

IDX 法快速测定火炬松种子生活力的研究*

沈永宝 高捍东 喻方圆 金天喜 曾宪志 喻虹

关键词 IDX 法 火炬松种子 种子生活力

种子发芽能力是表明种子播种品质的重要指标之一。种子播种品质的测定通常采用发芽试验,由于发芽试验持续时间长,而且有时受种子自身休眠的限制,发芽试验前首先要打破休眠,无疑相对增加了检验时间,无法满足种子生产、管理和贸易的需要。为此,人们一直在探求一种既简便又快速、可靠的测定种子生活力的方法。1957年 Simak^[1]首次用 BaL 作衬比剂测定欧洲赤松种子生活力,我国陈幼生等^[2,3]用 KI 作衬比剂测定湿地松、马尾松种子的生活力。由于树种的多样性和特异性,这项技术还未能用于所有树种。1980年 Simak^[4]又提出水可作为广谱衬比剂而适用于所有树种,并成功地用 IDX 法测定了美国海岸松种子生活力。但至今再未见有关水衬比测定种子生活力的报道。本文以具有休眠习性的火炬松种子为研究对象,研究其生活力水衬比测定技术,为开展其它树种种子生活力的 IDX 法快速测定制定出较系统的实验体系。

1 材料和方法

1.1 IDX 法(I:培养,D:干燥,X:射线摄影)原理

活种子和死亡种子在吸水后,由于细胞膜的透性不同,在干燥过程中活种子持水能力强,死种子持水能力差。干燥后,由于两种类型种子内部含水量的不同导致其 X 射线图像产生差异,借此来辨别有生活力种子和无生活力种子。

1.2 种子培养

随机抽取 4×100 粒火炬松种子,在 25℃ 条件下分别作如下处理:

- A. 水浸 24 h
- B. 水浸 48 h
- C. 水浸 24 h+ 置床培养 24 h
- D. 水浸 24 h+ 置床培养 48 h

培养结束后,用吸水纸吸干种子表面水分并立即进行软 X 射线摄影(本文火炬松种子射线摄影条件为:3号放大纸,25 kV,3 mA,70 s,250 mm 胶片距),根据射线图像比较各处理效果。

1.3 种子干燥

分别随机抽取约 100 粒自然老化死亡种子(发芽率为 0%)和高活力种子(发芽率大于

1996—10—21 收稿。

沈永宝讲师,高捍东,喻方圆(林业部南方林木种子检验中心 南京 210037);金天喜,曾宪志,喻虹(贵州省林业厅种苗站)。

* 本文为贵州省“九五”重点课题“IDX 法快速测定松类树种种子生活力的研究”的部分内容。

95%) 并称重, 按 1.2 节所确定的最佳培养条件培养之后, 用吸水纸吸干种子表面水分。用硅胶作干燥剂, 分别对死、活种子进行干燥(30), 并且每间隔 1 h 称重 1 次, 直至死亡种子失去在培养过程中吸收的全部水分为止。以种子原始重量为干重, 绘制死、活种子失水区线, 找出最佳干燥时间。

1.4 仪器和材料

HY-35 型农用 X 射线机, D72 显影液, 酸性定影液, 硅胶, 干燥器, 烘箱等。

2 结果与讨论

2.1 火炬松种子最佳培养条件的确定

培养的目的是让种子充分吸胀, 活化种子细胞, 增强活种子持水能力。培养时间和培养温度直接影响培养效果和检验时间。通过比较各培养条件种子射线图像发现: 24 h 水浸+ 24 h 置床培养和 24 h 水浸+ 48 h 置床培养这两种处理都能使种子内部结构无法分辨(包括死种子和活种子), 达到培养目的。但后一种培养条件由于时间太长, 部分种子种壳胀裂, 影响种子干燥时失水的真实速度, 进一步影响测定结果。Simak^[4]在测定美国海岸松种子生活力时的培养温度为 15 , 培养时间为 3 d, 但作者认为该温度偏低, 培养时间太长。本研究火炬松种子培养温度定为 25 , 该温度是火炬松种子最佳发芽温度, 在该温度下细胞活化速度快, 可大大缩短检验时间。因此火炬松种子的最佳培养条件应为: 24 h 水浸+ 24 h 置床培养。

