

# 脱蜡和低温湿沙处理对毛叶山桐子种子的萌发 及相关酶生理生化特征的影响

周静波<sup>1</sup>, 江源<sup>2</sup>, 赵子睿<sup>3</sup>, 蔡敏<sup>4</sup>, 傅松玲<sup>2\*</sup>, 唐燕平<sup>2</sup>

(1. 安徽林业职业技术学院资源与环境系, 合肥 230031; 2. 安徽农业大学林学与园林学院, 合肥 230036;  
3. 上海伯豪生物技术有限公司, 上海 201203; 4. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240)

**摘要:** 为探索毛叶山桐子种子的发芽技术, 研究不同浓度的磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )溶液浸种脱蜡及不同的层积催芽时间对该种子的发芽率及酶活性的影响。结果表明,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 浸种脱蜡后低温层积催芽处理可显著提高毛叶山桐子种子的发芽势、发芽率及酶活性。种子的脂肪酶、过氧化物酶(POD)活性在层积 60 d 时与 45 d 对比无显著差异; 过氧化氢酶(CAT)活性在 30 d 时已达到最高, 45 d 时无显著提高, 60 d 活性降低。比较不同处理下种子的脂肪酶、POD 和 CAT 活性, 结果显示毛叶山桐子种子最佳的预处理方法是在浓度为  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  溶液浸种 24 h 后清洗脱除种皮蜡质层, 之后置  $5^\circ\text{C}$  恒温条件下层积催芽 45 d, 此时脂肪酶、POD 和 CAT 生化活性最高, 发芽率也最高 (60%以上)。

**关键词:** 毛叶山桐子种子; 浸种蜡后; 层积催芽; 酶活性

中图分类号: S727.32

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2015)02-0159-06

## Improvement of seed germination of *Idesia polycarpa* by dewaxing and low temperature treatment in moist sand

ZHOU Jingbo<sup>1</sup>, JIANG Yuan<sup>2</sup>, ZHAO Zirui<sup>3</sup>, CAI Min<sup>4</sup>, FU Songling<sup>2</sup>, TANG Yanping<sup>2</sup>

(1. Department of Resources & Environment, Anhui Vocational & Technical College of Forestry, Hefei 230031;

2. School of Forestry & Landscape Architecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

3. Shanghai Bohao Biotechnology Corporation, Shanghai 201203;

4. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240)

**Abstract:** The aim of this study was to improve the seed germination of *Idesia polycarpa* Maxim .var. *vestita* Diels. The seed were soaked in  $10.5 \text{ mmol/L}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$  solution to dissolve the surface wax and then stored in moist sand at  $5^\circ\text{C}$  for a different time. Results showed that no significant differences in lipase and peroxidase activities were observed in the dewaxed seed stored in the moist sand at  $5^\circ\text{C}$  for 45 d and 60 d. The activity of catalase reached the highest on the 30<sup>th</sup> day after the seed were stratified in moist sand and no significant improvement was seen on the 45<sup>th</sup> day. The catalase activity began to decrease on the 60<sup>th</sup> day of the stratification. The results indicated that the seed that were soaked in the  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  solution for 24 h and then stored in moist sand at  $5^\circ\text{C}$  for 45 d showed the highest activities of lipase, peroxidase and catalase and the seed germination rate was greater than 60%.

**Key words:** seed of *Idesia polycarpa* Maxim .var. *vestita* Diels; soaking; stratification; enzyme activity

毛叶山桐子 (*Idesia polycarpa* Maxim. var. *vestita* Diels) 属大风子科山桐子属, 是山桐子的一个变种。毛叶山桐子为阳生速生树种, 且果实产量大、含油率高, 是一种具有生态价值、经济价值的绿化

观赏和木本油料树种, 具有很高开发应用价值<sup>[1-3]</sup>。毛叶山桐子树干通直、外形美观, 果实和种子都可榨油, 油主要由亚油酸、棕榈酸、油酸、棕榈烯酸和硬脂酸等脂肪酸组成, 可制成生物柴油、生物润

