

毛竹种子种质保存对含水量的响应

蔡春菊¹, 刘凤², 郭起荣^{1*}, 高健¹

(1. 国际竹藤网络中心, 国家林业局竹藤科学与技术重点实验室, 北京 100102; 2. 山东农业大学林学院, 山东泰安 271018)

摘要:以毛竹种子为试材, 研究自然干燥的毛竹种子在 4 和 25 ℃ 下自然老化过程, 不同含水量的种子在 4 和 25 ℃ 条件下贮藏 2 年后生活力变化。结果表明: 4 ℃ 下毛竹种子 (MC 9.09%) 的最佳保存期为 1 年, 贮藏 2.5 年后种子基本丧失生活力。贮藏温度直接影响毛竹种子贮藏最适合含水量, 4 ℃ 和 25 ℃ 贮藏条件下毛竹种子保存的最适含水量分别为 7.45% 和 6.46%。毛竹种子的相对电导率、MDA 含量与种子活力呈显著负相关, SOD、POD、CAT 活性与种子活力呈显著正相关; 适度干燥的种子浸出液相对电导率和种内 MDA 含量显著降低, 抗氧化酶活性明显提高。保持膜的完整性、提高种子的抗氧化能力、减轻膜脂质过氧化是低温和适度干燥条件下有效保持毛竹种子活力的主要生理生化原因之一。

关键词:毛竹; 含水量; 温度; 种子贮藏

中图分类号: S795.704 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 - 2286 (2010) 02 - 0312 - 06

A Study on Responses of Moisture Contents to Seed Germplasm Preservation of Moso Bamboo (*Phyllostachys edulis*)

CAI Chun-ju¹, LIU Feng², GUO Qi-rong^{1*}, GAO Jian¹

(1. International Center for Bamboo and Rattan, Key Laboratory of Science and Technology of Bamboo and Rattan, State Forestry Administration, Beijing 100102, China; 2. College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: A study was carried out on the normal aging of natural drying Moso bamboo seeds under 4 and 25 ℃ and on the vitality and physiological and biochemical changes of seeds with various moisture contents which had been stored for two years under 4 and 25 ℃. The results showed that the best storage duration for Moso bamboo seeds under 4 ℃ was one year, the seeds would lose vitality after 30 months' storage. Low temperature and moderate drying disposal were beneficial for the seed vitality, and the optimum moisture content of *Phyllostachys edulis* seeds during storage depended on temperature. The best seeds moisture content at 4 and 25 ℃ were 7.45% and 6.46% respectively. A negative correlation was found between the relative electrical conductivity & MDA content of Moso seeds and the seeds vitality, while a positive correlation was found between the SOD, POD, CAT and the seed vitality. The relative electrical conductivity and MDA contents decreased remarkably, while antioxidant enzymes increased greatly. The main physiological and biochemical reasons for keeping seed vitality effectively under low temperature and moderate dryness included keeping the completeness of cytomembrane, increasing antioxidant ability and suppressing lipid peroxidation of Moso bamboo seeds.

Key words: *Phyllostachys edulis*; moisture content; temperature; seed storage

收稿日期: 2009 - 10 - 13 修回日期: 2010 - 03 - 18

基金项目: 国家“十一五”科技支撑 (2006BAD19B202和 2006BAD19B203), 国际竹藤网络中心基本科研业务费专项资助 (06/07 - B12)

