

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2015-0306

闵丹丹,范燕,郭正刚,胡小文.紫花苜蓿种子水引发条件的优化.草业科学,2016,33(4):669-673.

Min D D, Fan Y, Guo Z G, Hu X W. Optimization of seed hydropriming conditions for *Medicago sativa*. Pratacultural Science, 2016, 33(4): 669-673.

## 紫花苜蓿种子水引发条件的优化

闵丹丹,范 燕,郭正刚,胡小文

(草地农业生态国家重点实验室,草地农业科技学院,甘肃 兰州 730020)

**摘要:**出苗与建植难是限制紫花苜蓿(*Medicago sativa*)在黄土高原干旱雨养区栽培利用的一个重要因素。种子引发技术可促进种子萌发和幼苗生长、提高种子活力、增强幼苗抗性,从而提高幼苗建植率。基于此,本研究以陇东苜蓿为材料,探讨了种子引发温度(10、15、20 ℃)、引发时间(12、24、36、48 h)以及加水量(原始种子质量的90%、120%、150%)对种子引发效果的影响。结果表明,在多数条件下引发能显著提高苜蓿种子的萌发速率,促进幼苗生长,但对种子最终萌发率没有影响。当引发加水量为种子初始重的90%、引发温度为10 ℃、引发时间为36 h时种子的活力指数最高,可作为紫花苜蓿种子引发的最适条件。

**关键词:**紫花苜蓿;水引发;回干;种子萌发

中图分类号:S816; S541<sup>+</sup>.1

文献标识码:A

文章编号:1001-0629(2016)4-0669-05\*

### Optimization of seed hydropriming conditions for *Medicago sativa*

Min Dan-dan, Fan Yan, Guo Zheng-gang, Hu Xiao-wen

(State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, College of  
Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou 730020, China)

**Abstract:** Failure of seedling establishment is one of the main reason limiting cultivation of *Medicago sativa* in arid rain-fed region of Loess Plateau. Seed priming has been proven to be an effective method for enhancing stress tolerance of seeds at the germination stage; and consequently increased seedling establishment. This study determined the optimal conditions for hydropriming of *M. sativa* cv. "Longdong" by manipulating priming temperature (10, 15, 20 ℃), duration (12, 24, 36, 48 h) and water addition (90%, 120%, 150% seed weight). The results showed that most priming treatments could significantly increased germination rate and seedling growth, but showed no effect on final germination percentage. The optimal response to hydropriming was achieved at 10 ℃ for 36 h with 90% water of original seed weight.

**Key words:** *Medicago sativa*; hydropriming; redry; seed germination

**Corresponding author:** Hu Xiao-wen E-mail:huxw@lzu.edu.cn

紫花苜蓿(*Medicago sativa*),多年生优质豆科牧草,素有“牧草之王”的美誉<sup>[1]</sup>,为我国栽培面积最广的牧草。近年来,随着畜牧业的快速发展以及生态环境保护的需要,苜蓿已成为发展经济、退耕还林还草的首选物种。然而,由于苜蓿主要种植在水分亏缺与盐碱化相对严重的北方地区,出苗与建植难已成为影响苜

蓿栽培利用的一个重要因素。

种子引发是一项通过控制种子缓慢吸水,提前启动种子萌发生理过程的播前处理技术,不但可以打破种子休眠,促进种子萌发和幼苗生长,增加幼苗抗逆性,增强种子活力,提高幼苗建植率,还可以在一定程度上提高作物产量<sup>[2-7]</sup>,因而广泛应用于农业生产实

\* 收稿日期:2015-06-02 接受日期:2015-09-09

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201403048-3);甘肃省重大科技攻关项目(2013GS05907)

