

# 黄山松种源当年生苗生长及几种生理特点\*

刘世芳 范义荣 毛迎春

(浙江林学院林学系, 临安 311300)

王国英 楼涛

(浙江省天台县林业特产局) (浙江省临安市玲珑林业站)

**摘要** 多项指标测定的结果表明: 7种源中缙云和戴云山部分苗根易老化, 影响成活率。经变异聚类, 临安和缙云、黄山和开化种源分聚 2类, 金寨、戴云山、天台种源各自成 1类。苗茎高生长主要出现于前期, 中后期为针叶和根生长的主要阶段, 总生长量接近程度与变异接近程度不对应一致。生长中期各种源苗体细胞膜调控节律与种源聚类的结果是相应一致的, 各种源胞膜透性的变化与变异接近程度有一定关系。7种源在气温 30℃, 电解质外渗率均上升时, 开化种源有较强的控制物质外渗的能力。核酸量变幅度 DNA 大于 RNA, 以 RNA/DNA 相比, 开化种源最大, 临安最小。RNA 生成量与苗根生长有密切关系。二氧化碳利用能力以缙云和天台种源最高, 其次是开化、黄山、金寨、戴云山、临安等种源。此可作为优良种源苗期初选的依据。

**关键词** 黄山松; 种源试验; 变异(遗传学); 核酸; 二氧化碳

**中图分类号** S722.7

多年来种源试验很少涉及生理问题。本试验试图通过黄山松 (*Pinus taiwanensis*) 种源苗期膜透性、核酸等因子代谢研究, 了解种源变异与上述两因子的相关性, 并探讨黄山松苗期优良种源初选的方法, 为该树种改良选优提供生理代谢方面的参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料来源与处理

研究试材为黄山松种子, 分别采自浙江的天台、开化、临安、缙云, 安徽的金寨、黄山,

收稿日期: 1996-04-08; 修回日期: 1996-12-16

\* 国家自然科学基金资助项目

第 1 作者简介: 刘世芳, 男, 1938年生, 副教授

福建的戴云山等地 种子用清水浸泡 24 h, 取出后用双氧水消毒 2 min, 然后将种子置于事先蒙在盛有清水的烧杯口的纱布上(纱布已浸湿), 其后将此一并送入种子培养箱内 25℃ 温控下萌发, 15 d 左右种胚相继萌动生长, 待根、茎和针叶明显分化成苗时即移入塑料容器筒内 以常规容器育苗管理, 10 d 后定时按种源随机取样 3 株或视试验要求取样作有关项目的测定。

## 1.2 各项因子的测定方法

1.2.1 过氧化物酶同工酶的测定 样液提取按上述取样要求选幼苗针叶 1.0 g, 用 4 mL 0.02 mol<sup>o</sup> L<sup>-1</sup>, pH 6.5 磷酸缓冲液冰浴中研磨匀浆, 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 取上清液, 进样量 100 μL 采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分离胶浓度 7.5%, 浓缩胶浓度 4.0%。电极缓冲液为 Tris-甘氨酸系统, pH 8.3 电泳时电流强度 2 mA·孔<sup>-1</sup>。电泳毕用 2% 的醋酸联苯胺染色 5 min, 倾出染色液, 用蒸馏水漂洗后, 于 7% 冰醋酸中固定保存, 待测酶带迁移率

1.2.2 种源苗细胞膜透性测定 每 10 d 取样 1 次, 样苗事先置于 1~2℃ 温控下平衡 1 h 后, 按测定抗寒性的常规方法即电导仪法测苗体的电解质外渗百分率<sup>[1]</sup>。

1.2.3 过氧化物酶活性测定 用愈创木酚法

1.2.4 核酸测定 用二苯胺法测 DNA 生成量, 用地衣二酚法测 RNA 生成量

1.2.5 二氧化碳利用能力对比观察试验 此法参考 C<sub>3</sub> 与 C<sub>4</sub> 植物同室效应原理<sup>[2]</sup>, 采用自制装置进行(图 1)。此装置分两大部件: 一是有机玻璃罩, 高 50 cm, 宽 60 cm, 长 80 cm; 二是木制底座, 四侧为双边构成的凹形槽与有机玻璃罩相嵌 各种源样苗置于容器苗架后放入装置内。罩与底座相嵌缝隙处用石蜡封闭。在密闭的二氧化碳浓度有限的空间环境下观测各种源样苗生存天数以及苗体呈现饥饿时的症状(装置内不放置二氧化碳吸附剂)

