

三倍体西瓜种子萌发障碍与种皮的关系

戴思慧^{1,2}, 孙小武^{1,2}, 熊兴耀^{1,2*}, 肖杰¹, 黄智¹

(1.湖南农业大学 园艺园林学院, 湖南 长沙 410128; 2.湖南省作物种质创新与资源利用重点实验室, 湖南 长沙 410128)

摘 要: 以三倍体西瓜‘黑牛’和二倍体西瓜‘黑宝’种子为材料, 对种子形态指标、种皮的透性和种皮电镜超微结构进行了分析。试验结果: 三倍体西瓜种子中种皮平均厚度约为二倍体西瓜种子的 2 倍, 而且三倍体西瓜种子比二倍体多 1 个细胞排列非常致密的硬化组织; 三倍体西瓜种子内种皮平均厚度约为二倍体的 10 倍, 三倍体西瓜种子内种皮木质化, 结构明显分为 3 层; 在种子吸胀萌发过程中, 三倍体和二倍体种子内种皮结构变化的差异非常明显, 表明三倍体西瓜种子的中种皮和内种皮在一定程度上均阻碍种胚与外界的气体交换, 影响种子的萌发, 而二倍体西瓜种子的种皮对气体交换的影响不明显。

关 键 词: 三倍体西瓜; 种皮; 超微结构; 萌芽

中图分类号: S651; S330.2⁺3 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2012)04-0392-06

Germination hindrance and seed coat structure of triploid watermelon seed

DAI Si-hui^{1,2}, SUN Xiao-wu^{1,2}, XIONG Xing-yao^{1,2*}, XIAO Jie¹, HUANG Zhi¹

(1.College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China ; 2. Hunan Provincial Key Laboratory for Germplasm Innovation and Utilization of Crop, Changsha 410128, China)

Abstract: Seeds of triploid watermelon cultivar ‘Heiniu’ and diploid watermelon cultivar ‘Heibao’ were used to investigate the morphology of seeds, the influence of seed coat on permeability of the seed and the ultra structure of seed coat. The results showed that the average thickness of the sclerotesta of the triploid was almost 2 times thicker than that of the diploid and there was a sclerosis with cells densely arranged in triploid but not diploid watermelon seed. The average thickness of the endotesta of the triploid was almost 10 times thicker than that of the diploid. The endotesta of triploid watermelon was lignified and the complicated structure consisted of 3 layers. During germination, the structure changes of endotesta between the two kinds of watermelon seed coat were significant. And the sclerotesta and endotesta of triploid watermelon seed blocked the water and air exchange between the embryo and the outside environment to some extent, which hindered the imbibition and germination of triploid watermelon seed. But the seed coat of the diploid watermelon didn’t block the air exchange.

Key words: triploid watermelon; seed coat; ultra structure; germination

三倍体无籽西瓜 [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai]具有多倍体优势和杂种优势, 其突出特点是无籽、抗病性强、耐贮运性好、可溶性固形物含量较高, 以品质优、经济价值高而成为西

瓜中的精品^[1]。近年来, 无籽西瓜品种在西瓜品种中所占的比例一直处于上升趋势^[2-4]。虽然无籽西瓜有良好的经济效益, 但三倍体无籽西瓜的“三低”问题(种子产量低、发芽率低、成苗率低)限制了无

收稿日期: 2012-04-22

基金项目: 现代农业产业岗位技术体系建设岗位专家项目(CARS-26-09)

作者简介: 戴思慧(1976—), 女, 湖南岳阳人, 博士研究生, 主要从事瓜类种子生理和加工研究, daisihui@126.com; *通信作者, xiongxingyao@126.com

