濒危植物川东灯台报春的种子休眠/萌发生理及出苗模式

唐安军*

重庆师范大学生命科学学院, 植物环境适应分子生物学重庆市重点实验室, 重庆401331

摘要: 川东灯台报春是一种绝迹百年而又被重新发现的濒危植物, 唯一的一个极小种群仅见于重庆城口县的大巴山。基于种子休眠/萌发对温度和光照的响应, 本文研究了川东灯台报春的出苗动态。新成熟的川东灯台报春种子是非深度生理休眠的。经60 d冷层积打破休眠的种子只有在光照和适宜的温度下才能顺利萌发。覆土能明显抑制种子萌发。种子的需光性可能有助于形成种子土壤种子库。当光照充分时, 种子野外的出苗高峰发生于4~6月。而且, 其出苗模式严格地受制于气温和降水的季节性变化格局。

关键词: 濒危植物; 冷层积; 生理休眠; 种子萌发; 需光性种子; 川东灯台报春

种子萌发在种子植物生活史中是一个决定性的阶段, 能直接限定新一代的幼苗进入生态系统的时间, 并强烈影响之后成年植株的生长与繁殖; 一、二年生植物更是如此(Weitbrecht等2011)。换而言之, 植物早期发育阶段的转化直接影响其后多个生命阶段所经历的季节性环境(Donohue 2013)。在适应环境季节性变化的过程中, 植物种子发展出了极大的多样性, 这不仅表现在种子的形态结构、大小与颜色上, 也内含于其生理特性中, 例如, 种子的物质组成与种子休眠(Bewley等2013)。种子休眠是一种生理特性, 其休眠程度在环境中是随时间变化的(Vleeshouwers等1995; Baskin和Baskin 2004)。一般地, 种子萌发的时间选择(萌发时机)是与幼苗生长需求相适应的, 否则, 即使种子萌发了, 其幼苗也难以存活, 也就不可能出现随后的一系列生活史特征。而且, 一旦植物种群的种子转化为幼苗的过程中断, 那么该植物种群的有性更新是失败的, 渐渐地趋向衰退或灭绝(Cogoni等2012)。所以, 定量与定性地识别与评价决定稀有种或濒危种的幼苗发生时空模式的生态因子及其作用机制, 对于理解植物种群的时空动态及进化过程是极其重要与必要的(Harper 1977; Baskin和Baskin 2014)。

实际上, 植物都以个性化的萌发模式适应着变化的环境(Cerabolini等2004), 即使是同一个物种, 处于不同海拔高度的种群的种子萌发特性也可能截然不同, 如*Primula cusickiana* var. *maguirei* (Rayburn等2013)。所以, 深入分析植物的种子休眠/萌发生理不仅有助于评估其有性更新的安全生态位, 促进植物资源的管理或杂草的管控(Foley 2001); 也有助于建立有效的育苗技术, 对稀有或濒危植物进行合理的开发利用(唐安军2014); 甚至通过回归引种的方式扩展濒危植物的野生种群, 从而减少其灭绝的风险(Cerabolini等2004; 杨文忠等2014)。

作为仅有极小种群的野生植物, 川东灯台报春(*Primula mallophylla* Balf. f.)仅见于我国城口县的大巴山, 是近100年后发现的曾被认为已经灭绝的物种; 它隶属报春花科(Primulaceae)的报春花属(*Primula*), 多年生草本, 极具观赏价值和科研价值, 被评定为“极危”等级(吴之坤等2009)。令人担忧的是, 其分布区已被修建的旅游路线和排水沟渠片段化, 生长于路边的个体面临着践踏与采挖的严重风险; 而且, 随着旅游的发展, 这种风险会越来越大。因此, 亟需加以保护, 也亟需采集有关种群繁殖的数据, 为其保护提供决策依据。在本研究中, 我们分析了濒危植物川东灯台报春的种子休眠机理及种子萌发对温度和光的响应特性, 并结合野外出苗动态的监测, 我们试图揭示我国特有种川东灯台报春的出苗模式。这不仅有助于深入理解它的生态适应性及濒危原因, 也有助于预判气候变暖对该物种有性更新的潜在影响。

