

水分胁迫和母树年龄对山东半岛黑松沿海防护林种子萌发的影响

毛培利^{1,2}, 于晓³, 曹帮华¹, 马向明⁴, 瞿庆祥³, 董建³, 赵舒悦³, 李修宇³

(1.山东农业大学生态与环境重点实验室, 山东泰安 271018;

2.中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室(烟台海岸带研究所), 山东烟台 264003;

3.烟台大学, 山东烟台 264005; 4.山东省东营市科技局, 山东东营 257091)

摘 要:以山东半岛黑松沿海防护林种子为实验材料,研究了水分胁迫和母树年龄对黑松种子萌发的影响。结果表明,随水分胁迫程度增加,种子的发芽率、发芽指数和活力指数呈波浪形降低,而平均发芽时间增加,种子萌发受到显著抑制。随母树年龄增加,种子的发芽率、发芽指数和活力指数呈波浪形增加,种子质量明显提高。对于发芽率,水分胁迫和母树年龄有着显著交互作用。母树年龄的增加使得发芽率在水分胁迫下降低变缓,提高了种子耐水分胁迫能力。因此,母树特性与生态因子的共同作用是黑松海防林天然更新的重要决定因素。

关键词: 水分胁迫; 母树年龄; 黑松; 沿海防护林; 种子萌发

DOI 编码: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2016.07.010

中图分类号: S 791.256 文献标志码: A 文章编号: 1001-4705(2016)07-0010-05

Effects of Water Stress and Mother Tree Age on Seed Germination of the Coastal *Pinus thunbergii* Protection Forest in Northern Shandong Peninsula

MAO Peili^{1,2}, YU Xiao³, CAO Banghua¹, MA Xiangming⁴, QU Qingxiang³,
DONG Jian³, ZHAO Shuyue³, LI Xiuyu³

(1.Key Laboratory of Agricultural Ecology and Environment, Shandong Agricultural University, Taian Shandong 271018, China;

2.Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai Shandong 264003, China;

3.Yantai University, Yantai Shandong 264005, China;

4.Bureau of Science and Technology, Dongying Shandong 257091, China)

Abstract: In this paper, *Pinus thunbergii* seeds of different mother tree age were collected from the coast protection forest in northern Shandong Peninsula. The effects of water stress and mother tree age on seed germination were tested. As water stress aggravated, germination rate (GR), germination index (GI) and vigor index (VI) showed an undulating decrease, whereas mean germination time increased, which suggested seed germination was inhibited by water stress. With increasing mother tree age, GR, GI and VI increased undulatingly, which indicated seed quality enhanced significantly. There was significant interaction on Gi between water stress and mother tree age. The decrease velocity of GR deriving from water stress became slowly due to the increase of mother tree age, which suggested mother tree age enhanced seed water stress resistance. The combination of mother tree age and ecological factors was a vital determinant on the natural regeneration of the coastal *P. thunbergii* protection forest.

Key words: water stress; mother tree age; *pinus thunbergii*; coast protection forest; seed germination

收稿日期: 2015-12-11

基金项目: 山东省重点研发计划(编号: 2015 GNC 111026); 烟台市科技支撑项目(编号: 2012017)。

作者简介: 毛培利(1979—), 男, 讲师, 博士, 主要从事植物生理生态学

研究; E-mail: maopl1979@163.com。

通讯作者: 曹帮华, E-mail: caobanghua@126.com。

黑松沿海防护林是山东省最重要的沿海防护林体系^[1]。大部分黑松海防林是 20 世纪 50—60 年代营造, 已有林分进入成熟、过熟阶段, 防护功能受到严重影响, 急需进行林分改造更新。天然更新是黑松海防