第一作者:闵丹丹(1991-),女,陕西洛南人,在读硕士生,主要从事草类植物种子研究。E-mail: mindd13@lzu.edu.cn

通信作者:胡小文(1980-),男,湖南洞口人,教授,博士,主要从事草类植物种子与种质资源研究。E-mail:huxw@lzu.edu.cn

践。目前普遍用于种子引发处理的技术包括液体引发、固体基质引发、水引发、生物引发和膜引发等<sup>[8]</sup>。如紫花苜蓿种子经聚乙二醇(PEG)引发后,萌发速率与活力指数显著提高<sup>[7]</sup>;经沙引发后,萌发期的抗盐性显著增加<sup>[9]</sup>;经水引发后,萌发速率与萌发一致性等得到明显改善。邓蓉和张定红<sup>[10]</sup>认为水引发比PEG引发更能提高苜蓿幼苗的茎长,促进生长,有利于提早收获,而且在无土栽培的最终生产总量上水引发和PEG引发没有差异。因此相比液体引发和基质引发,水引发具有成本低、易于操作等优点,因而受到越来越多的关注<sup>[9]</sup>。刘慧霞和王彦荣<sup>[11]</sup>就紫花苜蓿种子水引发的温度、加水量、引发的适宜时长等开展了较为系统的研究,为紫花苜蓿种子引发条件的选择提供了有益参考。但在该研究中,作者有关引发条件的选择是基于最适条件下引发后未回干种子而进行的。考虑到引发因为提前启动了种子萌发的生理过程而加速种子萌发;而未回干种子相比干种子含水量已达一定程度,吸胀时间较短,也会提高种子的萌发速率,这在一定程度上混淆了引发所产生的生理效应与提前吸胀对种子萌发的作用,从而可能高估了引发的效果。另一方面,在实际操作中,尤其是引发作为一种商业化种子播前处理技术时,处理后的种子从种子公司到农户再到田间播种,存在时间差,即引发后的种子通常不会直接用于播种。因而,对紫花苜蓿引发回干后的种子进行引发条件的评价与优化具有必要性。

基于此,本研究以陇东黄土高原区苜蓿主栽品种陇东苜蓿种子为材料,探讨加水量、引发时间与引发温度对引发回干后紫花苜蓿种子萌发特性的影响,以期为优化紫花苜蓿种子引发技术提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

陇东紫花苜蓿种子来源于甘肃农业大学草业学院,初始发芽率为65%、硬实率35%、种子含水量为7.05%,试验前置于密封塑料袋中,4℃冷库贮藏。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 引发方法** 将8 g种子置入250 mL带盖塑料瓶中(盖上具小孔),分别加入7.2、9.6和12 mL蒸馏水,立即摇晃使种子与水分均匀接触,而后将瓶子置于10、15和20℃恒温培养箱中分别引发12、24、36和48 h。引发期间,每2 h将塑料瓶取出,轻轻摇晃,以确保种子均匀吸水。每引发处理3个重复。引发结束后,将引发种子倒出,平铺置滤纸上,室内(18~23℃,RH 30%~45%)回干48 h直至种子含水量到初始含水量(7%)后用于萌发试验。

**1.2.2 萌发试验** 在10℃(与春季播种时节土壤平均温度接近)条件下对不同引发处理回干后的种子进行萌发率测定。采用纸上萌发法,将种子摆放在置有两张湿润滤纸的玻璃培养皿中(直径11 cm),12 h/12 h光照/黑暗条件下培养,3次重复,每重复50粒种子。以未引发种子作为对照。试验期间根据萌发速率,每8、16或24 h统计一次,共持续14 d,以胚根突出种皮2 mm视为萌发。第7天测定根长苗长,每重复测定10粒种子,计算其均值。第14天统计正常苗、不正常苗、死种子、新鲜种子及硬实种子数。

### 1.3 测定指标

最终萌发率=发芽终期全部正常种苗数/(供试种子数-硬实种子数)×100%;

表1 陇东紫花苜蓿种子水引发条件及编号

Table 1 Combinations of hydropriming conditions for *Medicago sativacv "Longdong"* seeds and its label number

编号 Number	处理 Treatment	编号 Number	处理 Treatment	编号 Number	处理 Treatment
1	T10+W90+D12	10	T10+W150+D24	19	T15+W150+D12
2	T10+W90+D24	11	T10+W150+D36	20	T15+W150+D24
3	T10+W90+D36	12	T10+W150+D48	21	T15+W150+D36
4	T10+W90+D48	13	T15+W90+D12	22	T20+W90+D12
5	T10+W120+D12	14	T15+W90+D24	23	T20+W90+D24
6	T10+W120+D24	15	T15+W90+D36	24	T20+W120+D12
7	T10+W120+D36	16	T15+W120+D12	25	T20+W120+D24
8	T10+W120+D48	17	T15+W120+D24	26	T20+W150+D12
9	T10+W150+D12	18	T15+W120+D36	27	T20+W150+D24

