

金钟藤种子低萌发率原因探讨

程汉亭¹, 范志伟^{1*}, 李鸣光², 黄乔乔¹, 李晓霞¹, 沈奕德¹, 刘丽珍¹

(1. 中国热带农业科学院 环境与植物保护研究所/农业部热带作物有害生物综合治理重点实验室/海南省热带农业有害生物检测监控重点实验室/海南省热带作物病虫害生物防治工程技术研究中心(筹), 海南 儋州 571737; 2. 中山大学 有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 广州 510275)

摘要: 金钟藤种子在室内萌发率很低, 为进一步探讨金钟藤种子的特性, 阐明其种子萌发率低的主要原因, 对金钟藤种皮的透水性、种子解剖结构、种子活力和种子内源抑制物的生物测定进行了研究。结果表明: 金钟藤种皮透水性较差, 完整种子比破皮种子吸水达到最高水平慢 38 h; 种子空瘪粒多, 占有种子的 30%; 种子活力较低, 平均活力仅为 35%; 金钟藤种子甲醇粗提液对白菜种子萌发率、根长和芽长均有较强的抑制作用, 其浸提液浓度在 25 mg/mL 时, 严重抑制白菜种子萌发和生长, 即金钟藤种子内部含有较高的内源抑制物质。金钟藤种子萌发率低, 表明其近年来突发性蔓延成灾主要不是由种子生成新个体造成的, 导致其蔓延成灾的关键因素还需要进一步深入研究。

关键词: 藤本植物; 种皮透水性; 种子活力; 种子内源抑制物; 萌发率

中图分类号: Q945.34 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)04-0522-05

Probing the cause of the low germination rate of *Merremia boissiana* seed

CHENG Han-Ting¹, FAN Zhi-Wei^{1*}, LI Ming-Guang², HUANG Qiao-Qiao¹, LI Xiao-Xia¹, SHEN Yi-De¹, LIU Li-Zhen¹

(1. *Institute of Environment and Plant Protection, CATAS / Key Laboratory of Integrated Pest Management for Tropical Crops, Ministry of Agriculture / Hainan Key Laboratory for Monitoring and Control of Tropical Agricultural Pests / Hainan Engineering Research Center for Biological Control of Tropical Crops Diseases and Insect Pests, Danzhou 571737, China; 2. State Key Laboratory of Biocontrol of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China*)

Abstract: To find out the reasons for its indoor low germination rate, the permeability of seed coat, seed anatomical structure, seed vigor and seed endogenesis inhibitors were examined. The results showed that the permeability of seed coat was poor. Chipped seeds reached the highest value of water absorption in less than 38 h as the intact seeds. The proportion of empty seeds was as high as 30%. Seed vigor was low and averaged at 35%. The germinability, shoot and root growth of cabbage seeds were significantly inhibited by methanol extracts of *M. boissiana* seeds. When methanol extracts of seeds reached a concentration of 25 mg/mL, germination and growth of cabbage seeds were seriously inhibited, suggesting rather high content of endogenesis inhibitors in *M. boissiana* seeds. Low germination rate of *M. boissiana* seeds indicated that seeds' generation of a new plant was not the main reason for the outburst overspread disaster in the recent years, and the key factors should be further researched.

Key words: liana; seed coat permeability; seed vigor; seed endogenesis inhibitor; germination

* 收稿日期: 2011-11-13 修回日期: 2012-03-06

基金项目: 国家自然科学基金(31071699); 科技部国际合作项目(2011DFB30040); 海南省重点科技项目(080149); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2009hzs1J018, 2011hzs1J026) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31071699); International Cooperation Program of MOST(2011DFB30040); Key Science and Technology Foundation of Hainan Province(080149); the Fundamental Research Funds for Environment and Plant Protection Institute, CATAS (2009hzs1J018, 2011hzs1J026)]

作者简介: 程汉亭(1983-), 男, 陕西汉中, 研究实习生, 主要从事农田杂草和入侵植物生理生态研究, (E-mail) chenghanting@163.com。

