

# 低温和 GA<sub>3</sub> 对凤丹种子萌发及 碳氮代谢物和内源激素含量的影响

马丽妍<sup>1,①</sup>, 董春兰<sup>1,①</sup>, 言燕华<sup>2</sup>, 韦武青<sup>2</sup>, 徐迎春<sup>1,②</sup>, 赵 慧<sup>1</sup>

(1. 南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095; 2. 镇江市福农园艺有限公司, 江苏 镇江 212021)

**摘要:** 研究了低温(4 ℃)和 300 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>对凤丹(*Paeonia suffruticosa* ‘Fengdan’)种子萌发过程中子叶、上胚轴和叶原基形态及种胚中碳氮代谢物(包括淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白质)和内源激素(包括 ZR、IAA、ABA 和 GA)含量的影响。结果表明:GA<sub>3</sub>处理后第 11 天凤丹种子上胚轴萌发,且形态细长;经低温处理后第 27 天上胚轴萌发,且形态较粗壮。低温处理后种子萌发的幼苗叶片较大、株高居中、根系发育较好、须根多且长,生长状况总体上优于对照和 GA<sub>3</sub>处理组。与处理后第 3 天相比,对照和低温处理后第 27 天以及 GA<sub>3</sub>处理后第 11 天,种胚中淀粉、可溶性糖、ZR、IAA 和 GA 含量升高,ABA 含量降低;而对照和低温处理后第 27 天种胚中可溶性蛋白质含量降低,GA<sub>3</sub>处理后第 11 天可溶性蛋白质含量无显著变化。各处理组凤丹种子蛋白质电泳条带的相对分子质量多集中在 12 000 ~ 80 000,在对照和低温处理后第 27 天蛋白质条带颜色均较处理后第 11 天略深,但条带数量不变。研究结果显示:低温及 GA<sub>3</sub>处理均可导致凤丹种胚中碳氮代谢物和内源激素含量变化,促进种胚发育及上胚轴生长,但低温处理更有利于上胚轴萌发及幼苗生长。

**关键词:** 凤丹; 种子萌发; 低温; GA<sub>3</sub>; 碳氮代谢物; 内源激素

**中图分类号:** Q945.34; S685.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7895(2014)04-0040-07

**DOI:** 10.3969/j.issn.1674-7895.2014.04.06

**Effects of low temperature and GA<sub>3</sub> on germination and contents of carbon-nitrogen metabolite and endogenous hormone in *Paeonia suffruticosa* ‘Fengdan’ seed** MA Liyan<sup>1,①</sup>, DONG Chunlan<sup>1,①</sup>, YAN Yanhua<sup>2</sup>, WEI Wuqing<sup>2</sup>, XU Yingchun<sup>1,②</sup>, ZHAO Hui<sup>1</sup> (1. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Zhenjiang Funong Horticultural Limited Company, Zhenjiang 212021, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2014, **23**(4): 40-46

**Abstract:** Effects of low temperature (4 ℃) and 300 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> on morphology of cotyledon, epicotyl and leaf primordium and contents of carbon-nitrogen metabolite (including starch, soluble sugar and soluble protein) and endogenous hormone (including ZR, IAA, ABA and GA) in seed germination process of *Paeonia suffruticosa* ‘Fengdan’ were researched. The results show that epicotyl of *P. suffruticosa* ‘Fengdan’ seed germinates and is slender at the 11th day after GA<sub>3</sub> treatment, and that germinates and is thick and strong at the 27th day after low temperature treatment. Seedling germinated from seed treated by low temperature has larger leaf, common height, better development root, more and long fibrous root, its growth status is totally better than that in the control and GA<sub>3</sub> treatment groups. Compared with the 3rd day after treatment, contents of starch, soluble sugar, ZR, IAA and GA in seed embryo increase and ABA content decreases at the 27th day after the control and low temperature treatments and at the 11th day after GA<sub>3</sub> treatment, while soluble protein content in seed embryo decreases at the 27th day after the control and low temperature treatments and that changes un-significantly at the 11th day after GA<sub>3</sub> treatment. The relative molecular weight of electrophoretic bands of

收稿日期: 2014-01-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31101560); 镇江市农业科技支撑项目(NY2014017)

作者简介: 马丽妍(1989—),女,内蒙古包头人,硕士研究生,主要从事观赏植物种苗繁育技术研究。

董春兰(1988—),女,江苏太仓人,博士研究生,主要从事观赏植物生理生态研究。

①并列第一作者

②通信作者 E-mail: xyc@njau.edu.cn

seed protien in all treatment groups mostly concentrate in 12 000–80 000, and color of protein bands at the 27th day after the control and low temperature treatments is darker than that at the 11th day, but number of bands has no change. It is indicated that both lower temperature and GA<sub>3</sub> treatments can lead to changes in contents of carbon-nitrogen metabolite and endogenous hormone in seed embryo of *P. suffruticosa* ‘Fengdan’, and can promote seed embryo development and epicotyl growth, while low temperature treatment is more beneficial to epicotyl germination and seedling growth.

