

元宝槭种子休眠生理的研究*

孙秀琴 田树霞

(中国林业科学研究院林业研究所)

摘要 本文对元宝槭种子休眠生理进行了研究。发现未受损的完整种子, 在休眠结束之前, 需经低温2~5 °C层积40~50天处理才可萌发; 而剥去果皮、种皮的种子在恒温25 °C, 每天光照8h条件下, 1.5天就萌发, 6天萌发率达99%。影响种子休眠的原因主要是元宝槭种子的果皮、种皮对种胚的吸氧量起着阻滞作用; 对种胚的膨胀有物理机械性限制作用。其次是抑制物——单宁的向外弥散。经过层积的种子由于酶活性增强, 促进了胚内营养物质的转化, 因而提高了种子对抑制作用的抵抗能力, 使休眠期缩短, 萌发期提前。

关键词 元宝槭; 种子休眠; 抑制物

元宝槭(*Acer truncatum* Bunge)为槭树科树种, 又名元宝枫, 是主要的绿化、用材树种。种子可榨油, 果皮和种皮可提取单宁。因此, 元宝槭又是一个经济树种^[1]。

元宝槭种子和其他槭树种子一样, 在休眠结束前需要一个潮湿低温条件。如糖槭(*Acer saccharum* Marsh.)、挪威槭(*Acer platanoides* L.)的种子中含有休眠型种胚^[2,3]; 圆叶槭(*Acer circinatum* Pursh)、茶条槭(*Acer ginnala* Maxim.)、羽叶槭(*Acer negundo* L.)和欧亚槭(*Acer pseudoplatanus* L.), 其休眠原因是种子外果皮和种皮之故^[3,4], 这说明在同类物种中, 种子的休眠方式是有区别的。元宝槭种子休眠方式是哪一种? 其休眠生理怎样? 果皮、种皮以及抑制物起了什么作用? 作者自1987年至今进行了初步探索, 以期为今后元宝槭种子检验的预处理、苗圃播种及解除种子休眠提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

元宝槭种子于1987年采自北京。风干种子含水量为8.5%, 净度为96%, 千粒重为175.2 g。

1.2 方法

1.2.1 种子层积处理 完整种子和剥果皮种子用1%的次氯酸钠消毒10 min, 冲洗净后, 再放到20 °C水中吸胀一昼夜, 取出用湿砂层积, 置于4 °C条件下, 进行20、30、40、50天发芽率测定。

1.2.2 萌发能力测定 将完整种子和剥去果皮、种皮种子分别放在垫有湿润滤纸的培养皿内, 在恒温25 °C、每天光照8 h条件下进行萌发试验, 并观察记录。

本文于1990年11月23日收到。

* 本项研究的液相色谱分析、电镜扫描由中国林科院分析中心王文芝、腰希申两位工程师完成, 在此一并致谢!

1.2.3 扫描电镜观察 观察种子的果皮、种皮对种胚膨胀的物理性限制作用及其结构特性对种子萌发的影响。

1.2.4 种子果皮、种皮的透性测定

1.2.4.1 种子的透水测定 取5 g完整种子和剪破果皮、种皮种子,按重量变化测定吸水率。2次重复。

1.2.4.2 种子的透气性测定 用瓦氏微量呼吸计测定完整种子、去果皮和去种皮种子的吸氧量,每组4次重复。试验种子需先消毒,然后吸胀两昼夜,取出吸干表面浮水再测定。

1.2.5 种子果皮、种皮抑制物的测定

1.2.5.1 种子内源激素的测定 取1 g果皮和种皮样品,加25 ml甲醇在低温条件下搅拌,反复提取,然后浓缩。浓缩液用高效液相色谱仪分析测定激素活性物质(ABA、IAA、GA₃、Z)。

1.2.5.2 未层积和层积种子的果皮、种皮水浸出液的制备 分别取50粒种子的果皮和种皮,研磨,放入装有40 ml蒸馏水的三角瓶中,置于4℃条件下两昼夜,然后以4 000转/min,离心20 min,取上清液待用。

