

## 研究報告

## 臺灣3種原生木本植物種子的物理休眠： 漆樹科木蠟樹、錦葵科繖楊與鼠李科亞洲濱棗

黃舒瑜<sup>1)</sup> 簡慶德<sup>1)</sup> 王名偉<sup>2)</sup> 黃玲瓏<sup>2)</sup> 陳舜英<sup>3,4)</sup>

### 摘 要

種子物理休眠係因有一不透水的種皮或果皮，磨破此硬種皮或果皮能促進種子發芽。本研究主要是利用種子水分吸收試驗當作標準，確定種子是否有物理休眠，並使用種子染色追蹤和顯微鏡觀察，證明種皮(果皮)存在水隙口構造和不透水層細胞。研究結果證實，漆樹科木蠟樹、錦葵科繖楊和鼠李科亞洲濱棗種子都有物理的休眠。木蠟樹種子的水隙口位於珠孔端，狹窄線形，其內果皮是由桿狀厚壁細胞、柵狀厚壁細胞和鋸齒狀厚壁細胞組成的不透水層，其中鋸齒狀厚壁細胞是首度被發現在植物種子內。繖楊種子的水隙口位於種皮合點栓，圓環狀，水分從合點栓和種皮連接縫處進入，此種皮不透水層是由柵狀厚壁細胞組成。亞洲濱棗種子的水隙口位於珠孔端，狹窄線形，其不透水層的種皮是由柵狀厚壁細胞組成。磨破種皮(內果皮)水隙口部位是所有處理中能獲得最佳發芽率和發芽速率的方法。熱水處理雖可提高種子發芽率，但最適水溫分別為木蠟樹70°C，繖楊和亞洲濱棗80°C。濃硫酸處理解除木蠟樹種子的休眠，以90 min處理的發芽效果最佳。就新鮮種子最適合的發芽溫度而言，木蠟樹是20/10和25/15°C，繖楊是30°C，亞洲濱棗則是30/20°C。

關鍵詞：物理休眠、種子發芽、鋸齒狀厚壁細胞、水隙口、水分吸收試驗。

黃舒瑜、簡慶德、王名偉、黃玲瓏、陳舜英。2017。臺灣3種原生木本植物種子的物理休眠：漆樹科木蠟樹、錦葵科繖楊與鼠李科亞洲濱棗。台灣林業科學32(1):57-70。

<sup>1)</sup> 林業試驗所育林組，10066台北市南海路53號 Division of Silviculture, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Rd., Taipei 10066, Taiwan.

<sup>2)</sup> 國立台灣大學生命科學系，生態學與演化生物學研究所，10617台北市羅斯福路四段1號 Department of Life Science, Institute of Ecology and Evolutionary Biology, National Taiwan University, 1 Roosevelt Rd., Sec. 4, Taipei 10617, Taiwan.

<sup>3)</sup> 林業試驗所蓮華池研究中心，55543南投縣魚池鄉五城村華龍巷43號 Lienhuachih Research Center, Taiwan Forestry Research Institute, 43 Hualong Ln., Yuchi Township, Nantou City 55543, Taiwan.

<sup>4)</sup> 通訊作者 Corresponding author, e-mail:sychen@tfri.gov.tw

2016年4月送審 2016年7月通過 Received April 2016, Accepted July 2016.

Research paper

## Physical Dormancy in Seeds of Three Native Woody Species in Taiwan: *Rhus succedanea* (Anacardiaceae), *Thespesia populnea* (Malvaceae), and *Colubrina asiatica* (Rhamnaceae)

Shu-Yu Huang,<sup>1)</sup> Ching-Te Chien,<sup>1)</sup> Ming-Wei Wang,<sup>2)</sup>  
Ling-Long Kuo-Huang,<sup>2)</sup> Shun-Ying Chen<sup>3,4)</sup>

### [ Summary ]

Seeds with physical dormancy have a water-impermeable seed coat or fruit coat (endocarp), and thus scarifying the hard coat improves germination. The purpose of the present study was to use water uptake as a criterion to determine if the seed / fruit has physical dormancy, and to use dye-tracking to identify the water gap and impermeable layers of the seed/fruit coat in 3 species of woody plants native to Taiwan. The seed plus endocarp (hereafter referred to as the seed) of *Rhus succedanea* (Anacardiaceae), and seeds of *Thespesia populnea* (Malvaceae), and *Colubrina asiatica* (Rhamnaceae) exhibited physical dormancy. The water gap of *R. succedanea* seeds was located on the micropylar end of the seed and was a narrow-linear opening. The endocarp had 3 water-impermeable layers, with macrosclereids on the outside, palisade sclereid cells in the middle, and serrulate sclereids on the inside, the latter reported for the first time in plant seeds. The water gap of *T. populnea* seeds was located on the end opposite the micropyle and was a chalazal plug surrounded by a layer of palisade sclereid cells in the seed coat, and water passed through the slit between the plug and sclereid cells. The water gap of *C. asiatica* seeds was located on the micropylar end of the seed and was a narrow-linear opening, and the seed had a water-impermeable layer of palisade sclereid cells. High percentages of fresh seeds mechanically scarified at the water gap spot of the 3 species germinated. Immersion of seeds in hot water and allowing them to cool in the water also increased germination percentages, and the optimal water temperatures were 70°C for seeds of *R. succedanea* and 80°C for those of *T. populnea* and *C. asiatica*. Concentrated sulfuric acid broke dormancy in *R. succedanea* seeds, and the soaking time for the highest germination percentage was 90 min. The optimal temperatures for germination of *R. succedanea* seeds was 20/10 and 25/15°C, and those for *T. populnea* and *C. asiatica* seeds were 30°C and 30/20°C, respectively.

**Key words:** physical dormancy, seed germination, serrulate sclereid, water gap, water uptake test.

**Huang SY, Chien CT, Wang MW, Kuo-Huang LL, Chen SY. 2017.** Physical dormancy in seeds of three native woody species in Taiwan: *Rhus succedanea* (Anacardiaceae), *Thespesia populnea* (Malvaceae), and *Colubrina asiatica* (Rhamnaceae). Taiwan J For Sci 32(1):57-70.

## 緒言

Baskin and Baskin (2004)將植物種子休眠分為五大類，即生理休眠(physiological dormancy)、物理休眠(physical dormancy)、形態休眠(morphological dormancy)、形態生理休眠(morphophysiological dormancy)和組合休眠(combination dormancy，物理+生理休眠)。全世界除了生理休眠的種子最多外，物理休眠排名第二(Baskin and Baskin 2014)。有物理休眠的種子，種皮或果皮具有不透水柵狀細胞(palisade cells)或厚壁細胞(sclereids)，此不透水之種皮或果皮一旦破裂，水可進入胚中，休眠即可解除。

目前全世界已知種子具有物理休眠的植物有18科，其中木本植物有13科，但各科中並非每種植物種子皆有物理休眠(Baskin and Baskin 2014)。根據上述，台灣木本植物有5科具物理休眠，分別是漆樹科(Anacardiaceae)、豆科(Leguminosae)、錦葵科(Malvaceae)、鼠李科(Rhamnaceae)和無患子科(Sapindaceae)。這些植物可利用水分吸收試驗(water uptake test)或稱浸潤試驗(imbibition test)，並搭配解剖方法，檢測種皮或果皮是否具有不透水的柵狀細胞(palisade cells)或厚壁細胞(sclereids)，而表現出不透水的特性。因此，本研究採集上述可能具有物理休眠的台灣原生木本植物種子，利用水分吸收試驗確定哪些樹種具有休眠性，並觀察不同發芽溫度對種子發芽的促進情形。