收稿日期: 2014-12-17

基金项目: 安徽省科技厅年度重点科研计划项目 (1301033068) 资助。

共同第一作者简介: 周静波, 教授。江源, 硕士研究生。

\* 通信作者: 傅松玲, 教授, 博士生导师。E-mail: fusongling@ahau.edu.cn

滑油、共轭亚油酸,也可作为涂料、油漆和制皂的原料<sup>[4]</sup>。虽然毛叶山桐子在我国分布范围广,但是其无性繁殖能力差,同时由于多因素的种子休眠,导致种子的自然发芽率极低而致有性繁殖困难,因此其种子自然更新能力差,天然更新能力有限。

毛叶山桐子栽培以种子繁殖为主,由于种皮致密且外被有蜡质而使种子强迫休眠,人工繁殖存在困难。研究快速有效的催芽技术,对推广发展毛叶山桐子至关重要。使用一定浓度的磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )浸种处理可脱除种皮蜡质,从而打破其种皮的机械障碍,可以促进种子发芽率显著提高<sup>[5-6]</sup>,但不同浓度的磷酸二氢钾对毛叶山桐子催芽效果差异还有待研究。此外,种子的生理后熟以及萌发抑制物的存在是导致毛叶山桐子种子休眠的另外2种因素<sup>[7-8]</sup>,低温层积沙藏可以使休眠的胚后熟,对于打破种子休眠也有关键性作用<sup>[9-12]</sup>,因此有必要探究毛叶山桐子层积沙藏的最适时间。本文进一步探究了种子催芽与种子内脂肪酶、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性关系,试图从生理生化层面阐明影响毛叶山桐子种子生理休眠的因素。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验采用安徽省安庆市岳西县鹞落坪毛叶山桐子的果实,2013年11月采摘,此时浆果已成熟为红色,果实扁圆形,高5~7 mm,直径6~9 mm。取出饱满的种子,测得长2.4~2.7 mm,宽1.7~1.8 mm,千粒重为2.2673 g。

### 1.2 试验设计

采用不同浓度的磷酸二氢钾溶液(A)以及不同层积催芽时间(B)2个因素处理。A因素设置4个水平: $A_1$ , 0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (纯水)对照; $A_2$ , 3.5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $A_3$ , 10.5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $A_4$ , 21.0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 。B因素也设置4个水平: $B_1$ , 15 d;  $B_2$ , 30 d;  $B_3$ , 45 d;  $B_4$ , 60 d。按4×4双因素析因设计<sup>[13]</sup>,共16个试验处理,A因素处理后进行B因素处理,之后取足量种子(每试验处理18 g)用于酶活性测定,其余种子每处理分3次重复,每重复取100粒用于发芽观测。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 浸种脱蜡** 试验前剥除果皮取出大量饱满的种子,先设计0、3.5、10.5和21.0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  4种不同浓度的 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 溶液浸种24 h,浸种温度为10~15℃,24 h后可观察到种皮上的蜡质出现不同程度的溶解脱落,再用清水洗净种子。

**1.3.2 低温层积** 选取不同浓度 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 浸种脱蜡后的种子足量,在恒温5℃下设计15 d(2月13日—2月28日)、30 d(1月29日—2月28日)、45 d(1月14日—2月28日)、60 d(12月30日—2月28日)4组进行沙藏层积。河沙相对湿度约为65%~80%,沙藏期间及时喷水,以保持河沙湿度。

**1.3.3 酶活性测定** 层积催芽结束后,分别测定种子脂肪酶、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性。称取每个试验处理的种子共16组样本,每组样本3次重复,每重复2 g(1 g为测定组,1 g为对照组)。使用碱式滴定法<sup>[14]</sup>测定种子脂肪酶的活性,以试验保温时间内每小时消耗0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaOH为一个活力单位( $U_1$ )计算每克种子内脂肪酶的活性<sup>[15]</sup>;愈创木酚法<sup>[16]</sup>测定种子POD的活性,以每分钟内470 nm波长下吸光度变化0.01为一个活力单位( $U_2$ )计算每克种子内POD的活性<sup>[17]</sup>;高锰酸钾滴定法<sup>[18]</sup>测定种子CAT的活性<sup>[19-20]</sup>,以每分钟消耗0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{KMnO}_4$ 标准溶液为一个活力单位( $U_3$ )计算每克种子内CAT的活性<sup>[21]</sup>。