* 通讯作者: 范志伟, 博士, 研究员, 主要从事杂草生态与综合治理研究, (E-mail) fanweed@163.com。

金钟藤(*Merremia boissiana*), 又称多花山猪菜, 旋花科; 多年生, 常绿, 缠绕或攀援木质藤本。金钟藤有 3 个自然分布中心: ①海南; ②亚洲赤道的加里曼丹岛; ③中越边界和越南北部的沙巴、先安, 老挝的湄公河流域, 并包括中国广西、云南靠近越老边界的地区 (Hu 等, 2010; Wang 等, 2005; Wang 等, 2007)。金钟藤近二十年来在海南及其它分布中心及周边的部分地区突发性成灾, 成片覆盖疏林地、次生常绿阔叶林地、灌丛、人工林, 导致支持木因光合作用严重受阻而死亡, 群落退行演替成高 1.3~1.8 m 的单一藤本层, 对所在地区的农林业生产和生态林的服务功能产生极大危害, 而且近十年来金钟藤的危害程度持续加重。

金钟藤的蔓延、扩散和成灾现象近年来才受到研究者的关注 (Lian 等, 2007; Sun 等, 2006)。金钟藤近距离蔓延主要依靠营养繁殖, 而且具有很强的蔓延扩散能力 (Li 等, 2006); 远距离主要靠种子传播。倪广艳等 (2005) 报道金钟藤种子在恒温 25、28、30℃ 处理下其萌发率、发芽指数、活力指数均随着温度的升高上升, 但萌发率仍只有 5%~27% 之间。李鸣光等 (2009) 在大量开花的金钟藤样地, 连续两年都没有发现金钟藤小苗, 推断种子对金钟藤的爆发贡献极小; 在随机调查 50 个花序中, 有 4 040 朵花, 210 粒种子, 但只有 79 粒硬壳种子, 推断金钟藤花而不实; 且金钟藤种子在室内萌发率很低。许多大面积暴发成灾的植物都具有种子结实量大、萌发率高的特性, 而金钟藤近年来在广东和海南突发性成灾的现象与其种子低萌发率极不相称。因此, 本研究进一步探讨金钟藤种子的特性, 以阐明其种子萌发率低的原因。

1 材料和方法

1.1 种子来源

金钟藤的种子于 2011 年 7 月采集于海南琼中、白沙、万宁等地。金钟藤在海南于每年 4 月底至 5 月中旬抽蕾, 6 月进入盛花期, 7~8 月种子成熟脱落。

1.2 试验方法

1.2.1 种子基本参数测定 (1) 千粒重测定: 随机取 1 000 粒种子, 测定其质量, 3 次重复。(2) 含水量测定: 依据国际种子检验规程 (International Seed Testing Association, 1985), 随机取 100 粒金钟藤种子 3 份, 均匀地铺在样品盒内, 放入烘箱, 在 (103±

2)℃ 烘干 18 h, 取出后立即放入干燥皿里, 冷却至室温后称重。含水量按下式计算: 种子含水量 (%) = (烘前样品重 - 烘后样品重) / 烘前样品重 × 100%。(3) 种子长度、宽度和厚度的测定: 随机取 20 粒种子, 用游标卡尺分别测量种子的长度、宽度和厚度。

1.2.2 金钟藤种子结构观察 取金钟藤种子 50 粒, 清水浸泡 48 h, 然后用 3% 双氧水消毒 30 min; 处理后的种子置于铺有两层滤纸的培养皿内, 适量加水至湿润; 在黑暗条件下培养, 温度控制在 (25±1)℃。期间用体视显微镜 Stereo Discovery LumarVi2 观察种子发芽过程。

1.2.3 金钟藤种子是否休眠测定 随机选取两份金钟藤种子各 100 粒, 在 25℃ 的温水中浸种 48 h, 1 份用 TTC 法测定活力, 即沿种子子叶平行的正中纵切, 切面朝下, 浸于 0.2% 的 TTC 溶液中, 在 25℃ 黑暗条件下恒温显色 24 h, 取出、用清水冲洗种子切面, 观察子叶的染色情况进行统计, 着色的为有活力种子, 没有着色的为无活力种子; 另 1 份在光照培养箱中 28℃ 下进行萌发试验 (光照 12 h, 黑暗 12 h), 3 d 后统计其萌发率。如果其活力显著大于萌发率则说明种子处于休眠状态。