**Key words:** *Paeonia suffruticosa* ‘Fengdan’; seed germination; low temperature; GA<sub>3</sub>; carbon-nitrogen metabolite; endogenous hormone

凤丹(*Paeonia suffruticosa* ‘Fengdan’)是著名的药用牡丹种类,其根皮可入药,称为凤丹皮;凤丹还是油用牡丹的优良品种,由其种子提制的牡丹籽油的营养价值高于橄榄油;此外,凤丹还可作为观赏牡丹嫁接的砧木。凤丹种子上胚轴具有深休眠特性<sup>[1-2]</sup>,在大田生产中,9月份播种后只生根、上胚轴不萌发,需经冬季自然低温打破其上胚轴休眠,到次年3月份才发芽,这一特性严重制约了凤丹种苗的商品化生产。

相关研究结果表明:凤丹种子成熟后必须先经在暖温条件下沙藏,在根长达4 cm时进行处理才能有效打破上胚轴休眠<sup>[3-4]</sup>;其中,低温处理20 d以上及300 mg·L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub>浸泡24 h解除上胚轴休眠的效果较好<sup>[5]</sup>。经低温和GA<sub>3</sub>处理后凤丹种子上胚轴的萌发进程差异很大<sup>[6-10]</sup>;GA<sub>3</sub>处理后种子出苗快,地上部叶柄伸长速度快,但幼苗较纤细;而经低温处理后种子出苗慢,但幼苗较健壮<sup>[11]</sup>。由于未对低温和GA<sub>3</sub>处理后种子成苗过程中上胚轴形态变化及物质代谢差异进行同步观察,因而,它们对凤丹种子的作用机制尚不清楚。

为此,作者采用GA<sub>3</sub>及低温同步处理法,通过比较凤丹种子子叶、上胚轴、叶原基的形态差异及种胚中碳氮代谢物及内源激素的含量变化,揭示低温和GA<sub>3</sub>对凤丹种子上胚轴萌发的作用机制,以期对凤丹种子休眠解除技术的研究提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和处理

凤丹当年成熟种子于2012年8月中旬采自安徽铜陵凤凰山凤丹种植基地。将种子洗净,取下沉的饱满种子,用质量体积分数5%高锰酸钾溶液浸泡消毒2 h,然后混于湿沙中,置于昼温25℃、夜温15℃培养箱中贮藏,昼温和夜温分别处理12 h。

于2012年8月25日至9月28日对凤丹种子进

行沙藏层积处理,待主根长大于4 cm时进行处理。随机取50~60粒种子,分为3组(视为3次重复),于4℃冰箱中用湿沙层积27 d(视为低温处理);为使处理时间同步,在低温处理第26天取相同数量的层积后种子,用300 mg·L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub>溶液浸泡24 h后将种子置于4℃冰箱保存、备用;将同样数量层积后种子置于培养箱(室温)中沙藏,不进行任何处理,即为对照。

### 1.2 取样和测定方法

GA<sub>3</sub>处理后第11天种子上胚轴已萌发,故该处理组的种子在浸泡后第3、第8和第11天取样观察;以此为标准,低温处理和对照组的种子也同步在第3、第8、第11和第27天取样观察。每次取3~5粒种子,用Leica-S6D体式显微镜观测子叶形态。剩余种子放入-80℃冰箱中保存,用于下列指标测定。

剥去种子外种皮,从底部剥开胚乳,取扇形胚供试。淀粉和可溶性糖含量采用蒽酮比色法<sup>[12]202-209</sup>测定;可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝法<sup>[12]190</sup>测定;ZR、IAA、ABA和GA含量采用酶联免疫法<sup>[12]252</sup>测定;用丙酮提取法<sup>[13]</sup>提制蛋白质干粉,然后采用SDS-PAGE凝胶电泳法<sup>[12]183</sup>分析蛋白质组分。

分别于对照处理后6个月、低温处理后第27天及GA<sub>3</sub>处理后第11天观察凤丹种子上胚轴萌发形态,并分别于对照处理后7个月、低温处理后4个月和GA<sub>3</sub>处理后2个月观察萌发幼苗的形态。

