

# 露白引发对黑籽南瓜种子萌发整齐度的影响研究

赵倩, 张涵, 黄曦, 刘理顺, 刘相静, 肖贺丹, 刘春香\*

潍坊学院, 山东 潍坊

Email: \*chunxiangliu@126.com

收稿日期: 2021年6月21日; 录用日期: 2021年7月23日; 发布日期: 2021年7月30日

## 摘要

嫁接是瓜类蔬菜克服土传病害、提高抗逆性的有效方法, 生产上广泛采用嫁接的方法进行黄瓜生产, 黑籽南瓜种子是广泛应用的瓜类砧木种子。嫁接要求砧木幼苗整齐一致, 本研究通过引发黑籽南瓜种子至刚露白再回干, 并通过露白时间早晚调整播期来提高幼苗的整齐度。研究发现, 引发超过最佳时间到种子裂口或露白并未显著影响种子再次萌发和幼苗生长, 露白引发后可以剔除不发芽种子, 确保播种幼苗发芽率达98%以上; 通过晚露白的提前播种, 早露白的延后播种的分批播种方式, 与正常播种相比, 可以使发芽结束时黑籽南瓜幼苗的苗高和茎粗更均匀, 更符合嫁接要求。通过引发种子的电导率检测发现, 露白引发并未显著影响种子的电导率。综上, 露白引发结合分批播种可以显著提高幼苗的整齐度, 对种子的成苗率也可以有较为准确的估算, 是解决发芽不整齐的有效方法。

## 关键词

露白引发, 整齐度, 黑籽南瓜

## Study of Breaking through a Priming Affecting Seedling Uniformity on *Cucurbita ficifolia* Seeds

Qian Zhao, Han Zhang, Xi Huang, Lishun Liu, Xiangjing Liu, Hedan Xiao, Chunxiang Liu\*

Weifang University, Weifang Shandong

Email: \*chunxiangliu@126.com

Received: Jun. 21<sup>st</sup>, 2021; accepted: Jul. 23<sup>rd</sup>, 2021; published: Jul. 30<sup>th</sup>, 2021

\*通讯作者。

文章引用: 赵倩, 张涵, 黄曦, 刘理顺, 刘相静, 肖贺丹, 刘春香. 露白引发对黑籽南瓜种子萌发整齐度的影响研究[J]. 植物学研究, 2021, 10(4): 587-594. DOI: 10.12677/br.2021.104073

## Abstract

Grafting is an effective method for melon vegetables to overcome soil-borne diseases and improve their resistance to stress. Grafting is widely used in the production of cucumbers, and the *Cucurbita ficifolia* is widely used in cucumber rootstock. Grafting requires size uniformity of rootstock seedlings matching scions. In this study, the uniformity of seedlings was improved by priming the seeds of *Cucurbita ficifolia* when they were just exposed radicle, and by adjusting the sowing date by seed breaking testa time sooner or later. The results show that the seed germination and seedling growth were not significantly affected by the seed priming to seed dehiscence or breaking through testa. The seed germination rate could be more than 98% after breaking through testa priming. Compared with normal sowing, the seedling height and stem diameter of *Cucurbita ficifolia* can be more uniform at the end of germination and more in line with grafting requirements through the method of sowing in advance for germinate late seeds and sowing delay for early germinate seeds, compared with the method of sowing at the same time. It was found that the electrical conductivity of the seeds was not significantly affected by breaking through testa priming. In conclusion, the combination of breaking through test priming and sowing seperately can significantly improve the uniformity of seedlings and provide a more accurate estimation of the seedling formation rate of seeds, which is an effective method to solve the irregular germination.