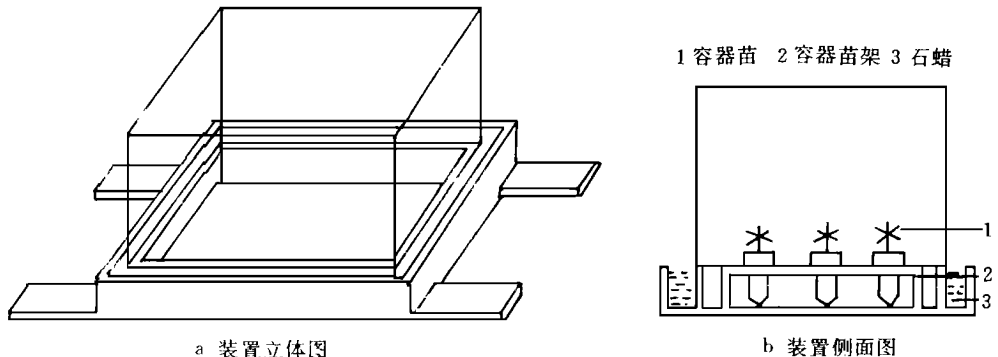


图 1 二氧化碳利用能力对比装置

Fig. 1 Contrast installation of CO<sub>2</sub> utilization ability

1.2.6 样苗各生长因子测定 样苗用常规方法分别测根茎长度、根重、针叶数和苗体针叶总面积。叶面积按下列公式计算<sup>[3]</sup>:

$$S = \frac{1}{2}\pi dL \left[ (d + d_1) + \frac{1}{4} \times \frac{d - d_1}{d + d_1} \right]$$

其中  $S$  为针叶面积,  $d$  针叶宽度,  $d_1$  针叶厚度,  $L$  针叶长。因  $d$  和  $d_1$  接近等值, 则公式可简化为

$$S = \pi d^2 L$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 成活率对比

自水培苗移至容器后,各种源的容器苗在同一环境下都有较高成活率(表 1),其中成活率相对低的是缙云和戴云山种源。该苗体死亡并非土中水分亏缺或通气不良所致。据观察在 4月下旬至 5月上旬,容器土温曾高达  $32^{\circ}\text{C}$ ,而土壤含水量仍控制在 18%时,部分苗的幼嫩根毛减少,木质化程度较高。经测定过氧化物酶活性 $\Delta OD = (13.45 \pm 2.85) \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,即示酶活性高,易使组织中所含  $\text{C}_6 \sim \text{C}_3$  的化合物转化成木质素,增强了木质化程度,进而影响吸水力而致死。成活的正常苗过氧化物酶活性 $\Delta OD = (1.22 \pm 0.22) \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ,说明该 2种源部分苗在低海拔(42 m)的土壤环境中适应能力相对差些。这是种源间变异在生长成活上的反映。其他苗体死亡大多是移栽操作时将嫩苗茎根组织挤碰损伤所致。

表 1 各种源成活率

Table 1 Survival rate of seedling on each provenance

| 项 目   | 种 源  |      |      |      |      |      |      |
|-------|------|------|------|------|------|------|------|
|       | 临 安  | 天 台  | 金 寨  | 开 化  | 黄 山  | 戴云山  | 缙 云  |
| 容器苗数  | 197  | 299  | 180  | 195  | 170  | 223  | 169  |
| 死亡苗数  | 10   | 16   | 11   | 13   | 19   | 46   | 37   |
| 成活率 % | 94.9 | 94.6 | 93.9 | 93.3 | 88.8 | 79.4 | 78.1 |

### 2.2 各种源变异聚类

根据 7个种源的过氧化物酶同工酶谱图得知,各种源酶带系列分布均有不同程度的差异,表明它们之间存在变异。利用酶带迁移率建立距阵<sup>[4]</sup>,用组平均法进行聚类,图中临安和缙云、黄山和开化等种源分聚 2类,金寨、戴云山、天台等种源各自成 1类(图 2 a, 2 b)。