Baskin et al. (2000)發現，種皮或果皮表面雖有不透水的柵狀細胞或厚壁細胞，但在種子某處仍會保留一個水分進出的水隙口(water gap)，當水隙口打開時表示休眠已解除，水分即可由此進入種子內，且水隙口一旦打開就無法再關閉。Hanna (1984)研究豆科相思樹屬*Acacia kempeana*種子發芽機制，認為種子水隙口是由殘存的維管束形成，當水隙口打開時，水或水氣可進入種子內，使種子發芽，且加熱處理能促使維管束隆起和開裂。Turner et al. (2009)發現無患子科車桑子屬*Dodonaea petiolaris*種子之種皮的水隙口很靠近種臍(hilum)，此部位正好是在胚根突破種皮

珠孔(micropyle)的另一端。Gama-Arachchige et al. (2011)發現牻牛兒科野老鸛草(*Geranium carolinianum*)種子有物理休眠，熱水效應可促使種皮的水隙口打開，使水分得以進入胚內，其水隙口位置相當靠近珠孔處，稱為水隙和珠孔複合體(micropyle-water gap complex)。

Hutchison and Ashton (1979)研究平原菟絲子(*Cuscuta campestris*)種子物理休眠發現，水是藉由種皮上的芽點進入種子內，而芽點位於鼓起的皮層細胞上，此皮層細胞內的柵狀組織可防止水分滲透到種子內部。Jayasuriya et al. (2008)深入研究南方菟絲子(*Cuscuta australis*)種子水分進入機制發現，種皮是由3~4層細胞組成的，包括1層表皮細胞、1層不透水柵狀細胞和1~2層不透水硬化厚壁細胞，當菟絲子種子休眠解除時，原本緊密靠近種臍的裂縫(hilar fissure)打開，以使水分通過裂縫進入種子內部。因此，本研究另一個目的是選擇3種木本植物種子，確認它們的水隙口位置，並利用解剖觀察種子的內部構造，同時探討不同溫度的熱水處理對種子發芽的促進效果。

## 材料與方法

### 一、種子採集、處理及基本資料測定

漆樹科木蠟樹(*Rhus succedanea* L.)成熟果實，於2012年9月採自南投縣仁愛鄉霧社(24°01'N, 121°08'E)天然森林，海拔1148 m；錦葵科繖楊(*Thespesia populnea* L.) Soladoyex Correa成熟果實，於2013年3月採自屏東縣滿州鄉(22°00'N, 120°50'E)人工栽植區，海拔30 m；鼠李科亞洲濱棗(*Colubrina asiatica* L.) Brongn.)成熟果實，於2013年3月和2014年11月採自屏東縣滿州鄉(22°00'N, 120°50'E)人工栽植區，海拔30 m。

將採收的果實放在室溫下陰乾燥1 wk左右，先去除枝葉雜質及果皮，然後再篩除小粒品質差的種子。木蠟樹果實包括外果皮、內果皮和種子，本報告所指的木蠟樹種子是已去除外果皮後含堅硬內果皮的種子。此3種種子因均會浮於水面上，故無法用水選法篩選出飽滿

種子。種子含水率測定是將種子置於103°C烘箱下17 h，烘乾前先將種子切碎至小於4 mm，4重複，每重複5~10粒不等(International Seed Testing Association 2007)。

## 二、種子水分吸收試驗

檢測種子物理休眠的方法是利用水分吸收試驗，藉由量測種子重量推測種子是否吸水。取20粒完整種子及5個培養皿(直徑90 mm)，各培養皿內分別放置Whatman No.1濕潤濾紙1張，將濾紙平分4小格，每小格放1粒種子(大粒種子則濾紙分成2小格)，然後標記每粒種子位置，此為對照組；另外，取20粒已先用粗砂紙磨破任何一處的種皮(內果皮)，同上述方法放在培養皿濾紙上。實驗開始時，將新鮮種子放在濕濾紙上10 s，然後用拭鏡紙(Kimwipe)擦乾種子表面，量測重量，秤重至0.1 mg，此為零時間點的重量。秤重後種子放回培養皿濕濾紙上，蓋上蓋子避免水分蒸發太快，然後定時測量種子重量，測量時間分別為：1、2、4、8、14、24、48、72、96、120、144和168 h，共計7天；每次秤重前必須先用拭鏡紙擦乾種子表面水分，秤重完畢後再放回培養皿內。7天中若有種子發芽，即停止測量。種子水分吸收百分率計算公式如下：水分重量增加百分率(%) =  $[(W_i - W_d) / W_d] \times 100$ 。W<sub>i</sub> = 各測量時間點種子重量，W<sub>d</sub> = 零時間點種子重量(Hidayati et al. 2000)。

## 三、溫度對種子發芽之效應

種子和濕水苔均勻混合置入透明PE封口袋中，然後放入不同溫度設定的生長箱，包括變溫30/20、25/15、20/10、15/5°C和定溫25、30°C，同時在變溫之高溫下給予12 h光照，低溫下無光照，24 h一個循環，定溫下亦給予12 h光照。每個溫度處理3重複，每重複木蠟樹與繖楊各50粒種子，亞洲濱棗25粒種子。每星期檢查1次發芽情形，並記錄種子發芽粒數。

## 四、磨破、熱水與濃硫酸處理對種子發芽之效應

磨破處理是用粗砂紙磨破種皮或內果皮，

磨破點位於珠孔的另一端，需注意切勿傷害到胚。每處理3重複，每重複木蠟樹50粒，繖楊和亞洲濱棗各25粒。每星期檢查1次，並記錄種子發芽粒數。

熱水處理是將種子分批浸泡在不同的熱水溫度中，熱水溫度包括100、80、70、60和50°C，熱水體積是種子體積的2倍。種子浸泡在熱水中直到冷卻至室溫(約25°C)，然後取出均勻混合濕水苔後放入PE封口袋，再置於生長箱中發芽。每個處理3重複，木蠟樹和繖楊每重複各50粒，亞洲濱棗每重複25粒。每星期檢查1次，並記錄種子發芽粒數。以上亞洲濱棗磨破和熱水試驗之種子採自2014年11月。

木蠟樹濃硫酸處理是將種子浸漬在種子體積2倍的98%濃硫酸中，浸泡時間分為30、60、90、120和150 min，接著將已浸泡過濃硫酸的種子用清水沖洗數次，並滯留水中2~3 h，然後放入PE袋封口內，加入濕水苔均勻混合，再置於生長箱中發芽。每個時間點3重複，每重複50粒，每wk檢查1次，並記錄種子發芽粒數。

