高温对三棱栎种子萌发及活力的影响

郑艳玲[1,2]，　李唯奇[2]，　孙卫邦[3]
(1. 西南林业大学 国家林业局西南地区生物多样性保育重点实验室，　云南 昆明 650224；
2. 中国科学院昆明植物研究所中国西南野生生物种质资源库，　云南 昆明 650201；
3. 中国科学院昆明植物研究所昆明植物园，　云南 昆明 650204)

Effect of High Temperature on Seed Germination and Seed Vigor of *Trigonobalanus doichangensis*

ZHENG Yanling[1,2]，LI Weiqi[2]，SUN Weibang[3]

摘　要:以三棱栎种子为材料,研究了高温(干燥和高湿)对不同含水量种子萌发和活力的影响,同时研究了热驯和水杨酸(SA)处理对吸胀阶段种子抗热性的影响。结果表明,种子含水量影响种子在45 ℃干燥条件下的生活力,随着贮藏时间的延长,种子含水量越低,种子萌发率越高;高温高湿(45 ℃,100%相对湿度)条件下,种子生活力下将迅速,处理第3天时,种子已失去萌发能力,电导率和脱氢酶活性也呈下降趋势;热驯与非热驯种子的萌发率,幼苗鲜重和萌发指数都无显著差异;种子在SA(1 mg/L和10 mg/L)中吸胀1 d后热激,种子的萌发率、萌发指数和幼苗鲜重显著高于在蒸馏水中吸胀1 d的种子。综上所述,种子含水量和环境相对湿度会显著影响种子在高温下的生活力和活力;对吸胀阶段的种子进行热激会影响种子萌发,SA处理能显著提高此阶段种子的抗热性,但是热驯对提高种子抗热性没有效果。

关键词:　三棱栎;高温;热驯;水杨酸
DOI编码:　10.16590/j.cnki.1001-4705.2015.06.095
中图分类号:　Q 945.34　　**文献标志码**:　A
文章编号:　1001-4705(2015)06-0095-04

三棱栎在我国仅分布于云南省的孟连、澜沧、沧源和西盟,散生于亚热带常绿阔叶林中。由于分布区域狭窄,植株稀少,又因砍伐森林和毁林开荒,现处于濒危状态[1]。在野外,三棱栎植株周围很少有幼苗存在,前期研究发现,三棱栎种子败育率极高,单株败育率甚至达到100%[2]。环境因子如高温会影响种子萌发,但种子含水量和环境相对湿度对三棱栎种子生活力和活力的影响尚不清楚。

环境因子如冰冻、高温、干旱和高盐等会影响植物的生长和分布[3],然而植物已演化出在逆境中生存的很多机制[4]。比如,植物在经历比较温和的胁迫条件后会提高其在随后更严酷的胁迫条件下的耐受性,这就是驯化过程。驯化可使植物获得对胁迫的耐受性,即可诱导植物的耐受性。大量研究表明,热驯可以提高植物对高温的耐受性[5],但是关于在种子萌发过程中,热驯能否提高种子对高温的耐受性的报道较少。此外,大量研究表明,水杨酸(SA)可以诱导植物对多种胁迫产生一定抗性[6],但是水杨酸处理对三棱栎种子在吸胀萌发过程的抗热性有何影响尚不清楚。

本研究对三棱栎种子进行高温处理(贮藏或热激),通过检测种子萌发情况和一些生理指标的变化,了解高温对三棱栎种子生活力和活力的影响;分别对种子进行热驯和SA处理,通过检测萌发相关指标的变化,了解热驯和SA处理对三棱栎种子耐热性的影响。

1　材料与方法

1.1　材　料

供试材料为三棱栎(*Trigonobalanus doichangensis*),采自云南省沧源县。

1.2　方　法

1.2.1　种子干燥和种子含水量测定

种子干燥采用硅胶干燥法。在室温下,将种子放入装有硅胶的密闭干燥器中,种子上面也覆盖硅胶,进行不同时间的脱水。到既定时间后,取出种子,一部分用烘干称重法测定种子含水量[7],其余种子用于其它处理。

