

环境因子对陕西羽叶报春种子萌发及成苗的影响

吴宪^{1,4}, 廖建雄^{2*}, 甘啟良³, 吴钢¹

(1. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085; 2. 中国科学院武汉植物园水生植物与流域生态重点实验室, 武汉 430074; 3. 竹溪县地方植物普查领导小组办公室, 湖北竹溪 442300; 4. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 陕西羽叶报春 (*Primula filchnerae*) 是百年绝迹、曾被植物界视为可能绝灭的二年生草本植物, 其种子萌发和成苗是其种群续存的前提, 也是其园林开发时繁育工作的理论依据。本研究发现, 陕西羽叶报春种子细小, 25℃、低光(2700 lx)和当年采集种子是其萌发的最适条件。然而, 该条件的成苗率仅 25% 左右, 成苗/萌发比也比其它处理低。29℃高温下陕西羽叶报春种子存在一定程度的休眠, 赤霉素(GA₃)处理后萌发率虽显著增加, 始萌发时间缩短, 但高浓度(200 mg/L)GA₃处理使种子成苗率和成苗/萌发比显著降低。经过 2 个多月的高温高湿(29℃下萌发)处理后, 将未萌发的种子重新在最适温度 25℃下萌发, 发现它们的萌发率不受影响, 但始萌发时间显著缩短。以上结果说明陕西羽叶报春种子成熟后, 及时采收并适当让其高温休眠一段时间, 萌发时先用低浓度(20 mg/L)GA₃处理, 不但可以显著提高萌发率, 而且可提高成苗率和成苗/萌发比。

关键词: 陕西羽叶报春; 种子萌发; 成苗率; 极危植物; 休眠

中图分类号: Q945.34

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2011)02-0212-06

Influence of Environmental Factors on Seed Germination and Seedling Formation of *Primula filchnerae*

WU Xian^{1,4}, LIAO Jian-Xiong^{2*}, GAN Qi-Liang³, WU Gang¹

(1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Key Laboratory of Aquatic Botany and Watershed Ecology, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; 3. Zhuxi Flora Survey Office, Zhuxi, Hubei 442300, China; 4. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: *Primula filchnerae*, which disappeared more than one hundred years ago and was assumed extinct, was rediscovered in 2006 in Zhuxi and Zhushan County, Hubei Province, China. Studies on seed germination and seedling formation of *P. filchnerae* will contribute to the protection of the species and its landscape development. Seeds of *P. filchnerae* were small and the thousand seed weight was 0.90 ± 0.12 g. We determined 25℃, 2700 lx and fresh seeds as the optimum condition for seed germination. The seedling rate, however, was only about 25% and the seedling germination ratio was significantly lower than other conditions. Seed dormancy occurred at 29℃; however 200 mg/L gibberellins (GA₃) treatment significantly increased the germination rate, decreased the time to start germination, seedling rate and seedling germination ratio. After more than two months of high temperature and high humidity (29℃ germination condition) treatment, the germination rate of all un-germinated seeds remained unchanged but the time to start germination decreased significantly when they were transferred to 25℃. These results showed that dormancy at high temperature followed by soaking with 20 mg/L GA₃ before seed germination, significantly increased the germination rate, seedling rate and seedling germination ratio of *P. filchnerae*.

Key words: *Primula filchnerae*; Seed germination; Seedling rate; Critically endangered plant; Dormancy

收稿日期: 2010-05-04, 修回日期: 2010-05-26。

基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2009CDB030)。

作者简介: 吴宪(1979-), 男, 博士研究生, 辽宁沈阳人, 主要从事区域生态学研究。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: liaojx@wbpcas.cn)。

陕西羽叶报春(*Primula filchnerae* Knuth)为报春花科报春花属二年生草本植物,是世界现存极危植物之一。1904年,德国植物学家 Filchner 在我国陕西南部发现该植物,并将其模式标本存放在柏林植物标本馆,但二战时毁于战火。此后 100 多年,由于一直无人见到该植物,《中国植物志》认为该物种可能已灭绝^[1]。2006 年,我们先后在湖北竹溪、竹山野外考察时意外发现该植物,并经中国科学院植物研究所李振宇研究员和中国科学院华南植物园胡启明研究员鉴定得以确认。

