

温度和稃壳去除对甘肃野生草地早熟禾发芽特性和多胚苗频率的影响

张金青, 贾新风, 李凡, 李玉珠, 马晖玲

(甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:以7个甘肃野生草地早熟禾(*Poa pratensis*)种质为材料,研究了不同温度和是否除稃壳对草地早熟禾发芽和多胚苗频率的影响。结果显示,不同材料的发芽势、发芽率、二胚率、三胚率以及多胚率在不同温度以及除稃壳后表现均不相同。这表明草地早熟禾的发芽情况和多胚率因材料来源、萌发温度和种子状态的不同而异。综合分析表明,除肃南和秦州采集的种子外,适当降低萌发温度可显著提高其余野生草地早熟禾种质材料的发芽率,不同的是,清水和甘谷采集的种子在除稃壳后,提高幅度更大;多胚苗频率的变化不同于发芽率,其中陇南和甘谷采集的种子多胚苗频率不随温度和种子状态变化而改变,其余5个材料的多胚率均在去除稃壳后显著增加,材料之间的差异性为甘南和定西采集的种子在30℃达到最大,清水和肃南采集的种子25℃为最大值,而秦州采集的种子在20℃最大。由此可见,实际生产中若要提高草地早熟禾的多胚率,可以通过控制种子萌发温度和去除稃壳得以实现。然而,具体的草地早熟禾材料还需要提前进行试验才能确定适宜的萌发温度以及是否去除稃壳。

关键词:草地早熟禾;温度;稃壳;发芽率;多胚苗频率

中图分类号:S688.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2021)03-0070-08

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2021.03.010



草地早熟禾(*Poa pratensis*)主要分布在寒带和北温带冷凉湿润地区,是草原与草甸植被组成中的重要成分^[1],其不仅是很多天然草地中的优良牧草,同时也被广泛应用于草坪建植^[2]。此外,它还可用于稳定侵蚀土壤、改善土壤结构和肥力^[3]。由于草地早熟禾品种选育工作滞后,我国草坪建植中所用的草地早熟禾种子全是国外引进品种,因此培育我国的优良草地早熟禾新品种极其重要,这有赖于对我国草地早熟禾野生种或生态型的搜集。同时 Wieners 等^[3]也指出若要改善草地早熟禾,如减少其在生产上的管理投入、提高

其抗病虫性、耐低修剪或其他重要农艺性状,则需要收集和鉴定不同的种质。甘肃地处青藏高原、黄土高原、蒙新高原和西秦岭山地的交汇地带,境内地形、气候复杂多样,早熟禾属植物资源十分丰富,这为搜集不同的草地早熟禾野生种质材料提供了便利^[5]。近几年,甘肃野生草地早熟禾的研究主要集中在抗旱性^[6]、抗寒性^[7]、耐践踏性^[8]、根茎扩展性^[9]以及生产性能^[10]等方面,而有关其多胚苗的研究较少。

草地早熟禾具有多样的生殖系统,主要是无孢子生殖和有性杂交或自交的兼性无融合生殖体系^[11]。无融合生殖具有双胚珠、双胚囊、双胚双苗或多苗等特点,这种由一粒多胚种子同时萌发出两株或两株以上的幼苗称为多胚苗^[12]。母锡金等^[13]和田晨霞等^[14]的研究均表明草地早熟禾产生双胚苗和三胚苗是常见的。已有研究表明,植物中多胚与其无融合生殖之间具有正相关性,因而许多学者试图通过寻找具有多胚现象的植物材料,进而筛选出一些可能具有无融合生殖特性的种质资源。植物多胚现象的发生涉及多胚的

收稿日期:2020-06-04; 修回日期:2020-07-06

基金项目:国家自然科学基金项目(31760699)资助

作者简介:张金青(1994-),女,甘肃舟曲人,博士研究生,

主要从事牧草及草坪草育种研究。

E-mail:18893816768@163.com

马晖玲为通讯作者。

E-mail:mahl@gsau.edu.cn

形成和表现两大阶段,前者主要由遗传背景控制,而后者则受到外界条件的影响^[14],例如黄宇^[16]研究发现闽楠(*Phoebe bournei*)种子在不同贮藏时间和培养条件下发芽率和多胚率都有所不同;黄群策等^[17]也发现水稻(*Oryza sativa*)多胚苗发生频率因材料种类或发芽温度不同而表现出差异,此外也报道了种子去稃壳后可使其双苗率提高 32.4%~36.0%。同时,黄雪梅等^[18]也发现黄花风铃木(*Tabebuia chrysantha*)种子贮藏温度从 15℃降为 10℃时,其多胚率也由 63.3%降为 50.0%;王巨媛^[19]通过对 38 个韭菜(*Allium tuberosum*)的多胚苗研究,指出其多胚苗发生频率与温度之间存在“低温效应”,即温度越低多胚苗发生频率越高。可见,被子植物种子的萌发环境和萌发状态对其多胚苗频率具有显著影响,但这些外界条件对草地早熟禾的多胚苗频率是否有影响,其影响规律如何依然不清楚。因此,本研究以采集于甘肃不同地区的 7 个野生草地早熟禾种质为材料,探索不同萌发温度和种子萌发时的不同状态(除稃壳)下草地早熟禾多胚苗频率的变化规律,以期揭示草地早熟禾无融合生殖机理,选育我国本土的优良草地早熟禾新品种提供基础数据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为 2012 年 8—9 月采集于甘肃陇南市、甘南州夏河县、张掖市肃南县、定西市、天水市甘谷县、清水县、秦州区 7 个地区的野生草地早熟禾,种子经人工清选、自然干燥后,长期于 25℃保存。用采集地的地名分别表示该地采集的野生草地早熟禾种质材料。

