

网络出版时间:2020-06-01 10:46 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2020.12.015  
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.s.20200529.0830.015.html

# 乌苏里鼠李种子休眠机理及萌发特性研究

刘 洋<sup>1,2</sup>, 郭 娇<sup>2</sup>, 王 娟<sup>2</sup>, 李青丰<sup>1</sup>

(1 内蒙古农业大学 草原与资源环境学院, 呼和浩特 010019;

2 内蒙古和盛生态科技研究院有限公司, 呼和浩特 011517)

**【摘要】**【目的】确定乌苏里鼠李种子休眠类型,探索有效解除种子休眠的方法,为其种质资源利用、种子扩繁等提供理论指导。【方法】以 2018 年 9 月采集的乌苏里鼠李种子为材料,研究种子的生物学特性、吸水特性、休眠特性以及种子内源抑制物活性,确定种子的休眠类型;用体积分数 98%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 、质量分数 5.5%  $\text{NaClO}$ 、热水和不同浓度(1, 2, 3 mol/L)  $\text{NaOH}$  对乌苏里鼠李种子进行处理,探索解除种子休眠的有效方法。【结果】乌苏里鼠李种子成熟后,种皮为黄褐色至黑褐色,种皮有蜡质,种子长形卵圆状,表皮光亮、质地坚实、结构致密、种胚紧密;千粒质量为  $(19.6 \pm 1.0)$  g;纵径为  $(5.0 \pm 0.2)$  mm,横径为  $(3.8 \pm 0.2)$  mm。在室温条件下,乌苏里鼠李种子的吸水率随浸种时间的增加呈抛物线型变化,表明其种皮透水性良好,对种子的吸水阻碍较小。乌苏里鼠李种子的生活力平均值为 96%,但发芽率和发芽势均为 0%,种子本身具有休眠特性。随着乌苏里鼠李种子浸提液质量浓度的增加,内源抑制物对白菜种子发芽率和根长的抑制作用均明显增加,对白菜种子根长的抑制活性呈上升趋势。采用体积分数 98%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  和质量分数 5.5%  $\text{NaClO}$  处理乌苏里鼠李种子,均不能解除其种子休眠;分别采用 40~60 °C 热水浸种 20 min 或者 1~3 mol/L  $\text{NaOH}$  浸种 20~120 min,均具有破解其种子休眠的作用。【结论】种皮障碍和内源抑制物是限制乌苏里鼠李种子发芽的主要原因,乌苏里鼠李种子属于综合休眠型;40 °C 热水处理 20 min 或 1 mol/L  $\text{NaOH}$  处理 40 min 可有效解除种子休眠。

**【关键词】** 乌苏里鼠李;种子萌发;休眠特性;内源抑制物

**【中图分类号】** Q949.756.2

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1671-9387(2020)12-0127-09

## Seed dormancy mechanism and germination characteristics of *Rhamnus ussuriensis*

LIU Yang<sup>1,2</sup>, GUO Jiao<sup>2</sup>, WANG Juan<sup>2</sup>, LI Qingfeng<sup>1</sup>

(1 College of Grassland, Resources and Environment, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019, China;

2 Inner Mongolia Hesheng Ecological Science and Technology Research Institute Company Limited, Hohhot, Inner Mongolia 011517, China)

**Abstract:** 【Objective】The seed dormancy type of *Rhamnus ussuriensis* and the effective methods for releasing seed dormancy were explored to provide guidance for utilization of germplasm resources and seed propagation. 【Method】The biological characteristics, water absorption characteristics, dormancy characteristics and activity of endogenous inhibitors of *Rhamnus ussuriensis* seeds collected in September 2018 were investigated to determine the dormancy type. The effects of 98% sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), 5.5% sodium hypochlorite ( $\text{NaClO}$ ), hot water and sodium hydroxide ( $\text{NaOH}$ ) at different concentrations (1, 2 and 3 mol/L) on seeds were studied to explore an effective way to release dormancy. 【Result】The testa of mature *Rhamnus ussuriensis* seeds was waxy and yellow brown to black brown in color. The seeds were long

**【收稿日期】** 2019-11-25

**【基金项目】** 内蒙古自治区科技计划项目(201803007);呼和浩特市科技计划项目(厅市产学研协同创新科技合作项目)(产学研-2018-11);内蒙古自治区科技成果转化项目(CGZH2018030)

**【作者简介】** 刘 洋(1984—),女,内蒙古包头人,在读博士,主要从事植物种苗培育研究。E-mail:45128288@qq.com

**【通信作者】** 李青丰(1959—),男,河北元氏人,教授,主要从事草地生态学研究。E-mail:llff202@126.com

and oval with bright epidermis, solid texture, dense structure, and tight embryo. The mass of 1 000 grains was  $(19.6 \pm 1.0)$  g, the longitudinal diameter was  $(5.0 \pm 0.2)$  mm, and the transverse diameter was  $(3.8 \pm 0.2)$  mm. At room temperature, the water absorption of *Rhamnus ussuriensis* seeds changed in parabola shape with the increase of soaking time, which indicated that its testa had good water permeability and little water absorption obstruction to seeds. The average viability of *Rhamnus ussuriensis* seeds were 96%, and the average germination rate and germination potential were 0%. It can be seen that seeds had dormancy characteristics. With the increase of concentration of NaOH, the inhibition of endogenous inhibitors on germination rate and root length of *Brassica pekinensis* seeds increased significantly, and the inhibition activity on the root length of *B. pekinensis* seed increased as well. The seeds of *Rhamnus ussuriensis* treated with 98%  $H_2SO_4$  by volume and 5.5% NaClO by mass could not be released from dormancy. The dormancy was released when seeds were soaked in hot water at 40—60 °C for 20 minutes or 1—3 mol/L NaOH for 20—120 minutes, respectively. 【Conclusion】 Seed coat obstacle and endogenous inhibitor were the main factors restricting germination of *Rhamnus ussuriensis* seeds. The *Rhamnus ussuriensis* seeds belonged to the comprehensive dormancy type. The seed dormancy could be released effectively by 40 °C hot water treatment for 20 min or 1 mol/L NaOH treatment for 40 min.