萌发率 (%) = (萌发种子数 / 供试种子数) × 100%

1.2.4 金钟藤种子吸水率的测定 采用称重法测定种子的吸水率。随机取完整种子和破皮种子 (用刀片小心划破坚硬种皮的种子) 各 50 粒称重, 在室温条件下将种子浸泡在蒸馏水中并放置在 25℃ 恒温培养箱中, 分别在 1、2、3、4、5 和 6 h 时测定, 以后每 12 h 测定 1 次。测定时先用滤纸吸干种子表面水分, 用万分之一电子天平称量种子质量, 连续 3 次称种子质量相同为止, 即吸水停止。吸水率 (%) = (湿重 - 干重) / 干重 × 100%。两种处理各 3 次重复, 取其平均值绘制种子吸水曲线。

1.2.5 种子内源抑制物质的生物测定 用万分之一天平称取金钟藤的种子约 2 g (误差为 ±0.001 g), 加 80% 甲醇研磨, 4℃ 条件下密封浸提 24 h, 期间振荡 5 次, 使其充分浸提, 然后过滤, 浸提重复 2 次, 合并滤液, 35℃ 减压浓缩至水相, 蒸馏水定容至 40 mL, 即浓度为 50 mg/mL。分别稀释浸提原液, 形成浓度梯度为 12.5、25 和 50 mg/mL 的浸提液。

生物测定: 分别用不同浓度 (12.5、25 和 50 mg/mL) 的浸提液浸泡白菜 (*Brassica pekinensis*)

种子,并以蒸馏水浸泡为对照,25℃下浸泡2h,然后按100粒/皿均匀置于垫有两层滤纸的培养皿中,用相应浓度的浸提液润湿,光照培养箱中25℃下培养,重复3次,每隔12h统计白菜籽的萌发率,在萌发试验开始72h时测定其根长和芽长。

相对根或芽长(%)=(处理的根或芽长/对照的根或芽长)×100%

2 结果与分析

2.1 金钟藤种子基本参数和种子解剖结构

金钟藤种子的基本参数见表1,金钟藤种子卵状圆锥形,种皮坚硬,种子表面被灰色乳头状毛。种子千粒重14.32~20.18g,平均17.25g;种子含水量平均9.7%。

金钟藤种子(图1:a)外壳革质坚硬,并着有绒毛,具双子叶、无胚乳;部分金钟藤种子发育不完全,种子不够饱满(图1:b)或缺子叶(图1:c);图1:d为金钟藤的子叶;图1:e和图1:f为完好金钟藤种子

表1 金钟藤种子的基本参数

Table 1 Basic parameter of *Merremia boissiana* seeds

测定项目 Measurement item	样品数 No. of samples	测定结果 (平均值±标准差) Results (Mean±SD)
种子千粒重(g) 1 000-seed weight	3×1 000	17.25±2.93
种子含水量(%) Seed water content	3×100	9.70±0.16
种子长度 Length of seed(mm)	20	5.00±0.32
种子宽度 Width of seed(mm)	20	3.31±0.37
种子厚度(mm) Thickness of seed	20	2.36±0.33