陕西羽叶报春通常在 8 月中下旬开始萌发,然后进入营养生长期。越冬之后,于来年 2 月形成花蕾并开始持续近 4 个月的花期,种子于 5 月中旬成熟脱落,6 月份植株全部死亡。陕西羽叶报春的花呈粉红色,花后果呈灯笼状,非常美丽,可以说是一种极为珍贵的花卉资源。陕西羽叶报春虽然重新与世人见面,但其分布地域极为狭窄。目前,在其模式标本发现地仍没有见到其生长的踪迹,在湖北竹溪、竹山也仅见到两个分布点,且居群很小。因此,开展陕西羽叶报春的种子萌发和成苗研究,以期找到最适合的萌发和成苗条件,不但为该植物的迁地保护提供依据,而且对开发新的报春花种质资源,美化城乡冬春环境具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 野外分布地生境概况

目前,陕西羽叶报春(*Primula filchnerae*)仅发现于湖北竹溪和竹山。由于山体塌方及潘口电站的动工兴建等,竹溪分布点已遭严重破坏。竹山分布点在废弃的旱地边缘和路边,光线较充足,海拔 210 m,坡度 35°,坡向北偏西 30°。土壤为黄壤,较为瘠薄, pH 7.5, 碱解氮 138.4 mg/kg, 速效磷 8.9 mg/kg, 速效钾 67.7 mg/kg, 有机质含量 2.32%。竹山年平均降水量 821.3 mm, 主要集中在陕西羽叶报春种子成熟脱落至开始萌发的 6-9 月。年平均温度为 15.5℃, 其中 6、7、8、9 月的平均温度分别为 24、27.5、26、21℃。

1.2 种子获得

2006 年,将竹山采到的几粒陕西羽叶报春种子进行繁育,获得成功。2007 再次繁育,种源增加。2008 年 5 月,将采自栽培植株的一部分种子置于 4℃低温条件贮藏备用。2009 年 5 月,重新采收栽

培植株产生的种子,室温条件下存放 1 个月后进行萌发和成苗实验。

1.3 方法

所有的实验均在恒温光照培养箱(13 h/d 光照)中进行。选取饱满的陕西羽叶报春种子,用蒸馏水浸泡 24 h 后放入铺有定性滤纸的培养皿,每天滴加蒸馏水以维持适宜的湿度。每个处理 3 个重复,每重复 100 粒种子。

每日统计种子萌发和成苗情况,种子萌发以胚根突出种皮的长度超过种子直径作为标准,成苗以同时具有根和至少 2 片真叶为标准,连续 5 d 内没有种子萌发或幼苗出现时分别视为萌发结束和成苗结束。其中萌发率为萌发结束后萌发种子数占总种子数的百分比;始萌发时间为从播种到第一粒种子萌发所需的天数;萌发持续时间为开始萌发到萌发结束所需天数;成苗率为成苗结束后苗数占总种子数的百分比;成苗/萌发比为成苗结束后苗数占萌发种子数的百分比。

1.3.1 不同温度和光照对陕西羽叶报春种子萌发和成苗的影响测定

取当年采集种子及冷藏一年的种子,分别置于不同温度(21℃、25℃、29℃)和不同光照(0、2700、5400 lx)条件下进行萌发和成苗实验。其中持续黑暗处理(0 lx)用 2 层铝箔纸包裹培养皿,每日记录种子萌发时,将萌发种子转到另一培养皿中并置于高光(5400 lx)条件下以继续统计成苗情况;其它温度和光照处理通过调控光照培养箱获得。实验期间,为减少可能的培养箱效应,培养皿在培养箱内随机放置,并每周轮换一次培养箱。

1.3.2 萌发结束后未萌发种子活力测定

以上萌发实验结束后,29℃萌发条件下大部分种子没有萌发,为测试这些未萌发种子是否还有活力,将当年采集种子和冷藏一年的种子分别合并,每培养皿数取 100 粒,3 个重复,然后置于 25℃、5400 lx (13 h/d) 恒温光照培养箱中继续进行萌发实验。

1.3.3 赤霉素(GA₃)对陕西羽叶报春种子萌发和成苗的影响测定

为进一步了解 29℃高温不利于陕西羽叶报春种子萌发的原因,取当年采集的种子,分别浸入 20、200 mg/L 的 GA₃ 溶液中,24 h 后用蒸馏水冲洗 3 遍,然后置于 29℃、5400 lx (13 h/d) 恒温光照培养箱中进行萌发和成苗实验。