**Key words:** *Rhamnus ussuriensis*; seed germination; dormancy characteristics; endogenous inhibitor

种子休眠是指在一定的时间内,具有生活力的种子在一定范围的生态环境因子(水分、温度、光照等)组合下不能完成发芽的现象<sup>[1-2]</sup>。这种休眠现象是植物在长期进化发育过程中,为适应恶劣的生存环境而形成的繁殖策略<sup>[3]</sup>,但也是限制种子生产和扩繁应用的主要因素之一,研究种子休眠对植物的开发利用具有重要意义。近年来,国内外关于破除种子休眠方法的研究报道较多。如采用机械摩擦、NaOH、浓  $H_2SO_4$  等方法处理曼陀罗(*Datura stramonium*)种子,可有效打破其种子的机械休眠<sup>[4]</sup>;用 30 g/L NaOH、250 mg/L 青霉素等处理沙棘(*Hippophae rhamnoides*)种子,可有效解除沙棘种子的休眠<sup>[5]</sup>;用不同浓度的赤霉素溶液处理秀雅杜鹃(*Rhododendron concinnum*)种子,可有效提高其种子发芽率<sup>[6]</sup>。另外,关于造成种子休眠的原因,也有大量报道,研究认为造成种胚休眠的原因可以是形态的、生理的或二者兼有<sup>[7]</sup>。通过测定栎属(*Quercus*)植物种子的浸提液活性,表明栎属植物种子休眠的主要原因是种子中含有内源抑制物<sup>[8]</sup>;野鸦椿(*Euscaphis japonica* (Thunb.) Dippel)种子难发芽的原因是种壳和胚均含有内源抑制物,且内源抑制物抑制活性较高<sup>[9]</sup>。

乌苏里鼠李(*Rhamnus ussuriensis*)为鼠李科(Rhamnaceae)鼠李属(*Rhamnus*)的小乔木或灌木,产于黑龙江、吉林、辽宁和内蒙古等地。花期 4—6 月份,果期 6—10 月份,种子卵圆形黑褐色,通常生于内果皮中,薄膜质的内果皮不开裂或极难分

离<sup>[10]</sup>。乌苏里鼠李耐干旱和贫瘠,是重要的水土保持和生态修复灌木树种;在园林绿化中常用于刺篱和盆景材料;种子含油量高,榨油后可供制润滑油;木材坚硬,可作车辆、辘轳、细工雕刻等用<sup>[10-11]</sup>,具有广阔的开发利用前景。种子繁殖是乌苏里鼠李重要的繁殖方式之一,但种子繁殖的主要问题是种子发芽困难和出苗不整齐,给实际大规模培育带来了极大的不便。目前关于乌苏里鼠李的研究主要集中在名实问题<sup>[12]</sup>、枝条萌发<sup>[13]</sup>、红色素提取<sup>[14]</sup>等方面,而关于其种子休眠原因和解除休眠方法的研究相对匮乏。本试验在对乌苏里鼠李种子休眠机理及萌发特性研究的基础上,探究乌苏里鼠李种子休眠机理及萌发特性,并确定其休眠类型,以及能快速有效解除乌苏里鼠李种子休眠的方法,提高其发芽率,为其种质资源利用、种子扩繁等提供理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究材料

位于内蒙古的赛罕乌拉国家级自然保护区是以保护珍稀濒危野生动植物及其生存的森林、草原、湿地等多样性的生态系统为主的综合性自然保护区。试验所用乌苏里鼠李种子于 2018 年 9 月在赛罕乌拉采集,采集后人工去除果皮,晾干装于信封内 4 °C 下保存。试验于 2018 年 10 月开展,选取饱满无虫害种子作为供试材料。内源抑制物活性测定时所用白菜(*Brassica pekinensis*)种子购于呼和浩特种子市场。

## 1.2 研究方法

1.2.1 种子的生物学特性和吸水特性研究 对种子的生物学特性进行观测时,主要项目包括种皮颜色以及种子形状、质地、千粒质量、纵径、横径,其中千粒质量用万分之一天平进行测定,纵径、横径用游标卡尺(测量范围 0~200 mm)测定。吸水特性研究方法为:随机选取 50 粒种子,使用型号为 AR423CN 电子天平称质量后,置于烧杯中,加入蒸馏水于室温浸种,4 个重复。每隔 24 h 取出种子,用滤纸吸干表面水分后称质量,直至连续 2 次种子质量恒定结束试验,计算种子吸水率。种子吸水率=(吸水后种子质量-吸水前种子质量)×100%。

1.2.2 种子休眠特性研究 (1)种子生活力。将种子在室温环境下浸泡 24 h 后,用 TTC 法<sup>[15]</sup>测定种子生活力,每个重复 50 粒种子,4 个重复。种子生活力=有生活力的种子数/供试种子总数×100%。(2)种子发芽试验。参照喻梅等<sup>[16]</sup>的方法,发芽试验在 25℃恒温培养箱中进行,光周期为 12 h 光照、12 h 黑暗。每个重复 50 粒种子,4 个重复。种子发芽以露白为标志<sup>[17]</sup>,以连续 7 d 不再有种子发芽视为发芽结束<sup>[18]</sup>。计算种子发芽率和发芽势。

发芽率=发芽种子数/供试种子总数×100%。

发芽势=发芽达到最高峰时发芽种子数/供试种子总数×100%。

1.2.3 种子内源抑制物活性的研究 因白菜种子无休眠特性,且易萌发,因此试验选用白菜种子作为内源抑制物活性测定材料。乌苏里鼠李种子浸提液参考赵敏等<sup>[19]</sup>的方法制备。乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子发芽率及根长的影响,参考赵敏等<sup>[19]</sup>的方法进行,设置乌苏里鼠李种子浸提液质量浓度分别为 0.02,0.04,0.08,0.12,0.16 mg/L,以蒸馏水作为对照,于培养皿中加入 5 mL 不同质量浓度的乌苏里鼠李种子浸提液,每皿 50 粒白菜种子,于(25±1)℃培养箱中黑暗培养,每处理设 4 个重复。24 h 后统计发芽种子数,计算白菜种子发芽率,48 h 后用直尺测量白菜种子根长。按下式计算抑制活性。抑制活性=(1-处理组根长)/对照组根长×100%。

