

结缕草种子发育过程中生理生化变化的研究

马春晖¹, 韩建国², 孙洁峰³, 王栋¹

(1. 塔里木大学动物科学学院/新疆兵团塔里木畜牧科技重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300; 2. 中国农业大学草地研究所, 北京 100094; 3. 青岛海源草坪有限公司, 山东 胶州 266300)

摘要:本研究旨在探明结缕草种子发育过程中生理生化变化,为种子生产提供科学的理论依据,在山东胶州,结缕草盛花期后每隔3~5 d取1次种子样品,对其发育过程中的生理生化变化进行研究。结果表明,结缕草种子发育过程中含水量是先升高,而后逐步降低,而种子干、鲜重则逐渐增加,最后略有降低。可溶性糖含量变化总趋势是降低(5.0%),而淀粉含量先升后降,再逐渐增加,最后保持在15.0%左右,种子酸性磷酸酯酶活性逐渐增强,且不同成熟度间的活性差异极显著($P < 0.01$)。种子生长素(IAA)和赤霉素(GA)含量逐渐减少,而脱落酸含量是逐步增加,最后达72.7 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 鲜重。综合考虑,结缕草适宜的收获期应在盛花期后36 d左右,即6月15日左右,此时种子活力强,含水量为26%~28%,千粒重为0.89 g。

关键词:结缕草;种子;发育

中图分类号:S543⁺.901;Q945.34 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-5759(2009)06-0174-06

* 结缕草(*Zoysia japonica*)是多年生草本植物,它抗旱、耐热、耐践踏、耐啃食、抗病、节水^[1~5]、养护成本低、适应性广,作为草坪草而深受欢迎,广泛用于公园、高尔夫球场、公路护坡等绿地建植。而结缕草种子是我国本土产、唯一出口的草坪草种子,已出口美国、日本、韩国等国。目前,结缕草种子均采自于野生结缕草,种子产量低,不足150 kg/hm²^[3,6],Matumura等^[7]对日本结缕草草地种子生产进行了研究,日本的北方种子产量显著高于南方,但也不到150 kg/hm²;刘建秀等^[8]对我国65份有代表性的结缕草种质资源的种子产量及其组分包括花穗密度、单位花穗种子数以及千粒重进行了观测分析,也证实了结缕草种子产量很低的观点。

现在国内外对结缕草种子生产技术研究比较少^[9~13],而且仅限于施肥、火烧、播种行距等因素对种子产量影响的研究。在结缕草种子研究方面,郑光华等^[14]最早开展了打破结缕草种子休眠的研究,王彦荣等^[15]研究了兰引Ⅲ号结缕草和青岛结缕草种子的吸水特性和萌发对温度的反应,钱俊芝等^[16]对不同贮藏年限的结缕草种子活力变化进行了研究;在牧草种子发育生理研究方面,Fairey和Hampton^[17]对黑麦草(*Lolium perenne*)、Andersen等^[18]对高羊茅(*Festuca arundinacea*)、韩建国等^[19]对老芒麦(*Elymus sibiricus*)、毛培胜等^[20]对无芒雀麦(*Bromus inermis*)、刘文辉等^[21]对青海扁茎早熟禾(*Poa pratensis* var. *anceps* cv. Qinghai)等牧草种子发育过程中种子含水量、干重、鲜重、种子活力、种子酶的活性以及内源激素等生理生化指标变化进行了研究,并综合多种指标提出了各自试验牧草种子的适宜收获期。

结缕草种子落粒性很强^[3,13],收获时间过早或过晚,势必影响种子的产量和品质,造成巨大损失。结缕草种子的采收时间往往不确定,采收者凭经验而定,单从种子颖壳颜色、种子含水量、干重、发芽率、活力、淀粉积累量等中一个方面考虑,有失偏颇^[17~21],致使采收的种子质量参差不齐,空瘪率过高,种子活力低。因此,结缕草何时收获是一个十分值得研究的问题,至今还没有见到有关结缕草种子成熟过程中生理生化动态变化的研究报告,为此,开展此项研究,具有重要的理论和现实意义,可以为结缕草种子适宜收获期的确定、种子的发育生理及种子生产提供科学的理论依据和实践指导。