(1) 用该浸出液对小白菜种子做生物鉴定;

(2) 用该浸出液对已解除休眠的元宝槭种子做回归试验。

1.2.6 风干种子和层积不同时间种子单宁(鞣酸)含量的测定 分别取样品加入乙醚、乙醇混合液(4:1),提取单宁,用滴定法测定单宁含量。

1.2.6.1 测试果皮、种皮内的化学物质单宁抑制活性。

1.2.6.2 用已知单宁对已解除休眠的元宝槭种子进行鉴定性试验。

1.2.7 用721分光光度计测种子脱氢酶活性 ①取不同处理层积40天种子的胚;②将胚用0.1% TTC溶液染色,用丙酮提取、定容、离心,再用分光光度计在490 nm波长处测各光密度值。

1.2.8 用蒽酮法测子叶可溶性总糖量 配10~120 μg/ml葡萄糖系列溶液,用721分光光度计在620 nm波长处测光密度值,绘标准曲线。取层积20、30、40、50、60天不同处理种子的子叶各1 g(干重),磨碎,用80%乙醇煮沸,反复提取上清液,离心、定容,取0.1 ml定容液,加3 ml蒽酮,在90℃温度下加热10 min,冷却后用620 nm波长测光密度值。再从标准曲线上查出层积不同天数的子叶可溶性糖的含量。

2 结果与分析

2.1 种子层积处理

从图1看出,元宝槭种子需要冷层积才能萌发。试验说明种子随层积时间的延长休眠逐渐被解除,尤以去果皮的种子效果最显著。层积40天和50天的去果皮种子发芽率分别为70%和92%;完整种子分别为34%和70%。显然,剥果皮有利于种子萌发。试验得出这样结论:果皮不仅机械地阻碍了种胚的膨胀和氧气量的透过,同时也阻碍了种子内抑制萌发物质的分解与外渗。

2.2 种子果皮、种皮对发芽的影响

元宝槭种子较大的成熟胚,经“四唑”染色测定发现其生活力很强。元宝槭种子果皮、种

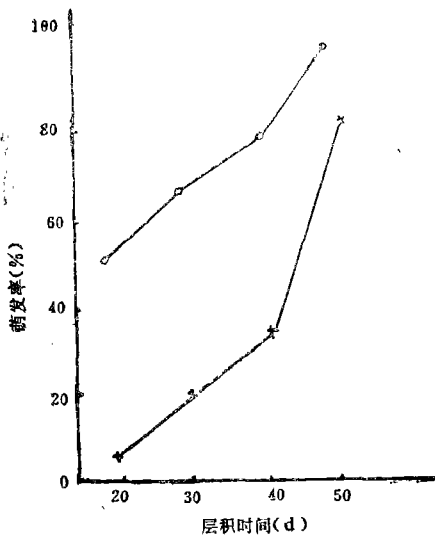


图1 低温层积对种子萌发的影响

○—○—剥果皮种子 ×—×—×完整种子

皮均较薄,若想使其萌发,却很困难^[2]。所以进行果皮、种皮对种子发芽影响的比较实验。从表1可以看出,在同样培养条件下,剥去果皮、种皮的种子1.5天就初萌,6天发芽率达99%;只剥果皮的种子3天初萌,10天发芽率达30%;而完整种子19天才开始初萌,30

表1 果皮、种皮对种子发芽的影响

种子处理	发芽条件		初萌天 数(d)	发芽率 (%)	萌发天 数(d)
	基质	光照 (h) 温度 (°C)			
完整(对照)	滤纸	8 25	19	2	30
剥果皮	滤纸	8 25	3	30	10
剥种皮	滤纸	8 25	1.5	99	6