### 1.3 数据处理

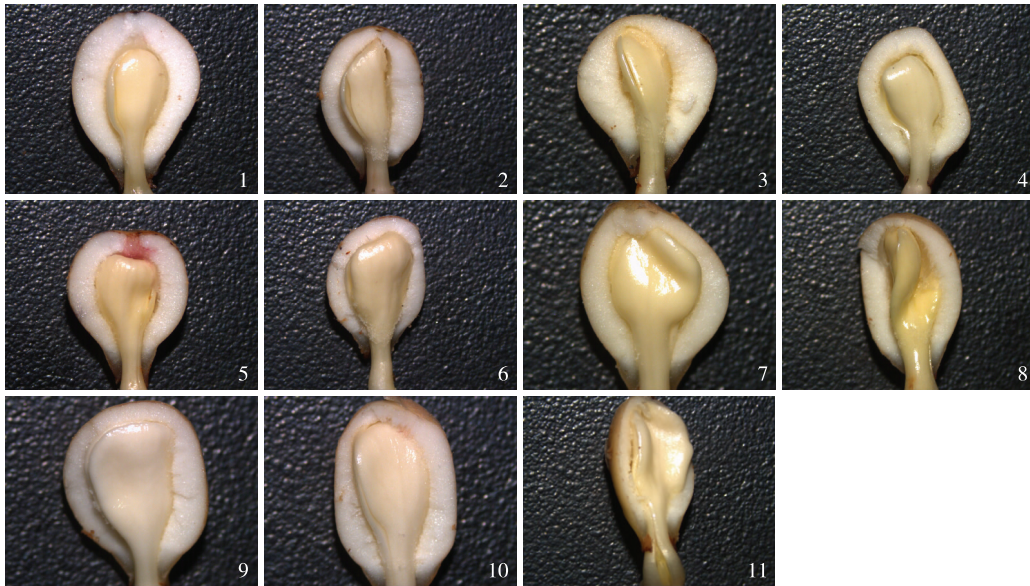
采用EXCEL 2007和SPSS 20.0统计分析软件进行数据处理、方差分析和LSD多重检验。

## 2 结果和分析

### 2.1 不同处理对凤丹种子萌发的影响

不同处理对凤丹种子子叶生长和上胚轴萌发的影响分别见图1和图2。

2.1.1 对子叶生长的影响 由图1可见,随着处理



1-4: 分别为对照处理后第3、第8、第11和第27天子叶的形态 Cotyledon morphology in the 3rd, 8th, 11th and 27th days after the control treatment, respectively; 5-8: 分别为低温(4℃)处理后第3、第8、第11和第27天子叶的形态 Cotyledon morphology in the 3rd, 8th, 11th and 27th days after low temperature (4℃) treatment, respectively; 9-11: 分别为300 mg·L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub>处理后第3、第8和第11天子叶的形态 Cotyledon morphology in the 3rd, 8th and 11th days after 300 mg·L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub> treatment, respectively.

图1 经不同处理后凤丹种子子叶形态的变化

Fig. 1 Change in cotyledon morphology of *Paeonia suffruticosa* 'Fengdan' seed after different treatments

时间的延长,各处理组凤丹种子子叶均不断生长发育,在胚乳中所占的体积也逐渐增大,说明子叶的生长发育消耗了胚乳内的营养物质。其中,GA<sub>3</sub>处理组的种子利用胚乳效率较高,子叶生长较快,但子叶形态较细长、扁平。

处理后第8天,各处理组种子子叶均有所生长,低温处理组的子叶变大变圆厚,上胚轴长大、增厚;GA<sub>3</sub>处理组的子叶生长最快,上胚轴变细长。在GA<sub>3</sub>处理后第11天(上胚轴萌发时),子叶几乎充满胚乳,形态细长扁平,扭曲上翘,子叶基部明显膨大、开裂,上胚轴迅速伸长,顶端初现叶子雏形和粉红色斑点,此时即为上胚轴萌发状态,说明上胚轴萌发需要胚乳和子叶提供营养物质,促进其萌发。低温处理组种子的子叶生长较GA<sub>3</sub>处理组慢,但是子叶形态较圆厚,在处理第27天(上胚轴萌发时)子叶才几乎充满整个胚乳,形态扭曲弯转,此时子叶下端膨大、上胚轴逐渐圆厚,初现叶子雏形且顶端有粉红色斑点,表明上胚轴初步萌发。同步条件下,对照组子叶生长最慢,未有明显的形态变化。

2.1.2 对上胚轴萌发的影响 由图2可见:随上胚轴萌发,其顶部的叶原基随之发育。在GA<sub>3</sub>处理后第



1-3: 对照处理 The control treatment; 4-6: 低温(4℃)处理 Low temperature (4℃) treatment; 7-9: 300 mg·L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub>处理 300 mg·L<sup>-1</sup>GA<sub>3</sub> treatment. 1,4,7: 种子外形 Seed external morphology; 2,5,8: 剥去胚乳后子叶和上胚轴的形态 Morphology of cotyledon and epicotyl after removing endosperm; 3,6,9: 剥去子叶后上胚轴和叶原基的形态 Morphology of epicotyl and leaf primordium after removing cotyledon.

