

文章编号:1001-1498(2006)01-0117-04

朝鲜冷杉种子层积过程中萌发特性和内源激素 ABA、IAA 含量的变化

孙敬爽, 贾桂霞*

(北京林业大学园林学院, 北京 100083)

关键词: 朝鲜冷杉; 脱落酸(ABA); 生长素(IAA); 休眠; 种子

中图分类号: S722 文献标识码: A

Germination Characteristic and Endogenous ABA, IAA Content Change in the Seed of *Abies koreana* During Stratifying

SUN Jing-shuang, JIA Gui-xia

(College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: *Abies koreana* seeds, which had a certain dormancy character, were treated by cold stratification to improve germination. The seed germination rates and germination energy were tested respectively to determine the effect of cold stratification (4 °C for 1 d, 15 d, 25 d, 40 d). The results showed that the longer the duration of cold stratification, the higher the germination rates and germination energy, and 40-day stratification had the best effect. Endogenous ABA, IAA content in seeds were examined synchronously for different treatments. For unstratified seeds, there are much ABA and little IAA. Following the process of stratification, the content of ABA gradually decreased, while IAA increased. It concluded that endogenous ABA, IAA content in seeds were connected with dormancy and germination of *Abies koreana*.

Key words: *Abies koreana*; ABA; IAA; dormancy; seeds

朝鲜冷杉(*Abies koreana* Wils.)为常绿矮生树种,高达1 m,树冠塔型,树皮褐色,大枝轮生平展,叶条形,正面为亮绿色,背面被两条白色气孔带,具有鲜艳美丽的球果,观赏价值较高,在韩国为优良地貌风景林树种和行道树种^[1],并在欧美等国家园林中已得到广泛应用,我国目前未见有引种报道。在国家林业局“948”项目的资助下,引进朝鲜冷杉的种子,但其种子具有一定的休眠习性,如不经过任何处理,发芽率仅为40%左右,且不整齐,严重抑制了种苗的生产,提高了成本。国内外学者对冷杉属(*Abies* Mill.)部分植物的种子休眠习性和萌发特性进行了研究。对于西伯利亚冷杉(*Abies sibirica*

Ledeb.)种子,由于胚萌发所需的氧气受到限制,低温层积2~3个月后发芽率为10%,离体胚培养可以达到95%^[2];对于秦岭冷杉(*A. chensiensis* Van Tiegh.)种子,认为其中含有萌发抑制物,经沙藏层积(4 °C)28 d后,发芽率和发芽势有明显的提高^[3];岷江冷杉(*A. faxoniana* Rehd. et Wils.)种子在低温冷水中浸泡14 d后,可以明显地增强种子活力,出苗率和存苗率都明显提高^[4];尽管认为黄果冷杉(*A. ernestii* Rehd.)、紫果冷杉(*A. recurvata* Mast.)、鳞皮冷杉(*A. squamata* Mast.)没有明显的休眠习性,但是在1~5 °C低温层积半个月后发芽迅速、整齐^[2]。国外对朝鲜冷杉育苗方面的研究主要集中在

收稿日期: 2005-03-01

基金项目: 国家林业局“948”引进项目,项目编号:2002-08-01

作者简介: 孙敬爽(1978—),女,河北辛集人,博士研究生,园林植物遗传育种。

* 通讯作者

苗木生态习性、扦插繁殖中母株和插穗的筛选、苗木的施肥管理和苗木的最终生长量等^[5~9],而对其种子的休眠机理的研究至今未见报道。

本文主要研究不同的低温层积处理时间对朝鲜冷杉种子发芽的影响,同时测定了不同处理过程中内源激素 IAA、ABA 含量的变化,以分析朝鲜冷杉种子的休眠机理;为朝鲜冷杉的种子处理和苗木生产提供一定的理论和实践指导。

