

贾有伟,魏驰宇,田如男. 欧洲冬青种皮特性与种子休眠的关系[J]. 江苏农业科学,2017,45(12):96-99.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.12.025

# 欧洲冬青种皮特性与种子休眠的关系

贾有伟<sup>1</sup>, 魏驰宇<sup>2</sup>, 田如男<sup>1</sup>

(1. 南京林业大学风景园林学院, 江苏南京 210037; 2. 南京市金陵中学, 江苏南京 210005)

**摘要:**通过欧洲冬青种子的形态解剖、种皮构造的电镜扫描、种皮透水性等试验,对欧洲冬青种皮结构及其对透水性的影响进行研究,以探讨欧洲冬青种皮特性与种子休眠的关系。电镜扫描结果显示,欧洲冬青种子种皮分为外种皮、中种皮、内种皮3层,其中外种皮表面角质化且结构复杂,外种皮中的厚壁细胞及栅栏组织存在阻碍胚与外界进行水分与气体交换的可能,进而影响种子萌发。种子透水性试验及各部分含水量测定结果表明,完整种子与酸蚀种子均能很快吸胀,且完整种子的胚能吸收到部分水分。因此,种子的透水性不是引起欧洲冬青种子休眠的最主要因素。但是,欧洲冬青种子种皮结构存在影响种子透气性的可能,并对胚的萌发产生机械阻力。

**关键词:**欧洲冬青;种皮结构;透水性;种子休眠

**中图分类号:** S684.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)12-0096-03

欧洲冬青(*Ilex aquifolium* L.) 别称英国冬青,是冬青科冬青属的常绿阔叶乔木或灌木,为园林绿化中的优良观赏树种,原产于欧洲的西北部、南部、中部<sup>[1]</sup>,通常生长在温带森林,为北极第三纪孑遗物种<sup>[2]</sup>。欧洲冬青树冠形态优美,叶色浓绿,秋季红果悬挂枝头经冬不落,可以给冬季增添暖色,具有极高的观赏价值;可孤植、作绿篱或盆栽,也常被布置在橡树及其他高大树木下<sup>[3]</sup>,是西欧、南欧、西北非洲等地常用的优良观赏树种<sup>[4]</sup>。欧洲冬青在北美国家园林绿化中应用较为广泛,而在我国应用较少<sup>[5]</sup>,冬青属只有少数几个种和品种在我国园林中有所应用。有学者认为,欧洲冬青种子具有综合性休眠的特性,种胚分化尚未完成,属于隔年发芽的种子。欧洲冬青种子这种综合性休眠的特性为其有性繁殖等工作带来了很大困难,目前欧洲冬青主要采用扦插和嫁接等无性繁殖方法进行繁殖。前人对欧洲冬青的研究多集中在植物抗性及种群分布等方面<sup>[6]</sup>,对其种子休眠机理及解除方法的研究少见报道。本研究通过对欧洲冬青种子形态解剖及种皮构造的电镜扫描、种皮透水性等试验,分析欧洲冬青种皮特性与种子休眠的关系,旨在为探讨欧洲冬青种子休眠机理提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料来自2015年由荷兰引进的欧洲冬青种子(净度96.2%,含水量14.08%)。将风干的欧洲冬青种子放入清水中,立即搅拌,将下沉种子捞出,重复3次,将最后1次下沉的种子捞出置于阴凉干燥处风干,所得种子即为供试种子。

### 1.2 方法

收稿日期:2017-02-11

基金项目:国家林业局“948”项目(编号:2012-4-33);江苏省高校品牌专业建设工程项目(编号:PPZY2015A063)。

作者简介:贾有伟(1993—),女,山东淄博人,硕士研究生,主要从事园林植物繁殖栽培与应用研究。E-mail:1024886057@qq.com。

通信作者:田如男,教授,博士生导师,主要从事园林植物种质资源及应用研究。E-mail:beike0607@aliyun.com。

**1.2.1 种子的基本形态及结构观察** 采用四分法随机选取4×100粒欧洲冬青种子,用游标卡尺测定种子的长度、宽度、高度(定义为种子腹线与背线的最大距离),用1/10 000电子分析天平测定种子千粒质量。100粒为1组,8个重复。取欧洲冬青风干种子,用清水浸泡3 h,待其膨胀软化后,分离出完整的胚乳和种胚,并将种子进行纵剖,对种子结构进行观察、记录、拍照。取经98%浓硫酸处理30 min的欧洲冬青种子10粒,将其置于2.5%戊二醛中固定,经过系列丙酮脱水,最后转入乙酸异戊酯后进行临界点干燥、喷金。在FEI Quanta 200环境扫描电子显微镜下观察种子横断面及表面等结构,选择近胚端观察种子表面的结构<sup>[7]</sup>。以未进行任何处理的种子作为对照。用Image J测量种皮背部及腹部厚度。

