

## 软 X 射线摄影术与水浸泡结合进行南京椴选种

史锋厚, 朱灿灿, 沈永宝, 施季森

(南京林业大学 森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

**摘要:** 南京椴 *Tilia miqueliana* 种子饱满度不高, 且“大小年”现象明显, 人工辅助选种有利于种苗生产。利用软 X 射线摄影术对南京椴种子饱满度进行测定, 在电压 25 kV, 电流 3 mA, 曝光时间 10 s, 焦片距 25 cm 的拍摄条件下, 种子射线图像可清晰显示在乐凯 2 号涂塑放大纸上, 从图像中可准确辨别饱满种子、发育不完全种子和空粒种子。利用这一技术对南京椴种子水选效果进行检验, 浸种 14 h 所选种子饱满度高达 87.8%, 浸种 26 h 所选种子饱满度基本高于 85.0%, 浸种 76 h 下沉种子饱满度仍高于平均饱满度。试验证实将软 X 射线摄影术与水浸种结合可应用于南京椴种子大量选种, 选种效率较高, 精选种子饱满度可达 85% 以上。图 1 表 1 参 14

**关键词:** 森林培育学; 南京椴种子; 软 X 射线摄影术; 水选种; 饱满度

**中图分类号:** S722.1      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1000-5692(2008)01-0119-04

## Upgrading Nanjing linden seeds with integrated soft X-ray photography and water separation

SHI Feng-hou, ZHU Can-can, SHEN Yong-bao, SHI Ji-sen

(College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

**Abstract:** The soundness of Nanjing linden (*Tilia miqueliana*) seeds was low and the species had an obvious periodicity of seed bearing. Upgrading by artificial method was benefit for seed and seedling production. Soundness of the Nanjing linden seeds was measured with soft X-ray photography utilizing a voltage of 25 kV, an electric current of 3 mA, an exposure time of 10 s, and a photographic flange-focal distance of 25 cm, to produce a radiographic image that accurately distinguished the full seeds, incompletely developed seeds, and the empty seeds on No. 2 plastic coated photographic paper. The results of water separation for Nanjing linden seeds were checked using X-ray technology. It showed that the sound seed rate selected by soaking seeds in water for 14 h was 87.8%, and the sound seed rate selected by soaking seeds in water for 26 h was 85.0%. The sound seed rate of sunk seeds after soaking them in water for 76 h was still higher than average sound seed rate. This study confirmed that the method with integrated soft X-ray photography and water separation could be used for upgrading Nanjing linden seeds. The efficiency of selection was high and the sound seed rate of selected seeds using above method exceeded 85%. [Ch, 1 fig. 1 tab. 14 ref.]

**Key words:** silviculture; Nanjing linden (*Tilia miqueliana*) seeds; soft X-ray photography; water separation; plumpness

软 X 射线指波长在 0.1 ~ 1.0 nm 范围内的 X 射线, 应用于林木种子研究, 最早可追溯到 20 世纪初期, Lundstron 利用软 X 射线检测松属 *Pinus* 种子的成熟度; 1953 年, Simak 等应用该技术检查种子的饱满粒、空粒、畸形发育种粒; 1985 年, 软 X 射线摄影术被国际种子检验协会采纳以检查空粒种子。1979 年, 陈幼生等在国内首先提出软 X-射线可以用于林木种子空粒、涩粒、多胚和发芽能力等

收稿日期: 2007-03-19; 修回日期: 2007-06-04

基金项目: 江苏省农业三项工程资助项目(SX2006120)

作者简介: 史锋厚, 博士研究生, 从事林木遗传育种研究。E-mail: fhshi406@yahoo.com.cn。通信作者: 沈永宝, 教授, 博士, 从事林木种苗和园林植物栽培研究。E-mail: ybshen@njfu.com.cn

方面检测。1999年,软X射线检测技术被正式纳入中华人民共和国国家标准《GB 2772-1999 林木种子检验规程》<sup>[1]</sup>。南京椴 *Tilia miqueliana* 属椴树科 Tiliaceae 椴树属 *Tilia*, 为中国特有种。南京椴树姿优美,材质优良,抗污染,适应性强,观赏性强,正成为现代城市绿化和园林绿化的新宠<sup>[2]</sup>。南京椴以种子(植物解剖学中称为果实)繁殖为主,但是,种子饱满度不高成为阻碍南京椴扩繁推广的原因之一。本试验试图探索软X射线摄影术和水浸泡联合对南京椴选种的准确性和可靠性。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