籽西瓜生产的发展^[5]。目前,生产上常采用人工“破壳”方法来提高种子的萌发率^[6-7],但这种方式容易损害种胚,而且费时、费工,不能满足现代农业规模化、专业化生产的需要。近年来,国内劳动力价格不断攀升,无籽西瓜的制种成本随之增加。种皮是限制三倍体无籽西瓜种子萌发的主要因素之一。Grange 等^[8]发现三倍体无籽西瓜的种皮和种皮与种胚之间的种腔可能是限制三倍体发芽的主要因素之一;郑晓鹰等^[9]认为种皮过厚所形成的机械阻力是影响无籽西瓜萌发的主要因素。以上研究结果都是通过间接分析获得的,而不是通过分析种皮的解剖结构等直接加以证明的。笔者以二倍体西瓜种子为对照,在剖析种子形态差异的基础上,通过电镜扫描,观察三倍体西瓜种皮的解剖结构,旨在探明三倍体无籽西瓜种子萌发困难的原因。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为湖南省瓜类研究所三倍体西瓜“黑牛”种子和同源二倍体西瓜‘黑宝’种子。

1.2 方法

1.2.1 种子形态指标的测定

种子形态指标主要包括种子大小(长、宽)和内种皮厚度、种子千粒重、种子各部分(外种皮、内种皮、胚)的质量及各部分与种子总质量的比值、种子空腔占种腔的比值等。

种子大小:随机选取三倍体西瓜种子和二倍体西瓜种子各 100 粒,分别测量并记录其长度、宽度、喙部厚度、外种皮和内种皮厚度,3 个重复,取平均值。

种子千粒重:采用百粒法,随机抽取 8 组种子,每组 100 粒,称其质量,取平均值。

种子各部分质量:随机取干种子 100 粒,分离其种皮和胚,并分别称取质量,3 个重复,取平均值。

空腔体积/种腔体积:采用排水法,随机取干种子 100 粒,测量其种子总体积、种胚体积和种皮体积。空腔体积/种腔体积=(种子总体积 - 种胚体积 - 种皮体积)/(种子总体积 - 种皮体积)。3 次重复,取平均值。

1.2.2 种皮对种子透性的影响

种皮透水性的测定:取二倍体西瓜种子、完整三倍体西瓜种子和夹裂三倍体西瓜种子各 100 粒,置于 25 °C 恒温培养箱中,在 500 mL 烧杯中吸胀,每隔 1 h 取出种子,用吸水纸吸干种子表面浮水后称取种子质量,直至种子质量不再变化为止。重复 3 次。以吸水时间为横坐标,吸水后的种子质量为纵坐标,绘制吸水曲线。吸水率=(吸水后质量 - 吸水前质量)/吸水前质量。

种皮透气性测定:采用广口瓶法(小篮子法)^[7],取二倍体西瓜种子、完整三倍体西瓜种子和夹裂三倍体西瓜种子各 100 粒,称取质量后,置于 25 °C 恒温培养箱中,在 500 mL 烧杯中吸胀,每隔 1 h 取出种子,采用小篮子法测定呼吸速率。重复 3 次。

1.2.3 种皮超微结构的观察

选取大小均匀一致的、分别萌发 0、12、24、36、48 h 的二倍体和三倍体西瓜种子各 10 粒,切取种皮横断面,然后迅速将材料放入 2.5%戊二醛(pH 7.2)中,于 4 °C 固定 12 h,用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.2)冲洗 2 次,再放入 50%、75%、80%、90%、100%丙酮中脱水 5 次,每次 30 min。转入醋酸异戊酯置换后,进行临界点干燥、喷金。在 JSM-6380L 型扫描电子显微镜下观察种子的外种皮、中种皮、内种皮以及横断面结合部位的变化,拍照,并记录。

1.3 数据处理

采用 DPS V7.05 软件对数据进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 种子的形态

由表 1 可见,三倍体西瓜种子明显比二倍体西瓜的大。三倍体西瓜种子的喙部特别肥厚,但种子薄,而且不饱满,种子表面有凹陷,手捏感觉较瘪;二倍体西瓜种子先端较尖、较长,种胚饱满,种皮薄而光滑。去掉种皮后,发现三倍体西瓜种子多为畸形胚,子叶有不同程度的缺刻,即使是发育较好的种胚也很不充实。