1.2.4 种子休眠解除方法研究 (1)H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与 NaClO 处理对乌苏里鼠李种子发芽特性的影响。将供试种子用体积分数 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液分别浸种 10, 20, 30, 60 min;或者用质量分数 5.5% NaClO 溶液分别浸种 20, 40, 60 和 120 min;以蒸馏水处理的种子为对照(CK)。处理后的种子参照喻梅等<sup>[16]</sup>的方

法进行发芽试验,试验在 25℃恒温培养箱中进行,光周期为 12 h 光照、12 h 黑暗。每重复 50 粒种子,4 个重复。参考 1.2.2 节的方法测定种子的发芽率、发芽势、生活力。

(2)热水对乌苏里鼠李种子发芽特性的影响。分别将供试种子用 40, 60 和 80℃热水浸种 20 min,以蒸馏水处理的种子为对照(CK),处理后的种子参照喻梅等<sup>[16]</sup>的方法进行发芽试验,试验在 25℃恒温培养箱中进行,光周期为 12 h 光照、12 h 黑暗。每重复 50 粒种子,4 个重复。参考 1.2.2 节的方法测定种子的发芽率、发芽势。

(3)NaOH 处理对乌苏里鼠李种子发芽特性的影响。将供试种子用 1, 2 和 3 mol/L NaOH 溶液分别浸种 20, 40, 60, 120 min,以蒸馏水处理的种子为对照(CK),处理后的种子参照喻梅等<sup>[16]</sup>的方法进行发芽试验,试验在 25℃恒温培养箱中进行,光周期为 12 h 光照、12 h 黑暗。每重复 50 粒种子,4 个重复。参考 1.2.2 节的方法测定种子的发芽率、发芽势。

1.2.5 解除休眠后种子内源抑制物活性的研究 经 1.2.4 研究可得出能有效解除乌苏里鼠李种子休眠的方法,采用该方法处理乌苏里鼠李种子,并且以蒸馏水处理的种子为对照(CK),分析解除休眠后的乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子发芽率及根长的影响,研究解除休眠后乌苏里鼠李种子内源抑制物活性。具体试验方法同 1.2.3。

## 1.3 数据处理与分析

采用 SPSS 22.0 和 Excel 2003 软件进行数据分析和图表绘制,用 Duncan's 法对不同处理相关指标进行多重比较。

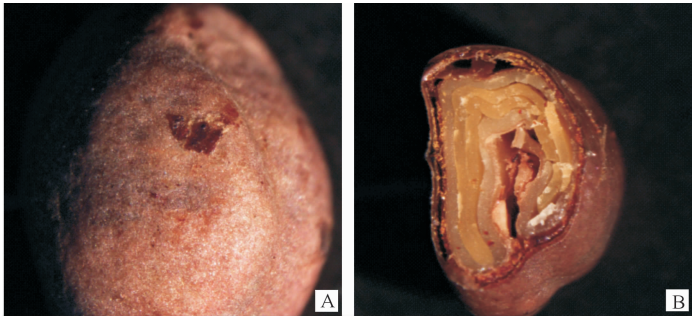
## 2 结果与分析

### 2.1 乌苏里鼠李种子的生物学特性

乌苏里鼠李种子成熟后,种皮为黄褐色至黑褐色,种皮具蜡质,种子长形卵圆状,质地坚实、结构致密、种胚紧密(图 1);千粒质量为(19.6±1.0)g;纵径为(5.0±0.2)mm,横径为(3.8±0.2)mm。

### 2.2 乌苏里鼠李种子的吸水特性

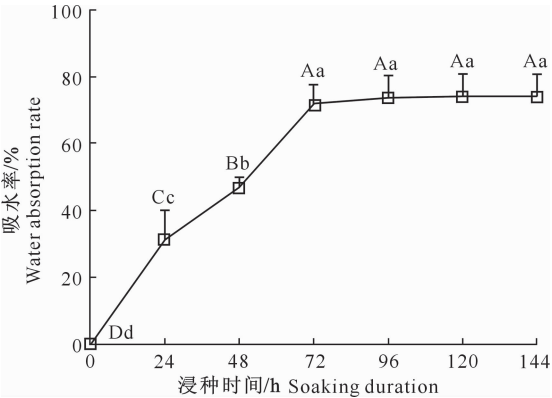
图 2 显示,在室温条件下,乌苏里鼠李种子的吸水率随浸种时间的增加呈抛物线型变化。浸种 0~72 h,种子吸水率急剧上升( $P<0.01$ );72~144 h 种子吸水率总体趋于平稳;当浸种 144 h 时,种子吸水率可达 73.8%,表明此时种皮透水性良好,对种子的吸水阻碍较小。



A. 外种皮 Seed coat;B. 种子横切面 Seed cross section

图 1 乌苏里鼠李种子

Fig.1 Seed of *Rhamnus ussuriensis*



不同小写字母表示不同处理间差异显著( $P<0.05$ ),  
不同大写字母表示不同处理间差异极显著( $P<0.01$ )。下图同  
Different lowercase letters indicate significant difference at  $P<0.05$ ,  
and different capital letters indicate extremely significant  
difference at  $P<0.01$ . The same below

图 2 乌苏里鼠李种子的吸水曲线

Fig.2 Water absorption curve of *Rhamnus ussuriensis* seeds

2.3 乌苏里鼠李种子的休眠特性

如表 1 所示,4 个重复的乌苏里鼠李种子的生  
活力分别为95%,98%,97%,94%,但发芽率和发芽

势均为 0%。可知种子的生活力不是导致种子发芽  
率低的原因,而是种子本身具有休眠特性。

表 1 乌苏里鼠李种子的发芽特性

Table 1 Germinating characteristics of

*Rhamnus ussuriensis* seeds %

| 项目<br>Item           | 生活力<br>Viability | 发芽率<br>Germination<br>rate | 发芽势<br>Germination<br>potential |
|----------------------|------------------|----------------------------|---------------------------------|
| 重复 1 Repeat 1        | 95               | 0                          | 0                               |
| 重复 2 Repeat 2        | 98               | 0                          | 0                               |
| 重复 3 Repeat 3        | 97               | 0                          | 0                               |
| 重复 4 Repeat 4        | 94               | 0                          | 0                               |
| 平均值<br>Average value | 96               | 0                          | 0                               |

