

· 专题介绍 ·

硬实种子休眠的机制和解除方法

杨期和^{1*} 尹小娟¹ 叶万辉²

(1 广东省嘉应学院 梅州 514015) (2 中国科学院华南植物园 广州 510650)

摘要 硬实是植物中普遍存在的现象。硬实种子种皮透水透气性差和对胚生长的机械限制,引起种子休眠。遗传因素、母株环境、贮藏条件、采收方法、种子本身的成熟度、含水量、大小、形状及颜色都能影响种子硬实率。硬实的处理方法大体可分物理、化学和生物3类,这些方法通过改善种皮的通透性,促进气体交换和水分进入,消除机械限制而促进萌发。物理方法有机械损伤、低温和高温处理、干湿交错处理、辐射和高压处理等;化学方法有酸蚀、碱液浸泡和有机溶剂等处理。硬实休眠有利于植物调节种子萌发的时空分布,在种质保存上也具有特别重要的意义。

关键词 种子, 硬实, 休眠, 解除

Dormancy Mechanism and Breaking Methods for Hard Seeds

Qihe Yang^{1*}, Xiaojuan Yin¹, Wanhui Ye²

(1 Jiaying College of Guangdong, Meizhou 514015)

(2 South China Botanical Garden of Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650)

Abstract Hardseedness is a naturally occurring phenomenon for many plants, especially leguminous species. Dormancy for hard seeds is caused by impermeability to water and gas and mechanical constraint of the seed coat. All of the genetic factors, maternal environment, storage conditions, collecting methods and the degree of maturity, moisture content, size, shape and colour of seeds can affect hardseed percentage. The methods for breaking dormancy in hard seeds are generally classified into physical, chemical and biological treatments, which hasten germination by improving seed coat permeability, gas exchange, and water entrance and relieve mechanical constraints. The physical methods include mechanical scarification, low and high temperature, hydration-dehydration, irradiation, high pressure and other physical treatments, and the chemical ones include acid scarification, alkali solution soaking and other organic chemical treatments. Dormancy in hard seeds benefits spatio-temporal distribution of seed germination and is of great significance for preserving germplasm.

Key words seed, hardseedness, dormancy, dormancy-breaking

由于种皮(有时也包括果皮)坚硬而很难进行吸胀萌发的种子称为硬实种子(或称硬实、硬粒种子, hardseed; 硬壳种子, hard-coated seed, hard-shelled seed)。此处所说的种子,是指种

子植物的有性传播单位,一般包括真种子(由受精胚珠发育而成)和具有真种子的干闭果,如颖果、核果、瘦果和坚果等。不同植物的种皮细胞层次和排列、色素种类和含量以及不透

收稿日期: 2005-02-18; 接受日期: 2005-09-27

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(G2000046803)、广东省科技计划项目(2004B36001018)和广东省教育厅自然科学基金项目(Z03088)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: yangqh@jyu.edu.cn

性物质(包括角质、胶质、蜡质、栓质和半纤维素等)沉积等不同,因而种皮机械强度和透气透水性不同,即硬实程度不同(Bhattacharya and Saha, 1990; 叶常丰和戴心维, 1994; Baskin and Baskin, 1998)。硬实程度仅从外部形态(如色泽浓淡和种粒大小等)很难确定,逐一抽样观察种子的显微或亚显微结构来评价种子的硬实程度在农林业生产上也不适用。当然,硬实程度越高,种子达到吸胀状态需要的浸种时间也越长。目前一般是通过一定时间的浸种后检查吸胀情况,再计算硬实率(即不能吸胀的种子占试样种子的百分率),种子硬实度(degree/level of hardseed-ness/hard-seededness)采用硬实率来衡量。

硬实是植物种子中广泛存在的特性,常见于豆科(Leguminosae)、旋花科(Convolvulaceae)、锦葵科(Malvaceae)、棕榈科(Arecaceae)、半日花科(Cistaceae)、蔷薇科(Rosaceae)、梧桐科(Sterculiaceae)、山茶科(Theaceae)、睡莲科(Nymphaeaceae)、紫草科(Boraginaceae)、牻牛儿苗科(Geraniaceae)、柿科(Ebenaceae),其他如藜科(Chenopodiaceae)、鼠李科(Rhamnaceae)、百合科(Liliaceae)、葫芦科(Cucurbitaceae)、槭科(Aceraceae)、蓼科(Polygonaceae)、茄科(Solanaceae)、无患子科(Sapindaceae)、田麻科(Tiliaceae)、木犀科(Oleaceae)、木兰科(Magnoliaceae)、大戟科(Euphorbiaceae)、蒺藜科(Zygophyllaceae)、樟科(Lauraceae)、漆树科(Anacardiaceae)、美人蕉科(Cannaceae)、榛科(Corylaceae)、山矾科(Symplocaceae)和杜鹃花科(Ericaceae)等也或有之,在禾本科(Gramineae)作物玉米和小麦种子中也偶有发生,豆科种子最为普遍(Kuo, 1989; Thanos et al., 1992; 叶常丰和戴心维, 1994; Baskin and Baskin, 1998; Morrison et al., 1998; Li et al., 1999; Meisert, 2002; Baskin et al., 2004)。目前对种子硬实的研究多是以豆科种子为材料。

1 硬实种子休眠的原因

目前对硬实种子的研究主要集中于硬实解除方法的探讨,其次是硬实不透性的机制,以解剖学观察较为常见。关于硬实透水透气性差的原因,存在着多种说法:有的认为是由于种皮具有发达的角质层,有的认为是由于角质层下面存在栅状厚壁细胞,有的认为栅状厚壁细胞有不透水层,而有的则认为是厚壁细胞与胚乳层之间存在不透水的化学物质(Kuo, 1989; Thanos et al., 1992; 叶常丰和戴心维, 1994)。说法之所以有分歧,部分原因可能是因为所用的材料不一致。总的来说硬实种子不能吸胀萌发是由于种皮透水透气性差以及对胚生长的机械束缚造成的。硬实种子休眠往往并非因上述的单一因素造成的,而是多种因素相互作用的结果。