**1.3.4 发芽记录** 2014年3月1日,取出沙藏种子播种于发芽床中观察发芽情况(发芽床设计为铺有2层湿润滤纸的培养皿),因种子颗粒极小,每100粒种子置于一个培养皿,温度设为15℃,用GHP 250型智能光照培养箱控制(光照时间24 h,光照强度2500 lx)。试验期间及时补充水分,保持滤纸湿润,并去除烂种。当有种子发芽时,每天观察记录。发芽标准为芽萌发出白嫩顶尖,且其中多数芽长度达2 mm以上时,以发芽高峰出现的日期计算发芽势,以连续7 d平均发芽率不足1%的日期为发芽终止日期,统计发芽率。

### 1.4 数据分析

试验数据由Excel 2003进行统计,用SPSS 19.0统计软件进行方差分析、LSD多重比较以及相关分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 毛叶山桐子的萌芽过程

本研究中不同的试验处理方法下毛叶山桐子种子萌芽情况有所差异。多数萌芽较好的种子(图3A),一般在层积催芽结束后播种发芽床的第7~10天观察到裂嘴的种子(图1),第15~20天可出现发芽高峰期(图2),之后日发芽率逐渐减慢,第35~50天发芽终止(图3);对于萌芽差(图3B)无发芽高峰期出现的种子,在第20天计算发芽势,第50天统计发芽率。

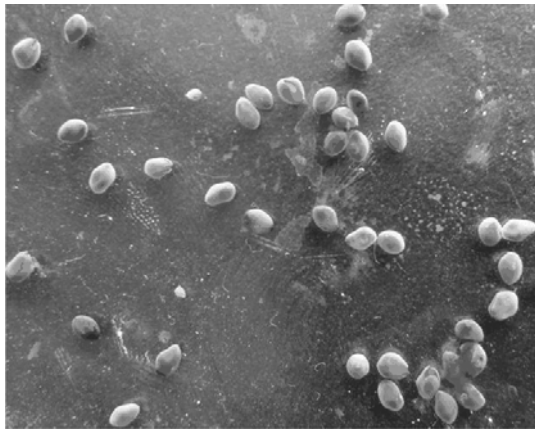


图 1  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  浸种后层积 45 d 处理下发芽初期种子裂嘴的形态

Figure 1 The cracked seeds treated with  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  solution and stored at low temperature ( $5^\circ\text{C}$ ) in moist sand for 45 days

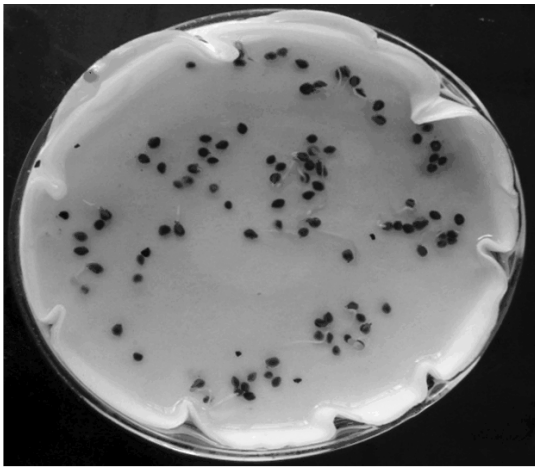


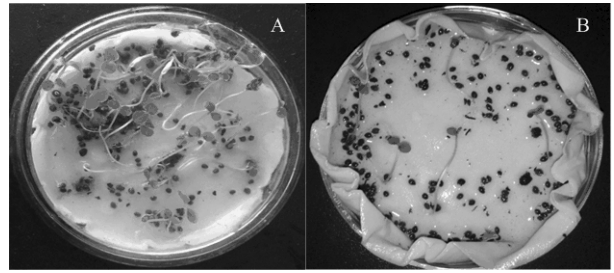
图 2  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  浸种后层积 45 d 处理下发芽高峰期的种子形态

Figure 2 The germinated seeds treated with  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  solution and stored at low temperature ( $5^\circ\text{C}$ ) in moist sand for 45 days