注:“T10、T15、T20”表示引发温度为10℃、15℃、20℃;“W90、W120、W150”表示加水量为种子初始质量的90%、120%、150%;“D12、D24、D36、D48”表示引发时间为12、24、36、48 h。

Note: “T10, T15, T20” indicates seeds priming at 10 ℃, 15 ℃, 20 ℃, respectively; “W90, W120, W150” indicates water addition of 90%, 120%, 150%, respectively original seed weight; “D12, D24, D36, D48” indicates priming time of 12, 24, 36, 48 h, respectively.

种子活力指数=(根长+苗长)/ $T_{50}$ 。其中,1/ $T_{50}$ 为萌发速率,即种子萌发率达到最终萌发率50%所需的时间的倒数。

#### 1.4 数据分析

采用SPSS 19.0进行方差分析,LSD法比较处理与对照的均值,Excel 2007制作图表。

## 2 结果

水引发对陇东苜蓿种子最终萌发率没有显著影响(图1),但普遍能够缩短种子最终萌发率达到50%的时间( $T_{50}$ ),提高萌发速率,并促进幼苗生长(图2、3)。27个引发处理中有11个处理显著提高了陇东苜蓿种子的萌发速率( $P<0.05$ )(图2),其中有12个处理显著增加了幼苗长(图3),18个处理显著提高了种子的活力指数( $P<0.05$ )(图4)。根据27个处理及对照的活力指数比较,筛选出最适合陇东苜蓿种子水引发的

条件为“T10+W90+D36”,即引发温度为10℃,加水量为90%,引发时间为36 h(图4)。经这一条件引发处理后,相比对照,其萌发率达50%的时间缩短了36%,苗长增加了45%,活力指数增加了114%。

在10℃引发时同一加水量条件下随着引发时间的增加,活力指数呈现先增加后下降的趋势,在36 h达到最大。在15℃引发时同一加水量条件下随着引发时间的增加,活力指数呈现先增加后下降的趋势,在24 h达到最大。在20℃引发时同一加水量条件下随着引发时间的增加,活力指数呈现增加的趋势(图4)。

## 3 讨论

引发的主要原理是使种子在控制条件下缓慢吸水,为萌发提前进行生理准备。因而,有效控制吸水,使其在吸胀过程中免受伤害是引发成功的关键。引发期间种子的吸水速率可通过引发的温度和引发基质的

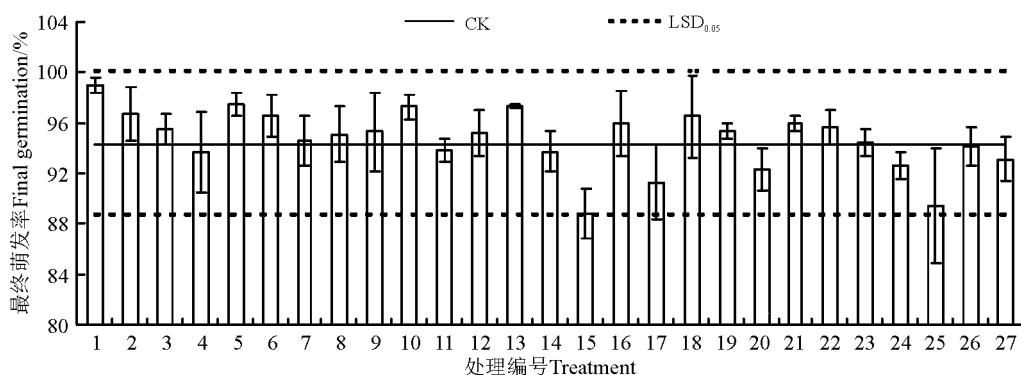


图1 不同水引发处理后陇东苜蓿种子的最终萌发率

Fig.1 Final germination percentage of *Medicago sativa* cv. “Longdong” seeds with different combinations of hydropriming conditions

注:图中柱子表示各处理均值。实线表示对照均值,虚线表示对照均值在0.05水平的置信区间。下图同。

Note: The columns within legend indicate the mean value of seeds with different hydropriming treatments, the solid line indicates the mean value of control, and the dashed lines indicate their confidence zone at 0.05 level. The same below.