**1.2.2 种皮透水性测定** 取风干种子2份,每份50粒,其中1份为未进行处理的完整种子,1份为酸蚀种子(用98%浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>腐蚀30 min,再用流水冲洗1 d),每份种子设3次重复。将2种不同处理的种子分别进行称质量,各添加25 mL蒸馏水于烧杯中进行浸泡,将种子置于人工智能培养箱于25℃下进行吸胀。定期将种子捞出(第1天日间每隔2 h测定1次,夜晚隔12 h测定1次,第2天日间每隔6 h测定1次),用滤纸吸干种子表面水分,在1/10 000电子分析天平上称质量并记录,直至种子质量不再变化,计算吸水率。吸水完毕后绘制欧洲冬青种子的吸水曲线,测定其透水性。

$$\text{吸水率} = \frac{\text{吸水后质量} - \text{吸水前质量}}{\text{吸水前质量}} \times 100\% \quad (1)$$

参照国家标准林木种子检验规程(GB 2772—1999),采用恒高温烘干法测定欧洲冬青种子种皮和胚乳(含胚)2部分的含水量,将未进行任何处理的种子作为对照。将欧洲冬青种子种皮和胚乳2部分分别放入铝盒中,在130℃恒温烘箱中烘干,种子烘至恒质量后分别计算2部分的含水量。

$$\text{含水量} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中: $m_1$ 为样品盒和盖的质量(g); $m_2$ 为样品盒和盖及样品的烘前质量(g); $m_3$ 为样品盒和盖及样品的烘后质量(g)。

### 1.3 数据处理

用 Excel 2003 和 SPSS 18.0 统计分析软件进行方差分析和多重比较,采用 Duncan's 法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 欧洲冬青种子基本形态特征

欧洲冬青种子外部轮廓呈半月形,种皮革质,较硬,呈黄褐色,种皮表面具纵向分布深浅不一的沟壑,内凹,种子背部及腹部厚度不均匀。欧洲冬青种子外部形态统一,长度 6.99 mm,宽度 3.90 mm,高度 3.08 mm,千粒质量为 38.82 g。欧洲冬青种子去除外种皮和中种皮的种仁呈长椭圆形;胚乳及胚呈乳白色,种仁被胚乳充满,属于典型的胚乳型种子,种胚较小,尚处于胚原基阶段,长度为 0.51 ~ 0.67 mm;欧洲冬青的种胚位于种子的角隅处(珠孔端),约占胚乳长度的 1/10。整个胚浸在胚乳细胞形成的囊腔中(图 1)。

