

毛决明种子不同发育时期发芽力和脱水耐性的初步研究*

杨期和^{1,2} 殷寿华^{1**} 夏永梅¹ 兰芹英¹

(1. 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南勐腊 666303; 2. 中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

摘 要: 毛决明种子发芽力在花后 39 d 后逐渐上升, 发芽率和发芽指数在花后 53 d, 活力指数在花后 67 d 达最大值, 而后有所降低。花后 39~74 d, 含水量逐渐下降, 但下降速度不等。花后 67 d 种子干重达到最大值, 花后 67~74 d 含水量显著下降, 种子存在明显的成熟脱水阶段。种子的脱水耐性在花后 46~60 d 逐渐增强, 60 d 达到最大值, 后有所下降。轻微脱水可显著提高花后 46 d 和 67 d 的种子的发芽率。花后 60~67 d 的种子能忍耐 10% 含水量, 毛决明种子极可能是正常性种子。

关键词: 毛决明; 种子; 脱水耐性; 萌发生理

中图分类号: S 339.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-470X(2002) 04-0288-05

Preliminary Study on Germination Capacity and Desiccation-tolerance of *Cassia hirsuta* Seeds at Various Developmental Stages

YANG Qi-He^{1,2}, YIN Shou-Hua^{1**}, XIA Yong-Mei¹, LAN Qin-Ying¹

(1. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, China;

2. South China Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: The germination capacity of *Cassia hirsuta* seeds rose gradually at the early developmental stages, ie, since 39 d after anthesis, germination percentage (GP) and germination index (GI) reached the maximum at 53 days after anthesis (DAA), vigor index (VI) reached the maximum at 67 DAA, but then all decreased. The seed moisture content (MC) decreased gradually at different rates. Seed dry weight approached the maximum value at 67 DAA and a significant dehydrating stage appeared at 67~74 d. The desiccation-tolerance of seeds gradually increased from 46 to 60 DAA and reached the maximum at 60 DAA following by a decrease gently dehydrating could significantly improve GI and VI of seeds at 46 and 67 DAA. The seeds with lowest MC at 60~67 DAA could tolerate approximately 10% MC, so the seed appeared to be orthodox seeds.

Key words: *Cassia hirsuta*; Seed; Germination; Desiccation-tolerance

种子发育一般分为 3 个主要时期: 受精、细胞分裂和组织分化期; 贮藏蛋白质、类脂和淀粉大量积累的干重增长期; 脱水成熟期^[1,2]。成熟脱水对于正常性种子完成生活史是必需的, 低含水量的种子在贮藏过程中可抵御恶劣的环境条件, 使种子得以存活和确保繁衍^[3]。正常性种子经过成熟干燥之后, 种胚进入静止状态, 直至吸胀后才开始发芽; 顽拗性种子在发育过程中不经历明显的成熟脱水期, 种子成熟

藏过程中可抵御恶劣的环境条件, 使种子得以存活和确保繁衍^[3]。正常性种子经过成熟干燥之后, 种胚进入静止状态, 直至吸胀后才开始发芽; 顽拗性种子在发育过程中不经历明显的成熟脱水期, 种子成熟

收稿日期: 2001-10-31, 修回日期: 2002-01-04。

* 基金项目: 中国科学院知识创新工程项目资助(KSCX2-3-04-05)和中国科学院生物科学与技术研究特别支持费课题“鼎湖山南亚热带季风常绿阔叶林物种多样性的维持机制研究”(STZ97-1-05)。

作者简介: 杨期和(1969-), 男, 现为中科院华南植物研究所生态中心博士研究生, 从事种子生理生态研究工作。E-mail: yang-qihe@263.net

** 通讯作者。E-mail: yinsh@public.km.yn.cn

后仍然保持较高的含水量, 代谢较旺盛^[4, 5]。正常性种子的脱水耐性出现在种子成熟脱水之前, 脱水本身并不是脱水耐性形成的前提条件^[6, 7], 而且种子在发育过程中脱水耐性获得的时期和水平是不同的。热带植物种质资源的保护是全球生物多样性保护的一个重要方面, 而种质保存的主体是对种子进行保存, 了解热带植物种子的发育特点和脱水耐性有益于保存这些种子。毛决明是滇南热带地区广泛分布的一种草本药用植物, 研究其种子的发育特性具有重要的理论和实际意义。笔者研究了毛决明(*Cassia hirsuta*) 种子花后 25 ~ 74 d 形态特征的变化, 比较了不同发育时期种子萌发能力和脱水耐性的变化。