## 五、利用染劑追蹤觀察種子水隙口構造、吸水路徑及種皮或果皮之不透水層

研究水隙口位置可利用水溶性染劑觀察，先將種子浸泡在80°C熱水直到冷卻至室溫，接著取出種子用拭鏡紙擦乾後，放入4% acid fuchsin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 染劑中浸泡。每種種子浸泡時間不同，木蠟樹1 h，繖楊24 h，亞洲濱棗2 h，之後用水沖洗種子表面的染劑，再以拭鏡紙擦乾後用刀片徒手切開種子，置於解剖顯微鏡(dissecting microscopy; Stemi 2000-C, Zeiss, Göttingen, Germany)觀察水隙口位置和水進入種子內之路徑，並用相機(EOS500D, Canon, Fukushima, Japan)拍照紀錄。

當確認水隙口位置後，利用掃描式電子顯微鏡(scanning electron microscopy; Inspect S, FEI, Oregon, USA)觀察水隙口細部構造。為避免種皮水分過高不易在掃描式電子顯微鏡下觀察，先將種子切開移除胚，剩下的種皮(內果皮)和水隙口部位一起放入相對濕度RH 30%防潮箱

內乾燥3天，再用掃描式電子顯微鏡觀察拍照。

為觀察種子不透水層構造，先將不透水的種皮或內果皮徒手用刀片從外向內縱切成薄片，用光學顯微鏡(optical microscopy; DMRB, Leica)觀察，並用相機(D3, Nikon)拍照紀錄。

觀察木蠟樹內果皮細胞形狀和內含物質，則採用雙重染色法。首先把內果皮切成小碎片，浸泡於superoxal solution (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : H<sub>2</sub>O : acetic acid = 1:4:5)，置於58°C烘箱中7天，每天更換superoxal solution，完成後用水清洗3次以上。接著將此內果皮浸泡於1% safranin (Merck, Darmstadt, Germany) 6 min，接著用水清洗3次，再浸泡於1% alcian blue 8GS (Chroma-Gesellschaft, Schmid, Kongen, Germany)和3% acetic acid (Katayama Chemical, Osaka, Japan)中12 min，然後用水清洗3次，樣本用光學顯微鏡(optical microscope; DMRB, Leica, Wetzlar, Germany)觀察，並用相機(D3, Nikon, Sendai, Japan)拍照紀錄。

## 六、統計分析

種子重量和發芽數據轉換為百分比，利用Excel軟體取得平均值和標準誤差。種子水分吸收試驗數據以最小顯著差異(least significant difference, LSD)，比較實驗組和對照組種子平均重量增加之百分比值，統計分析有無顯著差異，並以Sigma Plot 10.0軟體繪圖。

## 結果

### 一、新鮮採收的種子含水率、每公升粒數、每公斤粒數及種子最高發芽率

- (一) 木蠟樹：種子含水率9.7%，2975粒/L，17,250粒/kg，最高發芽率78±5.7%。
- (二) 繖楊：種子含水率12.7%，1765粒/L，4450粒/kg，最高發芽率96±1.6%。
- (三) 亞洲濱棗：(1) 2013年3月採收的種子因數量太少未測量含水率，10,250粒/L，30,540粒/kg，最高發芽率97.3±1.9%；(2) 2014年11月採收的種子含水率14.0%，18,000粒/L，40,778粒/kg，最

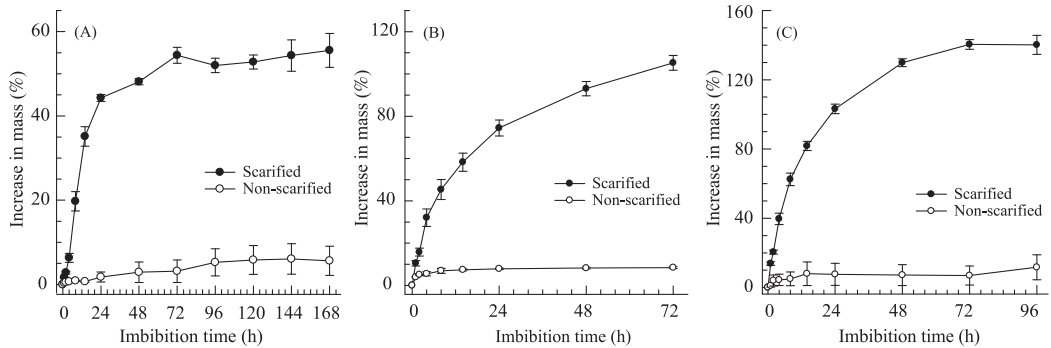
高發芽率56±9.8%。

## 二、種子水分吸收試驗

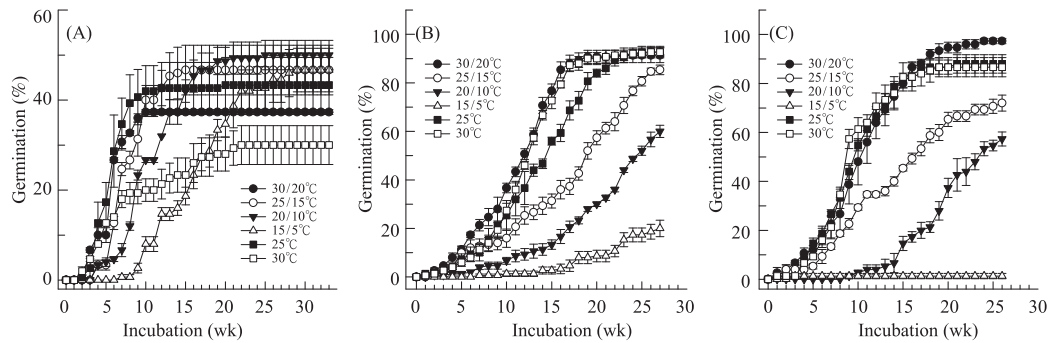
- (一) 木蠟樹：內果皮磨破後種子吸水量急速增加，24 h後重量增加至44.3%，168 h後增加至55.5%；完整種子(對照組) 24 h後重量只增加1.8%，168 h後增加至5.6%(Fig. 1A)，顯示種子吸水量少，其內果皮有不透水的特性。
- (二) 繖楊：種皮磨破的種子浸潤24 h後重量增加至73.8%，72 h後增加至104.5%，且20粒種子中有2粒種子胚根已突破種皮發芽，即結束試驗；完整種子(對照組) 24 h後重量只增加7.7%，72 h後增加至8.3%(Fig. 1B)，顯示種子吸水量少，種皮有不透水的特性。
- (三) 亞洲濱棗：種皮磨破後的種子吸水量急速增加，24 h後重量增加至103.6%，96 hr後重量增加至137.8%，且20粒種子中有1粒種子發芽，即結束試驗；完整種子(對照組) 24 h後重量增加至7.3%，96 h後重量只增加至11.8%(Fig. 1C)，顯示種子吸水量少，種皮有不透水的特性。

## 三、溫度對種子發芽之效應

- (一) 木蠟樹：種子播種在溫度較高的30和30/20°C下2 wk即開始發芽，在溫度較低的20/10和15/5°C則分別延至4和7 wk後才發芽，然最高發芽率以25/15、20/10、15/5和25°C較佳，在25 wk後分別為47、50、43和43%，而30°C種子發芽率最低，最終發芽率為30%(Fig. 2A)。種子發芽速率(seed germination speed)以30/20和25°C較快。
- (二) 繖楊：種子發芽率皆以溫度較高的30/20、25/15、30和25°C最佳，發芽率達85%以上，發芽速率則以30/20和30°C最佳；其他溫度20/10和15/5°C的最終發芽率分別為60和20%，且溫度越低發芽率和發芽速率越慢(Fig. 2B)。
- (三) 亞洲濱棗：種子以溫度30/20、25和30°C



**Fig. 1.** Time course for increases in mass (mean  $\pm$  SE) of mechanically scarified and non-scarified fresh seeds of (A) *Rhus succedanea*, (B) *Thespesia populnea*, and (C) *Colubrina asiatica* incubated at room temperature (about 25°C). Each point represents 20 seeds, and curves stop when the first seed germinated.