## Keywords

Breaking through Test a Priming; Uniformity, *Cucurbita ficifolia*

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

嫁接广泛存在于蔬菜生产栽培中,通过嫁接可以增强植株抗病和植株耐低温能力、有利于克服连作危害、扩大根系吸收范围和能力、有利于提高产量[1]。目前生产上常用的黄瓜嫁接砧木黑籽南瓜、茄子嫁接砧木托鲁巴姆,西瓜嫁接砧木葫芦等由于种皮较厚,有一定的野生性等,常常发芽不够整齐,萌发持续时间较长,导致幼苗大小不够一致,部分砧木与接穗大小配比失调。生产中经常出现出苗不齐或幼苗质量较差而重新补播的现象,从而错过接穗和砧木的最佳嫁接时期,直接影响嫁接苗质量,砧木幼苗质量差和接穗出苗不齐(不出苗)对嫁接的影响尤为严重[2]。

种子引发(seed priming)是一项控制种子缓慢吸水以达到出苗迅速、整齐的播前种子处理技术,也称种子的渗透调节(osmotic conditioning)。其原理是在控制条件下使种子缓慢吸水,通过萌发初始阶段但胚根尚未突破种皮,从而为种子萌发作好生理准备[3],最早由 Herdecke 等(1973)提出[4]。大量研究表明,引发后的种子活力强,抗逆性强,耐低温,出苗快而整齐,成苗率高[5]。研究发现,种子引发通过调节水分关系、渗透调节物质积累和脂质过氧化等提高种子活力和对逆境的抵抗。引发可使植物能快速提高有效对抗不同压力的能力[6],与此同时,引发可以启动形成不同的种子抵御盐胁迫的防御机制[7]。查昱等人研究发现,通过水引发可有效解决生产中垂穗披碱草种子萌发率低、出苗不齐等问题[8]。现在美国的种子公司已有了芸薹属、胡萝卜、芹菜、茄子、莴苣、洋葱、辣椒、番茄和西瓜等引发种子的销售。引

发 + 丸粒化能显著加快油菜种子萌发出苗进程, 缩短平均发芽时间、平均出苗时间[9]。水浸处理比渗透压处理更能有效地提高菠菜幼苗的长寿率[10]。一些研究发现短时间的处理, 如玉米种子浸种 4 h 后回干, 其发芽势、发芽率与对照相比均无显著差异[11]。

露白引发是指将种子缓慢吸胀到种皮刚刚裂口的阶段停止吸水, 开始回干, 使其保留在待发芽阶段。前人的经验表明最佳的种子引发回干时间是种子露白前 5~6 h, 露白引发属于过度引发, 但这种过度引发可以观察到种子的发芽潜力, 对种子的分类处理非常便利, 研究认为小麦种子过度引发后贮藏 30 d 依然可以继续发芽和生长[12]。

目前不断有新型的农业机械问世, 幼苗生产加工已经逐步走向机械化, 已有相关研究设计出了自动化嫁接装置[13]。如果露白引发对改善砧木播种质量有优势, 有望结合引发机械和嫁接机械来改善瓜类嫁接生产中的出苗不整齐问题, 显著提高育苗过程的可控性, 解决砧木与接穗大小配比失调的问题, 有利于实现嫁接的产业化。因此, 本研究欲探索露白引发是否适于黑籽南瓜的播种育苗。

## 2. 材料与方 法

试验于 2020 年 9 月~2021 年 4 月在潍坊学院生物与农业工程学院生物技术实验室进行。包括种子萌发试验; 露白引发与分选; 回干后再播种; 种子活力测定。

### 2.1. 实验材料

黑籽南瓜(寿光欣欣然园艺有限公司); 发芽滤纸; 发芽盒; 乙醇 75%; 次氯酸钠 2%。

### 2.2. 露白引发与分选

水引发可以有效促进种子发芽, 提高种子的发芽率[14]。本实验采用水引发的方法对种子进行萌发试验。黑籽南瓜种子 1000 粒, 75%乙醇浸泡, 蒸馏水冲洗 3 次; 2%次氯酸钠浸泡 1 min, 蒸馏水冲洗 3 次。按照正常发芽条件进行引发, 每盒 100 粒。16 h 后每隔 3 h 对引发种子进行挑选, 至第 7 d 停止。凡裂口或萌芽的种子均停止引发, 于室温下进行回干, 回干到与干种子每百粒重(x)  $\pm$  0.06 g 为标准, 在湿度适宜的房间回干, 回干时间约 3 d。

