·研究报告 ·

不同培养基质及条件对三种报春花种子萌发及幼苗生长的影响

吴之坤　张长芹*　程治英
(中国科学院昆明植物研究所　云南昆明　650204)

摘要:在不同培养基质及条件下对海仙花报春 (*Primula poissonii Franch.*)、香海仙报春 (*Primula wilsonii* Dunn)、多脉报春 (*Primula polyneura* Franch)的种子萌发及幼苗生长进行了研究。结果表明,上述 3种报春花的种子萌发情况是多脉报春 >香海仙 >海仙花报春。在四种不同的培养基中,MS及 N 6培养基对报春花种子萌发及幼苗生长比改良 WPM、Miller培养基好。不同糖浓度及 pH 4.5～6.5对报春花种子萌发及幼苗生长无明显影响。GA处理能缩短报春花种子萌发时间。人工气候箱条件下报春花种子萌发及幼苗生长比在培养室的条件下更好。光照对种子萌发有促进作用,但当光照强度增强时,又会使报春花的幼苗叶片白化,产生光抑制,造成幼苗的死亡。在遭受光胁迫时,海仙花报春比多脉报春有较强的适应性。

关键词　报春花　培养基质　种子萌发　幼苗生长　光照强度

The Effect of Different Culture media and Conditions on Seed Germination and Seedling Growth of Three Primroses

Wu Zhikun, Zhang Changqin, Cheng Zhiying
(Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: The effect of different culture media and conditions on seed germination and seedling growth of *Primula poissoii* Franch、*Primula wilsonii* Dunn and *Primula polyneura* Franch were studied in the present paper. The results showed that the *P. polyneura* Frach was the best germinative species among three Primroses. MS and N〕6 were relatively better for the seed germination and seedling growth of primroses than improved WPM and Miller in the four different culture media. Different sugar concentration and pH = 4.5 - 6.5 in media did not influent the seed germination and seedling growth remarkably. Treatment seed with GA could make seed germination time short. Under the condition of artificial climate incubator Primroses seed germinated and growed better than that in the cultured room. Light can improve the seed germination of primroses, but if in condition of intense light, the seedling growth of primroses would be restrained and became albino plants, even be killed. The seedlings of *P. poissoii* Franch were more adaptable and could sustain longer than the seedlings of *P. polyneura* Franch when under intense light.

Key wards　*Primula*　Culture medium　Seed germination　Seedling growth　Light intensity

报春花是世界著名观赏花卉,因其花色多样、观赏价值高被誉为"世界三大园艺植物"之一[1]以及"中国三大天然名花"。该属植物近 500种,中国产 293种 21亚种和 18变种[2]。主要分布于北半球温带,仅极少种类分布于南半球,沿喜马拉雅山两侧到云南、四川西部是本属的现代分布中心。国外学者从上世纪早期起就对该属植物进行了较为深入的研究,但国外的研究多局限于欧美的种类[3]。目前国内对该属植物的研究工作主要集中于系

收稿日期: 2004-12-12。
基金项目:云南省自然科学基金 (2001 C 0057M),国家科技部基础工作专项重点项目 (2001 DEA 10009),中国科学院知识创新工程试点资助项目 (KSCX-2-SW-112)。
作者简介:吴之坤 (1980～),男,在读博士研究生;主要研究植物系统学与保护生物学。　*通讯作者:张长芹。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

统分类上[1,4~7],对于很多具有较高观赏价值和较好适应性的野生种从园艺学角度进行研究则少见报道[8,9],因此加强从园艺学角度对该属植物的研究,探讨如何有效地利用这一丰富的野生花卉资源,具有很高的经济及科学价值。本研究以 3种报春花的种子为材料,在不同的培养基质及条件下对这 3种报春花种子萌发及幼苗生长的影响进行观察,探讨不同培养基质、不同温度及光照强度对这 3种报春花种子萌发及幼苗生长的影响,同时探讨不同报春花种子萌发及幼苗生长与野生环境之间的关系,以期找出报春花种子萌发及幼苗生长的适宜条件,为报春花种质资源的保护、离体保存及开发利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　材料

本研究采用的 3种报春花,其中海仙花报春 (*P. poissonii* Franch)的种子采自丽江玉龙雪山玉水寨;多脉报春 (*P. polyneura* Franch) 种子采自香格里拉县 (原中甸县)碧塔海;香海仙报春 (*P. wilsonii* Dunn)种子从英国爱丁堡皇家植物园获得。