材料与方法

1 研究物种及生境

川东灯台报春(*Primula mallophylla* Balf. f.)是

收稿 2016-08-02 修定 2016-09-02

资助 重庆市自然科学基金(cstc2013jcyjA00002)和重庆市教委自然科学基金(KJ1400504)。

* 通讯作者(E-mail: tanganjun@mail.kib.ac.cn)。

近100年后发现的曾被认为已经灭绝的物种, 现仅分布于重庆城口大巴山的黄安坝草地(31.8399°N, 109.19007°E, 2 344 m a.s.l.); 它隶属报春花科(Primulaceae)的报春花属(*Primula*), 多年生草本, 基生叶, 植株高达40 cm; 花期5~6月, 花茎上着生2~4轮花序, 每一轮有8~15朵紫红色的小花, 极具观赏价值; 果实成熟于7~8月(吴之坤等2009)。川东灯台报春生长于草地, 生境土壤是沙质的, 土层较深; 由于受邻近山谷溪涧流水的影响, 土壤非常潮湿(含水量为57%~65%), 伴有零星的浅水坑, 似洼地; 伴生植物主要是草本, 如城口苔草(*Carex luctuosa*)、黄绿苔草(*Carex psychrophila*)、法氏早熟禾(*Poa faberi*)、喀斯早熟禾(*Poa khasiana*)、华中碎米荠(*Cardamine urbaniana*)、紫羊茅(*Festuca rubra*)、大卫氏马仙蒿(*Pedicularis davidii*)和毛叶藜芦(*Veratrum grandiflorum*); 极少的低矮灌木主要是陕西蔷薇(*Rosa giraldii*)和绣球藤(*Clematis Montana*)。在该草地, 我们开展了该研究的所有野外工作, 包括种子采集和野外试验。所用的温度和降水等数据来自紧邻样地的气象站。该气象站建于山顶(2 604 m a.s.l.), 距离实验样地约1 100 m。该草地位于亚高山区, 在11月中旬至翌年的1月间, 常下雪, 积雪厚度达20 cm, 气温达–11°C或更低; 在2005~2015年, 该气象站所记录的年平均气温和年平均降水量约8.4°C和1 481 mm (数据由城口县气象局提供)。

2 种子采集与预处理

在黄安坝草地, 我们先后于2013年8月22日和2015年8月23日2次采集了川东灯台报春的种子。采种时, 已有部分蒴果开裂, 种子呈黑色, 有的种子已自然散落。

在实验室, 将采集的种子清理干净, 并置于室温(20±2) °C (相对湿度约为53%)下干燥3 d。然后, 将种子装入纸质种子袋, 并临时存放于10°C的培养箱(相对湿度约54%)。

3 新鲜种子的萌发检测

2013年8月29日和2015年9月2日, 分别在在6个常温(5、11、17、23、27和30°C)和2个变温(23°C/15°C和30°C/20°C)下检测了新鲜种子的萌发能力。首先, 光照萌发。在萌发实验中, 所用的玻璃培养皿的直径为9 cm, 内置2层滤纸, 然后加入9 mL灭菌水, 然后在滤纸上摆放25粒种子, 4个重复。这些培养皿被置于控温控光的光照培养箱中, 其光周期是12 h/12 h (光照/黑暗, 下同), 光照强度约是30 μmol·m^{-2}·s^{-1}。对变温而言, 光照与变温的高温时段同步发生。其次, 黑暗萌发。与光照萌发不同的是, 将所有盛有25粒种子的培养皿用铝箔纸严实地包裹, 4个重复, 然后置于上述温度下进行萌发。为了避免系统位置效应, 每一天都随机地改变培养皿的位置。以胚根突破种皮且长至1 mm作为种子萌发的标准(下同)。每天计数萌发的种子, 并将萌发的种子移出培养皿。萌发检测持续时间为28 d。

4 种子的低温层积及萌发检测

2013年9月, 进行了种子的低温层积(冷湿处理)。首先, 用1%的次氯酸钠(NaClO)溶液对种子进行消毒5 min, 随后用无菌水洗涤3次; 取灭菌的200粒种子均匀地放在培养皿(直径9 cm)内湿润的滤纸上, 4个重复, 然后用铝箔纸严密地包裹培养皿; 其次, 将6个培养皿放于温度为(5±1) °C的冰箱中进行冷湿处理(低温层积), 60 d后, 取上述种子, 并分别在周期性光照和黑暗下进行萌发检测, 萌发温度为常温(11、17、23、27和30°C)以及变温(23°C/15°C); 其他的检测条件和萌发标准如上所述。