1.4 统计分析

所有数据处理与分析均利用 SPSS 15.0 软件 (SPSS Inc., Chicago, USA) 完成。萌发温度和光照对陕西羽叶报春当年采集种子和冷藏一年的种子萌发及成苗的影响用三因素方差分析 (three-way ANOVA)。当主效应 (种子、温度和光照) 差异显著时, 随后的多重比较用 Duncan 法进行检验。当两两交互作用显著时, 它们之间的进一步比较采用双因素方差分析 (two-way ANOVA)。29℃条件下未萌发种子的活力测定及 GA₃ 对陕西羽叶报春当年采集种子萌发和成苗的影响用单因素方差分析 (one-way ANOVA)。

2 结果分析

陕西羽叶报春的种子圆珠形, 直径约 1.5 mm, 未成熟前绿色, 成熟时黄褐色, 有皱纹。成熟干燥的种子千粒重 0.90 ± 0.12 g, 自然脱落甚至采收时易被风吹走, 而且采后播种未覆土易出现蚂蚁等昆虫搬食现象。

温度和光照对陕西羽叶报春种子萌发率、始萌发时间和萌发持续时间均有显著影响 (表 1, 图 1)。不同萌发温度下, 恒温 25℃时萌发率最高, 21℃次之, 29℃时最低。持续黑暗 (0 lx) 和高光 (5400 lx) 都不利于陕西羽叶报春种子萌发, 它们的萌发率均显著低于低光 (2700 lx) 条件下的萌发率。与 21℃和 25℃萌发温度相比, 29℃不但显著延长了陕西羽叶报春种子的始萌发时间, 而且其始萌发时间随萌发光强的增加而缩短 (图 1)。随着萌发温度的增加, 陕西羽叶报春种子的萌发持续时间显著增加, 萌发光强对萌发持续时间的影响也不一样 (图 1)。21℃时, 不同光强间萌发持续时间差异不显著, 25℃时, 萌发持续时间随光强的增加而缩短, 29℃时, 萌发持续时间却随光强的增加而延长。

不同种子之间, 当年采集种子萌发率高, 始萌发时间短, 但是其萌发持续时间与冷藏一年的种子相比没有显著差异 (表 1)。

经过 2 个多月的萌发, 29℃萌发温度下仍有大部分种子没有萌发。将这些未萌发种子置于 25℃、5400 lx (13 h/d) 恒温光照培养箱中继续进行萌发实验后发现, 这些种子起始萌发时间缩短, 但是萌发率与对照种子相比无显著差异 (图 2)。不同种子之

表 1 温度和光照对陕西羽叶报春当年采集种子
和冷藏一年的种子萌发影响的三因素方差分析
Table 1 Effects of cold storage, temperature and light
on seed germination of *Primula filchnerae*