1.2.2　种子高温处理

高温高湿处理(45 ℃,100%相对湿度):种子平铺在纱网上,然后置于干燥器内的水面上方(不接触),将干燥器放于45 ℃培养箱中。

高温干燥处理:不同含水量的种子放于铝箔袋内并密封,置于45 ℃培养箱中。

1.2.3　种子热激、热驯和水杨酸处理

种子热驯处理:种子在25 ℃吸胀不同时间后,在

收稿日期:2015-01-24
作者简介:郑艳玲(1981—),女,山东省莱芜市人;博士,讲师,主要从事保护生物学研究;E-mail:flashingzyl@163.com。
通讯作者:李唯奇,E-mail:weiqili@mail.kib.ac.cn。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

40 ℃或 38 ℃培养箱中培养 2 h；

种子热激处理：种子在 25 ℃吸胀不同时间后（热驯或非经热驯），在 45 ℃培养箱中培养 2 h；

水杨酸处理：将种子在 1 mg/L 和 10 mg/L 水杨酸溶液中浸泡 24 h。

1.2.4　种子萌发

每个处理各选 50 粒种子均匀置于铺有 2 层滤纸、直径为 10 cm 的培养皿中，于人工智能培养箱中进行萌发实验，每天补充一定量蒸馏水，以保持滤纸湿润。培养条件为温度 25 ℃，光照时间 12 h/ d，光照强度 2 000 lx。

种子萌发以胚根突破种皮 2 mm 为标准，逐日统计发芽数，并于实验的第 10 天称量幼苗鲜重，计算萌发率、萌发指数和活力指数。其中萌发指数（GI）$=\sum(Gt/Dt)$（Gt 为第 t 天的萌发数，Dt 为相应的萌发天数）；活力指数（VI）$=GI\times S$（S 为萌发第 10 天的幼苗鲜重）。

1.2.5　电导率测定

随机抽取经不同处理的种子，取一定量的种胚（25 个）用分析天平称重，然后将种胚用去离子水冲洗数次，吸干种胚表面水分，加 20 mL 去离子水浸泡，分别于 6 h，18 h 和 24 h 后用 DDS-308＋型电导仪测定种胚浸出液电导率。种胚电导率[μS/(cm・g)]＝读出电导率值(μS/cm)÷种子质量(g)[8]。

1.2.6　脱氢酶活性测定

采用 TTC 定量法。取一定量种胚称重，吸胀 24 h 后，加 0.1%TTC 溶液在 35 ℃黑暗条件下保持 5 h，然后倾出 TTC 溶液用蒸馏水冲洗 3～4 次，移入研钵加入分析纯石英砂和丙酮充分研磨，把研液移入 25 mL 容量瓶中，用丙酮冲洗研钵，冲洗液也移入容量瓶中，定容至 25 mL，摇匀。将部分提取液移入离心管中，4 000 mg/L离心 15 min，用 721 型分光光度计在 490 nm 下比色，以 OD/g 值表示种子脱氢酶活性[9]。

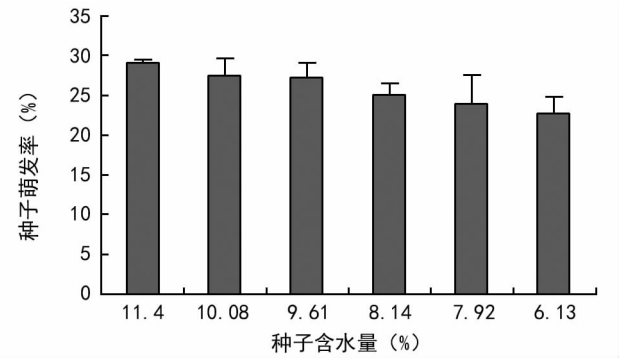
1.2.7　数据处理方法

用统计软件 SPSS 进行数据处理。用 One-Way ANOVA 进行方差分析。统计分析前将百分数进行反正弦转化。实验数据在 $p=0.05$ 水平上采用 LSD (Fisher's least significant difference)进行显著性检验。