作者简介: 蔡春菊 (1975 -), 女, 博士, 副研究员, 主要从事竹子培育与生态功能研究, E-mail: caicj@icbr.ac.cn; *

通讯作者: 郭起荣 (1968 -), 男, 博士, 教授, E-mail: qrguo@icbr.ac.cn

毛竹 [*Phyllostachys edulis* (Carr) H. De Lehaie] 是中国分布最广、面积最大、经济价值最高的竹种。毛竹开花周期长且不确定,难于获得种子种质材料。目前文献 [1-3] 报道毛竹种子寿命很短,在自然环境下贮藏 1 年后几乎全部丧失发芽力,为典型的短命种子。文献 [4-5] 一致认为,竹类植物种子不耐贮藏,低温、干燥、通风条件有利于种子保存,在 0~5 ℃ 下的种子可保存 1 年以上,贮藏 2 年以上的种子基本丧失了生命力,忽视了种子含水量在毛竹种子低温贮藏中作用。目前,国内外关于毛竹种子活力的研究还不多 [6-9],而关于毛竹种子种质保存研究近乎空白。因此,开展这方面的研究具有重要的理论价值和实践意义。本文以毛竹种子为材料,研究了不同种子含水量在 4 ℃ 和 25 ℃ 两种贮藏温度下保存一定时期后毛竹种子生活力的差异,并测定了相关生理生化变化,以期为毛竹种子保存寻找有效的处理和贮藏方法,同时可为其它竹种种质保存提供借鉴。

1 材料与方 法

1.1 材料与处理

供试种子为广西桂林 2006 年 9 月份收获的毛竹自然干燥种子。种子净度为 (56.6 ± 0.31)%,千粒重为 (24.1 ± 0.53)g,种子初始发芽率为 (75.11 ± 2.68)%,平均含水量为 9.09%。

将阴干后的毛竹种子作以下 2 种处理:(1)将去壳的毛竹种子装入塑料袋于 2006 年 10 月置于 4 ℃ 冰箱内贮藏 2.5 年。每隔 6 个月取出测定发芽率和发芽势,计算发芽指数和活力指数。(2)将去壳的毛竹种子采用室温硅胶干燥法 [10] 进行脱水处理后,毛竹种子含水量分别降至 8.39%,7.45%,6.46%,5.38%,4.41%,3.26%,种子含水量为 9.09% 的种子作对照。于 2006 年 12 月,用双层铝箔袋密封后放入盛有定期更换硅胶的塑料盒和干燥器中,分别在 4 ℃ 和 25 ℃ 下密封贮藏 2 年。

1.2 测定方法

1.2.1 种子预处理与发芽实验 (1)种子回湿处理:参照林坚等 [11] 的方法,发芽试验前进行逐级回水处理。将种子分别置于尼龙网袋中,依次放入由饱和 CaCl_2 溶液、饱和 NH_4Cl 溶液以及水所造成的相对湿度环境的干燥器中密封,室温下平衡 24 h。

(2)种子发芽实验:采用 GB2772—1996《林木种子检验规程》[12] 和《国际种子检验规程》(ISTA) 的标准发芽率测定方法,4 次重复,50 粒/重复。

(3)发芽指数和活力指数:采用《国际种子检验规程》(ISTA) 的种苗生长测定方法。发芽率 (G_t) = $G_t/N_t \times 100\%$;发芽指数 (G_i) = (G_t/D_t);活力指数 (V_i) = $S \times (G_t/D_t)$ 。

N_t :种子总数, G_t : t 日时的发芽数, D_t :相应的发芽天数, S :平均苗高。

1.2.2 种子浸出液相对电导率测定 每处理 30 粒净种子,4 次重复,用双重蒸馏水洗净种子表面,用滤纸吸干种子表面浮水,将其放入洁净的 25 mL 的试管中,加 20 mL 双重蒸馏水,于 25 ℃ 下浸泡 48 h,用 DDSJ-308A 型电导仪测定浸出液电导率。煮沸 30 min,冷却至室温后测绝对电导率,并计算相对电导率。相对电导率 = 煮沸前浸出液电导率/绝对电导率 $\times 100\%$ [13]。

1.2.3 抗氧化酶系统和丙二醛的提取与测定 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、过氧化物酶 (POD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性、丙二醛 (MDA) 含量的测定,均按照李合生 [13]、邹琦 [14] 的方法进行。