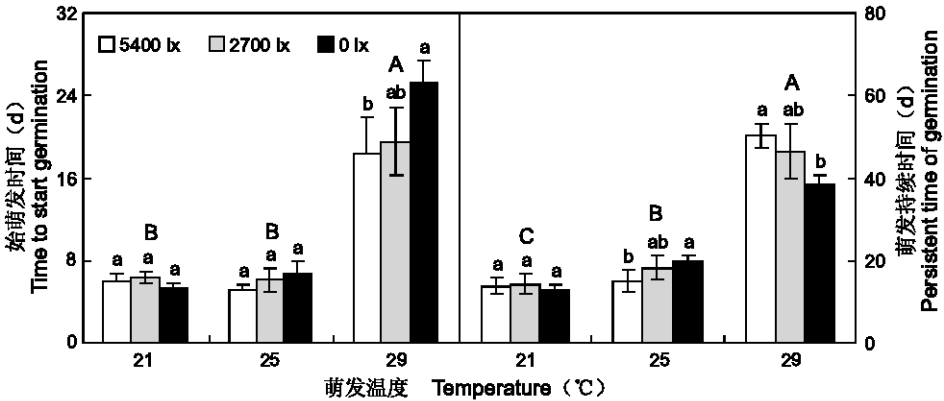
因素 Factor	萌发率 (%) Germination rate	始萌发时间 (d) Time to start germination	萌发持续时间 (d) Persistent time of germination
种子 Seeds			
当年采集种子 Fresh seeds	74.89 ± 14.66 ^a	9.35 ± 6.69 ^b	25.22 ± 15.13 ^a
冷藏种子 Cold stored seeds	63.67 ± 11.18 ^b	11.78 ± 6.65 ^a	28.11 ± 16.12 ^a
<i>p</i> 值 <i>p</i> value	***	**	ns
温度 Temperature			
21℃	74.56 ± 10.14 ^b	6.00 ± 0.71 ^b	13.89 ± 2.15 ^o
25℃	82.11 ± 11.81 ^a	6.11 ± 1.69 ^b	18.33 ± 3.04 ^b
29℃	56.78 ± 7.29 ^o	19.50 ± 3.30 ^a	46.33 ± 6.54 ^a
<i>p</i> 值 <i>p</i> value	***	***	***
光照 Light			
5400 lx	67.67 ± 20.62 ^b	13.38 ± 7.44 ^a	38.56 ± 17.86 ^a
2700 lx	78.50 ± 8.26 ^a	6.33 ± 0.52 ^o	14.33 ± 2.50 ^o
0 lx	70.08 ± 10.52 ^b	10.00 ± 7.03 ^b	22.83 ± 9.93 ^b
<i>p</i> 值 <i>p</i> value	**	*	*
交互作用 <i>p</i> 值 <i>p</i> value of Interactions			
Seed × Temperature	ns	ns	ns
Seed × Light	ns	ns	ns
Temperature × Light	ns	*	***

注: 数据为平均值 ± 标准误; ***, **, * 分别表示 *p* 值小于 0.001, 0.01, 0.05, ns 表示 *p* 值大于 0.05; 在同一列同一因素中不同字母表示差异显著 (*p* < 0.05)。
Notes: Values are given as means ± SE; ***, *p* < 0.001; **, *p* < 0.01; *, *p* < 0.05; ns, *p* ≥ 0.05; Different letters in each column and for each factor indicate significant differences (*p* < 0.05).

间, 这些未萌发的当年采集种子和冷藏一年的种子萌发率和始萌发时间均没有差异。

三因素方差分析表明, 不同种子 (当年种子和冷藏种子) 和光强 (2700 lx 和 5400 lx) 对陕西羽叶报春种子成苗率及成苗/萌发比没有显著影响 (数据未列出)。温度对成苗率也没有显著影响, 但是显著影响了成苗/萌发比 (图 3)。29℃下成苗/萌发比最高, 其次为 21℃, 25℃下成苗/萌发比最低。

29℃下, GA₃ 处理对陕西羽叶报春当年采集种子的萌发率、始萌发时间、成苗率及成苗/萌发比均有显著的影响 (图 4)。20 mg/L 和 200 mg/L GA₃ 处理显著提高了萌发率, 缩短了始萌发时间。但是, 对成苗率及成苗/萌发比的影响, 仅 200 mg/L GA₃ 处理影响显著, 即显著降低了成苗率和成苗/萌发比。

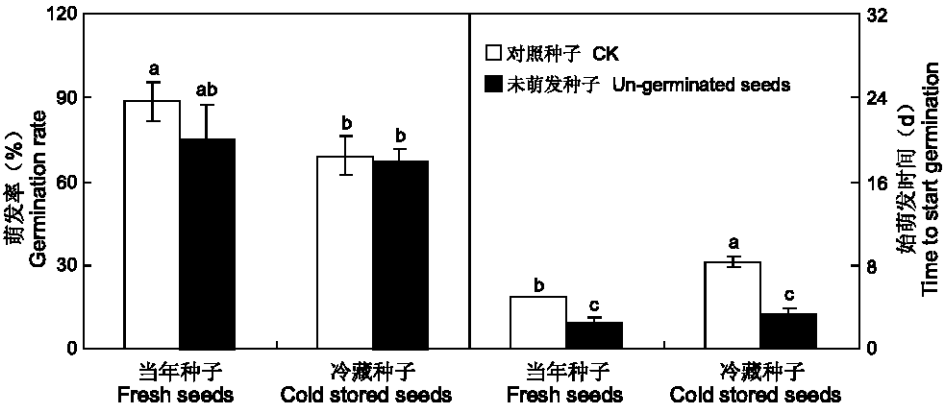


数据为平均值 $\pm$ 标准误, 在同一小图中不同大写字母表示温度处理间差异显著 ($p < 0.05$), 不同小写字母表示同一温度处理不同光处理间差异显著 ($p < 0.05$)。

Values are means $\pm$ SE. Different capital letters above bars in each graph indicate significant differences between temperature treatments ($p < 0.05$) and different lowercase letters indicate significant differences between light treatments for each temperature treatment ($p < 0.05$).