1.2　方法

选取 MS、N 6、Miller、以及改良的 WPM四种培养基,同时以改良的 WPM为基本培养基,设置 4个糖浓度梯度和 3组不同 pH值梯度的对比即:无糖 ($WPM_{无}$)、1%的蔗糖 (WPM_1)、2%的蔗糖 (WPM_2)、以及 3%的蔗糖 (WPM_3)和 pH值分别为 4.5(代号为 WPM_{2-1})、5.8(代号为 WPM_{2-2})和 6.5(代号为 WPM_{2-3})。将海仙花 (*P. poissonii*)种子分为 22组,香海仙报春 (*P. wilsonii*)种子分为 8组,多脉报春 (*P. polyneura*)种子分为 34组,以上每组种子 60粒,每组 (除不同光照强度对比实验外)2个重复,结果取其平均值。

取这 3种报春花的种子,用蒸馏水漂洗,洗去表面污物,用滤纸吸干,再用干净的纱布包好,放入 70%的乙醇中浸泡 30 s,然后用 0.2% $HgCl_2$消毒 2次,第 1次 10 min,用无菌水冲洗 4～6次后,再消毒 8 min,用无菌水冲洗后接种到培养基上。

将上述种子每一培养基接种 2组,置于不同的条件下培养,一组置于培养室内,一组置于人工气候箱 (HPG-280 H型)中培养。培养室平均温度为 17℃,湿度为 60%～70%,每天光照 12 h,光照强度 1 500 lx;人工气候箱温度白天为 (23 ±1)℃,晚间温度为 (18 ±1)℃,湿度为 90%,每天光照 12 h,光照强度为 9 000 lx。

用 5、10、20 mg/L不同浓度的 GA对多脉报春 (*P. polyneura*)的种子分别作 30 s, 60 s, 90 s的处理,各梯度组合的代号分别设置如下:以浓度为基础,时间 30 s、60 s以及 90 s分别设为 1、2和 3,例如 5 mg/L中处理 30 s代号为 5-1, 10 mg/L处理 60 s代号为 10-2,以此类推。以 MS及 Miller为基本培养基,接种后置于培养室内培养。

不同光照强度的处理是将海仙花报春 (*P. poissonii*)种子及多脉报春 (*P. polyneura*)种子接种在 MS培养基上,接种后放入人工气候箱内培养。根据 (HPG-280 H型)人工气候箱在最大光强 9 000 lx下光照五级可调将光照强度设置为:无光照、I级为 2 220 lx、II级为 4 440 lx、III级为 6 660 lx、IV级为 9 000 lx,光照时间为 12 h,并且在有光照的四级中放入一瓶已萌发并长势良好的多脉报春幼苗,观察光照强度对幼苗的影响。

种子萌发以胚根露出种皮 1～2 mm作为萌发的标志,定期观察种子萌发和幼苗生长的情况。

2　结果与分析

2.1　不同培养基及温度、光照条件对不同种子萌发及幼苗生长的影响

不同培养基对不同种子萌发及幼苗生长的影响见图 1,从图中可以看出,多脉报春 (*P. polyneura*)是种子中萌发最好的,在培养室的条件下,MS、Miller培养基中的种子第 13天就开始萌发,第 20天萌发率分别达 80%以上;N 6培养基第 14天开始萌发,第 20天后萌发率达 80%以上。在改良的 WPM培养基上第 16天才开始萌发,萌发持续的时间也较长。各组培养基的平均萌发率为 MS: 91.7%、Miller: 90%、N 6: 91.7%、改良的 WPM: 75%。在培养箱条件下,多脉报春种子在 MS、Miller、N 6培养基中均于接种后第 12天开始萌发,而改良 WPM培养基第 15天才开始萌发。在前 3种培养基中,萌发率达到 90%以上,分别为:MS: 95%、Miller: 93.3%、N 6: 95%,改良的 WPM培养基则只有 75%的萌发率。在幼苗的长势上,不管是在培养箱里还是在培养室里,MS、N 6培养基的幼苗长势都比较好,改良的 WPM培养基次之,而相对 Miller培养基虽然种子萌发率较高,但幼苗细弱,叶片小,形成的都是一些纤弱的“高脚苗”。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