1 材料与方法

1.1 试验地自然概况

试验地位于青岛海源草坪公司试验基地内,北纬36°10',东经119°46',海拔50 m。属暖温带大陆性季风气候

* 收稿日期:2008-12-29;改回日期:2009-04-13

基金项目:农业部“948”重大资助项目(202099)和结缕草种子生产技术研究(横向课题)资助。

作者简介:马春晖(1966-),男,新疆哈密人,教授,博士。E-mail: chunhuima@126.com

候,四季分明,雨热同季,年降水量 695.5 mm,年均温 10.0℃,最冷月 1 月,平均气温-3.2℃,最热月 8 月,平均气温 25.4℃,全年 $\geq 0^\circ\text{C}$ 积温 4 510℃,无霜期 210~220 d,年日照时数 2 573 h。棕壤亚黏土,0~10 cm 土壤容重为 1.47 g/cm³,10~20 cm 为 1.62 g/cm³;有机质含量 12.87 g/kg,全氮 0.922 8 g/kg,速效磷 4.470 mg/kg,速效钾 58.43 mg/kg,pH 值 6.9。

1.2 供试材料

供试材料为青岛结缕草(*Z. japonica* cv. Qingdao),由青岛海源草坪有限公司提供。

用分栽方法建植结缕草种子田,行距均为 20 cm,播种量 50 kg/hm²。试验地面积为 1 650 m²,划分为 30 个小区,小区面积为 55 m²(22.0 m×2.5 m);建植初期进行灌溉,除杂草;秋、春季结合灌溉施尿素(秋 20/春 40 kg N/hm²),对照为不施肥处理。2002 年 8 月覆砂 1 cm 左右,种子采收后,进行修剪、灌溉。2003 年春季返青前进行火烧。结缕草返青后从盛花期开始在试验小区随机剪取 80 株生殖枝,每 3~5 d 一次,直至种子完全成熟为止。测定种子的含水量后,一部分种子自然干燥,另一部分种子冷冻保存,作为试验样品。

1.3 测定内容与方法

1.3.1 种子含水量与鲜、干重测定 从每次所取样品中任选 1 000 粒种子,称其鲜重,重复 4 次,然后在 105℃下烘干 18 h,取出后在干燥器中冷却并称量干重,通过计算,求出含水量的平均值。

1.3.2 可溶性糖含量测定 可溶性糖含量测定方法见毛培胜等^[22]的方法。

1.3.3 淀粉含量测定 淀粉测定方法见文献^[23]。

1.3.4 激素含量测定 用高效液相色谱仪(HPLC)测定种子内生长素、赤霉素、脱落酸含量。精密称取低温保存的种子样品 10 g 于研钵中磨碎,转至 150 mL 锥形瓶中,加入 50 mL 石油醚在 5℃左右浸泡过夜。滤去石油醚,加 50 mL 冷甲醇 5℃左右电磁搅拌 4 h,过滤,残渣中再加入冰甲醇 30 mL 搅拌 1 h,过滤,合并过滤液,减压浓缩至 25 mL。取 2 mL 浓缩液流经已活化的 Sep-pak 小柱,弃去淋出液,用 2 mL 乙腈淋洗小柱,淋洗液经 0.5 μm 滤膜过滤后待分析。在同一色谱下,吸取 10 μL 样品溶液进行分析,得到色谱图,以相应峰面积在标准曲线上查出含量。

$$c = \frac{c_1 \times v_2 \times 100}{c_2 \times v_1}$$

式中, c 为 100 g 样品中各组分含量(mg); c_1 为样品进样体积中各组分含量(μg); c_2 为样品称样量(g); v_1 为样品进样体积(μL); v_2 为样品定容体积(mL)。