1.1 种皮的不透水性

对豆科、梧桐科和田麻科的一些植物的硬实种子解剖结构研究表明:多数硬实种子种皮非常坚韧,主要是因为种皮具有发达的角质层和广泛发育的栅栏状细胞与骨状石细胞(Bewley and Black, 1994)。大豆和刺槐等豆科植物种皮最外层细胞是角质层,主要由半纤维素及胶质类物质组成;第2层细胞为栅状细胞,形状狭长,排列整齐紧密,其中积聚大量钙盐或硅酸盐,形成坚固致密的保护层,栅栏细胞的外端,在显微镜下,可见一条特别明亮的部分,称为明线,一般认为明线的特殊物理结构是造成种皮不透水的原因之一(Desouza and Marcos-Filho, 2001);种子表皮凹孔不明显或消失,水分难以渗入。苜蓿(*Medicago sativa*)和草木犀(*Melilotus suaveolens*)硬实种子的种皮外表有一层排列紧密的马氏细胞。梧桐(*Firmiana simplex*)硬实种子的外种皮皱缩,质脆坚硬;种子上表皮是一层厚壁细胞,构成角质膜;内种皮则是坚硬的角质层,由5~6层栅状细胞组成,内种皮并不限制气体进入,但不易透水。经700倍电镜扫描观察,硬实豆与正常豆的种皮结构不同,硬实种皮

内壁加厚,将气孔埋没堵塞,水分无法渗入,而正常种皮内壁气孔清晰可见,呈孔状(马盾和刘健,1995;余玲等,2004)。漆树科植物,如香漆和*Rhus glabra*主要是内果皮结构极其致密,均由石细胞组成,内果皮结构共分3层,外层为短石细胞、中层为骨状石细胞,内层为巨石细胞(Li et al., 1999)。

种皮上常有一定的部位控制透水,这些部位包括发芽孔、内脐或脐缝,不同植物的种子,有所不同(Kuo, 1989; Bhattacharya and Saha, 1990; Li et al., 1999)。一些豆科和漆树科植物的种子由发芽孔控制透水性,棉花则主要由内脐部位控制。硬实种子的进水孔(内脐)被一些色素填充组织阻塞,或是由组织严密的木质化孔口和不透水的孔口塞(其表面有排列很紧密的栅状细胞)组成。豆科植物的种脐往往像控制湿度的活门一样,只允许水分散出而阻止其进入;种子放在干燥的空气中,脐缝就迅速开启,而放在潮湿空气中则迅速关闭,种子外的水分或水汽就不能进入内部(Egley, 1979; 郭华仁和陈博惠, 1992; 叶常丰和戴心维, 1994; Desouza and Marcos-Filho, 2001),因而形成硬实。

此外,种皮中通常还含角质、胶质、栓质、脂质和蜡质等疏水性的化学物质,栅状细胞的胞壁也主要由果胶组成,使种子不能吸胀。在三叶草种皮的厚壁细胞与胚乳层之间存在的脂质性物质,构成硬实种子的不透水层(Bhalla and Slattery, 1984; Riggio-Bevilacqua et al., 1985)。硬实种皮对休眠的作用,除了上述的几种情况外,其致密的结构同时也阻止萌发抑制物质的渗出、变化和挥发,使它们保留在种子内而阻碍萌发。

1.2 种皮的不透气性

硬实种子的种皮往往限制种胚的气体交换,阻碍 O_2 的进入和 CO_2 的排出,从而抑制呼吸,不能保证萌发所需能量。一般来说,多数透气性差的种子透水性也弱,但有些植物的硬实种子透水性较强,能吸收水分,但透气性弱;这些种子

即使吸收了充足的水分,由于 O_2 不能吸入,有可能 CO_2 也无法排出,导致气体交换不畅,生化反应不能顺利进行;同时在高度缺氧条件下,引起种子内抑制物的形成,胚细胞的生长发育受阻,影响种子的生理后熟而不能萌发,如青钱柳(*Cyclocarya paliurus*)、山楂(*Crataegus Pinnatifida*)、南方红豆杉(*Taxus mairei*)、禾谷类和棉种子(叶常丰和戴心维, 1994; 朱念德等, 1999)。一些热带的顽拗型种子,如小叶藤黄(*Garcinia cowa*)和椰子(*Cocos nucifera*),种胚本身含水量很高,几乎不必从外界吸收水分就可满足萌发的水分需要,但由于坚硬种皮限制了气体的出入使种子不能萌发(Liu et al., 2005)。有些硬实种皮含有大量的酚类物质,尽管种皮能渗入少量的氧,但氧被种皮内酚类物质所氧化结合,而不能进入种胚。

1.3 种皮的机械限制

坚硬种皮在具有透性障碍的同时,还具有对种胚机械束缚作用。早在1966年, Lipe 等对桃种子研究后指出,木质化果皮的机械阻力是休眠的重要原因,胚能否突破种皮取决于种皮阻力与胚产生的推力的差值。白蜡树(*Fraxinus excelsior*)、酸模(*Rumex acetosa*)、沙枣(*Elaeagnus angustifolia*)、李、桃、蔷薇和其他核果类植物的种子也因为坚硬种皮的(有时也有果皮)机械限制作用而不能顺利萌发,若去掉种皮,胚则生长迅速且可在低水势下萌发。

对多数硬实种子来说,种皮的机械限制作用往往伴随着其不透水性和不透气性,但有些植物种皮的透水性透气性良好,仅由于种皮限制种胚向外伸展而使种子不能萌发,如芸苔属(*Brassica*)、苋属(*Amaranthus*)、芥属(*Capsella*)、泽泻属(*Alisma*)和独行菜属(*Lepidium*),种子长期处于吸胀饱和状态,直至种皮干燥,细胞壁胶体性质发生变化阻力下降,随着时间的延长,种皮限制作用逐渐减弱。当种子埋藏于高温的土壤(如在自然条件下度过一个夏季)或经暖温层积处理,由于微生物的作用