**Fig. 2.** Cumulative germination percentages (mean  $\pm$  SE) of non-scarified fresh seeds of *Rhus succedanea* (A), *Thespesia populnea* (B), and *Colubrina asiatica* (C) incubated at various temperatures.

發芽率最佳，分別為97、88和87%，而25/15和20/10°C的發芽率分別為72和57%，15/5°C的種子發芽率只有1%，且溫度越低發芽速率越慢(Fig. 2C)。

#### 四、磨破、熱水與濃硫酸處理對種子發芽之效應

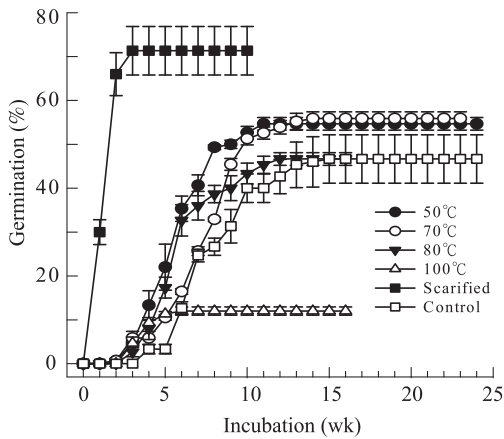
(一) 木蠟樹：內果皮磨破後可快速發芽，3 wk後達最高發芽率71%。種子以熱水50和70°C處理，發芽率分別為55和56%，但種子發芽速率以50°C熱水處理較快，如5 wk後50°C發芽率22%，但70°C發芽率僅11%。80°C熱水處理的最終發芽率為47%，100°C處理則為12%，顯示溫

度高於80°C，發芽率即降低。對照組種子發芽率47%，其發芽速率均較磨破處理、50和70°C熱水處理慢(Fig. 3)。

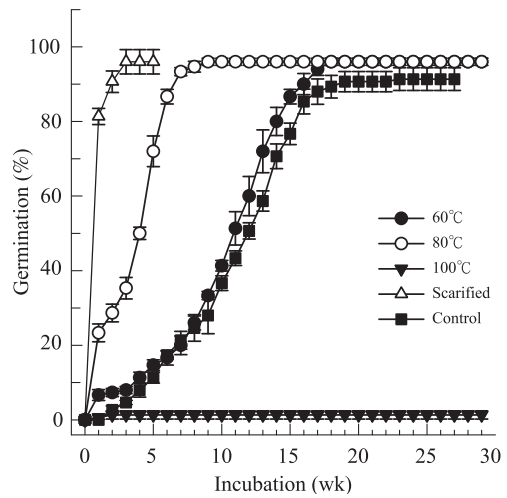
濃硫酸處理90 min後之種子發芽率78%最高，其次為30 min發芽率71%，及150 min發芽率61%。未處理之對照組發芽率為47%(Fig. 4)。

(二) 繖楊：種子磨破處理後，發芽快速且發芽率高，3 wk後的發芽率已達92%，最高發芽率為96%。種子用熱水60、80和100°C處理，發芽率分別為96、96和1%，而對照組發芽率為91%；發芽速率以80°C最快，對照組和60°C較慢(Fig. 5)。

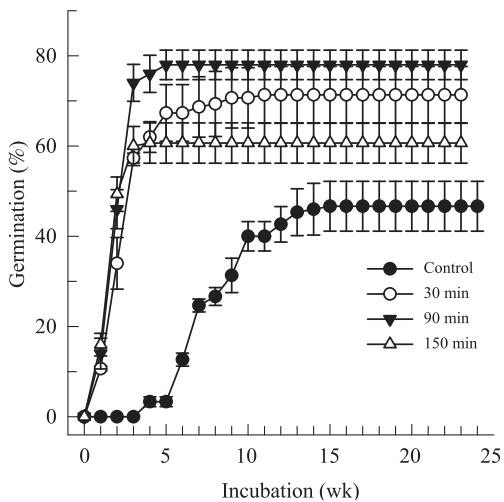
(三) 亞洲濱棗：種子磨破處理後，發芽速率



**Fig. 3. Cumulative germination percentages (mean ± SE) of fresh *Rhus succedanea* seeds soaked in various hot water temperatures prior to incubation at 25/15°C. Seeds were soaked in hot water (50, 70, 80, and 100°C) which was twice the volume of the seeds, and the mixture was allowed to cool to room temperature (about 25°C). The position of seed scarification was at the water gap region.**



**Fig. 5. Cumulative germination percentages (mean ± SE) of fresh *Thespesia populnea* seeds soaked in 60, 80, and 100°C water prior to incubation at 30/20°C. Seeds were soaked in hot water which was twice the volume of the seeds, and the mixture was allowed to cool to room temperature (about 25°C). The position of seed scarification was at the water gap region.**

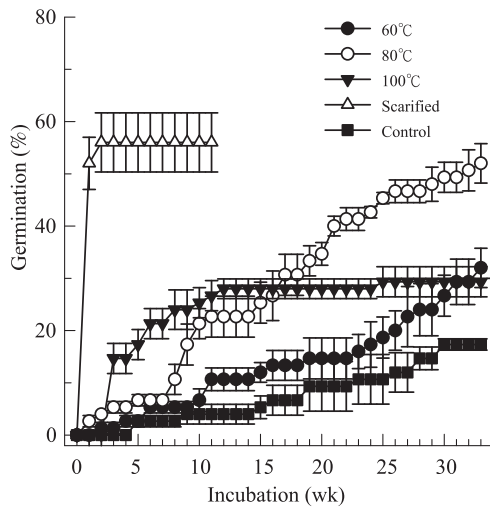


**Fig. 4. Cumulative germination percentages (mean ± SE) of fresh *Rhus succedanea* seeds soaked in concentrated H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%) for 30, 90, and 150 min and then washed with water and incubated at 25/15°C for germination.**

加快，3 wk後已達最高發芽率56%。種子用熱水60、80和100°C處理，最高發芽率分別為32、52和29%，而對照組發芽率僅17% (Fig. 6)。因此，亞洲濱藜種子最適合之熱水處理溫度為80°C。

五、利用染劑追蹤觀察種子水隙口構造、吸水路徑及種皮或果皮之不透水層

(一) 木蠟樹：顯微觀察木蠟樹種子(含內果皮)發現，珠孔(micropyle)和珠柄(funiculus)分別位於種子上下兩端(Fig. 7A)；使用紅色染劑觀察水隙口位置，發現水隙口位於珠孔端，非珠柄端(Fig. 7B, C)。進一步使用掃描式電子顯微鏡觀察珠孔端，發現水隙口為長條狀，附近有許多的淺裂縫(Fig. 7D)。使用掃描式顯微鏡觀察內果皮不透水層，顯示內果皮是由3種不同的細胞所組成，且都具有不透水性，從外到內分別是桿狀