2　结果与分析

2.1　高温干燥条件对不同含水量种子萌发率的影响

由图 1 可以看出，脱水会影响三棱栎种子生活力，当种子含水量由 11.4%降到 8.14%时，种子萌发率即显著下降。在 45 ℃条件下贮藏 7 d 后，不同含水量种子间种子萌发率无显著差异（图 2），但是不同含水量种子间种子萌发率出现显著差异，含水量为 11.4%的种子萌发率最低，为 15.27%，含水量 6.13%的种子萌发率最高，为 23%（图 3）。



注：图中直线代表±准差。下同。

图 1　脱水对三棱栎种子萌发率的影响

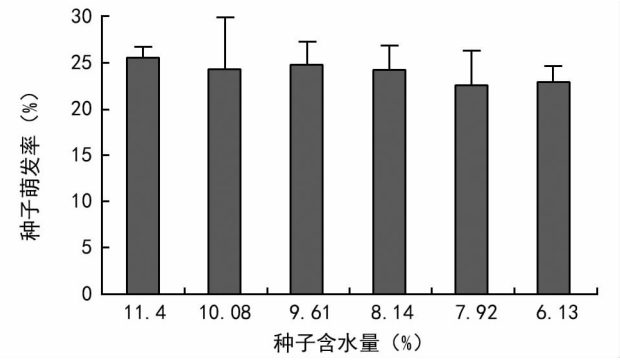


图 2　不同含水量种子 45 ℃贮藏 7 d 后对三棱栎种子萌发率的影响

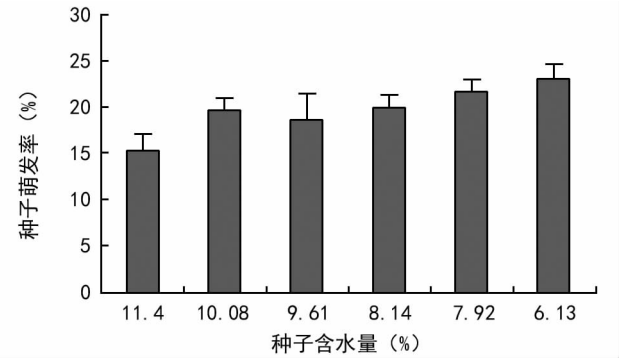


图 3　不同含水量种子 45 ℃贮藏 30 d 后对三棱栎种子萌发率的影响

2.2　高温高湿条件对种子萌发率和活力的影响

由图 4 可以看出，在 45 ℃，100%相对湿度下，种子萌发率显著下降。相对于对照，高温高湿处理 1 d 后，种子萌发率降低 19%，2 d 后种子萌发率降低 26%，到第 3 天时，种子失去萌发能力。图 5 和图 6 显示，高温高湿处理后，种子浸泡 6 h，18 h 和 24 h 后的电导率呈增大趋势，脱氢酶活性则呈下降趋势，但是有一定波动。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