1.2 试验方法

试验前,对种子进行消毒处理,具体步骤为先用自来水浸泡 12 h,然后用 70%乙醇消毒 2 min,再用 20%次氯酸钠浸泡 15 min,最后用无菌水冲洗 5~6 次,直到去除次氯酸钠的刺鼻味,晾干待用。

供试材料每种取 8 000 粒晾干后的饱满种子,其中 4 000 粒置于体式显微镜下剥除稃壳,然后带稃壳种子和除稃壳种子各取 1 000 粒为 1 组,每种 4 组,根据《牧草种子检验规程—发芽试验》^[20]进行发芽试验,4 组种子对应的萌发温度分别为 15℃、20℃、25℃和 30℃。其他条件均相同,即在每个铺有 2 层滤纸的 9 cm 塑料培养皿中放置 100 粒种子,分别加入 4 mL 无

菌水,每处理 10 个重复。培养条件为光照 14 h、黑暗 10 h,每天采用称重补水法补充蒸发的无菌水,25 d 后结束试验,统计并记录各培养皿的发芽种子和双胚苗和三胚苗及多胚苗的数量,然后计算发芽势、发芽率和双胚苗、三胚苗及多胚苗的频率。计算方法参考田晨霞等^[14]的方法:

$$\text{发芽势}(\%) = \frac{\text{第 13 d 发芽种子总数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽率}(\%) = \frac{\text{第 25 d 发芽种子总数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

$$\text{双胚苗率}(\%) = \frac{\text{双胚苗数量}}{\text{第 25 d 发芽种子数}} \times 100\%$$

$$\text{三胚苗率}(\%) = \frac{\text{三胚苗数量}}{\text{第 25 d 发芽种子数}} \times 100\%$$

$$\text{多苗率}(\%) = \frac{\text{双胚苗数量} + \text{三胚苗数量}}{\text{第 25 d 发芽种子数}} \times 100\%$$

1.3 数据统计与分析方法

运用 Microsoft Excel 2010 软件进行数据整理,数据用平均值±标准误表示;运用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行 Duncan 法比较各处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾发芽特性的影响

2.1.1 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾发芽势的影响 在萌发温度和种子状态不同时,7 个地区采集的种子发芽势不同。相较于带稃壳,除稃壳后陇南种子的发芽势在相同温度下均显著降低,且不管稃壳是否存在,均在 15℃时显著低于其余温度,其他温度间没有差异。甘南种子的发芽势在除稃壳后均高于带稃壳,仅 15℃差异不显著;温度对其发芽势的影响因种子的状态而异,带稃壳时,随着温度的上升而逐渐升高,除稃壳后,在 25℃时达到最大值,30℃时显著降低。清水种子的发芽势变化较单一,15℃时显著低于其余温度,是否除稃壳的区别在于:除稃壳后,其发芽势在相同温度下略有升高。除稃壳后,相同温度下肃南种子的发芽势均显著高于带稃壳,且同一种子状态时其随着温度的变化趋势相同,均表现为随着温度升高而逐渐上升,25℃达到最大值,且与 30℃无显著差异。无论是否带稃壳,定西种子的发芽势均在 15℃时显著低于其他温度,其余温度间无显著差异,稃壳的影

响较小,除 15℃时除稃壳显著高于带稃壳外,其余温度下无显著差异。秦州种子发芽势随温度与稃壳的变化与清水相同,即除稃壳后略有升高;且不管有无稃壳,均在 15℃时显著低于其他温度,且其余温度间无显著差异。稃壳的有无对甘谷种子发芽势的影响为:

表 1 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾发芽势的影响

Table 1 Effects of temperature and glume on germination potential of seven wild germplasm of kentucky bluegrass originated from the wild grassland in Gansu Province

