

不同发育时期水曲柳种子的形态生理变化及其层积处理后的萌发效应

张鹏, 沈海龙*

东北林业大学林学院, 林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 哈尔滨 150040

摘要: 探讨不同发育时期水曲柳种子的外部形态和生理变化及其层积处理后的萌发效应结果表明: 水曲柳开花120 d后为成熟脱水阶段, 开花110 d后种子的胚长和胚乳干重趋于稳定, 花后110~120 d期间种子胚干重趋于稳定; 花后70~100 d采集的种子不耐层积, 层积处理后逐渐死亡, 花后110 d采集的种子经层积处理后可以萌发; 110 d后采集的水曲柳种子经暖温(20 °C) 16周+低温(5 °C) 12周的层积处理后, 其休眠破除的效果较好, 适当延长暖温层积时间有利于提高种子萌发率。

关键词: 水曲柳; 种子发育; 形态生理变化; 萌发能力

Morphological and Physiological Changes of Manchurian Ash (*Fraxinus mandshurica* Rupr.) Seeds Collected at Different Developmental Periods and Its Germination Responses after Stratification

ZHANG Peng, SHEN Hai-Long*

Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotechnology of Ministry of Education, School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: Exteriorly morphological and physiological changes of Manchurian ash (*Fraxinus mandshurica*) seeds collected at different developmental periods and their germination after stratification were discussed in this paper. The results showed that the Manchurian ash seeds reached desiccation and dehydration stage at 120 d after flowering. The embryo length and endosperm dry weight of seeds were tending towards stability from 110 d after flowering, while embryo dry weight of seeds was tending towards stability since 110 to 120 d after flowering. The seeds collected at 70 to 110 d after flowering died gradually during stratification; however, the seeds collected from 120 d after flowering could germinate normally after stratification. Stratification at 5 °C for 12 weeks following at 20 °C for 16 weeks was better for seeds collected from 110 d after flowering, and proper prolonged warm pretreatment period was optimal to germination for seeds collected ahead of complete maturity.

Key words: *Fraxinus mandshurica*; seed development; morpho-physiological change; germination capacity

正常型种子的发育过程常随着种子的成熟和干燥而结束, 此时种子中的贮藏物质大量积累, 含水量下降, ABA 含量升高, 种子的耐干特性和初生休眠特性形成(Kucera 等 2005)。此时, 无休眠特性的植物其种子已达到了形态上和生理上的成熟状态, 即可以进行采种, 若提前采种(即所谓的捋青)则会降低种子的品质和产量。有些植物在种子发育过程中由于缺乏ABA或其它抑制因素常会出现胎萌的现象(Nambara 和 Marion-Poll 2003; Finkelstein 等 2002; Kushiro 等 2004), 从而导致种子产量和品质下降。而有些具有休眠特性的植物, 在种子成熟过程中ABA合成基因的过量表达会增加种子中ABA含量, 致使种子休眠加深或延迟萌发(Nambara 和 Marion-Poll 2003; Finkelstein 等 2002; Kushiro 等

2004)。因此, 确定适宜的采种时间对于种子休眠的解除和萌发至关重要, 这也关系到生产实践中种子繁殖的效益。

水曲柳是我国东北林区广泛种植的阔叶用材树种, 近年来人们在组织培养(张惠君和罗凤霞 2003; 谭燕双和沈海龙 2003; 孔冬梅等 2003)等无性繁殖方式做了一些尝试和总结, 取得了一定的进展, 但由于各种原因迄今还与生产应用有很大距离, 目前生产中仍以种子繁殖为主要繁殖方式。由于水曲柳种子有深休眠特性, 给育苗生产带来了一定

收稿 2009-10-19 修定 2009-12-28

资助 黑龙江省青年科学基金(QC07C62)。

* 通讯作者(E-mail: shenhl-cf@nefu.edu.cn; Tel/Fax: 0451-82191044)。

的困难。长期以来,人们对其休眠特性和休眠原因进行了一些研究(凌世瑜和董愚得 1983; 赵海珍 1983; 凌世瑜 1986; 郭廷翹等 1991; 郭维明等 1991)。在解除种子休眠的方法及其萌发特性的研究中也取得了一定的结果(凌世瑜和董愚得 1983; 赵玉慧和李森 1989; 张鹏和沈海龙 2006; 张鹏等 2007; 张鹏和沈海龙 2008; 张鹏等 2009)。但对于采种时期是否影响水曲柳种子破除休眠的效应尚无系统的研究。