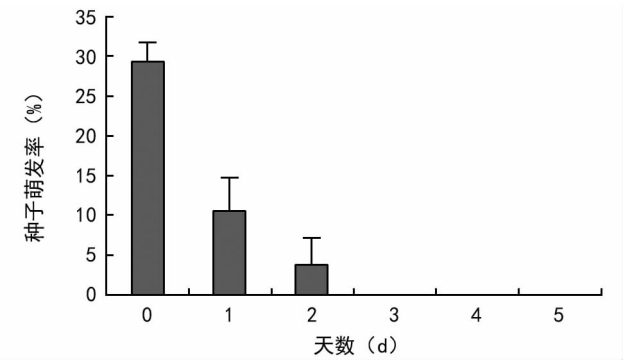


图 4　高温高湿处理不同天数对三棱栎种子萌发的影响

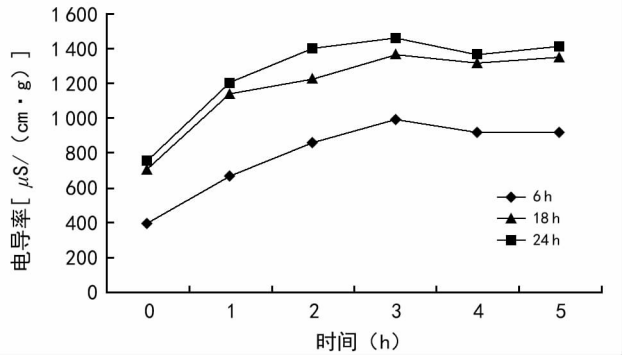


图 5　高温高湿处理对三棱栎种子电导率的影响

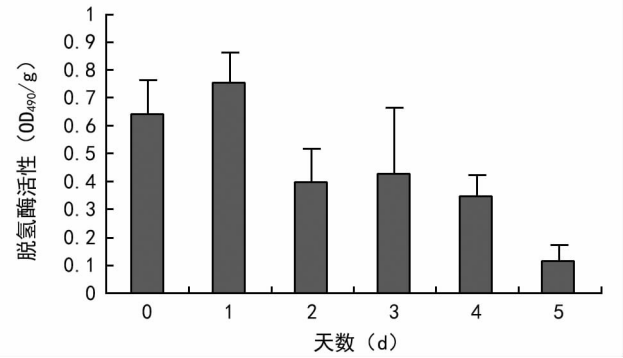


图 6　高温高湿处理对三棱栎种子脱氢酶活性的影响

表 1　热激对三棱栎种子萌发和幼苗生长的影响

热激前种子处理	G(%)	Fw(mg)	GI
对照	43.27±2.63 a	17.99±2.33 c	8.48±1.03 a
吸胀 1 d	36.47±0.91 c	16.29±2.88 c	5.76±0.38 b
吸胀 1 d+38 ℃热驯	37.85±1.23 bc	16.56±0.97 c	6.27±0.50 b
吸胀 1 d+40 ℃热驯	37.63±3.40 bc	17.65±1.36 c	5.84±0.96 b
吸胀 2 d+38 ℃热驯	39.98±3.52 abc	16.58±2.21 c	6.78±1.03 b
吸胀 2 d	40.40±0.58 ab	15.74±1.05 c	6.44±0.15 b
吸胀 3 d+38 ℃热驯	37.84±2.68 bc	18.63±1.52 c	6.43±0.83 b
吸胀 3 d	38.05±1.18 bc	17.09±1.08 c	6.13±0.35 b
1 mg/L SA	41.16±2.40 ab	28.86±3.31 a	8.01±0.60 a
10 mg/L SA	42.32±1.76 a	24.47±4.37 b	8.09±0.66 a

注:结果表示为平均值±标准差,同一行内字母不同代表在 0.05 水平上差异显著。

2.3　热激对种子萌发和幼苗生长的影响

种子在 25 ℃吸胀不同时间后,在 45 ℃条件下热激 2 h,结果表明,相对于对照,种子在 25 ℃吸胀 1 d 和 3 d 后,种子萌发率显著下降,而吸胀 2 d 后种子萌发率却无显著变化。此外,种子吸胀 1～3 d 后热激,幼苗鲜重都与对照的无显著差异,但萌发指数较对照都显著下降。热驯(38 ℃ 2 h 或 40 ℃ 2 h)与非热驯种子的萌发率、萌发指数和幼苗鲜重无显著差异,但 SA (1 mg/L 和 10 mg/L)浸泡 1 d 后热激的种子在萌发率、萌发指数和幼苗鲜重上都高于在蒸馏水中浸泡 1 d 的种子。