引发停止的时间标准参考图 1, 当引发中的种子刚刚裂口时, 可通过裂口观察到白色的胚, 未露白种子在种子各面均无法观察到种胚; 裂口露白的种子, 在种子的可萌芽的位置可见裂口与种皮内白色的胚, 此时胚根还未伸出种皮; 萌芽露白是种子胚根突破种皮, 已萌芽, 如图 1 右边的种子。本实验每 2 h 选取一次, 因此, 70%以上的种子在裂口露白期, 另有少量种子处于萌芽露白期。



Figure 1. Seed map of *Cucurbita ficifolia* with different degree of whiteness

图 1. 不同露白程度黑籽南瓜种子图

### 2.3. 发芽试验方法

试验对照组为未经引发处理的干种子, 简称为 CK; 处理 1 为一次性混合播种露白回干的种子, 简称为一次性; 处理 2 为分批播种露白回干的种子, 简称为分批。75%乙醇浸泡, 蒸馏水冲洗 3 次; 2%次氯酸钠浸泡 1 min, 蒸馏水冲洗 3 次。发芽试验设置 4 个重复, 每个样品 100 粒, 引发组将引发结束时未裂口或露白的种子剔除后以备用种子补齐至 100 粒。按照《农作物种子的发芽技术规定》, 选用折褶纸发芽床, 发芽计数天数为 8 d [15], 期间用无菌水保持其湿润。在光照 16 h, 25℃; 黑暗 8 h, 20℃进行培养。在发芽过程中, 每天定时观察、记录种子发芽情况, 并以无菌水以保持发芽床湿润, 试验结束时计算发芽率(germination percentage, GP)。两周时计算苗高和茎粗。

### 2.4. 分批播种处理

处理 2 不是一次性播种, 分批进行, 即先露白后播种, 后露白先播种。第一批播种第 7 d、8 d 露白的种子; 第二批播种第 5 d、6 d 露白的种子; 第三批播种第 3~4 d 露白的种子; 第四批播种第 1~2 d 露白的种子; 每批间隔 12 h。分批播种法的总时长为 2 d。

### 2.5. 数据计算

发芽率 = (发芽试验结束时正常幼苗总数/供试种子总数) × 100% [15]。

数据录入和整理分析采用 Microsoft Excel 2016 软件、IBM SPSS Statistics 25.0 软件。

### 2.6. 电解质渗漏检测

电解质渗漏率测定通过电导法进行。将 25 粒黑籽南瓜种子称重, 加入 125 mL 无菌水, 置于加盖锥形瓶内, 于 22℃恒温箱中浸泡 24 h。以无菌水作空白, 测得空白电导率  $S_0$ , 测量种子浸出液电导率  $S_1$ , 再将锥形瓶置于加热器上, 将种子浸出液煮沸, 冷却后测电导率值  $S_2$ 。电导率电导率( $\mu S \cdot cm^{-1} \cdot g^{-1}$ ) =  $(S_1 - S_0)/m$ ; 相对电导率 =  $(S_1 - S_0)/(S_2 - S_0) \times 100\%$ 。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 种子标准发芽试验结果分析

黑籽南瓜种子的标准发芽测试结果见表 1, 该种子批的平均发芽率为 91%。实验证明该批种子的发芽率符合国家标准要求, 也符合后期露白引发实验对种子的要求。露白引发后回干的种子平均发芽率为 98%, 说明引发到露白的种子再次回干, 多数都能继续发芽, 但也会有个别种子不发芽, 不能确保 100% 的发芽率。通过露白引发可以剔除约 7%~9% 的不发芽种子。

