

琼脂发芽床在水稻种子发芽试验中的应用

余亚莹¹ 段永红¹ 陈 灵² 王 青²

(¹ 湖南省水稻研究所,长沙 410125; ² 湖南省湘种检验检测有限公司,长沙 410125)

摘要:以3种常规水稻种子作为材料,使用滤纸发芽床和3g/L、6g/L、10g/L、15g/L、20g/L 5种琼脂浓度发芽床作为介质,测定并分析种子的发芽势、发芽率、不正常苗率、第7天芽长、第7天根长等指标。结果发现,发芽率测定时不同浓度琼脂发芽床与滤纸发芽床无显著差异,可以使用琼脂发芽床替代滤纸发芽床,且以3~10g/L浓度最佳;琼脂发芽床上发芽的水稻幼苗根系显著优于滤纸发芽床,在培养健壮幼苗时可以选用10~15g/L浓度的琼脂发芽床。

关键词:水稻;种子;琼脂;发芽床

发芽率是衡量种子质量最重要的指标之一,发芽率测定广泛运用于种子质量检验、种子活力研究、种质资源保存与监测中,是否能准确测定种子发芽率直接影响种子的贮藏、销售、使用、报废。同时,发芽率指标对播种量确定、种子包装仓储、种子等级划分和商品种子价格制定等都具有重要意义^[1]。影响种子发芽率的主要原因有水分、光照、温度等外部原因,种子成熟度、种子含水量、种子休眠等内部因素及发芽期间的管理等人为因素^[2]。在发芽率测定过程中,几乎所有种子都需要一个湿润但未被淹没的水分条件,但是随着种子吸水萌发,水分的控制是发芽试验测定过程中一个很难定量的过程。

琼脂广泛应用于植物组织培养和细菌培养,可以为微生物和细胞提供固态的介质和充足的水分,在水稻愈伤组织培养、转基因育苗中已广泛运用。同时,有研究者使用琼脂发芽床代替纸床用于烟草、牧草、野生林木种子的萌发试验。李振华等^[3]采用琼脂床代替纸床检测烟草种子发芽势和发芽率,3个品种3种类型种子发芽势和发芽率与传统纸床检验结果均无显著差异($p < 0.05$)。张鑫等^[4]研究表明,发芽基质对垂柳种子发芽率具有显著的影响,滤纸发芽床和琼脂培养基显著好于人工基质。

本研究选用3种常规水稻品种,按照GB/T 3543.4-1995^[5]要求,研究滤纸发芽床、不同琼脂浓度发芽床对水稻种子萌发的影响,为使用琼脂床替代滤纸发

芽床提供理论依据,并找到最适宜作为发芽床的琼脂浓度,为水稻种子萌发试验提供快速有效的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料 本试验选用无休眠的3个常规品种天龙1号、湘早籼45号、创宇9号,试验用种为2018年收获的新鲜饱满、无霉变、无明显萌发的种子,初始含水量小于13%。材料均由湖南省农作物种质资源库提供。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 本试验以GB/T 3543.4-1995《农作物种子检验规程-发芽试验》中水稻种子纸上法(TP)作为对照,设置3g/L、6g/L、10g/L、15g/L、20g/L 5个不同琼脂浓度的发芽床作为试验组,每个品种试验组和对照一共6个水平,每个水平设4次重复,每个重复50粒种子。

1.2.2 发芽床制备 使用17cm×12cm×4cm的一次性透明塑料盒作为琼脂发芽床的容器,根据不同浓度配比称取相应重量的琼脂粉溶于纯净水中,加热至琼脂粉完全溶解,待溶液无色透明后,每个一次性盒子中倒入100mL溶液,静置5min待琼脂完全凝固冷却后即可。纸床使用两层湿润的发芽滤纸平铺于发芽盒内即可。

1.2.3 试验实施 将每个重复50粒种子均匀撒播在发芽床上,并以喷雾形式少量喷施水分于种子表面,盖上盒盖,放入人工气候箱,人工气候箱条件设定为恒温30℃,8h光照,环境相对湿度70%。对照纸床从种子萌动开始,每天喷施适量水分。

1.2.4 数据记录和计算 根据GB/T 3543.4-1995

基金项目:湖南省自然科学基金(2018JJ3304);国家生物种业技术创新中心前期培育项目(2018XK2005)

通信作者:段永红

《农作物种子检验规程—发芽试验》中正常苗、不正常苗的要求,第4天和第7天记录正常发芽数,第7天记录不正常苗数和死种子数,同时第7天在每个重复中选取10株正常苗量取根长和芽长,作为种子发芽幼苗质量的评判依据。以剔除死种子的数量作为试验种子总数,发芽势(%)=第4天正常发芽数/试验种子总数,发芽率(%)=7天总正常发芽数/试验种子总数,不正常苗率(%)=总不正常苗数/试验种子总数。

