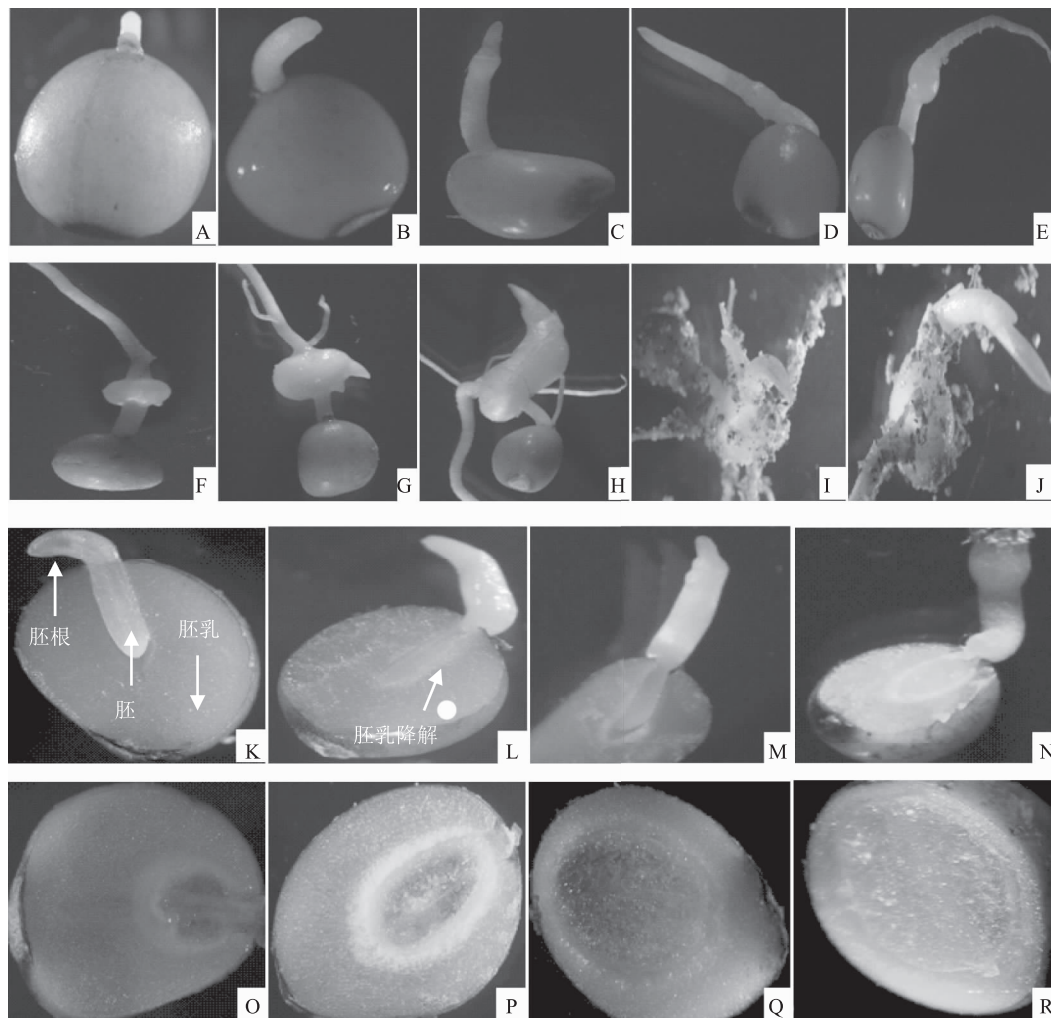
图 3 种子活力测定

表 2 种子活力和发芽率对比

种 子	种子活力	发芽率
新鲜种子	100	100
4 ℃ 沙藏种子	98.67 ± 0.57	96.67 ± 0.57
25 ℃ 干燥储存种子	96.67 ± 0.57	96.67 ± 0.57