图1 温度和光照对陕西羽叶报春种子始萌发时间和萌发持续时间的影响

Fig. 1 Effects of temperature and light on time to start germination and persistent time of germination of *Primula filchnerae*

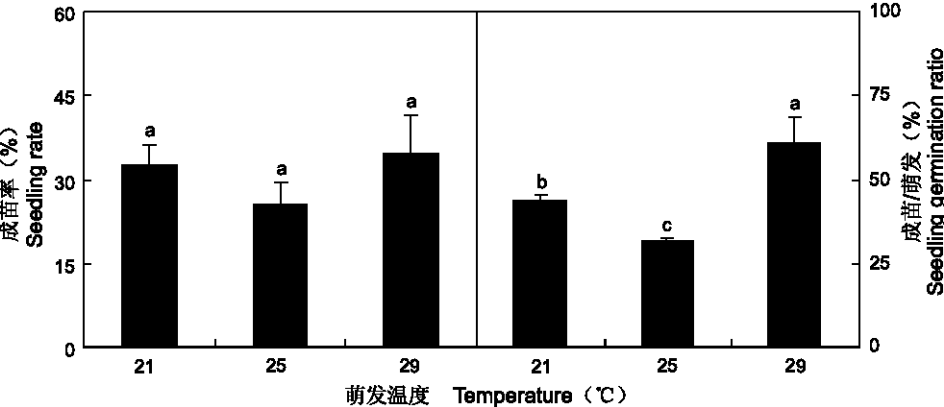


数据为平均值 $\pm$ 标准误, 在同一小图中不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

Values are means $\pm$ SE. Different letters above bars in each graph indicate significant differences ($p < 0.05$).

图2 29°C下未萌发种子在25°C下的萌发率和始萌发时间

Fig. 2 Germination rate and time to start germination of un-germinated seeds at 29°C condition after transfer to 25°C

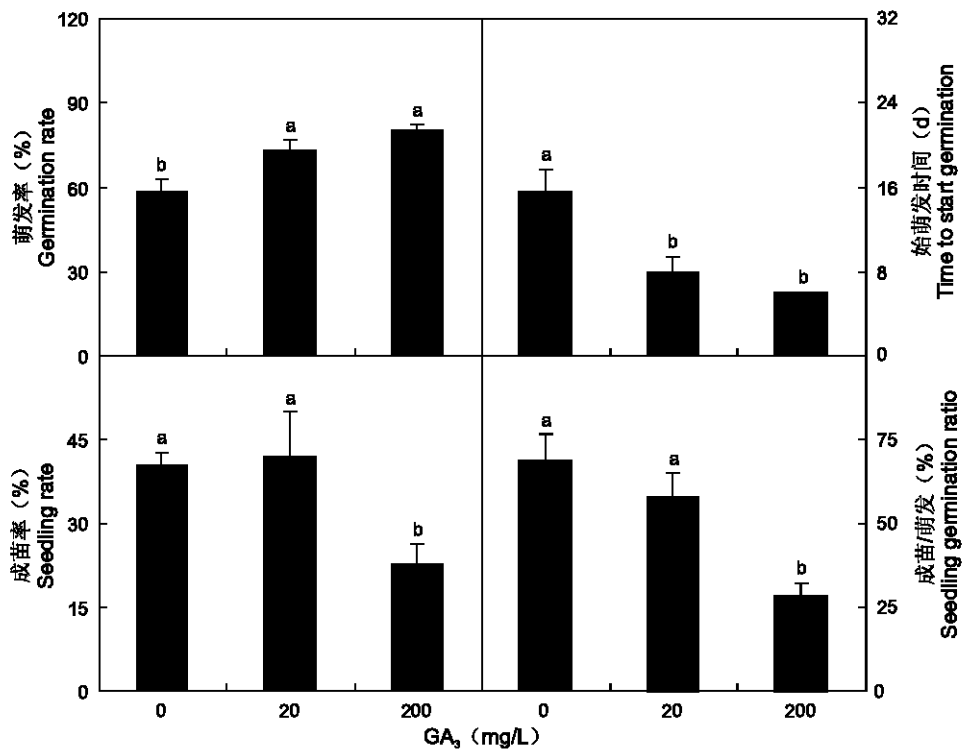


数据为平均值 $\pm$ 标准误, 在同一小图中不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

Values are means $\pm$ SE. Different letters above bars in each graph indicate significant differences ($p < 0.05$).