水曲柳种子一般于9月下旬或10月上旬成熟,在生产实践中可在此期间采种,通常采用隔年埋藏催芽方法处理种子。至于水曲柳种子不同发育时期的成熟状态如何,提前采集种子后再进行层积催芽是否有可行性,这些问题的解决对确定水曲柳的适宜采种时期很重要。为此本文探讨了不同发育时期水曲柳种子的形态和生理变化及其对种子层积处理后萌发的效应,以期确定水曲柳种子的适宜采种期提供参考。

材料与amp;方法

在本校校园内水曲柳人工林中选择并固定单株采种树,采种树已达到稳定结实年龄。于种子发育过程中的不同时间采集树冠上层的水曲柳(*Fraxinus mandshurica* Rupr.)种子。采种时间从7月中旬(开花后 70 d)开始至9月末(开花后 140 d)结束,每 10 d 采集一定量的种子用于试验。

每个取样日取样后对水曲柳种子发育情况进行观察,并测定如下指标:(1)果实、种子鲜重和干重。每次取 30 粒果实(无重复),用电子天平(1/10 000)测定水曲柳果实和种子的鲜重及干重,并计算果实和种子的含水率。(2)果长、种子长、胚长。使用游标卡尺测定长度,每次取 30 粒果实,分别测定果长、种子长、胚长(剥开种子取出胚测量),并计算胚率(胚长/种子长)。(3)胚干重、胚乳干重。每次取 30 粒种子,每 10 粒种子为 1 次重复,即重复 3 次,将胚乳(包括种皮在内)与胚分开后烘干,用电子天平(1/10 000)测定干重,并计算胚重比(胚干重与种子干重的比值)。

做不同发育时期水曲柳种子的催芽处理与萌发实验时,每个取样日采集的种子与 2 倍体积的基质(河沙与蛭石以 3:1 的比例混合)混合后进行 2 种

催芽处理过程:(1)暖温 20 °C (12 周)+ 低温 5 °C (12 周);(2)暖温 20 °C (16 周)+ 低温 5 °C (12 周)。层积处理结束后于 15 °C (8 h)/10 °C (16 h) 黑暗条件下萌发,测定各处理水曲柳种子的萌发率。每种处理 100 粒种子,重复 4 次。

结果与amp;讨论

1 不同发育时期水曲柳种子的形态生理变化

不同发育时期水曲柳种子含水率和重量有变化。从图 1 和图 2 可知:(1)随着发育时间的延长,果实与种子的含水率都呈现不断下降趋势。尤其是在开花后 120~140 d (9 月 4~24 日),果实和种子的含水率都迅速下降,这是种子快速干燥脱水的阶段。开花后 80 d 以后果实含水率均高于种子含水率,只是开花后 70 d 的种子含水率(77.85%)高于果实的含水率(69.47%) (图 1)。这可能是开花后 70 d 的种子中胚乳主要以溶胶状存在,种子含水率相对较高,而在发育后期,随着种子干物质的不断积累,胚乳主要以凝胶状存在所致。(2)随着发育时间的延长,果实与种子的鲜重都呈先上升后下降趋势,而果实与种子的干重则一直呈不断增加趋势。果实和种子的鲜重在开花后 120~140 d (9 月 4~24 日)开始逐渐下降,尤其是果实鲜重下降更迅速(图 2),这可能是果实和种子含水量迅速下降的结果。方差分析结果表明:不同发育时期水曲柳果实的长度差异不显著($P>0.05$)。随着发育时间的延长,果实长度变化不显著,从花后 70~140 d (7 月 16 日~9 月 24 日)开始,果实长度都保持在 3.2 cm 左右(图 3-a)。这说明果实在发育初期就已达到了一定的尺寸,而在发育后期主要是完成内部胚乳和胚的发育,而果实大小基本上没有变化。

