

九里香种子脱水耐性和萌发生理的研究

杨期和^{1,2}, 殷寿华^{1*}, 夏永梅¹, 兰芹英¹

(1. 中科院西双版纳热带植物园, 云南勐腊 666303; 2. 中科院华南植物研究所, 广东广州 510650)

摘要: 九里香种子自花后 42~77 d, 含水量和电导率逐渐降低, 种子干重、发芽率、发芽指数和活力指数逐渐增加。硅胶脱水 1~6 d 后, 种子含水量下降 10%~35%, 发芽率、发芽指数和活力指数均有不同程度的降低, 不同发育时期九里香种子的脱水耐性有别, 花后 42~70 d 不断增强, 77 d 有所减弱。花后 70 d 的种子含水量降至 10%, 种子发芽率无明显降低; 含水量为 9% 的种子在 4 °C 和 -20 °C 的低温条件贮存 30 d 和 42 d, 多数种子仍能萌发, 这表明九里香种子是一种正常型种子。光照能促进种子的萌发; 在 20~30 °C、室温和 20/30 °C 变温条件下种子萌发较好; 光照和温度对种子萌发有单独影响, 但又相互作用, 同时光照对萌发的影响还与种子含水量有关。

关键词: 种子; 萌发; 电导率; 发育; 脱水耐性; 九里香

中图分类号: S326; S339.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)06-0537-06

Study on desiccation-tolerance and germination physiology of *Murraya paniculata* seeds

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: Seed dry weight, germination percentage(GP), germination index(GI) and vigor index(VI) of *Murraya paniculata* rose gradually with the seed developing time from 42 DAA(days after anthesis) to 77 DAA, but the seed moisture content(MC) and electric conductivity rate decreased at the same time. The seed MC decreased by 10%~35% after desiccating with silica gel for 1~6 days, GP, GI and VI decreased to various degrees. The desiccation-tolerance of seeds at different stages was different and it rose gradually from 42~70 DAA, then decreased at 77 DAA. The GP of seeds at 70 DAA had no various decrease when the MC was reduced to 10% and most of seeds with 9% MC could germinate after storing at the 4 °C and -20 °C for 30 and 42 DAA, so this result showed *Murraya paniculata* seeds were orthodox seeds. Light could accelerate germination and the seeds germinated better at 20~30 °C, ambient temperature and 20/30 °C than at other temperatures. The effects of light and temperature on the germination were independent as well as interrelated and also related to seed MC.

Key words: seed; germination; electrical conductivity; development; desiccation-tolerance; *Murraya paniculata*

Roberts 根据种子对脱水的反应及贮藏表现的不同, 将种子划分为正常性种子(orthodox seeds)和

顽拗性种子(recalcitrant seeds)^[1]。Chin 经过研究认为九里香种子是一种正常性种子^[2]; 而有些学者

收稿日期: 2001-10-31

作者简介: 杨期和(1969-), 男, 湖南邵阳人, 博士生, 主要从事种子生理生态研究。* 为通讯作者

基金项目: 中国科学院知识创新工程项目资助(KSCX2-3-04-05); 中国科学院生物科学与技术研究特别支持费课题(STZ97-1-05)。

的研究表明一些九里香种子是顽拗性种子^[3]。脱水耐性是判断种子贮藏特性的重要依据,但植物种子在不同发育阶段,脱水耐性是不同的。关于种子脱水耐性的获得主要有3种观点:一种认为脱水耐性的获得是突变性状^[4];另一种则认为是数量性状^[5];而Koster则认为种子对脱水产生的适应性变化^[6]。九里香广泛分布于我国南部和西南部,是一种重要的香料植物和药用植物,具有很高的经济价值。随着社会经济的发展,人们对香料的需求增大,因此在热带和部分亚热带地区人工栽培九里香,有利于发展地区经济,了解种子的萌发生理也是决定人工种植成败的关键因素。本文比较了不同发育时期九里香种子一些形态特征和脱水耐性的变化,并对种子在不同光温条件下的萌发行为进行了探讨,初步研究了种子脱水耐性的形成机制和种子萌发生理。