南京椴种子2005年11月采于安徽宿县,种子风干后室温储藏于南京林业大学种子中心。

### 1.2 试验方法

1.2.1 南京椴种子软X射线摄影 本试验X射线机为湖南湘西仪器厂生产的农用X射线机,感光相纸为乐凯2号涂塑黑白放大纸。将风干南京椴种子用透明宽胶带粘贴;在暗室中将粘贴好的种子直接放于剪裁好的相纸之上置于射线机的照射架台上,调整射线机电压、电流、曝光时间和焦片距。拍摄完毕,将相纸放入D-72显影液中,观察相纸显影情况,待显影清晰后迅速将相纸拿出并放入酸性定影液中,定影后将相纸置于流水中冲洗一段时间,取出室内晾干。

1.2.2 选种 将随机抽取的2440粒南京椴种子浸水并不时搅拌,从浸种后4h开始每隔2h将沉于水底的种子取出阴干,直至76h,并将仍漂浮于水面的种子取出阴干。用宽胶带分别粘贴种子,并用软X-射线摄影术检验选种效果。

## 2 结果与分析

### 2.1 射线照片的判读

软X射线检验原理在于X射线可使照相乳胶感光,感光材料上所显示的影像颜色的深浅便是射线强度大小的反映。相同波长的射线照射种子时,由于种子物质组成和结构不同,X射线被吸收程度不同,因此,穿过样品的X射线在摄影胶片或相纸上形成种子的图像,从而显示种子内部结构<sup>[3]</sup>。

通过多次对比试验,为南京椴种子射线摄影选择射线控制条件为:电压25kV,电流3mA,曝光时间10s,焦片距25cm。在此条件下,在乐凯2号涂塑黑白放大纸上所形成的南京椴种子图像清晰,图像反差大,图像密度适宜,可达到分辨种子内部结构的目的,进而测定南京椴种子饱满度。

射线摄影测定种子饱满度,最核心的内容是对射线照片进行判读。以所选射线控制条件下形成的射线照片为例,介绍南京椴种子射线照片(图1)的判读。

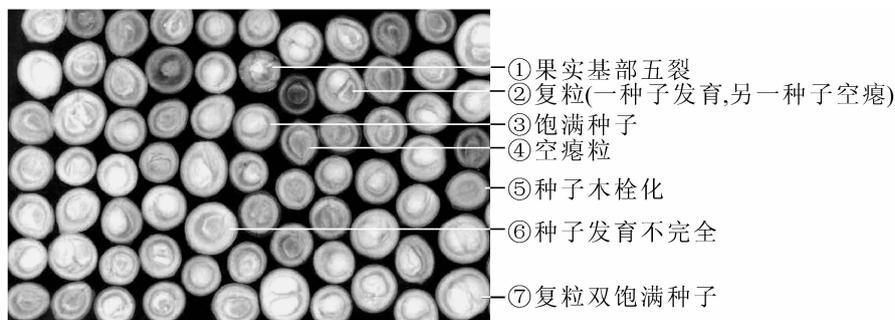


图1 南京椴种子射线照片

Figure 1 Representation of radiographic picture of Nanjing Linden seeds

由图1可知,软X射线穿透种子在相纸上曝光成像是种子的平面投影。南京椴果实各部分对射线的吸收量不同,图像颜色深浅有别,从而反映果实内部结构。射线照片图像中,果壳部分吸收射线较多而颜色较浅;种子部分对射线吸收也较多,因而形成图像颜色同样较浅;果壳与种子两者之间存在空隙,对射线吸收较少,图像颜色较深。饱满种子对射线吸收较多,形成极浅图像③,且果壳与种

子界线明显；复粒种子可被明显分辨出②和⑦，其中②果实发育2粒种子，但下侧种子为空粒；图中④所示，虽然果壳与种子之间的界线明显，但是种子内部吸收射线较少，颜色较深，种子内部中空，种子为空粒；⑤为果壳与种子界线不明显，整个果实图像颜色均较深，种子未受精而果皮增厚，整个果实木栓化；⑥所示果壳与种子界线明显，但种子部分颜色不均匀，种子种皮发育，但内部胚乳及种胚未发育完全；图中①所示为果实基部的五裂形状。根据多张射线照片分析，将南京椴种子分为3种类型：饱满种子（单粒饱满种子、复粒种子单粒饱满或双粒饱满），种子发育不完全种子，空粒种子（包括木栓化种子）。在本试验中②③和⑦为选种对象。