### 2.2 欧洲冬青种皮构造

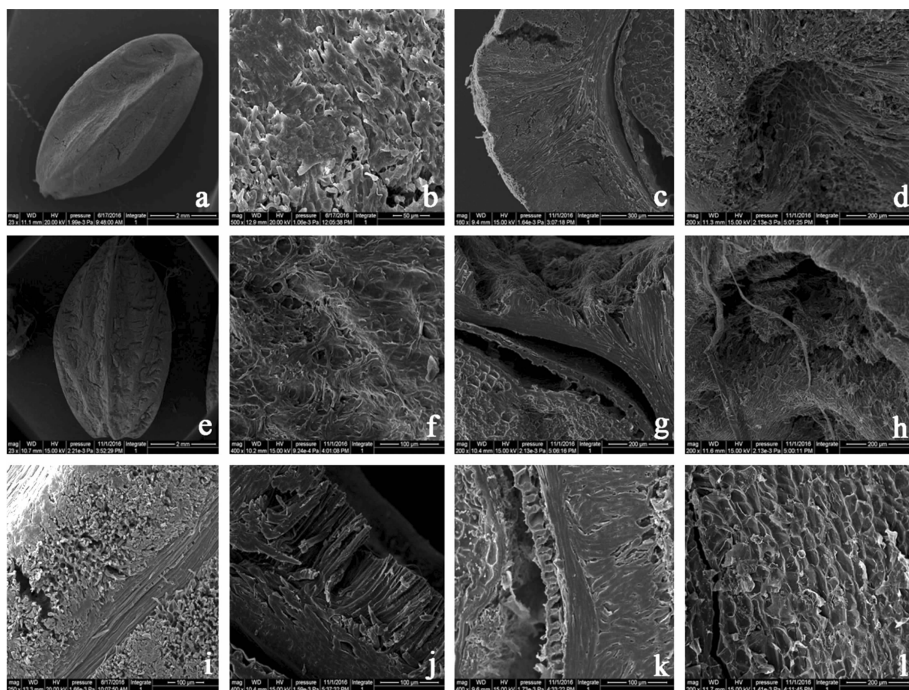
为了更为清晰地观察种皮构造,将欧洲冬青种子置于环境扫描电子显微镜下观察。电镜观察结果显示,其种皮结构清晰,种皮腹部厚度为 0.28 ~ 0.46 mm,背部厚度为 0.32 ~ 0.58 mm,2 部位厚度差异明显。种皮分为 3 层,即外种皮、中种皮、内种皮。电镜下显示,欧洲冬青种子外种皮表面角质化,凹凸不平,纹饰清晰可见(图 2-b);种皮表面种脊明显,有少量裂痕(图 2-a)。如图 2-c 所示,将种皮横断面结构放大 200 倍进行观察,可见外种皮结构复杂,种脊处有平行于种皮表面的维管束,由螺旋纹导管构成,其细胞端壁由穿孔相互连接,维管束厚度约为 264.95  $\mu\text{m}$ (图 2-i);环绕于维管束周



a—种子背部, 7.5 $\times$ ; b—种子腹部, 7.5 $\times$ ; c—种仁, 12 $\times$ ; d—胚及胚乳, 12 $\times$ ; “ $\times$ ”表示放大倍数, 下图同

图1 欧洲冬青种子的形态特征及解剖结构

围的是排列紧密的实心纤维细胞,其两侧是细胞壁强烈增厚的栅栏细胞,厚度约为 144.67  $\mu\text{m}$ (图 2-j);靠近内种皮的 1 层结构为垂直于栅栏层排列的纤维细胞,横向纤维细胞层的厚度为 45.03  $\mu\text{m}$ ,纵横纤维细胞间存在间隙。如图 2-k 所示,欧洲冬青种子的中种皮横切面呈“U”形排列,由栅栏细胞构成,厚度约为 29.45  $\mu\text{m}$ ,中种皮结构如图 2-l 所示;内种皮较薄,细胞排列疏松,厚度约为 21.02  $\mu\text{m}$ 。图 2-d 所示为欧洲冬青的种脐结构,种脐直径约为 275.57  $\mu\text{m}$ ,种脐处细胞



a—未处理种子形态结构, 20 $\times$ ; b—未处理种子外种皮表面结构, 500 $\times$ ; c—未处理种子种皮横断面结构, 200 $\times$ ; d—未处理种子种脐结构, 200 $\times$ ; e—酸蚀种子形态结构, 20 $\times$ ; f—酸蚀种子外种皮表面结构, 500 $\times$ ; g—酸蚀种子种皮横断面结构, 200 $\times$ ; h—酸蚀种子种脐结构, 200 $\times$ ; i—未处理种子维管束结构, 250 $\times$ ; j—未处理种子栅栏层结构, 400 $\times$ ; k—未处理种子中种皮横断面结构, 400 $\times$ ; l—未处理种子中种皮表面结构, 200 $\times$

图2 欧洲冬青种子种皮的扫描电镜结构

排列疏松,且维管束由种脐处开始贯穿于整个种皮。

经 98% 浓硫酸处理后,欧洲冬青种子表面出现了许多腐蚀裂痕,角质层腐蚀严重,且纹饰不清晰,如图 2-e、图 2-f 所示;种子酸蚀后,外种皮明显变薄,种子腹部厚度为 0.11 ~ 0.20 mm,背部厚度为 0.19 ~ 0.38 mm,与酸蚀前的种子差异明显,且中种皮和内种皮结构明显分离,种脐处腐蚀较严重,如图 2-g、图 2-h 所示。