1.3.5 酸性磷酸酯酶活性测定 酸性磷酸酯酶活性测定方法见文献^[23]。

1.4 数据分析

试验数据用 SAS V6.12 统计软件进行方差分析和多重比较(Duncan 法)。

2 结果与分析

2.1 种子含水量和鲜重、干重的变化

结缕草种子含水量从盛花期后 0 d 的 29.99% 升高到盛花期后 10 d 的 40.26%,此阶段是结缕草种子乳熟初期,含水量最高,而后含水量逐渐降低,直至降到盛花期后 43 d 的 21.12%(图 1)。

结缕草种子鲜重、干重变化趋势基本一致,随着种子成熟,鲜、干重逐渐增加。盛花期后第 21 天以前,种子增重较缓慢,而盛花期后 21~31 d 这 10 d 时间,种子鲜、干重增重较快,其中种子干重平均日增加 0.038 mg/粒,这是结缕草种子乳熟末期至蜡熟阶段,物质积累最快的时期。盛花期后 40 d 种子千粒干重达到 0.922 3 g,以后有所降低。

当结缕草种子含水量降至 28% 以下时,花序稍有外力挤压、碰撞,种子很容易落粒,而且此时种子千粒重较大,根据种子含水量和干、鲜重判定,结缕草生理成熟期或适宜的收获期应在种子含水量为 26%~28% 时,千粒重在 0.890 0 g 左右,此时为盛花期后 36 d,即 6 月 15 日左右。

2.2 种子可溶性糖和淀粉含量的变化

结缕草种子可溶性糖含量的变化对照和施氮肥处理变化趋势基本一样(图 2),由盛花期后 16 d 2.84%(对照

CK), 4.19%(施肥 F)逐渐升高,直到盛花期后 27 d,而后开始走低,直至降低到盛花期后 42 d 的 5.16%(CK)和 4.73%(F)。

结缕草种子淀粉含量的变化趋势是前期增加很快,由盛花期后 16 d 的 3.99%(CK)和 8.81%(F),分别升高到盛花期后 27 d 的 16.07%和 17.41%,而后有所降低,随后又缓慢升高(图 2),最后保持在 15%左右。由此可见,种子生理成熟期在盛花期后 34~42 d。