图3 温度对陕西羽叶报春种子成苗率和成苗/萌发比的影响

Fig. 3 Effects of temperature on seedling rate and seedling germination ratio of *Primula filchnerae*



数据为平均值 ± 标准误, 在同一小图中不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。
Values are means ± SE. Different letters above bars in each graph indicate significant differences ($p < 0.05$).

图 4 赤霉素对陕西羽叶报春种子萌发和成苗的影响

Fig. 4 Effects of GA₃ on seed germination and seedling formation of *Primula filchnerae*

3 讨论

陕西羽叶报春是二年生草本植物, 新生一代种群的大小取决于其种子萌发率及成苗率。本研究结果表明, 温度、光照、冷藏、GA₃ 等均能影响陕西羽叶报春种子的萌发和成苗, 其中温度是影响种子萌发的关键因素。根据 ISTA(国际种子检验协会)的《国际种子检验规程》中介绍, 报春花属植物种子的适宜萌发温度为 15 ~ 20℃, 最高极限温度为 25℃^[2]。本研究发现, 陕西羽叶报春种子萌发的适宜温度高于 21℃, 在 29℃ 条件下不但萌发率显著下降, 而且显著增加了始萌发时间和萌发持续时间。显然, 29℃ 高温下陕西羽叶报春种子可能存在一定程度的休眠, 因为通过 GA₃ 处理后其萌发率显著增加、始萌发时间显著减少, 而 GA₃ 处理被认为能解除种子的休眠^[3-5]。然而, 不管是在 25℃ 下萌发, 还是高浓度 (200 mg/L) GA₃ 处理后在 29℃ 下萌发, 陕西羽叶报春种子的成苗率都很低, 成苗/萌发

比也显著低于在 29℃ (无 GA₃ 处理) 下的成苗/萌发比。我们认为, 当年采集种子可能未完全完成生理成熟过程, 高温 (29℃) 且较长的始萌发时间 (大于 18 d) 有利于种子后熟; 而高浓度 GA₃ 处理虽然通过诱导多种水解酶的合成为种子萌发提供了营养^[6], 但也加速了种子内营养的消耗进而影响了成苗率。张骞也发现, 经高浓度 GA₃ 处理过的鹅黄灯台报春 (*P. cockburniana*) 种子长成幼苗后其长势远不及未经 GA₃ 处理过的种子所长成的幼苗^[7]。大部分报春花属植物种子细小, 种子寿命短, 最好采后即播或在干燥低温条件下贮藏^[7,8]。陕西羽叶报春成熟种子的千粒重大于一部分的报春花属植物的种子^[7-9], 但是陕西羽叶报春种子仍很轻, 在采收时需尽量选择无风的天气、播种时需用细土稍稍覆盖, 以防止种子被风吹走或被蚂蚁等搬食。4℃ 冷藏一年的陕西羽叶报春种子萌发率虽显著低于当年采集种子, 但是萌发率超过 60%, 而且萌发持续时间、成苗率、成苗/萌发比都没有受到显著影响。野外调查表明, 陕西羽叶报春种子成熟脱落至开始

萌发正处于高温多雨的盛夏。因此,我们将 29℃ 下萌发两个多月后仍未萌发(休眠)的冷藏一年种子和当年采集种子移至 25℃ 下,发现这些种子萌发率没有降低,相反能在 2~4 d 内开始萌发,显著短于对照种子的始萌发时间,而且减少了冷藏一年的种子与当年采集种子的萌发差别。以上结果不但说明陕西羽叶报春种子可在 4℃ 低温条件下进行至少一年的贮藏,也说明两个多月的高温多雨期对陕西羽叶报春种子活力影响很小。