1.3 数据统计分析

用 SAS (Ver 9.0) 软件进行方差分析与多重比较。

2 结果与分析

2.1 贮藏条件 4 ℃ 下毛竹种子的自然老化过程

种子活力在生理成熟期达到最高,其后开始活力下降的不可逆变化,这种综合效应称为“种子老化”。种子老化都经历两个阶段:种子老化初期的“持续期”和持续期过后的“急速下降期”。在持续期发芽率变化不大,但种子内部发生大量的生化变化,又称为“生化老化期”,急速下降期又称“生理老化期”。从图 1 可以看出,在 4 ℃ 冰箱贮藏条件下,毛竹种子的自然老化的持续期为即自然干燥后至贮藏 1 年期间,毛竹种子发芽率与发芽势、发芽指数与活力指数先略增后都缓慢下降,贮藏期间种子发芽率差

异不显著,发芽指数基本不变,因此该阶段为毛竹种子保存的最佳期;第 2 阶段为毛竹种子的急速老化期,即贮藏 1 年后至 2.5 年期间,表现为发芽和活力相关的指数都急剧下降,种子劣变速度加快,最终基本丧失生活力。

2.2 种子含水量对毛竹种子发芽率和活力的影响

种子含水量和贮藏温度是种子在贮藏期间保持生活力和活力的关键因素^[15-20]。从表 1 看出:不同含水量的毛竹种子分别于 4 和 25 ℃ 下密封保存 2 年后,4 ℃ 下贮藏的硅胶干燥处理的种子与 25 ℃ 下相同处理的种子相比,总体上表现为生活力下降相对缓慢,发芽率、发芽势及发芽指数差异显著,说明 4 ℃ 比 25 ℃ 更利于毛竹种子生活力的保存。相同温度条件下贮藏的硅胶干燥与自然干燥的毛竹种子相比,不同含水量间种子发芽率、发芽势及发芽指数差异显著。

25 ℃ 条件下贮藏 2 年后的种子含水量为 6.46%~7.45% 的毛竹种子能够保持发芽率 65% 左右,种子含水量为 6.46% 的种子发芽率、发芽指数和活力指数达到最高。含水量较高 (8.39%) 和较低 (5.38%) 的种子发芽率、发芽指数和活力指数间差异显著,种子生活力表现出急剧下降。综合各项发芽指标,25 ℃ 条件下贮藏能够保持毛竹种子较高生活力的适宜含水量为 6.46%。

表 1 不同含水量的毛竹种子贮藏 2 年后种子生活力

Tab 1 Seed vitality of Moso bamboo seeds with different moisture contents after two years storage

种子含水量 / % Moisture content	发芽率 / % Germination		发芽指数 / % Germination index		活力指数 / % Vigor index	
	4	25	4	25	4	25
	9.09	61.25b	27.25d	3.24c	1.42f	17.21e
8.39	72.75a	51.75b	4.22a	2.81c	22.86bc	12.42d
7.45	77.50a	64.25a	4.25a	3.32b	25.08a	17.13b
6.46	76.75a	66.50a	4.23a	3.97a	24.36ab	20.06a
5.38	72.25a	52.00b	4.01a	2.86c	22.58cd	14.19c
4.41	62.75b	39.25c	3.68b	2.38d	20.90d	10.16e
3.26	37.00c	28.50d	2.52d	1.78e	13.34f	9.27e

LSD test, $P=0.05$, 同一列字母不同者表示差异显著。

Different letters in the same line expressed significant differences

毛竹种子在 4 ℃ 条件下贮藏 2 年,种子含水量范围为 5.38%~8.39%,其发芽率基本不下降,发芽指数和活力指数变动很小,表现具有很强的生活力保持能力。种子含水量 8.39% 或含水量为 4.41% 的毛竹种子仍具有 60% 以上的发芽率、较高发芽指数和活力指数。过低含水量 (3.26%) 的种子发芽率、发芽指数和活力指数均显著降低,种子生活力下降明显。综合各发芽指标,4 ℃ 条件下贮藏毛竹种子能保持较高生活力的适宜的含水量范围为 5.38%~7.45%,最适为 7.45%。