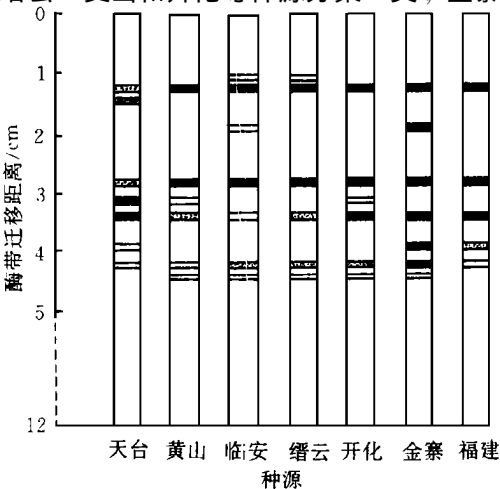


图 2 a 过氧化物酶同工酶酶谱

Fig. 2 a Peroxidase isoenzymes of seven provenances

### 2.3 各种源苗期生长特点与种源聚类的关系

苗木生长停止后,按随机取样方法,每种源选样苗 30株,量测计算有关因子生长量,其结果如表 2 (其中包括水培苗移栽时的生长量)。它们生长总

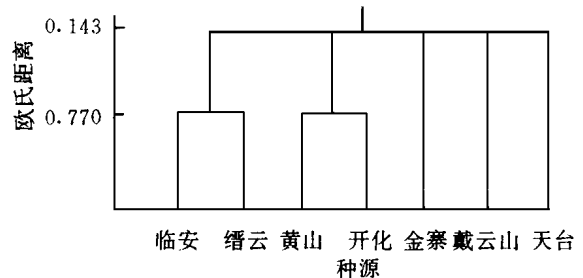


图 2 b 7种源的聚类树状图

Fig. 2 b Cluster analysis on seven provenances

的特点是: 茎生长总量(后期)与水培苗移栽时(前期)的茎高值接近, 两者差值仅限于 0.2~1.5 cm内(即7个种源中最低差值 0.2 cm 最高差值为 1.5 cm), 说明当年苗茎高生长主要出现于前期。针叶长度前期生长量和后期总生长量的差值虽限于 0.5~1.2 cm之间, 但针叶数差值却达 16~35根。根长度生长前期和后期之差值为 3.4~10.5 cm之间, 根干重差值为  $2.1 \times 10^{-2} \sim 4.0 \times 10^{-2}$ 之间。与茎相比, 根和针叶中后期增幅较大, 即黄山松当年生苗中后期主要为针叶和根的生长阶段。

表 2 各种源营养器官前后期生长量比较

Table 2 Comparison of increment of seedling on each provenance at early stage and later stage

| 项 目     | 种 源   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|         | 临 安   |       | 戴云山   |       | 金 寨   |       | 黄 山   |       | 开 化   |       | 天 台   |       | 缙 云   |       |
|         | 前期    | 后期    | 前期    | 后期    | 前期    | 后期    | 前期    | 后期    | 前期    | 后期    | 前期    | 后期    | 前期    | 后期    |
| 茎长 /cm  | 3.5   | 4.4   | 3.8   | 4.0   | 4.0   | 5.2   | 3.8   | 4.4   | 2.5   | 4.0   | 4.5   | 5.0   | 3.6   | 4.0   |
| 针叶长 /cm | 0.7   | 1.4   | 0.6   | 1.8   | 0.7   | 1.9   | 0.6   | 1.1   | 0.5   | 1.7   | 0.7   | 1.7   | 0.5   | 1.0   |
| 根长 /cm  | 4.4   | 11.2  | 2.9   | 9.5   | 6.5   | 10.2  | 2.4   | 6.9   | 2.5   | 13.0  | 5.4   | 8.8   | 4.0   | 7.8   |
| 针叶数 /根  | 23.0  | 47.0  | 13.0  | 39    | 17.0  | 45    | 16.0  | 30    | 15.0  | 50    | 14.0  | 34    | 17.0  | 33    |
| 根干重 /g  | 0.019 | 0.048 | 0.016 | 0.051 | 0.036 | 0.057 | 0.016 | 0.051 | 0.009 | 0.049 | 0.048 | 0.078 | 0.022 | 0.043 |

说明: 表中根长一项不包括侧根的长度

按 7种源各因子总生长量比较, 无一与种源类群划分结果对应相关。即它们的总生长量接近程度与临安和缙云、黄山和开化、金寨、戴云山、天台等种源各自聚一类群的结果不对应一致。这可初步说明种源间变异接近程度与当年生苗总生长量的接近程度无明显相关性, 即此期苗体生长速度与种源类群的划分无直接关系(表 2)。