接种在 MS与 N6培养基中的香海仙报春 (*P. wilsonii*)的种子于接种后的第 13天开始萌发,Miller培养基第 15天开始萌发,改良的 WPM培养基第 17天起萌发,各培养基萌发率分别为:Miller 85%、N6 80%、MS 83.3%、改良的 WPM 65%。在培养箱的条件下,N6、Miller、MS这 3种培养基均于接种后第 11天开始萌发,改良的 WPM培养基于接种后第 13天萌发,各个培养基的萌发率为:MS 90%、N6 83.3%、Miller 90%、改良的 WPM 70%,在幼苗的长势上,MS最好,N6次之,然后是改良的 WPM培养基,Miller培养基里的幼苗是最差的,幼苗都是典型的"高脚苗"。

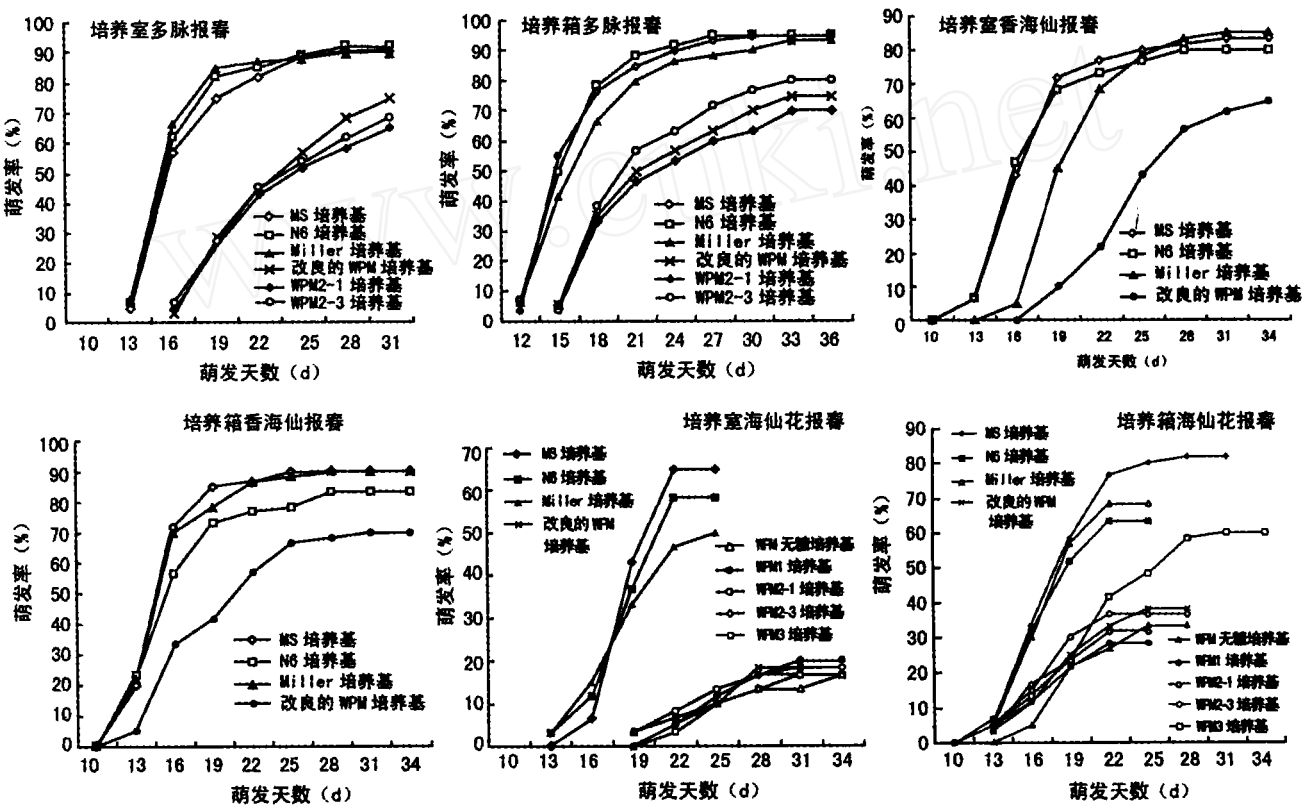

图 1　不同培养基质对多脉报春 *P. polyneura*、香海仙报 *P. wilsonii*及海仙花报春 *P. poissonii*种子萌发及其幼苗生长的影响