表1 三倍体西瓜种子与二倍体西瓜种子的形态指标

种子类型	种子大小/mm			种子各部分质量/(g·(100粒) ⁻¹)		千粒重/g	喙部厚度/mm	种子体积/mL	种皮体积/mL	种胚体积/mL	种胚体积/种腔体积
	长度	宽度	厚度	种皮	种胚						
三倍体	8.65	4.70	2.22	3.92	2.41	62.4	2.204	11.30	5.2	4.17	0.683
二倍体	7.69	4.97	1.72	2.38	2.43	47.9	1.175	5.56	2.9	2.65	0.986

从表1可见,三倍体西瓜种子的千粒重都比二倍体西瓜种子的大,三倍体西瓜种子千粒重是二倍体西瓜种子的1.3倍。三倍体西瓜种子种胚的质量较轻,胚质量仅占种子质量的38.1%;二倍体种子胚质量占种子质量的50.4%。三倍体西瓜种子的种皮质量比二倍体西瓜种子的大。

三倍体西瓜种子先端的喙部比较厚而宽,基本与种子本身厚度一致,而二倍体西瓜种子的喙部比较薄而尖。

三倍体西瓜种子种皮内部有1个很大的空腔,种胚体积仅占种皮内腔的68.3%;二倍体的种胚非常饱满,几乎占据整个种皮内。

2.2 种皮的超微结构特征

通过观察种皮的超微结构,并参考前人的研究结果^[8],西瓜种子的种皮由外种皮、中种皮和内种

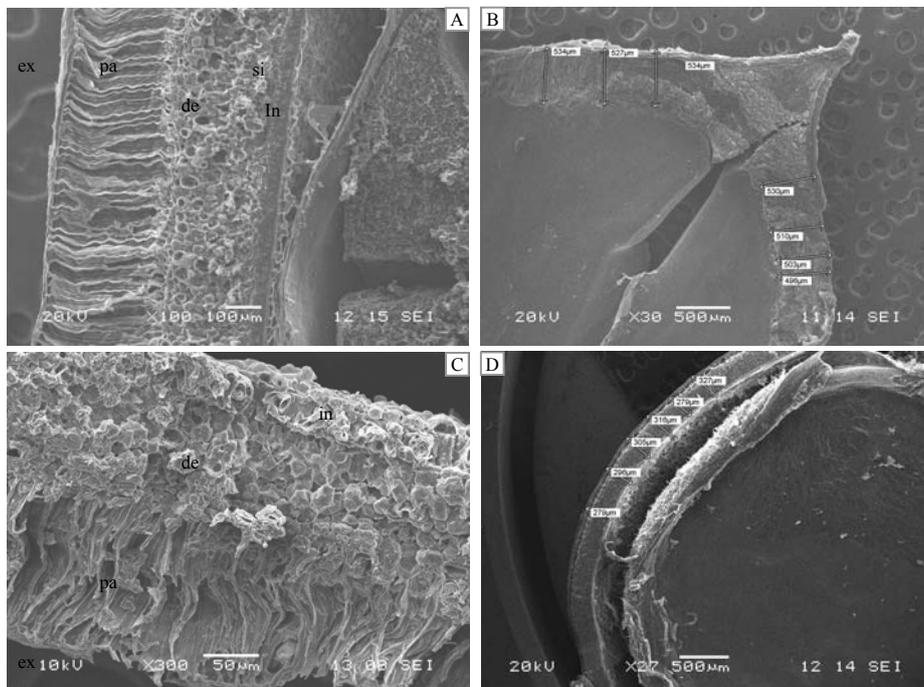
皮三部分组成。

2.2.1 外种皮的特性

外种皮是包裹在坚硬中种皮外的几层薄壁细胞,种子吸水时为覆盖在中种皮外的一层黏稠的膜,种子干燥时仅有细胞残迹存在。

2.2.2 中种皮的特性

由图1可见,三倍体西瓜种子中种皮横断面可明显分为5层,从外到内依次为外表皮层(ex)、栅栏层(pa)、密集细胞层(de)、硬化组织层(si)和内表皮层(in);二倍体西瓜种子中种皮横断面的分层相对简单,共分为4层,从外到内依次为外表皮层(ex)、栅栏层(pa)、密集细胞层(de)和内表皮层(in)。



