

# 土壤种子库样品萌发的前处理方法:水洗减量\*

沈有信<sup>1</sup> 刘文耀<sup>1</sup> 官会林<sup>2</sup>

(1 中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部, 昆明 650223)

(2 云南师范大学能源与环境科学学院, 昆明 650092)

## PRE-GERMINATION TREATMENT METHOD FOR SAMPLES FROM SOIL/SEED BANK—CONCENTRATION BY WATER WASHING

Shen Youxin<sup>1</sup> Liu Wenyao<sup>1</sup> Guan Huilin<sup>2</sup>

(1 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

(2 College of Energy and Environment Science, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China)

关键词 岩溶; 土壤种子库; 萌发方法; 水洗减量  
中图分类号 Q948.113 文献标识码 A

埋藏于土壤中的种子是植物群落再生的物质基础, 识别这些种子的种类与数量特征是很多植物群落学、恢复生态学等相关学科领域的重要内容。将采集土壤样品置于温室内, 保持最佳的萌发环境让尽量多的物种种子萌发, 通过鉴定这些萌发幼苗的种类与数量来推断土壤种子库的种类组成与密度是最重要的种子库检测方法之一<sup>[1~3]</sup>, 国内的研究者也基本采用这一方法<sup>[4~11]</sup>。该方法在检测的精度和准确度上具有不可替代的优越性<sup>[1, 12, 13]</sup>。即使在同一生态系统内, 不同的植物种子所需要的萌发条件可能由于休眠<sup>[2]</sup>、种子对策差异<sup>[3, 14]</sup>, 对光照、温度<sup>[14~16]</sup>等的需求差异而存在巨大差别, 作为种子存贮与萌发介质的土壤层的厚度和土壤质地对种子萌发会产生重要影响<sup>[1, 13]</sup>。但是, 当减少土层厚度时, 无疑将增大萌发所需要的能屏蔽外界种子干扰的温室面积, 从而限制种子库研究中的采样规模。很多研究者采取翻动土壤的方式来降低土层厚度的影响, 让下层的种子得到萌发的机会, 但是, 这将延长萌发的时间, 同时增加了下层种子的死亡率。

Ter Heerdt等<sup>[13]</sup>于欧洲采用水洗过筛的方法, 去除沼泽样品中的粗物 (> 4 mm 孔径的土壤、石

砾、植物残体等)和黏粒+粉粒 (< 0.21 mm 孔径)然后萌发, 在不增加甚至不降低萌发温室面积的同时降低土层厚度和土壤黏粒含量, 增加了种子萌发的数量并缩短了萌发时间。过去的几十年时间内, 国内已经应用萌发方法开展了大量的土壤种子库研究工作, 但无人对样品的前处理方法进行过相应的探讨。本研究将滇中岩溶山地的多种样地的土壤种子库样品进行水洗处理后置于温室萌发, 以对比的方法检验水洗减量后的效果, 为同类地区乃至中国的土壤种子库研究提供借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究样地概况

研究点位于云南省中部的石林县 (103°11' ~ 103°30' E, 24°40' ~ 24°55' N) 境内, 距昆明 84 km。该地年均气温 15.6℃, 7月平均气温 25.3℃, 1月平均气温 8.2℃, 无霜期 254d, 年均降水量 962.3 mm, 其中 5月至 10月降水量占全年降水量的 85.5%。

此区域的地带性植物群落为亚热带半湿润常绿阔叶林<sup>[17, 18]</sup>, 受长期的人为经济活动影响, 原始状态的森林已很少见, 仅在龙山、寺庙等处零星分

\* 中国科学院“西部之光”项目和国家自然科学基金项目 (30570321) 资助

† 通讯作者, Tel: 0871 - 5160910; Fax: 0871 - 5160916; E-mail: yxshen@xtbg.ac.cn

作者简介: 沈有信, 男, 博士, 现主要从事种子生态学和恢复生态学研究

收稿日期: 2007 - 06 - 01; 收到修改稿日期: 2007 - 09 - 21

布。选择并采集了原生林、次生林、萌生幼年林、退化群落以及人工种植的云南松 (*Pinus yunnanensis*) 和干香柏 (*Cupressus duclouxiana*) 林等 7 类当地的主要植物群落的土壤样品进行种子库研究, 各样地的基本情况见表 1。沈有信等<sup>[19]</sup>对原生半湿润常绿

阔叶林和次生半湿润常绿阔叶林的群落结构和组成进行过详细的描述。灌草丛和草地是该区域原生植被退化后形成的退化群落, 而萌生幼年林是退化植被自然恢复后形成的幼年林。云南松林和柏树林种植于 20 世纪 70 年代, 盖度约 80% 左右。