**Fig. 6. Cumulative germination percentages (mean  $\pm$  SE) of *Colubrina asiatica* seeds soaked in 60, 80, and 100°C water prior to incubation at 30/20°C. In this treatment, seeds were soaked in hot water which was twice the volume of the seeds and the mixture was allowed to cool to room temperature (about 25°C). The position of seed scarification was at the water gap region.**

厚壁細胞(macrosclereids)、柵狀厚壁細胞(palisade sclereid cells)和厚壁細胞(sclereids) (Fig. 7E)。使用雙重染色法發現最內層的厚壁細胞為鋸齒狀厚壁細胞(serrulate sclereid cells) (Fig. 7F)。觀察珠孔(水隙口)處附近內果皮，發現桿狀厚壁細胞長度越接近珠孔越短，且珠孔處內果皮只有桿狀厚壁細胞和柵狀厚壁細胞2種，沒有最內層的鋸齒狀厚壁細胞 (Fig. 7G)，推測木蠟樹種子水隙口是由桿狀厚壁細胞和柵狀厚壁細胞組成的。木蠟樹果實之果皮是由兩種細胞所組成，單層骨狀厚壁細胞(osterosclereids)和多層的薄壁細胞(parenchyma)，此兩層都可讓水分自由進出(Fig. 7H)。

(二) 繖楊：繖楊種皮有一個合點栓(chalazal

plug)構造，對水分不具通透性，此合點栓位於珠孔的另一端(Fig. 8A)。使用紅色染劑觀察發現，水隙口位置接近合點栓(Fig. 8B)。進一步使用掃描式電子顯微鏡觀察發現，合點栓形狀為圓形，合點栓與種皮連接縫處即為水隙口的位置(Fig. 8C)。繖楊種皮有3層細胞，最外層為透水性的外種皮細胞(exo-testa)，中層為不透水性的柵狀厚壁細胞，內層為透水性的葉肉薄壁細胞(mesophyll thin-wall cells) (Fig. 8D)。

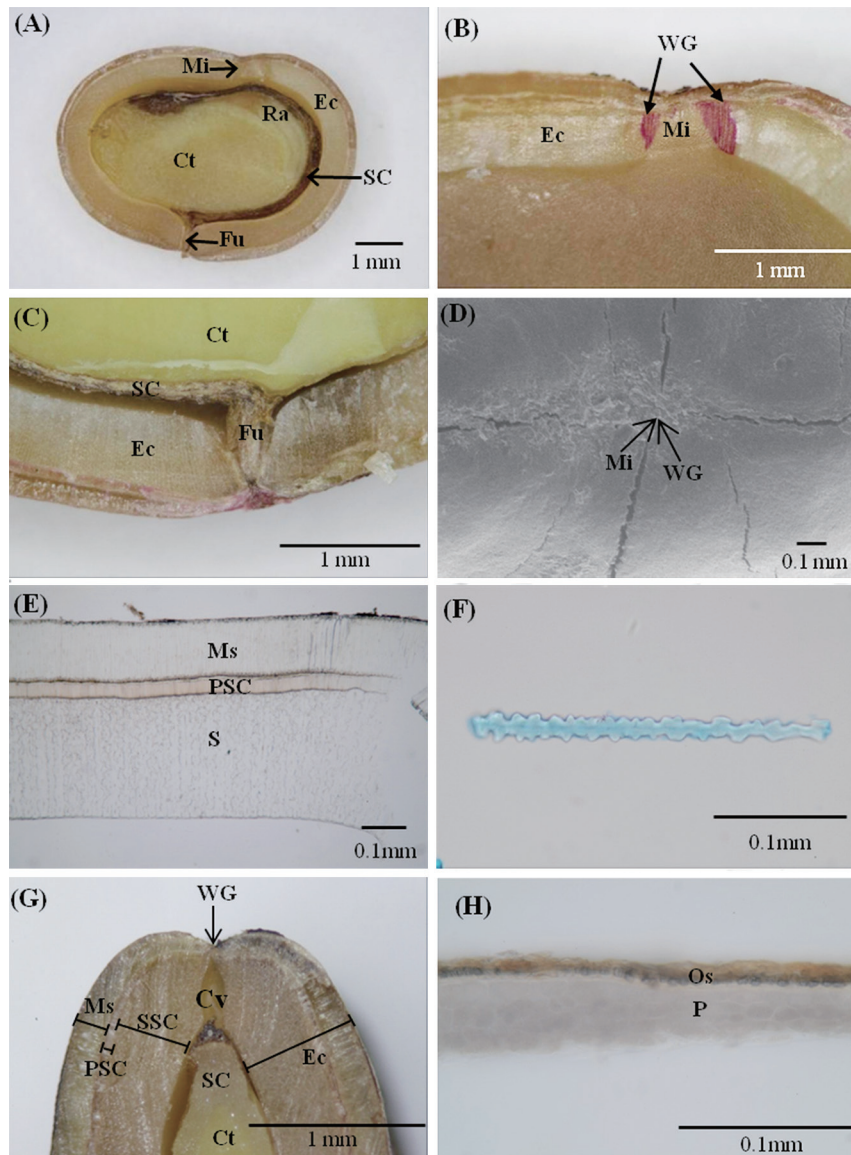
(三) 亞洲濱棗：亞洲濱棗種皮有一個種臍狹縫(hilar slit)的構造，位於珠孔處(Fig. 9A)。使用紅色染劑追蹤觀察發現，靠近種臍狹縫處會染成紅色，顯示水會從種臍狹縫處進入種子內，此處即為水隙口位置(Fig. 9B)。使用掃描式電子顯微鏡觀察種臍狹縫處，發現表面凹陷微裂，但水分暫時無法通過，除非在高溫高濕環境下數天(Fig. 9C)。亞洲濱棗種皮是由3種細胞所組成，外層是柵狀厚壁細胞，中層是葉肉細胞(mesophyll cells)，內層是珠心(nucellus)細胞，其中柵狀厚壁細胞具不透水的特性，可阻止水分進入種子內(Fig. 9D)。