此外,由图 3-b、c、d 可见:(1)花后 70~110 d (7 月 16 日~8 月 25 日),随着发育时间的延长,水曲柳种子的长度逐渐增加并趋于稳定。方差分析表明:不同发育时期水曲柳种子的长度差异极显著($P<0.01$)。多重比较结果显示,花后 70 d 时种子长度最小,与后期各时期种子长度差异显著;花后 80~90 d 时种子长度有所增加,与后期各时期种子长度差异也显著;花后 100~110 d 时种子长度进一步增加(图 3-b),与前期各时期种子长度差异显著,但与后期各时期种子长度差异不显著。这表明种

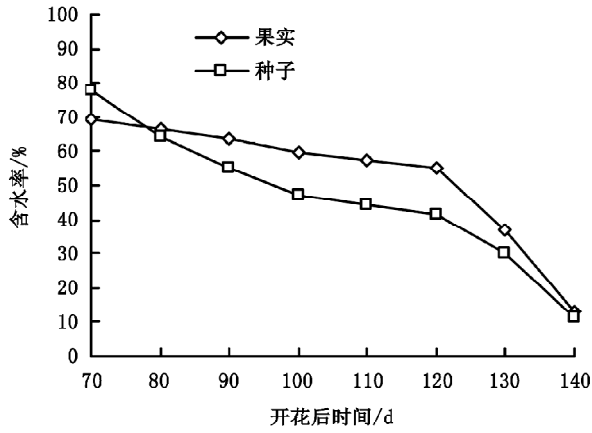


图1 不同发育时期水曲柳果实和种子的含水率
Fig.1 Water content of *F. mandshurica* fruits and seeds at different developmental periods

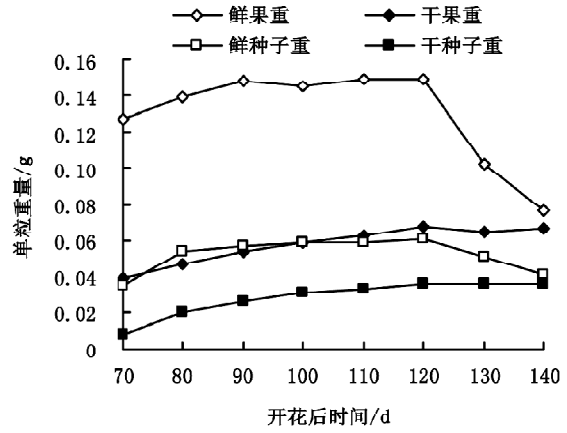


图2 不同发育时期水曲柳果实和种子的重量
Fig.2 Weight of *F. mandshurica* fruits and seeds at different developmental periods