A、B 为三倍体西瓜种子; C、D 为二倍体西瓜种子。

图1 三倍体西瓜种子与二倍体西瓜种子中种皮的超微截面

Fig.1 Cross sections of triploid and diploid watermelon seeds

三倍体西瓜种子中种皮的总厚度为 516.7 μm(表 2)。外表皮层较薄,厚度为 25.4 μm,细胞呈干瘪状态;栅栏层厚度为 226.4 μm,是整个中种皮组织中比较厚的,细胞呈柱状紧密排列;密集细胞层的厚度为 159.5 μm,细胞呈近六面体形;在这层密集的石细胞下是排列非常紧密的硬化组织,细胞比密集石细

胞层小且高度木质化,排列相当紧实,这一层结构是二倍体西瓜种子没有的。这与刘鹏等^[12]采用石蜡切片技术观察到的三倍体西瓜种子种皮结构不一致,文献[12]中没有提及到这个特殊的组织结构。在硬化组织下面是内表皮层,厚度约为 19.8 μm。

表 2 三倍体西瓜种子与二倍体西瓜种子中种皮的厚度

Table 2 Ultra structure features in sclerotesta of triploid and diploid watermelon seeds

种子类型	中种皮厚度/μm	分层数/层	分层厚度/μm				
			外表皮层	栅栏层	密集细胞层	硬化组织层	内表皮层
三倍体	516.7	5	25.4	226.4	159.5	85.6	19.8
二倍体	312.3	4	19.2	131.7	143.6	—	17.8

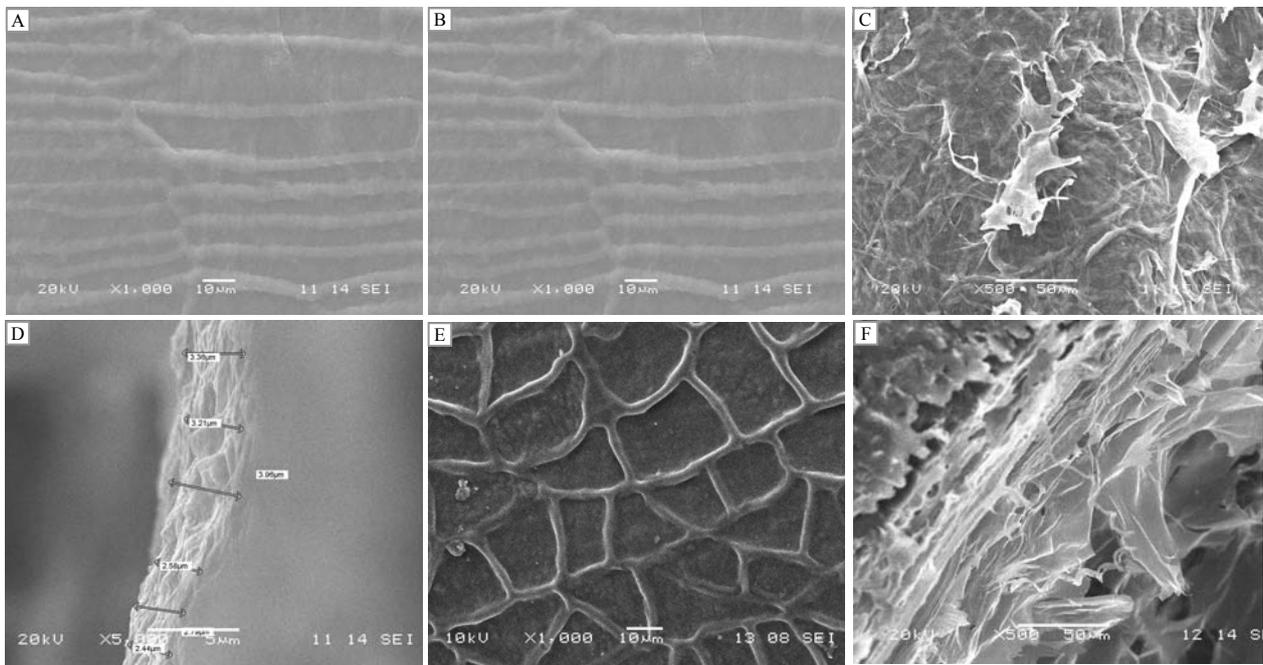
二倍体西瓜种子中种皮比三倍体的要薄很多,厚度仅为 312.3 μm(表 2)。二倍体西瓜种子中种皮的外表皮层厚度为 19.2 μm,细胞呈不规则排列;栅栏层厚度为 131.7 μm,细胞呈波状疏松排列;密集细胞层由大细胞层逐步发展为小细胞层,但分层不很明显,细胞呈近六面体形;密集石细胞层下面是内表皮层。