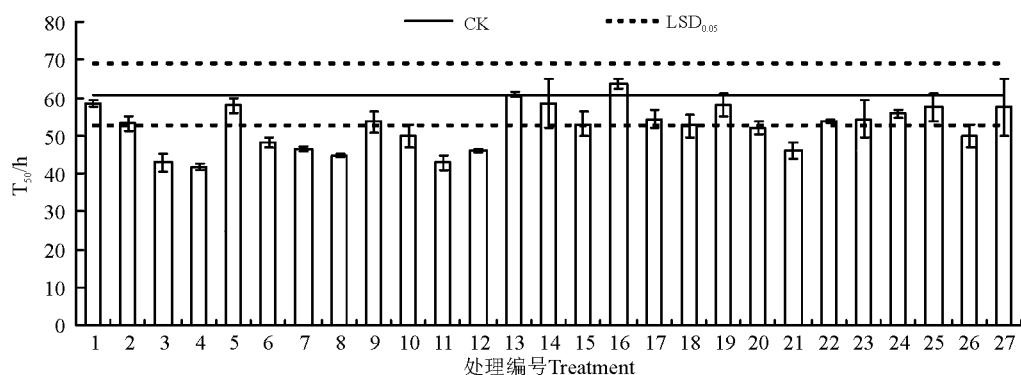


图2 水引发处理后陇东苜蓿种子最终萌发速率达50% ( $T_{50}$ ) 的时间

Fig.2 Final germination rate to 50% time ( $T_{50}$ ) of *Medicago sativa* cv. “Longdong” seeds with different combinations of hydropriming conditions

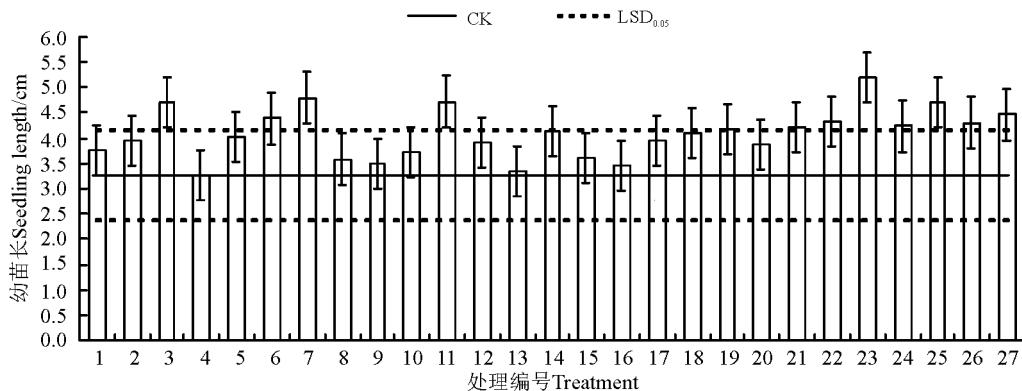


图3 水引发处理后陇东苜蓿种子的幼苗长

Fig.3 Seedling length of *Medicago sativa* cv. "Longdong" seeds with different combinations of hydropriming conditions