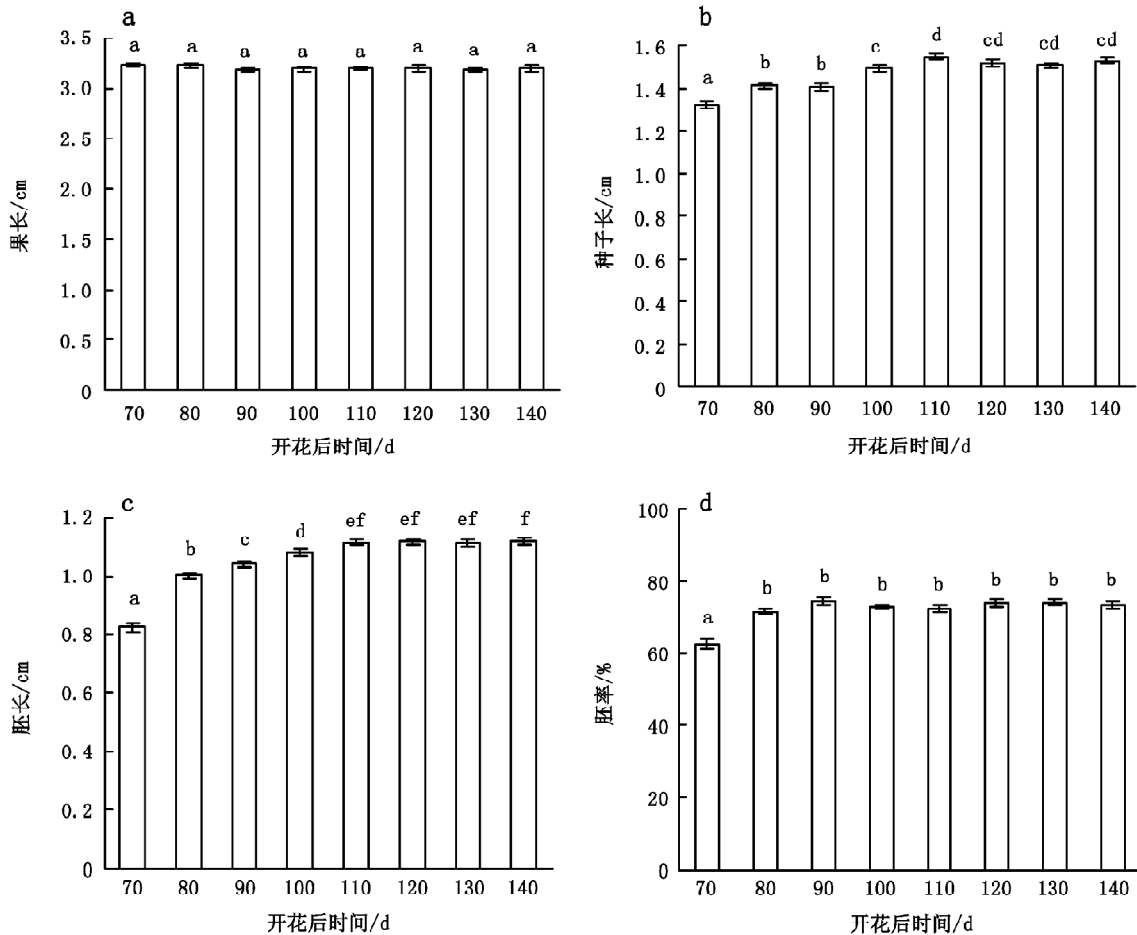


图3 不同发育时期水曲柳种子的外部形态变化
Fig.3 Exteriously morphological changes of *F. mandshurica* seed at different developmental periods
垂直线表示平均值±标准误, 相同字母表示经邓肯多重比较差异不显著(P=0.05)。

子在发育过程中纵向生长一直持续到花后110 d左右时才趋于稳定。(2)从花后70~110 d(7月16日~8月25日),随着发育时间的延长,水曲柳种子胚的长度逐渐增加并趋于稳定(图3-c),这与种子长度的变化趋势基本上一致。方差分析表明:不同发育时期水曲柳种子胚的长度差异极显著($P<0.01$)。多重比较结果显示,花后70~100 d时种子长度逐渐增加,且各时期种子胚长度差异显著,花后110 d后各时期种子胚长度差异不显著。这表明种子在发育过程中胚的伸长生长一直持续到花后110 d左右时才趋于稳定。(3)从花后70~80 d(7月16日~8月25日),随着发育时间的延长,水曲柳种子的胚率经过一个短暂的增加后基本趋于稳定(图3-d)。方差分析表明:不同发育时期水曲柳种子的胚率差

异极显著($P<0.01$)。多重比较结果显示,花后70 d时种子的胚率最低,与后期各阶段种子的胚率差异显著。虽然在种子发育过程中胚率在相当长的一段时间内保持稳定,但这种稳定的原因是不同的。在花后80~110 d期间,这种稳定是相对的,胚长和种子长在此期间都增加,且增加的比例基本上一致,因此胚率趋于相对稳定;而在花后110 d以后,胚长和种子长都已趋于稳定,因此这时胚率的稳定是绝对的。

不同发育时期水曲柳种子各部分干重也有变化。由图4可见:(1)从花后70~110 d(7月16日~8月25日),随着发育时间的延长,水曲柳单果果皮干重逐渐增加并趋于稳定。方差分析表明:不同发育时期水曲柳单果果皮干重差异极显著($P<0.01$)。