稃壳	温度/ ℃	发芽势						
		陇南	甘南	清水	肃南	定西	秦州	甘谷
带稃壳	15	45.40±1.46 ^b	49.60±2.04 ^e	44.50±1.66 ^c	21.50±0.96 ^e	30.60±1.42 ^c	33.50±0.75 ^d	39.70±1.58 ^d
	20	53.40±1.63 ^a	51.60±1.67 ^{de}	51.10±2.58 ^{ab}	32.70±0.65 ^{cd}	45.60±1.27 ^a	42.20±0.90 ^{bc}	43.60±1.09 ^{cd}
	25	54.30±1.00 ^a	55.10±2.13 ^{cde}	54.00±0.87 ^a	36.30±0.98 ^c	45.90±1.03 ^a	45.80±1.92 ^{ab}	44.70±1.76 ^{cd}
	30	55.10±0.97 ^a	57.20±1.17 ^{cd}	56.50±1.75 ^a	35.40±1.45 ^c	47.80±0.92 ^a	46.00±1.14 ^{ab}	45.20±1.62 ^c
除稃壳	15	33.40±1.47 ^c	53.90±2.94 ^{cde}	47.20±2.14 ^{bc}	30.20±2.12 ^d	37.20±1.86 ^b	37.60±1.35 ^{cd}	41.00±1.70 ^{cd}
	20	42.70±1.96 ^b	63.40±1.83 ^{ab}	54.10±1.66 ^a	41.30±1.51 ^b	46.00±1.44 ^a	45.20±1.78 ^{ab}	50.20±1.64 ^b
	25	45.60±1.01 ^b	65.00±2.56 ^a	55.10±1.65 ^a	47.70±1.28 ^a	47.80±3.76 ^a	47.40±3.04 ^{ab}	53.40±2.36 ^{ab}
	30	43.70±2.24 ^b	58.90±1.43 ^{bc}	56.70±2.04 ^a	46.80±1.31 ^a	48.30±1.69 ^a	49.20±1.55 ^a	56.70±1.08 ^a

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同

2.1.2 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾发芽率的影响 不同温度与是否除稃壳对不同的野生草地早熟禾种质材料的发芽率影响不同,其中秦州种子的表现较特别,所有的处理间均无显著差异(表 2),当温度从 15℃升高到 30℃时,带稃壳种子发芽率变化幅度最大,降低了 2.54%;除稃壳后,发芽率在 25℃变化最大,升高了 0.57%。此外,肃南的变化也不同于其余材料,不管是否除去稃壳,其发芽率均在 25℃时最高,不同的是带稃壳时 25℃与其他温度间均差异显著,除稃壳时 25℃与 20℃间无显著差异,但显著高于 15℃和 30℃;稃壳对肃南发芽率的影响与温度有关,仅 20℃时除稃壳显著高于带稃壳,其他温度下无显著差

除 15℃差异不显著外,其余温度下除稃壳均显著高于带稃壳;带稃壳时,30℃显著高于 15℃,其余温度间无显著差异,除稃壳后,30℃显著高于 20℃和 15℃,与 25℃差异不显著(表 1)。

异。其他材料在种子状态相同时,其发芽率均随着萌发温度的升高而逐渐降低,不同的材料间其降低程度存在差异,当温度从 15℃升高到 30℃时,陇南在除稃壳后降低程度最大,为 25.44%。比较稃壳对其余野生草地早熟禾发芽率的影响,发现清水和甘谷在温度不变时,其发芽率均在除去稃壳后升高,不同材料升高程度不同;但是陇南的表现正好相反:在温度保持不变时,其发芽率在除稃壳后显著下降,最高可下降 30.17%,推测其原因可能是陇南种子的稃壳对种子的包裹比较紧密,在去除稃壳时对种子造成了一定的伤害,进而降低了其发芽率。

表 2 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾发芽率的影响

Table 2 Effects of temperature and glume on germination rate of seven wild germplasm of kentucky bluegrass originated from the wild grassland in Gansu Province

稃壳	温度/ ℃	发芽率/%						
		陇南	甘南	清水	肃南	定西	秦州	甘谷
带稃壳	15	80.10±1.08 ^a	86.70±0.83 ^a	81.40±0.81 ^{bcd}	57.70±1.76 ^b	71.50±1.57 ^a	71.00±2.17 ^a	76.30±1.59 ^a
	20	79.00±2.24 ^a	83.10±0.98 ^{abc}	80.30±1.84 ^{cd}	58.70±1.07 ^b	69.00±1.85 ^{ab}	69.90±1.36 ^a	69.30±1.12 ^b
	25	75.80±1.40 ^{ab}	79.60±1.50 ^{cd}	69.90±1.27 ^e	65.70±0.86 ^a	64.60±1.27 ^{bc}	69.40±1.71 ^a	69.40±1.67 ^b
	30	72.60±1.68 ^{bc}	78.70±1.15 ^d	67.80±0.90 ^e	56.00±1.77 ^b	61.10±1.04 ^c	69.20±1.38 ^a	62.50±1.72 ^c
除稃壳	15	68.00±1.15 ^{cd}	85.70±1.05 ^{ab}	85.80±1.25 ^a	57.20±1.81 ^b	70.80±2.27 ^a	70.10±2.29 ^a	81.20±1.82 ^a
	20	66.50±1.77 ^d	84.80±1.42 ^{ab}	85.30±1.30 ^{ab}	64.50±2.03 ^a	68.30±1.45 ^{ab}	69.90±1.43 ^a	80.50±1.98 ^a
	25	63.30±1.14 ^d	82.00±1.36 ^{bcd}	82.60±1.22 ^{abc}	69.00±1.25 ^a	64.30±1.63 ^{bc}	69.80±1.47 ^a	79.30±1.42 ^a
	30	50.70±2.64 ^e	74.20±1.24 ^e	77.70±1.81 ^d	59.50±1.78 ^b	60.60±1.79 ^c	69.30±2.02 ^a	70.60±1.92 ^b