使种皮腐烂,降低阻碍作用而引起萌发(叶常丰和戴心维, 1994)。

植物种子休眠的原因是很复杂的,硬实休眠也是如此,上述原因中的任何一个方面,都有可能引起萌发受阻,而在较多的情形下更是多种因素互相作用的结果。当然,并非所有硬实种子的休眠都仅是由种皮原因引起,有些也伴随着胚的生理休眠,这反映在有些硬实种子在破除种皮之后并不能萌发,尚需其他处理。有学者通过研究系统学资料和化石证据,认为在漆树科和豆科植物中,种子休眠存在着从物理休眠(physical dormancy)向物理生理休眠(physical and physiological dormancy)进化的趋势(Baskin et al., 2000)。

2 影响硬实产生的因素

影响硬实形成的因素大体上可分为内部因素和外部因素。前者包括植物种类、种子本身成熟度和形态特点等;后者主要指种子发育、成熟和贮藏过程当中的土壤条件(包括土壤营养和水分供应状况)、空气相对湿度、气温变化以及光照情况等外界环境因子。

2.1 遗传因素

种子硬实性因植物种类而异,如完熟的紫云英硬实率一般为34%左右,野大豆为80%以上,而草原老鹳草和豆花牻牛儿苗高达100%(薛中强和宣裕吉, 1997; Meisert, 2002);即使是同一物种的不同品种之间也有所不同(Desouza and Marcos-Filho, 2001),如大豆和紫花苜蓿的不同品种之间差异甚大(郭彪等, 2002; 余玲等, 2004)。菜豆、白花草木樨和毛野豌豆的硬实和软实品系杂交后,子一代的硬实率介于两者之间,子二代却产生较多的硬实,这表明硬实是一种遗传性状(郭博和马宗仁, 1989)。对大豆的研究表明硬实性状受遗传控制,但在基因数目和显隐性关系上,结论差异较大。早期有人认为种子的吸水性至少是部分显性或为1个显性单基因控制; Kilen和Hartwig(1978)认为受3个主

基因控制,软实对硬实为显性; Srinives 和 Hadley(1980)认为受3个完全显性的主基因控制; Shahi和Pandey(1982)认为该性状受1个基因控制,亚种间杂交时,硬实为显性,品种间杂交时,硬实为隐性; Marjushkin等(1988)认为该性状受1对基因控制,硬实为隐性; 张太平等(1992)则认为大豆种子硬实性状受2个主基因控制,基因间有累加效应,硬实为显性。这些结论的分歧可能是因为试验材料不同,同时也说明硬实性状基因控制的复杂性,进一步采用分子生物学手段有助于了解种皮发育与硬实性状的基因调控机制。

2.2 成熟度

硬实是种子成熟到一定程度才出现的。当种子趋于成熟,种皮外层的厚壁栅栏细胞开始发育,完全成熟时栅栏细胞收缩引起硬实产生(叶常丰和戴心维, 1994)。紫云英种子成熟过程经历了绿熟期、黄熟前期、黄熟后期、完熟期和枯熟期5个阶段,硬实一般在黄熟后期结束至完熟初期才开始形成(薛中强和宣裕吉, 1997),黄熟后期至完熟期通常被认为是许多豆科硬实产生的临界点。种子越老熟,则硬实率越高,草木樨种子硬实率在盛花后10天达到11.25%, 20天达50%, 45天达最高(89%);成熟度低的褐色二色胡枝子种子硬实率仅为25%,而成熟度高的黑色种子高达60%,用90℃热水浸泡种子30分钟后,褐色种子萌发率为85%,黑色种子为95%(乌仁其木格, 1996),主要是因为种子随着成熟度的增高,果胶、木栓和硅质等在种皮中累积增多,种皮的不透性不断增强。

2.3 含水量与干燥处理

在种子的自然发育过程中,随着含水量的下降硬实率随之上升,主要是因为含水量下降的过程其实也是成熟度增高的过程;但很多植物的种子在刚采收时硬实率极低,但干燥之后会增高,如常规贮藏的棉花种子只有1.3%,但超干处理后高达58.7%,缓湿处理使含水量升高后,又降低至17%;菜豆种子超干处理后硬实率高达

70%, 红麻种子超干后硬实率也明显提高。干燥使硬实率升高是因为降低含水量使种皮栅状细胞更加收缩, 结构更为紧密所致。不同干燥方法对硬实率亦有影响, 日光曝晒的田菁硬实率比阴干要高; 紫云英在日光曝晒下, 硬实率变化不大, 而在人工加温时则不同, 剧烈迅速的干燥易导致硬实的产生(叶常丰和戴心维, 1994; 孙爱清等, 2004)。

2.4 母株环境条件

硬实受气候、降雨、灌水次数和太阳辐射等因素的影响。灌水量越少, 硬实率越高; 日光辐射强度越大, 时间越长, 硬实率也越高(马盾和刘健, 1995)。在高温干旱环境中, 植物的硬实率较高, 如东北大豆在新疆种植后, 硬实率比在原产地明显增加(周宏玲和刘健, 1993); 土壤中钙质多, 成熟期间气候干燥往往造成大豆硬实粒增多(叶常丰和戴心维, 1994)。