三倍体西瓜种子中种皮不仅明显比二倍体西瓜种子中种皮厚,而且在结构上明显多了一层细胞排列非常致密的硬化组织,且栅栏组织排列整齐、

密集,这可能是三倍体西瓜种子种皮表现出的机械障碍比二倍体的要大得多的原因。

2.2.3 内种皮的特性

三倍体西瓜种子与二倍体西瓜种子内种皮超微结构存在较大差异(图 2):三倍体种子内种皮厚度 30.3 μm,约为二倍体种子内种皮厚度的 10 倍,其结构致密,分层明显,分为 3 层,中间层细胞高度木质化,上、下层主要由细长的纤维构成,纤维层呈网状排列;二倍体内种皮是一层极薄的膜,疏松。



A、B、C 分别为三倍体西瓜种子内种皮的横断面、内种皮的表面、吸胀 12 h 种皮的表面;D、E、F 分别为二倍体西瓜种子内种皮的横断面、内种皮的表面、吸胀 12 h 种皮的表面。

图 2 三倍体西瓜种子与二倍体西瓜种子内种皮的超微构造
Fig.2 Ultra structure in endotesta of triploid and diploid watermelon seeds

从内种皮的表面形态上看,三倍体种子内种皮表面呈规则的网格状纹饰结构,网格呈不规则的长方形,面积较大,纹路浅且长,在吸胀过程中仅在表面形成浆糊状,内种皮基本结构没有发生变化;二倍体种子内种皮表面呈规则的网格状纹饰结构,网格呈不规则的四边形,面积较小,隆起与凹陷明显,在吸胀过程中,四边形网格界限变得模糊,细胞排列出现紊乱,种子表面在网格连接处出现较明显的缝隙和孔洞,疏松多孔。

2.3 种皮的透性

2.3.1 种皮的透水性

从种子的吸水曲线(图3)可以看出:吸胀1h,二倍体种子和三倍体种子的吸水量迅速增加,未破壳三倍体种子的吸水率达到103.26%,破壳三倍体种子的吸水率达到117.06%,二倍体西瓜种子吸水率只有60.81%;吸胀4h,破壳和未破壳三倍体种子的吸水都达到饱和状态,而破壳三倍体种子的吸水率随后略有降低。