1 材料和方法

1.1 材料

供试验用的毛决明(*Cassia hirsuta*) 种子于 2000 年 11 月 ~ 2001 年 1 月采自中国科学院西双版纳热带植物园。从开花后 25 d 开始, 每隔 7 d 采集 1 次, 直至花后 74 d 荚果完全成熟。

1.2 脱水方法

果实采集后, 立即取出种子, 测定初始含水量, 然后室温下在密闭的干燥器中硅胶脱水 1 ~ 5 d (硅胶量/种子量的比例为 20 ~ 25%), 得到不同含水量的种子。

1.3 种子含水量测定

采用 103 ± 2 、17 h ± 1 h 烘箱烘至恒重, 以鲜重为基础计算含水量。

1.4 种子发芽试验

种子在 25 ℃, 每日 14 h 光照条件下进行萌发, 光源为日光灯, 光照强度为 1 500 ~ 2 000 lx。每个处理为 40 粒种子, 3 次重复, 发芽基质为琼脂, 在种子发芽箱中进行, 胚根伸出种皮达 5 mm 以上视为发芽。如果种子均已发霉或者在实验末期连续 15 d 无种子发芽, 发芽实验即结束。以最终种子发芽数计算发芽率。

发芽率(%) = 发芽种子数/试验种子数
发芽指数 = $\sum$ 逐日发芽种子数/相应发芽日数
活力指数 = 发芽率 × (胚芽 + 胚根) 长度(cm)

2 实验结果

2.1 毛决明种子发育过程中的性状变化

自花后 25 d 至 74 d, 种皮由乳白色 → 绿色 → 黄色, 最后变成紫色; 鲜重和干重从花后 25 d 至花后 67 d 不断增加, 花后 67 d 达到最大值, 鲜重在花后 74 d 显著降低, 干重基本不变(表 1)。

表 1 不同发育时期毛决明种子的性状
Table 1 Some properties of *Cassia hirsuta* seeds at various developmental stages

花后天数(d) Days after anthesis	种子颜色 Color of seeds	种子干粒 干重(g) DW of 1 000 seeds	种子干粒 鲜重(g) FW of 1 000 seeds
25	乳白色 Milky white	0.26	0.89
32	白色 White	0.42	1.85
39	淡绿色 Light green	0.99	4.90
46	淡绿色 Light green	4.01	12.74
53	绿色 Green	7.01	18.45
60	黄绿色 Yellowish green	6.91	18.54
67	黄色 Yellow	7.49	20.08
74	紫色 Purple	7.42	11.57

Notes: FW_ Fresh weight; DW_ Dry weight.

2.2 毛决明种子发育过程中含水量、发芽率、发芽指数及活力指数的变化

毛决明种子在花后 39 d 至 74 d, 含水量逐渐降低, 花后 39 ~ 46 d 和 67 ~ 74 d 两个阶段, 降低最快, 在其它阶段, 含水量变化较小。

在发育早期, 发芽力逐渐升高, 达到最大值后又有所下降。花后 39 d 种子还不能萌发, 在花后 53 d 发芽率和发芽指数达到最大, 随后开始降低; 而活力指数的提高落后于发芽率和发芽指数的增长, 在 67 d 才达到最大值, 花后 74 d 明显降低(见图 1 和图 2)。