不同地区种植, 硬实率会有差异, 如栽培的赤豆种子, 硬实率随纬度的升高而升高(汪自强等, 1995)。同一品种在不同年份收获的种子含有不同的硬实率, 大豆、黄芪和红雪果等在降雨量多的年份硬实率明显低于降雨量少的年份(郭彪等, 2002)。在同一年中, 作物因生长期不同, 硬实率亦有差异, 如赤豆种子早播(5月30日)比迟播种(7月2日)后长成植株结籽的硬实率高; 秋大豆的成熟期正值干燥季节, 种皮硬化程度高, 而在低温多湿条件下成熟的种子, 含硬实很少。有些硬实性较强的植物在果熟期间对温湿度条件很敏感, 高温低湿的田间条件引起硬实率增加, 如白花草木樨种子在干热的气候下成熟, 硬实率达98%以上, 而在雨天成熟, 则几乎无硬实(叶常丰和戴心维, 1994)。在影响硬实的环境因素中, 降雨量(很大程度上决定了空气湿度和土壤水分)是很关键的。果熟期间干旱引起硬实率升高的原因可能是因为干旱会促进乙烯的合成, 而乙烯能改变细胞壁中微管结构的排列, 使种皮外层细胞扩张, 因而改变了种皮的结构组成, 从而使种皮厚度也发生变化。

2.5 种子贮藏

种子硬实率在贮藏期间也会发生一定的变化, 这主要取决于贮藏温度和湿度。有些植物种子在刚收获时硬实率很低, 但经贮藏之后会增高, 原因可能是种子存在后熟, 或者贮藏环境湿度较低、种子失水而引起硬实增多, 这和紫云英田间后熟阶段硬实率升高的原因是相似的。一般来说, 在湿度较大的条件下贮藏不易产生硬实, 在干燥条件下则易硬实化。三叶草属(*Trifolium*)和苜蓿属(*Medicago*)一些植物种子, 放在恒温 and 变温条件下贮藏11个月, 变温条件下硬实率明显低于恒温条件下, 而且温差越大, 硬实率越低(Lodge et al., 1990); 当年收获的紫云英种子到10月上旬播种时, 硬实率一般为2.5%~3.5%, 常温袋装贮藏1个月的种子为5%~15%, 2个月的为0~5%, 而在20℃恒温种子库中贮藏, 新种播种时的硬实率是30%~50%, 1~2个月陈种分别为10%~18%和7%~10%, 这表明在变温条件下贮藏, 有利于降低硬实率。紫云英种子收获后2~3个月内, 硬实率一般达80%以上, 在这段时期内变化很小, 而到9月中旬接近播种时, 急剧下降, 一般只有10%左右, 这和当时气温的急剧变化存在一定关系(薛中强和宣裕吉, 1997)。恒温贮藏时, 温度较高则硬实率下降较快。此外, 硬实种子本身发生的一些生理变化可能会导致种子硬实的解除, 但这种生理机制目前尚未完全清楚。

2.6 其他因素

有些植物种子的大小不同, 硬实率也有差别。大豆和毛蔓豆的小粒种子较高, 而大粒种子较低, 其他一些易产生硬实的植物也多是如此(Desouza and Marcos-Filho, 2001); 蓝花棘豆大小粒种子发芽率较高, 中粒的硬实率则偏低(徐本美等, 1995)。种皮的颜色也影响硬实率, 颜色越深, 硬实率越高, 二色胡枝子、苜蓿和红三叶草的深色种子硬实率高于浅色种子, 颜色差异是由于色素在种皮中的沉积不同; 此外, 种子形状有时也可能影响硬实率, 螺旋形、多角形

和肾形的苜蓿种子, 硬实率依次降低(郭博和马宗仁, 1989; 乌仁其木格, 1996)。

不同部位所着生的种子因成熟度不同, 硬实率也有差异。新疆大豆种子上部节位荚硬实率高于中部节位荚, 中部又高于基部(马盾和刘健, 1995)。紫云英植株上部种子所含硬实率仅50%, 而基部却高达80%~90%。不同部位种子硬实率不同, 原因较复杂, 可能是因为上下部受光环境不同, 或不同部位开花不同时, 因而种子成熟度不同。收获方法也影响硬实。紫云英种子常采用3种不同方法采收, 但硬实率差异表现, 主要是由于这3种方法在脱粒过程中对表皮组织(包括脐疤)的影响不同, 对籽粒的表皮组织损伤越重, 硬实率越低(薛中强和宣裕吉, 1997)。

3 硬实种子的处理

种子硬实性一直为人们所关注, 对硬实的解除方法已有不少研究工作(Mayer and Poljakoff-Mayber, 1990; Baskin and Baskin, 1998), 主要有物理、化学和生物3种方法。

3.1 物理方法

3.1.1 机械处理 机械处理通过损伤硬实种皮, 增强透性, 迅速解除机械限制作用而促使种子萌发。种子数量少时, 可以用刀刻法在种壳上割痕, 或在砂纸上磨擦, 或在研钵中将种子与粗砂混匀研磨, 只要避开胚轴和胚根的部位, 造成种皮损伤则可; 数量多时则以机械磨擦为宜, 通常用小型种子磨擦机或电动磨米机去除种皮, 碾磨程度以破皮而不伤种仁为好(Bewley and Black, 1982)。许多研究表明, 机械损伤种皮是处理硬实最有效的方法(Thanos et al., 1992; Baskin et al., 2004; Uzun and Aydin, 2004)。

3.1.2 低温处理 低温处理包括冷冻处理和低温层积。有些植物种子通过冷冻处理后可破坏硬实种皮, 也可用液态氮处理, 改变种皮透性, 如冷冻处理能有效破除硬实, 提高苜蓿、

兵豆、百脉根、白花羽扇豆和红豆草种子的发芽率(国家标准总局, 1982)。低温处理也可将种子在较低温度下置于湿润的发芽床或其他基质中层积处理, 此法可提高酶活性, 增强水解作用, 促进种子内部抑制物质分解, 破除休眠(Evans and Smith, 1999; Uzun and Aydin, 2004)。野生大豆种子在自然状态下全部吸水发芽需要5~7年, 每经一个冬季, 都有一定比例的籽粒吸水, 冷冻可能是野生大豆籽粒吸水的先决条件(乔亚科等, 2003)。