1 材料和方法

1.1 材料

种子采自于中国科学院西双版纳热带植物园。

1.2 发育阶段的标记

用标记花枝的方法计算花期天数。从开花后42 d开始,每隔7 d采集一次种子,直至果实完全成熟。种子龄以花后天数表示。

1.3 种子脱水干燥方法

种子阴干后测定初始含水量,然后在密闭干燥器中采用无水硅胶脱水,脱水时间分别为1、3、5、7和9 d等。干燥温度为室温(夜间15~24 °C/白天24~35 °C)。

1.4 种子含水量测定

采用烘箱(103±2 °C、17±1 h)测定。种子含水量以鲜重为基础表示。

1.5 种子萌发实验

(1)脱水干燥种子萌发(研究种子脱水耐性):温度为25 °C,14 HL(每日连续14 h光照)。(2)种子常规萌发(探讨光照和温度对萌发的影响):温度设置九种(15、20、25、30、35、40、45、20/30 °C和室温);光照设置两种14 HL(每日连续14 h光照)和24 HD(全黑暗,三层纱布暗遮光)。(3)光源为日光灯,光照强度为30~45 μE·m⁻²·S⁻²;每个处理为40粒种子,3次重复;萌发基质为琼脂。全部实验均在种子萌发箱中进行。胚根伸出且苗高(胚芽+胚

根)达5 mm以上即视为萌发。如果未萌发种子均已发霉或者在发芽实验末期连续15 d无种子萌发再经适当催芽处理10 d仍不萌发,萌发实验即结束。

1.6 发芽率、发芽指数和活力指数

发芽率(%)=发芽种子数/取样种子数;发芽指数=∑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。

1.7 电导率的测定

20粒种子加50 mL无离子水浸种,浸泡液用DDS-307型电导仪上测定,浸种与测定温度为20~25 °C。

2 结果与分析

2.1 九里香种子在发育过程中的一些性状变化

九里香种子自开花后42~77 d至完全成熟,种皮由绿色变成黄白色;鲜重在花后42~63 d逐渐增加,在花后63 d达最大值;干重在花后63~77 d不断增加,在花后77 d达最大值,花后70 d接近最大值(表1)。

表1 九里香果实和种子发育过程中的一些性状变化
Table 1 Change of some properties of *Murraya paniculata* seeds during development stages

开花后天数 Days after anthesis (d)	种子颜色 Colour of seed	种子平均鲜 重(千粒重) F. W of 1 000 seeds	种子平均干 重(千粒重) D. W of 1 000 seeds
42	嫩绿色 Light green	46.20	10.15
49	深绿色 Dark green	48.80	16.90
56	白色杂有绿色 White with some green	52.55	38.50
63	白色 White	95.60	39.25
70	黄白色 Yellowish white	78.00	56.36
77	黄白色 Yellowish white	87.30	56.43

Note: F. W-Fresh weight; D. W-Dry weight.

2.2 九里香发育过程中含水量、发芽率及活力指数的变化

花后42~77 d,种子含水量逐渐降低,由78%下降至36%,但在发育过程中,脱水速率不等。在49~56 d,63~70 d时,含水量下降明显,而在其它阶段,种子含水量变化很小。花后42~56 d的九里香种子发芽率很低,均在20%以下,花后63 d的种子一半以上能发芽,在77 d时,种子发芽率、发芽指

数和活力指数都达最大值,但花后 70 d 与 77 d 无显

著差异(图 1)。

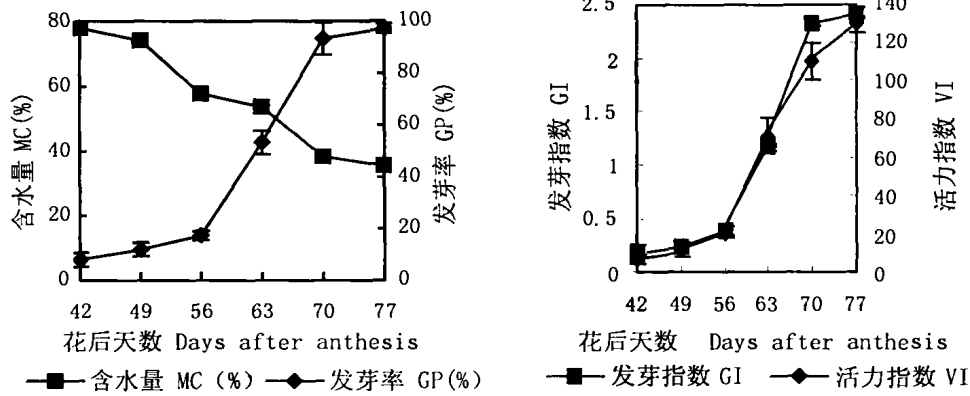


图 1 不同发育时期种子的含水量、发芽率、发芽指数和活力指数
Fig. 1 Seed MC, GP, GI and VI at various development stages