图2 经不同处理后凤丹种子上胚轴形态的比较

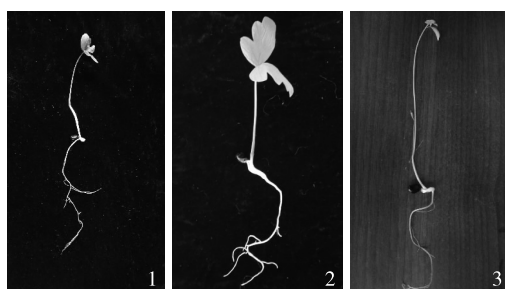
Fig. 2 Comparison on epicotyl morphology of *Paeonia suffruticosa* 'Fengdan' seed after different treatments



11天,上胚轴顶端已初见叶子的雏形并呈粉红色,肉眼可见上胚轴已突破种脐,且形态细长,此时,低温处理组和对照组种子的上胚轴还未有明显的萌动迹象,但低温处理组的种子基部的上胚轴已出现裂缝,表明幼叶原始体即将长出。在处理第27天,低温处理组上胚轴萌发,且形态较粗壮,可见顶端粉红色的叶子雏形。这比凤丹种子在低温处理后第18天上胚轴即萌发<sup>[14-15]</sup>的结果推迟了9d。可能是由于上胚轴萌发主要受外界温度的影响,温度较高则上胚轴萌发较快。本实验将种子置于昼温25℃、夜温15℃条件下处理,较成仿云等<sup>[14-15]</sup>的实验温度(20℃~25℃)偏低,可能导致上胚轴萌发时间较晚。

## 2.2 不同处理对凤丹幼苗形态的影响

不同处理组凤丹种子萌发的幼苗形态见图3。对照组种子经过自然越冬(约7个月)萌发形成的幼苗株高较短,茎粗和根系发育介于低温和 GA<sub>3</sub>处理组之间(图3-1);低温处理的种子4个月后萌发形成的幼苗叶片较大、株高居中、根系发育较好、须根多且长(图3-2);GA<sub>3</sub>处理的种子2个月后萌发形成的幼苗较高,但根系发育比其他2个处理组差(图3-3)。



1: 对照组种子萌发7个月 Seed in the control group germinated for seven months; 2: 低温(4℃)处理后种子萌发4个月 Seed germinated for four months after low temperature (4℃) treatment; 3: 300 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>处理后种子萌发2个月 Seed germinated for two months after 300 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> treatment.

图3 不同处理组凤丹的幼苗形态

Fig. 3 Seedling morphology of *Paeonia suffruticosa* 'Fengdan' in different treatment groups

## 2.3 不同处理对凤丹种胚中碳氮代谢物含量的影响

经不同处理后凤丹种胚中碳氮代谢物(包括淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白质)含量的变化见表1。

由表1可见,处理后第3天,低温处理组种胚中的淀粉和可溶性蛋白质含量最高,GA<sub>3</sub>处理组次之,对照组最低;可溶性糖含量以对照组最高,GA<sub>3</sub>处理组次之,低温处理组最低。处理后第8天,各处理组种胚

表1 经不同处理后凤丹种胚中淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白质含量的动态变化( $\bar{X}\pm SE$ )<sup>1)</sup>

Table 1 Dynamic change in contents of starch, soluble sugar and soluble protein in seed embryo of *Paeonia suffruticosa* 'Fengdan' after different treatments ( $\bar{X}\pm SE$ )<sup>1)</sup>

DAT	SC/%	SSC/%	SPC/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
对照 The control			
3rd	11.733±1.930b	18.875±7.119b	42.827±1.385a
8th	31.911±10.494a	23.370±6.294ab	42.386±1.164a
11th	28.254±9.403a	25.204±9.946a	42.407±1.442a
27th	30.582±0.749a	22.499±1.696ab	41.947±1.660a
低温 Low temperature (4℃)			
3rd	26.103±9.631a	9.751±0.819b	51.098±2.243a
8th	33.382±3.211a	13.171±2.954b	44.963±0.444b
11th	26.508±4.925a	13.345±2.669b	45.270±1.689b
27th	34.575±1.623a	26.051±1.389a	39.259±1.756c
300 mg·L <sup>-1</sup> GA <sub>3</sub>			
3rd	16.542±3.602a	17.638±7.958b	46.335±1.626a
8th	23.852±4.791a	29.476±10.325a	43.096±5.006a
11th	22.370±3.880a	28.534±2.432ab	46.550±3.330a

<sup>1)</sup> DAT: 处理后天数 Days after treatment; SC: 淀粉含量 Starch content; SSC: 可溶性糖含量 Soluble sugar content; SPC: 可溶性蛋白质含量 Soluble protein content. 同列中不同的小写字母表示同一处理组不同处理时间差异显著( $P<0.05$ ) Different small letters in the same column indicate the significant difference ( $P<0.05$ ) among different treatment times in the same treatment group.