注:完整种子胚根伸出果皮、种皮即为初萌;去果皮种子胚根伸出种皮为初萌;去掉果皮、种皮的种子胚伸长到其纵轴长的1.5倍为初萌。

天发芽率也仅有2%,此现象足以说明种子的果皮、种皮是引起休眠的原因,而胚本身并不休眠。

2.3 果皮、种皮对种胚物理性限制作用

用扫描电镜对元宝槭果皮、种皮进行了观察。图2表明元宝槭种子果皮细胞壁上的纤维素组成了许多微纤丝(木质部外纤维素分子),聚集成有规则排列致密的条纹状^[6]。这种木质化了的果皮对种胚的膨胀及抑制物的弥散是不利的。

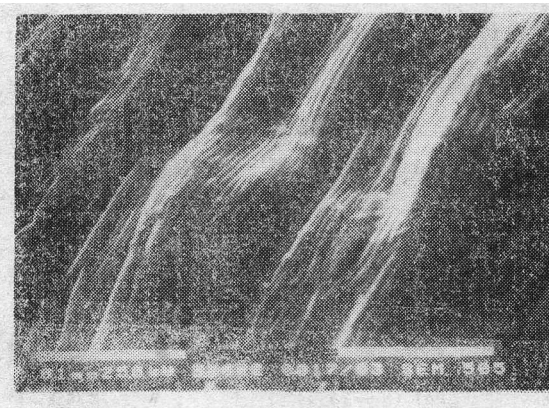


图2 元宝槭果皮电镜扫描结果 (326×)

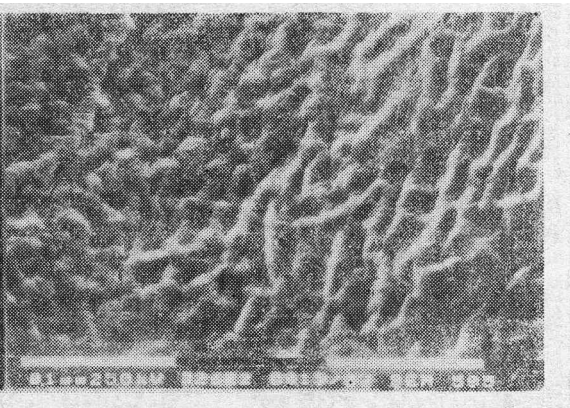


图3 元宝槭种皮电镜扫描结果 (326×)

图3表明薄而硬的种皮,经电镜观察,种皮的厚角组织细胞有大量的果胶质和大石细胞^[6],细胞壁上的微团在轴面上的方向是有规律鱼鳞坑状,种皮的这种结构有碍气体交换,降低氧的透过率,影响种子萌发所需要的能量来源,即有机物的生物氧化。符合树木种子休眠的一个重要原因就是种皮(外被)阻碍胚对水分、氧气的吸收,机械地阻碍胚的生长和抑制物质向外扩散,从而延误萌发的理论^[4]。

2.4 果皮、种皮对透性的影响

2.4.1 种子的透水性 据韦布(Webb)和沃尔因(Wareing)在1972年报道^[4], 欧亚槭种子经10天的浸泡, 带种皮和去种皮的种子所吸收的水分足以满足种子萌发用水。所以他们断定种皮的吸水障碍似乎不能看作是种子产生休眠的原因, 还认为其他槭属植物也表现了类似情况。

本试验的元宝槭种子, 无论完整种子还是剪破果皮、种皮的种子, 浸水12 h后, 吸水量均超过全部吸水量的75%。虽然剪破

果皮、种皮种子初始48 h吸水较快, 到72 h时, 两者吸水基本相同(图4)。由此可见透水性不是种子萌发的限制因子, 此结果与上述结论^[4]完全一致。

2.4.2 种子的透气性 由于果皮结构致密, 种皮吸水后明显地粘液化, 降低了种子的透气性。剥去果皮、种皮后, 种子吸氧量($\mu\text{l/g}$ 干重·h)大大地增加, 完整种子22.8; 去果皮种子48.1; 去种皮种子138.3。这不仅提高了种子的有氧呼吸能力, 而且有利于种子脂肪转化为糖。因而, 果皮、种皮限制氧气的透入是影响种子萌发的重要原因之一。