海仙花报春 (*P. poissonii*)种子在培养室的条件下,接种在 N6和 Miller培养基上的于第 13天开始萌发,接种在 MS培养基上的第 15开始萌发,而所有接种在 WPM培养基上的种子均于 20天左右才开始萌发。各培养基的萌发率为:MS 65%、N6 58.3%、Miller 50%、改良的 WPM 18.3%、$PM_{无糖}$ 16.7%、WPM_1 20%、WPM_{2-1} 16.7%、WPM_{2-3} 18.3%、WPM_3 16.7%。在培养箱条件下,MS、Miller及 N6培养基均于接种后 11天开始萌发,所有 WPM培养基配比中 $WPM_{无糖}$ 在接种 14天后开始萌发,其余的在接种 13天后开始萌发,各培养基的萌发率为:MS 81.7%、N6 63.3%、Miller 68.3%、改良的 WPM 38.3%、$WPM_{无糖}$ 33.3%、WPM 128.3%、WPM_{2-1} 31.7%、WPM_{2-3} 36.7%、WPM_3 60%。在幼苗的长势上,无论是在培养室还是培养箱,与以上两种报春一样,相对来说都是 MS及 N6上长得壮些,WPM各培养基上虽然萌发率不太高,但幼苗长势良好,而 Miller培养基中的幼苗则纤弱,叶片细小,是典型的"高脚苗"。

从这 3种报春花种子萌发及幼苗生长的情况来看,无论在培养室还是在人工气候箱内不同的培养基,在相同条件下对这 3种报春花种子萌发及幼苗生均长有一定的影响。相对来说,N6、MS以及 Miller这 3种培养基在种子的萌发时间及萌发率上比改良的 WPM培养基要好,这 3种培养基在萌发的起始时间及萌发率上相差无几,但在幼苗的长势、叶部的分化上,MS和 N6的比 Miller培养基要好,前两种培养基萌发出的幼苗粗壮,能很好地进行光合作用;而 Miller培养基的幼苗瘦弱,是典型的"高脚苗"。因此在报春花种子萌发及幼苗生长的实验中,这 4种培养基里 MS及 N6较好。

从实验结果可以看出,培养箱与培养室条件相比,种子萌发率略有差别,尽管在 MS、Miller及 N6培养基中差

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

别不明显,但培养箱里要高些,而在 WPM各培养基中,培养箱里的萌发率明显要比培养室高,在萌发的时间上,培养箱比培养室普遍要提前 2～5 d。从前人的报道来看[8],这可能与报春花种子萌发的环境条件即光照、温度以及湿度等有关。因此,培养箱里的环境条件更适合于报春花种子的萌发。

从图 1可以看出,在不同 pH值及糖浓度对比实验中,糖浓度的高低对报春花种子的萌发及幼苗的生长没有明显的影响;在 pH值的 3个梯度中,实验的海仙花 (*P. poissonii*)与多脉报春 (*P. polyneura*)的种子及幼苗在 pH 4.5～6.5的范围内都能萌发及生长,但 pH = 5.8及 pH = 6.5则更适宜这 2种报春花种子萌发和幼苗生长。

2.2 不同 GA处理对报春花种子萌发的影响

用不同浓度的 GA对多脉报春 (*P. polyneura*)种子做不同时间的处理,结果如表 1,从结果可以看出,在不同浓度的 GA处理中,不同培养基对种子的萌发有明显的影响,MS培养基在萌发率及幼苗长势上,效果都比 Miller好。与没用 GA处理的对比可以看出,处理过的多脉报春 (*P. polyneura*)的萌发率在 MS培养基里稍低,但用 GA处理的种子萌发时间大多数要提前 1～2 d;在 Miller培养基中,多脉报春 (*P. polyneura*)萌发时间也同样提前,萌发率却又明显地下降,这有待进一步的探讨。用 GA对霞红灯台报春 (*Primula beesiana* Forr.)种子进行处理,其萌发时间也有明显的提前。因此用 GA处理能使报春花种子萌发的时间提前。在 MS培养基中 20 ml/L GA处理的萌发率要高些,而在 Miller培养基中则是 10 ml/L GA处理的萌发率要高些,说明 GA处理与培养基具有相关性。

表 1　不同 GA处理对 MS及 Miller培养基中多脉报春 (*P. polyneura*)种子萌发及幼苗生长的影响

培养基代号	MS培养基		长势	Miller培养基		长势
	始萌发天数 (d)	萌发率 (%)		始萌发天数 (d)	萌发率 (%)	
5-1	11	91.7%	++	12	33.3%	+
5-2	11	83.3%	+	11	41.7%	-
5-3	12	70.0%	++	11	75.0%	++
10-1	11	83.3%	+++	12	70.0%	-
10-2	11	81.7%	+++	11	58.3%	-
10-3	11	73.3%	+++	12	79.2%	-
20-1	12	90.0%	+++	12	50.0%	-
20-2	12	83.3%	+++	11	43.3%	-
20-3	11	83.3%	+++	12	61.8%	-