中淀粉和可溶性糖含量均较处理后第3天升高,可溶性蛋白质含量降低;其中,仅对照组淀粉含量和 GA<sub>3</sub>处理组可溶性糖含量显著升高,低温处理组可溶性蛋白质含量显著降低。处理后第8天,低温处理组种胚中淀粉含量最高、可溶性糖含量最低,说明低温处理有利于种子内碳水化合物的转化和利用。GA<sub>3</sub>处理组种胚中淀粉和可溶性糖含量的增幅较大、可溶性蛋白质含量的降幅较大,说明经过 GA<sub>3</sub>处理的种子生长较快,碳水化合物积累增快及蛋白质更多地分解成游离氨基酸,对种胚萌发和上胚轴生长更有利。

处理后第11天对照和低温处理组种胚中淀粉含量较处理后第8天降低、可溶性糖和可溶性蛋白质含量升高,而 GA<sub>3</sub>处理组种胚中淀粉和可溶性糖含量降低、可溶性蛋白质含量升高,但差异均未达到显著水平。其中,低温处理组淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白质含量变化幅度较大,说明该阶段低温处理组的种子内部营养物质转化效率较高。

处理后第27天对照和低温处理组种胚中淀粉含量均较处理后第11天升高、可溶性蛋白质含量均降低,而对照组可溶性糖含量降低、低温处理组可溶性糖含量显著升高。对照和低温处理后第27天以及 GA<sub>3</sub>处理后第11天,种胚中淀粉和可溶性糖含量均高

于处理后第3天,而对照和低温处理组可溶性蛋白质含量降低,GA<sub>3</sub>处理组可溶性蛋白质含量基本持平。在种子的萌发过程中,胚乳中的淀粉和可溶性糖被胚吸收用于生长发育,而可溶性蛋白质被水解成游离氨基酸因而含量降低。

#### 2.4 不同处理对凤丹种胚中内源激素含量的影响

细胞分裂素(ZR)和生长素(IAA)均是促进植物生长发育的内源激素;赤霉素(GA)对解除种子休眠和萌发有显著促进作用,并能调控种子生根发芽;而脱落酸(ABA)对植物生长发育有抑制作用。因而,种

胚内的内源激素水平直接影响种子萌发状况。经不同处理后凤丹种胚中内源激素含量的变化见表2。

由表2可见:处理后第3天,低温处理组种胚中ZR、IAA和ABA含量最高,GA<sub>3</sub>处理组种胚中GA含量最高。处理后第8天,对照组种胚中ZR、ABA和GA含量均高于处理后第3天,IAA含量则略有降低,其中ZR和GA含量显著升高;低温和GA<sub>3</sub>处理组种胚中ZR、IAA和ABA含量以及低温处理组的GA含量均低于处理后第3天,而GA<sub>3</sub>处理组的GA含量则明显升高,其中仅ABA含量有显著差异。

表2 经不同处理后凤丹种胚中内源激素含量的动态变化( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>

Table 2 Dynamic change in endogenous hormone content in seed embryo of *Paeonia suffruticosa* 'Fengdan' after different treatments ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>

处理 Treatment	处理后天数 Days after treatment	内源激素的含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ Content of endogenous hormone			
		ZR	IAA	ABA	GA
对照 The control	3rd	5.996±0.030b	43.782±3.646a	144.943±14.361a	8.750±0.375d
	8th	7.832±0.592a	43.245±3.766a	150.212±14.827a	10.747±0.123b
	11th	7.862±0.551a	50.424±2.050a	133.864±16.675a	9.603±0.226c
	27th	7.987±0.131a	47.186±4.563a	132.049±14.911a	12.111±0.163a
低温 Low temperature (4 °C)	3rd	8.029±0.405ab	46.070±6.638b	146.816±17.080a	9.937±0.146ab
	8th	7.778±0.040ab	43.181±4.157b	142.050±15.989b	9.255±0.604b
	11th	7.345±0.700b	47.300±5.730b	130.370±19.275c	8.630±0.633b
	27th	9.262±0.747a	55.092±3.256a	129.582±0.388c	11.502±0.484a
300 mg · L <sup>-1</sup> GA <sub>3</sub>	3rd	7.104±0.878a	40.880±5.177b	139.960±13.005a	10.830±1.696b
	8th	6.479±0.338a	39.797±2.224b	130.727±1.719b	16.349±0.829ab
	11th	7.740±0.381a	49.248±4.492a	129.544±18.536b	21.081±2.471a

<sup>1)</sup> 同列中不同的小写字母表示同一处理组不同处理时间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different small letters in the same column indicate the significant difference ( $P < 0.05$ ) among different treatment times in the same treatment group.