### 2.3 欧洲冬青种子的透水性

由图 3 可以看出,完整种子与酸蚀种子吸水曲线变化趋势相似,吸水率均随着时间的延长而增加。欧洲冬青种子的吸水过程大致分为 3 个时期,即快速吸水期(0 ~ 9 h)、缓慢吸水期(10 ~ 20 h)、近饱和期(21 ~ 48 h)。吸水 1 h 后,酸蚀种子的吸水率达 15.7%,完整种子的吸水率达 12.1%,二者吸水率在透水性测试初期差异明显;在快速吸水期,完整种子与酸蚀种子均能够迅速吸水,吸水 9 h 后,完整种子的吸水率为 20.2%,酸蚀种子的吸水率为 23.5%,二者吸水差异较为显著;2 种处理的种子在缓慢吸水期吸水率均随着时间的延长而缓慢增加,吸水 20 h 两者吸水率分别达 23.5%、25.2%;近饱和期,二者吸水率差异不显著,吸水 48 h 后,完整种子的吸水率为 24.3%,酸蚀种子的吸水率为 25.9%。

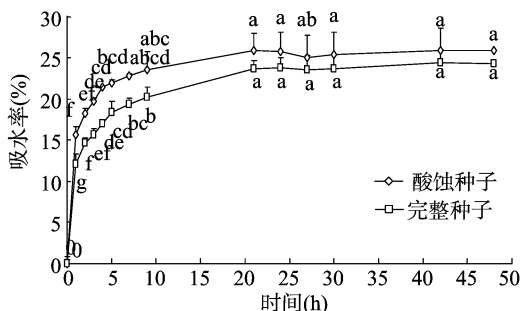


图3 欧洲冬青种子吸水曲线

试验结果表明,欧洲冬青的种皮具有一定的透水性。近饱和期完整种子与酸蚀种子吸水率几乎不再变化,种子吸水接近饱和,至 48 h 时完整种子吸水率达 24.3%,酸蚀种子吸水率达 25.9%。方差分析表明,欧洲冬青完整种子与酸蚀种子的吸水率差异显著 ( $F = 86.13, P < 0.05$ ),不同处理与时间无交互效应 ( $F = 3.01, P = 0.087$ )。

将进行种皮透水性测定的完整种子和酸蚀种子进行解剖,分离成种皮和胚乳(含胚)2 部分,测定含水量,以未经吸水性测定的种子作为对照,测定结果如图 4 所示。结果表明,吸水达到饱和后,完整种子种皮的含水量为 17.16%,比对照种子种皮的含水量高;酸蚀种子种皮的含水量为 19.23%,比对照种子的种皮含水量高;酸蚀种子种皮的含水量比完整种子种皮的含水量高,原因可能是种子经过浓硫酸处理后角质层被腐蚀,种皮结构变疏松,因此种皮能吸附部分水分。欧洲冬青完整种子的胚乳(含胚)含水量为 10.89%,比对照种子胚乳(含胚)的含水量高,说明欧洲冬青的种胚可以吸收部分水分。方差分析表明,完整种子和酸蚀种子胚乳含水量差异不显著,表明酸蚀处理不能加强种子的透水性。