林更新的重要方式^[2-4]。但由于部分基干防护林带处于海岸风口地段,海风、海雾、干旱、土壤贫瘠等恶劣的生境条件造成黑松海防林更新极为困难^[4]。种子能否萌发、产生正常苗是生态系统更新的关键阶段^[5],受外界生态条件诸如水分、温度、光照、土壤盐分、埋深和生物等条件的综合影响,是各种生态因子互作的产物^[6]。但生态因子如何影响黑松海防林种子萌发目前研究不够系统。韩广轩等研究了土壤盐分对黑松种子萌发的影响,认为土壤含盐量有着显著抑制作用,但其它生态因子研究较少^[7]。除了环境因素,生物因素母树年龄对种子萌发也有显著影响^[8-9],这在黑松海防林中也有相似发现^[10]。但对于生态因子和母树年龄如何共同影响种子萌发研究较少。本实验通过研究水分胁迫和母树年龄对黑松种子萌发的影响及二者的交互作用,探讨黑松海防林的天然更新机制,为其管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

研究区域位于山东省烟台沿海防护林自然保护区。所处区域属暖温带东亚季风型大陆性气候,年平均温度11.5℃,降水量760mm,无霜期200d左右,年平均绝对湿度为71%,年平均日照时数为2642.7h,日照率为60%。土壤为滨海砂地土壤,机械组成以砂为主,有机质含量很低,一般不超过1%。黑松林栽植于20世纪50年代,大多为纯林。林下植被比较简单,灌木主要由紫穗槐(*Amorpha fruticosa*)、单叶蔓荆(*Vitex trifolia* Linn. var. *simplicifolia* Cham.)、胡枝子(*Lespedeza bicolor*)、野蔷薇(*Rosa multiflora*)等组成;草本植物主要为羊胡子草(*Carex rigescens*)、细苞虫实(*Corispermum stenolepis*)、刺沙蓬(*Salsola ruthenica* Iljin var. *ruthenica*)、白茅(*Imperata cylindrica* var. *major*)、马齿苋(*Portulaca oleracea*)、肾叶打碗花(*Calystegia soldanella*)、毛鸭嘴草(*Ischaemum antephoroides*)、茵陈蒿(*Artemisia capillaris* Thunb.)、鸭跖草(*Commelina communis*)、西伯利亚滨藜(*Atriplex sibirica*)、龙葵(*Solanum nigrum*)等。

1.2 研究方法

1.2.1 种子采集

2013年9月,在中国科学院牟平海岸带环境综合试验站附近黑松海防林内随机采集了60株生境相近的黑松母树的球果(表1),通过 $D = 21.37(1 - e^{-0.1A})^{2.6389}$ (D 为胸径, A 为年龄)计算年龄^[1],根据母树年龄分成4个年龄梯度(表1)。通过自然风干待球果开裂后按照母树龄级分别收集,挑选饱满的种子

用于实验。

表1 黑松球果和种子采集的母树大小特征

	胸径(cm)	树高(m)	年龄(a)
A I	2.87~11.15	2.5~6.5	6~15
A II	12.10~16.88	5.5~8.5	16~25
A III	17.51~19.43	7.0~9.0	26~35
A IV	19.75~24.52	8.0~9.5	>36

1.2.2 种子萌发实验

用不同浓度的PEG 6000溶液模拟干旱胁迫,分别设置0,50,100,150,200g/kg,其溶液渗透势分别为0,-0.05,-0.15,-0.30,-0.49MPa^[11]。将4个母树年龄梯度的种子用0.1%高锰酸钾液浸泡30min消毒。消毒后的种子用蒸馏水洗涤3次后,将种子摆入直径9cm的培养皿中。种子摆入前,培养皿内铺2层滤纸。每个培养皿摆无破损的种子20粒,5次重复。种子摆完后,用石蜡封口膜密封。培养皿置于恒温培养箱中(25±0.2)℃,培养21d,萌发过程中每24h观测1次。当胚根突破种皮时,即认为种子萌发,记录种子萌发起始时间和每日萌发种子数量。培养21d后,将培养皿内萌发种子放于烘箱内(75℃,48h)进行烘干,用万分之一天平称取干重。然后计算发芽率(GR)、平均发芽时间(MGT)、发芽指数(GI)和活力指数(VI)。