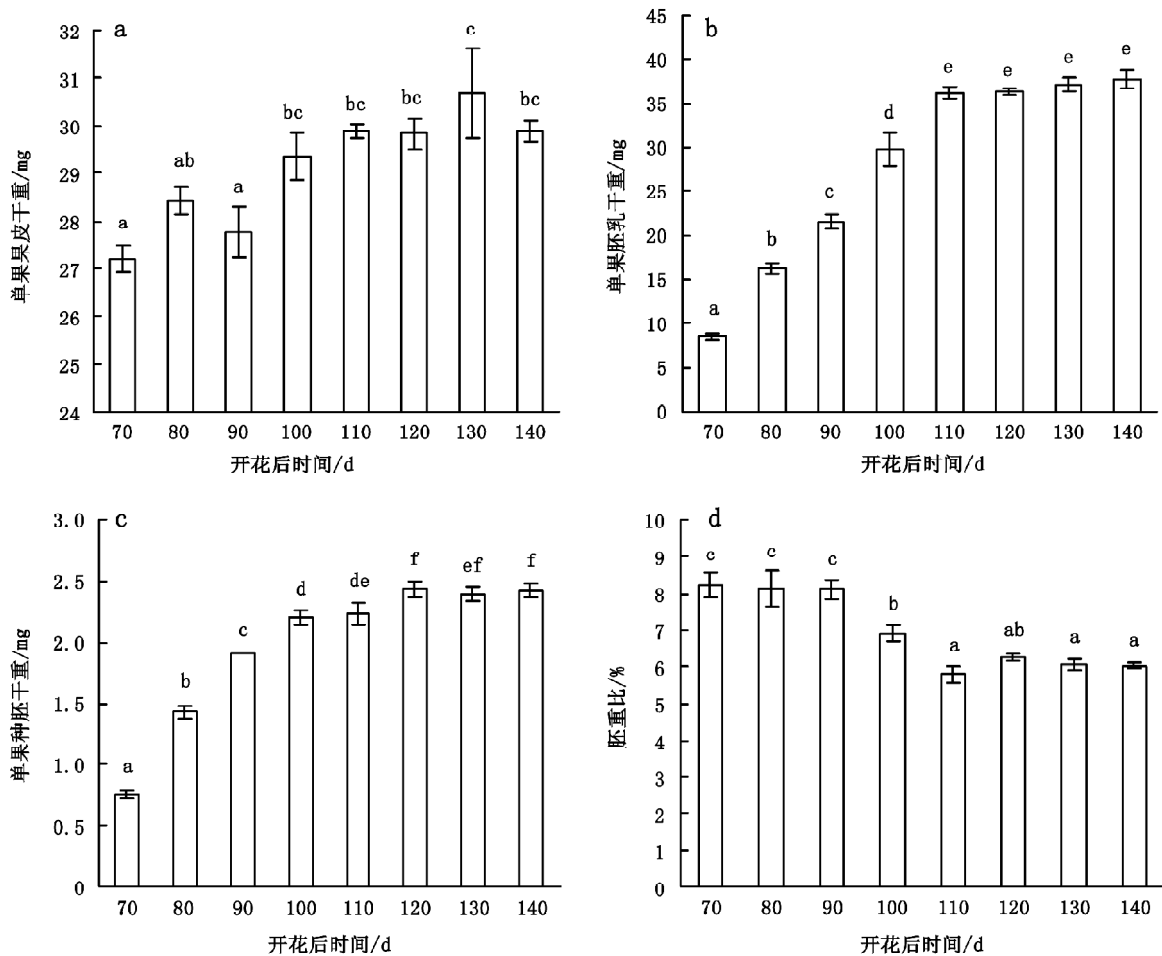


图4 不同发育时期水曲柳种子的干重变化

Fig.4 Dry weight changes of *F. mandshurica* seeds at different developmental periods