### 3 结论与讨论

种皮的纹理特征能够稳定遗传,是植物长期系统进化的

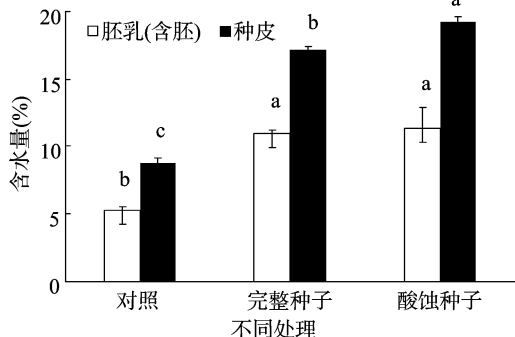


图4 浸水 48 h 后不同处理的胚、种皮中含水量差异

结果<sup>[8]</sup>,可以为分析不同物种的亲缘关系以及进化提供依据和可行性方法<sup>[9]</sup>,并具有保护种胚的功能<sup>[10]</sup>。电镜扫描结果显示,欧洲冬青种子表面角质化,角质层与外界环境直接接触。角质层是植物中广泛存在的一种蜡状高度复杂的脂肪性物质<sup>[11]</sup>,这种细胞排列紧密的角质层结构在一定程度上具有保护种胚的功能,是植物应对不良环境的屏障,但角质层致密的蜡质和角质结构使得欧洲冬青种皮透性较差,阻碍水汽等进入胚乳细胞,使种胚的代谢活动无法正常进行<sup>[12]</sup>,影响种子的吸胀,因此欧洲冬青种子表面的角质层可能对胚的萌发尤其是胚根的生长产生阻碍作用。欧洲冬青外种皮结构紧密,种脊处由柱状细胞组成的维管束结构能够为种子的萌发提供水分及无机盐;但外种皮中存在大量厚壁细胞及栅栏层,细胞排列紧密的栅栏层不仅是水分进入种子的主要障碍层<sup>[13]</sup>,而且增加了种皮硬度,欧洲冬青外种皮中的栅栏层存在阻碍种胚萌发的可能,尤其对于胚根的生长伸长具有抑制作用,因此栅栏层的存在可能是导致种胚萌发时无法突破种皮的一个重要原因。外种皮存在大量纤维细胞,无论是纵向还是横向排列的纤维细胞都在一定程度上阻碍了水分与气体的扩散,同时大量纤维细胞增加了种皮机械强度,但纤维细胞的阻碍作用远小于栅栏层。欧洲冬青的种皮结构也在一定程度上影响种子的透水性。内种皮细胞排列疏松,可使水分迅速穿过,对种子萌发并无显著影响。欧洲冬青表面的种脐结构能在种子萌发过程中为胚乳及胚输送水分和养料,有利于种子萌发。

对比未处理的欧洲冬青种皮结构可以看出,酸蚀处理能够腐蚀种皮表面的角质层,种子表面的酸蚀裂痕以及种皮的变薄增强了种子的透水性和透气性,种皮对种子萌发的机械阻碍作用明显降低。

欧洲冬青种子的透水性试验表明,完整种子与酸蚀种子吸水趋势相似,二者吸水至饱和所需时间差异较小;种皮对种子吸水有所影响,这种影响在吸水初期表现突出,随着吸水继续进行,种皮对于透水性的阻碍作用逐渐减小直至消失,说明欧洲冬青的种皮具有一定的透水性,但与一般种子相比吸水速率较慢,吸水达到饱和时所需时间较长<sup>[14-15]</sup>,这可能是由于其外种皮致密的结构造成的。同时,当吸水至饱和时,酸蚀种子吸水率比完整种子高,造成这一现象的原因可能是种子经浓硫酸处理后种子表面的角质层被腐蚀且外种皮变薄,且酸蚀后使种子致密的栅栏层及纤维细胞结构得到改善,因此增加了种子的透性。但完整种子与酸蚀种子均能很快吸水膨胀,方差分析表明,完整种子和酸蚀种子胚乳含水量差异不显

罗珍珍, 由翠荣, 孔艳辉. 多效唑与矮壮素对不同彩色马蹄莲品种微球的诱导差异[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(12): 99–102.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.12.026

# 多效唑与矮壮素对不同彩色马蹄莲品种微球的诱导差异

罗珍珍<sup>1</sup>, 由翠荣<sup>2</sup>, 孔艳辉<sup>1</sup>

(1. 烟台市园林管理处, 山东烟台 264000; 2. 烟台大学, 山东烟台 264000)

**摘要:**以紫色、冻糕、火焰 3 个品种的试管苗为试材, 比较多效唑(PP<sub>333</sub>)、矮壮素(CCC)对不同彩色马蹄莲品种微球的诱导差异。结果表明, 低浓度 PP<sub>333</sub>、CCC 促进各彩色马蹄莲品种微球块茎的生长, 高浓度则起抑制作用; 1/2 MS + 0.2 mg/L 萘乙酸(NAA) + 2.0 g/L 活性炭 + 7.0 g/L 琼脂 + 60.0 g/L 蔗糖基本培养基中添加不同浓度 PP<sub>333</sub>、CCC 时, 添加 PP<sub>333</sub> 对紫色、火焰的诱导效果相对最好, 最佳添加浓度分别为 4.0、6.0 mg/L, 添加 CCC 对冻糕的诱导效果相对最好, 最佳添加浓度为 8.0 mg/L; PP<sub>333</sub>、CCC 对 3 个品种有根苗根与叶的诱导效果优于无根苗。

**关键词:**彩色马蹄莲; 微球; 诱导; 多效唑; 矮壮素

**中图分类号:** S682.2\*64.04\*3

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1002-1302(2017)12-0099-04

彩色马蹄莲(*Zantedeschia hybrida*)为天南星科马蹄莲属植物, 近年来成为世界新兴而富有发展潜力的球根花卉, 色彩

收稿日期: 2016-05-29

基金项目: 山东省科技发展计划(编号: 2013GNC11037); 山东省烟台市科技发展计划(编号: 2015GNC113)。

作者简介: 罗珍珍(1969—), 女, 山东烟台人, 高级工程师, 主要从事组织培养及园林植物栽培管理等工作。E-mail: ytluzhen@163.com。