2.3 九里香种子发育过程中电导率的变化

花后 42~56 d 的九里香种子比较幼嫩,种子浸泡液中外渗液多,因此电导率随浸泡时间的延长上升很快。花后 70 d 和 77 d 的九里香种子经过不同时间的浸泡,其电导率无显著差异。随着种子的发育成熟,膜系统逐步完善,其浸泡液的电导率显著下降,花后 77 d 达到最小值(图 2)。

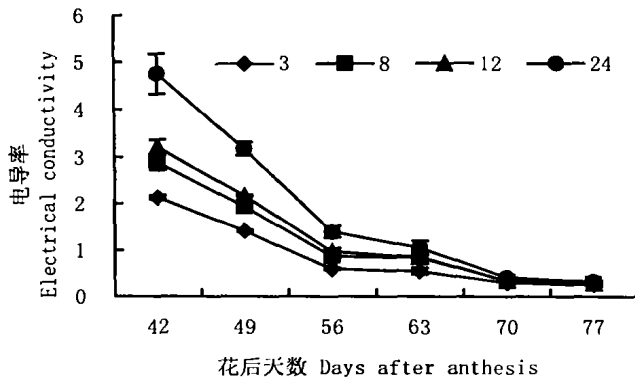


图 2 九里香种子发育过程中电导率的变化
Fig. 2 Changes of electrical conductivity rate in the soak of *Murraya paniculata* seeds during development

2.4 不同发育时期的九里香种子对脱水的反应

不同发育时期的九里香种子经硅胶脱水 1~6 d 后,含水量约下降 10%~35%,发芽率、发芽势和活力指数均有不同程度的降低。花后 42 d 种子发芽率可达 8%,但硅胶脱水 1~6 d 后,发芽率为 0;花后 49 d 和 56 d 种子发芽率为 12%和 17%,采用硅胶脱水,含水量下降 10%~15%,几乎无种子萌发;花后 63 d 的种子,含水量由 54%降至 18%,发芽率降低近一半;花后 70 d 的九里香种子,含水量由 38%降至 11%,发芽率无显著差异,含水量降至

3%,发芽率仍高达近 50%;花后 77 d 的种子含水量由 36%降低至 3%,发芽率仍有 65%,但继续降低至 3%,种子很少能萌发。故不同发育时期的九里香种子脱水耐性不同,花后 70 d 的种子脱水耐性最强,花后 77 d 的次之,其它阶段较弱(图 3)。

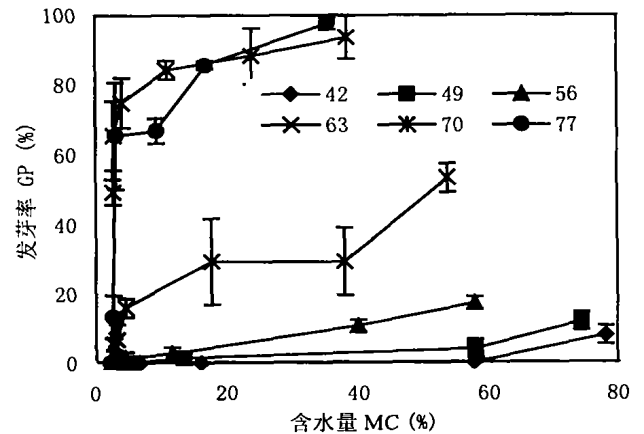


图 3 脱水对九里香种子发芽率的影响
Fig. 3 Effect of desiccation on germination percentage (GP) of *Murraya paniculata* seeds