2.3 种子含水量对毛竹种子生理生化的影响

2.3.1 种子含水量对毛竹贮藏种子膜透性的影响 保持细胞膜的完整性是维持种子生活力的重要因素。测定种子电解质渗出率的变化,可以了解细胞膜完整性的保持情况。如图 2 所示,无论在 4 ℃ 低温还是 25 ℃ 下密封贮藏 2 年后,随着种子含水量的降低,种子浸出液电导率均呈现先降后升的趋势,不同种子含水量间存在极显著差异 ($P < 0.0001$);含水量在 4.41%~8.39% 范围内,硅胶干燥的种子浸出液

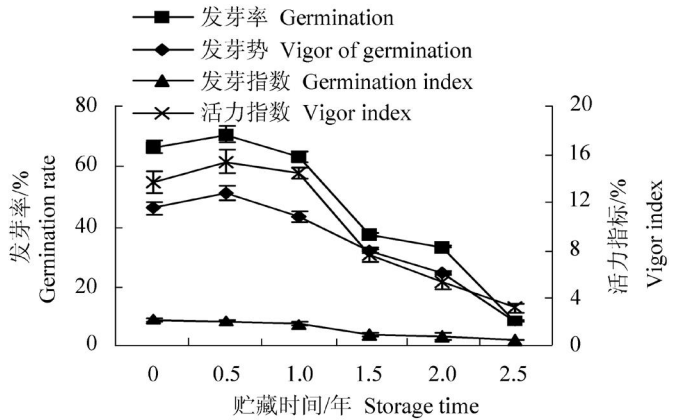


图 1 4 ℃ 贮藏条件下毛竹种子自然老化过程

Fig 1 Seed aging course of Moso bamboo seeds duration of storage at 4

电导率均低于对照种子 (MC 9.09%)。

4 和 25 贮藏后,分别表现出含水量为 7.45%和 6.46%的种子浸出液电导率最低,为有利于维持细胞膜的稳定性的适宜种子含水量,这与发芽力和活力测定结果一致。上述结果表明,无论在 4 还是 25 条件下,适度干燥处理并密封保存均能有效保护细胞膜完整性,从而延长种子寿命,且 4 低温比 25 下贮藏种子效果更好。

2.3.2 种子含水量对毛竹种子抗氧化酶活性的影响 POD、SOD 和 CAT 是种子抗氧化酶系统中最重要酶^[21-22]。毛竹种子无论在 25 还是 4 低温条件下密封贮藏 2 年后, SOD、POD 和 CAT 活性变化都随着含水量的降低呈现先升后降的趋势 (图 3),不同种子含水量间各种酶活性存在极显著差异 ($P < 0.0001$)。说明适度地降低种子含水量可提高种子的抗氧化能力,减轻膜质过氧化程度,有效地保持种子活力。而不论在 25 还是在低温 4 条件下,种子含水量过低则均不利于自由基清除酶活性的保持,不利于毛竹种子活力的保持。25 下含水量为 6.46%的种子和 4 下含水量为 7.45%的毛竹种子贮藏 2 年后 3 种酶活性最高;相同种子含水量情况下,4 下贮藏的种子抗氧化酶活性比 25 贮藏的更高。这与发芽力和活力测定结果一致。

2.3.3 种子含水量对毛竹种子丙二醛含量的影响 在贮藏过程中,随着种子老化的发生,会逐渐积累丙二醛 (MDA) 等有害的脂质过氧化产物,其含量的高低与种子活力的强弱呈负