1 材料和方法

1.1 层积处理

朝鲜冷杉种子千粒质量为 7.6015 g,与冷杉属其它种子相比,平均质量相对较小。引进种子空粒达到 50%,层积前首先通过净种去除不饱满的种子,用 0.3% 的 KMnO_4 处理 30 min,浸种处理 24 h,然后与湿沙搅拌均匀(沙与种子的体积比为 2:1),放在冰箱内,温度为 4 ℃。层积时间分别为 15 d、25 d、40 d。

1.2 发芽试验

分别取层积沙藏 15 d、25 d、40 d 的种子,以清水浸泡 1 h 的种子为对照。试验前将各处理的种子用清水冲洗干净,均匀地放置在培养皿的无菌滤纸上,浸湿滤纸,放在发芽箱中。温度为 25~30 ℃,光照 $8 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$,每种处理 100 粒,3 次重复。每 2 d 观察 1 次发芽情况(以白色胚根露出为标准),分别测定发芽率和发芽势。

1.3 内源激素 IAA、ABA 提取分离和测定

本试验分 5 次取样,分别为层积 15 d、25 d、40 d,以清水浸泡 1 h 作为对照。每次取样 1.0 g 左右,层积样品分别用液氮进行处理,放在 -40 ℃ 的冰箱中保存。本试验采用气相色谱-质谱法定性定量,具

体流程如下:

称取样品 $\xrightarrow{\text{加石英砂,抗氧化剂,80\%冷甲醇}}$ 充分研磨,过夜 \rightarrow 加内标、过滤,甲醇冲洗 $\xrightarrow{\text{加 1 滴浓氨水}}$ 浓缩(35 ℃)至水相,冻融 3 次 \rightarrow 离心,收取上清液 \rightarrow 调 pH 值 2.5~3.0 $\xrightarrow{\text{乙酸乙酯(等体积)}}$ 进行萃取,收集上清液 $\xrightarrow{\text{加 2 滴浓氨水}}$ 浓缩至干,过柱 $\xrightarrow{\text{2 滴浓氨水}}$ 浓缩至干,抽真空 \rightarrow 甲酯化 \rightarrow 三甲基硅烷化 \rightarrow GC-MS 定性定量。

2 结果与分析

2.1 层积过程中种子萌动的变化

朝鲜冷杉种子在层积沙藏中是一个缓慢吸水和发芽的过程。对不同层积时期的种子萌动情况进行检查,以白色胚根突破种皮为指标。层积 15 d 时,种子没有明显的萌动迹象;25 d 后,有 15%~20% 的种子开始露白,但大多数为根端开始膨大,白色胚根出现较少;层积 40 d 时检查,30% 露出胚根,另有大量的根端膨大,开始露白。由此可以看出,朝鲜冷杉种子具有轻度的休眠习性,层积沙藏 25 d 后开始打破部分种子休眠,40 d 后,1/3 种子开始咧嘴,达到播种要求。

2.2 发芽率和发芽势的变化

图 1 表明:低温层积处理对朝鲜冷杉的发芽率和发芽势均有显著的作用,且随着层积时间的增加,种子的发芽率和发芽势明显地提高。其中层积沙藏 25 d 和 40 d 发芽率都达到 75% 以上;对照种子发芽率相对较低,仅 45%。从图 2 可以看出,层积沙藏 40 d 的种子发芽势较高。