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(图 3 和表 2)。用最小二乘法拟合发芽率(G)与含水量(M)的曲线方程,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(表 2),结果表明花后不同阶段种子的半致死含水量 $M_{42} > M_{49} > M_{56} > M_{63} > M_{77} > M_{70}$,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)。

2.5 短期低温贮藏对种子发芽力的影响

花后 70 d 的九里香种子,硅胶脱水后含水量下降至 9%,在室温、4 °C 和-20 °C 分别贮藏 20、32、60

d,结果表明,在 4 °C 和-20 °C 的低温下贮藏 20 d,种子发芽率和发芽指数没有显著下降,贮藏 32 d 后,绝大部分种子仍然能够萌发(表 3)。

表 2 不同成熟阶段九里香种子的脱水敏感性分析

Table 2 Analysis of seed desiccation sensitivity of *Murraya paniculata* at various development stages

花后天数 Days after anthesis(d)	回归曲线方程 Regress curve equation	R ² 值 R ² value	半致死含水量 Semilethal moisture content
42	$G=0.044M^2-0.2642M+1.6826$	0.93	67.82
49	$G=0.0042M^2-0.1707M+1.0812$	0.95	60.11
56	$G=0.0017M^2+0.1965M+0.1379$	1.00	33.62
63	$G=0.0005M^2+0.7931M+7.4495$	0.88	24.44
70	$G=-133.055\ln(M)+48.157$	0.81	1.01
77	$G=30.617\ln(M)-4.6695$	0.76	5.56

表 3 花后 70 d 九里香种子短期贮藏后的发芽力(含水量为 9%)

Table 3 Germination capacity of *Murraya paniculata* seeds at 70 DAA after cryopreserving for a short time(9%MC)

贮藏天数(d) Days of preserving	贮藏温度(°C) Temperature of preserving	发芽率 GP(%)	发芽指数 GI	活力指数 VI
20	4	86.67±3.56	1.95±0.11	96.25±5.14
20	-20	77.33±9.78	1.72±0.25	90.65±11.32
32	4	73.33±4.44	1.71±0.12	86.83±6.12
32	-20	57.33±7.11	1.23±0.15	66.67±6.33

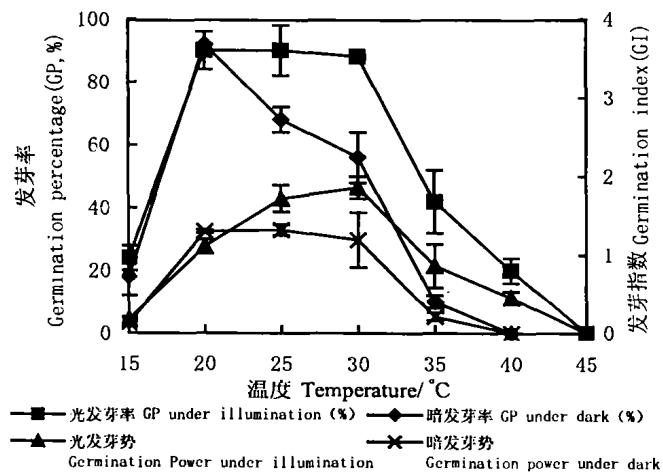


图 4 光照和温度对种子萌发的影响

Fig. 4 Effect of light and temperature on germination of *Murraya paniculata* seeds

2.6 光照和温度对种子萌发的影响

九里香种子(含水量为 24%)在不同光照和温度下的萌发结果表明(图 4、表 4),在 20 °C 以下的低温和 35 °C 以上的高温是不利于种子萌发的。在 14 HL 条件下,种子发芽率在 20、25、30 °C、20/30 °C 和室温比较接近,比其它温度下要高;发芽指数在 25、30 °C 和室温时无明显差异,比其它温度下

大,因此光照条件下种子萌发的适宜温度是 25、30 °C 和室温。在黑暗条件下,20 °C 和室温条件下的发芽率较高且无显著差异,20/30、20 °C 和室温下的发芽指数高于其它温度,表明黑暗条件下种子萌发的适宜温度是 20 °C 和室温。这表明植物种子在光照与黑暗条件下,适宜温度是不同的。