3.1.3 高温处理 高温烫种可以软化种皮, 去掉种皮表层的蜡质和油脂, 提高透性和浸出种子内发芽抑制物, 是最常用的一种高温处理方法。金合欢属(*Acacia*)植物和黑荆树的种子用90℃热水烫种, 冷却后再浸泡24小时; 火炬树种子用70~90℃高温烫种0.5小时后, 把温度降至40℃, 自然冷却浸种24小时; *Trifolium meneghinianum*种子放入75℃的热水中浸5分钟, 均可获得较高发芽率, 且发芽整齐(Bewley and Black, 1994; 李昆等, 2003; Uzun and Aydin, 2004)。高温浸种时间应视种子大小、种皮厚薄及水温而定。松属球果表面的树脂在40℃左右的高温下才能熔化, 之后开裂或将球果放在苗床上, 下面烧以微火, 往往也能减轻休眠; 森林火灾之后, 一些植物(如半日花科)的硬实种子随后萌发, 也是高温打破休眠的结果(Thanos et al., 1992)。短时间高温干燥也可打破一些硬实休眠, 将 *Actinotus leucocephalus*、*Anigozanthos manglesii* 和 *Gompholobium knightianum* 种子在100℃高温环境中3小时或120~130分钟, 萌发率大为提高(Tieu et al., 2001)。车桑子种子在室温下贮藏1年不能解除硬实休眠, 但在80~160℃干热或在沸水中浸泡1~60秒, 硬实率就大大降低(Baskin et al., 2004)。

3.1.4 干湿交错处理 这是一种浸泡和干燥交错进行的处理方法, 多次反复后, 种皮既膨胀又收缩, 透性升高, 从而打破休眠。此法既

经济又实用,生产上也常采用,通常是先将种子置于水中浸泡24个月,然后白天放在太阳下曝晒,夜间转至凉爽处,并不断加一些水保持种子湿润,当大部分种子膨胀时,就可根据墒情播种。将莱曼画眉种子在24℃下置于饱和空气中放置24~72小时,然后在70℃的烘箱中干燥24小时,可以达到和机械损伤同样的效果(Haferkamp and Jordan, 1977)。用自来水将早熟禾(*Poa pratensis*)种子浸泡48小时,吸胀后滤去水并用滤纸吸干,于20℃室温风干48小时,发芽效果亦显著提高(李青丰等, 1997)。

3.1.5 其他物理方法 种子经电离辐射处理后,产生复杂的综合效应,主要是活化生长酶,从而活化各种生化过程,促进萌发。常用的电离辐射方法是用 γ 射线、X射线、紫外线或激光照射种子。如用X射线辐照甘草种子,当吸收剂量为1~5 J·kg⁻¹时其发芽率提高60%,用紫外线或激光照射,发芽率也比对照有所提高(张琳, 1994)。超声波对种子的效应也很复杂,但一般认为其通过影响种子内部的生理生化反应而影响萌发,但超声波处理种子,其处理效果与剂量和时间有关(Andrew, 1963)。用50 RH₂处理红花苜蓿种子,发芽率为61%,用100 RH₂处理,发芽率是57%;用9 RH₂处理,发芽率是55%,而对照的发芽率仅0.6%。用超声波处理硬实性较强的野蕉种子,处理时间为30秒效果较好,但处理5、60和300秒不显著(Perry and Boodley, 1980)。强烈超声波振荡作用对细胞有一定的破坏力,用超声波处理农作物或林木种子时,一定要先做试验,再进行大批量种子处理。此外,采用高压处理一些硬实种子也有显著效果,如四棱豆、黄香草木樨和苜蓿种子在高大气压下处理后,发芽率大为上升(Kohata and Higashio, 1995)。

3.2 化学方法

3.2.1 酸蚀处理 用硫酸和硝酸等强酸处理可以腐蚀局部种皮,打破栅栏组织的屏障,使种壳变薄并消除珠孔等部位的堵塞物,增大种

皮的透性(叶常丰和戴心维, 1994; Li et al., 1999)。浓硫酸处理是最常用的化学方法,按不同种类植物种子可处理15~30分钟。将种子浸于浓硫酸中,搅拌并不断取出少量种子观察,以种皮出现纹孔即可取出。尽管酸处理在解除硬实性种子的休眠有诸多优点,但也存在着一些问题:处理时间较难控制,特别是对于种皮较薄的种子,如果处理时间过长,就会损伤种子;处理后的冲洗要彻底,不然易造成酸害;未处理好的硬粒种子要反复处理;虫害较严重但仍有萌发能力的种子,硫酸容易通过伤口使这些种子丧失发芽能力。

3.2.2 碱液浸泡 碱液处理可破坏种皮表面的油层及蜡层,从而增加种皮透性,打破休眠。结缕草种子用30% NaOH浸泡20和80分钟,发芽率为80%左右,而对照种子不到30%(孙明义等, 2002);用10%或20%的NaOH浸种4~10小时,异穗苔草种子的发芽率由0提高到90%以上(房丽宁等, 1998),主要因为NaOH可使颖苞外的大部分蜡质脱落,提高发芽率。但采用碱液浸泡对种皮特别坚硬的种子,往往不能取得良好的效果,主要原因可能是它不能破坏种皮中钙盐或硅酸盐含量高的栅状细胞或石细胞,对木质化程度极高的细胞壁的破坏能力也有限。

3.2.3 其他化学处理 除了酸碱处理之外,还有其他一些化学物质处理可促进硬实种子的吸胀萌发。用2%的磷酸二氢钾水溶液将白芷种子浸泡8小时,13天后出苗率达85.9%,而用清水处理21天的出苗率仅达46.3%。用双氧水处理和次氯酸盐等化学药剂处理,以损伤种皮,使较难透水透气的种皮破裂,可增强透性,促进种子萌发。其他一些化学物质如丙酮、乙醇、氯仿、聚乙二醇和植物激素(如细胞分裂素和生长素),在适当处理后有时也能打破硬实种子休眠。