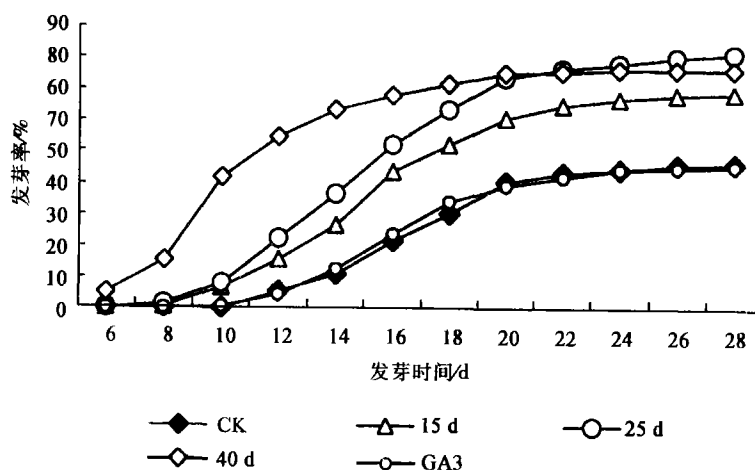


图 1 朝鲜冷杉种子在不同条件处理下发芽过程

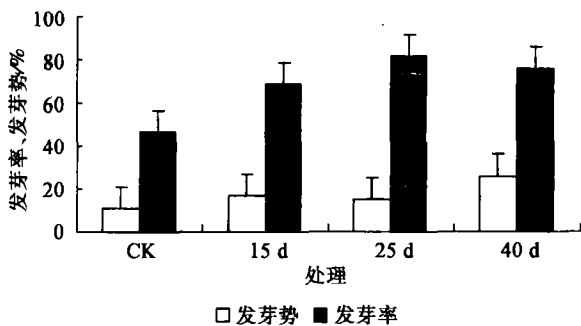


图2 朝鲜冷杉种子不同处理的发芽率和发芽势

2.3 ABA 和 IAA 含量的变化

内源激素的变化是种子储藏物质转化、大分子物质合成和萌发的重要条件^[10]。层积催芽能够促使种子合成生长激素,降解抑制激素。由图3可以看出,随着层积沙藏时间的延长,ABA含量逐渐下降,层积15 d与对照相比下降了47.8%,层积25 d含量最低,是对照的1/10,层积40 d与25 d没有明显差异。而内源激素 IAA 的含量随着层积时间的延长逐渐增加,层积15 d与25 d其含量没有明显区别,但与对照相比增加了109.8%,层积40 d时其含量最高,是对照的12倍;另外,IAA/ABA比值随着层积处理有明显提高,其比值分别为0.042、0.170、0.887、3.679。种子层积沙藏25 d前,内源激素 IAA/ABA < 1;层积沙藏40 d时,由于 IAA 含量的明显增加,其比值达到最高,内源激素 IAA/ABA > 1。

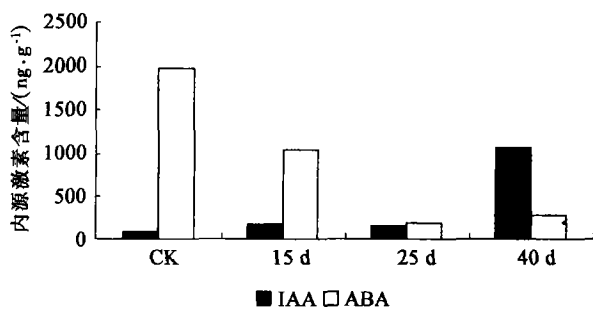


图3 朝鲜冷杉种子不同处理的内源 IAA 和 ABA 含量的变化

3 讨论

关于种子休眠与内源激素的关系,曾一度成为研究者所关注的热点。由于 ABA 广泛存在于休眠种子中,因此对引起种子休眠内源激素的研究也主要集中在 ABA 上,一般认为高浓度的 ABA 是造成植物种子生理休眠的重要原因,其主要抑制核酸的正常代谢,干扰核糖核酸(RNA)的合成,从而阻抑了蛋白质和有关酶的合成,使种子不能进行正常的