## 2.2 不同处理下种子的发芽情况及酶活性

### 2.2.1 不同因素及其互作效应对种子的发芽情况和酶活性的影响

对于不同浓度的磷酸二氢钾溶液浸泡后对比种子发芽情况及酶活性, 结果表明:  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的磷酸二氢钾溶液浸泡后种子发芽势和发芽率最高, 对应的 3 种酶活性也最大; 而对照处理的种子发芽势和发芽率最低, 对应的 3 种酶活性也最小。对于层积天数对毛叶山桐子种子萌芽的影响而言, 随着时间的层积, 发芽势和发芽率均在第 45 天时表现最大, 且在第 30~45 天增加幅度最大, 而酶在 15~30 d 时含量增加幅度最大, 即酶的变化较发芽势和发芽率变化提前一个阶段。毛叶山桐子种子的萌芽可能与种内的 3 种酶含量变化关系密切。



A:  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  浸种后层积 45 d 处理下种子发芽率较高; B:  $3.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  浸种后层积 15 d 处理下种子发芽率较低

A: A high germination percentage of seeds treated with  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  solution and stored at low temperature ( $5^\circ\text{C}$ ) in moist sand for 45 days; B: A low germination percentage of seeds soaked with  $3.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$  solution and stored at low temperature ( $5^\circ\text{C}$ ) in moist sand for 15 days

图 3 发芽终止日期的幼苗形态

Figure 3 The seedlings at the stage of terminated germination

方差分析结果(表 2)表明: 磷酸二氢钾浓度和层积时间对毛叶山桐子种子的发芽势、发芽率以及 3 种酶活性的影响均极显著 ( $P < 0.01$ )。磷酸二氢钾浓度 $\times$ 层积天数的互作效应对种子发芽势及发芽率有极显著影响, 但对 3 种酶活性的影响均未达到显著水平 ( $P > 0.05$ )。

分析表 3 得出, 发芽势、发芽率、过氧化物酶活性在 4 种浓度下表现一致:  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度下最高,  $21.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度次之,  $3.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  位列第 3,  $0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度(纯水对照)最低, 且其中各指标差异极显著 ( $P < 0.01$ )。脂肪酶活性在  $3.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  [ $0.31 \text{ U}_1\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ ] 和  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  [ $0.32 \text{ U}_1\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ ] 的浓度下最高,  $0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度次之  $0.26 \text{ U}_1\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ ,  $21 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度下最低为  $0.23 \text{ U}_1\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$ ; 过氧化氢酶活性在  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的浓度下最高, 为  $0.36 \text{ U}_3\cdot(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$ ,  $3.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  次之, 为  $0.31 \text{ U}_3\cdot(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$ , 再其次是  $0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 为  $0.27 \text{ U}_3\cdot(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$ , 最低是  $21 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 为  $0.20 \text{ U}_3\cdot(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$ 。这可能是脂肪酶和过氧化物酶活性受磷酸二氢钾溶液的酸碱度影响较大,  $21.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的磷酸二氢钾溶液 pH 值较低; 而纯水对照组和  $3.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  组因几乎未脱蜡或浓度低脱蜡不完全导致种子透水透气性差, 层积催芽效果受到影响。综合可知,  $10.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度的磷酸二氢钾浸种对种子脱蜡催芽效果最好。

### 2.2.3 层积时间对种子发芽情况和酶活性的影响

分析表 3 得出, 发芽势、发芽率、脂肪酶活性、过氧化物酶活性在 4 种水平上基本表现一致: 随着层积时间的增加(15 d、30 d 和 45 d), 各指标均显著提高, 45 d 时已达最高值, 60 d 时无显著提高 ( $P > 0.05$ )。

表 1 双因素组合下毛叶山桐子种子的发芽情况和酶活性的指标

Table 1 Germination rate and enzymes activity of *I. polycarpa* .var. *vestita* seeds under different treatments