注: ++长势好,茎叶分化明显; +++长势好,矮壮; +长势一般; - 长势一般,幼苗细弱。

2.3 不同光照强度对报春花种子萌发及幼苗的影响

光照对某些种子的萌发是必不可少的,而且光照强度对不同物种的幼苗生长也会产生很大的影响[10]。对海仙花报春 (*P. poissonii*)、多脉报春 (*P. polyneura*)种子及多脉报春 (*P. polyneura*)幼苗进行不同光照强度的处理。结果表明:不同的光照强度对这两种报春花的种子萌发和幼苗的生长发育都有很大的影响。多脉报春 (*P. polyneura*)种子在无光照的条件下比有光照条件下种子萌发要晚 7 d,萌发率也低 30%左右,在人工气候箱四级光强梯度条件下,种子萌发时间随光强增加而提前,萌发率达到了 90%以上,光照对多脉报春种子的萌发有明显的促进作用,对海仙花报春 (*P. poissonii*)无显著影响。在无光照条件下,多脉报春 (*P. polyneura*)的幼苗均非常细弱、黄化且倒伏,直至萎蔫死亡,相比之下海仙花报春 (*P. poissonii*)对于无光照的环境适应更差,其萎蔫死亡的时间比多脉报春 (*P. polyneura*)要早 15 d左右。多脉报春在 I级的条件下开始时幼苗生长良好,但过了 50 d后,叶片开始白化并死亡,随着光照强度的增加,多脉报春 (*P. polyneura*)白化苗出现的时间也明显提前,在 IV级的条件下时 33 d就出现了白化苗。将正常苗移入到四级光照强度条件下也表现出随着光照强度的增加白化时间提前,从 I级到 IV级光照白化时间提前 14 d。海仙花报春 (*P. poissonii*)对光强的适应能力较多脉报春强得多,在 I、II级光照强度的条件下幼苗生长正常、健壮,在 53天后幼苗稍微萎蔫时移出培养箱能恢复正常生长,没移出的虽然后来也白化死亡,但承受强光的时间也较长。在 III级与 IV级的条件下,幼苗开始时长势良好,过 45天后开始白化,移出后死亡。从结果可以看出,在幼苗遭受强光胁迫时,海仙花报春 (*P. poissonii*)比多脉报春 (*P. polyneura*)能更好的适应,但当强光胁迫超出幼苗所能承受的范围时,这两种幼苗都会出现光合系统被破坏,叶片白化,而最终死亡。

3 讨论

种子萌发及幼苗生长需要适宜的水、氧气、温度、光照以及营养基质等因子,这些因子虽然有各自不同的作用,但它们又彼此联系,综合地影响种子及幼苗的生命活动。不同种子萌发及幼苗生长所需环境条件不同,这与

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

其物种自身的遗传特性及其在自然历史长期进化、适应的过程中形成的生理特性有关。这 3种报春花种子萌发在 4种不同盐浓度的培养基中,MS及 N6更适合于报春花种子的萌发及幼苗生长,而糖浓度以及一定范围内的 pH值对报春花种子萌发及幼苗生长的影响不大。有研究表明,GA能解除某些种子的休眠,促进种子萌发[11],我们的实验结果也可以看出,用 GA处理能促使报春花种子萌发时间提前。而温度与光照作为生态因子,对不同的报春花种子萌发及幼苗生长有不同的影响。报春花的种子萌发及幼苗生长需要一定的温度范围[8],温度对报春花种子萌发及幼苗生长的影响很大,报春花种子在培养箱的温度条件下 [白天温度为 (23 ±1) ℃,晚间温度为 (18 ±1) ℃]此在培养室的温度条件下 (平均气温为 17℃)能更好的萌发。研究表明,在野外不同生长环境下的植物对光照强度有不同的要求,耐荫植物往往比开阔地上的植物光合能力较弱,并且它们在不同光照强度的生长条件下,其生理、形态上产生适应的可塑性差,高光照条件下的光能利用率低,易受到强光伤害,当耐荫植物置于强光照射时,会引起光抑制,影响它们的光合作用乃至生长,严重的光抑制可导致植物死亡[12]。作为生长在林下的阴性植物,光照强度对多脉报春种子萌发及幼苗生长具有很大的影响,适度的光照有利于种子萌发及幼苗生长,但其幼苗对光胁迫较为敏感,当光照强度过大时,很容易引起光抑制而白化,最后因无法进行光合作用而死亡;而对于生长在开阔地上的海仙花报春在适应强光胁迫方面承受能力更强。研究表明,光照强度的增加能引起光合色素被破坏[13],随着光强的增加,植物叶片的叶绿素含量逐渐减少,这是由于在强光下,植物难以全部消耗过量的光能,这些过量的光能将产生光抑制,不利于植物叶绿素的形成,可能还会使叶绿素产生分解[14,15],虽然植物自身也有一定的防卫系统以响应环境因子的动态变化,最大限度地降低因环境胁迫引起的代谢不平衡或细胞损伤,保留其正常的生存能力[16],但当光照强度大于植物所能承受的最大值时,就会对植物产生光抑制。报春花幼苗叶片在强光下产生白化现象也可能是其光合系统受到破坏所致。