## 討論

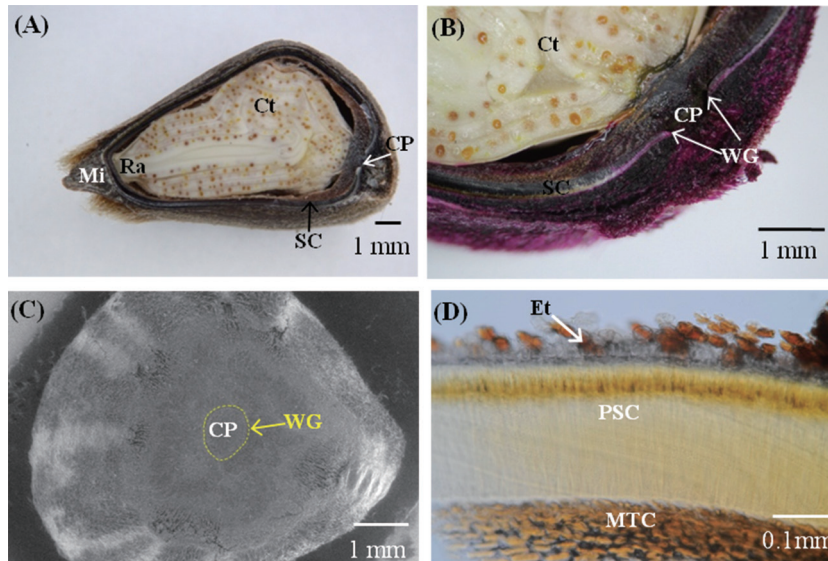
一、如何證明種子有物理休眠

為測試種皮(果皮)不透水性，確認種子的物理休眠，可利用水分吸收試驗，將磨破和不磨破種皮(內果皮)的種子放在潮濕的濾紙上，24 h或更久時間，如磨破的種子重量顯著增加，而完整種子重量沒有明顯增加時，表示水分無法進入種子內，種子有物理休眠。木蠟樹、繖楊和亞洲濱棗種子，當內果皮或種皮被磨破浸潤24 h後重量增加44.4~103.6%，而完整種子的重量只增加1.6~7.7% (Fig. 1)，即代表這些種子存在有物理休眠性。換言之，種子若非物理休眠，完整無磨破的種子會在24 h內完全吸水，





**Fig. 7.** Special features of the endocarp (Ec) and seed coat (SC) of *Rhus succedanea*. (A) Longitudinal section of a fruit without the pulp (exocarp+mesocarp); (B) the micropyle (Mi) and water gap (WG) region of an endocarp stained with red acid fuchsin dye; (C) the funiculus (Fu) region without red dye; (D) SEM of the endocarp surface of the micropyle region; (E) longitudinal section of the endocarp from top to bottom, macrosclereids (Ms), palisade sclereid cells (PSC), and sclereids (S) (optical microscopy); (F) a serrulate sclereid cell from S obtained by maceration with a superoxal solution and double-stained with safranin and alcian blue 8GS; (G) another longitudinal section through the cavity (Cv) where serrulate sclereid cells (SSC) had disappeared, and thus the water gap consists of MS and PSC; and (H) longitudinal section of the pulp from top to bottom, osterosclereids (Os) and parenchyma (P) (optical microscopy). Ct, cotyledon; Ra, radical.



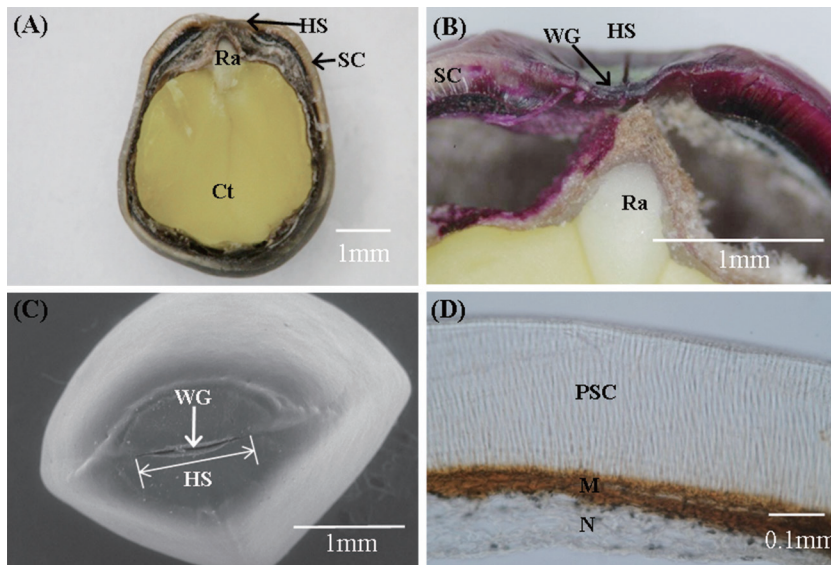
**Fig. 8.** Special features of the seed coat (SC) of a *Thespesia populnea* seed. (A) Longitudinal section of the seed; (B) chalazal plug (CP) and water gap (WG) region stained with red acid fuchsin dye; (C) SEM of the CP region on the seed coat and the WG around the CP; and (D) longitudinal section of the seed coat (optical microscopy), from outside to inside of the seed, exo-testa (Et), palisade sclereid cells (PSC), and mesophyll thin-wall cells (MTC). Ct, cotyledon; Ra, radicle.

而本研究完整種子之重量24 h內有少許增加，推測是來自重量測量時無法完全擦乾種皮表面水分之緣故。從水分吸收試驗得知，木蠟樹、繖楊和亞洲濱棗種子皆有物理的休眠。

透過種皮(果皮)不透水層構造的觀察可確定種子的物理休眠。本研究使用光學顯微鏡觀察種子不透水層構造，發現漆樹科木蠟樹內果皮是由3種不透水細胞層所組成，從外到內分別是桿狀厚壁細胞、柵狀厚壁細胞和鋸齒狀厚壁細胞(Fig. 7E)，其中鋸齒狀厚壁細胞是目前在植物種子中首度被發現的厚壁細胞(Fig. 7F)。Li et al. (1999)發現，與本研究木蠟樹同為漆樹科鹽膚木屬的*Rhus aromatica*和*Rhus glabra*也存在有不透水的內果皮，但細胞組成與木蠟樹稍有不同，從外到內分別是石細胞(brachysclereids，一種厚壁細胞)、骨狀厚壁細胞(osterosclereids)和桿狀厚壁細胞，其中*Rhus aromatica*桿狀厚壁細胞層是不透水的，而*Rhus glabra*骨狀厚壁細胞層和桿狀厚壁細胞層也是不透水的。

錦葵科繖楊種子的種皮構造，從外到內分別是外種皮細胞、柵狀厚壁細胞和葉肉薄壁細胞，其中只有柵狀厚壁細胞層是不透水的，會阻止水分進入種子內。Serrato-Valenti et al. (1992)和Gama-Arachchige et al. (2013)的研究亦發現，包括秋葵(*Abelmoschus esculentus*)、六翅木(*Berrya cordifolia*)、*Adansonia digitata*和*Guazuma ulmifolia*等4種錦葵科植物，其種皮均有不透水的柵狀厚壁細胞層。

鼠李科亞洲濱棗種子的種皮構造，從外到內分別是柵狀厚壁細胞層、葉肉細胞層和珠心層，其中柵狀厚壁細胞層具有不透水性，其他2種細胞層則為透水性。Keogh and Bannister (1994)研究鼠李科*Discaria toumatou*種子發現，種皮外層是不透水的桿狀厚壁細胞(palisade layer of macrosclereid cells)，而內層是透水的薄壁細胞。而Gama-Arachchige et al. (2013)亦發現，鼠李科*Ceanothus americanus*種子的種皮外層是不透水的柵狀厚壁細胞，內層則是透水



**Fig. 9.** Special features of the seed coat (SC) of a *Colubrina asiatica* seed. (A) Longitudinal section of the seed; (B) micropyle region with the hilar slit (HS) and water gap (WG) stained by acid fuchsin dye; (C) SEM of the HS on the seed coat; and (D) longitudinal section of the seed coat (optical microscopy). From outside to inside of the seed, palisade sclereid cells (PSC), mesophyll cells (M), and nucellus (N). Ct, cotyledon; Ra, radicle.