#### 2.4 种源苗体细胞膜电解质外渗率的变化特点与变异聚类的关系

根据生长中期苗体电解质外渗率测定结果看, 7个种源的共同特点是在苗体中期生长过程中电解质外渗率均出现起伏变化, 这是细胞膜在气温变化下胞内物质外渗调控能力的反应, 亦即使其保持胞内一定物质代谢水平不致外渗物过多而受害的生理现象。另一共同特点是 6月上旬当平均气温达  $30^{\circ}\text{C}$  后电解质外渗率都呈上升趋势。不同特点是各种源在 6月上旬前电解质外渗率峰值出现期存在多种情况。如缙云、临安、天台等种源出现在 5月中旬, 黄山种源出现在 5月下旬, 另 3个种源出现在 4月下旬, 说明各种源细胞膜调控节律有一定差异。其中调控节律较一致的是临安和缙云, 黄山和开化等种源(图 3), 因而在图中表现的变化趋势同步性较好。这与上述酶谱带的聚类分析结果是相吻合的, 似乎反映出种源变异接近程度与胞

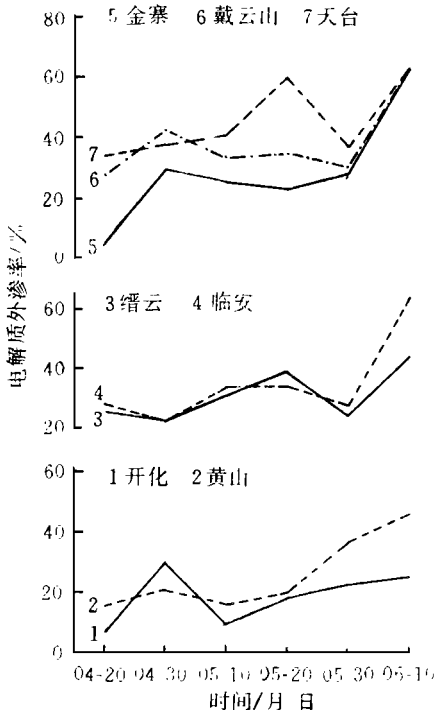


图 3 7种源电解质外渗率变化

Fig. 3 Variety of electrolyte outside permeation rate on seven provenances

膜透性的变化节律有直接关系。另一不同特点是 6 月上旬当平均气温达  $30^{\circ}\text{C}$  后电解质外渗率具最大值的种源是戴云山, 依次是临安、天台、金寨、缙云和黄山, 最小值是开化。

## 2.5 种源的核酸代谢变化特点

根据苗各期生长过程定期测苗体 DNA 和 RNA 生成量的结果可知 (表 3), 苗体核酸代谢变化共同特点是 DNA 量变幅度较大, RNA 量变幅度较小, 表明 2 种核酸量变幅度差异较大, 反映了整株苗体内的 DNA 及其他生化因子将 RNA 调控在某一数量范围内。无论从量变幅度或从平均水平看, DNA 与 RNA 两者的生成量无明显的正相关关系, 但各种源由 DNA 转录为 RNA 的效率是存在差异的。如以 RNA/DNA 比值表示, 开化种源最大, 其余依次是黄山、天台、缙云、金寨、戴云山和临安种源。以核酸生成量与上述总生长量对照看, 没有表现出密切的相关性, 其中唯 RNA 平均值与根干重存在明显相关性。

表 3 7 种源 DNA 和 RNA 生成量变化

Table 3 Change of DNA and RNA contents for 7 provenances

| 项 目           | 种 源          |              |              |              |              |              |              |
|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|               | 临 安          | 戴云山          | 金 寨          | 黄 山          | 开 化          | 天 台          | 缙 云          |
| DN A 变化幅度 %   | 0.063~ 0.090 | 0.079~ 0.133 | 0.055~ 0.111 | 0.032~ 0.051 | 0.019~ 0.053 | 0.040~ 0.078 | 0.025~ 0.043 |
| RN A 变化幅度 %   | 3.20~ 4.87   | 4.84~ 5.83   | 6.14~ 8.02   | 4.73~ 6.10   | 3.97~ 5.06   | 6.88~ 9.08   | 3.04~ 4.00   |
| RN A 生成量平均值 % | 3.85         | 5.37         | 6.96         | 5.44         | 4.57         | 7.97         | 3.49         |
| DN A 生成量平均值 % | 0.081        | 0.097        | 0.078        | 0.043        | 0.031        | 0.066        | 0.030        |
| 根干重 /g        | 0.048        | 0.051        | 0.057        | 0.051        | 0.049        | 0.078        | 0.043        |
| RN A /DNA     | 47.5         | 55.4         | 89.2         | 126.5        | 147.4        | 120.8        | 105.8        |