$GR = G_1 / N \times 100\%$,式中: G_1 为萌发数; N 为供试种子总数。

$MGT = (\sum D \times n) / \sum n$,式中: n 为相应各日正常发芽粒数, D 为从种子置床起的天数。

$GI = \sum (G_t / D_t)$,式中: G_t 为各日净发芽数; D_t 为相应发芽日。

$VI = S \times GI$,式中: S 为幼苗干重; GI 为发芽指数。

1.3 统计分析

所有数据采用SPSS 13.0软件进行分析。采用双因子方差分析(Two-Way ANOVA)比较不同数据组间的差异;如果差异显著,再用最小显著差异法(LSD)进行多重比较。分析时显著性差异检验水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 发芽率

随PEG 6000浓度的增加,发芽率呈波浪形降低;不同年龄之间,A I和A III最低,A IV最高(图1)。双因素方差分析结果表明,水分胁迫($F = 39.35, p < 0.01$)和母树年龄($F = 25.40, p < 0.01$)对发芽率有着极显著的影响,并且二者有着极显著的交互作用

($F=2.49, p<0.01$)。不同水分胁迫梯度之间, 5% PEG 6000 的发芽率最高, 并极显著高于 10% PEG 6000 和 20% PEG 6000 ($p<0.01$); 20% PEG 6000 的发芽率最低, 并极显著低于 ck、5% PEG 6000 和 15% PEG 6000 ($p<0.01$)。这表明较低的水分胁迫不会抑制黑松种子萌发, 而严重的水分胁迫则会显著抑制种子萌发。不同母树年龄之间, A I 与 A III 差异不显著 ($p=0.10$), 极显著低于 A II 和 A IV ($p<0.01$), A IV 极显著高于其它母树年龄 ($p<0.01$)。随 PEG 6000 浓度的增加, A IV 的发芽率下降速率显著低于其它母树年龄, 有着显著的交互作用。

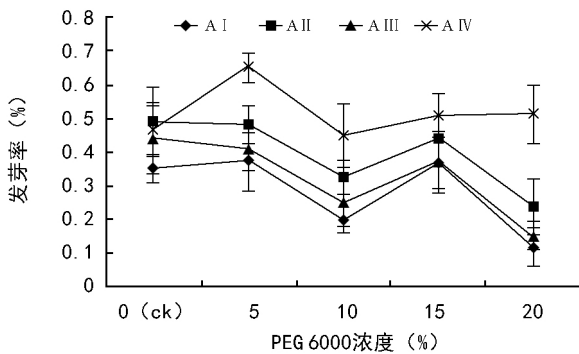


图 1 水分胁迫和母树年龄对黑松种子发芽率的影响

2.2 平均发芽时间

随 PEG 6000 浓度的增加, 不同母树年龄黑松种子平均发芽速呈波浪形增加(图 2)。双因素方差分析结果表明, 水分胁迫对平均发芽时间有着极显著的影响 ($F=3.98, p<0.01$), 母树年龄影响不显著 ($F=1.74, p=0.17$), 而二者之间交互作用不显著 ($F=1.31, p=0.24$)。不同水分胁迫梯度之间, 5% PEG 6000 的平均发芽速最短, 显著低于 10% PEG 6000 ($p<0.05$), 极显著低于 20% PEG 6000 ($p<0.01$); 20% PEG 6000 的平均发芽速最长, 显著长于 ck ($p<0.05$), 极显著长于 5% PEG 6000 和 15% PEG 6000 ($p<0.01$)。

