

不同贮藏时间和处理方式对野生大豆种子萌发的影响

张秀玲

(德州学院 生物系, 山东 德州 253023)

摘要:采用刀片破皮、低温冷冻、60℃热水浴及干燥、碱液处理、浓硫酸加搅拌等方法处理野生大豆种子,研究其对野生大豆种子发芽和胚生长的影响。结果表明:经过刀片破皮和浓硫酸加搅拌处理的各项萌发指标远高于对照($P < 0.05$);综合野生大豆幼苗的萌发指标和胚根长、胚芽及鲜重等指标,破皮和 10 min 浓硫酸加搅拌处理最有利于野生大豆种子萌发;冷冻处理的各项萌发指标显著低于对照($P < 0.05$),与常温保存相比,冷藏保存野生大豆种子的千粒重和发芽率有所增加。表明冷藏保存可以提高野生大豆种子的质量;常温下野生大豆休眠期为 7 个月,冷藏保存野生大豆的休眠期为 8 个月。

关键词:野生大豆;硬实;种子萌发;胚生长

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2010)02-0251-04

Effects of Different Storage Period and Treatment on Seed Germination of *Glycine Soja*

ZHANG Xiu-ling

(Department of Biology, Dezhou College, Dezhou 253023, Shandong, China)

Abstract:The seed of wild soybean (*Glycine soja*) belong to hard seed. Its germination percentage was very low with general methods. The effect on seed germinations and embryo growth by using machinery method of damaging seed coat, freezing, 60℃ hot water bath and dryness, lye and soaked in concentrated sulfuric acid and stirred were studied in this paper. The results showed that the germination rate, viability and index with the machinery method of damaging seed coat, sulfuric acid and stirred were higher than that of the control ($P < 0.05$). Integrate the experimental results of germination percentage, germination index and seedling growth of wild soybean, the best result was obtained when the seeds were soaked in concentrated sulfuric acid and stirred for 10 min. The germination percentage, germination viability and germination index with freezing treatment were lower than that of the control. Compared with room temperature, thousand seed weight and germination percentage increased under cold storage. The dormancy period of *Glycine soja* under room temperature and cold storage was 7 and 8 month, respectively.

Key words:*Glycine soja*; Hard seed; Seed germination; Embryo growth

野生大豆(*Glycine soja*)是豆科一年生缠绕草本植物,是栽培大豆的近缘种,具有耐盐碱、抗寒、抗病等优良性状^[1],是遗传多样性的重要保护材料^[2]。我国野生大豆资源丰富,约占世界野生大豆资源总量的 90%^[3],广泛分布于我国东北、内蒙古、华北、华东、华中和西北等地,但以东北和华北北部最多。

处于自生自灭状态的野生大豆适应能力强,在农业育种方面有重要价值。野生大豆种子为抵抗恶劣的环境,种子外围形成坚固的保护层,种子的硬实率在 96% 以上^[4]。硬实休眠有利于植物调节种子萌发的时空分布,在种质保存上有重要意义。

近年来多以栽培的豆科植物为材料研究硬实形成规律及破除方法,对野生植物的研究并不多见。现以一年生野生大豆为材料,研究其在自然休眠及在不同处理下的萌发特性,为促进野生大豆在生产和科研上的应用及全面了解硬实种子的萌发机制提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 供试材料

野生大豆的种子采自山东省德州市南郊天然盐碱涝洼地的单优群落地段。该区位于鲁西北平原,是华北平原的重要组成部分,属温带大陆性气候,年降

收稿日期:2009-07-23

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(Y2008D36, Y2008D40)。

第一作者简介:张秀玲(1966-),女,副教授,研究方向为资源植物学。E-mail:dzxy_zxl@163.com。

水量 600 ~ 700 mm, 土壤系具有石灰反应的潮土。2006 年 10 月中旬野生大豆成熟期采集种子, 取发育完善的荚果, 剥取均匀饱满种子, 测得其千粒重为 10.83 ± 0.45 g。在 4℃ 和常温 2 种条件下保存备用。冷藏 2 a 后测量种子的千粒重为 13.45 ± 0.26 g。冷藏 33 个月后, 千粒重为 14.18 ± 0.24 g。

1.2 试验设计

自采集野生大豆种子起, 每月做种子萌发试验, 将野生大豆种子的种皮刻破, 用未刻种皮的作为对照。先用 0.1% 的 KMnO_4 溶液消毒 10 min, 然后清水浸泡 12 h, 洗净后置于铺 2 层滤纸的培养皿 ($\varphi 12$ cm) 中, 每皿摆满 50 粒饱满种子。采用浓硫酸浸种不同时间并搅拌、破坏种皮、碱液处理、60℃ 恒温干燥 30 min、60℃ 水浴处理、冷冻 9 种处理方式处理野生大豆种子, 3 次重复。将各处理放入 MGC-300H 型微电脑控制的人工气候箱 (上海一恒科学仪器有限公司) 中培养。20℃/25℃ (11 h 黑暗/13 h 光照), 光照强度 $\geq 56.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 相对湿度控制在 75% ~ 80%。每日以蒸馏水补充蒸发去的水分并统计发芽数。