通信作者: 孔艳辉, 硕士, 工程师, 主要从事组织培养及园林植物栽培研究。E-mail: 15963503712@163.com。

著。因此笔者推测, 欧洲冬青种子坚硬的外种皮可能会在一定程度上阻碍种胚吸水, 从而影响种子的透水性; 但其完整种子的胚乳(含胚)仍能吸收 5.62% 的水分。欧洲冬青种子的种皮结构对透水性的影响可能不是引起欧洲冬青种子休眠的主要因素, 但这种致密的种皮结构可能存在影响种子透气性的因素, 并且可能对胚的萌发产生一定的机械阻力, 进而使种子难以打破休眠状态。

## 参考文献:

- [1] Rendell S, Ennos R A. Chloroplast DNA diversity of the dioecious European tree *Ilex aquifolium* L. (English holly) [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12(10): 2681–2688.
- [2] Aranda I, Robson T M, Rodríguez – Calcerrada J, et al. Limited capacity to cope with excessive light in the open and with seasonal drought in the shade in Mediterranean *Ilex aquifolium* populations [J]. *Trees – Structure and Function*, 2008, 22(3): 375–384.
- [3] 田如男, 辛建攀. 欧洲冬青研究进展[J]. *林业科技开发*, 2014, 28(5): 12–17.
- [4] Peterken G F, Lloyd P S. *Ilex aquifolium* L. [J]. *Journal of Ecology*, 1967, 55(3): 841–858.
- [5] 管康林. 树木种子休眠性状的研究综述[J]. *浙江林学院学报*, 1986, 3(2): 103–113.

艳丽, 形态高雅, 是观赏价值极高的切花和盆栽植物<sup>[1-3]</sup>。目前, 对彩色马蹄莲的组织培养快繁技术已有许多报道<sup>[1,4-5]</sup>。笔者采用块茎芽作为外植体建立了彩色马蹄莲的离体快繁体系, 也获得大量的新品种组培苗, 且在研究中发现, 诱导试管块茎可大大缩短彩色马蹄莲的营养生长时期, 实现彩色马蹄莲尽早开花, 且试管中诱导出的小块茎比一般组培苗更易移栽成活。

目前, 试管贮藏器官诱导成功的观赏植物主要有百合、石蒜、小苍兰、番红花、嘉兰、大岩桐、红花酢浆草等<sup>[6-13]</sup>, 对彩色马蹄莲的试管成球也有一些研究, 但植物调节剂对不同彩

- [6] Skou A, Toneatto F, Kollmann J. Are plant populations in expanding ranges made up of escaped cultivars? The case of *Ilex aquifolium* in Denmark [J]. *Plant Ecology*, 2012, 213(7): 1131–1144.
- [7] 杨万霞, 张香香, 方升佐. 青钱柳种子的种皮构造及其对透水性的影响[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2005, 29(5): 25–28.
- [8] 伍晓明, 曾长立, 胡 琼, 等. 甘蓝型油菜与野芥属间体细胞融合杂种后代种皮纹饰亚微结构研究[J]. *中国油料作物学报*, 2009, 31(2): 122–126.
- [9] 韦存虚, 李爱民, 张永泰, 等. 白芥和甘蓝型油菜属间杂种后代种子结构比较[J]. *作物学报*, 2009, 35(6): 1139–1145.
- [10] 文婷婷, 利 站, 林 程, 等. 油菜种子种皮的结构和细胞壁成分研究[J]. *浙江农业科学*, 2016, 57(1): 22–25.
- [11] 周 健, 苏友谊, 代 松, 等. 紫荆种子成熟过程中种皮和胚乳超微结构观察[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2016, 40(6): 27–32.
- [12] 钱领元, 施拱生. 乌柏籽“蜡被”形成过程的研究[J]. *浙江林学院学报*, 1986, 3(1): 1–5.
- [13] 文婷婷, 王 洋, 利 站, 等. 豌豆种皮结构和成分对种子透水性的影响[J]. *种子*, 2016, 35(1): 19–25.
- [14] 周佑勋, 段小平. 华南五针松种子休眠生理的研究[J]. *中南林学院学报*, 1993, 13(2): 122–126.
- [15] 周佑勋, 胡春姿. 阔瓣含笑种子休眠生理的初步研究[J]. *林业科技通讯*, 1990(8): 7.