组合 Combinations		发芽势/% Germination energy	发芽率/% Germination rate	脂肪酶活性 /U <sub>1</sub> ·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> Lipase activity	过氧化物酶活性 /U <sub>2</sub> ·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> POD activity	过氧化氢酶活性 /U <sub>3</sub> ·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> CAT activity
磷酸二氢钾浓度 /mmol·L <sup>-1</sup> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> concentration	层积天数 Days of sand storage					
0	15	0	0.7	0.16	0.22	0.19
0	30	0.3	1.3	0.25	0.26	0.30
0	45	1.0	2.7	0.32	0.30	0.32
0	60	1.3	2.7	0.32	0.29	0.26
3.5	15	8.7	12.0	0.18	0.25	0.20
3.5	30	12.3	21.7	0.28	0.32	0.37
3.5	45	22.0	38.3	0.37	0.37	0.36
3.5	60	21.7	39.0	0.39	0.37	0.30
10.5	15	11.0	18.3	0.17	0.33	0.23
10.5	30	29.3	46.7	0.31	0.41	0.42
10.5	45	39.7	61.0	0.39	0.47	0.41
10.5	60	41.3	60.7	0.40	0.49	0.38
21.0	15	9.3	15.7	0.13	0.29	0.14
21.0	30	26.0	41.3	0.21	0.36	0.23
21.0	45	34.7	54.0	0.29	0.44	0.24
21.0	60	36.0	52.7	0.30	0.45	0.18

表 2 不同因素及其交互效应对毛叶山桐子种子的发芽情况和酶活性影响的方差分析

Table 2 Variance analysis of germination rate and enzymes activity of *I. polycarpa* .var. *vestita* seeds under the different treatments

变异来源 Source of variation	自由度 DF	发芽势 Germination energy		发芽率 Germination rate		脂肪酶活性 Lipase activity		过氧化物酶活性 POD activity		过氧化氢酶活性 CAT activity	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
		A	3	2138.384**	0.000	920.187**	0.000	50.01**	0.000	65.40**	0.000
B	3	882.283**	0.000	383.020**	0.000	247.84**	0.000	51.63**	0.000	56.60**	0.000
A×B	9	128.582**	0.000	44.396**	0.000	2.01	0.070	1.12	0.379	1.80	0.106

A: 磷酸二氢钾浓度; B: 层积时间。 “\*”和 “\*\*”分别为达到 0.05 和 0.01 显著水平。

A: concentration of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; B: Days of moist sand storage. “\*”and “\*\*” mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

表 3 磷酸二氢钾浓度和层积时间对毛叶山桐子种子的发芽和酶活性影响的 LSD 多重比较

Table 3 LSD multiple comparisons of the effects of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> concentration and moist sand storage duration at low temperature on germination rate and enzymes activities

因素 Factor	水平 Level	发芽势/% Germination energy	发芽率/% Germination rate	脂肪酶活性 /U <sub>1</sub> ·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> Lipase activity	过氧化物酶活性 /U <sub>2</sub> ·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> POD activity	过氧化氢酶活性 /U <sub>3</sub> ·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> CAT activity
磷酸二氢钾浓度 /mmol·L <sup>-1</sup> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> concentration	0	0.67 <sup>aA</sup>	1.83 <sup>aA</sup>	0.26 <sup>aA</sup>	0.27 <sup>aA</sup>	0.27 <sup>aA</sup>
	3.5	15.83 <sup>bB</sup>	27.75 <sup>bB</sup>	0.31 <sup>bB</sup>	0.33 <sup>bB</sup>	0.31 <sup>bB</sup>
	10.5	30.08 <sup>cC</sup>	46.67 <sup>cC</sup>	0.32 <sup>bB</sup>	0.42 <sup>cC</sup>	0.36 <sup>cC</sup>
	21.0	26.50 <sup>dD</sup>	40.92 <sup>dD</sup>	0.23 <sup>cC</sup>	0.39 <sup>dD</sup>	0.20 <sup>dD</sup>
层积天数/d Days for moist sand stor age	15	7.00 <sup>aA</sup>	11.67 <sup>aA</sup>	0.16 <sup>aA</sup>	0.27 <sup>aA</sup>	0.19 <sup>aA</sup>
	30	16.75 <sup>bB</sup>	27.75 <sup>bB</sup>	0.26 <sup>bB</sup>	0.34 <sup>bB</sup>	0.33 <sup>bB</sup>
	45	24.33 <sup>cC</sup>	39.00 <sup>cC</sup>	0.34 <sup>cC</sup>	0.40 <sup>cC</sup>	0.33 <sup>bB</sup>
	60	25.00 <sup>cC</sup>	38.75 <sup>cC</sup>	0.35 <sup>cC</sup>	0.40 <sup>cC</sup>	0.28 <sup>cC</sup>