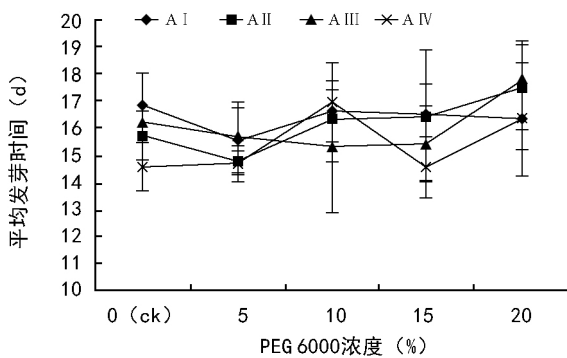


图 2 水分胁迫和母树年龄对平均发芽时间的影响

2.3 发芽指数

随 PEG 6000 浓度的增加, 黑松发芽指数呈波浪

形降低; 不同母树年龄之间, A I 最低, A IV 最高(图 3)。双因素方差分析结果表明, 水分胁迫 ($F=29.03, p<0.01$) 和母树年龄 ($F=39.27, p<0.01$) 对发芽指数有着极显著的影响, 二者交互作用不显著 ($F=1.43, p=0.18$)。不同水分胁迫梯度之间, 5% PEG 6000 浓度发芽指数最大 ($p<0.05$), 20% PEG 6000 浓度显著低于 ck、5% PEG 6000 和 15% PEG 6000 ($p<0.05$)。不同母树年龄之间, A I 与 A III 差异不显著 ($p=0.07$), 极显著低于 A II 和 A IV ($p<0.01$), A IV 极显著高于其它母树年龄 ($p<0.01$)。

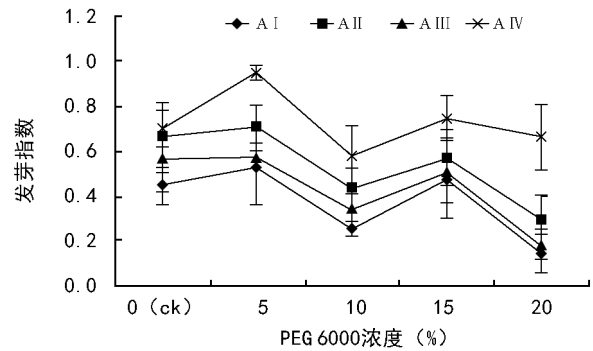


图 3 水分胁迫和母树年龄对黑松发芽指数的影响

2.4 活力指数

随 PEG 6000 浓度的增加, 黑松活力指数呈波浪形降低; 不同母树年龄之间, A I、A II 和 A III 接近, A IV 最高(图 4)。双因素方差分析结果表明, 水分胁迫 ($F=19.39, p<0.01$) 和母树年龄 ($F=43.21, p<0.01$) 对活力指数有着极显著的影响, 二者交互作用不显著 ($F=1.70, p=0.09$)。不同水分胁迫梯度之间, 5% PEG 6000 浓度活力指数最高, 极显著高于 10% PEG 浓度和 20% PEG 浓度 ($p<0.01$), 20% PEG 6000 浓度最低, 极显著低于 ck、5% PEG 6000 和 15% PEG 6000 ($p<0.01$)。不同母树年龄之间, A I 极显著低于 A II ($p<0.01$), 与 A III 差异不显著 ($p=0.06$), A II 与 A III 差异不显著 ($p=0.13$), A IV 极显著高于其它母树年龄 ($p<0.01$)。