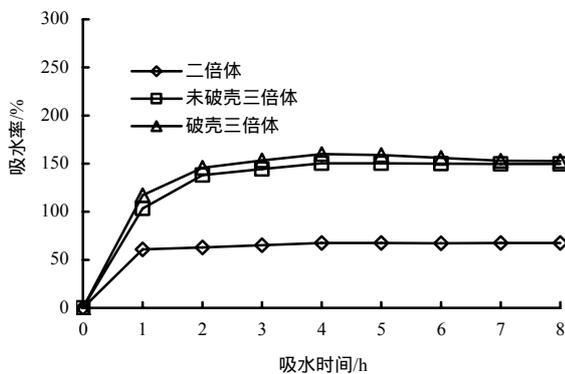


图3 不同吸水时间种子的吸水率

Fig.3 Changes of water absorption with time by watermelon seeds

二倍体种子与三倍体种子的吸水率差异明显,二倍体种子饱和含水量为75.5%;破壳和未破壳的三倍体种子的吸水率虽稍有差异,但饱和含水量都接近127%,可见,种皮透水性不是导致三倍体种子萌发困难的主要原因。相反,三倍体种子胚的发育不完全,形成的空腔里吸收了大量的水包裹种胚,容易引起种胚在萌发过程中水气失调,缺氧而腐烂^[10-11],导致三倍体西瓜种子萌发率低。

2.3.2 种皮的透气性

由图4可以看出,干种子的呼吸强度都较弱,

完整三倍体种子为0.435 mg/(g·h),破壳三倍体种子为0.512 mg/(g·h)。随着吸胀时间的延长,破壳三倍体西瓜种子吸水后呼吸强度急剧上升,在3h达到最大值6.147 mg/(g·h),此时的呼吸强度为完整三倍体西瓜种子的2.15倍,之后逐渐降低;完整三倍体西瓜种子的变化趋势与破壳三倍体西瓜种子相似,但呼吸强度仅有破壳三倍体西瓜种子的1/2。方差分析结果表明,破壳三倍体西瓜种子与完整三倍体西瓜种子的呼吸强度差异显著($F=14.772$, $F_{0.01}(1,16)=8.531$),说明三倍体西瓜种皮透气性不良,而且随着吸水时间的进一步延长,种子的呼吸强度逐渐降低,这可能是由水进入种腔后形成水膜包裹种胚,使氧气无法达到种胚所致。二倍体西瓜种子的呼吸强度不断上升,吸水5h处于平稳状态。

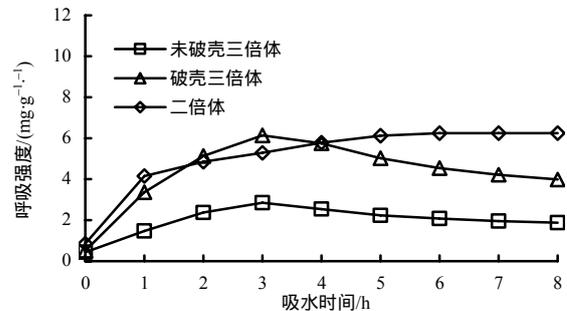


图4 不同吸水时间种子的呼吸强度

Fig.4 Changes of respiratory intensity with time in watermelon seeds

以上结果表明:二倍体西瓜种子的种皮透气性好;三倍体西瓜种子的种皮对种子内外气体交换有一定的阻碍作用;破壳可明显改善其透气状况。

3 结论与讨论

种皮主要起保护种胚的作用,可以减少透水性和防止病虫害的侵入^[10],但种皮也是种子萌发的主要障碍之一,特别是一些硬实种子,如豆科、锦葵科、旋花科等的萌发障碍主要是种皮的机械阻碍作用,或是由坚硬种皮引起的透水、透气困难^[11]。本研究中发现,三倍体西瓜种子内腔较大,吸水过程中容易积累过量水分,使种胚被水膜包裹,导致种胚呼吸不畅;三倍体西瓜种子的中种皮坚硬且厚实,除了有与二倍体西瓜种子相同的石细胞层和栅栏组织外,还有高度木质化的硬化组织,这在一定程度上增加了胚根突破种皮的机械阻力,所以,三倍体