2.2 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾多胚苗频率的影响

2.2.1 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾二胚率的影响 不同萌发温度下以及种子除去稃壳后陇南和甘谷采集的种子所有处理间均无显著差异,这表明它们的二胚率不受外界条件温度以及种子状态的影响(表 2)。甘南种子的二胚率变化最明显,带稃壳时,4 个温度下其二胚率均为 0,除稃壳后,其二胚率随着温度的升高而增大。清水种子的二胚率随着温度的升高先上升再降低,带稃壳种子在 20℃ 发芽率达到最大,且与其余温度相比差异显著,除稃壳时 25℃ 略高于其他温度,但与其余温度相比均无显著差异。肃南种子的二

胚率在种子状态不同时,随温度的变化不同:带稃壳时随温度升高而升高,但各温度之间差异均不显著;除稃壳时随温度升高先升高再降低,在 25℃ 达到最大,但与其余温度相比均无显著差异。定西种子二胚率的变化比较规律,首先随着温度的升高而增大,且在 30℃ 时显著高于其他温度,其余温度间差异不显著;其次温度不变时,相较于带稃壳,其二胚率在除稃壳后均略有升高,但差异不显著。秦州种子的二胚率随着温度的升高先升高再降低,在 20℃ 达到最大值,稃壳的影响在于带稃壳时,最大值与其余温度间均具有显著差异,除稃壳后,最大值与其余温度间均无显著差异,且在温度相同时,除稃壳后其二胚率均显著高于带稃壳。

表 3 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾二胚率的影响

Table 3 Effects of temperature and glume on two embryo seedling frequency of seven wild germplasm of kentucky bluegrass originated from the wild grassland in Gansu Province

稃壳	温度/ ℃	二胚率/%						
		陇南	甘南	清水	肃南	定西	秦州	甘谷
带稃壳	15	7.64±1.01 ^a	0.00±0.00 ^c	11.48±1.22 ^{bc}	7.61±1.50 ^b	7.03±1.35 ^c	8.46±1.24 ^c	10.98±1.34 ^a
	20	7.76±1.00 ^a	0.00±0.00 ^c	13.21±1.20 ^a	8.98±1.75 ^{ab}	9.20±1.24 ^{bc}	13.42±1.37 ^a	9.21±1.97 ^a
	25	7.69±1.13 ^a	0.00±0.00 ^c	10.47±1.21 ^{bc}	10.71±1.23 ^{ab}	10.60±1.58 ^{bc}	9.18±1.00 ^{bc}	10.76±1.57 ^a
	30	7.94±0.93 ^a	0.00±0.00 ^c	8.94±1.21 ^b	11.18±1.35 ^{ab}	19.97±1.77 ^a	7.85±1.55 ^c	11.39±1.89 ^a
除稃壳	15	7.23±1.14 ^a	0.36±0.19 ^{bc}	8.94±1.21 ^b	9.57±1.34 ^{ab}	10.17±1.27 ^{bc}	13.37±1.00 ^a	10.72±0.89 ^a
	20	7.40±1.05 ^a	0.46±0.19 ^b	11.64±1.08 ^{bc}	10.35±1.26 ^{ab}	10.99±1.31 ^{bc}	14.52±0.73 ^a	11.01±1.00 ^a
	25	7.64±1.05 ^a	0.74±0.20 ^{ab}	11.70±0.96 ^{bc}	12.23±1.19 ^a	12.38±1.00 ^b	12.25±1.08 ^{ab}	11.13±1.16 ^a
	30	7.50±1.25 ^a	0.95±0.21 ^a	10.51±0.77 ^{bc}	9.91±1.15 ^{ab}	23.06±1.06 ^a	11.99±0.86 ^{ab}	12.73±1.23 ^a

2.2.2 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾三胚率的影响 甘肃野生草地早熟禾在不同温度以及除稃壳处理后,各材料的三胚率变化不明显(表 4),这可能是由于草地早熟禾的三胚苗频率偏低,导致在不同条件时变化不明显。在所有材料中,定西种子的三胚率在任

何温度以及除稃壳后均为 0,推测定西可能并不具有三胚苗的特性。甘南和清水地区采集种子的三胚率变化比较一致,相较于温度的变化,其对于是否除稃壳的变化更敏感,在带稃壳时,三胚率均为 0,除稃壳后,不同温度下均有三胚苗的萌发,但各温度下差异不显著;

表 4 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾三胚率的影响

Table 4 Effects of temperature and glume on three embryo seedling frequency of seven wild germplasm of kentucky bluegrass originated from the wild grassland in Gansu Province