1.3 测定方法

种子开始萌动后每天统计发芽数 (以胚根突出 2 mm 作为发芽标准), 直至第 6 天发芽基本结束时为止。每个重复分别测量 15 次胚根和胚轴的长度和鲜重。发芽率、发芽势和发芽指数的计算公式如下:

发芽率 (GP) = 每天统计发芽种子数 / 供试种子数 $\times 100\%$

发芽势 (GV) = 2 d 发芽种子数 / 供试种子数 $\times 100\%$

发芽指数 (GI) = $\Sigma (G_t/D_t)$ (G_t 指在时间 t 日内的发芽数, D_t 为相应的发芽天数)

数据分析采用 SPSS 13.0 进行 LSD 多重比较和 t 检验。

2 结果与分析

2.1 野生大豆的休眠期

从表 1 看出, 冷藏条件下野生大豆的自然休眠期是 8 个月。种子成熟后 8 个月, 种子的萌发率为 63.67%。常温保存, 野生大豆的自然休眠期是 7 个月, 种子萌发率为 60%。

室温下保存 55 个月, 种子的硬实率为 86%, 发芽率为 8%, 有活力的种子为 94%。冷藏保存 33 个月, 种子的硬实率为 4%。有萌发活力的种子为 98%。

2.2 不同处理方式对发芽指标的影响

从表 2 看出, 经刻破种皮和浓硫酸处理后, 野生大豆发芽率、发芽势、发芽指数都有升高, 发芽势、发芽指数与对照差异显著 ($P < 0.05$)。刻破种皮和浓硫酸处理可以提高野生大豆的发芽率和发芽整齐度。这与乔亚科^[5]的结果一致。在浓硫酸处理下, 30 min 搅拌的处理的发芽率、发芽势和发芽指数最高。在浓硫酸浸泡的基础上加搅拌, 有助于破除野生大豆种子的硬实, 并减轻硫酸对胚的腐蚀。在其它处理下, 冷冻 30 min 显著降低了野生大豆的萌发指标。

2.3 不同处理方式对胚生长的影响

除 20 min 浓硫酸 (未搅拌) 和 40 min 搅拌处理外, 其它处理方式都促进了野生大豆胚根的伸长, 其中 10 min 浓硫酸搅拌与对照差异显著。40 min 浓硫酸搅拌抑制了胚根伸长, 与对照差异显著。胚轴对不同处理的反应与胚根不同, 除 60℃ 水浴处理外, 其它处理方式都促进了胚轴的伸长, 其中 20 min 浓硫酸 (未搅拌) 和刻破种皮处理与对照差异显著 ($P < 0.05$)。不同处理对鲜重的影响表现为所有的硫酸浸种都增加了幼苗鲜重, 但与对照差异不显著, 30% NaOH 和 60℃ 水浴处理抑制了幼苗鲜重, 刻破种皮处理幼苗鲜重增加并与对照差异显著 (表 3)。

表 1 冷藏和室温条件下不同保存时间野生大豆种子发芽率

Table 1 Germination percentage of wild soybean seed under different storage time of freezing and room temperature /%

时间 Time/month		5	6	7	8	20	24	32	33
冷藏保存 Cold storage	CK	0.67	2.00	0	63.67	86.00	94.00	94.67	95.33
	刻皮 Seed coat damage	96.67	99.33	100	99.33	99.33	99.33	98.00	98.00
时间 Time/month		5	6	7	8	20	24	32	55
常温保存 Room temperature	CK	0	1.33	60.00	67.33	92.00	84.00	75.33	8.00
	刻皮 Seed coat damage	100	100	99.67	99.67	98.00	95.00	90.67	55.33

表 2 不同处理方式对种子发芽率、发芽势、发芽指数的影响
Table 2 Effect of different treatment on germination percentage, viability and index