因此,在引种报春花及进行报春花种质资源保存时,必须根据各种不同生长环境的报春花来选择合适的引种及培养条件。对于开阔地上生长的报春花,温度和光照是其种子萌发及幼苗生长的主导因子,因此必须注意使其在合适的温度和光照下生长;而对于阴生条件下的报春花,在注意温度对其种子萌发影响的同时,更应该注意光照强度对其幼苗生长的影响,由于在强光胁迫下可塑性差,因此在萌发的早期可以放置于良好的光照条件下,这有助于其种子萌发及幼苗生长,但幼苗长出真叶后应适当的遮荫,不要将其置于强光下直射,以免引起光胁迫而影响其生长甚至引起其光合系统遭受破坏而白化死亡。

参考文献

1 Richards J. Primula [M]. London: B. T. Batsford Ltd, 1993, 14 - 29.

2 陈封怀,胡启明. 中国植物志第 59卷第 2分册 [M]. 北京:科学出版社, 1990, 1～207.

3 朱慧芬. 五种观赏报春引种驯化的初步研究. 昆明植物研究所,硕士学位论文, 2001: 1～99.

4 郑维列. 西藏色季拉山报春花种质资源及其生境类型 [J]. 园艺学报, 1992, 19, (3): 261～266.

5 薛大伟,黄媛,张长芹等. 珍稀植物景东报春的地理分布和生态生物学特性 [J]. 植物资源与环境学报, 2003, 12 (4): 59～60.

6 薛大伟,张长芹. 云南无量山四种报春花属植物的核型研究 [J]. 云南植物研究, 2003, 25, (1): 78～82.

7 薛大伟,张长芹,黄媛等. 云南无量山报春花种质资源的调查. 园艺学报, 2003, 30, (4): 476～478.

8 张长芹,朱慧芬,吴之坤. 五种野生观赏报春花引种驯化初报 [J]. 云南植物研究, 2003, 25, (2): 216～222.

9 张艳丽,张启翔,潘会堂等. 光照条件对小报春生长及光合特性的影响 [J]. 中南林学院学报, 2003, 23, (5): 22～26.

10 陈章和. 热带湿润森林种子及幼苗生理学研究 (综述) [J]. 热带亚热带森林生态系统研究, 1990, 6: 153～163.

11 杨利平,宋满珍,张晶. 光照和温度对百合属 6种植物种子萌发的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2000, 9, (4): 14～18.

12 Osmond CB. What is photoinhibition? Some insights from comparitions of sun and shade plants. In: Baker NR, Bowyer JB (eds). Photoinhibition of Photosynthesis: from Molecular Mechanisms to the Field [M]. Oxford: Bios Scientific Publishers Ltd, 1994.

13 肖宜安,何平,邓洪平等. 不同光照下长柄双花木细苗光合指标的变化 [J]. 西南师范大学学报 (自然科学版), 2003, 28, (3): 440～443.

14 刘鹏,徐根娣. 在生境片断化中光对七子花生理特性的影响 [J]. 林业科学, 2003, 39, (4): 43～48.

15 徐志防,罗广华,王爱国等. 强光及活性氧对大豆光合作用的影响 [J]. 植物学报, 1999, 41, (8): 842～866.

16 蔡志全,曹坤芳,冯玉龙等. 热带雨林三种树苗叶片光合机构对光强的适应 [J]. 应用生态学报, 2003, 14, (4): 493～496.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net