**Table 1.** Experimental results of standard germination of *Cucurbita ficifolia*

**表 1.** 黑籽南瓜种子的标准发芽实验结果

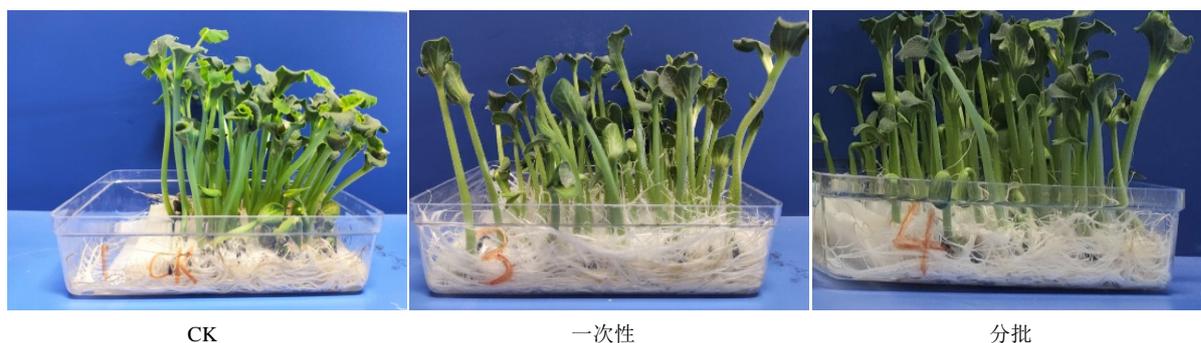
处理 treatment	百粒重/g 100 grain Weight	发芽率/% Germination rate
CK control	20.52	91
Breaking through test a Prinning	20.53	98

注: 未露白种子没参与发芽试验。

### 3.2. 不同处理下黑籽南瓜幼苗的外观整齐度比较

通过形态观察(图 2), CK 出苗不整齐, 苗高整体差距较大, 高矮不一; 一次性播种的南瓜种子幼苗

在形态学上整齐度并没有明显的改善；而相对于对照组，分批播种的出苗比较集中，且整齐一致，苗高差距较小，刚萌发的小苗几乎没有，整齐度有明显的提高。由此可见，露白引发结合分批播种，在一定程度上提高了种子萌发和生长的整齐度。



**Figure 2.** Morphological observation on the growth of pumpkin seedlings under different treatments  
**图 2.** 不同处理下南瓜幼苗长势的形态学观察

### 3.3. 不同处理下黑籽南瓜的株高、茎粗均值比较

本实验幼苗苗高的测量数据为第一片真叶至根部的距离。从表 2 可以看出不同处理间苗高生长存在着一定的差异，引发组普遍比对照苗高、茎粗均值大，因苗高差异较大，因此统计上未达到显著差异；茎粗变异范围较小，因此不同处理间达到显著( $P < 0.05$ )差异，其中分批播种按照平均播种日期计算，比其他两组的数据都大，说明露白引发在选择可萌发种子的前提下，又调整了生长速度，通过对活力差的早播种，活力高的晚播种，使幼苗的平均茎粗有显著提高。

**Table 2.** Effects of different treatments on seedling height and stem diameter of *Cucurbita ficifolia*  
**表 2.** 不同处理对南瓜幼苗苗高、茎粗的影响

处理 treatments	苗高 Seedling height/cm	Seedling diameter/mm
分批 sowing by stage	5.813a	4.152a
一次性 sowing at the same time	5.803a	3.891b
CK control	5.484a	3.385c

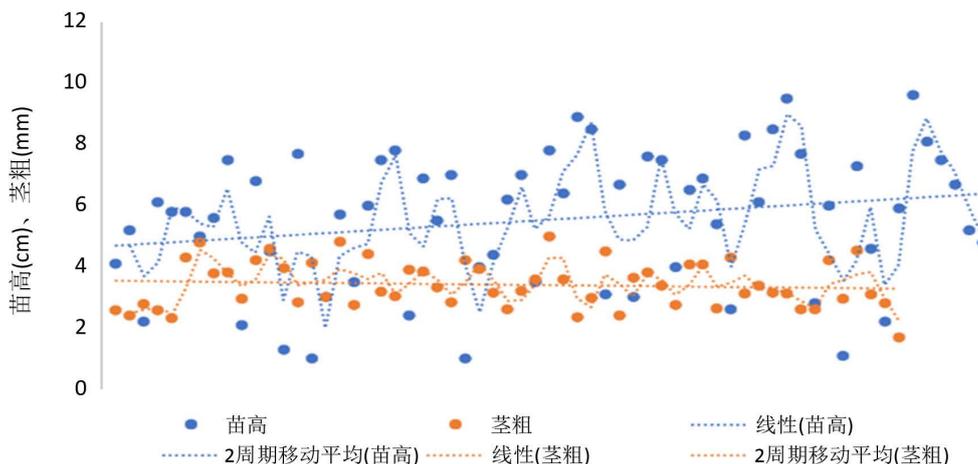
注：不同字母表示不同处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