2.3 不同发育时期毛决明种子对脱水的反应

花后 39 d 的种子脱水前后均不能萌发; 花后 46 d 的种子含水量从 69% 降至 35%, 发芽率有所提高, 含水量降至 30% 时, 发芽率明显降低; 花后 53 d 的毛决明种子发芽率为 93%, 含水量由 66% 降低至 44% 时, 发芽率并无显著下降, 含水量降至约 8% 时, 7.5% 的种子能发芽; 花后 60 d 的种子含水量从 63% 降低至 16% 时, 发芽率几乎不变, 降低至 8% ~ 9% 时, 发芽率仍接近 70%; 刚采集的花后 67 d 的毛决明种子发芽率只有 77%, 但含水量从 63% 下降到 37% 时, 发芽率可达 90%, 当含水量下降到 8% ~ 13% 以下, 发芽率为 50% ~ 60%; 花后 74 d 的种子发芽率为 64%, 当种子含水量轻度下降时, 发芽率无显著变化, 当含水量降低至 13% 时, 发芽率为 35%, 当含水量降至约 8% 时, 约 8% 的种子能萌发。

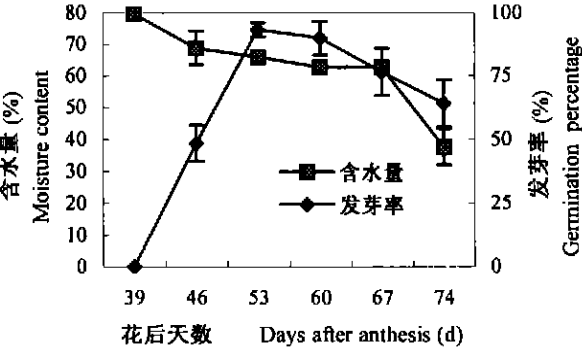


图 1 不同发育时期毛决明种子的含水量和发芽率
Fig. 1 Moisture content and germination percentage of *Cassia hirsuta* seeds at various developmental stages

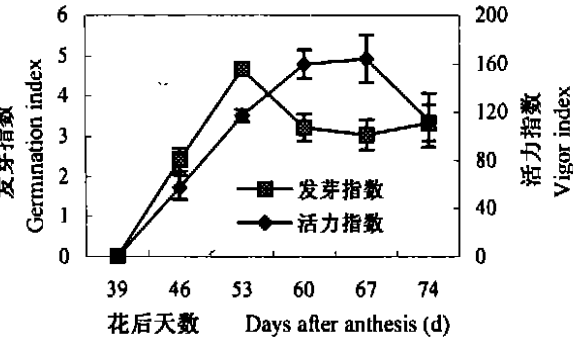


图 2 不同发育时期毛决明种子的发芽指数和活力指数
Fig. 2 Germination index and vigor index of *Cassia hirsuta* seeds at various developmental stages

所以种子脱水耐性由大至小依次为花后 60、67、74、53 和 46 d(图 3)。

不同发育时期的种子在脱水处理过程中,发芽率与含水量的变化有显著的相关关系(见图 3 和表 2)。用最小二乘法拟合发芽率(G)与含水量(M)的二次曲线方程,根据回归方程推算种子发芽率降低至初始发芽率一半时的含水量(半致死含水量)数值(见表 2),结果表明花后不同阶段种子的半致死含水量 $M_{46} > M_{53} > M_{74} > M_{67} > M_{60}$,这与脱水耐性的高低刚好相反,半致死含水量越高表示种子越不耐脱水,因此用种子半致死含水量反映的脱水耐性与前面的结论是完全一致的。

表 2 不同成熟阶段毛决明种子的脱水敏感性分析
Table 2 Analysis of seed desiccation sensitivity of *Cassia hirsuta* at various developmental stages

花后天数(d) Days after anthesis	回归曲线方程 Regress curve equation	R^2 值 R^2 value	半致死含水量 (%) Semilethal moisture content
46	$G = -0.084M^2 + 9.01M - 172.45$	0.90	30.50
53	$G = -0.026M^2 + 3.39M - 19.81$	0.98	23.90
60	$G = -0.020M^2 + 1.87M + 54.04$	0.84	4.61
67	$G = -0.0434M^2 + 3.74M + 16.57$	0.96	6.28
74	$G = -0.1115M^2 + 7.33M - 50.63$	0.95	14.47