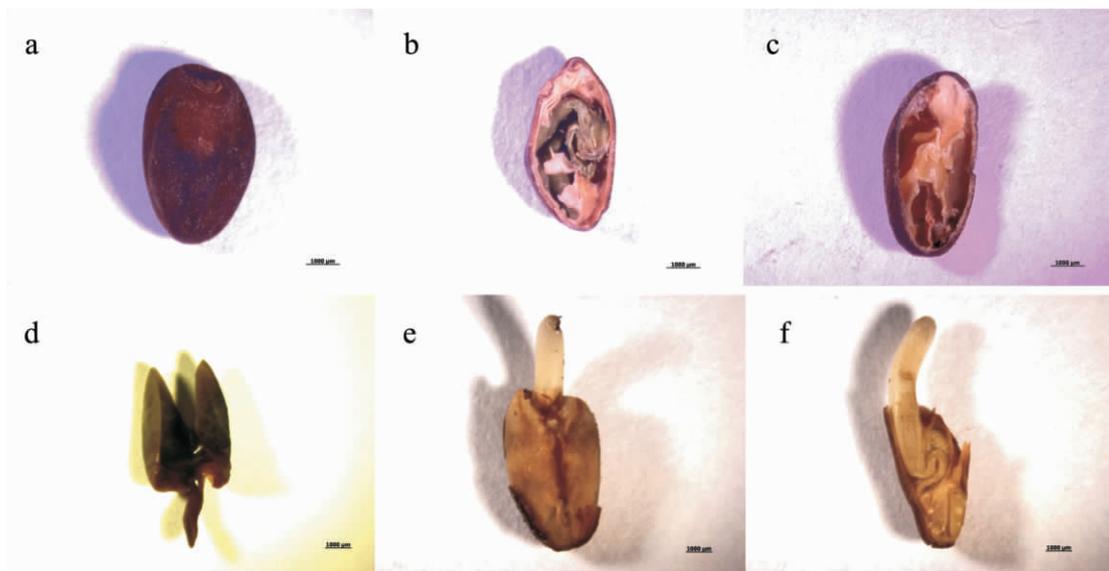


图1 金钟藤种子形态及解剖结构

Fig. 1 Morphology and anatomical structure of *M. boissiana* seeds

a. 金钟藤成熟的种子形态;b. 成熟种子纵切面;c. 空瘪种子纵切面;d. 失去活力的子叶;e. 萌发的种子;f. 萌发的种子纵切面。

a. The morphology of matured seed of *Merremia boissiana*; b. Vertical-section of matured seed; c. Vertical-section of empty seed; d. Lost viability of cotyledon; e. Germinating seed; f. Vertical-section of germinating seed.

的萌发,胚根先突破种皮吸收水分和养分。

2.2 种子是否休眠的测定

用TTC法检测100粒金钟藤种子活力的结果为空瘪粒30%,饱满种子70%,有活力种子35%;而另100粒28℃下萌发试验的种子萌发率为6%,即金钟藤种子活力>萌发率。

2.3 种皮对种子透水性的影响

从图2看出,在前2h完整种子与破皮种子的吸水速率均直线上升,分别达到总吸水量的30%和

96%;2~6h吸水速率稍为减缓,但仍然大量吸水;6~104h吸水速率缓慢;78h时破皮种子吸水趋于停滞,即接近最高吸水率,最终测得吸水率为211%,而此时完整种子的吸水率为181%,仍未达最高吸水率;在112h时完整种子吸水才接近最高吸水率,较破皮种子接近最高吸水率迟38h。

2.4 种子浸提液的生物测定

从图3和图4看出,金钟藤种子甲醇粗提液对白菜种子萌发率、根长和芽长均有较强的抑制作用,

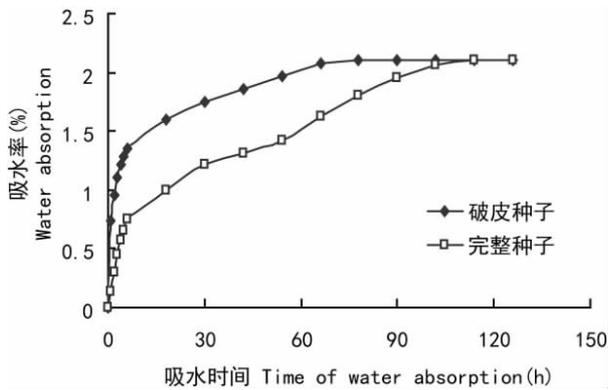


图 2 金钟藤种子吸水率曲线

Fig. 2 The water absorption curve of *M. boissiana* seeds

在试验浓度范围内,抑制作用随粗提物质量浓度增大而增强。浸提液浓度为 12.5 mg/mL 时,白菜种子萌发率受轻微抑制,72 h 时萌发率为 97% ($P < 0.01$);但是白菜的根和芽的生长受到严重抑制,抑制率为 85.91% 和 65.38% ($P < 0.01$)。浸提液浓

度为 25 mg/mL 时,白菜种子萌发率、根长和芽长都受到严重抑制,此浓度下白菜种子萌发率仅为 12.5% (萌发 72 h 时) ($P < 0.01$),相对根长和相对芽长分别为 4.55% 和 7.69% ($P < 0.01$)。当浓度为 50 mg/mL 时,白菜种子不能萌发。

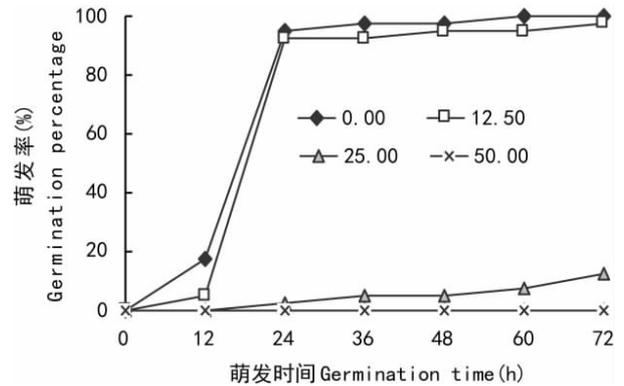


图 3 金钟藤种子浸提液对白菜种子萌发率的影响

Fig. 3 Effects of *M. boissiana* seeds extract on germination of Chinese cabbage seeds