1.2.5 数据处理 所得试验数据采用DPS和Excel 2010进行统计分析,并对不同处理间进行显著性检验,显著性分析使用TUKEY法。

2 结果与分析

2.1 不同琼脂浓度发芽床对水稻种子发芽的影响

采用不同琼脂浓度发芽床和纸床对3个不同水稻品种的发芽势、发芽率、不正常苗情况统计结果见表1。从表1中可以看出,不同浓度发芽床对这3个水稻品种发芽的影响主要是对发芽势的影响,天龙1号和创宇9号的发芽率和不正常苗率无显著性差异,湘早籼45号中不同琼脂浓度间发芽率和不正常苗率无显著性差异,但与对照间存在显著性差异。

表1 不同琼脂浓度发芽床上种子发芽情况统计

品种	琼脂浓度 (g/L)	发芽势 (%)	发芽率 (%)	不正常幼苗率 (%)
天龙1号	CK	97.0±1.2a	99.5±1.0	0.5±1.0
	3	90.5±3.4ab	99.5±1.0	0.5±1.0
	6	96.5±1.0a	99.0±1.2	1.0±1.2
	10	99.0±1.2a	99.0±1.2	0.5±1.0
	15	97.5±3.0a	99.5±1.0	0.0±0.0
	20	85.0±8.1b	99.5±1.0	0.5±1.0
湘早籼45号	CK	84.5±3.0ab	93.2±2.7b	4.7±2.0a
	3	77.5±9.3b	98.1±2.5a	0.0±0.0b
	6	88.0±5.7a	97.8±1.9ab	0.0±0.0b
	10	87.0±4.2a	98.4±2.0a	1.1±1.3b
	15	88.0±5.4a	97.9±1.7ab	1.6±2.0ab
	20	86.0±1.6ab	100.0±0.0a	0.0±0.0b
创宇9号	CK	75.5±5.3b	93.6±4.8	3.2±2.8
	3	78.5±4.7ab	93.0±1.2	3.2±1.7
	6	83.5±3.4ab	94.3±3.3	3.1±1.9
	10	87.5±3.4a	96.4±3.5	1.1±1.2
	15	79.0±3.5ab	94.7±3.6	2.6±1.6
	20	79.5±3.0ab	96.9±1.1	1.0±1.2

不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同

2.2 不同琼脂浓度发芽床对水稻种子发芽幼苗质量的影响 统计水稻种子发芽第7天的根长和芽长,并对3个品种6个水平的根长和芽长进行方差分析,结果见表2、表3。由表2中结果可知,品种间 F 值为7.7028,处理间 F 值6.5214,说明芽长在品种间和处理间差异显著。由表3中结果可知,品种间 F 值为8.7256,处理间 F 值30.9091,说明根长在品种间和处理间差异显著。

对每个品种和处理的结果进行多重比较(表4),从表中结果可以看出,天龙1号、湘早籼45号的芽长在处理间无显著性差异,创宇9号的芽长对照显著优于所有琼脂发芽床,但不同琼脂浓度发芽床中的芽长无显著差异;根长在3个品种不同琼脂浓度发芽床中均有显著差异,所有处理中,除了湘早籼45号在6g/L、创宇9号在3g/L的琼脂发芽床上与对照无显著性差异外,其他处理的根长均显著优于对照。

表2 不同处理间芽长方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值
区组间	0.1257	3	0.0419	0.8512
品种间	0.9573	2	0.4786	7.7028*
处理间	2.0261	5	0.4052	6.5214*
品种×处理	0.6214	10	0.0621	1.2620
误差	2.5111	51	0.0492	
总变异	6.2416	71		

*代表在0.05水平上差异显著,下同

表3 不同处理间根长方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值
区组间	0.9216	3	0.3072	1.6465
品种间	7.6890	2	3.8445	8.7256*
处理间	68.0933	5	13.6187	30.9091*
品种×处理	4.4060	10	0.4406	2.3615*
误差	9.5155	51	0.1866	
总变异	90.6254	71		

2.3 水稻种子在不同琼脂浓度发芽床与滤纸发芽床发芽效果的比较 滤纸发芽床是GB/T 3543.4—1995《农作物种子检验规程—发芽试验》规定的TP(纸上法)采用方式,在表1和表4中可以看到,水稻种子在滤纸发芽床与琼脂发芽床时发芽势和根长有显著差异,但是发芽率和不正常苗率在天龙1号和创宇9号中无显著性差异,芽长在天龙1号和湘

早籼 45 号中无显著性差异。采用琼脂发芽床在测定水稻种子发芽率时,与标准方法使用的滤纸床无明显差异,可以用琼脂床的方式替代滤纸床,利用琼脂床保水性好的特点,减少试验过程中定期增加滤纸水分的过程。但是,考虑发芽势和发芽初期幼苗质量时,琼脂床和滤纸床存在显著性差异,故不能用琼脂床替代滤纸床。