相关。无论在 4 低温还是室温条件下,密封贮藏 2 年后,MDA 含量的变化都随着含水量的降低呈现先降低后增加趋势 (图 4),也分别表现为含水量 7.45%和 6.46%的种子内 MDA 含量最低,与种子浸出液相对电导率的变化基本一致。可能因为适度降低种子含水量,可减轻膜脂过氧化程度,保持种子的活力。含水量过低 (3.26%) 反而使膜脂过氧化程度增加,不利于种子生活力保存。

2.4 种子生活力与生理生化指标相关性分析

采用 SAS9.0 软件,对上述 5 个指标与种子发芽率、发芽指数和活力指数等进行相关分析 (表 2)。表 2 可看出,各指标可以分为两类:第 1 类包括 SOD、POD 和 CAT 与种子发芽率、发芽指数和活力指数呈显著正相关;第 2 类包括种子浸出液相对电导率和 MDA,与他们呈显著负相关。其中,POD、CAT 活性、

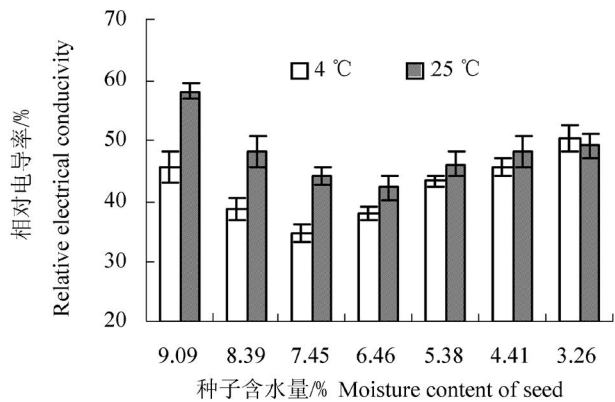


图 2 不同含水量毛竹种子在 4 和 25 下贮藏 2 年后种子电导率的变化
Fig 2 Changes of electrical conductivity in Moso bamboo seeds with different moisture contents after two years storage under 4 and 25

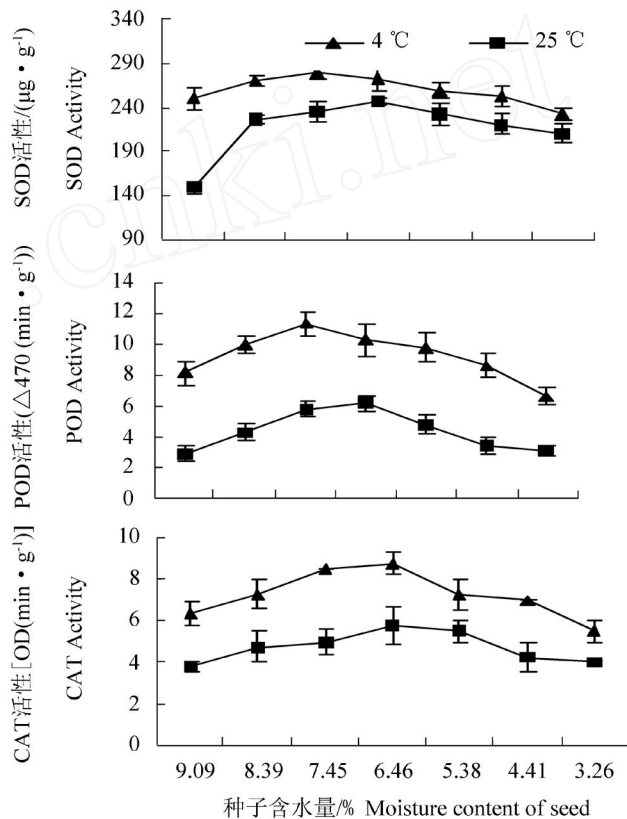


图 3 种子含水量对贮藏 2 年后的毛竹种子 SOD、POD、CAT 活性的影响
Fig 3 Effects of monisture content on the activity of SOD, POD, CAT of Moso bamboo seeds after 2 years storage