在近种子端(图4, C, D)约3~4 mm处膨大形成环状凸起, 向外伸出根并迅速伸长, 此时肉眼不能观察到明显的胚芽。同时, 种子内部胚体体积膨大胚乳降解提供营养(图4, L~N)。此时, 种子完成萌发。萌发后, 环状凸起膨大形成球状的小球茎(图4, E~G)且与根约成90°处伸出肉眼可见的胚芽, 种子

内的胚几乎占满种子空间(图4, O~R)。小球茎和胚芽发育到一定程度(图4, H), 不再生长, 但保持着生根生长。种子进入上胚轴休眠阶段, 转入低温(4℃)层积处理60 d后, 胚芽(图4, I)顶端变成紫灰色, 绿色的子叶(图4, J)伸出, 突破土层并展开, 种子出苗。



注: A~D. 黄精种子发芽阶段胚根动态; E~H. 黄精种子发芽后根茎和芽动态; I~J 胚在黄精种子出苗过程动态; K~N. 黄精种子发芽阶段胚动态; O~R. 黄精种子发芽后胚动态

图4 黄精种子萌发及出苗过程

2.2.2 黄精种子萌发的最适温度 四种温度下沙藏的黄精种子萌发结果如图5所示。20、25℃沙藏的种子, 在10~13 d后即有少数种子露白, 随着沙藏时间的延长, 露白和发芽种子数增多, 21~28 d出现明显的发芽高峰, 发芽率分别可达28.67%~63.33%和46.67%~87.33%; 25℃沙藏35 d后发芽率达到100%, 20℃沙藏种子56 d后发芽率达83.33%。15℃层沙藏种子33 d后开始萌发, 44~

50 d发芽率达8%~12.67%。4℃沙藏种子3个月内未见发芽。结果证明, 黄精种子萌发的最适温度为25℃, 约需35 d达到100%发芽率, 但不能正常出苗。

2.2.3 小球茎的形成及出苗 黄精种子萌发后不能马上出苗, 而是形成一个小球茎(图6和图7)。15、20、25℃沙藏的黄精种子萌发后均可形成小球茎, 小球茎直径从约0.6~6 mm 分别需要约35~65 d。

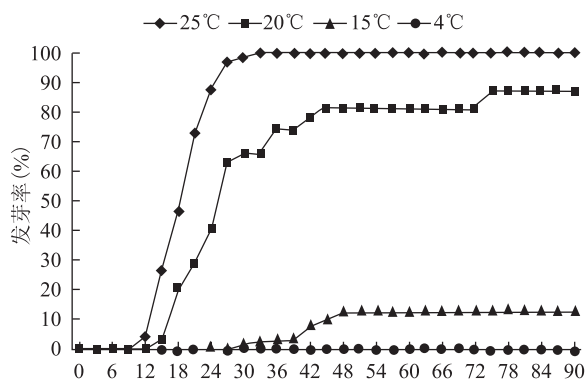


图5 四种温度下沙藏层积黄精种子的发芽率

25℃沙藏种子(图7, A), 胚芽(子叶)为白色, 伸长至2~4 mm不再伸长, 保持生根生长, 侧根数量达5~6个; 20℃沙藏种子(图7, B), 胚芽顶端逐渐变为淡紫色, 伸长至6~8 mm不再伸长, 保持生根生长, 侧根数量达3~4个; 15℃层积种子(图7, C), 胚芽顶端逐渐变为淡紫色, 伸长至8~12 mm不再伸长, 保持生根生长, 侧根数量达1~2个。上述结果说明, 黄精种子在形成小球茎后存在休眠特性, 在15、20、25℃条件下均存在子叶不能正常伸长, 出苗困难。

对小球茎直径分别为2~3、4~5、5~6 mm的已经萌发的种子进行4℃低温沙藏处理, 分别在处理15、30、45、60 d后转入25℃, 低温处理60 d的种子能出苗(图7, D), 出苗率分别达到 $(3.33 \pm 5.77)\%$, $(13.33 \pm 5.77)\%$ 和 $(93.33 \pm 5.77)\%$ 。这一结果说明, 4℃低温沙藏处理60 d能够解除黄精种子萌发时形成的小球茎休眠, 然后能正常出苗。