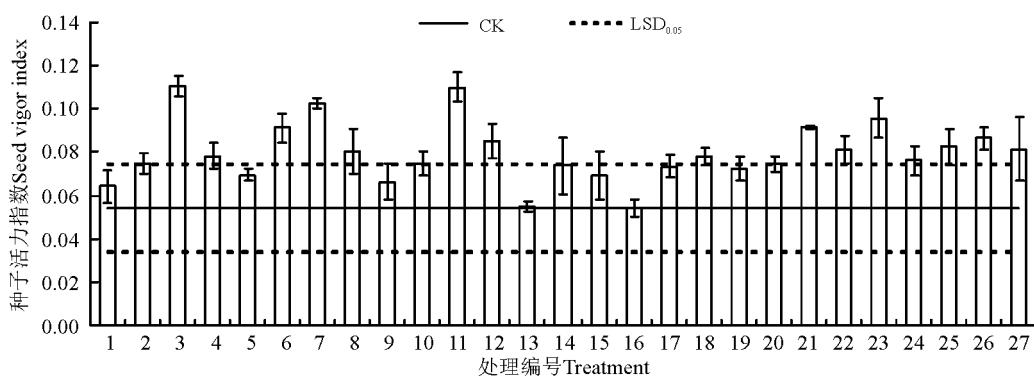


图4 水引发处理后陇东苜蓿种子的活力指数

Fig.4 Seed vigor index of *Medicago sativa* cv. "Longdong" with different combinations of hydropriming conditions

水势(加水量)来进行控制<sup>[12-13]</sup>。如适当低温可有效降低种子的吸水速率,而通过分批定量加水或者将种子置于不同水势的渗透液(如聚乙二醇)也可不同程度地控制种子的吸水速率<sup>[6,10]</sup>。与此一致,本研究发现,最适引发条件下的引发温度为10℃,加水量为90%,这可能与其较慢的吸水速率有关。

一般认为,15~20℃是大多数物种较为适宜的引发温度。温度过低引发效率会普遍下降,甚至会影响引发后种子的萌发,而温度过高则容易导致种子霉变<sup>[14]</sup>。Hardgree<sup>[12]</sup>对5种禾草的研究表明,在种子萌发的最适温度下进行引发处理效果最好。但也有研究认为,随引发温度的降低,种子吸水速率下降,可有效避免种子因吸水过快而产生的伤害,因而低温引发效果较好<sup>[16-18]</sup>。如在控制加水条件下,紫花苜蓿适宜的引发温度为5℃<sup>[11]</sup>。但值得注意的是,过低的引发温度易引起吸胀冷害,导致种子活力下降甚至死亡,如瓜尔豆(*Cyamopsis tetragonoloba*)10℃浸种处理后萌发率仅为2%<sup>[19]</sup>。也有研究发现,引发温度对种子的引发效果无显著影响<sup>[20]</sup>。这表明温度对于种子引

发效果的影响因素较为复杂。如较低的引发温度在一定程度上有助于种子休眠的释放,而较高的温度有可能诱导种子产生休眠等。在用无机盐引发西瓜种子时温度对于萌发率、出苗率以及萌发或出苗率达50%所需的时间无明显影响<sup>[20]</sup>。与此一致,本研究也发现,不管在什么温度条件下进行引发,都有可能促进或抑制种子的萌发,其关键在于多个因子的组合如引发时间与引发温度的组合。如在本研究中,较低的引发温度需要较长时间的引发方能取得较为理想的引发效果,而在较高温度上,长时间的引发不仅无助于种子质量的提升,甚至会损害种子的活力,如20℃引发36 h(数据未显示)。

引发时间是决定引发效果的关键因素之一,其通常与引发的温度、引发溶液的水势密切相关<sup>[15]</sup>。如在本研究中,达到最适引发效果的持续时间随引发温度的降低而升高。此外,针对不同的种子,其引发的最适时间也不同。如黑麦草(*Lolium perenne*)种子水引发10 d的效果最佳<sup>[21]</sup>;用30%PEG溶液引发沙打旺(*Astragalus adsurgens*)种子48 h的引发效果最好,

时间太短使引发效果不显著,而过长则出现了负效应<sup>[22]</sup>。与此一致,本研究中陇东苜蓿种子在10℃、加水量为90%的条件下水引发的最佳时间为36 h,过短或过长时间的引发都未见有明显的引发效果。