处理后第11天,对照和低温处理组凤丹种胚中4种激素含量变化趋势基本一致,ZR和IAA含量变化不显著,ABA和GA含量下降,其中对照组的GA含量和低温处理组的ABA含量有显著差异;GA<sub>3</sub>处理组种胚中ZR、IAA和GA含量升高,ABA含量降低,其中IAA含量有显著差异。GA<sub>3</sub>处理组的GA含量明显高于对照和低温处理组,且处理后第11天4种激素含量变化幅度以GA<sub>3</sub>处理组最大,说明施以外源GA<sub>3</sub>会使种胚内GA积累,促进种胚上胚轴休眠的解除及其萌发。

处理后第27天,对照和低温处理组种胚中ZR和GA含量均高于处理后第11天,而ABA含量均有所下降、IAA含量分别有所降低和升高;其中,对照组GA含量和低温处理组ZR、IAA和GA含量均显著升高。低温处理组4种内源激素含量的变化幅度较大,说明低温处理后此阶段种胚生长迅速。

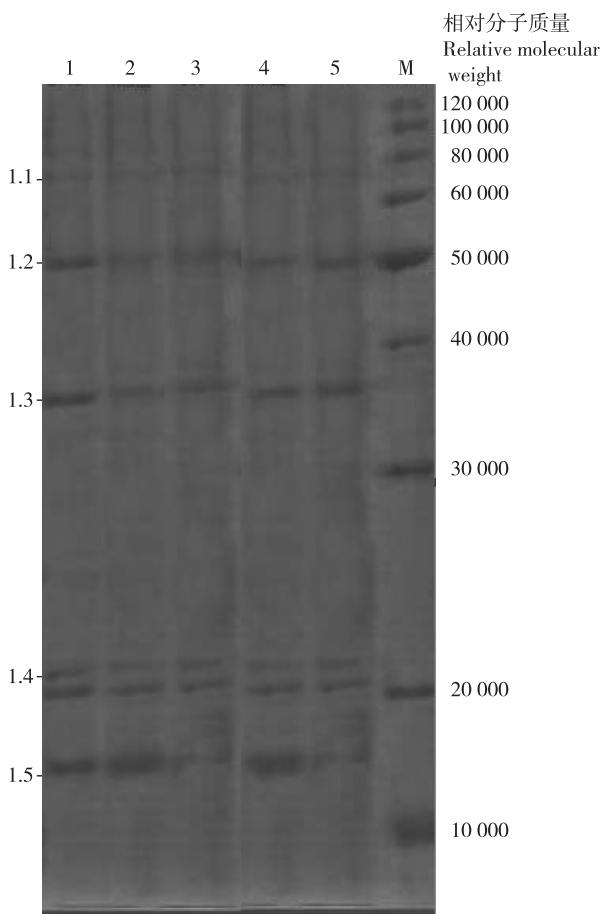
总体上看,对照和低温处理后第27天以及GA<sub>3</sub>处理第11天,各处理组种胚中ZR、IAA和GA含量均高于处理后第3天,而ABA含量则有所降低。

#### 2.5 不同处理对凤丹种子蛋白质组分的影响

GA<sub>3</sub>、低温和对照处理后第11天和第27天凤丹种子蛋白质的SDS-PAGE电泳图谱见图4。经不同处理后第11天凤丹种子蛋白质多数为小分子量蛋白质(相对分子质量12 000~80 000),其中条带1.1(相对分子质量60 000~80 000)在低温和GA<sub>3</sub>处理组中活性较高;条带1.2、1.3和1.4在GA<sub>3</sub>处理组中含量较高;条带1.5在低温处理组中活性最高,GA<sub>3</sub>处理组次之,且低温处理后含量较高。

由图4还可以看出:低温和对照处理后第27天各条带的颜色均比处理后第11天略深,说明随着种子萌发蛋白质活性增强。条带1.2和1.3在对照和低温处理后第27日均比处理后第11天清晰;条带

1.5 在低温处理后第27天均比处理后第11天清晰,说明随时间推移,低温和对照处理组的种子蛋白质的含量及活性发生变化,且不同的种子蛋白质特性可能会影响上胚轴的形态及后续的成苗状况。



1,2,3: 分别为 300 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>、低温(4 °C)和对照处理后第11天种子蛋白质的电泳条带 Protein electrophoretic bands of seed in the 11th day after treated by 300 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>, low temperature (4 °C) and the control, respectively; 4,5: 分别为低温(4 °C)和对照处理后第27天种子蛋白质的电泳条带 Protein electrophoretic bands of seed in the 27th day after treated by low temperature (4 °C) and the control, respectively; M: Marker.