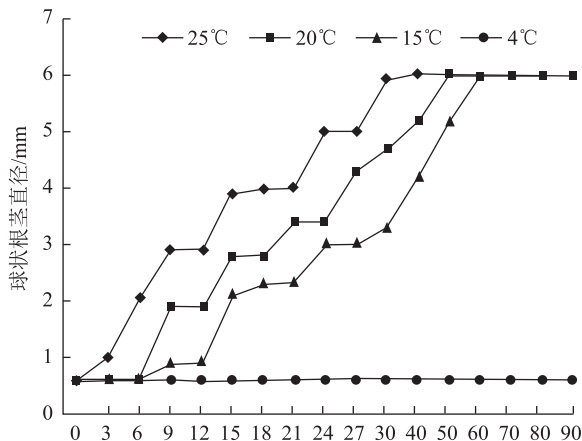
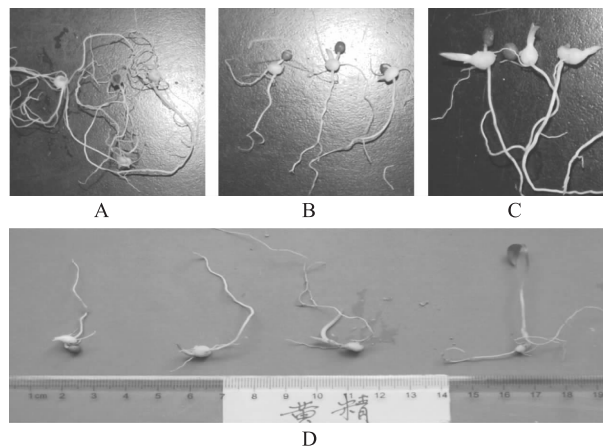


图6 不同温度层积黄精小球茎变化

2.3 抑制物生物测定

2.3.1 种子水浸液对白菜种子发芽的影响 黄精种



注: A. 25℃; B. 20℃; C. 15℃; D. 4℃沙藏后出苗

图7 层积后种子外观

子在形成小球茎后存在明显的休眠特性, 不能正常出苗。本研究利用种子浸提物来处理白菜种子, 验证黄精种子中是否存在发育抑制物。黄精种子在不同浸提时间下, 浸提液对白菜种子萌发的影响不同(图8)。浸种6、12 h的4℃沙藏和25℃干燥储存种子浸泡液处理所得的白菜种子发芽率均略小于蒸馏水处理, 但差异无统计学意义; 4℃沙藏和25℃干燥储存种子浸种24、30、36、72 h的浸泡液处理所得的白菜种子发芽率均显著小于蒸馏水处理, 24 h浸提液的影响最强, 发芽率只有 $(23.67 \pm 9.29)\%$ 和 $(21.33 \pm 8.51)\%$ 。由此可见, 黄精种子水浸液中存在水溶性萌发抑制物。

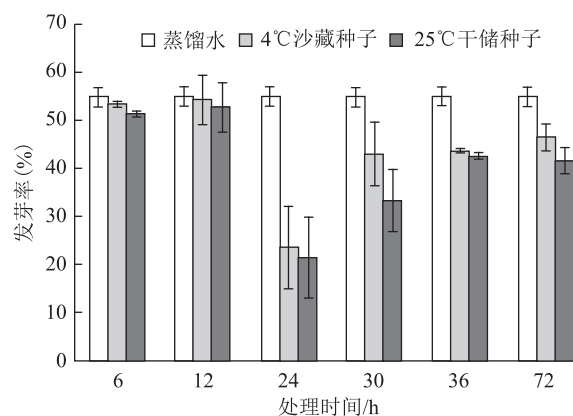


图8 黄精种子不同时间浸液对白菜种子发芽率的影响

2.3.2 小球茎浸提液对白菜种子发芽影响 经4、15、20、25℃沙藏层积2个月黄精小球茎的水提液处理白菜种子, 其发芽率分别为 $(21.67 \pm 0.58)\%$, $(40 \pm 1.73)\%$, $(27.67 \pm 2.08)\%$, $(34 \pm 3.61)\%$, 均显著小于蒸馏水处理, 说明黄精小球茎中存在发育抑制物(图9)。