表 1 滇中岩溶山地土壤种子库研究样地的基本情况

样地	海拔	土壤类型 <sup>[20]</sup>	0~10 cm 土壤有机质 (g kg <sup>-1</sup> )	植物群落
原生林	1 950 m	腐殖钙质湿润富铁土	182.0	原生半湿润常绿阔叶林
次生林	1 900 m	腐殖钙质湿润富铁土	94.0	次生半湿润常绿阔叶林
萌生林	1 900 m	腐殖钙质湿润富铁土	55.9	萌生幼年林
云南松林	1 900 m	表蚀钙质湿润富铁土	50.3	云南松林
干香柏林	1 900 m	表蚀钙质湿润富铁土	-	干香柏林
灌草丛	1 900 m	表蚀钙质湿润富铁土	-	灌草丛
草地	1 900 m	表蚀钙质湿润富铁土	43.8	草地

## 1.2 研究方法

在所选择地内, 设置 4 条 40 m 样带, 样带之间间隔 10 m, 在每条样带上, 约间隔 10m 取一长、宽、高均为 10 cm 土样, 装于土袋中。每样地共采集 20 个土样, 达到了同类地区研究的样品数量要求<sup>[21]</sup>。采集时间选择在 11 月底至 12 月初, 也即多数植物种子成熟后的季节。取回土样混匀后称重, 均匀分为两份, 一份用水冲洗过 5 目 (4 mm 孔径) 和 75 目 (0.21 mm 孔径) 筛, 直至水清为止, 然后将中间部分转入下垫泡沫颗粒 (0.5~2 mm) 的萌发皿 (长、宽、高为 17cm、11 cm、7 cm) 内; 另一份直接放入萌发皿内, 厚度约为 2.7 cm。所有萌发皿编号后置于中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部的温室 (昆明市内, 气候与研究地点相近), 隔离外界可能的种子干扰, 每天早晚浇水, 保持土壤湿润以利于种子萌发。种子出苗后每周喷洒低浓度复合液以保障幼苗生长, 记录出苗种类与数量, 直到一周内无出苗为止。对部分难鉴定幼苗, 移栽定植至能鉴定时为止。

## 1.3 数据处理

以样地为单位, 采用配对 t 检验方法对每样地的萌发幼苗数量和种类数量的差异进行显著性检验。

## 2 结果

### 2.1 水洗减量后的种子库密度变化

7 组样地的样品内共检测出 38 科 79 种种子植

物的 2 094 株幼苗, 其中草本植物 59 种 1 907 株, 灌木 15 种 165 株, 乔木 5 种 22 株。

水洗减量处理后, 原生林样地的萌发数量与对照相同, 其余样地样品萌发的种子幼苗数明显增多, 计算出的种子库密度值增大。配对 t 检验显示, 云南松林样地和草地的 20 个采样点的种子库密度的平均值差异达到极显著水平, 其余差异未达到显著水平。水洗后的种子库密度值可增加 0%~107.5%, 平均值为 22.8% (表 2)。

表 2 滇中岩溶山地不同样地的样品经水洗减量/不水洗处理后的土壤种子库密度值

样地	种子库密度 (粒 m <sup>-2</sup> )		配对 检验 t 值	密度 增加 (%)
	不水洗处理	水洗处理		
云南松林	400 ±113	830 ±171	3.561**	107.5
草地	910 ±169	1 520 ±258	3.229**	67.0
灌草丛	620 ±99	750 ±132	1.109	21.0
萌生林	3 780 ±755	4 560 ±1 271	1.037	20.6
干香柏林	1 610 ±258	1 700 ±275	0.324	5.6
原生林	1 710 ±256	1 810 ±327	0.423	5.8
次生林	370 ±64	370 ±87	0.000	0.0
平均	671 ±58	824 ±101	2.297*	22.8

### 2.2 水洗减量后的物种丰富度及其生活型变化

水洗减量处理后, 原生林样地的单个样点的平均物种数和总物种数略有降低, 次生林样地的单个样点的平均物种数降低但总物种数略有增加。其他 5 个样地内检测到的单个样点的平均物种数和总物种数均较未经过水洗处理的对照多, 物种数增加 1~5 种,

平均增加 2 种 (表 3)。配对 t 检验表明,云南松林样地和草地的 20 个采样点的物种数均值差异达到极显著水平和显著水平,其余差异未达到显著水平。

森林样地内水洗后物种数的减少可能与物种

的生活型有关,除原生林样地外,草本物种的种类数和萌发幼苗数均较非水洗处理有所增加,而灌木和乔木物种在干香柏林、原生林、次生林三组样地则有所下降或稳定 (表 4)。