表 4 花后 70 d 九里香种子在不同光照和温度下的发芽率和发芽指数

Table 4 Germination percentage(GP)and germination index(GI)of *Murraya paniculata* seeds under different illumination and temperature conditions

含水量 MC(%)	温度(°C) Temperature	光照 Light	发芽率 GP(%)	发芽指数 GI
24	20/30	14HL	82.00±2.00	1.38±0.01
		20HD	74.00±10.00	1.59±0.27
	室温	14HL	94.00±2.00	1.96±0.04
		20HD	88.00±0.00	1.74±0.00
38	25	14HL	94.00±2.00	2.10±0.03
		20HD	96.00±0.00	2.10±0.04
	20/30	14HL	100.00±0.00	2.12±0.10
		20HD	96.00±0.00	2.09±0.05

光照对种子(含水量 24%)萌发的影响与温度有关,在 15、20 °C 和 20/30 °C 时光照对萌发影响不明显,而在 25、30、35 °C 和室温条件下光照能显著

促进萌发。在多数情况下,光照对萌发有促进作用,种子表现为需光性种子。

光照对萌发的影响还与含水量有关,在 25 °C 时萌发,光照对含水量为 38% 种子几乎无影响,却能显著促进含水量为 24% 种子的萌发。

3 讨论和结论

九里香种子在花后 42~70 d,干重逐渐增加,是发育过程中的干重增长期,在此阶段主要是完成贮藏物的积累;在花后的 70~77 d,干重无明显变化,表明种子在花后 70 d 已接近生理成熟。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 49~56 d 和 63~70 d 含水量下降速率明显快于其它阶段;花后 70~77 d 含水量也是降低的,表明种子有成熟脱水阶段。种子在花后 42~77 d 发芽率、发芽指数和活力指数都是不断升高的。种子浸泡液的电导率数值可以定量地反映种子活力^[7],将不同发育时期的九里香种子在蒸馏水中浸泡一定时间后进行电导率测定,种子成熟程度越高,电导率就越小,而且随着种子浸泡时间的延长,越是幼嫩的种子,电导率变化也就越大。因此发芽参数和电导率反映的结果是一致的,其它植物种子也有相似的现象^[7]。

不同发育时期的九里香种子硅胶脱水一天后,含水量降低 15%~20%,发芽率均有不同程度的下降,这是由于九里香种子种皮结构过薄,失水过快过多伤害种子所致。而对一定成熟阶段(通常是发育中后期)的种子,轻微脱水(含水量降低 10% 以下)可显著提高发芽力,花后 25~40 d 的香瓜(*Cucumis melo*)种子^[8]和未完全成熟的荔枝(*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^[9~11],但过度脱水(10%)往往会伤害种子,降低种子发芽率。

花后 70 d 的九里香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;授粉 20 d 前的蓖麻是不耐脱水的,在 25 d 后才获得了脱水耐性^[12];半熟的果实(黄色)中剥离的小果咖啡(*Coffea arabica*)和中果咖啡(*Coffea liberica*)的种子的脱水耐性比未成熟

的果实(绿色)中剥离的种子的脱水耐性要强^[13],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。

九里香种子脱水耐性在花后 70 d 最强,77 d 变弱,表明种子发育到一定阶段之后,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。番茄(*Lycopersicon esculentum*)和甜椒(*Capsicum 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*)的种子的脱水耐性比从成熟果实(红色)中剥离的种子的脱水耐性要强得多^[13];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^[10];这些植物的种子在发育后期,成熟度增加而脱水耐性变弱,在发育过程表现为先由弱变强,然后再变弱。本研究结果同时也表明九里香种子脱水耐性是在发育过程中逐渐变化的,说明脱水耐性是一个数量性状,这和 Sun 的结论是一致的^[5]。

Eeswara 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,这与咖啡种子吸水 3~7 d 后会丧失脱水耐性的机制是一致的^[14]。Ellis & Hong 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,如种植稷稻时,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^[15]。

花后 70~77 d 九里香种子能忍耐 10% 低含水量,短期低温贮藏后种子生活力无显著下降,表明种子极可能是正常型;Chin^[2](1984)经过研究发现将九里香种子含水量降至 10% 以下,种子也不会致死,刚采集的新鲜种子在 -5 °C 和 5 °C 保存 24 h,种子发芽率仍有 58% 和 32%,认为九里香种子是一种正常型种子,因此两者的结论基本一致。