## 2.2 X射线摄影术与水浸种结合选种

软X射线摄影术可以较为准确地地区分饱满种子和非饱满种子，但是射线机每次检验的种子数量有限，同时存在射线安全问题，不适用于大量选种。水浸种不仅可以起到选种的目的，同时还促进种子吸涨，但合理水浸种时间较难确定。将射线检验与水浸种结合以尝试南京椴大量选种。

通过对2440粒南京椴种子进行水浸泡，种子浸泡不同时间后下沉，将种子分为38份，即37份下沉种子和1份漂浮种子，对各份种子进行射线检验，以测定各份种子的饱满度。下沉种子各项指标统计见表1。

由表1可知：水浸种76h过程中，下沉种子的累计饱满度均不低于75.0%；浸种14h下沉种子累计饱满度最高，可达87.8%，比全部种子饱满度(69.8%)高18.0%；前26h下沉种子累计饱满度基本高于85.0%，浸水58h所选种子累计饱满度仍高于80.0%，比全部种子饱满度高10.8%。统计结果表明：浸种26h时，51.1%种子下沉选择出62.4%饱满种子；浸种58h时，82.8%种子下沉选择出95.5%饱满种子。

软X射线检验全部种子，饱满种子1704粒（复粒45粒），空粒560粒，难确定粒176粒，全部种子饱满度为69.8%，下沉种子饱满度为76.0%，软X射线检验准确率高达92.8%。

## 3 讨论与结论

射线控制条件的选择是软X射线摄影术所涉及的主要技术问题之一，兼顾射线摄影原理和种子结构是获得理想射线控制条件的重要原则，实际操作中两者的终端便是射线机。软X射线机影响摄影效果的因子包括：电压决定射线图像反差；电流和曝光时间决定图像密度；焦片距影响图像密度、清晰度和摄影面积；在实际操作中，检验材料常直接放在感光材料上面，物片距常忽略不计；焦片距常因射线照射面积的要求而固定不变。因此，实际操作仅是对电压、电流和曝光时间的调控。

国内外不少学者曾对射线控制条件的选择开展研究，如美国学者Lundstron和Bonnor，瑞典学者Simak, Kamra和Gustafsson，我国学者陈幼生、吴琼美、颜启传等。目前，该方面的研究更为广泛。南京林业大学软X射线检验课题组<sup>[4-6]</sup>、吴擢溪<sup>[7]</sup>、戴丰瑞等<sup>[8]</sup>、薛万新等<sup>[9]</sup>、郑林<sup>[10]</sup>等对林木种子射线检验开展研究，涉及多种针叶树和阔叶树林木种子射线控制条件的选择。通过多次对比试验，

表1 下沉种子各项指标统计

Table 1 Every statistic index of the sinked seeds

T/h	S/%	S <sub>s</sub> /%	A <sub>p</sub> /%	T/h	S/%	S <sub>s</sub> /%	A <sub>p</sub> /%
4	3.3	3.5	75.0	42	67.9	81.0	83.3
6	6.9	8.0	80.5	44	68.7	81.8	83.2
8	12.9	15.7	85.0	46	70.5	83.5	82.6
10	17.8	22.3	87.4	48	72.5	86.0	82.8
12	22.6	28.4	87.7	50	75.2	88.8	82.5
14	26.9	33.9	87.8	52	78.1	91.7	82.0
16	33.2	41.3	86.9	54	79.1	92.6	81.8
18	37.0	45.7	86.3	56	80.8	93.9	81.1
20	39.2	48.0	85.5	58	82.8	95.5	80.6
22	42.1	51.3	85.2	60	84.4	96.2	79.6
24	45.3	55.1	84.9	62	85.7	97.2	79.2
26	51.1	62.4	85.3	64	87.0	97.4	78.2
28	55.3	66.1	83.5	66	87.7	97.8	77.9
30	57.0	68.0	83.3	68	88.5	97.9	77.2
32	59.0	70.4	83.3	70	89.0	98.1	77.0
34	61.8	73.7	83.3	72	89.3	98.1	76.7
36	63.4	75.6	83.3	74	90.0	98.2	76.2
38	64.4	76.6	83.1	76	90.5	98.4	76.0
40	66.3	79.1	83.4				

说明：T为时间；S指下沉种子占全部种子比率；S<sub>s</sub>指下沉饱满种子占全部饱满种子比率；A<sub>p</sub>为累计饱满度，指累计下沉种子中饱满种子所占的比例。