的葉肉細胞。

本研究結果發現，內果皮或種皮之不透水層均是由厚壁細胞所組成的，只是細胞形狀有所差異而已，其中木蠟樹內果皮最內層的鋸齒狀厚壁細胞，是第一次在植物種子內被發現的，過去以來的期刊報告或書籍皆未曾被提到過。

## 二、具物理休眠種子的水隙口

具物理休眠的種子都有一個水隙口，當休眠打破時，水隙口打開，水分由此進入，讓種子發芽。Baskin and Baskin (2014)根據水隙口開口的構造，將水隙口分為三型，第一型(type-I)是一個狹窄線形開口，藉由兩旁柵狀厚壁細胞，讓此口緊密閉合；第二型(type-II)是圓環狀開口或狹窄線形開口，但有一個類似蓋子的構造以關閉水隙口，休眠打破時，蓋子脫離種皮，水隙口即打開；第三型(type-III)是圓環狀開口或狹窄線形開口，但有一個類似栓塞(plug)的構造，此栓塞是由不透水性的厚壁細胞組成。本研究中漆樹科木蠟樹的水隙口位於

珠孔端，呈狹窄線形，由桿狀厚壁細胞和柵狀厚壁細胞組成(Fig. 7)，但沒有類似蓋子或栓塞的構造，因此水隙口構造屬於第一型。Li et al. (1999)同樣以漆樹科*Rhus*屬的兩種種子進行研究發現，其水隙口與本研究的木蠟樹一樣均位於心皮珠孔端，且*Rhus aromatica*的形狀亦為狹窄線形，差異在於是由厚壁細胞的石細胞和骨狀厚壁細胞組成，因無蓋子或栓塞構造，也是屬於第一型；另一種*Rhus glabra*，種子用沸騰熱水打破休眠後，石細胞和骨狀厚壁細胞脫離後在心皮珠孔附近形成凸起的水泡，並在脫離處形成一條狹窄裂縫，稱為水泡裂口(blister gap)，為第二型的水隙口。由上述結果可知，即使是同科同屬的植物，但不同種的種子其水隙口的構造則未必相同。

錦葵科植物種子的水隙口區通常稱為合點眼(chalazal oculus)，是由外表圓形的合點栓(chalazal plug)和外圍的柵狀厚壁細胞所組成，屬於第三型。錦葵科種子*Tilia platyphyllos*、*Apeiba tibourbou*、*Guazuma ulmifolia*及本研

究中的繖楊等，水隙口區的形狀類似，皆有合點眼，水分進出位置是在合點栓和柵狀厚壁細胞連接縫處(Nandi 1998, Daws et al. 2006, Gama-Arachchige et al. 2013)。研究觀察繖楊種子在休眠打破時，種皮的柵狀厚壁細胞與合點栓會稍微分開，但合點栓不脫落，而產生圓環狀縫隙，水分可從此縫隙進入(Fig. 8)。

鼠李科亞洲濱棗種子的水隙口位於種臍(珠孔端)，外觀為狹窄線形，藉由兩旁柵狀厚壁細胞緊密閉合，當休眠打破時，水分即由此狹縫進入胚中，屬於第一型(Fig. 9)。Keogh and Bannister (1994)和Gama-Arachchige et al. (2013)研究鼠李科*Ceanothus americanus*和*Discaria toumatou*種子的水隙口，其構造同樣呈狹窄線形，也是藉由兩旁柵狀厚壁細胞而緊密閉合。

### 三、如何打破種子的物理休眠

#### (一) 機械性割破種皮

豆科植物種子，如*Hymenaea intermedia*、*Medicago meneghinianum*、*Rhynchosia minima*、*Trifolium striatum*，可用砂紙或磨砂機破壞種皮，藉此打破休眠，提高種子發芽率，但磨破位置盡量遠離胚軸端(Shaukat and Burhan 2000, Cruz et al. 2001, Uzun and Aydin 2004)。本研究木蠟樹種子內果皮磨破後發芽率增加，3 wk後已達最高發芽率72% (Fig. 3)。錦葵科繖楊種子磨破種皮後，3 wk後發芽率92% (Fig. 5)。同樣地，錦葵科*Iliamna rivularis*、*Sphaeralcea ambigua*和*Sphaeralcea coccinea*種子，用解剖刀切開一小塊種皮或用砂紙磨破種皮，均可以提高種子發芽率(Dunn 2001, Himanen et al. 2012)。鼠李科亞洲濱棗種皮磨破後，2 wk後已達最高發芽率56% (Fig. 6)。同樣地，鼠李科種子*Ziziphus nummularia*用砂紙磨破種皮，發芽率即顯著提高(Yazdanpanah et al. 2013)。建議機械性割破種皮以磨破水隙孔區的位置最佳，因為此處種皮之不透水層薄，較不會傷到胚。

#### (二) 化學藥劑硫酸處理

硫酸處理能破壞種皮，打破種子物理休

眠。Jin et al. (2006)用硫酸浸泡豆科*Glycyrrhiza uralensis*種子，並測試不同浸泡時間，結果因時間太短種皮沒有破裂，水無法進入，但時間太長，則硫酸會傷到胚，使種子失去活性。本研究發現，木蠟樹種子用濃硫酸處理，時間以90 min的發芽率最高(Fig. 4)。Li et al. (1999)將漆樹科*Rhus aromatica*和*Rhus glabra*種子泡在硫酸內1 hr，發現*Rhus aromatica*內果皮水隙口的外層石細胞與骨狀厚壁細胞已被硫酸侵蝕，水分可從心皮珠孔進入種子內，而*Rhus glabra*水隙口的外層石細胞已被硫酸侵蝕，但骨狀厚壁細胞仍完整，水分無法進入。因此，一批種子處理前需要預先少量測試，找出最適當的浸泡時間，以提高種子發芽率。

#### (三) 熱水處理

木蠟樹種子發芽率以50和70°C熱水處理較佳，100°C則會使種子失去活性(Fig. 3)。Culshaw et al. (2002)研究漆樹科*Rhus laurina*種子發現，浸泡85°C熱水1 min發芽率最高，若延長浸泡時間發芽率則降低。本研究之繖楊種子的發芽率和發芽速率以80°C最高，100°C的發芽率則為0% (Fig. 5)。Acuna and Garwood (1987)將錦葵科*Guazuma ulmnifolia*種子浸泡於62~70°C水中分別為2和10 min，結果發現浸泡10 min的種子發芽率較2 min高。Himanen et al. (2012)用沸騰熱水浸泡錦葵科*Iliamna rivularis*種子2 min，可提高發芽率。McDonnell et al. (2012)將錦葵科*Iliamna remota*種子分別浸泡在70、80、90和100°C水中1 min，以浸泡在80°C的種子發芽率最高，水溫 $\geq 90^\circ\text{C}$ 則發芽率下降。本研究之亞洲濱棗，以80°C之發芽率最高。Turner et al. (2005)將鼠李科*Cryptandra arbutiflora*、*Siegfriedia darwinoides*、*Spyridium globulosum*和*Trymalium ledifolium*種子浸泡於88~92°C熱水5 min，種子發芽率提高許多。研究發現，適當的溫度處理雖可打破種子的物理休眠，但使用100°C熱水處理時尤需注意控制時間。