3　讨　论

三棱栎种子在高温高湿(45 ℃,100%RH)条件下处理 3 d 后萌发率已从 29%降到 0。在高温(45 ℃)干燥的条件下保存 7 d 时,不同含水量的种子萌发率无显著差异,保存 30 d 后,萌发率的下降都没有超过 50%,而且低含水量种子比高含水量种子的萌发率显著要高。可以看出,高温高湿比单纯高温对种子的伤害更严重,而且含水量低能使种子对高温有更强的耐受性。由此可见,水分包括环境的相对湿度和种子含水量在种子的老化过程中起了非常重要的作用。

热胁迫是影响植物生长发育的一个重要因素。有研究表明,适度高温热驯可以使植物获得对高温的耐受性[5],然而植物获得耐受性的强度因植物种类、组织和细胞类型、驯化温度和时间而异[10-11],即遗传特性和驯化条件决定了一个物种能否被驯化以及被驯化的快慢。45 ℃热驯 2 h 没能提高三棱栎种子的耐热性,是遗传特性决定的还是驯化条件不合适,还有待深入研究。

此外,研究表明,SA 作为一种信号分子可以诱导植物的抗热性[12-13]。Senaratna 等的研究表明,SA 处理种子可以提高种苗对高温等胁迫类型的耐受性[14]。Shakirova 等也指出,种子用 SA 预处理可以促进种子的萌发和幼苗的生长[15]。本研究表明,SA 处理能显著提高三棱栎种子在吸胀阶段对高温的耐受性,而且对幼苗的生长有一定促进作用,但是具体机理有待研究。

参考文献:

[1]傅立国. 中国植物红皮书——稀有濒危植物(第 1 册)[M]. 北京:科学出版社. 1992.

[2]Zheng YL, Sun WB. Variation in morphophysiological characters of fruits of Trigonobalanus doichangensis (Fagaceae) according to individual trees, populations and years[J]. Euphytica, 2008, 164: 231-238.

[3]Kasuga M, Liu Q, Miura S, et al. Improving plant drought, salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor [J]. Nature Biotechnology, 1999, 17: 287-291.

[4]Garwe D, Thomson JA, Mundree SG. Molecular characterization of *XVSAP* 1, a stress-responsive gene from the res-

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

urrection plant *Xerophyta viscosa* Baker 1[J]. Journal of Experimental Botony,2003,54:191-201.

[5]Kislyuk IM,Bubolo LS,Kamentseva IE,et al. Heat shock increase thermotolerance of photosynthetic electron transport and the content of chloroplast membranes and lipids in wheat leaves[J]. Russian Journal of Plant Physiology,2007,54:456-463.

[6]Horváth E,Szalai G,Janda T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling[J]. Journal of Plant Growth Regulation,2007,26(3):290-300.

[7]Gleiser G,Picher MC,Veintimilla P,et al. Seed dormancy in relation to seed storage behaviour in Acer[J]. Botanical Journal of the Linnean Society,2004,145:203-208.

[8]林位夫,曾宪海,谢贵水,等. 橡胶树种子电导率特性及其与种子活力的关系[J]. 热带作物学报,2002,23:1-6.

[9]曾丽,赵梁军,孙强,等. 超干处理与贮藏温度对一串红种子生活力与生理变化的影响[J]. 中国农业科学,2006,39:2 076-2 082.

[10]Sung DY,Kaplan F,Lee KJ,et al. Acquired tolerance to temperature extremes[J]. Trends in Plant Science,2003,8:179-187.

[11]Kato-Noguchi H. Low temperature acclimation to chilling tolerance in rice roots[J]. Plant Growth Regulation,2007,51:171-175.