很多报道表明,报春花属植物的种子为需光萌发种子^[8-11],种子萌发须接受散射光以激活体内酶系统^[12-14],但是光太强或直射光更加不利于种子的萌发^[7]。本研究也发现,陕西羽叶报春种子萌发也对光敏感。持续黑暗(0 lx)和高光(5400 lx)处理均显著降低了陕西羽叶报春种子的萌发率,但是,它们对始萌发时间和萌发持续时间的影响依赖于萌发温度。因此,在播种育苗时,应尽量避免阳光灼射的地块,同时覆土不宜过厚以保证种子能接受一定的光线。有条件的话,可以通过调控温度缩短始萌发时间和萌发持续时间。

综上所述,陕西羽叶报春种子细小,25℃、低光(2700 lx)和当年采集种子是其萌发的最适条件。然而,该条件的成苗率仅 25% 左右,成苗/萌发比也比其它处理低。29℃ 高温下陕西羽叶报春种子存在一定程度的休眠,GA₃ 处理后萌发率虽显著增加,始萌发时间缩短,但高浓度(200 mg/L) GA₃ 处理使种子成苗率和成苗/萌发比显著降低。经过 2 个多月的高温高湿(29℃ 下萌发)处理后,将未萌发的种子重新在最适温度 25℃ 下萌发,发现它们的萌发率不受影响,但始萌发时间显著缩短。以上结果说明陕西羽叶报春种子成熟后,及时采收并适当让其高温休眠一段时间,萌发时先用低浓度(20 mg/L) GA₃ 处理,不但可以显著提高萌发率,而且可提高成苗率和成苗/萌发比。相反,风吹、蚂蚁等的搬食及野外环境的多变,不但造成种子流失,而且将使陕西羽叶报春种子的成苗率远低于本实验已很低的成苗率。因此,我们认为陕西羽叶报春野外分布极其稀少可能与其种子易流失及低成苗率有关。但是,本研究是用栽培植物种子进行的实验,其萌发和成苗特性可能与直接采自野外自然种群种子特性

不一样,也就是说人工栽培是否会改变其种子萌发和成苗特性,将是陕西羽叶报春保护及人工培育需要考虑的地方。

参考文献:

- [1] 陈封怀,胡启明. 中国植物志:第 59 卷,第 2 分册[M]. 北京: 科学出版社,1990: 51-53.
- [2] 国际种子检验协会(ISTA). 国际种子检验规程[M]. 北京: 中国农业出版社,1999.
- [3] 杨利平,宋满珍,张晶. 光照和温度对百合属 6 种植物种子萌发的影响[J]. 植物资源与环境学报,2000, 9(4): 14-18.
- [4] Oliva S R, Leidi E O, Valdés B. Germination responses of *Erica andevalensis* to different chemical and physical treatments[J]. *Ecol Res*, 2009, 24: 655-661.
- [5] Wei X Z, Liao J X, Jiang M X. Effect of pericarp, storage conditions, seed weight, substrate moisture content, light, GA₃ and KNO₃ on germination of *Euptelea pleiospermum*[J]. *Seed Sci Technol*, 2010, 38: 1-13.
- [6] 何雪晖. 赤霉素在促进禾谷类种子水解酶合成和分泌中的作用机理[J]. 植物生理学通讯, 1981, 6: 12-17.
- [7] 张骞. 四川省报春花属植物资源调查及两种报春的栽培繁殖研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2008.
- [8] 张晓曼,孙晓光,杜绍华,卜志国,杨建民. 四季报春种子萌芽生物学特性研究[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(5): 85-87.
- [9] 张晓曼,孙晓光,张启翔. 小报春种子萌芽生物学特性研究[J]. 河北农业大学学报, 2005, 28(4): 58-60, 67.
- [10] 吴之坤,张长芹,程治英. 不同培养基质及条件对三种报春花种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 种子, 2005, 24(4): 1-5.
- [11] 王国灿,朱开元. 偏花报春种子萌发特性研究[J]. 现代农业科技, 2008, 21: 7-9.
- [12] 陈俊愉,王四清. 花卉育种中的几个关键环节[J]. 园艺学报, 1995, 31(4): 372-376.
- [13] 徐振华. ABT 生根粉提高报春花种子活力的研究[J]. 河北林果研究, 1999, 14(3): 234-237.
- [14] 王山昆,刘慧民. 一、二年生草花品种选择和育苗技术[J]. 北方园艺, 2002, 5: 40-41.