2.5 果皮、种皮内抑制物对种子萌发的影响

2.5.1 经高压液相色谱分析种子果皮、种皮内源激素物质的测定表明, 果皮内含有促进萌发的玉米素(Z)和赤霉素(GA_3), 不含抑制剂脱落酸(ABA); 种皮内尚未检出激素类物质(图5)。因而元宝槭种子不是因果皮、种皮内含有抑制萌发的脱落酸而休眠。

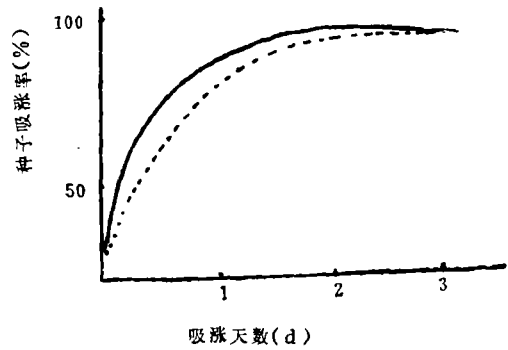


图4 水的吸涨曲线

----完整种子; ——剪破果皮、种皮种子

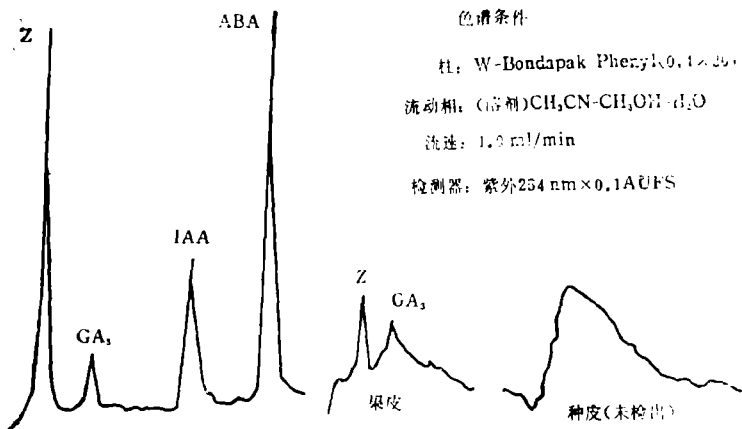


图5 四种植物激素标准样图

2.5.2 种子果皮、种皮水浸出液对种子萌发的影响

(1) 小白菜种子的生物鉴定表明, 元宝槭种子果皮、种皮中存在种子萌发的化学抑制剂(表2)。

由表2看出未层积果皮、种皮水浸出液中均存在某种萌发抑制物, 其发芽率和根茎平均

总长都低于对照。

(2) 已解除休眠的种子回归试验表明, 元宝槭种子的果皮、种皮水浸出液不仅抑制小白菜种子的萌发生长, 而且也有效地抑制了已经解除休眠的种子继续萌发和生长(表3)。试验证明种子果皮、种皮确实存在抑制种子萌发的化学抑制物, 而且种皮大于果皮, 并通过层积可使这种物质向外弥散。此结果从逆方向验证了 Webb 和 Wareing 对欧亚槭种子通过水的淋溶促进种子萌发的试验。

表3 果皮、种皮水浸出液对已萌发种子的抑制状况

层积时间 (d)	浸出液	根下胚轴平均长 (cm)	与对照比 (%)	生长状况
对 照	蒸 馏 水	2.11	100	胚根和胚轴生长健壮, 根毛多而白嫩
未 层 积 (0)	果皮浸出液	1.23	58.3	胚根受抑制, 胚轴生长缓慢, 根毛少
	种皮浸出液	0.45	21.3	胚根和胚轴均受抑制, 无根毛, 褐色
层 积 (63d)	果皮浸出液	1.86	88.1	胚根微受抑制, 胚轴生长良好, 根毛多而白
	种皮浸出液	0.74	35.1	胚根受抑制, 胚轴有少量伸长, 无根毛, 淡褐色