由于硬实休眠的原因有3个方面,即种皮不透水、不透气或机械限制,但许多硬实种子

是三者兼而有之,如果首先不对种皮进行适当处理,增加其透水性,而仅仅用赤霉素和生长素等激素或硝酸钾等含氮化合物来刺激硬实种子萌发,往往不能取得良好的效果,主要是因为这些激素或化学物质不能透过种皮进入种子内部,进而催化胚细胞的生化反应,所以在研究中,有时就会发现,采用机械损伤、硫酸或过氧化氢腐蚀种皮,催芽效果较好,而激素处理的效果并不理想;而有时也会发现有些硬实经激素处理后,萌发率大大升高,可能因为这些硬实的种皮有较高的透水性,激素等可以进入种子内部发挥其活性。

3.3 生物处理

动物对有些植物果实的采食有利于种子萌发。有些硬实种子,经过动物的啃咬和咀嚼等部分种皮被破坏,透水透气性增加;它们在经过动物的胃肠时,消化液中的稀酸和酶等在一定程度上均会软化种皮,减弱种子的休眠性(Baskin and Baskin, 1998; Otani and Shibata, 2000)。将有些硬实休眠种子堆积于刨花等碎物中接种微生物发酵,可减轻或打破种子休眠。生产上常用的沤制处理就是将硬实种子与人、动物的粪尿混拌发酵,使种皮在微生物的作用下增强透性。在自然情况下,这种情况并不少见,果实成熟后脱落,被一些枯枝落叶所覆盖,微生物分泌的酶类分解种皮以及在其他因素作用下,种皮变软,透性增加,逐步破除休眠。

4 硬实的生态学意义

尽管在农林业生产上常将硬实种子视为品质低劣的种子,但对许多野生植物而言,硬实种子具有特别重要的意义。硬实种子坚硬的种皮有利于种子在很长时期内保持较强的活力,如在室温下保存的大豆硬实种子保存4年发芽率仍在90%以上,而非硬实种子2年左右的时间即失去生活力(王金龙, 1999);古莲硬实种子寿命可达几百年甚至上千年,而一般作物种子在同样的条件下贮藏不出数年便已不能发芽(Shen-

Miller et al., 1995)。因此硬实种子是构成永久性土壤种子库(persistent soil seed bank)的重要成分,在植被更新,尤其是森林火灾之后的植被恢复起着重要作用(Ferrandis et al., 1999)。硬实的形成在一定程度上还可抵御病菌危害和动物采食,有利于减少种子群的损失,即使被动物采食也不易被消化而为动物所传播(Nik and Parbery, 1977)。硬实种子在成熟后的不同时期内,由于外界环境条件(低温、变温、土壤湿度变化和微生物活动等)的影响而逐渐改变种皮透性,使得同一批种子入土之后,由于透性的差异,出现不整齐萌发,从而保证在同一批种子总有一部分能在适宜的条件下萌发出苗,这有利于种族的生存和传播(SerratoValenti et al., 1989; Evans and Smith, 1999; Desouza and Marcos-Filho, 2001)。

5 结语

近20年来已积累了不少关于硬实形成规律及破除休眠方法的研究工作,但多是以栽培的豆科植物为材料(Harris, 1987; Kuo, 1989; Bhattacharya and Saha, 1990; Kohata and Higashio, 1995; Morrison et al., 1998),对野生植物的研究并不多见,加大对野生植物种子硬实的研究有利于全面地了解种子硬实的形成机制。许多研究已表明,贮藏后的硬实种子质量高于非硬实种子,因此在生产应用和种质保存上,可以考虑保存硬实种子,但播种前对硬实进行处理时,往往会对非硬实种子造成一定的损伤,这使生产者在决心采取处理措施时举棋不定。加大对硬实种子处理方法的研究,可以让生产者采取正确措施从而消除这种顾虑。顽拗型种子的贮藏寿命一般很短,而有些类型因为有了坚硬的种壳,寿命大大延长,为种质保存提供了新思路。国际种子检验规程(ISTA, 1993)将硬实归入“未萌发种子”范畴,我国制定的牧草种子国家标准将“硬实百分率与发芽率分开”的规定,均表明硬实种子的真实性状尚未被充分揭示,因此