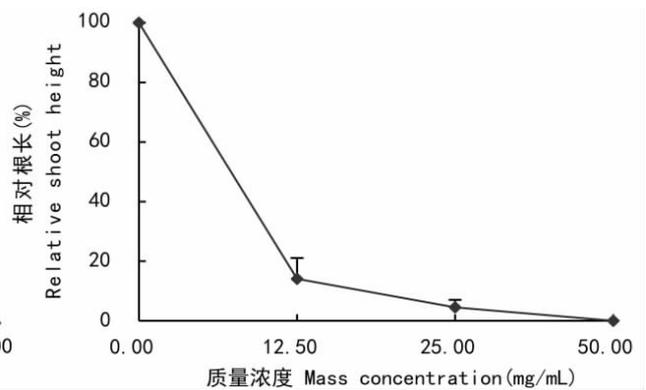
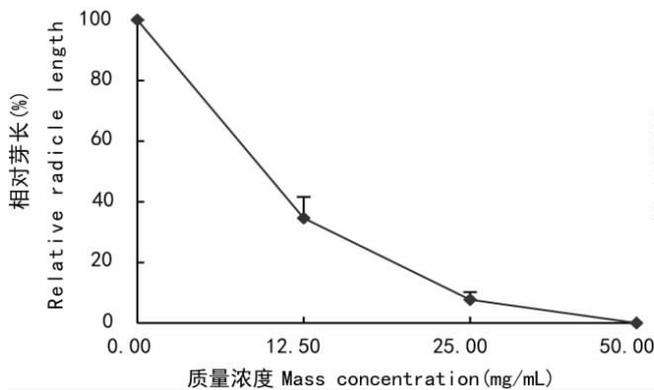


图 4 金钟藤种子浸提液对白菜种子芽长和根长的影响

Fig. 4 Effects of *M. boissiana* seeds extract on bud and root length of Chinese cabbage seeds

3 结论与讨论

种子质量的大小是影响种子传播距离的因素之一。种子质量小有助于植物通过多种途径远距离传播,如菊科和禾本科植物,这两类植物干粒重均很小,有利于其长距离传播,而金钟藤种子质量相对较大,且没有使种子容易远距离传播的结构,从种子质量角度来看不利于其远距离传播。吸水是种子萌发准备的首要环节,种子的萌发总是从含水量增加、种子吸胀吸水开始的。本研究表明,金钟藤种子吸水缓慢,完整的种子完成吸胀吸水需要约 112 h;破皮种子仅用 78 h 就完成了吸胀吸水过程。Yang 等

(2007)的研究结果认为其种皮组织结构紧密、封闭性好,限制了种子的吸胀吸水从而表现出种壳休眠的特性。

金钟藤种子的品质不高。对金钟藤种子的解剖结构和活力测定发现,许多金钟藤种子发育不完全,空瘪粒占生产种子的 30%,有活力种子数量仅占所有种子的 35%,说明在自然条件下只有少量金钟藤种子具有活性,是其萌发率低的主要原因。据我们调查统计发现,每个花序开花数约 40~65 朵,可是成熟种子数量却很少,此结果与李鸣光等(2009)的观察结果一致。Wu 等(2007)研究发现金钟藤花期一般为 1 d,且开花时间受温度和光照的影响较大,通常受阳光照射 30 min 后开放,1 h 内全开,到夜间

闭合。因此条件严格的开花和授粉环节可能也是金钟藤授粉率低、空瘪率高的主要原因。

发芽抑制物在植物种子中广泛存在。Bewley等(1994)在研究导致种子生理休眠的诸多原因中,认为抑制物是最重要的原因之一;陈发菊等(2007)发现濒危植物巴东木莲种子内含有较高浓度的在萌发抑制物。通过金钟藤种子活力测定表明,金钟藤种子活力>萌发率,说明金钟藤种子具有休眠特性。进一步试验发现金钟藤种子内存在抑制白菜种子萌发的物质,而且当浸提液浓度达到 25 mg/mL 时对白菜种子具有很强的抑制作用,可见金钟藤种子含有很高含量的内源抑制物质,这可能是影响金钟藤种子萌发的重要生理因素。至于其内源抑制物质是植物激素还是次生代谢物质则有待进一步研究鉴定。