表 2 不同含水量的毛竹种子生理指标与种子活力指数的相关关系
Tab 2 The correlation analysis on seed vigor indexes and physiological indexes of Moso bamboo seeds with different moisture contents

指标 Index	4			25		
	发芽率 Germination	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	发芽率 Germination	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
相对电导率 Relative electrical conductivity	- 0.890 23**	- 0.936 94**	- 0.909 53**	- 0.842 18*	- 0.908 36**	- 0.952 58***
MDA	- 0.975 53***	- 0.983 79***	- 0.973 09***	- 0.918 63**	- 0.964 01***	- 0.948 35**
SOD	0.922 25**	0.953 88***	0.904 59**	0.793 64*	0.862 17*	0.900 00**
POD	0.952 13***	0.969 56***	0.973 07***	0.978 44***	0.966 07***	0.956 98***
CAT	0.892 03**	0.904 33**	0.937 73**	0.902 19**	0.923 48**	0.915 13**

表中数据为两两相关关系；*在 0.01 < P < 0.05 水平上显著相关；**在 0.001 < P < 0.01 水平上显著相关；***在 P < 0.001 水平上极显著相关。

Correlation coefficient expressed between seed vigor index and physiological index in the table, * significance correlation at the level of 0.01 < P < 0.05; ** significance correlation at the level of 0.001 < P < 0.01; *** very significance correlation at the level of P < 0.001.

MDA 含量与种子发芽率、发芽指数和活力指数的相关性均达到了极显著水平,可作为评价毛竹种子活力高低的测定指标。

3 结论与讨论

(1)适度降低种子含水量可有效地保持毛竹种子的生活力,延长种子的贮藏寿命。贮藏温度直接影响毛竹种子贮藏的最适含水量。25 条件下,毛竹种子贮藏的最适含水量为 6.46%;在 4 条件下,最适含水量为 7.45%,能够保持较高种子生活力的适宜含水量为 5.38%~8.39%。

(2)在相同种子含水量情况下,低温更有利于种子生活力的保存。与 25 条件下相比,4 较低贮藏条件下毛竹种子 2 年后发芽率、发芽指数和活力指数相对较高,膜透性(相对电导率表示)和膜质过氧化程度(MDA 含量表示)较低,自由基清除系统(SOD、POD 和 CAT)活性较对照更高,说明低温更利于毛竹种子生活力的保存。

(3)适度干燥(种子含水量为 5.38%~8.39%)的毛竹种子贮藏 2 年后,发芽率、发芽指数和活力指数仍能保持较高的水平,膜透性(相对电导率)和膜质过氧化程度(MDA 含量)较低,抗氧化酶系统(SOD、POD 和 CAT)活性较对照高。但种子含水量过低,毛竹种子在 4 贮藏条件下种子含水量降至 3.26%,25 条件下毛竹种子降低到 4.41%,则不利于种子贮藏和生活力保存。

研究中还发现,毛竹种子采收后至贮藏半年左右,在种子老化的持续期内,种子发芽率、发芽势和活力指数都有所升高,发芽更整齐,但毛竹种子是否存在后熟现象,还仍需进一步验证。超干保存技术是一项简便易行、经济实用且又能有效延长种子贮藏寿命的保存技术。深入探讨竹类种子种质保存的超干保存具有重要的实践意义。

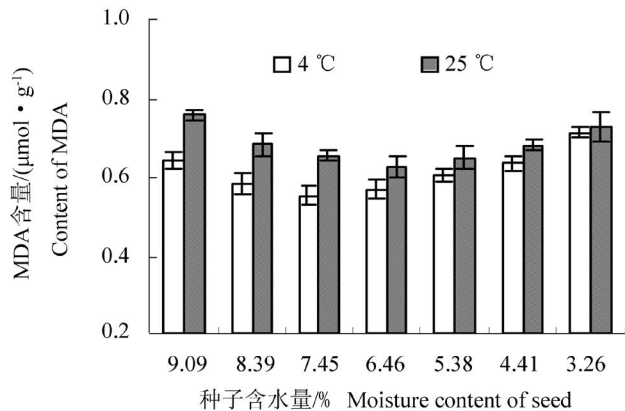


图 4 种子含水量对贮藏 2 年后的毛竹种子内 MDA 含量的影响

Fig 4 Effects of monisture content on the content of MDA of Moso bamboo seeds after 2 years storage