稃壳	温度/ ℃	三胚率/%						
		陇南	甘南	清水	肃南	定西	秦州	甘谷
带稃壳	15	0.24±0.16 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.63±0.35 ^a	0.00±0.00	0.17±0.17 ^a	0.13±0.13 ^b
	20	0.11±0.11 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.23±0.17 ^a	0.00±0.00	0.00±0.00 ^a	2.29±0.29 ^a
	25	0.27±0.18 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	1.07±0.32 ^a	0.00±0.00	0.58±0.31 ^a	0.54±0.22 ^b
	30	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^b	0.92±0.31 ^a	0.00±0.00	0.16±0.16 ^a	1.58±0.41 ^a
除稃壳	15	0.59±0.24 ^a	0.12±0.12 ^a	1.28±0.32 ^a	0.52±0.37 ^a	0.00±0.00	0.45±0.32 ^a	0.34±0.24 ^b
	20	0.32±0.21 ^a	0.12±0.12 ^a	1.56±0.46 ^a	0.63±0.26 ^a	0.00±0.00	0.42±0.21 ^a	0.38±0.19 ^b
	25	0.46±0.23 ^a	0.24±0.16 ^a	1.69±0.32 ^a	0.59±0.24 ^a	0.00±0.00	0.58±0.24 ^a	0.51±0.21 ^b
	30	0.53±0.36 ^a	0.26±0.26 ^a	1.03±0.27 ^a	0.54±0.28 ^a	0.00±0.00	0.63±0.26 ^a	0.75±0.25 ^b

二者所不同的是,甘南种子的三胚率除稃壳后与带稃壳时相比无显著差异,而清水种子除稃壳后显著高于带稃壳。陇南、肃南和秦州地区采集种子的三胚率在所有处理下均无差异,表明这三个材料的三胚率不受温度和稃壳的影响。在带稃壳 20℃ 和 30℃ 时天水种子的三胚率显著高于其他处理,其余处理下不受温度和稃壳的影响。

2.2.3 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾多胚率的影响 陇南和甘谷种子的多胚率变化一致,在所有处理下均无差异,表明它们的多胚率不受萌发温度和种子稃壳的影响(表 5)。甘南种子的多胚率在带稃壳时,不受温度的影响,各温度下均为 0;除稃壳后,其多胚率随着温度的升高而逐渐增大。清水多胚率随着温

度的升高先上升再降低,稃壳存在与否的差异在于前者在 20℃ 达到最大值,与其余温度间有差异,但不显著,除稃壳后 20℃ 和 25℃ 间无显著差异,且均高于 15℃ 和 30℃。肃南的多胚率在除稃壳 25℃ 时达到最大值,显著高于带稃壳 15℃,与其余温度有差异但不显著。定西由于其三胚率均为 0,故其多胚率的变化与二胚率相同,均表现为随着温度的升高而增大,且在 30℃ 时显著高于其他温度,其余温度间差异不显著;温度不变时,相较于带稃壳,定西的多胚率在除稃壳后略有升高,差异不显著。秦州的多胚率随着温度的升高先升高再降低,20℃ 时达到最大值,且带稃壳时显著高于其余温度。

表 5 温度和稃壳对甘肃野生草地早熟禾多胚率的影响

Table 5 Effects of temperature and glume on polyembryony seedling frequency of seven wild germplasm of kentucky bluegrass originated from the wild grassland in Gansu Province

稃壳	温度/ ℃	多胚率/%						
		陇南	甘南	清水	肃南	定西	秦州	甘谷
带稃壳	15	7.88±0.97 ^a	0.00±0.00 ^d	11.48±1.22 ^{ab}	8.24±1.41 ^b	7.03±1.35 ^c	8.63±1.18 ^c	11.11±1.31 ^a
	20	7.87±0.99 ^a	0.00±0.00 ^d	13.21±1.20 ^a	9.32±1.68 ^{ab}	9.2±1.24 ^{bc}	13.42±1.37 ^a	11.5±1.77 ^a
	25	7.97±1.10 ^a	0.00±0.00 ^d	10.47±1.21 ^{ab}	11.6±1.15 ^{ab}	10.6±1.58 ^{bc}	9.76±1.08 ^{bc}	11.3±1.49 ^a
	30	7.94±0.93 ^a	0.00±0.00 ^d	8.94±1.21 ^{ab}	12.1±1.26 ^{ab}	19.97±1.77 ^a	8.00±1.56 ^c	12.97±1.69 ^a
除稃壳	15	7.82±1.19 ^a	0.48±0.20 ^{cd}	11.78±0.70 ^{ab}	10.09±1.39 ^{ab}	10.17±1.27 ^{bc}	13.82±1.03 ^a	11.06±0.78 ^a
	20	7.72±0.99 ^a	0.58±0.19 ^{bc}	13.21±1.05 ^a	10.97±1.20 ^{ab}	10.99±1.31 ^{bc}	14.93±0.86 ^a	11.39±1.05 ^a
	25	8.10±0.98 ^a	0.98±0.25 ^{ab}	13.39±0.89 ^a	12.98±1.14 ^a	12.38±1.00 ^b	12.83±1.22 ^{ab}	11.64±1.16 ^a
	30	8.03±1.18 ^a	1.21±0.24 ^a	11.54±0.90 ^b	10.45±1.06 ^{ab}	23.06±1.06 ^a	12.62±0.94 ^{ab}	13.48±1.16 ^a