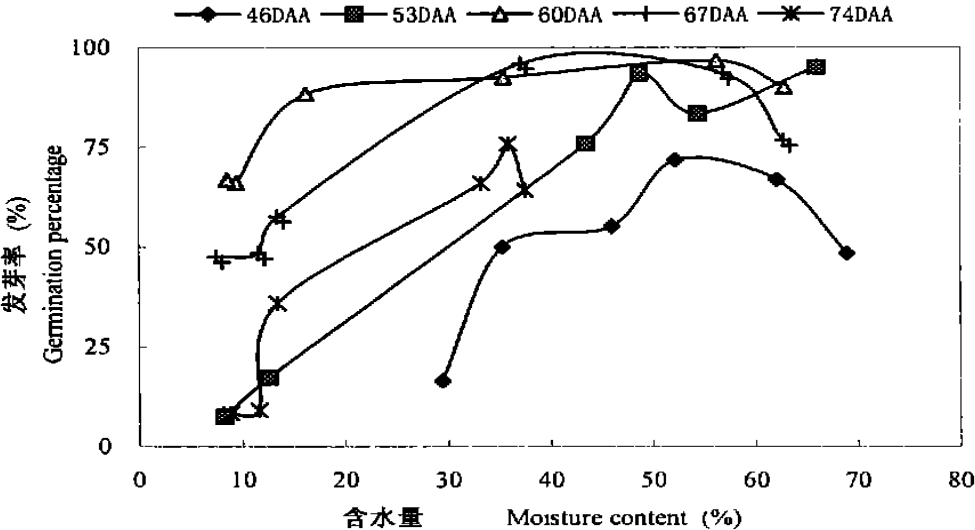


图 3 脱水对花后不同发育时期毛决明种子发芽率的影响

Fig. 3 Effect of desiccation on germination percentages of *Cassia hirsuta* seeds at various developmental stages (DAA means days after anthesis)

3 讨论和结论

毛决明种子在花后 25 ~ 67 d,干重逐渐增加,是发育过程中的干重增长长期,在此阶段主要是完成贮

藏物的积累;在花后的 67 d,干重达到最大值,说明种子已完成干物质的积累,同时种子发芽力也较高,表明种子已达到生理成熟期^[9]。种子在花后 46 ~

74 d, 含水量逐渐下降, 但含水量下降的速率是不同的, 花后 39 ~ 46 d 和 67 ~ 74 d 含水量下降速率明显快于其它阶段; 花后 67 ~ 74 d 含水量明显降低也表明种子有显著的成熟脱水阶段。种子在花后 39 d 尚无发芽力, 此后不断升高, 发芽率、发芽指数在 53 d, 活力指数在 67 d 达到最大值, 但随后有所下降, 因此毛决明种子在发育过程中发芽率、发芽指数和活力指数并不是完全同步的; 毛决明种子成熟时西双版纳气温仍然较高, 特别是白天, 种子发芽力在后期有所下降, 主要是由于种子在高温的环境中持续较长时间老化所致, 印度楝(*Azadirachta indica*)和粳稻种子也有同样的现象^[10]。

毛决明种子在花后 46 d 和 67 d, 轻微脱水可显著提高发芽力, 这与种子成熟过程中脱水可以促进萌发^[7]机制是一致的。香瓜(*Cucumis melo*)种子在花后 25 ~ 40 d, 脱水也提高了发芽率^[11]; 夏清华、陈润政、傅家瑞的研究表明未完全成熟的荔枝(*Litchi chinensis*)、龙眼(*Dimocarpus longun.*)和黄皮(*Clausena lansium*)种子经硅胶轻度脱水, 可提高其发芽率及活力指数^[8, 9, 11], 所以适度的脱水对一定阶段的未成熟种子的萌发有显著促进作用。