### 3.4. 不同处理下黑籽南瓜的株高、茎粗整齐度的比较

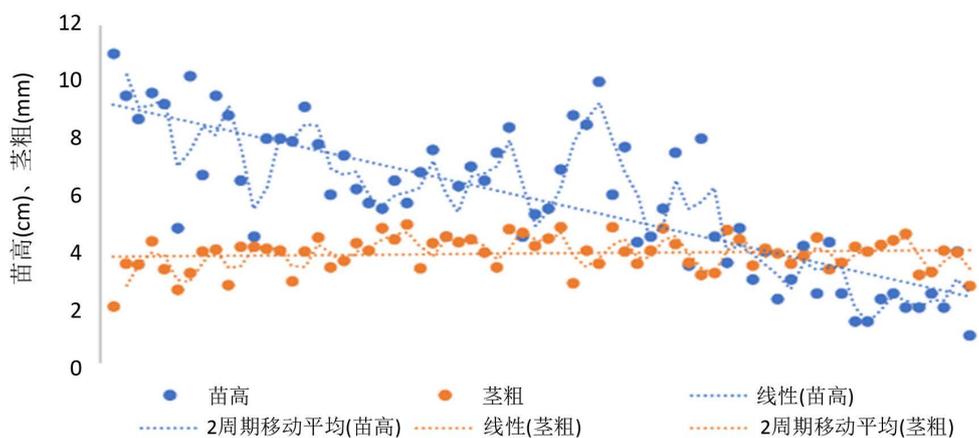
砧木幼苗直径的统一性是改善砧木与接穗大小配比的关键，也是嫁接机械化的前提条件。从图 3~图 5 中可以看出，对照组(图 3)种子幼苗直径的离散程度最大；引发后一次性播种(图 4)处理下南瓜离散程度比 CK 低；分批播种处理下(图 5)南瓜幼苗直径的生长基本处于同一线性水平，离散程度最小；与对照比，苗高离散程度也有减小趋势。说明单纯的露白引发仅能提高种子的萌发率，并不能显著改善幼苗间大小的差异；分批播种与露白时间呈反向时间梯度进行，通过萌发时间的调节可以基本实现幼苗茎粗的整齐一致，但苗高的差异还是存在的。

### 3.5. 不同处理下种子的电解质渗漏率

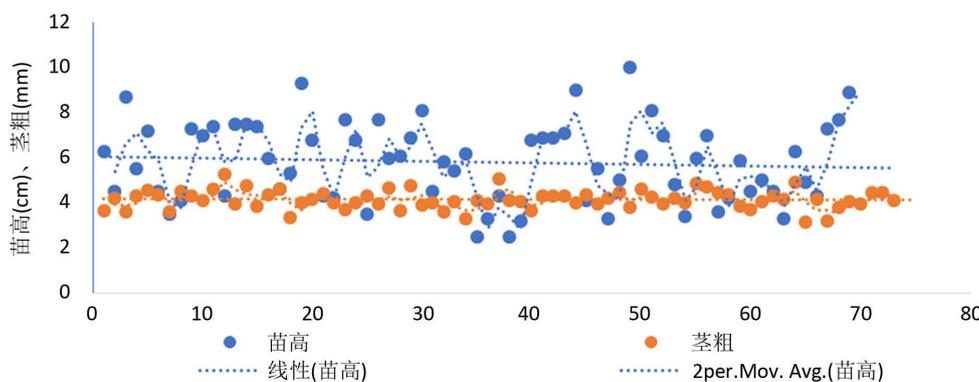
引发至种子露白已经超过了引发的最佳时期，属于过度引发，种子的发芽试验也发现偶尔会有杂菌污染现象，因此，拟通过电导率试验检测种子质膜透性水平是否有明显变化，由表 3 可知，经过露白引



**Figure 3.** Scatter plot of seedling height and stem diameter of *Cucurbita ficifolia* seedlings of the control  
**图 3.** 对照组黑籽南瓜幼苗苗高、茎粗散点图



**Figure 4.** Scatter plot of seedling height and stem diameter of *Cucurbita ficifolia* seedlings sowing at the same time  
**图 4.** 一次性播种组黑籽南瓜幼苗苗高、茎粗散点图