2.4 乌苏里鼠李种子内源抑制物活性

表 2 和表 3 显示,随着乌苏里鼠李种子浸提液  
质量浓度的增加,白菜种子的发芽率和根长均呈降  
低趋势。当乌苏里鼠李种子浸提液质量浓度为0.16  
mg/L 时,抑制活性达到最高,对白菜种子发芽率和  
根长的抑制作用达到极显著水平,较对照分别降低  
了 42.9%和 90.0%,表明乌苏里鼠李种子含有内源  
抑制物。

表 2 乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子发芽率和根长的影响

Table 2 Effect of seed extracts of *Rhamnus ussuriensis* on germination rate and root length of *Brassica pekinensis* seeds

| 指标<br>Index            | 浸提液质量浓度/(mg · L <sup>-1</sup> ) Mass concentration of extract |             |             |             |             |             |
|------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                        | CK                                                            | 0.02        | 0.04        | 0.08        | 0.12        | 0.16        |
| 根长/cm Root length      | 1.0±0.1 Aa                                                    | 0.5±0.2 Bb  | 0.2±0.0 Cc  | 0.2±0.0 Cc  | 0.2±0.0 Cd  | 0.1±0.0 Cd  |
| 发芽率/% Germination rate | 91.0±1.0 Aa                                                   | 80.7±5.0 Aa | 80.0±5.3 Ab | 75.0±5.0 Bb | 55.3±9.9 Cc | 52.0±6.0 Cc |

注:同行数据后标有不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),标不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。表 3 和表 8 同。  
Note:Different lowercase letters indicate significant different at  $P<0.05$ ,and different capital letters indicate extremely significant differ-  
ence at  $P<0.01$ . The same in Table 3 and Table 8.

表 3 乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子根长的抑制活性

Table 3 Inhibitory activity of *Rhamnus ussuriensis* seed extract on root length of *Brassica pekinensis* seedlings %

| 指标<br>Index                 | 浸提液质量浓度/(mg · L <sup>-1</sup> ) Mass concentration of extract |              |             |             |             |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
|                             | 0.02                                                          | 0.04         | 0.08        | 0.12        | 0.16        |
| 抑制活性<br>Inhibitory activity | 50.0±5.1 Bb                                                   | 80.0±4.4 BAa | 80.0±6.3 Aa | 80.0±5.8 Aa | 90.0±8.3 Aa |

2.5 乌苏里鼠李种子休眠解除方法的效果比较

2.5.1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与 NaClO 处理 表 4 显示,乌苏里鼠李种子经体积分数 98%的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与质量分数 5.5%的 NaClO 处理不同时间后,种子发芽率均为 0%,与对照组无差异。体积分数 98%的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 处理

乌苏里鼠李种子后,大部分种子处于坏死状态,只有少数种子有生活力;质量分数为 5.5%的 NaClO 处理种子后,大部分种子具有生活力,但无种子发芽。表明体积分数 98%的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 与质量分数 5.5%的 NaClO 不能有效解除乌苏里鼠李种子的休眠。

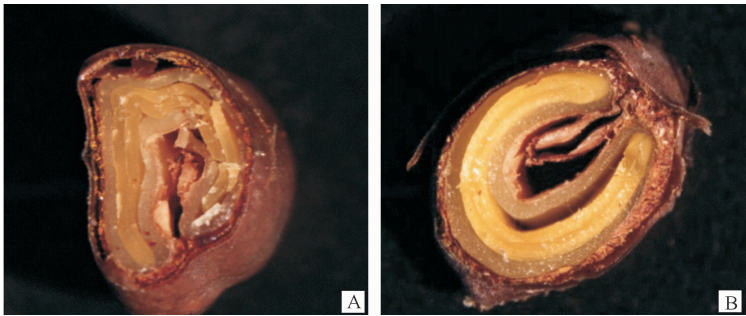
| 表 4 NaClO 与 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 对乌苏里鼠李种子发芽特性的影响                                                   |    |                                                                                                          |    |    |    |                                                          |    |    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|----|----------------------------------------------------------|----|----|-----|
| Table 4 Effect of NaClO and H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> on seed germination of <i>Rhamnus ussuriensis</i> |    |                                                                                                          |    |    |    |                                                          |    |    |     |
| 指标<br>Index                                                                                                  | CK | 体积分数 98% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 处理时间/min<br>Treatment time of 98% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |    |    |    | 质量分数 5.5% NaClO 处理时间/min<br>Treatment time of 5.5% NaClO |    |    |     |
|                                                                                                              |    | 10                                                                                                       | 20 | 30 | 60 | 20                                                       | 40 | 60 | 120 |
| 种子发芽率<br>Seed germination rate                                                                               | 0  | 0                                                                                                        | 0  | 0  | 0  | 0                                                        | 0  | 0  | 0   |
| 种子发芽势<br>Seed germination potential                                                                          | 0  | 0                                                                                                        | 0  | 0  | 0  | 0                                                        | 0  | 0  | 0   |
| 种子生活力<br>Seed viability                                                                                      | 94 | 16                                                                                                       | 20 | 12 | 6  | 94                                                       | 90 | 84 | 96  |

2.5.2 热水处理 表 5 显示,乌苏里鼠李种子发芽率和发芽势均随热水温度的升高而降低。用 40 ℃热水处理 20 min 后,种子的发芽率和发芽势均最高,分别为 86.7%和 60.0%。如图 3 所示,未经处理的乌苏里鼠李种子表皮光亮、质地坚实、结构致