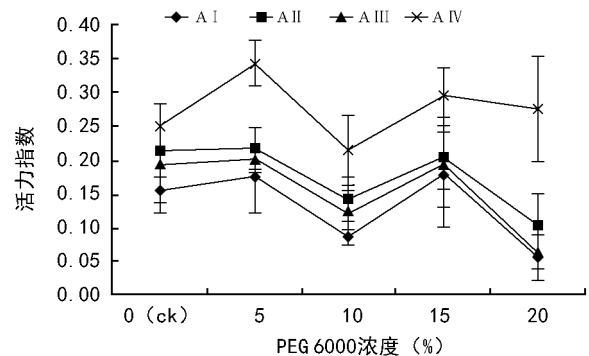


图 4 水分胁迫和母树年龄对黑松种子活力指数的影响

3 讨论

水分胁迫是沿海防护林天然更新重要的限制因子^[4,12]。随着水分胁迫程度的增加,黑松种子发芽率、发芽指数和活力指数逐渐降低,表明水分胁迫显著抑制了种子萌发,这与华南沿海防护林主要树种木麻黄^[12]、固沙造林树种樟子松^[13]的研究结果相似。最优的发芽时间对幼苗的建立至关重要,是对多变外界环境的适应^[14]。随着水分胁迫程度的增加,黑松种子平均发芽时间增加,延缓了发芽进程。延缓种子发芽进程是水分胁迫影响众多植物种子萌发的基本特征^[13,15]。种子发芽进程延缓对幼苗的初期生长^[15]和形态^[12-13]有着重要影响,进而影响到了幼苗对生态因子的适应性^[13]。

母树年龄对种子质量有重要影响,这在 *Sorbus torminalis*^[8]、*Pinus pinea*^[16]、*Pinus echinata*^[9]、*Pinus pinaster*^[17] 及黑松海防林^[10] 都有体现。随着母树年龄的增加,黑松种子的发芽率、发芽指数和活力指数呈波浪形变化,这与母树会通过调节球果胚珠败育率保障种子质量有关^[18]。Müller et al.^[19] 认为, *C. albidus* 种子质量随年龄增加不断降低除了与提高胚珠败育率相关外,还与种子内部维生素 E 和激素变化有关。本研究在进行种子分组时按照黑松母树年龄划分,与以前的研究按照母树胸径划分有所不同,本研究是随母树年龄增加种子质量波浪增加。这表明胸径与母树年龄对种子质量的影响有所差别^[20]。同时,本研究还发现在发芽率上,母树年龄与水分胁迫有着显著交互作用,提高了黑松种子在水分胁迫下的发芽率。这表明母树年龄影响黑松种子萌发过程中对生态因子的适应能力。

种子萌发是黑松沿海防护林天然更新的一个关键环节。对种子萌发的研究多集中在生态因子对萌发的影响,对母树特性研究较少,尤其是二者之间的交互影响。在黑松沿海防护林天然更新过程中种子来源于不同树龄的母树,而不同树龄母树产生种子的质量差异对种子在不同生境下的萌发将会产生重要影响,进而影响幼苗建立。因此,在今后的研究中,深入研究种子质量的母树年龄效应,探讨母树年龄与生态因子之间的作用方式,是阐明黑松海防林的天然更新机制的重要研究内容。

参考文献:

- [1] 许景伟,李琪,王卫东,等.沙岸黑松海防林防护成熟期及更新年龄的研究[J].林业科学,2003,39(2):91-97.
[2] 张志东,韩广轩,毛培利,等.成年个体密度、距海远近及下