花后 60 d 的毛决明种子才具有较强的脱水耐性, 表明种子只有发育到一定阶段才获得较强的脱水耐性, 这与其它一些植物的种子是相似的。菜豆(*Phaseolus vulgaris*)和白芥(*Sinapis alba*)种子在发育中期后才耐脱水^[10]; 授粉 20 d 前的蓖麻(*Ricinus communis*)是不耐脱水的, 在 25 d 后才获得了脱水耐性^[12]; 未成熟的挪威槭树(*Acer platanoides*)种子, 含水量干燥到 20% 以下时会受到明显的干燥损伤, 生理成熟的种子能忍耐 12% ~ 15% 的含水量, 而生理成熟之后 3 ~ 4 周的种子含水量下降到 5% 以下, 生活力才会显著降低; 半熟的果实(黄色)中剥离的小果咖啡(*Coffea arabica*)和中果咖啡(*Coffea liberica*)种子的脱水耐性比未成熟的果实(绿色)中剥离的种子脱水耐性要强^[10], 所以植物种子的脱水耐性随着种子的发育而不断地变化, 通常达到一定成熟度后才能获得脱水耐性。花后 60 d 的毛决明种子脱水耐性最强, 而花后 67 d (种子生理成熟)有所下降, 说明该种子最大脱水耐性的获得在种子成熟之前; 而很多植物的种子发育成熟之后, 才能获得最大的脱水耐性^[10, 13]。此外, 花后 60 ~ 67 d 毛决明种子能忍耐的最低含水量约为 10%, 表明种子极可能是正常型。

毛决明种子脱水耐性在花后 60 d 最强, 67 d 变

弱, 表明种子发育到一定阶段之后, 其脱水耐性并不总是与成熟度呈正相关, 其它一些植物种子也有类似现象。成熟的大叶楠(*Machilus kusanoi*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)和甜椒(*Cap sicum annuum*)种子, 脱水耐性反而低于不成熟的种子; 半熟的果实(黄色)中剥离的小果咖啡(*Coffea arabica*)和中果咖啡(*Coffea liberica*)种子的脱水耐性比从成熟果实(红色)中剥离的种子脱水耐性要强得多^[11]; 黄皮(*Clausena lansium*)种子在花后 67 d 最耐脱水, 而在花后 74 ~ 88 d 反而下降^[9]。这些植物的种子在发育后期, 成熟度高的脱水耐性反而弱于成熟度低的, 甚至还有一些在发育中期以前脱水耐性较强, 之后反而变弱^[11], 其脱水耐性在发育过程表现为先由弱变强, 然后再变弱。Eeswara(1998)认为印度楝种子在黄绿色时就可采集, 如果推迟采集, 种子在高温高湿的环境中多持续一段时间, 这种植物的种子本身代谢又活跃, 反而引起种子的老化丧失脱水耐性; Ellis 和 Hong(1994)认为在种子成熟以后收获的种子可能会提高种子对极度干燥的敏感性, 如种植物粳稻时, 遇到高温又延迟收获, 就会使种子的耐干能力下降, 其耐干程度低于在成熟期收获的种子。因此高温条件下发育的正常型种子或在高温条件下老化的正常型种子表现出一些类似中间型种子的特征^[10], 毛决明种子在成熟后期脱水耐性变弱主要也是由于在高温环境引起的。

关于种子脱水耐性的获得主要有两种观点: 一种是认为种子在发育过程中从不耐脱水至耐脱水的转变是个突发过程, 即发生在一般相当短的时间内^[6]; 另一种观点则认为, 种子的脱水耐性是个数量性状, 是在发育过程中逐渐形成的, 而且在种子生理成熟后可继续加强^[14]。此外, Koster 则认为脱水耐性是种子在脱水期间为防止细胞损伤而对脱水产生的适应性变化结果^[15]。本研究表明毛决明种子脱水耐性是在发育过程中逐渐获得的, 而后又有所变弱, 是一种数量性状。种子处于过熟期(over-maturation stage), 脱水耐性有可能反而降低, 花后 67 d 的黄皮种子耐脱水力最强, 花后 88 d 果实成熟时最弱^[5]; 花后 84 d 的荔枝种子较耐脱水, 花后 98 d 当果实成熟时采收种子的耐脱水力却较弱^[8]。

研究种子脱水敏感性主要是研究种子含水量降低到较低程度时, 发芽率和活力指数的变化情况。目前评价种子脱水耐性的方法主要有两种: 观测种子所能忍受的最低含水量(含水量降到最低, 但在此含水量时种子生活力并不下降)^[11]; 计算脱水敏感度