注: 表中数据为平均值; 同一列大、小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平上差异显著。

Note: Data in table are mean values. The capital and small letters in the same column mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively

表 4 不同试验处理下毛叶山桐子种子的发芽势、发芽率与 3 种酶活性的相关性分析

Table 4 Pearson correlation analysis of germination energy and germination rate with three enzymes activities

变量 Variables	脂肪酶活性 Lipase activity		过氧化物酶活性 POD activity		过氧化氢酶活性 CAT activity	
	Pearson 相关性	显著性 (双侧)	Pearson 相关性	显著性 (双侧)	Pearson 相关性	显著性 (双侧)
发芽势 Germination energy	0.526**	0.000	0.915**	0.000	0.329*	0.023
发芽率 Germination rate	0.544**	0.000	0.906**	0.000	0.362*	0.011

注: \*, \*\*分别表示 0.05 和 0.01 水平(双侧)上显著相关。

Note: \* and \*\* were significant correlation at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

过氧化氢酶活性在层积 15 d 时最低, 为  $0.19 \text{ U}_3 \cdot (\text{g} \cdot \text{min})^{-1}$ ; 层积 30 d 时已达最大值, 为  $0.33 \text{ U}_3 \cdot (\text{g} \cdot \text{min})^{-1}$ , 45 d 时无显著增加 ( $P > 0.05$ ), 60 d 时活性显著降低 ( $P < 0.01$ ), 为  $0.28 \text{ U}_3 \cdot (\text{g} \cdot \text{min})^{-1}$ 。综上所述, 层积时间为 45 d 时种子的上述 3 种酶活性最高且发芽情况最佳。

**2.2.4 不同试验处理下种子的萌芽情况与酶活性的相关性分析** 由相关性分析结果(表 4)可知: 脂肪酶活性与发芽势、发芽率均存在极显著的正相关性 ( $P < 0.01$ ), 相关性系数分别为 0.526 和 0.544; 过氧化物酶活性与发芽势、发芽率均存在极显著的正相关性 ( $P < 0.01$ ), 相关性系数分别为 0.915 和 0.906; 过氧化氢酶活性与发芽势、发芽率均存在显著的正相关性 ( $P < 0.05$ ), 相关性系数分别为 0.329 和 0.362。

### 3 小结与讨论

种子经浓度为  $10.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的磷酸二氢钾浸种后发芽势和发芽率最高。需要注意的是, 用较高浓度的磷酸二氢钾浸种, (如  $21.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 很可能因酸性影响种子内酶的活性; 纯水对照组和较低的溶液浓度 ( $3.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 不足以在 24 h 内脱蜡完全, 不能很好地改善种子的通水通气性, 亦无法打破种子休眠的物理障碍, 导致发芽率较低。

层积催芽的时间对毛叶山桐子种子的发芽势、发芽率以及 3 种酶活性都有着显著的影响。整体上看各项指标随着层积时间的增加 (15~45 d) 有极显著的提高, 而层积更长的时间 (60 d) 则对种子的催芽效果无显著提高。同时, 脱蜡处理的不完全 (对照组和  $3.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的磷酸二氢钾溶液) 也会影响种子在之后层积催芽过程中脂肪酶、POD、CAT 的活性变化, 使 3 种酶的活性增加程度显著减少。

毛叶山桐子种子的发芽势、发芽率与这 3 种酶活性存在不同程度的正相关性, 酶活性的变化可能是打破毛叶山桐子种子生理休眠的原因之一。即毛叶山桐子的种子萌芽很可能与其内在 3 种酶 (特别

是过氧化物酶) 活性的增大有一定的关系, 且当 3 种酶的活性较大时, 发芽势和发芽率也较高。因此, 3 种酶活性的增加很可能是种子催芽效果提高的内在因素。

综上所述, 毛叶山桐子种子层积催芽前最佳的预处理方法是在  $10 \sim 15^\circ\text{C}$  下使用浓度为  $10.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸二氢钾溶液浸种 24 h, 洗去种皮蜡质后在恒温  $5^\circ\text{C}$  下层积 45 d 即可达到催芽最佳效果, 之后在  $15^\circ\text{C}$  的发芽床中培养 15~20 d 可达发芽高峰期, 发芽势约为 40%, 培养 35~50 d 后最终发芽率可达 60%。毛叶山桐子的种子自然发芽率极低的问题是制约其推广的关键因素, 本研究以安徽岳西县毛叶山桐子为试材, 研究其催芽技术以及种内酶活性与发芽率的关系, 为解除毛叶山桐子种子休眠提供了新的方法, 有利于木本油料及观赏植物毛叶山桐子的栽培和应用。