尚需更多的科学研究来解决这一问题。

参考文献

- 房丽宁, 李青丰, 李淑君, 徐军 (1998). 打破苔草种子休眠方法的研究. 草业科学 15 (5), 39-43.
- 郭彪, 雷金芝, 马景林 (2002). 大豆硬实的形成及不同品种硬实率调查. 现代化农业 7, 6.
- 郭博, 马宗仁 (1989). 牧草种子的硬实及其生态学意义. 中国草地 4, 8-12.
- 郭华仁, 陈博惠 (1992). 黄野百合与南美猪屎豆硬实种子解除方法对种子发芽及渗透性的影响. 台大农院研报 32, 346-357.
- 国家标准总局 (1982). 林木种子检验方法(BG2772-81). (北京: 技术标准出版社), pp. 27-31.
- 李昆, 崔永忠, 张春华 (2003). 金沙江干热河谷退耕还林区造林树种的育苗技术. 南京林业大学学报(自然科学版) 27(6), 89-92.
- 李青丰, 张海军, 易津, 胡秋芳, 房丽宁, 常海山 (1997). 几种预措处理对促进草地早熟禾种子萌发的效果. 中国草地 3, 28-30.
- 马盾, 刘健 (1995). 新疆大豆褐斑、硬实的产生及其影响因素. 作物杂志 1, 37-38.
- 乔亚科, 李桂兰, 王文颇, 高书国, 毕艳娟 (2003). 不同处理方法和贮藏时间对野生大豆种子萌发的影响. 种子 3, 33-34.
- 孙明义, 郑玉红, 刘建秀 (2002). 结缕草种子打破休眠方法的比较. 植物资源与环境学报 11, 61-62.
- 王金龙 (1999). 利用大豆硬实种子保存大豆种质的研究. 大豆科学 18, 351-354.
- 汪自强, 董明远, 余樟士 (1995). 不同播种期小豆生态类型的生育特性和生产力. 浙江农业大学学报 21, 637-641.
- 乌仁其木格 (1996). 二色胡枝子种子硬实特性的研究. 内蒙古农牧学院学报 17, 35-40.
- 徐本美, 白原生, 梁飞凤, 孙洁, 刘宝莲, 王海平 (1995). 蓝花棘豆硬实种子特性的研究. 草地学报 3, 306-310.
- 薛中强, 宣裕吉 (1997). 关于紫云英种子硬实发生规律和影响因素初研. 种子 4, 68-70.
- 叶常丰, 戴心维 (1994). 种子学. (北京: 中国农业出版社), pp. 162-196.
- 余玲, 王彦荣, 郭正刚, 毛玉林 (2004). 8个紫花苜蓿品种种子产量和休眠特性研究. 草地学报 12, 189-194.
- 张琳 (1994). 黄芪种子萌发实验. 中药材 11, 9-10.
- 张太平, Boquet, D.J., and Moore, S.H. (1992). 大豆硬粒种的遗传及其与其它性状的关系. 大豆科学 11, 88-92.
- 周宏玲, 刘健 (1993). 东北大豆在新疆种植后籽粒品质的变化. 新疆农业科学 3, 103-105.
- 朱念德, 刘蔚秋, 伍建军, 廖文波 (1999). 影响南方红豆杉种子萌发因素的研究. 中山大学学报(自然科学版) 38(2), 75-79.
- Andrew, G.G. (1963). The use of ultrasound in agriculture. Ultrasonics 1(2), 70-77.
- Baskin, C.C., and Baskin, J.M. (1998). Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. (San Diego: Academic Press), pp. 239-330.
- Baskin, J.M., Davis, B.H., Baskin, C.C., Gleason, S.M., Cordell, S. (2004). Physical dormancy in seeds of *Dodonaea viscosa* (Sapindales, Sapindaceae) from Hawaii. Seed Sci. Res. 14, 81-90.
- Bewley, J. D., and Black, M. (1982). Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination: Viability, Dormancy, and Environmental Control, Vol. 2. (Berlin: Springer-Verlag), pp.258-374.
- Bewley, J.D., and Black, M. (1994). Seeds: Physiology of Development and Germination (2nd edn). (New York: Plenum Press), pp.36-107.
- Bhalla, P.L., and Slattery, H.D. (1984). Callose deposits make clover seeds impermeable to water. Ann. Bot. 53, 125-128.
- Bhattacharya, A., and Saha, P.K. (1990). Ultrastructure of seed coat and water uptake pattern of seeds during germination in *Cassia* sp. Seed Sci. Technol. 18, 97-103.
- Desouza, F.H.D., and Marcos-Filho, J. (2001). The seedcoat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. Revista Brasileira de Botanica

- 24, 365-375.
- Egley, G.H.** (1979). Seed coat impermeability and germination of showy croton (*Crotalaria spectabilis*) seeds. *Weed Sci.* **27**, 355-361.
- Evans, P.M., and Smith, F.A.** (1999). Patterns of seed softening in subterranean clover in a cool, temperate environment. *Agron. J.* **91**, 122-127.
- Ferrandis, P., Herranz, J.M., and Martinez-Sanchez, J.J.** (1999). Effect of fire on hard-coated Cistaceae seed banks and its influence on techniques for quantifying seed banks. *Plant Ecol.* **144**, 103-114.
- Haferkamp, M.R., and Jordan, G.L.** (1977). The effect of selected presowing seed treatments on germination of Lehmann lovegrass seeds. *J. Range Manage* **30**, 151-153.
- Harris, W.H.** (1987). Comparative ultrastructure of developing seed coats of 'hard-seeded' and 'soft-seeded' varieties of soybean, *Glycine max* (L.) Merril. *Bot. Gaz.* **148**, 324-331.
- ISTA** (1993). International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* **21(Suppl.)**, 1-288.
- Kilen, T.C., and Hartwig, E.E.** (1978). An inheritance study of impermeable seed in soybean. *Field Crops Res.* **1**, 65-70.
- Kohata, K., and Higashio, H.** (1995). High pressure treatment acceleration germination of winged bean seeds. *Japan Agric. Res.* **29**, 195-200.
- Kuo, W.H.J.** (1989). Delayed-permeability of soybean seeds, characteristics and screening methodology. *Seed Sci. Technol.* **17**, 131-142.
- Li, X., Baskin, J.M., and Baskin, C.C.** (1999). Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two North American *Rhus* species (Anacardiaceae). *Am. J. Bot.* **86**, 1505-1511.
- Liu, Y., Qiu, Y.P., Zhang, L., and Chen, J.** (2005). Dormancy breaking and storage behavior of *Garcinia cowa* Roxb. (Guttiferae) seeds, implications for ecological function and germplasm. *J. Integrat. Plant Biol.* **47**, 38-49.
- Lodge, G.M., Murison, R.D., and Heap, E.W.** (1990). The effect of temperature on the hardseed content of some annual legumes grown on the Northern Slopes of New South Wales. *Aust. J. Agr. Res.* **41**, 941-955.
- Marjushkin, V.F., Sichkar, V.F., Michailov, V.G., and Polivoda, L.V.** (1988). Inheritance of hardseededness in soybean. *Soybean Genetic News* **15**, 294-297.
- Mayer, A.M., and Poljakoff-Mayber, A.** (1990). *The Germination of Seeds* (4th edn). (New York: Pergamon), pp.16-54.
- Meisert, A.** (2002). Physical dormancy in Geraniaceae seeds. *Seed Sci. Res.* **12 (2)**, 121-128.
- Morrison, D.A., McClay, K., Porter, C., and Rish, S.** (1998). The role of the lens in controlling heat-induced breakdown of testa-imposed dormancy in native Australian legumes. *Ann. Bot.* **82**, 35-40.
- Nik, W. Z., and Parbery, D.G.** (1977). Studies of seed-borne fungi of tropical pasture legume species. *Aust. J. Agric. Res.* **28**, 821-841.
- Otani, T., and Shibata, E.** (2000). Seed dispersal and predation by Yakushima macaques, *Macaca fuscata yakui*, in a warm temperate forest of Yakushima Island, southern Japan. *Ecol. Res.* **15**, 133-144.
- Perry, L.P., and Boodley, J.W.** (1980). Germination of foliage plant seeds in response to pre-sowing ultrasonic exposures, water soaks and fungicides. *HortScience* **15**, 192-194.
- Riggio-Bevilacqua, L., Roti-Michelozzi, G., and Serrato-Valenti, G.** (1985). Barriers to water penetration in *Cercis siliquastrum* seeds. *Seed Sci. Technol.* **13**, 175-182.
- SerratoValenti, G.L., Melone, M.F., and Bozzini, A.** (1989). Comparative studies on testa structure of hard-seeded and soft-seeded varieties of *Lupinus angustifolius* L. (Leguminosae) and on mechanisms of water entry. *Seed Sci. Technol.* **17**, 563-581.
- Shahi, T. P., and Pandey, M.P.** (1982). Inheritance of seed permeability in soybean. *Indian J. Genetics*