2.6 种子果皮、种皮的乙醚+乙醇提取液对种子萌发生长的影响

2.6.1 据有关资料记载, 元宝槭种皮单宁含量达16.6%, 较一般植物的含量都高^[1]; 不仅其茎的皮含有单宁, 种皮组织中也存有单宁^[6]。表4表明, 随层积时间的延长, 单宁向外弥散越多, 发芽率也相应地提高。看来, 这种单宁物质对种子萌发起着很强的抑制作用。

2.6.2 用已知单宁对已解除休眠的元宝槭种子进行鉴定性实验。表5表明种子果皮、种皮水浸出液对小白菜种子的生物测定及对已解除休眠种子的回归实验的抑制作用做到了内外印证, 并随浓度的提高抑制作用也越来越明显。

单宁含有丰富的酚羟基, 它通过酚氧化酶固定氧, 阻碍胚的需氧呼吸, 单宁与蛋白质结合会抑制酶活性, 进而影响种子养分的分解、转移、利用及所有代谢过程。

表4 果皮、种皮内单宁含量的测定

层积时间 (d)	试 材	单 宁 含 量 (mg/100ml·粒)	层积/对照 (%)
对 照 (0)	果 皮	1.71	100
	种 皮	7.80	100
(30)	果 皮	0.99	58
	种 皮	7.29	93
(50)	果 皮	0.97	57
	种 皮	6.44	83

表2 果皮、种皮水浸出液对小白菜种子萌发与生长的影响

处 理	试 材 浸出液	发 芽 率 (%)	根 茎 平 均 长 (cm)	根 茎 长 / 对 照 (%)
未 层 积	蒸 馏 水	86	2.27	100
	果 皮 液	76	1.74	76
	种 皮 液	70	0.53	23
层 积 (63d)	蒸 馏 水	50	3.54	100
	果 皮 液	48	3.74	105
	种 皮 液	54	1.46	41

注: 层积和未层积不是用同一批的小白菜种子。

2.7 不同层积处理对种子胚脱氢酶活性的影响

从表6可以看出, 未层积胚的脱氢酶活性最低, 测得光密度值为0.128, 层积40天的完整种子为0.202, 剥去果皮种子更为显著。经40天湿冷层积处理的完整和去果皮种子发芽率分别为34%和70%, 说明种子在层积期间不仅呼吸作用加强, 而且脱氢酶活性有不同程度的提高, 同时也表明了细胞内部已

表5 已知单宁对已解除休眠的元宝槭种子的抑制作用

浓度 (mg/ml)	根和下胚轴 平均长 (cm)	处理/对照 (%)	生长状况
对照	4.9	100	根生长迅速白嫩粗壮, 侧根3~7根, 子叶绿, 真叶展开, 下胚轴长1~2cm
0.2	4.89	99.8	根生长迅速白嫩粗壮, 侧根3~7根, 子叶绿, 真叶展开, 下胚轴长1~2cm
0.5	4.50	92.8	根有轻度抑制, 侧根3~5根, 子叶绿, 真叶展开, 下胚轴短, 1~1.5cm
2.0	2.15	43.8	根受抑制, 无侧根, 子叶展开, 但较黄, 少数真叶展开, 下胚轴仅0.5cm
5.0	1.70	34.7	根被抑制, 子叶展开但小而黄瘦。个别长出真叶, 下胚轴很短, 约0.2cm
10.0	1.47	30.0	已露出果皮种皮的胚根全部被抑制, 而且很黑, 子叶也未展开, 无真叶