### 参考文献:

- [1] 李蕴涛, 何立莹. 毛叶山桐子生物学特性及油脂卫生安全性研究[J]. 四川林业科技, 1986, 7(2): 32-33.
- [2] 罗韧. 适宜重庆地区生长的新树种介绍(四)[J]. 重庆林业科技, 2003, 65(4): 57.
- [3] 杨志玲, 王开良, 谭梓峰. 值得开发的几种野生木本油料树种[J]. 林业科技开发, 2003, 17(2): 41-43.
- [4] 吴全珍. 我国毛叶山桐子开发利用回顾和展望[J]. 中国油脂, 2011, 36(6): 54-57.
- [5] 祝志勇, 季永华, 沈定夫, 等. 山桐子育苗试验初报[J]. 江苏林业科技, 2001, 28(2): 6-8.
- [6] 王良衍, 陶春福. 山桐子栽培技术[J]. 林业实用技术, 2002(9): 19-20.
- [7] 张军保. 色木槭种子低温层积过程中贮藏物质和内源激素变化的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008.
- [8] Bentsink L, Jowett J, Hanhart C J, et al. Cloning of DOG1, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in Arabidopsis [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, 103(45): 17042-17047.
- [9] Bouteau H E M, Job D. ROS signaling in seed dormancy alleviation [J]. Plant Signaling & Behavior, 2007, 2(5): 362-364.

- [10] Briggs C L, Morris E C, Ashford A E. Investigations into seed dormancy in *Grevillea linearifolia*, *G-buxifolia* and *G-sericea*: anatomy and histochemistry of the seed coat [J]. *Annals of Botany*, 2005, 96(6): 965-980.
- [11] Briggs C L, Morris E C. Seed-coat dormancy in *Grevillea linearifolia*: little change in permeability to an apoplastic tracer after treatment with smoke and heat [J]. *Annals of Botany*, 2008, 101(5): 623-632.
- [12] Chibani K, Ali-Rached S. Proteomic analysis of seed dormancy in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2006, 142(4): 1493-1510.
- [13] 张乐华, 王书胜, 单文, 等. 基质、激素种类及其浓度对鹿角杜鹃扦插育苗的影响[J]. *林业科学*, 2014, 50(3): 45-54.
- [14] Bethke P C, Libourel I G. The *Arabidopsis* aleurone layer responds to nitric oxide, gibberellin, and abscisic acid and is sufficient and necessary for seed dormancy [J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(3): 1173-1188.
- [15] Kelly A A, Eve S, Powers S J. Suppression of the SUGAR-DEPENDENT1 triacylglycerol lipase family during seed development enhances oil yield in oilseed rape (*Brassica napus* L.) [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2013, 11(3): 355-361.
- [16] Bethke P C, Libourel I G, Jones R L. Nitric oxide reduces seed dormancy in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(3): 517-526.
- [17] Liu T T, Wu P, Wang L H, et al. Response of soybean seed germination to cadmium and acid rain [J]. *Biological Trace Element Research*, 2011, 144(1-3): 1186-1196.
- [18] Alboresi A, Gestin C. Nitrate, a signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis* [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2005, 28(4): 500-512.
- [19] Saxena C, Samantaray S, Rout G R, et al. Effect of auxins on in vitro rooting of *Plumbago zeylanica*: peroxidase activity as a marker for rooting induction [J]. *Biologia Plantarum*, 2000, 43(1): 121-124.
- [20] Gyana R R. Effects of auxins on adventitious root development from single node cuttings of *Camellia sinensis*(L.) Kuntze and associated biochemical changes [J]. *Plant Growth Regulation*, 2006, 48(20): 111-117.
- [21] Sen A, Alikamanoglu S. Antioxidant enzyme activities, malondialdehyde, and total phenolic content of PEG-induced hyperhydric leaves in sugar beet tissue culture [J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2013, 49(4): 396.