处理方式 Treatment	时间 Time/min	发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination viability	发芽指数 Germination index
硫酸浸种	CK	86.00 ± 6.00a	69.33 ± 3.06a	17.64 ± 1.89a
Sulfuric acid and stirred	10(搅拌 Stirred)	87.33 ± 4.62a	88.00 ± 7.21b	41.19 ± 3.96b
	20(未搅拌 Unstirred)	86.67 ± 3.05a	83.33 ± 7.02b	36.94 ± 2.58b
	30(搅拌 Stirred)	91.33 ± 4.62a	91.33 ± 4.62b	39.17 ± 1.53b
	40(搅拌 Stirred)	89.33 ± 7.57a	87.33 ± 8.08b	37.70 ± 3.79b
其它处理	CK	86.00 ± 6.00a	69.33 ± 3.06a	17.64 ± 1.89a
Other treatment	刻破种皮 Seed coat damage	99.33 ± 1.15b	99.33 ± 1.15b	36.89 ± 0.86b
	30% NaOH	74.67 ± 5.77c	74.67 ± 6.11a	23.11 ± 1.88c
	60℃ 30(干燥 Dry)	89.33 ± 6.11ab	79.33 ± 6.43a	19.95 ± 1.64ad
	60℃ 30(水浴 Water bathing)	89.33 ± 3.06ab	74.67 ± 7.02a	16.92 ± 0.68ad
	冷冻 Freezing 30	47.33 ± 10.07d	44.67 ± 9.45c	11.66 ± 2.79e

不同字母差异显著 ($P < 0.05$)

Values within a column followed by different lowercase letters indicate significantly different at 0.05 probability level.

表 3 不同处理方式对野生大豆胚根、胚轴、鲜重的影响

Table 3 Lengths of radical, hypocotyl and fresh weight of *Glycine soja* under different treatment

处理方式 Treatment	时间 Time/min	胚根 Radical/cm	胚轴 Hypocotyl/cm	鲜重 Fresh weight/g
硫酸浸种	CK	5.20 ± 0.14a	3.54 ± 0.39a	1.33 ± 0.13a
Sulfuric acid and stirred	10(搅拌 Stirred)	6.31 ± 0.55b	3.78 ± 0.13a	1.43 ± 0.10a
	20(未搅拌 Unstirred)	4.92 ± 0.45ac	4.12 ± 0.08bc	1.42 ± 0.04a
	30(搅拌 Stirred)	5.30 ± 0.38a	3.97 ± 0.09b	1.42 ± 0.09a
	40(搅拌 Stirred)	4.30 ± 0.28c	3.91 ± 0.05b	1.38 ± 0.10a
其它处理	CK	5.20 ± 0.14a	3.54 ± 0.39a	1.33 ± 0.13a
Else treatment	刻破种皮 Seed coat damage	5.99 ± 0.62a	4.37 ± 0.14b	1.62 ± 0.05b
	30% NaOH	6.07 ± 0.27a	3.74 ± 0.19a	1.27 ± 0.11a
	60℃ 30(干燥 Dry)	5.82 ± 0.46a	3.60 ± 0.07a	1.35 ± 0.06a
	60℃ 30(水浴 Water bathing)	5.76 ± 0.75a	3.36 ± 0.15c	1.29 ± 0.06a
	冷冻 Freezing 30	5.88 ± 1.31a	3.80 ± 0.06a	1.37 ± 0.03a

不同字母差异显著 ($P < 0.05$)

Values within a column followed by different lowercase letters indicate significantly different at 0.05 probability level

3 结论与讨论

野生大豆种子硬实休眠的原因有多种,比如种皮的机械限制、种子的成熟度、形状、颜色都能影响野生大豆种子的硬实。野生大豆种子在自然条件下全部吸水发芽需要 5~7 a^[6],种子硬实的解除方法有物理、化学、生物 3 种方法^[7]。

野生大豆种皮坚厚,成熟度高,不宜萌发透水透气。常温下保存 6 个月,萌发率为 1.33%,保存 7 个月,种子萌发率可达到 60%。贮藏过程中,硬

实种子本身发生的一些生理变化可能会导致种子硬实的解除,但这种生理机制目前尚未完全清楚^[8]。研究还发现,种子越小,硬实率越高,扁形颜色浅的种子硬实率低。自然生长的野生大豆,出苗期是 4~5 月份,完熟期是 9~10 月份,种子自母株脱落在土壤中,由于微生物的作用使种皮腐烂引起萌发。野生大豆种子在冷藏条件下保存,休眠期为 8 个月,过了休眠期,随着冷藏时间的加长,种子的硬实率逐渐降低,可能是种子内部的酶活性提高,增强了水解作用,促进种子内部的抑制物质分解,

破除休眠^[9]。试验中发现冷藏下贮存,种子的千粒重有所增加,千粒重增加可以提高种子活力。表明冷藏贮存后的硬实种子质量高于非硬实种子^[8]。

浓硫酸处理可有效提高野生大豆种子的发芽率,随着浓硫酸处理时间的延长,其胚根、胚轴和鲜重有下降的趋势。表明长时间浓硫酸处理可腐蚀种子的胚。综合野生大豆幼苗的萌发指标、根长、芽长及鲜重的结果,可以看出浓硫酸处理野生大豆种子的最适时间为 10 min 加搅拌处理。在浓硫酸浸泡的基础上加搅拌,有助于破除种子硬实,搅拌可以增加机械摩擦,缩短处理时间,减轻浓硫酸对胚的腐蚀。因此,采用浓硫酸处理大量野生大豆种子,可达到人工破皮处理的效果。