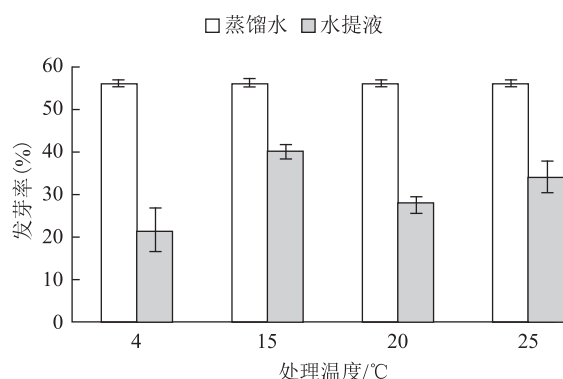


图9 小球茎水浸液对白菜种子发芽率的影响

3 结论与讨论

成熟后收获的黄精种子胚发育不全,没有形成明显的胚结构,种子中只有一个呈棒状的胚,胚乳占据种子的大部分体积。另外,在种子萌发过程存在萌发抑制物,按照 Baskin^[2]的种子休眠分类理论,黄精种子属于形态生理休眠类型(Morphophysiological dormancy, MPD)。然而,黄精种子的休眠解除过程,跟其他具有 MPD 休眠类型的种子存在明显不同。例如西洋参^[3]、人参^[3]、重楼^{[4] 646-648}、芍药^{[4] 163-164}、牡丹^{[4] 165-166}等 MPD 类型种子,需要15~20℃层积处理60~90d左右,然后再转入4℃低温层积60d左右。黄精种子萌发初期要求温度较高(25℃),开始萌发速度比较快(14d左右)。黄精种子在高温(25℃)下萌发后,很快形成一种小球茎组织,该小球茎组织上分化出根和胚芽,但由于存在生长抑制物,不能继续生长。这一小球茎时期的休眠应该属于上胚轴休眠,通过低温沙藏60d左右即可解除休眠。本研究证明,黄精种子在初始萌发阶

段不存在萌发障碍,25℃是种子萌发的最适温度。在此温度下,经过约30d左右生长发育形成明显小球茎,这时需要低温来解除上胚轴休眠才能出苗。生物测定实验也证明了小球茎中存在有黄精种子的萌发抑制物。这一研究结果,为人们在可控条件下进行黄精种子育苗提高参考,可加快育苗进程。

本研究证明,黄精种子具有形态和生理休眠特性,在初始萌发阶段为胚的形态建成期,形成小球茎后需要低温解除生理休眠。张跃进^[5]等认为黄精种子萌发有综合休眠现象。黄精种子25℃层积35~40d的发芽率为100%,萌发特性好。同时,在黄精小球茎直径约为5~6mm时转入4℃低温层积2个月可以达到最好的出苗率。吴维春^[6]等研究也证明低温处理时间与出苗率相关,处理60d幼苗基本全部出土的结果一致。

参考文献

- [1] 张跃进,张玉翠,王占红,等.黄精种子内源抑制物质的初步研究[J].西北农业学报,2011,20(7):50.
- [2] Baskin C, Baskin J M. Determining dormancy-breaking and germination requirements from the fewest seeds[J]. Washington: Island Press, 2004: 162-179.
- [3] 黄耀阁,崔树玉,李向高,等.人参和西洋参种子休眠机理研究进展[J].人参研究,1995(1):3-7.
- [4] 陈瑛.实用中药种子技术手册[M].北京:人民卫生出版社,1999.
- [5] 张跃进,张玉翠,李勇刚,等.药用植物黄精种子休眠特性研究[J].植物研究,2010,30(6):753-757.
- [6] 吴维春,罗海潮.温度与黄精种子萌发试验[J].中药材,1995,18(12):587-598.

(收稿日期 2017-05-03)