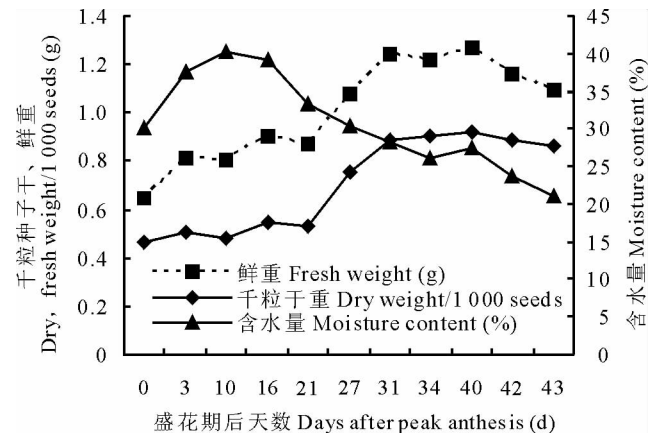


图 1 结缕草种子鲜、干重、含水量变化

Fig. 1 Changes of fresh, dry weight and moisture content in zoysiagrass seeds

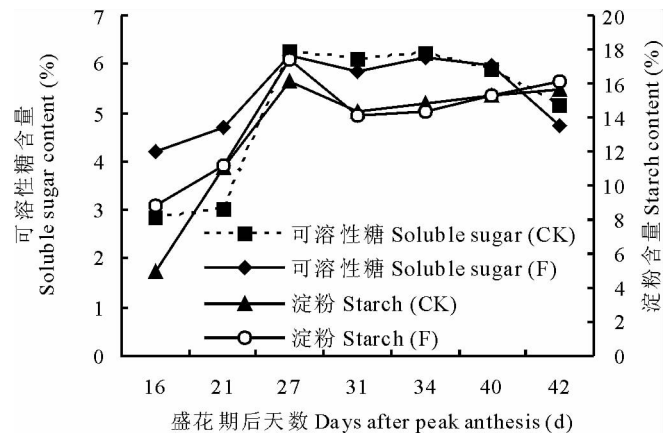


图 2 结缕草种子成熟过程中可溶性糖和淀粉含量的变化

Fig. 2 Changes of soluble sugar and starch content during seed ripening of zoysiagrass

2.3 种子内激素含量的变化

结缕草种子内赤霉素(GA)含量在盛花期后 10 d 就达到最高,含量为 376.8 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 鲜重,随后急剧下降,而后逐渐降至盛花期后 42 d 的 34.2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 鲜重(图 3)。

结缕草种子内生长素(IAA)含量随着种子发育而逐渐降低(图 3),由盛花期后 10 d 的 59.7 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 鲜重逐步降至盛花期后 42 d 的 20.6 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 鲜重。

结缕草种子鲜重中脱落酸(ABA)含量的变化由盛花期后 10 d 的 3.9 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 而升高至盛花期后 16 d 的 11.6 μg ,直到盛花期后 31 d 含量还在 12.4 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 鲜重,增加幅度不大,之后,ABA 含量迅速增加,直到盛花期后 42 d ABA 含量达到最大值(72.7 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 鲜重)。由此推断,结缕草种子适宜收获期应在盛花期后 31~40 d。

2.4 酸性磷酸酯酶活性的变化

酸性磷酸酯酶是一类水解有机磷酸酯键的酶,其活性的高低直接影响着种子活力的强弱,活性越高,活力越强。结缕草种子的酸性磷酸酯酶活性随着种子的发育而活性不断提高,而且盛花期后不同天数间酸性磷酸酯酶的活性差异极显著($P < 0.01$)(图 4)。

3 讨论

随着种子的发育,种子含水量逐渐降低,但不同禾本科牧草或品种之间,种子发育过程中含水量的变化有一定差异,种子生理成熟期含水量一般为 40%~65%^[17]。其中多年生黑麦草种子生理成熟期(适宜收获期)的种子含水量为 43%^[17]、无芒雀麦为 57.17%^[19]、老芒麦为 39.10%~45.16%^[20]、青海扁茎早熟禾为 35%^[21]、高羊茅为 52.13%^[24],而结缕草种子适宜收获期种子含水量为 26%~28%,要比其他禾本科牧草种子含水量低很多,这主要是由结缕草种子结构决定的,结缕草种子小,千粒重一般不足 1.0 g,而且包被种子的革质颖苞占种子总重量 63%^[25]以上。可见,正是由于不同禾草种和品种间的种子含水量在种子生理成熟期存在一定差异,从而使种子含水量成为评定牧草种子成熟的重要指标。因此,种子含水量作为种子发育成熟的指标,对于不同的牧草品种在栽培地应进行长期地研究和试验,掌握牧草种或品种种子发育过程水分散失变化的规律,这样才能有效地预测种子成熟期和适宜的收获期。如果结缕草种子要大面积采收,可提早 3~4 d,种子含水量在 28%~31%就可采收。