- 层植被对烟台黑松海防林天然更新的影响[J].自然资源学报,2009,24(5):782-790.
[3] 朱教君,李凤芹,松崎健,等.间伐对日本黑松海岸林更新的影响[J].应用生态学报,2002,13(11):1361-1367.
[4] 许景伟,王卫东,乔勇进.沿海沙质岸基干林带黑松防护林的更新方式[J].东北林业大学学报,2003,31(5):4-6.
[5] González-Rodríguez V, Villar R, Casado R, et al. Spatio-temporal heterogeneity effects on seedling growth and establishment in four *Quercus species* [J]. Annals of Forest Science, 2011, 68: 1217-1232.
[6] 鱼小军,师尚礼,龙瑞军,等.生态条件对种子萌发影响研究进展[J].草业科学,2006,23(10):44-49.
[7] 韩广轩,毛培利,刘苏静,等.盐分和母树大小对黑松海防林种子萌发和幼苗早期生长的影响[J].生态学杂志,2009,28(11):2171-2176.
[8] Espahbodi K, Hosseini S M, Mirzaie-Nodoushan H, et al. Tree age effects on seed germination in *Sorbus torminalis* [J]. Gen and Appl Plant Physiology, 2007, 33 (1-2): 107-119.
[9] Grayson K J, Wittwer R F, Shelton M G. Cone characteristics and seed quality 10 years after an uneven-aged regeneration cut in shortleaf pine stands [C]//Proceedings of the eleventh biennial southern silvicultural research conference. Gen Tech Rep, SRS-48. Asheville, NC: U.S. Department of Agriculture, Forestry Service, Southern Research Station, 2002:310-314.
[10] Mao P L, Han G X, Wang G M, et al. Effects of age and stand density of mother trees on early *Pinus thunbergii* seedling establishment in the coastal zone, China [J]. Sci World J, 2014.
[11] Michel B E, Kaufmann M R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000 [J]. Plant Physiol, 1973, 51: 914-916.
[12] 武冲,仲崇禄,张勇,等.聚乙二醇模拟干旱对三种木麻黄种子萌发的影响[J].中南林业科技大学学报,2011,31(2):22-26.
[13] 朱教君,李智辉,康宏樟,等.聚乙二醇模拟水分胁迫对沙地樟子松种子萌发影响研究[J].应用生态学报,2005,16(5):801-804.
[14] Cendán C, Sampedro L, Zas R. The maternal environment determines the timing of germination in *Pinus pinaster* [J]. Environ Exp Bot, 2013, 94: 66-72.
[15] 胡红,曹昀,王颖.水分胁迫对狗牙根种子萌发及幼苗生长的影响[J].草业科学,2013,30(1):63-68.
[16] Ganatsas P, Tsakalidimi M, Thanos C. Seed and cone diversity and seed germination of *Pinus pinea* in Strofylia Site of the Natura 2000 Network [J]. Biodivers Conserv, 2008, 17: 2427-2439.

(下转第 17 页)

珍稀细茎石斛 (*Oncidium hybrid cultivar*) 以及小兰屿蝴蝶兰 (*Phalaenopsis equestris*) 的 AP1 基因具有支持率并聚为一枝,并且支持率达到 99%(图 3)。同时与其他兰科和单子叶植物 AP1 早竹(原栽培型) (*Phyllostachys praecox*) 具有很高的支持率,达到 99%(图 3)。

本实验以三百草作为材料分离出 AP1 基因,通过 RACE 方法从莲瓣兰大雪素中快速分离出 AP1 全长 cDNA,获得全长约为 1 000 bp 的 cDNA,通过测序分析,确定该基因为 AP1 MADS-box 的全长 cDNA 序列,共编码 241 个氨基酸。AP1 基因属于花分生组织特征基因,又是花器官形态特征基因,AP1 基因有促进植物开花的作用,且此作用在不同植物间具有保守性。

AP1 基因在花器官发育上起关键作用。在花发育的 ABCDE 模型中,AP1 基因属于 A 类基因,是萼片和花瓣正常发育所必需的^[2]。通过对拟南芥和金鱼草中花的同源异型突变体的研究,Coen 等^[8]最早提出花器官发育的 ABC 模型,用于解释花的同源异型基因在器官形成中的作用。现已在拟南芥中克隆到具有 A 功能的基因有 AP1 和 AP2,具 B 功能的有 AP3 和 PI,具 C 功能的有 AG。相应地在其它种类如金鱼草、烟草、西红柿、矮牵牛中亦分别克隆到类似的基因。上述所有种类中,控制同一功能的不同植物基因的功能、表达方式,所表达的氨基酸序列都具有高度的相似性^[9]。

参考文献:

[1]马辉,张智俊,罗淑萍.植物 MADS-box 基因研究进展[J].生物技术通报,2006(6):14-18.