(种子活力下降一半时含水量的变化程度,活力下降一半时的含水量与种子初始含水量的比值)^[9]。由于毛茛种子脱水时发芽率的变化与含水量呈显著的相关关系,因此用发芽率的变化来反映种子的脱水耐性是比较可行的。金剑平,傅家瑞等用种子发芽率下降一半时含水量的变化程度来计算黄皮种子的脱水敏感度,脱水敏感度用发芽率下降到一半时的含水量与初始含水量的比值来表示^[9]。Berjak 分别将顽拗性种子和正常性种子称为含水量不变的(homoiodydrous)种子和含水量变化的(poikilodydrous)种子^[16],黄皮种子是顽拗性种子,在发育过程中含水量变化不大,特别是发育后期,含水量无明显差异,因而在一定程度上也是用种子发芽率下降一半时的含水量即半致死含水量来表示种子的脱水敏感性。毛茛种子是在发育过程中含水量变化较大的种子,用种子半致死含水量数值来比较不同发育时期的脱水耐性,与前面的脱水耐性分析的结论是一致的,因而是可行的。

致谢:中山大学生命科学学院宋松泉教授对本文的写作提出了很宝贵的意见,实验工作中得到本园何惠英同志的支持和帮助,特此致谢。

参考文献:

- [1] Welbaum G E, Tissaoui T, Bradford K J. Water relations of seed development and germination in Muskmelon (*Cucumis melon* L.). *J Experi Bot*, 1989, **40** (221): 1355-1362.
- [2] 黄祥富,傅家瑞,黄上志. 种子脱水耐性的生理机制. 种子, 1998, **3**: 33-36.
- [3] 姜孝成,傅家瑞,宋松泉,等. 种子的成熟脱水与耐脱水性. 植物生理学通讯, 1995, **31**(6): 457-463.
- [4] 傅家瑞. 顽拗性种子. 植物生理学通讯, 1991, **27**(6): 402-406.
- [5] 梁永恒,黄上志,傅家瑞. 植物种质资源的保存. 植物生理学通讯. 1999, **35** (3): 244-248.
- [6] Blackman S A, Wettlaufer S H, Obendorf R L, et al. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance in soybean. *Plant Physiology*, 1991, **96**: 868.
- [7] Kermode A R, Dumbroff E B, Bewley J D. The role of maturation drying in the transition from seed development to germination. *J Experi Bot*, 1989, **40** (221): 303-313.
- [8] 夏清华,陈润政,傅家瑞. 不同发育时期荔枝种子的生理研究. 中山大学学报, 1993, **32** (1): 80-84.
- [9] 金剑平,傅家瑞,姜孝成. 不同发育时期黄皮种子脱水敏感性的研究. 热带亚热带植物学报, 1994, **2** (2): 58-64.
- [10] Hong T D, Ellis R H. A protocol to determine seed storage behaviour [M]. IPGRI Technical Bulletin No. 1. (Engels J M, J Toll vol eds.) Rome, Italy: International Plant Genetics Resource Institute, 1996. 1-51.
- [11] 夏清华,陈润政,傅家瑞. 荔枝和龙眼种子胚轴的脱水及贮存. 华南植物学报, 1992: 试刊 I: 40-47.
- [12] 吕小红翻译整理. 种子成熟脱水干燥的生理生化作用. 种子, 1990 (3): 77-80.
- [13] Ellis R H, Hong T D. Desiccation tolerance and potential longevity of developing seeds of rice (*Oryza sativa* L.). *Ann Bot*, 1994, **73**: 501-506.
- [14] Sun W Q, Lepolod A C. Acquisition of desiccation tolerance in soybeans. *Physiol Planta*, 1993, **87**: 403.
- [15] Koster K L. Glass formation and desiccation tolerance in seed. *Plant Physiol*, 1988, **88**: 829.
- [16] Berjak P, Farrant J M, Mycock D J, et al. Recalcitrant Seeds: the enigma of their desiccation-sensitivity. *Seed Science and Technology*, 1990, **18**: 297-310.