表 3 滇中岩溶山地不同样地的样品经水洗/不水洗处理后每个采样点 (20 个)检测到的平均物种数及每个样地的总物种数

样地	单个样品的种子库物种数		配对检验 t 值	总物种数 <sup>1)</sup>	
	不水洗处理	水洗处理		不水洗处理	水洗处理
云南松林	1.25 ±0.29	2.30 ±0.23	3.462 **	11	16
草地	2.40 ±0.32	3.30 ±0.40	2.131 *	15	20
灌草丛	1.85 ±0.24	2.15 ±0.27	0.825	14	17
萌生林	3.20 ±0.31	3.40 ±0.40	0.469	19	22
干香柏林	4.35 ±0.48	4.95 ±0.52	1.143	31	33
原生林	4.70 ±0.59	4.50 ±0.56	0.515	36	33
次生林	1.70 ±0.26	1.50 ±0.30	0.593	16	17
平均	2.78 ±0.14	3.16 ±0.13	2.513 *	20	22

1)相同物种只记录一次

表 4 滇中岩溶山地不同样地的样品经水洗/不水洗处理后检测到的各生活型物种种类数和萌发幼苗数

样地	草本		灌木		乔木	
	不水洗处理	水洗处理	不水洗处理	水洗处理	不水洗处理	水洗处理
萌生林	14 (363) <sup>1)</sup>	14 (431)	3 (14)	8 (25)	1 (1)	0 (0)
云南松林	10 (37)	12 (66)	1 (3)	3 (17)	0 (0)	0 (0)
草地	14 (91)	17 (148)	0 (0)	3 (4)	0 (0)	0 (0)
灌草丛	12 (56)	14 (67)	2 (6)	3 (8)	0 (0)	0 (0)
干香柏林	25 (154)	29 (159)	5 (7)	2 (7)	0 (0)	1 (4)
原生林	26 (141)	26 (145)	5 (23)	4 (28)	4 (7)	2 (8)
次生林	9 (23)	11 (26)	6 (13)	4 (10)	1 (1)	1 (1)

1)括号内数据为萌发的幼苗总数

### 3 讨 论

任何一个生态系统均具有复杂的物种组成,因而土壤内的物种种子是多样的,土壤种子库研究的目的是最大限度地检测这些种子并确定其数量特征。直接从采集的样品中分捡种子并鉴定这些种子时存在着很多不易克服的困难<sup>[1,22]</sup>。通过萌发方式间接测定种子的种类和数量是一种简单而相对准确的方式<sup>[1,12,13]</sup>,多数研究者基本采用这一方式测定生态系统的土壤种子库组成和数量特征。但采用该方式时,需要较大的能提供样品萌发的空间条件和时间条件,如何在短的时间内高效地识别和鉴定土壤样品中的种子种类和数量一直是众多研究者追寻的目标<sup>[1,12,22]</sup>。不同的植物种子所需要的萌发条件可能由于休眠<sup>[2]</sup>、种子对策差异<sup>[3,14]</sup>,对光

照、温度<sup>[14,16]</sup>等的需求差异而存在巨大差别。埋藏于深层土壤中的种子可能因为得不到足够的光刺激而不能萌发<sup>[15,23]</sup>,尤其是黏粒含量高的土壤,光在土壤内的透性更差。Dalling等<sup>[12]</sup>认为土层厚度超过 10 mm 会对种子的检测产生影响。本研究中的土壤为富铁土纲下的钙质湿润富铁土类的两个亚类<sup>[20]</sup>,其典型剖面的表层土黏粒 (<0.002 mm)和粉粒 (0.02 ~ 0.002 mm)含量均在 80%以上<sup>[24]</sup>。未经水洗减量的土壤样品的萌发厚度约为 2.7 cm,通过水洗的方法去除土壤样品中的粗物 (>4 mm 孔径的土壤、石砾、植物残体等)和黏粒+粉粒 (<0.21 mm 孔径)后,土壤与种子混合体的体积将极大地减少,在同等的萌发面积基础上,样品的厚度降低。同时去除土壤黏粒+粉粒后,混合体的通透性得到改善,进而增加或保持了土壤种子萌发的数量 (表 2)。除在原生森林和次生森林内物种种类数