密,种胚紧密;经过 40 ℃热水处理 20 min 后,种皮裂开,种胚细胞吸水膨胀。可见热水可增加种皮透水性和透气性,因此种子的种皮障碍是导致其休眠的主要原因之一。

| 表 5 不同温度热水对乌苏里鼠李种子发芽特性的影响                                                                                      |                         |                              |                                 |                         |                              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| Table 5 Effect of hot water at different water temperatures on germination of <i>Rhamnus ussuriensis</i> seeds |                         |                              |                                 |                         |                              |
| 热水温度/℃<br>Hot water temperature                                                                                | 发芽率<br>Germination rate | 发芽势<br>Germination potential | 热水温度/℃<br>Hot water temperature | 发芽率<br>Germination rate | 发芽势<br>Germination potential |
| CK                                                                                                             | 0.0±0.0 Cc              | 0.0±0.0 Cc                   | 60                              | 35.0±0.0 Bb             | 28.3±2.9 Bb                  |
| 40                                                                                                             | 86.7±7.6 Aa             | 60.0±8.7 Aa                  | 80                              | 0.0±0.0 Cc              | 0.0±0.0 Cc                   |

注:同列数据后标有不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),标不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。表 6 和表 7 同。  
Note:Different lowercase letters in each line indicate significant different at  $P<0.05$ ,and different capital letters indicate extremely significant difference at  $P<0.01$ . The same in Table 6 and Table 7.



A. 正常种子;B. 40 ℃热水处理 20 min 后的种子  
A. Seed of CK;B. Seeds treated with 40 ℃ hot water for 20 minutes

图 3 热水处理后的乌苏里鼠李种子横切面的观察结果  
Fig. 3 Observation on cross section of *Rhamnus ussuriensis* seeds after hot water treatment

2.5.3 NaOH 处理 图 4 显示,与 CK 相比,乌苏里鼠李种子经不同浓度的 NaOH 溶液处理不同时间后,种子发芽率极显著升高。浸种 20~40 min,

种子的发芽率随 NaOH 溶液浓度的升高呈下降趋势,其中 1 mol/L NaOH 处理种子 40 min 时发芽率最高,达 90.0%,接近种子生活力;浸种 60~120

min,种子的发芽率随 NaOH 溶液浓度的升高而增加,但均低于使用 1 mol/L NaOH 处理 40 min 后的种子发芽率,表明 1 mol/L NaOH 处理 40 min 是打破乌苏里鼠李种子休眠的有效方法之一。

由表 6 可以看出,与 CK 相比,不同浓度 NaOH 对乌苏里鼠李种子处理不同时间后,种子发芽势极显著升高。浸种 20~120 min,种子发芽势随着时间的延长呈先上升后下降的趋势,其中 1 mol/L NaOH 处理种子 40 min 时发芽势最高,达 90.0%。

图 5 显示,未经处理的乌苏里鼠李种子表皮光亮、质地坚实、结构致密,种胚紧密;经过 1 mol/L NaOH 处理 40 min 后,其种皮完全脱落,种胚细胞吸水膨胀,也表明了乌苏里鼠李种子发芽存在种皮障碍。

表 6 不同浓度 NaOH 溶液对乌苏里鼠李种子发芽势的影响

| NaOH 浓度/(mol·L <sup>-1</sup> )<br>NaOH concentration |  | 浸种时间/min Soaking duration |              |              |             |
|------------------------------------------------------|--|---------------------------|--------------|--------------|-------------|
|                                                      |  | 20                        | 40           | 60           | 120         |
| CK                                                   |  | 0.0±0.0 Cc                | 0.0±0.0 Cc   | 0.0±2.9 Bb   | 0.0±0.0 Bd  |
| 1                                                    |  | 88.3±2.9 Aa               | 90.0±0.0 Aa  | 69.8±10.0 Aa | 12.5±2.5 Aa |
| 2                                                    |  | 86.7±2.9 Aa               | 88.3±3.0 Aa  | 78.3±13.0 Aa | 45.0±8.7 Bb |
| 3                                                    |  | 38.3±7.6 Aa               | 71.7±10.4 Ab | 65.0±2.9 Aa  | 28.3±2.9 Bc |

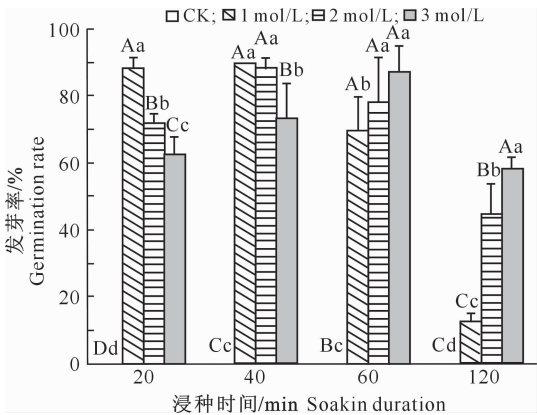
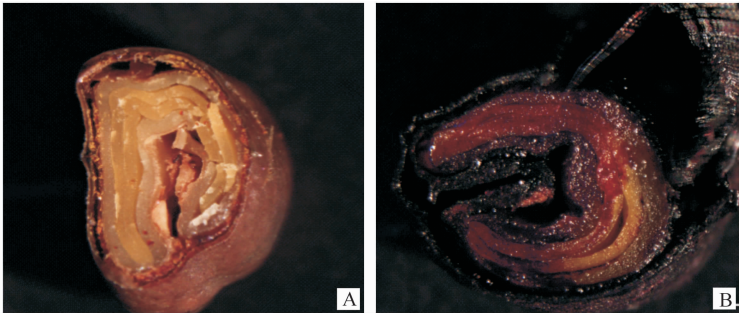


图 4 不同浓度 NaOH 溶液对乌苏里鼠李种子发芽率的影响

Fig. 4 Effect of NaOH solution at different concentrations on germination rate of *Rhamnus ussuriensis* seeds



A. 正常种子;B. 1 mol/L NaOH 处理 40 min 后的种子  
A. Seed of CK;B. Seeds soaked in 1 mol/L NaOH for 40 min

图 5 NaOH 溶液处理后的乌苏里鼠李种子横切面观察结果

Fig. 5 Observation on cross section of *Rhamnus ussuriensis* seeds treated with NaOH solution