**Figure 5.** Scatter plot of seedling height and stem diameter of *Cucurbita ficifolia* seedlings sowing by stages of exposure  
**图 5.** 分批播种组黑籽南瓜幼苗苗高、茎粗散点图

发处理的黑籽南瓜种子无论是相对电导率，还是测定的电导率值与对照相比均有提高，但未达到统计显著水平，说明种子经过露白引发处理虽然会对种子的膜透性产生影响，但影响并不显著。

**Table 3.** Electrical conductivity of pumpkin seeds under different treatments  
**表 3.** 不同处理下南瓜种子电导率

处理 treatments	电导率( $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )	相对电导率
CK	4.61	52.26%
露白引发 priming	4.89	53.34%

## 4. 讨论

不同的嫁接方式对砧木、接穗苗要求不同,无论哪一种嫁接方式都要求砧木符合预期的大小,便于嫁接。由此可见,苗高在一定程度上影响着嫁接的成活率,但主要还是直径的粗度。当南瓜子叶全展、真叶初展,黄瓜子叶全展、真叶半展时嫁接[15]比较适宜。生产上黄瓜的种子一般发芽比较整齐一致,而南瓜种子的发芽则早晚持续时间较长,从而使部分砧木和接穗的搭配不适宜。通过露白引发可以初步掌握种子是否能发芽,本实验中露白的种子有 98%最终长成正常幼苗,从而使生产者对砧木数量的控制心中有数。

Khan Mohammad Nauman 等人提出,种子引发提高了正常和不利环境条件下作物的产量和质量,这可能与引发压力记忆有关[16]。露白后回干与种子引发处理的原理近似,由于回干会促进种子接受逆境信号,暂停萌发,并做好抵抗逆境的各种生理准备,因此对种子是有利的,而胚根、胚芽等组织如果明显伸出种子,则伸出种子的部分脱水耐性将迅速丧失,因此,露白的程度应该是越低越好,裂口状态好于胚根突破种皮的状态。小麦的研究表明胚根伸出种皮后对种子二次萌发影响并不大,且存放时间可以持续 30 d 依然发芽良好[12]。引发后的种子不耐贮藏,因此,露白引发后应及时播种,一旦存放时期延长,反而会降低发芽效果。种子萌发是持续的,如果采用人工进行挑选,则所花费的时间与效益是不成比例的,不推荐采用此处理,但现在是机械化的时代,有了可靠的原理后,可以通过机械化精准控制裂口种子的分拣,从而提高效率。机械化后不仅应用于黄瓜砧木的整齐度的提高,其他园艺植物的种子也可以探索应用的可行性。所以露白引发试验在提高种子萌发的整齐度上来说是有价值的。

报道认为,脱水速度对种子的影响较为显著[17],因本研究没有合适的精确控湿条件,因此,未进行回干脱水速度的研究,从秋、冬不同季节的研究结果可知,秋季的结果远好于冬季,因而推测湿度会影响回干速度,从而影响种子再次萌发的活力。

种子的发芽速度越快,活力越高,发芽越慢,则活力也越低[18],从而会导致越晚发芽的长得越慢,从而拉大苗与苗间的差距。露白引发可以检测发芽的快慢,分批播种则可以把活力低、长得慢的提前播种,活力高、发芽快的晚播种,到发芽结束期或应用时使所有幼苗都保持比较均衡的苗粗。整齐度是砧木生产的重要指标,本实验成功调整了种子的萌发时间,实现了南瓜砧木种子萌发的整齐一致。

有关实验表明,水引发可不同程度地降低种子的相对电导率,这表明水引发处理能修复损伤的细胞膜,降低细胞质物质的渗漏,可一定程度上提高种子的抗性[19]。萌发后干旱逆境则使幼苗的电导率升高;露白引发掌握在两个效果之间,本研究发现露白引发后回干的种子电导率升高并不显著,说明在掌握好回干时间点,短期内并不会显著影响细胞膜透性水平。

## 基金项目

山东省大学生创新项目(S202011067013);山东省自然科学基金(ZR2014JL017)。

## 参考文献

- [1] 周士刚. 蔬菜嫁接育苗需注意哪些问题[N]. 河北科技报, 2011-10-25(B05).