表 4 不同琼脂浓度发芽床上种子发芽根长、芽长结果

品种	琼脂浓度 (g/L)	芽长 (cm)	根长 (cm)
天龙 1 号	CK	5.61 ± 0.37	3.81 ± 0.15c
	3	5.52 ± 0.08	5.11 ± 0.57b
	6	5.29 ± 0.13	5.35 ± 0.34b
	10	5.28 ± 0.22	6.56 ± 0.38a
	15	5.35 ± 0.10	6.40 ± 0.57a
	20	5.45 ± 0.30	6.53 ± 0.33a
湘早籼 45 号	CK	5.95 ± 0.31	3.67 ± 0.40c
	3	5.73 ± 0.09	4.80 ± 0.37b
	6	5.58 ± 0.21	4.44 ± 0.36bc
	10	5.61 ± 0.24	6.58 ± 0.63a
	15	5.69 ± 0.24	5.84 ± 0.44a
	20	5.59 ± 0.44	6.44 ± 0.42a
创宇 9 号	CK	6.08 ± 0.14a	3.38 ± 0.32c
	3	5.36 ± 0.08b	3.82 ± 0.42c
	6	5.21 ± 0.09b	4.83 ± 0.58b
	10	5.33 ± 0.21b	5.51 ± 0.31ab
	15	5.52 ± 0.14b	5.96 ± 0.59a
	20	5.46 ± 0.10b	5.48 ± 0.44b

不同琼脂浓度发芽效果在发芽率、不正常苗率、芽长 3 个指标上无显著差异,但在发芽势和根长上差异显著。其中,发芽势在 3 个品种中 10g/L 的琼脂浓度的发芽势均优于其他处理或与其他处理无显著差异,根长在琼脂浓度 10g/L、15g/L、20g/L 时明显优于其他处理,综上结果,琼脂浓度 10g/L 时水稻种子发芽效果最好,在试验中可采用 10g/L 琼脂浓度的发芽床得到水稻种子最优发芽效果。

3 讨论

研究表明,采用不同琼脂浓度作为水稻种子的发芽床测定水稻种子发芽率,除湘早籼 45 号因不正常苗率偏高造成琼脂床和滤纸床有差异外,其余 2 个水稻品种的发芽率无显著差异,且湘早籼 45 号发芽率测定过程中不同浓度琼脂床之间并无差异,说

明琼脂床浓度对水稻种子发芽率影响无显著差异,选用 3~20g/L 的琼脂发芽床均能测定水稻种子发芽率。但是在试验实际操作中发现,琼脂浓度高于 10g/L 时,琼脂粉不易溶解;琼脂浓度小于 3g/L 时,琼脂溶解后不易凝固。综合以上操作因素,认为在使用琼脂床作为介质时,琼脂的浓度在 3~10g/L 之间比较合适。

从发芽势和幼苗第 7 天后的根长结果上来看,水稻种子在滤纸发芽床和不同浓度琼脂发芽床有显著差异,如需测定水稻种子的活力指数、发芽指数时则需要考虑不同发芽床之间的影响。尤其是琼脂床作为介质发芽时,幼苗根长显著优于滤纸发芽床,其中在琼脂浓度 10~20g/L 时水稻幼苗根系表现最好,综合琼脂床制备过程的难易程度,在幼苗培养时可以考虑使用 10~15g/L 琼脂床作为发芽介质。

传统发芽试验一般采用纸床、砂床或者土壤作为发芽介质,已有研究者使用纱布、海绵、草炭、琼脂等其他介质作为林木类种子和花果等小粒种子的发芽床^[6-7],如草炭、琼脂培养基作为垂柳种子发芽介质,纱布作为火龙果种子发芽床。从前人的研究来看,琼脂发芽床在试验中综合表现与传统滤纸发芽床相比无不良效果,操作简单,保水性好,在试验过程中不需要额外添加水分,大大减少了人力成本和外界干扰,是一种可以广泛应用于种子发芽试验的非标准方法。

参考文献

- [1] 万荷英. 不同发芽床对水稻种子发芽率的影响. 湖北农业科学, 2006, 45 (4): 418-419
- [2] 冯咏琪, 王丕武, 曲静, 于森, 吴律, 吴楠, 卢实, 关淑艳. 不同发芽床和贮藏时间对玉米发芽力的影响. 分子植物育种, 2018, 16 (2): 565-571
- [3] 李振华, 龙明锦. 琼脂床在烟草种子发芽势(率)检验中的应用 // Fourteenth International Conference on Mechanization of Field Experiments. 2012 (S2): 270-273
- [4] 张鑫, 曹帮华, 史峻峰, 曹志, 周方波, 李业宇, 祁淋. 发芽基质对垂柳种子发芽能力的影响. 林业科技通讯, 2019 (7): 69-71
- [5] 支巨振, 毕辛华, 杜克敏, 詹若挺. GB/T3543. 4-1995《农作物种子检验规程——发芽试验》. 北京: 中国标准出版社, 1995: 34-35
- [6] 童家贤, 张晓丽, 何瑞, 詹若挺. 穿心莲种子发芽试验标准化研究. 种子, 2011, 30 (2): 1-3
- [7] 刘海刚, 段日汤, 沙毓沧, 陈艺齐, 杨子祥. 不同发芽床对火龙果种子萌发的影响. 山东农业科学, 2010 (12): 31-33

(收稿日期 -2020-03-09)