2.6 解除休眠后乌苏里鼠李种子内源抑制物活性的变化

如表 7 和表 8 所示,与 CK 相比,用 1 mol/L NaOH 处理 40 min 或 40 ℃热水处理 20 min 可解除种子休眠,乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子发芽率和根长的抑制作用明显降低,且抑制活性与浸提液质量浓度呈正相关。当乌苏里鼠李种子浸提液质量浓度为 0.16 mg/L 时,2 个处理对白菜种子根长的抑制活性均达到最高。

与表 2 和表 3 中未解除休眠的种子相比,当浸提液质量浓度为 0.16 mg/L 时,1 mol/L NaOH 处理 40 min 或 40 ℃热水处理 20 min 后,乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子根长的抑制活性分别降低了 36.8% 和 29.0%,发芽率分别提高了 32.0% 和 30.0%,根长分别增加了 0.4 和 0.3 cm。可见 1 mol/L NaOH 处理 40 min 或 40 ℃热水处理 20 min 可降低乌苏里鼠李种子内源抑制物的含量,且前者效果更优。

表 7 解除休眠后乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子发芽率和根长的影响

Table 7 Effect of crude extracts of *Rhamnus ussuriensis* seeds on germination rate and root length of *Brassica pekinensis* seeds after dormancy release

| 浸提液质量浓度/<br>(mg · L <sup>-1</sup> )<br>Mass concentration<br>of extract | 根长/cm Root length                                          |                                                                | 发芽率/% Germination rate                                     |                                                                |
|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
|                                                                         | 40 ℃ 热水处理 20 min<br>40 ℃ hot water<br>treatment for 20 min | 1 mol/L NaOH 处理 40 min<br>1 mol/L NaOH<br>treatment for 40 min | 40 ℃ 热水处理 20 min<br>40 ℃ hot water<br>treatment for 20 min | 1 mol/L NaOH 处理 40 min<br>1 mol/L NaOH<br>treatment for 40 min |
|                                                                         |                                                            |                                                                |                                                            |                                                                |
| CK                                                                      | 1.0±0.1 Aa                                                 | 1.0±0.1 Aa                                                     | 91.0±1.0 Aa                                                | 91.0±1.0 Aa                                                    |
| 0.02                                                                    | 0.8±0.1 Bb                                                 | 0.9±0.0 Ab                                                     | 90.0±0.0 Aa                                                | 94.0±2.0 Aa                                                    |
| 0.04                                                                    | 0.7±0.0 Bc                                                 | 0.8±0.1 Bc                                                     | 88.7±1.2 Ab                                                | 92.7±1.2 Aa                                                    |
| 0.08                                                                    | 0.6±0.1 Cd                                                 | 0.6±0.1 Cd                                                     | 85.3±1.2 Bc                                                | 90.0±1.2 Aa                                                    |
| 0.12                                                                    | 0.5±0.1 De                                                 | 0.6±0.1 Cd                                                     | 85.3±1.2 Bc                                                | 88.7±6.0 Aa                                                    |
| 0.16                                                                    | 0.4±0.2 Df                                                 | 0.5±0.1 De                                                     | 82.0±2.0 Cd                                                | 84.0±0.0 Bb                                                    |

表 8 解除休眠后乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子根长的抑制活性

Table 8 Inhibitory activity of seed extract of *Rhamnus ussuriensis* on root length of *Brassica pekinensis* seeds after dormancy release

| 处理<br>Treatment                                             | 浸提液质量浓度/(mg · L <sup>-1</sup> ) Mass concentration of extract |             |              |              |              |
|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
|                                                             | 0.02                                                          | 0.04        | 0.08         | 0.12         | 0.16         |
| CK                                                          | 50.0±5.1 Bb                                                   | 80.0±5.1 Aa | 80.0±6.3 Aa  | 80.0±5.8 Aa  | 90.0±8.3 Aa  |
| 40 ℃ 热水处理 20 min<br>40 ℃ hot water treatment for 20 min     | 17.2±5.0 Ce                                                   | 25.1±4.2 Cd | 40.8±7.0 Bc  | 51.8±6.4 Ab  | 61.0±15.2 Aa |
| 1 mol/L NaOH 处理 40 min<br>1 mol/L NaOH treatment for 40 min | 9.8±4.3 Cc                                                    | 18.6±5.7 Cc | 38.0±12.6 Bb | 42.0±12.3 Ab | 53.2±13.3 Aa |

3 讨 论

种子发芽首先从吸胀开始,若种皮有蜡质、胶质或革质化且密度高时,不仅外界的水分和氧气不易通过种皮,而且阻碍抑制物的溢出,从而造成种子休眠<sup>[7,20-21]</sup>。本试验结果显示,室温条件下,当浸种 144 h 时,乌苏里鼠李种子的吸水率可达 73.8%,表明种皮对种子吸水阻碍性较小。有关研究表明,热水浸种,可使种皮软化,种皮表层的蜡质和油脂得到有效去除,进而提高透性<sup>[22]</sup>。本研究发现,分别用 40 和 60 ℃ 热水处理乌苏里鼠李种子 20 min,均可提高种子发芽特性,打破其种子休眠,表明阻碍乌苏里鼠李发芽的主要原因之一为种皮透气性差。胡小文等<sup>[23]</sup>研究表明,使用 80 ℃ 热水处理豇豆(*Vigna unguiculata*)、苦豆子(*Sophora alopecuroides*)种子可有效破除休眠,与本试验结论相同。研究发现,用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和 NaClO 处理种子可腐蚀种皮,将栅栏组织的屏障打破,使种皮变薄,消除珠孔等部位的堵塞物,从而增大种皮的透气性<sup>[24]</sup>。本研究分别采用体积分数为 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和质量分数为 5.5% NaClO 对乌苏里鼠李种子处理后,种子均不发芽。这是由于体积分数 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液浓度过高且处理时间过长使种子死亡;而质量分数 5.5% NaClO 溶液浓度低、处理时间短,未能打破栅栏组织屏障,因此未能提高种皮的透气性。据王进等<sup>[25]</sup>报道,H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 处理苦豆子种子后发芽率显著降低,且致死种子数量