因为植物种子在不同发育阶段其脱水耐性是不同的,所以对种子进行贮藏研究时,要注意种子采集时期,一般要求在种子较耐脱水时。故在种子的发育期间监测其含水量和干重通常有助于确定收获时间,如果采种是在脱水耐性较弱时进行的,即使是正常型种子,对干燥损伤也很敏感,因此用未达到一定成熟度或过度成熟的正常型种子作为样品进行检测,就有可能对种子的脱水耐性做出错误甚至完全相反的结论。

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,发芽力的变化情况。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)^[13];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)^[10]。由于九里香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^[10]。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。九里香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。

在 25~40 °C 和两种变温条件下,光照均能促进九里香种子的萌发,在 25~40 °C 时达到显著水平,但在 15~20 °C 时,光照的影响不明显,因此在多数温度条件下表现为促进作用。种子在 20~30 °C、室温和变温条件下种子萌发较好。光照条件下种子萌发的适宜温度是 25、30 °C 和室温,黑暗条件下是 20 °C 和室温。这表明植物种子在光照与黑暗条件下,适宜温度是不同的。光照和温度对种子萌发有单独影响,但又相互作用,同时光照对萌发的影响还与种子本身含水量有关,其它植物种子也有类似的表现^[16]。

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,实验工作中得到版纳植物园珍稀濒危植物种质资源库何惠英同志的支持和帮助,特此致谢!

参考文献:

- [1] Roberts EH. Predicting the storage life of seeds[J]. *Seed Sci & Technol*, 1973, 1: 499—514.
- [2] Chin HF, Hor YL, Mohd Lassim MB. Identification of recalcitrant seeds [J]. *Seed Sci & Technol*, 1984, 12:429—436.
- [3] 傅家瑞. 顽拗性种子 [J]. 植物生理学通讯. 1991, 27 (6), 402—406.
- [4] Blackman SA, Wettlaufer SH, Obendorf RL, et al. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean [J]. *Plant Physiol*, 1991, 96:868—872.
- [5] Sun WQ, Lepolod AC. Acquisition of desiccation tolerance in soybeans [J]. *Physiol Planta*, 1993, 87, 403—409.
- [6] Koster KL. Glass formation and desiccation tolerance in seed [J]. *Plant Physiol*, 1988, 88:829—833.
- [7] 喻方圆, 钱 锦. 不同采种时期金钱松种子品质的研究[J]. 中南林学院学报, 1999, 19(4), 45—47.
- [8] Welbaum GE, Tissaoui T, Bradford KJ. Water relations of seed development and germination in Muskmelon (*Cucumis melon* L.) [J]. *J Experi Bot*, 1989, 40(221): 1 355—1 362.
- [9] 夏清华, 陈润政, 傅家瑞. 不同发育时期荔枝种子的生理研究 [J]. 中山大学学报, 1993, 32(1): 80—84.
- [10] 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 [J]. 热带亚热带植物学报, 1994, 2(2): 58—64.
- [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 [J]. 华南植物学报, 1992, 试刊 I, 40—47.
- [12] 吕小红. 种子成熟脱水干燥的生理生化作用 [J]. 种子, 1990, 3:77—80.
- [13] Hong TD, Ellis RH. A protocol to determine seed storage behaviour [M]. IPGRI Technical Bulletin No. 1. (Engels JM and Toll J, vol. Eds.). International Plant Genetics Resource Institute, Rome, Italy. 1996. 10—42.
- [14] Eeswara JP, Allan EJ, Powell AA. The influence of storage of seed maturity, moisture content and storage temperature on the survival of neem (*Azadirachata indica*) seed in storage [J]. *Seed Sci & Technol*, 1998, 26: 299—308.
- [15] Ellis RH, Hong TD. Desiccation tolerance and potential longevity of developing seeds of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Ann Bot*, 1994, 73: 501—506.
- [16] Grazesik M, Gornik k, Chojnoski MG. Effect of environmental conditions and the harvest time on the yield quality of Verbena X hybrida Voss [J]. *Seed Sci & Technol*, 1998, 26:131—140.