种子催芽过程中必须采取“破壳”处理，以减少种皮的机械阻力，改善种胚的水气环境。

三倍体西瓜种子内种皮与二倍体西瓜种子内种皮有很大的差异，三倍体的内种皮结构厚而致密，而二倍体的薄而疏松，尤其是种子吸胀后，三倍体西瓜种子内种皮在表面形成浆糊状，内部结构没有发生变化，而二倍体西瓜种子内种皮出现裂口，细胞出现严重紊乱而导致整个内种皮碎裂，两者表现出的这种明显差异，可能是大多数三倍体西瓜品种种子萌发时容易出现“戴帽”现象的原因。坚硬的中种皮是三倍体种子萌发的主要障碍^[8,13-14]。本研究结果表明，三倍体西瓜种子木质化且厚实的内种皮对种子萌发也起到了阻碍作用。在下一步三倍体无籽西瓜萌发技术研究中，既要考虑减少中种皮的机械阻碍^[15-16]，也要考虑采取措施减少内种皮对萌发的影响。

参考文献:

- [1] 刘文革.我国无籽西瓜科研和生产的现状与展望[J].中国瓜菜, 2007(6): 57-59.
- [2] 肖光辉,吴德喜,刘建雄,等.外源 DNA 导入创造抗枯萎病西瓜种质资源[J].湖南农业大学学报:自然科学版, 1999, 25(6): 453-454.
- [3] 刘建雄,李赛群,刘兵,等.湘科一号无籽西瓜新品种的选育[J].湖南农业大学学报:自然科学版, 2009, 35(1): 73-75.
- [4] 黄荣韶,盛孝邦.桂宝 802 无籽西瓜的选育及其抗逆特性分析[J].湖南农业大学学报:自然科学版, 2004, 30(6): 552-554.
- [5] 丁泳,骆冬梅.无籽西瓜种子发芽试验的研究[J].新疆农垦科技, 2000(5): 12-13.
- [6] Duval J R ,NeSmith D S .Treatment with hydrogen peroxide and seedcoat removal or clipping improves germination of ‘Genesis’ triploid watermelon[J]. Hortscience, 2000, 35(1): 85-86.
- [7] 叶翔,王永辉,孙小武.提高无籽西瓜种子发芽率的方法[J].种子, 2010, 29(10): 120-123.
- [8] Grange S, Leskovar D I, Pike L M, et al. Seedcoat structure and oxygen-enhanced environments affect germination of triploid watermelon[J]. J Amer Soc Hort Sci, 2003, 128(2): 253-259.
- [9] 郑晓鹰,李秀清,许勇.三倍体西瓜种子萌发障碍及吸水促萌技术研究[J].中国农业科学, 2005, 38(6): 1238-1243.
- [10] 黄学林.种子生理实验手册[K].北京:农业出版社, 1990: 10.
- [11] 赖力,郑光华,幸宏伟.红松种子休眠与种皮的关系[J].植物学报, 1989, 31(12): 928-933.
- [12] 刘鹏,刘文革,赵胜杰,等.不同倍性西瓜种壳解剖结构的比较[J].长江蔬菜:学术版, 2010(8): 23-26.
- [13] Kelly K M, Staden J V, Bell W E, et al. Seed coat structure and dormancy[J]. Plant Growth Regulation, 1992, 11: 201-209.
- [14] 杨期和,叶万辉,宋松泉,等.植物种子休眠的原因及休眠的多形性[J].西北植物学报, 2003, 23(5): 837-843.
- [15] 熊兴耀,戴思慧,孙小武,等.无籽西瓜种子自动破壳机:中国,ZL200710034769.5[P]. 2009-05-27.
- [16] 戴思慧,孙小武,熊兴耀,等.一种提高三倍体无籽西瓜种子萌发率的方法:中国,ZL2010105869 00.0[P]. 2012-02-15.

责任编辑:王赛群