造成种子萌发率低的原因很多,种子发育不完全、种子休眠以及种子萌发缺少必须的温度、水分等外界环境因素(Zhang 等,2011)。本研究表明,金钟藤种子空瘪粒数量大、种子活力低、种皮透水性差、种子中存在较高含量的内源抑制物质,均是导致金钟藤种子不易萌发和萌发率低的因素。金钟藤种子低萌发率表明其近年来突发性蔓延成灾主要不是由种子生成新个体造成的,导致其蔓延成灾的关键因素需要进一步深入研究。

参考文献:

- Bewley JD, Black M. 1994. Seeds: physiology of development and germination[M]. New York: Plenum Press: 199—257
- Chen FJ(陈发菊), Liang HW(梁宏伟), Wang X(王旭), et al. 2007. Seed dormancy and germination characteristics of *Manglietia patungensis*, an endangered plant endemic to China(濒危植物巴东木莲种子休眠与萌发特性的研究)[J]. *Biodiv Sci*(生物多样性), **15**(5): 492—499
- Hu L, Li MG, Li Z. 2010. Geographical and environmental gradients of lianas and vines in China[J]. *Glob Ecol Biogeogr*, **19**: 554—561
- International Seed Testing Association. 1985. International rules for seed testing[J]. *Seed Sci Tech*, **13**: 299—355
- Lian JY(练琺藩), Cao HL(曹洪麟), Wang ZG(王志高), et al. 2007. The community characteristics for invading damage of the forest killer *Merremia boissiana*(金钟藤入侵危害的群落学特征初探)[J]. *Guihaia*(广西植物), **27**(3): 482—486
- Li MG(李鸣光), Cheng XY(成秀媛), Liu B(刘斌), et al. 2006. Fast growing and high photosynthetic rate of *Merremia boissiana*(金钟藤的快速生长和强光合能力)[J]. *Acta Univ Sunyatseni: Sci Nat Edit*(中山大学学报·自然科学版), **45**(3): 70—72, 81
- Li MG, Liu HY, Li FL, et al. 2009. Seed, cutting and air-layering reproductive inefficiency of noxious woody vine *Merremia boissiana* and its implications for management strategy[J]. *Front Biol Chin*, **4**(3): 342—349
- Ni GY(倪广艳), Wang CW(王昌伟), Peng SL(彭少麟). 2005. Effects of different temperature on seed germination of *Merremia boissiana*(不同温度处理对金钟藤种子萌发的影响)[J]. *Ecol Environ*(生态环境), **14**(6): 898—900
- Sun DL(孙东磊), Shen JM(申建梅), Wan SQ(万树青), et al. 2006. Danger and utilization of *Merremia boissiana*(金钟藤的危害与利用)[J]. *Chin Wild Plant Res*(中国野生植物资源), **25**(1): 32—34
- Wang BS(王伯荪), Li MG(李鸣光), Liao WB(廖文波), et al. 2005. Geographical distribution of *Merremia boissiana*(金钟藤的地理分布)[J]. *Ecol Environ*(生态环境), **14**(4): 451—454
- Wang BS(王伯荪), Qiu HX(丘华兴), Liao WB(廖文波), et al. 2007. Revision and additional notes on *Merremia boissiana* and *M. boissiana* var. *fulvopilosa*(Convolvulaceae)(金钟藤分类考证及补充描述)[J]. *Guihaia*(广西植物), **27**(4): 527—536
- Wu LF(吴林芳), Liang YQ(梁永勤), Chen K(陈康), et al. 2007. Damage and prevention of *Merremia boissiana* in Hainan Province, China(金钟藤在海南的危害与防治)[J]. *Guangdong Fore Sci Tech*(广东林业科技), **23**(1): 83—86
- Zhang YC(张玉翠), Li YG(李勇刚), Wang ZH(王占红), et al. 2011. Study on dormancy of reason of *Polygonatum sibiricum* Red. seed(黄精种子休眠原因的研究)[J]. *Seed*(种子), **30**(4): 58—61