略有降低外,在其余的样地内均表现为增加(表3)。这些结果与 Ter Heerdt等<sup>[12]</sup>在欧洲沼泽区域的黏土、泥炭土和砂土上的结果一致。

水洗的影响效果与土壤的质地和物种的生活类型有关。本研究未直接测定土壤的黏粒含量,但可以由土壤有机质含量推测土壤的部分质地性质,7组样地中,云南松林地和退化草地的有机质含量很低,而原生林和次生林的有机质含量则很高(表1),相对应的是,水洗对前两者的效果最佳,而对后两者的效果相对较差(表2,表3)。另外,对于个体较小的草本种子而言,水洗后的物种数和种子数量的增加相对明显,而对于乔木、灌木而言,其效果不是很好(表4),尤其是在森林样地内,其水洗后检测到的物种数或幼苗数可能出现下降。这可能与水洗时对大种子的损坏有关,另外某些种子也可能混在粗物(>4 mm孔径)中被移出。因而在水洗时应尽量降低对大种子的机械损伤,并仔细检查粗物中的种子。尽管如此,本方法能降低土壤的体积和萌发厚度,增加多数物种的萌发,仍然不失为一种值得推荐的、适用于大规模土壤种子库研究的方法。

## 参考文献

- [1] Gross K L. A comparison of methods for estimating seed numbers in the soil. *Journal of Ecology*, 1990, 78: 1 079 ~ 1 093
- [2] Baskin C C, Baskin J M. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego: Academic Press, 1998. 133 ~ 161
- [3] Thompson K. The functional ecology of soil seed banks. In: Fenner M. ed. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. 2nd Ed. CAB International, Wallingford, UK, 2000. 215 ~ 235
- [4] 熊利民, 钟章成, 李旭光, 等. 亚热带常绿阔叶林不同演替阶段土壤种子库的初步研究. *植物生态学与地植物学学报*, 1992, 16(3): 249 ~ 257
- [5] 黄忠良, 孔国辉, 魏平, 等. 南亚热带森林不同演替阶段土壤种子库的初步研究. *热带亚热带植物学报*, 1996, 4(4): 42 ~ 49
- [6] 曹敏, 唐勇, 张建侯, 等. 西双版纳热带森林的土壤种子库储量及优势成分. *云南植物研究*, 1997, 19(2): 177 ~ 183
- [7] 程积民, 万惠娥, 胡相明. 黄土高原草地土壤种子库与草地更新. *土壤学报*, 2006, 43: 679 ~ 683
- [8] 杨小波, 陈明智, 吴庆书. 热带地区不同土地利用系统土壤种子库的研究. *土壤学报*, 1999, 36(3): 327 ~ 333
- [9] 彭军, 李旭光, 董鸣, 等. 重庆四面山亚热带常绿阔叶林种子库研究. *植物生态学报*, 2000, 24(2): 209 ~ 214
- [10] 刘济明, 钟章成. 梵净山栲树群落的种子雨、种子库及更新. *植物生态学报*, 2000, 24(4): 402 ~ 407
- [11] 沈有信, 刘文耀. 长久性紫茎泽兰土壤种子库. *植物生态学报*, 2004, 28(6): 768 ~ 772
- [12] Dalling J W, Swaine M D, Garwood N C. Effect of soil depth on seedling emergence in tropical soil seed-bank investigations. *Functional Ecology*, 1994, 9: 119 ~ 121
- [13] Ter Heerdt G N J, Verweij G L, Berker R M, et al. An improved method for seed bank analysis: seedling emergence after removing the soil by sieving. *Functional Ecology*, 1996, 10: 144 ~ 151
- [14] Thompson K, Grime J P. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology*, 1979, 67: 893 ~ 921
- [15] Pons T L. Seed response to light. In: Fenner M. ed. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. 2nd Ed. CAB International, Wallingford, UK, 2000. 237 ~ 260
- [16] Robert R J. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. In: Fenner M. ed. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. 2nd Ed. CAB International, Wallingford, UK, 2000. 261 ~ 292
- [17] 吴征镒, 朱彦丞. *云南植被*. 北京: 科学出版社, 1987. 231 ~ 274
- [18] 金振洲, 彭鉴. *昆明植被*. 昆明: 云南科学技术出版社, 1994. 431 ~ 434
- [19] 沈有信, 刘文耀, 李玉辉, 等. 滇中喀斯特山地半湿润常绿阔叶林的群落生态学研究. *广西植物*, 2005, 25(4): 321 ~ 326
- [20] 龚子同, 陈志诚, 等. *中国土壤系统分类——理论·方法·实践*. 北京: 科学出版社, 1999. 510 ~ 514
- [21] 沈有信, 刘文耀, 崔建武. 滇中喀斯特森林土壤种子库的种-面积关系. *植物生态学报*, 2007, 31(1): 50 ~ 55
- [22] Roberts H A. Seed banks in soils. *Advances in Applied Biology*, 1981, 6: 1 ~ 55
- [23] Fenner M. *Seed Ecology*. London: Chapman & Hall, 1985
- [24] 王文富, 邱鼎宜, 吴家才, 等. *云南土壤*. 昆明: 云南科学技术出版社, 1990. 422 ~ 427