垂直线表示平均值±标准误,相同字母表示经邓肯多重比较差异不显著($P=0.05$)。

多重比较结果显示, 花后 70~90 d 时单果果皮干重较小, 花后 100 d 后各时期果皮干重差异不显著(图 4-a)。这表明在种子发育过程中, 果皮的物质积累在花后 100 d 左右时已基本上结束。(2) 花后 70~110 d (7 月 16 日~8 月 25 日), 随着发育时间的延长, 水曲柳单果胚乳干重逐渐增加并趋于稳定。方差分析表明: 不同发育时期水曲柳单果胚乳干重差异极显著($P<0.01$)。多重比较结果显示, 花后 70~110 d 期间单果胚乳干重逐渐增加, 且不同时期之间差异显著, 而花后 110 d 后各时期胚乳干重差异不显著(图 4-b)。这表明在种子发育过程中, 花后 70~110 d 期间是胚乳物质迅速积累的时期。(3) 从花后 70~120 d (7 月 16 日~9 月 4 日), 随着发育时间的延长, 水曲柳单果种胚干重逐渐增加并趋于稳定。方差分析表明: 不同发育时期水曲柳单果种胚干重差异极显著($P<0.01$)。多重比较结果显示, 花后 70~100 d 期间单果种胚干重逐渐增加, 且不同时期之间差异显著, 花后 100 d 与 110 d 两个时期之间单果种胚干重差异不显著, 花后 120、130、140 d 三个时期之间种胚干重差异也不显著, 但比前期又有所增加。这表明在种子发育过程中, 花后 70~100 d 期间是种胚迅速生长的时期, 花后 100~120 d 期间, 种胚的物质积累速度变缓, 而后基本停止(图 4-c)。(4) 从花后 70~90 d (7 月 16 日~8 月 5 日), 随着发育时间的延长, 水曲柳种子胚重比先是比较稳定, 然后逐渐降低, 而后略有上升并趋于稳定。方差分析表明: 不同发育时期水曲柳单果种胚干重差异极显著($P<0.01$)。多重比较结果显示, 花后 70~90 d 期间胚重比差异不显著, 花后 100 d 时单果胚重比与花后 120 d 时差异不显著, 与其它各时期差异均显著, 花后 110~140 d 期间胚重比差异也不显著(图 4-d)。这表明在种子发育初期(70~90 d), 虽然胚和胚乳都是快速生长, 但胚的物质积累相对较高, 而后(90~110 d)胚乳的物质积累相对较高, 之后胚和胚乳的物质积累都趋于停止。

2 不同发育时期水曲柳种子经层积处理后的萌发

发育时期对种子层积处理后萌发有影响。由图 5 可知, 随着发育时间的延长, 水曲柳种子经层积处理后的萌发率逐渐提高。花后 70~100 d (7 月 16 日~8 月 15 日), 种子经层积处理后逐渐死亡, 不能够完成层积过程。在暖温(20 °C) 12 周 + 低温

(5 °C) 12 周的层积条件下, 花后 110~130 d 采集的种子经层积后的萌发率从 38.75% 提高到 62.25%。方差分析表明: 不同发育时期水曲柳种子的萌发率差异极显著($P<0.01$)。多重比较结果显示, 花后 110 d 与后两个时期种子的萌发率差异显著, 而花后 120 d 和 130 d 种子萌发率差异不显著。在暖温(20 °C) 16 周 + 低温(5 °C) 12 周的层积条件下, 花后 110~130 d 采集的种子经层积后的萌发率从 66% 提高到 73%。方差分析表明: 不同发育时期水曲柳种子的萌发率差异显著($P<0.05$)。多重比较结果显示, 花后 110 d 与 120 d 种子的萌发率差异不显著, 而与花后 130 d 种子萌发率差异显著。

层积方法对不同发育时期水曲柳种子萌发也有影响。图 5 表明, 相同时间内采集的种子, 在暖温(20 °C) 16 周 + 低温(5 °C) 12 周的层积条件下的萌发率均高于在暖温(20 °C) 12 周 + 低温(5 °C) 12 周的层积条件下的。方差分析表明, 在花后 110、120、130 d 采集的种子经上述 2 种层积方法处理后, 种子的萌发率差异均极显著($P<0.01$)。花后 110 d 采集的种子经 2 种层积处理后的萌发率分别为 66% 和 38.75%, 相差 27.25%。花后 120 d 采集的种子经 2 种层积处理后的萌发率分别为 68.5% 和 58.5%, 相差 10%。花后 130 d 采集的种子经 2 种层积处理后的萌发率分别为 73% 和 62.25%, 相差 10.75%。这表明在发育阶段相对早的时期(花后

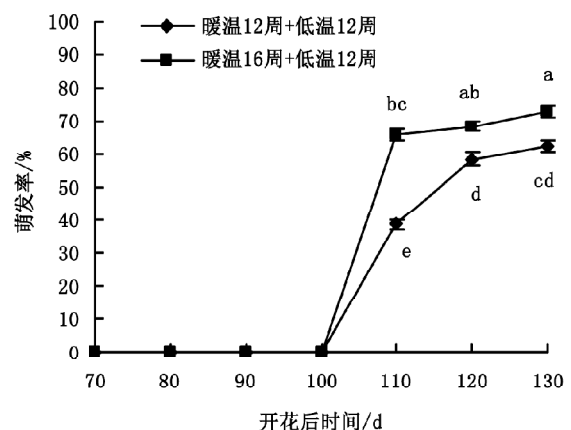


图5 不同发育时期水曲柳种子经层积处理后的萌发率
Fig.5 Percentage of germination in *F. mandshurica* stratified seeds collected at different developmental periods
垂直线表示平均值±标准误, 相同字母表示经邓肯多重比较差异不显著($P=0.05$)。