本研究新鮮種子在發芽箱1~2 wk後，種子開始發芽，發芽率隨時間增加，推測物理休眠種

子在潮濕溫暖的發芽箱內會讓水隙口開裂。此外，種子採收後置於室內陰乾數天，此乾燥過程也可能使水隙口打開(Baskin and Baskin 2014)。

## 結論

木蠟樹、繖楊和亞洲濱棗種子表現物理的休眠，其內果皮或種皮有不透水的厚壁細胞和水隙口的構造。木蠟樹水隙口位於珠孔端，長條狀；繖楊水隙口位於合點栓與種皮連接縫處，圓環狀；亞洲濱棗水隙口位於種臍狹縫珠孔端，狹窄線形。熱水70~80°C處理(非100°C處理)可讓此3種種子水隙口打開，打破休眠，但仍以磨破種皮的方法最佳，增加種子發芽率和發芽速率。

## 謝誌

本研究承蒙國家科學委員會經費補助專題研究計畫(編號NSC101-2313-B-054-004-MY3)和行政院農業委員會林業試驗所經費補助科技計畫(編號102農科-13.1.2-森-G4及103農科-13.1.2-森-G6)，特予致謝。感謝林業試驗所育林組吳濟琛、謝宇政、許文瑜、楊凱淳和蔡仔涵等同仁，在試材採集及實驗工作上的協助；同時也感謝美國肯塔基大學(Univ. of Kentucky) Jerry M. Baskin和Carol C. Baskin二位教授，一直以來對我們的種子休眠研究提供了寶貴的經驗與意見。

## 引用文獻

- Acuna PI, Garwood NC. 1987.** Efecto de la luz y la escarificación en las semillas de cinco especies de arboles secundarios. *Rev Biol Trop* 35:203-7.
- Baskin CC, Baskin JM. 2014.** Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination, 2nd ed. San Diego, CA: Elsevier/Academic Press. 1586 p.
- Baskin JM, Baskin CC. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Sci Res* 14:1-16.
- Baskin JM, Baskin CC, Li X. 2000.** Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biol* 15:139-52.
- Cruz ED, Martins FO, Carvalho JEU. 2001.** Biometria de frutos e sementes e germinação de jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, Leguminosae- Caesalpinioideae). *Rev Brasil Bot* 24:161-5.
- Culshaw CM, Espinosa P, Pritchard HW, Engels J. 2002.** Thermal scarification of hard seeds by wet heat treatment risks accelerated seed ageing: evidence from five woody taxa. *In: Thanos CA, Beardmore TL, Connor KF, Tolentino EL, editors. Research Group for Seed Physiology and Technology: Tree seeds 2002, IUFRO Tree Seed Symposium, 11-15 September 2002, Chania, Crete: University of Athens, MAICh and Hellenic Ministry of Agriculture, Greece. p 34-39.*
- Daws MI, Orr D, Burslem DFRP, Mullins CE. 2006.** Effect of high temperature on chalazal plug removal and germination in *Apeiba tibourbou* Aubl. *Seed Sci Technol* 34:221-5.
- Dunn B. 2001.** Sphaeralcea A. St.-Hil. (Malvaceae) species. *Native Plant J* 12:13-6.
- Gama-Arachchige NS, Baskin JM, Geneve RL, Baskin CC. 2011.** Acquisition of physical dormancy and ontogeny of the micropyle-water-gap complex in developing seeds of *Geranium carolinianum* (Geraniaceae). *Ann Bot* 108:51-64.
- Gama-Arachchige NS, Baskin JM, Geneve RL, Baskin CC. 2013.** Identification and characterization of ten new water gaps in seeds and fruits with physical dormancy and classification of water-gap complexes. *Ann Bot* 112:69-84.
- Hanna PJ. 1984.** Anatomical features of the seed coat of *Acacia kempeana* (Mueller) which relate to increased germination rate induced by heat treatment. *New Phytol* 96:23-9.
- Hidayati SN, Baskin JM, Baskin CC. 2000.**

- Morphophysiological dormancy in seeds of two North American and one Eurasian species of *Sambucus* (Caprifoliaceae) with underdeveloped spatulate embryos. *Am J Bot* 87:1669-78.
- Himanen K, Nygren M, Dumroese RK. 2012.** Boiling water scarification plus stratification improves germination of *Iliamna rivularis* (Malvaceae) seeds. *Native Plant J* 13:244-54.
- Hutchison JM, Ashton FM. 1979.** Effect of desiccation and scarification on the permeability and structure of the seed coat of *Cuscuta campestris*. *Am J Bot* 66:40-6.
- International Seed Testing Association. 2007.** ISTA handbook on moisture determination. First edition. Bassersdorf, Switzerland: International Seed Testing Association, 248 p.
- Jayasuriya KMG, Baskin JM, Geneve RL, Baskin CC, Chien CT. 2008.** Physical dormancy in seeds of the holoparasitic angiosperm *Cuscuta australis* (Convolvulaceae, Cuscutaceae): dormancy-breaking requirements, anatomy of the water gap and sensitivity cycling. *Ann Bot* 102:39-48.
- Jin Q, Duan L, Li J, Dong X, Tian X, Wang B, Li Z. 2006.** Scarification damages by sulphuric acid and their effects on vigour, germination and emergence of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch seeds. *Seed Sci Technol* 34:227-31.
- Keogh JA, Bannister P. 1994.** Seed structure and germination in *Discaria toumatou* (Rhamnaceae) *Weed Res* 34:481-90.
- Li X, Baskin JM, Baskin CC. 1999.** Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two North American *Rhus* species (Anacardiaceae). *Am J Bot* 86:1505-11.
- McDonnell A, Grant, M, Coons JM. 2012.** Effects of hot water on breaking seed dormancy of the endangered Kankakee mallow, *Iliamna remota* Greene (Malvaceae). *Erigenia* 25:8-13.
- Nandi OI. 1998.** Ovule and seed anatomy of Cistaceae and related Malvanae. *Plant Syst Evol* 209:239-64.
- Serrato-Valenti G, Cornara L, Lotito S, Quagliotti L. 1992.** Seed coat structure and histochemistry of *Abelmoschus esculentus*. Chalazal region and water entry. *Ann Bot* 69:313-21.
- Shaukat SS, Burhan N. 2000.** Fecundity, seed characteristics and factors regulating germination of *Rhynchosia minima* (L.) D. C. Pakistan *J Bot* 32:211-26.
- Turner SR, Cook A, Baskin JM, Baskin CC, Tuckett RE, Steadman KJ, Dixon KW. 2009.** Identification and characterization of the water gap in the physically dormant seeds of *Dodonaea petiolaris*: a first report for Sapindaceae. *Ann Bot* 104:833-44.
- Turner SR, Merritt DJ, Baskin CC, Dixon KW and Baskin JM. 2005.** Physical dormancy in seeds of six genera of Australian Rhamnaceae. *Seed Sci Res* 15:51-8.
- Uzun F, Aydin I. 2004.** Improving germination rate of *Medicago* and *Trifolium* species. *Asian Plant Sci* 32:133-42.
- Yazdanpanah E, Armand N, Mohsenzadeh S. 2013.** Seed dormancy breaking of *Ziziphus nummularia*. *World Appl Sci J* 28:1831-3.