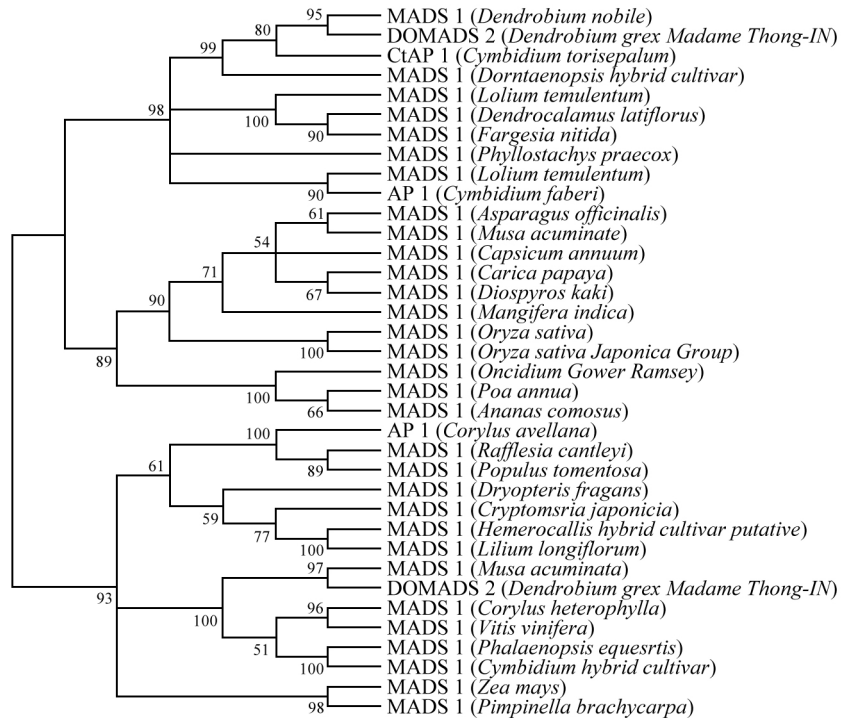


图 3 AP1 MADS-box 基因的进化分析

[2]Coen ES, Meyerowitz EM. The war of whorls; Genetic interactions controlling flower development[J]. Nature, 1991, 353: 31-37.
 [3]Gao X, W Liang, C Yin, et al. The SEPALLATA-like gene OsMADS 34 is required for rice inflorescence and spikelet development[J]. Plant Physiol, 2010, 153(2): 728-40.
 [4]Cseke LJ, SB Cseke, N Ravinder, et al. SEP-class genes in Populus tremuloides and their likely role in reproductive survival of poplar trees[J]. Gene, 2005, 358: 1-16.
 [5]Shore P, Sharrocks AD. The MADS-box family of transcription factors[J]. Eur J Biochem, 1995, 229(1): 1-13.
 [6]丛楠,程治军,万建民.控制花器官发育的 ABCDE 模型[J]. 中国农学通报, 2007, 23(7): 124-127.
 [7]陈贵.云南名兰大、小雪素[J]. 中国花卉园艺, 2001, 17: 45.
 [8]袁秀云,蒋素华,田云芳,等.1 个兰花 MADS-box 基因的克隆与表达分析[J]. 河南农业大学学报, 2013, 47(6): 683-691.
 [9]张则婷,李学宝. MADS-box 基因在植物发育中的功能[J]. 华中师范大学植物生理学通讯, 2007, 43(2): 198-202.

(上接第 13 页)

[17]Alvarez R, Valbuena L, Calvo L. Influence of tree age on seed germination response to environmental factors and inhibitory substances in *Pinus pinaster* [J]. Int J Wildland Fire, 2005, 14: 277-284.
 [18]毛培利,韩广轩,张志东,等.黑松海岸防护林径级分布及其与球果和种子特性的关系[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(11): 21-23.
 [19]Mülle M, Siles L, Cela J, et al. Perennially young; seed

production and quality in controlled and natural populations of *Cistus albidus* reveal compensatory mechanisms that prevent senescence in terms of seed yield and viability [J]. J Exp Bot, 2014, 65: 287-297.
 [20]Gross K L. Predictions of fate from rosette size in four "biennial" plant species; *Verbascum thapsus*, *Oenothera biennis*, *Daucus carota*, and *Tragopogon dubius* [J]. Oecologia, 1981, 48: 209-213.