- and Plant Breeding 42, 196-199.
- Shen-Miller, J., Mudgett, M.B., Schopf, J.W., Clarke, S., and Berger, R.** (1995). Exceptional seed longevity and robust growth, ancient sacred lotus from China. *Am. J. Bot.* 82, 1367-1380.
- Thanos, C.A., Georgiou, K., Kadis, C., and Pantazi, C.** (1992). Cistaceae, a plant family with hard seeds. *Israel J. Bot.* 41, 251-263.
- Tieu, A., Dixon, K.W., Meney, K.A., and Sivasithamparam, K.** (2001). The interaction of heat and smoke in the release of seed dormancy in seven species from southwestern western Australia. *Ann. Bot.* 88, 259-265.
- Uzun, F., and Aydin, I.** (2004). Improving germination rate of *Medicago* and *Trifolium* species. *Asian J. Plant Sci.* 3, 714-717.

(责任编辑: 孙冬花)

致 谢 审 者

本刊编委会和编辑部对在 2005 年为本刊来稿进行审阅付出辛勤劳动的各位专家表示衷心的感谢!

《植物学通报》编委会

白书农	白文明	包伯坚	包文美	宾金华	常 杰	陈端阳	陈 凡	陈 放	陈根云
陈国权	陈虎彪	陈季楚	陈 珈	陈健初	陈坤明	陈善娜	陈受宜	陈叔平	陈万权
陈维伦	陈伟烈	陈晓亚	陈心启	陈学森	陈昭炯	陈之端	陈佐忠	程 萍	程祝宽
种 康	储成才	崔克明	崔丽华	崔素娟	戴绍军	戴思兰	段 俊	方晓华	高荣岐
高天刚	葛 颂	葛学军	巩志忠	郭三堆	郭振飞	郭仲琛	韩建国	郝 刚	何朝族
何维明	何 翊	何玉科	贺金生	胡纯栋	胡东维	胡启明	胡适宜	胡玉熹	胡正海
胡自治	华学军	黄大年	黄 芳	黄宏文	黄建辉	黄上志	黄学林	贾敬芬	贾士荣
贾 渝	蒋高明	金振华	靳晓白	景新明	康向阳	李保国	李承森	李德铎	李国凤
李合生	李洪清	李华平	李家洋	李建东	李 捷	李良璧	李懋学	李美茹	李明仁
李荣贵	李韶山	李绍华	李生秀	李天来	李晓林	李新奇	李银心	李颖章	李振宇
李镇清	连 勇	梁 峥	廖文波	林 魁	林 祁	林植芳	林忠平	凌宏清	刘本叶
刘大钧	刘根齐	刘公社	刘广田	刘建全	刘进元	刘 敏	刘青林	刘庆昌	刘全儒
刘友良	刘玉乐	楼程富	卢从明	卢存福	卢新雄	路铁刚	吕应堂	罗 达	罗毅波
骆世明	麻 密	马传庚	马俊才	马庆虎	马有志	孟金陵	孟 征	米国华	母锡金
乜兰春	彭新湘	钱 前	钱世钧	仇厚援	瞿礼嘉	饶广远	任东涛	尚富德	沈文飏
盛晋华	施苏华	施兆鹏	石东乔	石 雷	宋纯鹏	宋艳茹	苏晓华	孙传清	孙敬三
孙君明	孙蒙祥	孙启高	谭克辉	汤彦承	汤章城	唐宇丹	唐祚舜	陶君容	田世平
田颖川	童依平	童 哲	涂炳坤	万邦惠	汪晓峰	王 斌	王华芳	王建波	王敬强
王亮生	王全喜	王仁忠	王石平	王 台	王献溥	王小菁	王晓峰	王兴智	王印政
王英典	王幼群	王昱生	王源超	王志伟	卫志明	温晓刚	吴 鸿	武维华	席以珍
夏光敏	夏桂先	谢 旗	谢宗强	谢祖彬	辛志勇	徐昌杰	徐春和	徐云远	许大全
许亦农	许智宏	薛红卫	薛勇彪	严小龙	阎 平	杨 持	杨福全	杨金水	杨峻山
杨维才	杨跃生	叶 德	叶和春	叶庆生	尤瑞麟	于振文	虞 泓	元英进	袁 明
袁志友	臧润国	曾 波	张爱民	张朝春	张大明	张大鹏	张桂权	张国林	张金政
张劲松	张 蕾	张立新	张 林	张潞生	张明理	张其德	张 泉	张荣铄	张伟成
张宪省	张献龙	张学勇	张玉龙	赵德修	赵福宽	赵进东	赵可夫	赵毓桔	赵遵田
周 嫦	周世良	朱 诚	朱立煌	朱生伟	朱相云	朱英国	朱玉贤	朱至清	朱祝军
邹 琦	邹喻苹	左建儒							

以上按姓氏汉语拼音顺序排列(如有遗漏或错误请与编辑部联系)。