较高。本研究分别使用 1,2 和 3 mol/L NaOH 溶液对乌苏里鼠李种子处理不同时间后,种子的发芽势和发芽率与对照组相比均有极显著提高,其中 1 mol/L NaOH 处理 40 min 后种子发芽率和发芽势均最高。这是由于用 NaOH 处理种子可使种皮变薄,透气性增加,对氧气的吸收量也因此增大,从而打破了由于种皮过硬导致的种子休眠。本试验表明,乌苏里鼠李种子的种皮过硬、透气性差是造成其种子休眠的原因之一,此种休眠为种皮障碍。

Debeaujon 等<sup>[26]</sup>和应天玉等<sup>[27]</sup>指出,生理休眠是因为种胚中存在抑制种子发芽的物质浓度过高,而促进种子发芽的物质浓度过低。刘文瑜等<sup>[28]</sup>发现,随着蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)种子浸提液浓度的升高,白三叶(*Trifolium repens*)的发芽率逐渐降低,表明蒺藜苜蓿种子内存在内源抑制物,这与本试验结果相似。本研究中,乌苏里鼠李种子浸提液对白菜种子的发芽率和根长有极大的抑制作用,且随着浸提液质量浓度的增大,抑制作用逐渐增强,且与对照相比差异达极显著水平,说明乌苏里鼠李种子内也存在内源抑制物。张亥贤等<sup>[29]</sup>对粗茎秦艽(*Gentiana crassicaulis*)种子内源抑制物的研究也表明,其种子中存在浓度较高的抑制种子萌发的物质。Amritphale 等<sup>[30]</sup>对葫芦科(Cucurbitaceae)种子中存在的脱落酸(ABA)抑制物进行了研究,抑制物是通过 β-1,3-葡聚糖酶的表达来影响其内含物质的正常代谢,从而对珠孔端胚乳的降解与破裂

起到了抑制作用,最终使得种子萌发延迟。本研究分别测定了 1 mol/L NaOH 处理 40 min 和 40 ℃热水处理 20 min 后乌苏里鼠李种子的内源抑制物对白菜种子发芽率和根长的影响,结果表明,乌苏里鼠李种子经过这 2 种方法处理后,均在一定程度上降低了内源抑制物的含量,且 1 mol/L NaOH 处理 40 min 的效果更优。

## 4 结 论

研究表明,乌苏里鼠李种子坚硬,种皮有蜡质,种皮障碍是导致其种子休眠的原因之一。乌苏里鼠李种子内含有高浓度的内源抑制物,对白菜种子的发芽率和根长有极显著的抑制作用,因此内源抑制物是导致其种子休眠的另一个重要原因。用 1 mol/L NaOH 处理 40 min 或用 40 ℃热水处理 20 min 可明显降低乌苏里鼠李种子内源抑制物的含量,并增加种子的透气性,有效解除种子休眠。综上所述可知,乌苏里鼠李种子的休眠类型为综合休眠型,种皮障碍与内源抑制物是造成其种子休眠的主要原因。

## [参考文献]

[1] Baskin J M, Baskin C C. A classification system for seed dormancy [J]. Seed Sci Res, 2004, 14: 1-16.

[2] Finch-Savage W E, Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of germination [J]. New Phytol, 2006, 171: 501-523.

[3] Osborne D J. Dormancy as a survival stratagem [J]. Annals of Applied Biology, 1981, 98: 525-531.

[4] 慕小倩, 史 雷, 赵云青, 等. 曼陀罗种子休眠机理与破眠方法研究 [J]. 西北植物学报, 2011, 31(4): 683-689.

Mu X Q, Shi L, Zhao Y Q, et al. Seed dormancy mechanism and dormancy breaking methods of *Datura stramonium* L. [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(4): 683-689.

[5] 郑蔚虹, 冷建梅. 青霉素、过氧化氢和高锰酸钾浸种对沙棘种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. 种子, 2003, 22(6): 21-22, 29.

Zheng W H, Leng J M. Effect on germination of seed and growth of seedling by penicillin, hydrogen peroxide and Potassium Permanganate to *Hippophae rhamnoides* [J]. Seed, 2003, 22(6): 21-22, 29.

[6] 赵 冰, 董进英, 张冬林. 温度、光照和赤霉素浓度对秀雅杜鹃种子萌发的影响 [J]. 种子, 2014, 33(5): 26-30.

Zhao B, Dong J Y, Zhang D L. Effects of different temperature, light and GA<sub>3</sub> concentration on seed germination of *Rhododendron concinnum* [J]. Seed, 2014, 33(5): 26-30.

[7] 杨期和, 叶万辉, 宋松泉, 等. 植物种子休眠的原因及休眠的多形性 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(5): 837-843.

Yang Q H, Ye W H, Song S Q, et al. Sunmarization on causes of seed dormancy and dormancy polymorphism [J]. Acta Bo-

tanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2003, 23(5): 837-843.

[8] 李庆梅, 刘 艳, 刘广全, 等. 栎属 7 种植物种子的发芽抑制物质研究 [J]. 生态学报, 2013, 33(7): 2104-2112.

Li Q M, Liu Y, Liu G Q, et al. Germination inhibitory substance extracted from the seed of seven species of *Quercus* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(7): 2104-2112.

[9] 廖源林, 蔡仕珍, 李 西, 等. 野鸦椿种子内源抑制物活性初探 [J]. 广西植物, 2016, 36(5): 600-606, 538.

Liao Y L, Cai S Z, Li X, et al. Preliminary study of endogenous inhibitors activity of *Euscaphis japonica* seeds [J]. Guihaia, 2016, 36(5): 600-606, 538.

[10] 马毓泉. 内蒙古植物志: 第二卷 [M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1990.

Ma Y Q. Flora of Inner Mongolia: volume II [M]. Hohhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 1990.

[11] 樊国盛, 冯立民. 中国鼠李科植物资源的开发 [J]. 经济林研究, 1995(1): 48-50.