说明: 表中 RNA 和 DNA 平均值为 5 次测定量的平均数

## 2.6 种源间光合二氧化碳利用能力对比

为了选择优良种源, 苗期光合二氧化碳利用能力对比观察是苗期选择的一种初探性手段。为了提高苗期初选可比度, 我们在幼苗生长停止后于 10 月 8 日 (寒露) 从各种源分别选出 30 株最优苗 (即选出茎干粗壮、色棕红、针叶长而数量多的健康苗), 量测生长量后再选出 3 株最优苗, 以各种源最优苗作为对比基础, 准确反映各种源优苗在试验装置内的成活天数。

观察期环境温度变化为  $14\sim 28^{\circ}\text{C}$ , 光照强度变化为  $123\sim 10\ 080\ \text{lx}$ , 日照时数约为 12 h, 开始日期 10 月 8 日, 观察时间长达 209 d。样苗在此装置的空间内二氧化碳容量是有限的, 白天进行光合作用时, 由于各种源样苗利用二氧化碳能力有差异, 利用能力强的就能在白天制造较多的碳水化合物以满足暗呼吸消耗及其他代谢活动需要。反之, 暗呼吸消耗及其他代谢活动的需要就得不到满足, 体内呼吸消耗大于光合积累, 必导致植株在短期内出现饥饿症状以致死亡。所以渐发现二氧化碳争夺能力差的如临安首先针叶轻度感染霉菌 (气温  $25\sim 28^{\circ}\text{C}$  时), 后随光合功能减退感病日趋严重, 最后白色菌丝体布满针叶, 叶色由绿转淡绿再转棕褐, 直至饥饿枯竭死亡。其他种源如金寨和戴云山达 29 d 时死亡苗也出现同样的感染现象, 但以后的死亡苗均无出现霉菌感染现象, 其原因是否与以后气温下降至  $14\sim 20^{\circ}\text{C}$  或是否与苗体抗病能力有关尚待研究。从表 4 中所示, 同一种源内的样苗间成活天数有很大差别, 如金寨、黄山、开化、戴云山等种源成活最大差距达 139 d。就种源间比较, 如天台和缙云无论成活最低或最高天数均明显高于其他种源。它们与临安种源相比差距最大达 183 d。从种源间还可看出

成活天数长短与针叶总面积成正相关,而与针叶数和针叶长度的相关性不甚密切,说明黄山松当年生苗的针叶总面积是决定其二氧化碳同化效应的主要因子。当苗体饥饿死亡后,基本上是成活天数越长的苗体质量越小,表明成活天数越长消耗体内营养物质越多(表4)

表4 7种源样苗二氧化碳利用率对比

Table 4 Contrast of CO<sub>2</sub> utilization rate of seedling for 7 provenances

| 项 目                   | 种 源    |        |         |         |         |          |          |
|-----------------------|--------|--------|---------|---------|---------|----------|----------|
|                       | 临 安    | 戴云山    | 金 寨     | 黄 山     | 开 化     | 天 台      | 缙 云      |
| 样苗成活天数范围              | 26~ 31 | 29~ 93 | 29~ 157 | 33~ 172 | 37~ 172 | 160~ 209 | 160~ 209 |
| 茎长 /cm                | 4.6    | 4.5    | 5.7     | 4.9     | 4.0     | 5.5      | 4.6      |
| 针叶长 /cm               | 1.5    | 2.0    | 2.1     | 2.2     | 1.8     | 1.9      | 1.8      |
| 根长 /cm                | 11.6   | 11.9   | 12.2    | 13.1    | 14.0    | 16.8     | 17.5     |
| 根干重 /g                | 0.050  | 0.048  | 0.057   | 0.065   | 0.065   | 0.078    | 0.081    |
| 针叶数 /根                | 49     | 49     | 54      | 49      | 54      | 65       | 70       |
| 针叶面积 /cm <sup>2</sup> | 1.006  | 1.179  | 1.299   | 1.321   | 1.518   | 1.593    | 1.668    |
| 饥饿死亡后苗的质<br>量 /g      | 0.608  | 0.608  | 0.608   | 0.605   | 0.593   | 0.530    | 0.500    |