[12]Dat JF,Lopez-Delgado H,Foyer CH,et al. Effects of salicylic acid on oxidative stress and thermotolerance in tobacco[J]. Journal of Plant Physiology,2000,156:659-665.

[13]Horváth E,Pál M,Szalai G,et al. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants[J]. Biologia Plantarum,2007,51:480-487.

[14]Senaratna T,Touchell D,Bunn E,et al. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants[J]. Plant Growth Regulation,2000,30:157-161.

[15]Shakirova FM,Sakhabutdinova AR,Bezrukova MV,et al. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity[J]. Plant Science,2003,164:317-322.

(上接第 94 页)

3.2 适期收获杂交粳稻种子可以稳定种子活力,增强种子耐贮藏能力

在种子成熟过程中,各种功能蛋白、酶的合成,各种生理物质的转化(如单糖、激素),能量物质的合成转化(淀粉)[6-7]以及种子脱水等变化,都会影响到种子的发芽、活力和耐贮藏能力。杂交粳稻种子的繁殖方式不同于常规水稻种子,在制种过程中对气候和人为调控的影响更加敏感,选择适当的收获时期对保证种子的活力有明显作用[2],且可以增强杂交粳稻种子的贮藏能力。在本试验中发现,当年母本 9 月 4 日始穗,10 月 8 日种子蜡熟过程基本结束,10 月 24 日种子千粒重达到最高值,此时种子处于完熟期,开始向枯熟阶段转变,因此本试验年度的杂交粳稻种子理想收获时间应在母本始穗后 42 d 左右。

3.3 裂谷发生原因,及其对杂交粳稻种子发芽和活力及贮藏的影响

在本试验中发现,裂谷率与发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数的相关系数分析不显著,这说明在种子灌浆成熟过程中,各种生化物质和组织器官正在完善之中,裂谷对种子的发芽和活力影响不大。而在生产实践中发现,有些裂谷数量大的水稻种子在经过加工、贮藏后,出现发芽率、出苗率下降等现象,原因可能是裂谷种子在加工、贮藏过程中,种膜完整性受到破坏和由膜组成的各细胞器功能下降,出现易吸湿、不耐贮藏,导致种子发芽能力下降等。水稻种子裂谷率与品种的关系,高裂谷率种子在加工、贮藏过程中种子发芽和活力的变化等问题有待进一步试验探明。

种子裂谷性是杂交水稻普遍存在的现象,其遗传基因来源于母本不育系,裂谷种子的产生与不育系的花器构造特点、开花习性,以及大量“920”的使用等有关。因此,在杂交选育品种时,应尽量选用裂谷率低、开花习性好的母本,尽可能选育裂谷率低、种子活力强、品质好的水稻品种是根本途径。

参考文献:

[1]周建明,林一波,朱正斌,等. 粳稻种子干燥前存放时间对发芽、活力及出苗的影响[J]. 种子,2013,32(4):86-89.

[2]周建明,林一波,何建华,等. 不同收获时期和贮藏时间对杂交粳稻种子活力的影响[J]. 种子,2010,29(10):98-101.

[3]王秀萍,张军远. 水稻种子在不同发育期的发芽特性及脱水效应[J]. 河北农垦科技,1995(2):16-18.

[4]黄先晖,杨远柱,姜孝成. 水稻种子脱水耐性的形成及其与贮藏特性的关系[J]. 种子,2010,29(7):25-29.

[5]国家技术监督局,《农作物种子检验规程》(GB/T 3543.1—3543.7—1995)[S]. 中国标准出版社,1995.

[6]周述波,林伟,萧浪涛,等. 外源 GA_3 和 ABA 对杂交水稻种子萌发的影响[J]. 湖南农业大学学报,2005,31(3):269-271.

[7]任艳芳,何俊瑜,王晓峰. 植物激素对水稻种子萌发过程中 β-甘露聚糖酶活性的调控[J]. 种子,2007,26(2):6-9.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net