Fan G S, Feng L M. Development of *Rhamnaceae* resources in China [J]. Nonwood Forest Research, 1995(1): 48-50.

[12] 赵一之, 王光辉. 乌苏里鼠李的名实问题 [J]. 植物研究, 2005, 25(1): 11-13.

Zhao Y Z, Wang G H. The identity of *Rhamnus ussuriensis* J. Vass. [J]. Bulletin of Botanical Research, 2005, 25(1): 11-13.

[13] 林 阳, 王世忠, 于 欣. 截干高度对乌苏里鼠李枝条萌发效果的影响 [J]. 防护林科技, 2019, 192(9): 1-7.

Lin Y, Wang S H, Yu X. Effects of truncation heights on shoot germination of *Rhamnus ussuriensis* [J]. Protection Forest Science and Technology, 2019, 192(9): 1-7.

[14] 金光德, 南桂仙, 玄哲荣. 不同提取条件对乌苏里鼠李果红色素浸提效果的影响 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(36): 22301-22302.

Jin G D, Nan G X, Xuan Z R. The influence of the different extraction conditions on the relative extraction rate of red pigment from the fruits of *Rhamnus ussuriensis* [J]. Journal of Anhui Agri, 2011, 39(36): 22301-22302.

[15] 景彦彪. 种子生活力的四唑测定在质检中的运用 [J]. 种子科技, 2006, 24(2): 57-58.

Jing Y B. Application of tetrazolium determination of seed viability in quality inspection [J]. Seed Technology, 2006, 24(2): 57-58.

[16] 喻 梅, 周守标, 吴晓艳, 等. 野生鸭儿芹种子休眠特性及破除方法 [J]. 生态学报, 2012, 32(4): 1347-1354.

Yu M, Zhou S B, Wu X Y, et al. Dormancy break approaches and property of dormant seeds of wild *Cryptotaenia japonica* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(4): 1347-1354.

[17] 魏 琳, 朱仁斌, 程积民, 等. 不同处理对本氏针茅种子萌发影响的研究 [J]. 种子, 2012, 31(7): 25-27.

Wei L, Zhu R B, Cheng J M, et al. Study of different treatments on seed germination of *Stipa bungeana* [J]. Seed, 2012, 31(7): 25-27.

[18] 赵丽珍, 韩 路. 水分与盐分对荒漠植物种子萌发的影响 [J]. 塔里木大学学报, 2012, 24(3): 96-104.

- Zhao L Z, Han L. Effect of PEG and slat stress on seeds germination of five desert plants [J]. Journal of Tarim University, 2012, 24(3): 96-104.
- [19] 赵 敏, 王 炎. 膜荚黄芪种子萌发抑制物质特性的初步研究 [J]. 中草药, 2001, 32(7): 643-646.
- Zhao M, Wang Y. Elementary studies on intrinsic inhibitor that retards germination of seed of *Astragalus membranaceus* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2001, 32(7): 643-646.
- [20] 潘 琳, 徐程扬. 种子休眠与萌发过程的生理调控机理 [J]. 种子, 2010, 29(6): 42-47.
- Pan L, Xu C Y. Review on mechanisms of physiological modulation in the process of seed dormancy and germination [J]. Seed, 2010, 29(6): 42-47.
- [21] Taiga H, Masaji K, Satoshi K, et al. Effect of warm and cold stratification on <sup>1</sup>H-NMR profiles, endogenous gibberellins and abscisic acid in *Styrax japonicus* seeds [J]. Hort Environ Biotechnol, 2011, 52(3): 233-239.
- [22] 杨期和, 尹小娟, 叶万辉, 等. 硬实种子休眠的机制和解除方法 [J]. 植物学通报, 2006, 23(1): 108-118.
- Yang Q H, Yin X J, Ye W H, et al. Dormancy mechanism and breaking methods for hard seeds [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006, 23(1): 108-118.
- [23] 胡小文, 武艳培, 王彦荣, 等. 豆科种子休眠破除方法初探 [J]. 西北植物学报, 2009, 29(3): 568-573.
- Hu X W, Wu Y P, Wang Y R, et al. Primary study of release method for legume seed dormancy [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(3): 568-573.
- [24] 叶常丰, 戴心维. 种子学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- Ye C F, Dai X W. Seed science [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1994.
- [25] 王 进, 王桔红, 张 勇, 等. 苦豆子和苦马豆种子特性及硬实破除研究 [J]. 中药材, 2011, 34(5): 670-673.
- Wang J, Wang J H, Zhang Y, et al. Study on seed characteristics and hard seed breaking of *Sophora alopecuroides* and *Sphaerophysa salsula* [J]. Chinese Herbal Medicine, 2011, 34(5): 670-673.
- [26] Debeaujon I, Koornneef M. Gibberellin requirement for *Arabidopsis* seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid [J]. Plant Physiol, 2000, 122(2): 415-424.
- [27] 应天玉, 刘国生, 姜中珠. 植物耐盐的分子机理 [J]. 东北林业大学学报, 2003, 31(1): 31-33.
- Ying T Y, Liu G S, Jiang Z Z. Molecule mechanism for salt tolerance of plant [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2003, 31(1): 31-33.
- [28] 刘文瑜, 魏小红, 许可成, 等. 蒺藜苜蓿种子休眠机制及其破除方法研究 [J]. 草地学报, 2015, 32(2): 358-365.
- Liu W Y, Wei X H, Xu K C, et al. Study on dormancy property and breaking approaches of *Medicago truncatula* seeds [J]. Acta Agrestia Sinica, 2015, 32(2): 358-365.
- [29] 张亥贤, 陈学林, 达清璟. 粗茎秦艽种子粗提物与破眠方法研究 [J]. 植物科学学报, 2017, 35(6): 900-907.
- Zhang H X, Chen X L, Da Q J. Study on *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk. crude extracts and method for breaking dormancy [J]. Plant Science Journal, 2017, 35(6): 900-907.
- [30] Amritphale D, Yoneyama K, Takeuchi Y, et al. The modulating effect of the perisperm-endosperm envelope on ABA inhibition of seed germination in cucumber [J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 418(56): 2173-2181.