2.2 火炬松种子最佳干燥时间的确定

由于活种子细胞膜的作用, 使其有较强持水能力, 在干燥过程中失水较慢。从图 1 可以看出, 死亡种子经 5 h 干燥后已经失去在培养过程中吸收的全部水分, 而活种子仍持有较多水分。此时死、活种子持水量差异和图像差异都较大, 因此火炬松种子的最佳干燥时间为 5 h。种子干燥过程的失水速度取决于干燥条件, 即干燥温度和湿度。如果干燥速度过快, 可能减少死、活种子失水的差异。本研究种子的干燥是采用硅胶作干燥剂, 干燥

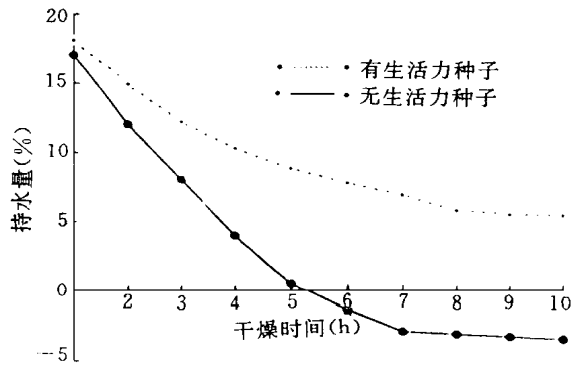


图 1 死、活种子在干燥过程中持水量的变化

温度为 30 , 主要是考虑到硅胶可反复使用, 干燥速度适中, 而且可通过其颜色的变化较容易地辨别其干燥能力。此外, 干燥温度不宜过高, 以防止高温伤害活种子而影响失水速度, 进一步影响测定结果的准确性。

2.3 死、活种子的判断

根据图 1 可知, 火炬松种子在经 5 h 干燥后, 死亡种子内部水分与培养前一致, 其 X 射线图像特点应与直接射线摄影图像一致, 即可见种子内部各结构(种腔、胚腔、胚乳和胚); 而活种子则相

图 2 死、活种子 X 射线图像

1. 死种子 2. 活种子

反,因持有较多水分而使内部结构无法辨认(见上页图 2)。通过对种子图像和定位发芽与否的比较分析,还发现仅见种腔的种子仍能发芽,这可能是由于其种腔稍大的缘故,这类种子应属于活种子。

2.4 IDX 法与发芽试验的比较

用以上所确定的培养、干燥条件和死、活种子判别标准,测定了 12 份具有不同活力的火炬松种子生活力,其测定结果与发芽试验结果的差异(表 1)均在 GB2772—81 所规定的允许误差范围内。但从表 1 还可以看出 IDX 法测定的所有样品生活力均高于发芽率,这主要因为:对于某些种子个体而言,本试验所采用的发芽条件(国际标准)可能还满足不了其萌发的需要,如果条件适宜,可能还会萌发,因此在常规发芽测定结束时必须统计新鲜未发芽种粒^[5]。而用 IDX 法测定生活力,这些新鲜种子图象均表现为有生活力种子特征。

2.5 IDX 法与四唑法的比较

IDX 法与四唑法相比有许多优点:(1)省时、省工。IDX 法不需要将种壳去掉,甚至将种胚取出,而是利用 X 射线穿透性质达到测定目的。此外,IDX 法测定样品量大,如 4×100 粒种子,这足以保证测定结果的可靠性,这是四唑法无法做到的。(2)IDX 法在某种意义上也可认为是一种染色法,与四唑法不同的是所用染色试剂不同。IDX 法是用水,不仅无污染,而且价格低廉。(3)IDX 法对死、活种子的判读容易。它是将死、活种子的内部差异反映在图像上,更直观,易辨别。此外,种子射线片可永久保存。(4)IDX 法不破坏种子,是一种无损检验,这对种子样品数量少或珍稀树种种子的检验尤为重要。(5)IDX 法简单,死、活种子判别标准易掌握,测定结果准确,一般人员稍加培训即可进行该项工作。尽管 IDX 法有众多优点,但目前还没引起种子学者的足够重视,相信不久的将来将成为普遍使用的一种快速测定种子生活力的方法,并纳入种子检验规程。