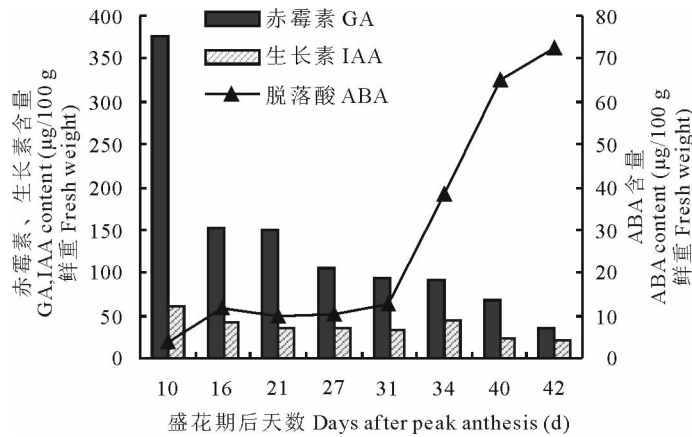


图 3 结缕草种子发育过程中生长素、赤霉素和脱落酸含量的变化

Fig. 3 Changes of IAA, GA and ABA content during seed ripening of zoysiagrass

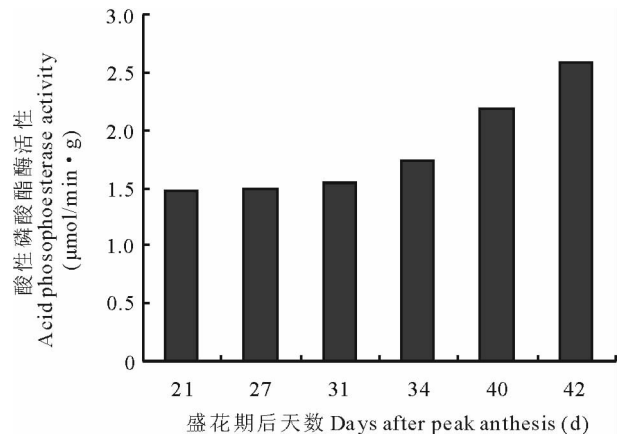


图 4 结缕草种子发育过程中酸性磷酸酯酶活性的变化

Fig. 4 Changes of acid phosphatase activity during the seed development of zoysiagrass

结缕草种子的鲜重和干重变化,从盛花期开始到 19 d 之前,增加缓慢,这主要是结缕草颖苞在逐渐增加,盛花期后 21~31 d 鲜、干重增加迅速,种子水分开始迅速降低,此时才是结缕草种子淀粉营养物质快速积累的时期。这可能与结缕草种子结构和开花习性有关,结缕草雌雄同株,异花受粉,先开雌花,后开雄花,花期不遇,故造成结缕草鲜、干重增加较其他牧草迟缓。

结缕草种子中可溶性糖含量是先升高,而后降低,此趋势与 Stoddart^[26]对多年生黑麦草、鸡脚草(*Dactylis glomerata*)和马春晖等^[24]对 Crossfire 高羊茅的研究结果相似。而随着种子发育,结缕草种子中淀粉含量变化趋势是先升后降,再升高,在盛花期后 27 d(6 月 5 日)淀粉含量达到一个峰值,虽然此时种子未完全成熟,千粒重还没有达到最大值,种子含水量还在逐渐降低,随后淀粉含量降低,又升高,最后稳定在 15% 以上,这些变化可能与种子的重量结构组成变化有关系,到蜡熟期种子脱水干燥,颖苞重量比例相应有所增加,淀粉含量相应也就略有降低。

种子在发育过程中,随着营养物质转化和积累,种子内源激素也发生变化,而且各种激素含量及存在方式的变化对于发育过程有着非常重要的影响。结缕草种子发育早期,游离生长素(IAA)、赤霉素(GA)含量要高于成熟期,随着种子发育,种子中 IAA、GA 含量逐渐降低,符合种子的发育规律^[27];脱落酸(ABA)在成熟种子中控制萌发,而在发育种子中可抑制胚的生长和防止胎萌^[27,28]。在种子发育前期,结缕草种子中脱落酸含量增加缓慢,随着种子含水量降低,进入蜡熟期,盛花期后 31 d 种子中 ABA 含量增长迅速,直至收获,每 100 g 鲜重中含 ABA 高达 72.7 µg,结缕草种子的颖苞和裸种子中的脱落酸含量均很高,这在草本植物种子中迄今为止所有的报道中^[25,29]是最高的,这就是结缕草种子自然发芽率低的主要原因之一。