参考文献:

- [1] 江泽慧,郭起荣. 森林遗传资源保护与管理 [M]. 北京:中国林业出版社, 2008
- [2] 汪奎宏,黄伯惠. 中国毛竹 [M]. 杭州:浙江科学技术出版社, 1996: 2 - 8
- [3] 柴振林,秦玉川,华锡奇,等. 竹子开花原因研究进展 [J]. 浙江林业科技, 2006, 26(2): 53 - 57.
- [4] 江泽慧. 世界竹藤 [M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社, 2002: 16
- [5] 周芳纯. 竹林培育学 [M]. 北京:中国林业出版社, 1998: 124 - 126
- [6] 蔡春菊,彭镇华,高健,等. 毛竹种子萌发特性研究 [J]. 中国农学通报, 2008, 24(12): 163 - 167.
- [7] 蔡春菊,高健,牟少华. ^{60}Co 辐射对毛竹种子活力及早期幼苗生长的影响 [J]. 核农学报, 2007, 21(5): 436 - 440
- [8] 李伟成,盛碧云,王树东,等. 毛竹种子萌发对温度和光照的响应 [J]. 竹子研究汇刊, 2007, 26(4): 26 - 29.
- [9] 刘凤,曹帮华,蔡春菊,等. GA_3 提高毛竹种子活力机理探索 [J]. 西南林学院学报, 2009, 29(1): 22 - 25.
- [10] 张明方,朱诚,胡家恕. 洋葱种子种质超干保存的效果及其对膜系统的影响 [J]. 浙江农业大学学报, 1999, 2(3): 255 - 259
- [11] 林坚,郑光华,张庆昌. 回湿预处理防护超低含水量花生种子吸胀损伤的效果 [J]. 植物学集刊, 1994(7): 294 - 298
- [12] 国家技术质量监督局. GB 2772—1999林木种子检验规程 [S]. 北京:中国标准出版社, 2000
- [13] 李合生,孙群. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京:高等教育出版社, 2000: 164 - 169.
- [14] 郇琦. 植物生理学 [M]. 北京:中国农业出版社, 2000: 63 - 166
- [15] Harrington J F B biochemical basis of seed longevity[J]. Seed Sci Technol, 1973, 1: 453 - 461.
- [16] 汪晓峰,景新明,郑光华. 含水量对种子贮藏寿命的影响 [J]. 植物学报, 2001, 43(6): 551 - 557.
- [17] Buititk J, Claessens MMAE, Henning M A, et al Influence of water content and temperature on molecular mobility and intracellular glasses in seeds and pollen[J]. Plant Physiol, 1998, 118(2): 531 - 541.
- [18] McDonald M B. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment[J]. Seed Sci Technol, 1999, 27(1): 177 - 237.
- [19] 郑光华. 种子生理研究 [M]. 北京:科学出版社, 2004: 119 - 296
- [20] 朱诚,景新明. 洋葱种子含水量与贮藏温度对其寿命的影响 [J]. 植物生理学报, 2001, 27(3): 261 - 266
- [21] 郇冬梅. 超干贮藏对柱花草种子的影响 [J]. 热带作物学报, 2005, 26(3): 30 - 33.
- [22] 孙爱清,高荣岐,尹燕桦. 种子超干贮藏研究进展 [J]. 山东农业大学学报, 2000, 31(3): 325 - 329.