参 考 文 献

- 1 Simak M, Kamra S K. Comparative studies on scots pine seed germinability with terazolium and X-ray contrast method. Proceeding of the Znternational Seed Testing Association, 1963, 28(1): 3 ~ 18.
- 2 陈幼生, 吴琼美, 陈智建, 等. 湿地松种子衬比检验方法的研究. 中南林学院学报, 1992, 2: 112 ~ 115.
- 3 陈幼生, 吴琼美, 陈智建, 等. X 射线衬比法测定马尾松种子发芽能力的研究. 林业科学研究, 1993, 6(5): 583 ~ 587.
- 4 Simak M. A method for removal of filled-dead seeds from a sample of *Pinus contorta*. Seed Science & Technology, 8 (12): 767 ~ 775.
- 5 ISTA (李家义, 支巨振, 黄亚军, 等译). 1993 国际种子检验规程. 上海: 上海科学技术出版社, 1995.

表 1 12 份火炬松种子样品用 IDX 法测定的生活力与常规发芽率的比较 (单位: %)

样品号	生活力	常规发芽率	绝对误差
01	84	80	4
02	95	92	3
03	96	92	4
04	84	78	6
05	18	15	3
06	92	87	5
07	57	50	7
08	85	79	6
09	35	28	7
10	1	0	1
11	43	38	5
12	97	94	3

注: 发芽率和生活力均对饱满种子而言。

Studies on IDX Method for Testing Viability of Loblolly Pine Seeds

*Shen Yongbao Gao Handong Yu Fangyuan
Jin Tianxi Zeng Xianzhi Yu Hong*

Abstract This paper chooses water as contrast agent for testing loblolly pine seed viability. The IDX method proceeded as follows: The seeds were soaked in water at 25 °C for 24 hours, then put on germination medium at 25 °C for 24 hours. After that the seeds were dried at 30 °C for 5 hours with SiO₂. The dried seeds were radiographed with NO. 3 enlarging paper under the following condition: Voltage= 25 kV, electric current= 3 mA, exposure time= 70 s, focus-film-distance= 25 cm. The image of seed with seed structure was considered as dead seed. According to this standard, the seeds viability by IDX method agreed quite well with the actual germination percentage.

Key words IDX method loblolly pine seed seed viability

Shen Yongbao, Lecturer, Gao Handong, Yu Fangyuan (Southern Tree Seed Inspection Centre Nanjing 210037); Jin Tianxi, Zeng Xianzhi, Yu Hong (General Administration of Tree Seed and Seedling, Guizhou Province).

《天然产物研究与开发》征稿、征订启事

本刊是由国家科委和国家新闻出版署批准的国内外正式公开发行的综合性学术季刊,是我国唯一专门报导天然产物研究与开发的科技刊物。本刊由中国科学院成都分院、中国科学院成都文献情报中心、中国科学院成都地奥制药公司、国家天然药物工程技术研究中心和深圳三九(999)企业集团医药研究院等合办。本刊内容主要包括植物、动物、生物高分子等天然产物(特别是天然药物)的资源分布、鉴定、分析、提取、改性、合成、仿生和利用。栏目有: 研究论文、研究简报、开发研究、新药专栏、综述、新产品新技术新方法等。自一九八九年创刊以来,本刊已先后被英国大英图书馆、美国化学文摘社、中国国家图书馆、中国科技信息所等国内外大型权威文献机构全部典藏,被美国《化学文摘》、美国《植物学文摘》、《中国药学文摘》、《中国生物文摘》、中国化学化工数据库、中国生物医学光盘数据库、中国农林数据库、中国科技期刊数据库等收录。据《美国化学文摘资料来源索引》统计,1992年在美国《化学文摘》收录的150多个国家和地区的14000多种期刊中,本刊排列第755名;在我国(包括台湾)入围美国《化学文摘》千名表的45种期刊中,本刊排名第29位。一九九五年本刊被评为四川省首届优秀期刊。本刊征求有应用开发前景的有关天然产物研究与开发的来稿。欢迎订阅,每本定价10元,全年40元,各地邮局均可订阅。也可邮汇订费到本刊编辑部订阅。本刊国内统一刊号CN51-1335/Q,邮发代号62-107。邮编:610041;地址:四川省成都市人民南路四段九号,中国科学院成都文献情报中心《天然产物研究与开发》编辑部;电话:(028)5210304,5223853;电子邮件:clad@ntr.cdb.ac.cn;传真:(028)5220439;开户行:成都市交行磨支科分处;帐号:0149002028。