从结缕草种子含水量、鲜重、干重、落粒性、淀粉含量、激素含量和酸性磷酸酯酶活性综合考虑,结缕草种子适宜收获期应为种子盛花期后 36 d,比较合适,可获得质优量多的种子。

4 结论

随着结缕草种子发育成熟,种子含水量先升高,而后逐步降低,种子干、鲜重逐渐增加,最后略有降低,种子千粒重最高达 0.922 3 g。

结缕草种子可溶性糖含量变化总趋势是降低(5.0%),而淀粉含量先升后降,再升高,最后保持在 15.0% 左右;种子的酸性磷酸酯酶活性逐渐增强,且彼此间差异极显著($P < 0.01$)。

结缕草种子中生长素(IAA)、赤霉素(GA)含量随着种子发育逐步降低,而脱落酸(ABA)含量则逐渐增加,最后每 100 g 鲜重高达 72.7 µg。

综合考虑,结缕草种子适宜收获期应在盛花期后 36 d 左右,即 6 月 15 日左右,此时种子活力强,含水量为 26%~28%,千粒重 0.89 g。

参考文献:

- [1] 胡化广, 刘建秀, 宣继萍, 等. 结缕草属植物的抗旱性初步评价[J]. 草业学报, 2007, 16(1): 47-51.
- [2] White R H, Engelke S J, Anderson S J. Zoysiagrass water relations[J]. Crop Science, 2001, 41(1): 133-138.
- [3] 董厚德, 宫莉君. 中国结缕草生态学及其资源开发与利用[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001. 105-113.
- [4] 杜永吉, 于磊, 孙吉雄, 等. 结缕草 3 个品种抗寒性的综合评价[J]. 草业学报, 2008, 17(3): 6-16.
- [5] 孙铁军, 苏日古嘎, 马万里, 等. 10 种禾草苗期抗旱性的比较研究[J]. 草业学报, 2008, 17(4): 42-49.
- [6] 马春晖, 韩建国, 张泉, 等. 不同生境对结缕草种子产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(5): 1335-1336.
- [7] Matumura M, Sakai S, Kurumado K. Genocological studies on the Japanese lawngrass with special reference to the seed propagation characteristics[J]. Journal of Japanese Society of Grassland Science, 1991, 37(3): 353-362.
- [8] 刘建秀, 陈海燕, 郭爱桂, 等. 我国结缕草种质资源结实性的初步研究[J]. 草业学报, 2003, 12(2): 70-75.
- [9] Yeom D Y, Joo Y K, Huh Y K. Effect of fertilization on seed production in Zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.) [J]. Journal of Korea Social Horticulture Science, 1987, 28(2): 165-172.
- [10] 张巨明, 王锁民. 兰引 3 号草坪型结缕草种子生产技术[J]. 草业科学, 1997, 14(5): 66-67.
- [11] 张巨明, 王锁民. 行距及施肥量对兰引 3 号结缕草种子产量的影响[J]. 草业学报, 1997, 6(3): 46-50.
- [12] 马春晖, 韩建国, 孙洁峰, 等. 火烧、施肥对结缕草种子产量的影响[J]. 草地学报, 2007, 15(1): 32-36.
- [13] Ma C H, Han J G, Sun J F, et al. Effects of nitrogen fertilizer on zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.) seed yields and yield components from seeding and transplant[J]. Agricultural Sciences in China, 2004, 3(5): 33-38.
- [14] 郑光华, 张义君, 陈尔瑞, 等. 提高结缕草种子发芽率的方法[J]. 中国科学, 1958, (9): 503-504.
- [15] 王彦荣, 张巨明, 聂斌. 兰引 III 号草坪型结缕草发芽生态适应性的研究[J]. 草业学报, 1996, 5(2): 49-55.
- [16] 钱俊芝, 韩建国, 倪小琴, 等. 贮藏期对结缕草种子生理生化的影响[J]. 草地学报, 2000, (8): 178-184.
- [17] Fairey D T, Hampton J G. Forage Seed Production (Vol. 1) [M]. London: the University Press, Cambridge, 1997. 45-48, 105-126, 184-187, 311-320.
- [18] Andersen R P, Grabe D F, Ehrensing D. Seed maturation and harvest timing in turf type tall fescue[J]. Journal of Applied Seed Production, 1994, 12: 34-46.
- [19] 韩建国, 毛培胜, 牛忠联, 等. 老芒麦种子发育过程中的生理生化变化[J]. 草地学报, 2000, 8(4): 237-244.
- [20] 毛培胜, 韩建国, 王培, 等. 无芒雀麦种子发育过程中的生理生化变化[J]. 中国草地, 2001, 23(1): 26-31.
- [21] 刘文辉, 周青平, 颜红波. 青海扁茎早熟禾种子生长生理特性研究[J]. 草业科学, 2007, 24(5): 69-73.
- [22] 毛培胜, 常淑娟, 王玉红, 等. 人工老化处理对羊草种子膜透性的影响[J]. 草业学报, 2008, 17(6): 66-70.
- [23] 黄学林, 陈润政. 种子生理实验手册[M]. 北京: 农业出版社, 1990. 65-67.
- [24] 马春晖, 程军, 韩建国, 等. 新疆高羊茅种子发育生理生化变化的动态研究[J]. 草业学报, 2002, 11(4): 45-49.
- [25] 浦心春, 韩建国, 李敏. 结缕草种子脱落酸含量及打破休眠的研究[J]. 草地学报, 1994, 2(1): 30-35.
- [26] Stoddart J L. Seed ripening in grasses I. Changes in carbohydrate content[J]. Journal of Agriculture Science, 1964, 62: 67-72.
- [27] 何泽英, 许定发, 袁以苇. 种子萌发的生理生化[M]. 南京: 江苏科学出版社, 1987. 12-78.
- [28] 宋松泉, 段咏新, 傅家瑞. ABA 对种子发育的调节[J]. 种子, 1997, (5): 36-42.
- [29] Yeom D Y, Murray J J, Portz L H. Physiology of seed germination in Zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.) [C]. In: International Proceeding of 4th Turfgrass Research Conference, Guelph, Canada, 1981, 467-476.