代谢活动^[12]。在有些植物中,种子的内源 ABA 含量与其休眠深度之间呈明显的正相关关系,如苹果 (*Malus pumila* Mill.)^[18]、桃 (*Prunus persica* (L.) Batsch.)^[19]、水曲柳 (*Fraxinus mandshurica* Rupr.)^[20]。有些研究认为^[11,13~17],低温沙藏处理可以打破由 ABA 造成的休眠,ABA 含量通常随着层积沙藏过程及其休眠的解除而降低。但是,在有些植物的研究中也曾经得到不一致的观点,谭志一等^[21]用气相色谱测定了经过层积和水洗红松 (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.) 种子的内源 ABA 的含量,发现都能使内源 ABA 含量降到相近的水平,但是层积的能萌发,水洗的仍处于休眠状态,因此认为红松种子休眠与 ABA 含量无直接关系;赖力等^[22]用外源 ABA 处理离体胚的研究证明,ABA 与休眠无直接关系。近来更多的实验^[23~25]表明,ABA 的含量在种子贮藏或低温层积过程中的降低并不是解除休眠的前提条件,种子休眠的诱导和解除可能是包括 ABA 在内的多种抑制因素协调作用的结果。通过本实验的研究表明:朝鲜冷杉种子层积沙藏之前,种子内含有大量的 ABA,抑制了发芽率和发芽势,使发芽率仅仅达到40%。层积25 d后明显地降低了内源 ABA 的含量,大大提高了发芽率。因此,本人认为朝鲜冷杉种子的休眠习性与内源 ABA 的含量仍有密切关系,但对于单一的抑制物 ABA 的含量是否成为引起朝鲜冷杉种子休眠的主导因素需要进一步的研究。

IAA 在解除种子休眠方面的报道不多,而且结论也各不相同。按照 Kochankov^[26]等人的观点认为,生长素 (IAA) 参与了休眠调节。曾有研究^[14,27,28]表明:在层积处理中,休眠种子中 IAA 含量总体呈上升趋势,对解除休眠起到一定的作用。另有一些研究则表明种子休眠解除过程中,与 IAA 含量关系影响不大,过高的 IAA 含量甚至起到负面作用。如 Sircar^[11]认为:水稻 (*Oryza sativa* L.) 的休眠是因为胚乳中 IAA 浓度过高引起的。李金克等^[29]对红松休眠机理的研究中认为:过高浓度的 IAA 对种子发芽不利;高红兵等^[11]在东北红豆杉 (*Taxus cuspidate* Sieb. et Zucc.) 层积过程中,认为少量 IAA 的增加是由于胚的生长造成的,IAA 与其休眠和萌发关系不大;Pau^[30]在研究火炬松 (*Pinus taeda* Linn.) 也发现,火炬松种子在层积过程中其 IAA 含量变化不大。通过本实验研究发现,激素 IAA 在朝鲜冷杉种子层积沙藏过程中呈上升趋势。其中沙藏15 d、25 d都比对照提高了109.8%,层积40 d时

达到最高, IAA/ABA 达到最高, 和种子发芽势的动态相一致。因此, IAA 作为促进剂在解除朝鲜冷杉种子休眠过程中起到一定的作用; 但是层积 25 d 与 40 d 时种子的发芽率没有明显差异, 内源 IAA 含量是在 ABA 含量明显下降和部分种子休眠解除之后才呈现明显上升趋势。因此, IAA 含量的提高可能是由于种子在休眠解除后种子萌发胚的生长引起的。

参考文献:

- [1] Lee K C, Ahn K Y A. Study on diversifying of plant species for the landscape construction in Korea[J]. Seoul National University Journal of Agricultural Sciences, 1991, 16(1): 67 ~ 80
- [2] 国家林业局国有林场和林木种苗工作总站. 中国木本植物种子[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001: 10 ~ 17
- [3] 赖江山, 李庆梅, 谢宗强. 濒危植物秦岭冷杉种子萌发特性的研究[J]. 植物生态学报, 2003, 27(5): 661 ~ 666
- [4] 马存世, 尹承院. 岷江冷杉种子育苗试验的研究[J]. 甘肃林业科技, 1998(4): 17 ~ 20
- [5] Kim Gab Tae, Choo Gab Chul. Comparison of growth condition of *Abies koreana* Wilson by districts[J]. Korean Journal of Environment and Ecology, 2000, 14(17): 80 ~ 87
- [6] Kim C S. Effects of mother tree ages, timing of cutting and growth regulators on cuttings in Korean fir (*Abies koreana* Wilson) [J]. Research Report of the Institute of Forest Genetics, 1988, 24(35): 47 ~ 56
- [7] Chung S H. A study on the diameter increment of major conifers in the middle area of Korea [J]. Journal of Korean Forestry Society, 1985 68(11): 52 ~ 59
- [8] Kim C S, Koh J G, Kim C S. Influences of shading and soil fumigants on the growth characteristics of *Abies koreana* seedlings [J]. Research Report of the Forest Genetics Research Institute, 1993, 29(8): 165 ~ 169
- [9] Kim Gab Tae, Choo Gab Chul. Studies on the structure of forest community in subalpine zone of Togyusan; *Abies koreana* forest [J]. Korean Journal of Environment and Ecology, 1999, 13(1): 70 ~ 77
- [10] A A 卡恩, 王沙生, 洪铁宝. 种子休眠和萌发的生理生化[M]. 高荣孚译. 北京: 农业出版社, 1989: 3
- [11] 高红兵, 吴榜华, 孙振良. 东北红豆杉层积过程中内源生长素和脱落酸含量的变化[J]. 吉林林学院学报, 1998, 14(4): 187 ~ 189
- [12] 郑光华. 种子生理研究[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 307
- [13] 张良诚, 唐德幼, 石湘年, 等. 红松种子休眠和层积生理的研究[A]. 见: 中国植物生理学会. 第一届论文集[C]. 北京: 中国植物生理学会, 1963, 53 ~ 54
- [14] 张培玉, 杨晓玲, 项殿芳, 等. 山楂种子休眠、萌发与内源激素含量的变化[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1993, 3(3): 7 ~ 10
- [15] 王文章, 刘恩举, 陈杰. 红松种子抑制物的提取、分离、鉴定[J]. 中国科学, 1980(9): 899 ~ 906
- [16] 陈杰, 王文章. 用放射免疫法测定红松种子休眠、层积萌发时 ABA 的含量[J]. 东北林业大学学报, 1987, 15(1): 7 ~ 11
- [17] 智信. 松属部分树种种子休眠原因和休眠机理及催芽技术的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 1990, 41 ~ 51
- [18] Rudnicki R. Studies on ABA in apple seeds [J]. Planta, 1969, 86: 63 ~ 68
- [19] Bonamy P A, Donniss F G. ABA levels in seeds of peach. II. Effects of stratification temperature [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1988, 102(1): 26 ~ 28
- [20] 郭维明, 李玮, 郭廷翘, 等. 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[J]. 东北林业大学学报, 1991, 19(6): 44 ~ 53
- [21] 谭志一, 董愚得, 房耀仁, 等. 红松种子休眠与脱落酸及外种皮的关系[J]. 中国科学, 1983(B), 9: 816 ~ 822
- [22] 赖力, 郑光华, 幸红伟. 红松种子休眠与种皮的关系[J]. 植物学报, 1989, 31(12): 928 ~ 933
- [23] 郑彩霞, 高荣孚. 脱落酸与内源抑制剂对洋白蜡种子休眠的影响[J]. 北京林业大学学报, 1991, 13(4): 12
- [24] 管康林, 方星, 郑纲. 山茶黄种子休眠原因与萌发条件[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(5): 24 ~ 27
- [25] Walton D C. Does ABA play a role in seed germination [J]. Isr J Bot, 1980, 29: 168 ~ 180
- [26] Kochanko V G, Gitzesik M, Chojnowski M, et al. Effect of temperature, growth regulators and other chemicals on *Echinacea purpurea* (L.) Moench seed germination and seedling survival [J]. Seed Sci & Technol, 1998, 26: 547 ~ 554
- [27] 杨万霞. 青钱柳种子休眠原因及萌发生理的初步研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2004
- [28] 郭永清. 北美鹅掌楸种子休眠机理及老化特性的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2004
- [29] 李金克, 金幼菊, 陈华君, 等. 红松种子层积催芽处理和萌发过程中内源 GAs 和 IAA 含量的变化[J]. 河北林果研究, 1997, 12(3): 203 ~ 208
- [30] 陈学梅, 王沙生. HPLC 方法测定植物组织内源 ABA, IAA, NAA 含量的变化[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(5): 368 ~ 371