3 讨论

3.1 温度及稃壳对草地早熟禾发芽特性的影响

3.1.1 温度对草地早熟禾发芽特性的影响 温度影响种子发芽是通过影响其代谢反应来实现的^[22],当环境温度过高或过低时,会导致细胞中的酶失活,致使细胞不能进行正常的生理代谢而死亡^[23]。发芽势和发芽率可反映种子发芽的速度和整齐度,一般来说,发芽率高、发芽势强,表示出苗快而齐,苗壮,反之则表示出苗不齐、弱苗多。本研究发现,不管是否除稃壳,甘肃野生草地早熟禾的发芽势均随着温度的升高而上升。发芽率的变化在除稃壳后以及不同的材料之间均不相同,除肃南种子外,总体趋势为随着温度的上升而下降。笔者前期预实验发现,当温度升高到 35℃ 时,草地早熟禾材料均不发芽,这表明草地早熟禾作为冷季型草坪草,对低温耐性较强,而对高温则比较敏感。然

而,温度较低时,虽然其发芽率较高,但发芽势过低,存在出苗不齐、弱苗多的现象。此外,不同材料发芽状况受温度的影响并不相同,这可能与种子原产地的气候条件有关,因此在实际生产中应根据具体的草地早熟禾材料筛选其适宜的发芽温度。

3.1.2 稃壳对草地早熟禾发芽特性的影响 稃壳是指禾本科植物小穗基部的苞片,具有保护稃果的作用^[25]。然而,有些稃壳厚而坚硬,使种子不透水、不透气或对胚具有机械阻碍作用,而抑制种子萌发^[25]。稃壳对不同植物发芽率的影响差异较大,黄群策^[17]报道,水稻种子去壳可使其发芽率提高 3% 左右;赵昕等^[27]研究发现,除稃壳后结缕草(*Zoysia japonica*)种子发芽率明显高于对照;王禹等^[28]发现湘杂芒 2 号(*Miscanthus sinensis* × *lutarioripari*)种子除稃壳后,发芽率由 66% 提高到 86%。也有相关研究报道除稃壳降低了种子发芽率,如谭志军等^[26]的研究;任万军

等^[29]也报道去除稃壳处理可使水稻种子的成苗率降低26.1%，且不同杂交稻组合间差异较大。本研究发现，不同来源的草地早熟禾在除稃壳后，发芽率的变化不同。这表明稃壳对种子发芽的影响因植物品种和来源而异。推测除稃壳处理促进发芽率的原因可能是去壳消除了稃壳上的不透气性、不透水性和稃壳的机械约束作用^[25]，也可能是稃壳中具有发芽抑制物，去除稃壳意味着发芽抑制物的消除，因而提高了发芽率。降低种子发芽率可能是种子在除稃过程中，伤害了稃果的果皮和种皮，导致营养外渗，进而引起污染^[26]。因此，稃壳对发芽的影响可能是多个因素平衡后的表现，故是否能用除稃壳的方式提高植物的发芽率，则需要根据具体的材料做相关的试验后才能应用于实践。

3.2 温度及稃壳对草地早熟禾多胚苗频率的影响

3.2.1 温度对草地早熟禾多胚苗频率的影响 植物多胚现象的发生涉及多胚的形成和表现两大阶段，前者受到遗传背景的控制，其表现又受到外界条件的影响，故其发生频率受环境因素如温度的影响^[14]。本研究发现草地早熟禾的多胚苗率因材料种类或萌发温度不同而表现出差异，这与前人的研究结果相似^[16]。此外，陇南、甘南和甘谷种子的多胚率不随温度改变，这表明不同的材料多胚率对温度的敏感性及反应度都不同。谭志军等^[26]认为植物多胚率是由基因型所决定的，而基因表达受外界环境的影响，故适宜的萌发温度是植物多胚充分表达的因素之一。这可能是不同温度时，草地早熟禾多胚苗频率不同的原因。前人研究报告适当的高温处理有利于水稻多胚苗频率的提高，因为适宜的高温可提高种子胚乳贮藏物质的转化效率，利于多胚的萌发^[26]。然而，本试验结果不同于该报道，仅定西种子在30℃时多胚率最高，而清水和秦州种子在20℃时，其多胚率高于其他温度，这可能是由于研究材料不同而造成的差异，也可能与实验中所设置的具体温度范围有关。

3.2.2 稃壳对草地早熟禾多胚苗频率的影响 种子稃壳的有无影响植物的多胚苗频率，如黄群策^[17]等报道，在ASDOR05-01和ASDOR05-02水稻群体内，种子去稃壳后使其双苗频率分别提高了32.4%和36.0%。本研究发现，不同的材料除稃壳后，多胚率变化不同，除极个别外，大多数材料在同一温度下除稃壳后，多胚苗频率会有所升高。这可能是由于合子胚是有性生殖，具有较强的生长优势，且都较靠近稃壳上唯

一的萌发孔，故容易萌发。然而，另一个胚是无性生殖胚，与有性胚相比其生长状态处于劣势，且一般都远离萌发孔，故稃壳对其萌发具有明显的阻碍作用，因此，稃壳的存在直接影响了多胚的发生^[30]。