## 参考文献(References)

- [1] 曹宏,马生发,韩雍,陈正武.5个紫花苜蓿品种在陇东地区的引进筛选试验.草业科学,2014,31(9):1761-1766.  
Cao H, Ma S F, Han Y, Chen Z W. Introduction and selection of 5 alfalfa cultivars in Longdong Region. Pratacultural Science, 2014, 31(9): 1761-1766. (in Chinese)
- [2] Heydecker W, Higgins J, Gulliver R L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. Nature, 1973, 246: 42-44.
- [3] Rowse H R. Drum priming non-srnotic method of priming seeds. Seed Science and Technology, 1996, 24: 281-294.
- [4] Taylor A G, Klein D E, Whitlow T H. Solid matrix priming of seeds. Scientia Horticulturae, 1988, 37: 1-11.
- [5] Carpenter W J, Boucher J F. Priming improves high-temperature germination of pansy seed. HortScience, 1991, 26: 541-544.
- [6] Farooq M, Basra S M A, Saleem B A, Nafees M, Chishti S A. Enhancement of tomato seed germination and seedling vigor by osmopriming. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 2005, 42(3-4): 36-41.
- [7] 王彦荣.种子引发的研究现状.草业学报,2004,13(4):7-12.  
Wang Y R. Research situation of seed priming. Acta Prataculturae Sinica, 2004, 13(4): 7-12. (in Chinese)
- [8] 刘慧霞.紫花苜蓿种子水引发研究.兰州:兰州大学博士学位论文,2007.  
Liu H X. Reseach of alfalfa seed hydro-priming. PhD Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2007. (in Chinese)
- [9] 解秀娟,胡晋.沙引发对紫花苜蓿种子盐逆境下发芽及幼苗生理生化变化的影响.种子,2003(4):5-6.  
Xie X J, Hu J. Effect of sand priming on seed germination and physiological and biochemical changes of alfalfa in salt stresss. Seed, 2003(4): 5-6. (in Chinese)
- [10] 邓蓉,张定红.种子引发处理对紫花苜蓿种子萌发和幼苗生长特性的影响.四川畜牧兽医,2008(1):24-25.
- [11] 刘慧霞,王彦荣.水引发对紫花苜蓿种子萌发及其生理活动的影响.草业学报,2008,17(4):78-84.  
Liu H X, Wang Y R. Effect of hydro-priming on seed germination and physiological activities in *Medicago sativa*. Acta Prataculturae Sinica, 2008, 17(4): 78-84. (in Chinese)
- [12] Hardgree S P. Optimization of seed priming treatments to increase low-temperature germination rate. Rangeland Manage, 1996, 49: 87-92.
- [13] 阮松林,薛庆中.植物的种子引发.植物生理学通讯,2002,38(2):198-202.  
Ruan S L, Xue Q Z. Plant seed priming. Plant Physiology Communications, 2002, 38(2): 198-202. (in Chinese)
- [14] 赵玥,辛霞,王宗礼,卢新雄.种子引发机理研究进展及牧草种子引发研究展望.中国草地学报,2012,34(3):102-107.  
Zhao Y, Xin X, Wang Z L, Lu X X. Research progress and progress and prospects in the mechanism of seed priming. Chinese Journal of Grassland, 2012, 34(3): 102-107. (in Chinese)
- [15] Khan A A. Preplant physiological seed conditioning. Horticultural Reviews, 1992(13):131-181.
- [16] Heydecker W, Higgins J, Turner Y J. Invigoration of seeds. Seed Science and Technology, 1975(3):881-888.
- [17] 傅家瑞.种子生理.北京:科学出版社,1985:335-375.  
Fu J R. Seed Physiology. Beijing: Science Press, 1985: 335-375. (in Chinese)
- [18] Fujikura Y, Kraak H L, Basra A S, Karssen C M. Hydropriming, a simple and inexpensive priming method. Seed Science and Technology, 1993, 21: 639-642.
- [19] 郑光华.种子生理学.北京:科学出版社,2004.  
Zheng G H. Seed Physiology. Beijing: Science Press, 2004. (in Chinese)
- [20] Demir I, Oztokat C. Effect of salt priming on germination and seedling growth at low temperatures in watermelon seeds during development. Seed Science and Technology, 2003, 31(3): 765-770.
- [21] Robert S G, Kathryn J S, Andrew D C. Alleviation of dormancy in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) seeds by hydration and after-ripening. Weed Science, 2004, 52: 968-975.
- [22] 韩蕊莲,侯庆春,邹厚远.用PEG引发沙打旺种子活力及抗逆性的研究.草业科学,1993,10(6):60-63.  
Han R L, Hou Q C, Zou H Y. Study of the vitality and resistance on PEG priming seed of *Astragalus adsurgens*. Pratacultural Science, 1993, 10(6): 60-63. (in Chinese)

(责任编辑 武艳培)