图4 经不同处理后凤丹种子蛋白质的 SDS-PAGE 电泳图谱  
Fig. 4 SDS-PAGE electrophoretogram of seed protein from *Paeonia suffruticosa* 'Fengdan' after different treatments

### 3 讨 论

钱仙云等<sup>[16]</sup>研究了低温及 GA<sub>3</sub>处理对凤丹种子萌发及幼苗质量的影响,但研究过程存在处理不同步的问题。本研究则在其基础上比较分析了低温及 GA<sub>3</sub>处理后同时期凤丹种子的子叶、上胚轴和叶原基

的形态变化及种胚中碳氮代谢物及内源激素含量的变化。研究表明:GA<sub>3</sub>处理后第11天,凤丹种子子叶和上胚轴变化明显,子叶扭曲上翘,上胚轴初见叶片雏形;而种胚内淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白质含量在处理第3至第8天变化幅度较大,淀粉和可溶性糖含量迅速上升,可溶性蛋白质含量迅速下降。说明处理后第11天淀粉、可溶性糖和可溶性蛋白质含量的变化为上胚轴萌发提供了必要的物质条件,也表明种子外部形态变化与其内部营养物质变化有关。

经 GA<sub>3</sub>处理后凤丹种子内源激素(ZR, IAA, ABA和GA)含量在处理第3和第8天以及第8和第11天均有明显变化,且后期的变化幅度大于前期,说明内源激素作为信号物质,其变化是上胚轴萌发的启动信号。詹亚光等<sup>[17]</sup>对白桦(*Betula platyphylla* Suk.)插穗内源激素和营养物质变化的研究表明:IAA含量升高和ABA含量降低会诱导生根。GA<sub>3</sub>处理后凤丹种子萌发形成的幼苗叶柄较长、纤细,可能由于外源 GA<sub>3</sub>浸泡种子时,部分 GA<sub>3</sub>被种子吸收利用,从而对其叶柄伸长生长起促进作用。对甜樱桃[*Cerasus avium* (Linn.) Moench]<sup>[18]</sup>、沙冬青[*Ammopiptanthus mongolicus* (Maxim. ex Kom.) Cheng f.]<sup>[19]</sup>、苦荞[*Fagopyrum tataricum* (Linn.) Gaertn.]<sup>[20]</sup>和茄子(*Solanum melongena* Linn.)<sup>[21]</sup>的研究结果也显示:适宜浓度的 GA<sub>3</sub>浸泡种子可有效促进其萌发。

对照和低温处理后第27天以及 GA<sub>3</sub>处理后第11天,凤丹种胚中 ZR、IAA 和 GA 含量均较处理后第3天升高。内源激素含量的升高可促进种子萌发和生长,这与杨柳燕等<sup>[22]</sup>对彩色马蹄莲(*Zantedeschia hybrids*)开花过程中 ZR 和 GA 促进其开花的研究结果相似。陈在新等<sup>[23]</sup>认为,种子发育期内源激素含量变化是导致板栗(*Castanea mollissima* Blume)不同品种成熟期差异的重要原因。本研究中,凤丹种子上胚轴萌发时(低温处理后第27天和 GA<sub>3</sub>处理后第11天),低温处理组的 ZR 和 IAA 含量高于 GA<sub>3</sub>处理组,说明低温处理更有利于种胚内 ZR 和 IAA 的积累;而 GA<sub>3</sub>处理组的 GA 含量远高于低温处理组,说明 GA<sub>3</sub>处理对种胚内 GA 的积累有促进作用。由于 GA 是解除种子休眠和萌发的促进因子,所以 GA<sub>3</sub>处理组种子的子叶和上胚轴生长更快。低温和 GA<sub>3</sub>处理后种胚内 ABA 含量低于对照组,说明低温和 GA<sub>3</sub>处理可降低种胚内 ABA 的积累,有利于种子萌发。

与 GA<sub>3</sub>处理相比,低温处理后凤丹种子子叶、上



胚轴和叶原基的形态以及种胚中碳氮代谢物和内源激素含量变化均较为缓慢,处理后第27天上胚轴萌发,较GA<sub>3</sub>处理推迟了16 d。宰学明等<sup>[24]</sup>认为:低温预处理可减轻大豆[*Glycine max* (Linn.) Merr.]种子吸水过程中的膜损伤。周广栋等<sup>[25]</sup>认为:低温可改善甜椒[*Capsicum annuum* var. *grossum* (Linn.) Sendt.]芽期细胞膜结构。本研究结果表明:与GA<sub>3</sub>处理相比,低温处理对凤丹种子细胞膜结构损伤较轻,有利于种子自然萌发和幼苗生长;且低温处理后萌发出的幼苗较粗壮,更加接近自然状态下的萌发幼苗。因此,从培养壮苗的角度考虑,生产中应优先采用人工低温处理以提早打破凤丹种子的上胚轴休眠。

在种子发育的不同时期,蛋白质差异表达表现出不同的特性<sup>[26-27]</sup>。凤丹种子蛋白质电泳条带的差异与种子上胚轴萌发时间有关,且其种子蛋白质多数是相对分子质量小于80 000的小分子蛋白质,说明小分子蛋白质对凤丹种子上胚轴萌发有重要作用,且其种子蛋白质的含量及活性对种子后续的生理进程有一定影响。