A study on the changes of physiology and biochemistry during zoysiagrass seed developmentMA Chun-hui¹, HAN Jian-guo², SUN Jie-feng³, WANG Dong¹

(1. College of Animal Science, Tarim University; Key Laboratory of Tarim Animal Husbandry Science and Technology, Bingtuan Xinjiang, Alar 843300, China; 2. Institute of Grassland Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 3. Qingdao Haiyuan Turfgrass Co. Ltd., Jiaozhou 266300, China)

Abstract: This research aimed to provide a scientific theoretical basis for zoysiagrass seed production by investigating changes of physiology and biochemistry during seed development. Every three or five days, seeds of zoysiagrass were harvested after peak anthesis at Jiaozhou in Shandong province, and the changes in seed development were studied. The seed moisture content rose first, then gradually dropped. The fresh weight and dry weight of seeds slowly increased during seed development and finally decreased a little. The soluble sugar content of seeds decreased by about 5.0%. The starch content increased sharply and then slowly decreased, but stayed about 15.0% towards the end of development. The acid phosphoesterase activity of seeds harvested at different times were significantly increased ($P < 0.01$). IAA and GA contents slowly reduced with seed development. However, the contents of ABA rose gradually and reached 72.7 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ fresh weight. In conclusion, the optimal harvest time was the 36th days after peak anthesis (about June 15) in this experiment, and when the seed vigor was better, its moisture content and 1 000-seed weight were 26%—28% and 0.89 g, respectively.

Key words: zoysiagrass (*Zoysia japonica*); seed; development