南京椴选种较为理想的射线控制条件为：电压 25 kV，电流 3 mA，曝光时间 10 s，焦片距 25 cm。

射线照片的判读是软 X 射线摄影术的关键问题之一。根据判读直接射线照片可将南京椴种子分为：饱满种子、发育不完全种子和空粒种子。闫大成等<sup>[11]</sup>就曾为侧柏 *Platycladus orientalis* 种子射线检验判读制定标准，并将种子分为发育完全种子、胚及胚乳发育不全种子、病虫害感染种子和空粒种子等。

直接射线摄影虽可以确定种子饱满度，但是难以判断种子的活力情况。为了探索射线摄影直接确定种子活力的有无，不少学者还尝试衬比射线摄影<sup>[4,5,12-14]</sup>，以水作为衬比剂，进行射线摄影。李基平<sup>[12]</sup>对华山松 *Pinus armandi* 种子与沈永宝<sup>[5]</sup>对云南松 *Pinus yunnanensis* 种子制定的判读标准大致相同，可以较为清晰地区分有生活力种子和无生活力种子。南京椴种子未制定水衬比射线摄影判读标准原因在于南京椴果壳较为坚硬且对吸水存在一定障碍，难以制定与活力判定相关的判读标准。因此，南京椴种子衬比射线摄影还有待进一步研究。

水浸种选种简单易行，可操作性强，受环境条件影响较小，但浸种时间却难以准确确定，人工破坏性检验水选效果不仅要大量破坏种子材料，且效率较低；射线摄影术反映种子内部结构详实可靠，且对种子进行的无损性检验更是其他方法无可比拟的优点；利用射线摄影术来确定水浸种的时间，方法简单，结果可靠，可以在不破坏种子材料的基础上准确确定水浸泡时间，提高选种效率。

试验证实，水浸种与射线摄影术结合选种是一种较为理想的选种方法。该法可应用于南京椴大量选种，且效果良好。根据选种的要求不同，可调整浸种时间来满足需要，南京椴种子如若进行发芽率测定，便需要提高选种的精度，即浸种 26 h 可使所选种子的饱满度高于 85.0%。若进行大田播种，则可将浸种时间延长至 58 h，这样基本将饱满种子选择出，同时又尽可能地去除了空瘪粒。

## 参考文献：

- [1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 2772 - 1999 林木种子检验规程[S]. 北京：中国标准出版社，1999.
- [2] 史锋厚，卢芳，沈永宝，等. 椴树属植物研究进展[J]. 林业科技开发，2006，**20** (1)：12 - 15.
- [3] 国际种子检验协会. 乔灌木种子手册[M]. 高捍东，译. 南京：东南大学出版社，1994：111 - 133.
- [4] 沈永宝，高捍东，喻方圆，等. IDX 法测定湿地松种子生活力的研究[J]. 南京林业大学学报，1996，**20** (3)：35 - 38.
- [5] 沈永宝，喻方圆，高捍东. X 射线水衬比法测定云南松种子生活力[J]. 林业科学，1998，**34** (2)：111 - 114.
- [6] 高捍东. 用 X 射线摄影术测定马尾松种子发芽能力的研究[J]. 南京林业大学学报，1998，**22** (3)：16 - 20.
- [7] 吴擢溪. 柳杉等种子活力射线测定研究[J]. 福建林学院学报，1995，**15** (3)：246 - 251.
- [8] 戴丰瑞，傅大立，冯建灿. 软 X 射线摄影检验林木种子品质的量化规律[J]. 生物数学学报，1996，**11** (3)：15 - 20.
- [9] 薛万新，崔鸿文，孟烦文. 软 X 射线造影技术在种子质量检测中的应用[J]. 种子，1999 (3)：36 - 37.
- [10] 郑林. 软 X 射线摄影在林木种子检验中应用研究[J]. 福建林学院学报，1996，**16** (4)：329 - 332.
- [11] 闫大成，孙丰胜. 用软 X 射线摄影技术进行侧柏种子品质检验[J]. 山东林业科技，1993 (4)：6 - 8.
- [12] 李基平，钟淑英，保华，等. X 射线水衬比法测定华山松种子生活力的研究[J]. 云南林业科技，1998 (4)：21 - 26.
- [13] SIMAK M. A method for removal of filled dead seeds from a sample of *Pinus contorta* [J]. *Seed Sci Technol*, 1984, **12**: 767 - 775.
- [14] SALEN K, BERGSTEN U, WIKLUND K. Determination of viable and dead Scots pine seeds of different anatomical maturity after freezing using the IDX method [J]. *Seed Sci Technol*, 1995, **23**: 405 - 414.