其它物理方法处理在一定程度上都促进了胚的生长,机械刻破种皮是最好的处理硬实种子的方法,可以增强透性,迅速解除限制,既能提高种子的发芽指标,又促进胚根、胚轴和鲜重的增加。只是这种方法不好掌握,在机械损伤种皮的过程中很容易损伤到胚,不适宜大量处理野生大豆种子。

碱液处理野生大豆种子,发芽率和发芽势都低于对照,主要原因是碱液不能破坏种皮中的钙盐或硅酸盐含量高的栅状细胞和石细胞,对木质化程度极高的细胞壁的破坏能力也有限。

硬实种子对野生植物有特别重要的意义,坚硬的种皮有利于种子在很长时期内保持较强的活力,室温下野生大豆种子保存 55 个月,有活力的种子为 94%,而非硬实种子在 2 a 左右就会失去活力^[10]。硬实种子是构成永久性土壤种子库的重要成分。硬实种子在成熟后的不同时期内,由于外界环境条件(温度变化、土壤湿度变化和微生物活动等)的影响,种皮透性逐渐改变,使得同一批种子入土之后,由于透性的差异,出现萌发不齐,从而保证在同一批种子总有一部分能在适宜的条件下萌发出苗,这有利于种族的生存和延续^[11]。

冷藏条件可以提高野生大豆种子的质量,千粒重有所增加,超过休眠期,发芽整齐度提高;刚刚收获的野生大豆种子不能播种,硬实率高。机械破损种皮和浓硫酸处理都可以提高种子的发芽率和发芽势,最适宜的方法是浓硫酸浸种 10 min 加搅拌处理。

参考文献

- [1] 姜慧新. 浓硫酸处理对黄河三角洲野大豆发芽效果的影响[J]. 草业科学, 2005, 22(11): 58-59. (Jiang H X. The effect of concentrated sulfuric acid on germination of wild soybean in Yellow River Delta Area [J]. Pratacultural Science, 2005, 22(11): 58-59.)
- [2] Dong Y S, Zhuang B C, Zhao L M, et al. The genetic diversity of annual wild soybeans grown in China[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(1): 98-103.
- [3] 府宇雷, 钱吉, 马玉虹, 等. 不同尺度下野大豆种群的遗传分化[J]. 生态学报, 2002, 22(2): 176-184. (Fu Y L, Qian J, Ma Y H, et al. Genetic differentiation research on populations of wild soybeans in different scales [J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(2): 176-184.)
- [4] 孙学钊. 黄河三角洲野生大豆硬实种子处理试验[J]. 四川草原, 1998(1): 32-36. (Sun X Z. Experiment on treating hard seeds of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) in Yellow River Delta Area [J]. Journal of Sichuan Grassland, 1998(1): 32-36.)
- [5] 乔亚科, 季桂兰, 王文颇, 等. 不同处理方法和贮藏时间对野生大豆种子萌发的影响[J]. 种子, 2003(1): 33-34. (Qiao Y K, Ji G L, Qang W P, et al. Effect of different treatment methods and storage period on the germination of wild soybean [J]. Seed, 2003(1): 33-34.)
- [6] 李光发, 黄文, 曲刚, 等. 野生大豆籽粒吸水性的探讨[J]. 大豆科学, 1994, 13(4): 376-379. (Li G F, Huang W, Qu G, et al. A study on water absorbing of wild soybean seed [J]. Soybean Science, 1994, 13(4): 376-379.)
- [7] Baskin C C, Baskin J M. Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination [J]. Plant Ecology, 2001, 152(2): 204-205.
- [8] 杨期和, 尹小娟, 叶万辉. 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. Dormancy mechanism and breaking methods for hard seeds [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006, 23(1): 108-118.)
- [9] Uzun F, Aydin I. Improving germination rate of medicago and *Trifolium* species [J]. Asian Journal of Plant Sciences, 2004, 3: 714-717.
- [10] 王金龙. 利用大豆硬实种子保存大豆种质的研究[J]. 大豆科学, 1999, 18(4): 351-354. (Wang J L. Study on preservation of soybean germplasm using soybean hard seed. [J]. Soybean Science, 1999, 18(4): 351-354.)
- [11] Souza F D H, Marcos-Filho J. The seedcoat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae [J]. Revista Brasileira de Botanica, 2001, 24(4): 365-375.