### 3 结语

3.1 7种源容器苗成活率都较高,而其中缙云和戴云山种源部分苗在土温 32℃土壤含水量 18%时,根毛组织木质化程度加快,易衰老,影响吸水能力而死亡。此可能是群体内存在变异所表现的特殊反应

3.2 种源过氧化物酶同工酶因子聚类结果,临安和缙云、黄山和开化种源分聚 2类,金寨、戴云山、天台种源各自成 1类

3.3 当年苗高生长主要出现于前期,中后期主要为针叶和根的生长阶段。它们的总生长量接近程度与种源聚类的结果不相对应,说明苗体生长速度不直接受变异接近程度的影响。

3.4 黄山松苗中期电解质外渗率呈起伏变化,平均气温达 30℃后 7种源的外渗率均呈上升趋势。其中开化种源电解质外渗率最低,具较强的控制物质外渗的能力。种源变异接近程度与胞膜透性的变化节律存在一致性,故变异可能对胞膜透性变化节律有直接影响。

3.5 黄山松苗期核酸量变幅度 DNA 大于 RNA,各种源内两者的生成量无明显的正相关关系。各种源 RNA/DNA 相比开化最大临安最小, RNA 生成量平均值与根干重存在明显的正相关关系,表明 RNA 与苗根生长有一定的关系。

3.6 各种源光合二氧化碳利用能力,以缙云和天台最高,其次是开化、黄山、金寨、戴云山和临安种源。同一种源内的样苗间成活天数的差值最大达 139 d,种源间相比成活天数差值最大达 183 d,表明种源间有较大的显著性差异。成活天数与针叶总面积有一定相关性,而与饥饿死亡后苗木质量呈反相关。据此,天台、缙云种源可作为苗期初选对象,开化种源 RNA/DNA 和胞膜调控能力都较强,因而也可作为苗期初选对象。

3.7 利用 C<sub>3</sub>和 C<sub>4</sub>植物同室效应原理进行苗期初选,虽然同一树种光合作用器官是不可能存在 C<sub>3</sub>和 C<sub>4</sub>解剖构造之分,但上述试验结果说明种源间光合二氧化碳利用能力的差异是存在的,因而苗期优良种源初选可参考使用上述方法。

致谢 金爱武、郑炳松老师作了部分研究工作, 特此感谢

## 参 考 文 献

- 1 上海植物生理学会. 植物生理实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 67~ 70
- 2 章骏德, 刘国屏, 施永宁, 等. 植物生理实验法. 南昌: 江西人民出版社, 1982. 137~ 140
- 3 陈章和. 黑石顶自然保护区南亚热带常绿阔叶林生物量与生产量研究. 中山大学学报. 1993, 32(4): 81~ 86
- 4 刘世芳, 范义荣, 童再康. 黄山松与种源种苗期酯酶同工酶及核酸代谢. 浙江林学院学报, 1993, 10(4): 378~ 386

Liu Shifang (Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, PRC), Fan Yirong, Mao Yingchun, Wang Guoying, and Lou Tao. **Growth of One Year Seedling of Taiwan Pine Provenance and Some Physiological Characteristics.** *J Zhejiang For Coll*, 1997, 14(1): 1~ 7

**Abstract** The results of study on the various indices of 7 provenances showed that the root's ageing of some seedling from Jinyun and Daiyunshan affected the survival rate. The 7 provenances were divided into 5 groups: Lin'an-Jinyun, Huangshan-Kaihua, Jinzhai, Daiyunshan and Tiantai. The seedling growth in stem mainly started in the earlier stage, while its growth in coniferous and root in the middle and later stage. The closing degrees of gross increment of provenance and the variation were inconsistent. The regulation rhythm of cell membrane and the cluster result of 7 provenances were consistent in the middle period. The variable rhythm of membrane permeability directly was influenced by the closing degree of variation, when the outside permeation of the electrolytes of 7 provenances at 30°C increased. Kaihua provenance had a stronger power of controlling the permeation. The range of quantitative change of nucleic acid was greater than that of RNA. According to the comparison of DNA and RNA, Kaihua was in the maximum position, and Lin'an in the minimum position. Major factor for the growth of seedling root was the generating quantity of RNA. The utilization power in CO<sub>2</sub> of Jinyun and Tiantai was much stronger than that of Kaihua, Huangshan, Jinzhai, Daiyunshan and Lin'an, which could be considered as a basis for the initial separation of seedling stage of pine provenance.

**Key words** *Pinus taiwanensis*; provenance tests; variation (genetics); nucleic acids; carbon dioxide