3.3 提高草地早熟禾多胚苗频率的措施

草地早熟禾不仅是草坪草，还可以作为牧草利用，多胚苗的萌发及成苗会增加其地上生物量，增大裸地的覆盖率，提高种子的产量。此外，康庆华^[31]认为多胚苗可作为筛选无融合生殖种质的标志性状，可以将具有双胚性的材料作为诱导无融合生殖后代的遗传基础，同时多胚现象在胚胎发育研究、杂种优势固定、单倍体育种及自交系选育等方面均有重要价值^[32]。因此，提高多胚苗频率在实际生产中具有重要意义。研究报告，对于具有潜在能力的多胚种子，萌发条件对多胚苗的表达起决定性作用，故优化萌发条件对于多胚苗的获得极为重要。因此，可通过控制种子萌发条件提高其多胚率，如种子去壳、预处理温度、 Zn^{2+} 或 H_2O_2 处理、 Co^{60} -Y射线辐射、萌发温度以及外源激素(IAA、KT、 GA_3 、2,4-D、6-BA)处理^[33]。另外，冯辉等^[34]也研究报告，用0.6%二甲基亚砜(DMSO)或失活花粉处理韭菜，其多胚苗发生频率明显提高。

本研究结果表明，草地早熟禾主要有单胚苗、二胚苗和三胚苗3种种苗，其频率大小为单胚苗>二胚苗>三胚苗，且不同野生材料的多胚频率存在差异，萌发温度和去除稃壳对其影响也不同，这表明草地早熟禾的多胚现象存在材料特异性，同时该结果也表明了草地早熟禾的种子萌发环境对其多胚苗频率具有一定的影响。因此，前人所报道的 Zn^{2+} 、 H_2O_2 、DMSO、 Co^{60} -Y以及外源激素是否能提高草地早熟禾的多胚率，适宜的浓度和处理方式等问题依然需要进一步的试验后才能确定。

4 结论

通过对去除稃壳的7个甘肃野生草地早熟禾材料的发芽特性和多胚苗率分别于15℃、20℃、25℃和30℃条件下的统计分析表明，草地早熟禾的发芽特性和多胚苗率随着材料来源、萌发温度和种子状态的不同而异。其中陇南和甘谷种子在所有处理下其多胚率均无显著差异，以省时、省力、经济的原则筛选出其余材料多胚率最高的萌发条件分别为：甘南和定西种子为30℃，且前者需要去除稃壳；清水和肃南种子为

25℃,且后者需要去除稃壳;秦州种子为20℃。具体的草地早熟禾材料多胚率最高的萌发条件不尽相同,需提前进行试验才能确定其最适萌发条件。

参考文献:

- [1] Anton A M, Connor H E. Floral biology and reproduction in *Poa* (Poeae; Gramineae) [J]. *Australian Journal of Botany*, 1995, 43(6): 577—599.
- [2] Patterson J T, Larson S R. Genome relationships in polyploidy *Poa pratensis* and other *Poa* species inferred from phylogenetic analysis of nuclear and chloroplast DNA sequences [J]. *Genome*, 2005, 48(1): 76—87.
- [3] Wieners R R, Fei S Z, Johnson R C. Characterization of a USDA Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) Core Collection for Reproductive Mode and DNA Content by Flow Cytometry [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2006, 53(8): 1531—1541.
- [4] 张丽霞, 姚爱兴, 徐宪涛. 国内外草地早熟禾育种技术及其研究进展 [J]. *宁夏农学院学报*, 2002, 23(2): 76—79.
- [5] 黄大燊. 甘肃植被 [M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1997: 1—15.
- [6] 牛奎举, 金小煜, 李慧萍, 等. 甘肃野生草地早熟禾萌发期抗旱性鉴定与评价 [J]. *草地学报*, 2016, 24(5): 1041—1049.
- [7] 陈润娟, 雷娅伟, 白小明, 等. 外源 NO 对野生早熟禾幼苗抗寒性的影响 [J]. *中国沙漠*, 2017, 37(6): 1171—1179.
- [8] 田彦锋. 甘肃地区 8 个野生草地早熟禾种质耐践踏性研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2017.
- [9] 陈润娟, 白小明, 郑文博, 等. 甘肃地区 11 个野生草地早熟禾材料根茎扩展性研究 [J]. *草地学报*, 2019, 27(5): 1250—1258.
- [10] 时颖, 师尚礼, 荣思川, 等. 9 份甘肃野生驯化草地早熟禾种质的生产性能比较研究 [J]. *草原与草坪*, 2016, 36(5): 12—20.
- [11] Mazzucato A, Barcaccia G, Pezzotti M, et al. Biochemical and molecular markers for investigating the mode of reproduction in the facultative apomict *Poa pratensis* L. [J]. *Sexual Plant Reproduction*, 1995, 8(3): 133—138.
- [12] Hanna W W, Bashaw E C. Apomixis: Its Identification and Use in Plant Breeding [J]. *Crop Science*, 1987, 27(6): 1136—1139.
- [13] 母锡金, 王伏雄, 梁铁兵. 草地早熟禾的多胚现象 [J]. *植物学通报*, 1994(S1): 68.
- [14] 田晨霞, 马晖玲, 张静, 等. 甘肃省野生草地早熟禾多胚苗发生研究 [J]. *草原与草坪*, 2014, 34(6): 18—23.
- [15] 周开达, 汪旭东, 罗明, 等. 四川无融合生殖水稻 (SAR-1) 的初步研究 [J]. *中国科学 (B 辑 化学 生命科学 地学)*, 1992(8): 808—813+897—898.
- [16] 黄宇. 闽楠种子萌发与多胚苗研究 [J]. *福建林业科技*, 2014, 41(3): 27—31.
- [17] 黄群策, 贾宏汝, 赵帅鹏. 低能氮离子注入对同源四倍体水稻双胚苗特性的影响 [J]. *河南农业科学*, 2007(11): 34—37.
- [18] 黄雪梅, 杨彩群, 陈之红, 等. 黄花风铃木种子活力快速丧失及多胚苗现象 [J]. *广东农业科学*, 2012, 39(12): 50—52.
- [19] 王巨媛, 翟胜, 冯辉. 韭菜多胚苗发生频率及其类型的划分 [J]. *种子*, 2005, 24(10): 32—35.
- [20] 中华人民共和国农业部. 牧草种子检验规程—发芽试验. GB/T 2930. 4-2001 [S]. 2001—03—14.
- [21] 岳永寰, 靳瑰丽, 韩万强, 等. 醉马草种子萌发对环境因素的响应 [J]. *中国草地学报*, 2019, 41(6): 23—30.
- [22] 李东霞, 黄丽云, 徐中亮, 等. 温度对椰枣种子发芽和生理特征的影响 [J]. *南方农业学报*, 2019, 50(8): 1764—1770.
- [23] Leverenz J W, Bruhn D, Saxe H. Responses of two provenances of *Fagus sylvatica* seedlings to a combination of four temperature and two CO₂ treatments during their first growing season: gas exchange of leaves and roots [J]. *New Phytologist*, 2010, 144(3): 437—454.
- [24] Kumar B, Verma S K, Singh H P. Effect of temperature on seed germination parameters in Kalmegh (*Andrographis paniculata* Wall. ex Nees.) [J]. *Industrial Crops & Products*, 2011, 34(1): 1241—1244.
- [25] 王春梅, 田福平, 杨红善, 等. 脱颖处理对禾本科牧草种子萌发的影响 [J]. *中国草食动物科学*, 2014, 34(4): 46—49+52.
- [26] 谭志军, 黄逸强, 邓鸿德. 萌发条件对水稻双苗率的影响 [J]. *杂交水稻*, 1990(6): 42—44+47.
- [27] 赵昕, 李玉霖, 张立新. 两种结缕草种子休眠及萌发特性 [J]. *西北植物学报*, 2003, 23(11): 2002—2005.
- [28] 王禹, 易镇邪, 王学华, 等. 湘杂芒 2 号种子发芽条件的研究 [J]. *草业科学*, 2013, 30(1): 69—73.
- [29] 任万军, 刘喜传, 杨文钰, 等. 颖壳去除对不同基因型水稻发芽成苗的影响初探 [J]. *种子*, 2006(10): 53—54.
- [30] 胡秀明. 同源四倍体双胚苗水稻的双胚频率及其生殖发育特性 [D]. 郑州: 郑州大学, 2007.
- [31] 康庆华. 生长调节剂对亚麻无融合生殖诱导的初步研究 [J]. *中国麻业科学*, 2013, 35(6): 292—295+306.

- [32] Kundan K, Monika N, Rinchen D, *et al.* Polyembryony and seedling emergence traits in Apomictic citrus[J]. *Scientia Horticulturae*, 2012, 138(1): 101–107.
- [33] 陈秋芳, 黄群策. 中国水稻无融合生殖的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(8): 120–124.
- [34] 冯辉, 赵钟志. 韭菜无融合生殖的遗传特性及其与多胚性关系的研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2010, 41(3): 270–274.

Effects of temperature and glume status on germination and polyembryonic seedling frequency in seven wild germplasm of Kentucky bluegrass native to Gansu

ZHANG Jin-qing, JIA Xin-feng, LI Fan, LI Yu-zhu, MA Hui-ling

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem of Ministry of Education, Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Effects of different temperature and glume on the germination and polyembryonic seedling frequency of seven wild germplasm of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*) originated from the wild grassland in Gansu were studied. The results showed that germination energy, germination rate, two embryo seedling frequency, three embryo seedling frequency and polyembryonic seedling frequency of different germplasm changed in response to different temperature and glume status. The comprehensive analysis showed that reduced temperature could significantly increase the germination rate for most wild germplasm of Kentucky bluegrass except the seeds collected from Sunan and Qin Zhou. For the germplasm collected from Qingshui and Tianshui, the glume removal significantly increased seed germination. The polyembryonic seedling frequency of the seeds collected from Longnan and Tianshui did not change in response to temperature and glume status, while it increased significantly after glume removal in the other five germplasm. The optimum temperature for maximum seed germination differed among different germplasm, with the germplasm collected from Gannan and Dingxi reached the maximum at 30°C, the germplasm from Qingshui and Sunan at 25°C, and the germplasm from Qin Zhou at 20°C. Our results showed that the enhanced polyembryonic seedling frequency of Kentucky bluegrass could be achieved by controlling seed germination temperature and glume removal, and the appropriate germination temperature and the requirement of glume removal for different Kentucky bluegrass germplasm need to be tested in advance.

Key words: *Poa pratensis*; temperature; glume; germination rate; polyembryonic seedling frequency