- [2] 刘爱群, 李春艳, 赵丽丽, 王国政, 赵越. 黄瓜插接法嫁接育苗易出现的问题及相应技术调控[J]. 园艺与种苗, 2013(4): 9-11.
- [3] 马瑞霞, 王彦荣. 种子水引发的研究进展[J]. 草业学报, 2008, 17(6): 143-149.
- [4] Becerra-Vázquez, Á.G., Coates, R., Sánchez-Nieto, S., Reyes-Chilpa, R. and Orozco-Segovia, A. (2020) Effects of Seed Priming on Germination and Seedling Growth of Desiccation-Sensitive Seeds from Mexican Tropical Rainforest. *Journal of Plant Research*, **133**, 855-872. (Prepublish) <https://doi.org/10.1007/s10265-020-01220-0>
- [5] 姚东伟, 吴凌云, 沈海斌, 田守波, 李明. 种子引发技术研究与应用进展[J]. 上海农业学报, 2020, 36(5): 153-160.
- [6] 罗先洋. 水引发对猕猴桃种子萌发和幼苗生长的影响[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽农业大学, 2020.
- [7] Miladinov, Z., Maksimovic, I., Balesevic Tubic, S., Djukic, V., Canak, P., Miladinovic, J. and Djordjevic, V. (2020) Priming Seed Mitigates the Effects of Saline Stress in Soybean Seedlings. *Legume Research*, **43**, 263-267. <https://doi.org/10.18805/LR-469>
- [8] 查昱, 张宗豪, 徐海峰, 刘欣, 李玉玲, 李秀璋. 水引发对垂穗披碱草种子萌发及幼苗生长的影响[J/OL]. 东北农业科学: 1-7. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1376.S.20210507.1713.012.html>, 2021-05-15.
- [9] 张琛. 种子引发与丸粒化对油菜萌发及生长发育的影响[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
- [10] Malek, M., Ghaderi-Far, F., Torabi, B., Sadeghipour, H.R. and Hay, F.R. (2019) The Influence of Seed Priming on Storability of Rapeseed (*Brassica napus*) Seeds. *International Seed Testing Association*, **47**, 87-92. <https://doi.org/10.15258/sst.2019.47.1.09>
- [11] 向莹莹, 李浩卓, 张婷婷, 王建华, 孙群. 电导率法早期检测玉米和小麦种子活力[J]. 中国农业大学学报, 2020, 25(6): 12-19.
- [12] 刘春香, 刘军禄, 黄明杰, 孙建福, 刘长林. 萌发后回干对种子耐贮藏性和再萌发的影响研究[J]. 植物学研究, 2018, 7(3): 294-304.
- [13] 寇雷. 适用不同直径配比的自动化硬枝嫁接装置设计[D]: [硕士学位论文]. 保定: 河北农业大学, 2021.
- [14] 王文恩, 孟盛旺, 张莎, 张冬丽, 陈功. 水引发和非生物胁迫对多花木蓝种子萌发的影响[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(5): 180-184.
- [15] 李志宇, 杨明攀, 杨春燕, 梅柱华. 不同引发回干处理对滇龙胆种子萌发的影响[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(6): 1480-1484.
- [16] 王爱民, 邹瑞昌, 鞠丽萍, 杜纪艳. 常见蔬菜嫁接育苗及栽培关键技术[J]. 长江蔬菜, 2020(23): 37-40.
- [17] 刘忠奇, 贺记外, 张海清, 刘爱民. 植物种子脱水耐性的研究现状分析与展望[J]. 中国农学通报, 2020, 36(2): 36-41.
- [18] 胡晋. 种子检验学[M]. 北京: 科学出版社, 2018: 188-190, 223.
- [19] Khan, M.N., Khan, Z., Luo, T., Liu, J., Rizwan, M., Zhang, J., Xu, Z., Wu, H. and Hu, L. (2020) Seed Priming with Gibberellic Acid and Melatonin in Rapeseed: Consequences for Improving Yield and Seed Quality under Drought and Non-Stress Conditions. *Industrial Crops & Products*, **156**, Article ID: 112850. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112850>