#### 参考文献:

- [1] 郑相穆,周阮宝,谷丽萍,等. 凤丹种子的休眠和萌发特性[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(4): 260-262.
- [2] 景新明,郑光华,洪德元. 栽培牡丹的种子萌发和贮藏特性[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(4): 268-270.
- [3] BARTON L V, CHANDLER C. Effects of gibberellic on seed germination of tree peony[J]. Contributions from the Boyce Thompson Institution, 1957, 19: 201-215.
- [4] 周仁超,姚崇怀,潘俊,等. 紫斑牡丹种子休眠和萌发特性初步研究[J]. 湖北农业科学, 2002(1): 59-60.
- [5] 林松明. 激素与低温处理对凤丹种子萌发及幼苗生长的影响[D]. 南京:南京农业大学园艺学院, 2007: 7-9.
- [6] 李秀珍,李学强,马慧丽,等. 不同处理对牡丹和芍药种子发根及发芽的影响[J]. 种子, 2004, 23(3): 59-60.
- [7] 范丙友,高水平,史国安,等. 赤霉素和低温打破牡丹上胚轴休眠技术研究[J]. 种子, 2007, 26(3): 1-3.
- [8] 娄方芳,赵林森,李宗艳. 昆明西山野生黄牡丹种子休眠与萌发特性初步研究[J]. 西南林学院学报, 2007, 27(5): 34-37.
- [9] 林松明,徐迎春,蔡志仁,等. 打破凤丹种子上胚轴休眠的研究[J]. 江苏农业科学, 2006(1): 84-86.
- [10] JING X M, ZHENG G H. The characteristics in seed germination and dormancy of four wild species of tree peonies and their bearing on endangerment[J]. 植物生理学报, 1999, 25(3): 214-221.
- [11] 钱仙云. 温度与GA<sub>3</sub>解除凤丹种子休眠的生理代谢变化及其对幼苗质量的影响[D]. 南京:南京农业大学园艺学院, 2009: 40.
- [12] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000.
- [13] 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术[M]. 2版. 北京:科学出版社, 1999: 69.
- [14] 成仿云,杜秀梅. 低温与赤霉素处理对‘凤丹’种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 园艺学报, 2008, 35(4): 553-558.
- [15] 成仿云,李嘉珏,陈德忠,等. 中国紫斑牡丹[M]. 北京:中国林业出版社, 2005: 244-246.
- [16] 钱仙云,徐迎春,柴翠翠,等. 低温和GA<sub>3</sub>处理对凤丹种子萌发及幼苗质量影响[J]. 林业科技开发, 2009, 23(6): 48-51.
- [17] 詹亚光,杨传平,金贞福,等. 白桦插穗生根的内源激素和营养物质[J]. 东北林业大学学报, 2001, 29(4): 1-4.
- [18] 艾呈祥,刘庆忠,李国田,等. 低温层积和赤霉素浸种对甜樱桃种子萌发的影响[J]. 落叶果树, 2011(2): 4-5.
- [19] 邱鹏飞,何炎红,田有亮. 赤霉素浸种对沙冬青种子萌发的影响[J]. 现代农业科技, 2010(3): 221-222, 225.
- [20] 李海平,任彩文. 赤霉素浸种对苦荞种子萌发生理特性的影响[J]. 山西农业科学, 2009, 37(2): 19-21.
- [21] 傅鸿妃,彭智群. 赤霉素浸种和催芽对茄子托鲁巴姆种子发芽的影响[J]. 浙江农业科学, 2011(1): 40-41.
- [22] 杨柳燕,张永春,汤庚国,等. 彩色马蹄莲开花过程中种球营养物质和内源激素含量变化分析[J]. 上海交通大学学报:农业科学版, 2013, 31(1): 13-17.
- [23] 陈在新,潘娟,江道菊. 不同成熟期板栗品种(系)种子发育期主要营养物质与内源激素含量的动态变化[J]. 林业科学, 2011, 47(1): 73-78.
- [24] 宰学明,吴国荣,陆长梅,等. 低温预处理对大豆萌芽活力及其活性氧代谢的影响[J]. 大豆科学, 2001, 20(3): 163-166.
- [25] 周广栋,王秀峰,魏珉,等. 提高甜椒种子活力的方法及机理初探[J]. 西北农业学报, 2005, 14(3): 89-93.
- [26] BAK-JENSEN K S, LAUGESEN S, OSTERGAARD O, et al. Spatio-temporal profiling and degradation of  $\alpha$ -amylase isozymes during barley seed germination[J]. The FEBS Journal, 2007, 274: 2552-2565.
- [27] MÉCHIN V, THÉVENOT C, Le GUILLOUX M, et al. Developmental analysis of maize endosperm proteome suggests a pivotal role for pyruvate orthophosphate dikinase[J]. Plant Physiology, 2007, 143: 1203-1219.

(责任编辑:张明霞)