110 d)所采种子越需要较长的暖温层积时间来完成胚的后熟,适当延长暖温层积时间对提高种子萌发率的作用十分明显,而在发育阶段相对晚的时期(花后120~130 d)所采种子,虽然延长暖温层积时间对提高种子萌发率也有一定的作用,但其效果不如花后110 d的种子。

总之,传统的观点认为,随着种子含水量的迅速下降,种子脱水干燥达到了形态上的成熟状态,在此后的时间内可以进行采种。水曲柳传统的采种时间一般在9月末至10月初,由于传统隔冬埋藏处理通常需要8个月左右的时间,如果在10月份采种处理则播种时间就需要安排在6月初,这样就会错过最佳播种季节,而减少层积处理时间又会影响种子解除休眠的效果,以致种子出苗率低,萌发不整齐。根据本文的试验结果,虽然早期水曲柳种子不耐层积,无法完成催芽过程,但比传统采种时间提前1个月左右时采种通过层积处理是完全可行的。而且采用适当延长暖温层积时间的方法还可以获得较好的催芽效果。据此,水曲柳在8月末至9月初进行采种处理,完全可以满足层积时间和播种时间的需求。

参考文献

- 郭廷翹,李玮,郭维明,聂虹,黄承义,张法义(1991). 水曲柳种子主要天然发芽抑制物的鉴定及生物化学研究. 东北林业大学学报, 19 (增刊): 358~365
- 郭维明,李玮,郭廷翹,聂虹(1991). 水曲柳种子后熟期间内源抑制物的特点及其与更新的关系. 东北林业大学学报, 19 (6): 44~53
- 孔冬梅,谭燕双,沈海龙(2003). 白蜡树属植物的组织培养和植株再生. 植物生理学通讯, 39 (6): 677~680
- 凌世瑜(1986). 赤霉素对水曲柳种子解除休眠的作用. 林业科学, 22 (1): 78~85
- 凌世瑜,董愚得(1983). 水曲柳种子休眠生理的研究. 林业科学, 19 (4): 349~358
- 谭燕双,沈海龙(2003). 水曲柳下胚轴的组织培养和植株再生. 植物生理学通讯, 39 (6): 623
- 张惠君,罗凤霞(2003). 水曲柳未成熟胚的离体培养研究. 林业科学, 39 (3): 63~69
- 张鹏,沈海龙(2006). 白蜡树属树种种子休眠及其萌发的调控. 植物生理学通讯, 42 (2): 354~360
- 张鹏,沈海龙(2008). 水曲柳种子次生休眠的预防和解除. 植物生理学通讯, 44 (6): 1149~1151
- 张鹏,孙红阳,沈海龙(2007). 温度对经层积处理解除休眠的水曲柳种子萌发的影响. 植物生理学通讯, 43 (1): 21~24
- 张鹏,孙红阳,沈海龙,张红光(2009). 温度对水曲柳种子萌发过程中物质转化和内源激素含量的影响. 东北林业大学学报, 37 (7): 5~7
- 赵海珍(1983). 激素对水曲柳种子休眠萌发的影响. 东北林学院学报, 11 (2): 7~12
- 赵玉慧,李森(1989). 解除水曲柳种子休眠方法的研究. 林业科技, 2: 3~4
- Finkelstein RR, Gampala SSL, Rock CD (2002). Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell*, 14: S15~S45
- Kucera B, Cohn MA, Leubner-Metzger G (2005). Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci Res*, 15: 281~307
- Kushiro T, Okamoto M, Nakabayashi K, Yamagishi K, Kitamura S, Asami T, Hirai N, Koshihara T, Kamiya Y, Nambara E (2004). The *Arabidopsis* cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8'-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. *EMBO J*, 23: 1647~1656
- Nambara E, Marion-Poll A (2003). ABA action and interactions in seeds. *Trends Plant Sci*, 8: 213~217