发生了一系列有利于种子萌发的生理生化变化。可见脱氢酶活性反应着种子活力水平^[7]。

2.8 层积对种子可溶性糖含量的影响

元宝槭完整种子在2~5℃湿润条件下层积可促进水解酶活性的提高, 有利于种子贮藏物质的转化利用。实验表明, 经层积处理的种子, 可溶性总糖量初始迅速提高, 后又逐渐降低。由图6还可看出, 子叶中的淀粉水解后所产生的可溶性糖, 已逐渐转移到胚轴, 供种子萌发利用。

综上所述, 受损完整种子的果皮、种皮及其所含的化学抑制物, 虽然不利于种子萌发, 但随着层积时间的延长、种子细胞呼吸作用的加强、酶活性的提高和贮藏物质的转化, 使较大成熟的胚具备了冲破果皮、种皮萌发的能力。

表6 不同层积处理对种子胚脱氢酶活性的影响

层积时间(d)	光密度(OD值)	层积/对照(%)
(0)对照	0.128	100
(40)完整种子	0.202	158
(40)剥果皮种子	0.232	181

注: 光密度为三次实验的平均数。

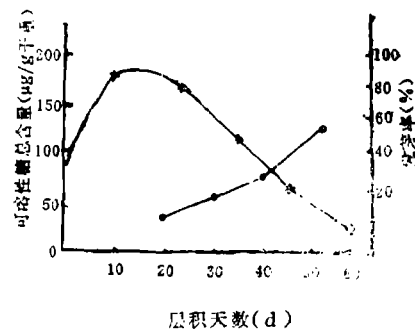


图6 层积对元宝槭种子可溶性糖含量的影响
×—×—×可溶性糖; o—o—o发芽率

3 结束语

经过湿润层积处理的元宝槭种子, 增加了酶的活性, 促进了营养物质转化, 克服了因果皮、种皮和单宁物质对发芽的阻碍作用(限制种胚膨胀的物理作用、气体交换作用以及单宁的向外扩散)。因而, 元宝槭种子, 在苗圃生产上, 可通过沙藏或雪藏, 克服这种阻滞作用; 在种子检验中, 作为预处理可剥去果皮、种皮在恒温25℃、每天光照8h条件下进行培养, 可获得很理想效果。

参 考 文 献

- [1] 中国树木志编委会, 1983, 中国主要树种造林技术, 中国林业出版社, 761~765。
- [2] 国际种子检验协会(ISTA), 1985, 国际种子检验规程, 农业出版社, 221~225。
- [3] 美国农业部林务局(李霆等译, 1984), 美国木本植物种子手册, 中国林业出版社, 285~303。
- [4] Webb, D. P. et al., 1972, Seed dormancy in *Acer pseudoplatanus* L.: the role of the covering structures, *J. Exp. Bot.*, 23, 813~829。
- [5] E. G 卡特, 1970, (李正理译, 1973), 植物解剖学(试验和解说), 科学出版社, 55~66。
- [6] L. O 考布莱德, (许蕊仙等译, 1987), 种子科学原理及技术, 黑龙江科学技术出版社, 43~60。
- [7] 傅家瑞, 1985, 种子生理, 科学出版社, 204~292。

A Study on the Dormant Physiology of Acer truncatum Seeds

Sun Xiuqin Tian Shuxia

(The Research Institute of Forestry CAF)

Abstract Dormancy is one of the characteristics of *Acer truncatum* seeds. During the dormant period, pericarp and seed coat played an important and manifold role. Before the state of dormancy was over, the undamaged perfect seeds had to be kept under a condition of low temperature (2~5 °C), and a stratification for 40~50 days. Under the condition of 25 °C, the seeds after removing mulch could germinate without pre-treatment. Seed mulch has inhibitory effect on oxygen absorption of seed embryo and limits the swelling of embryo physically and mechanically, and hinders the spread of inhibitor to seed germination. During the process of stratification treatment, with the continuous increase of nutritive substance in embryo, the resistance of seeds to inhibitors increased uninterruptedly. Eventually the seeds overcame the inhibition from outer tissue and germinated.

Key words *Acer truncatum*; seed dormancy; inhibitor