5 赤霉素GA_3溶液对新鲜种子萌发的作用

2015年9月21日, 首先, 用2%的次氯酸钠(NaClO)溶液对新采集的种子进行消毒5 min, 随后用灭菌水洗涤3次; 然后, 分别取新配制的GA_3溶液20 mL (浓度分别为50、100、200和500 mg·L^{-1}), 加入直径为6 cm的灭菌的玻璃培养皿中, 将100 粒种子淹没, 48 h后用灭菌水冲洗3次。以灭菌水浸泡的种子为对照(0 mg·L^{-1} GA_3)。最后, 在黑暗下进行萌发检测, 黑暗萌发的有关操作及萌发标准等如上所述。逐日观察与计数萌发的种子, 实验持续28 d。

6 野外的出苗动态及存活率监测

2013年9月3日, 在城口黄安坝草地实验区, 设计了6个小实验样块(长×宽=1 m×1 m), 它们距离最近的川东灯台报春植株约有30 m, 而且在实验样块的临近区(20 m以内)没有灌木和乔木, 仅有苔草(*Carex* spp.)和华中碎米荠(*C. urbaniana*)等草本植物。首先, 将这6个小样块等分成3组, 编号为A、B和C, 并将其表层土翻耕一遍, 翻耕深度约10 cm, 并清除实验样块中所有的杂草和粗石跴(直径≥2 cm), 分别播种500粒种子。其次, 予以不同的处理:

(1) A组, 土壤裸露, 种子直接暴露于光照下; (2) B组, 用晒干的苔草叶(厚度约1 cm)覆盖种子; (3) C组, 用生境中的表层土壤覆盖种子, 土壤厚度约5 cm。从10月起, 在每个月的3~5日观察和计数出土的幼苗, 并扦插小的竹签以标记出土的幼苗; 而且, 2014年12月初和2015年6月底, 分别统计了存活的幼苗株数。对于被苔草叶覆盖的B组样块, 在观察时, 稍微揭开苔草层; 观察与计数之后, 又将苔草层复位。连续监测21个月。

7 数据统计分析

基于萌发的时间过程数据, 我们计算了最终的累计萌发率(%)和中值萌发速率(median rate of germination)。中值萌发速率是T_{50}的倒数, T_{50}是指种子萌发率达到最终萌发率50%时所耗费的时间。如果最终萌发率≤15%, 则不进行T_{50}的比较分析。种子萌发率(%)和出苗数(n)以平均数±标准偏差(SD)表示。在经低温层积或干藏处理后, 利用单因子方差分析(one-way ANOVA)比较温度对种子萌发效应的差异。在方差分析时, 先将萌发率(%)进行反正弦转换, 但萌发结果仍以实际萌发率(%)表示。

此外, 对低温层积[(5±1) °C]的种子, 用热时间概念描述了萌发速率的温度依赖性。萌发速率(R)是萌发时间的倒数。对于非休眠种子而言, 在萌发温度(T)达到最适温度的区间内, 其萌发速率随着温度的增加而线性增加; 因此, 在此温度范围内, 萌发速率(R)和萌发温度(T)的关系可用下列方程表示(Garcia-Huidoro等1982):

$$R=(T-T_b)/\theta$$

此处的θ是萌发所需的热时间, 以K·h为单位(K为开氏温度, h为小时); T_b是萌发起始时的基础温度(base temperature), 只有当温度高于此温度时, 种子才可能萌发。

实验结果

1 温度与光照对种子萌发的影响

无论是2013年采集的, 还是2015年采集的, 新采集的川东灯台报春种子在光照和黑暗下的萌发率都非常低(≤11%), 其中以2015年采集的种子在23°C/15°C且光照时的萌发率最高(11%); 在黑暗下, 种子都没有萌发(图1)。

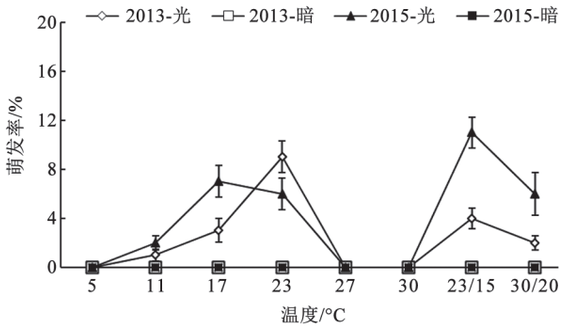

图1 新成熟的川东灯台报春种子在不同温度下的萌发率(%)

Fig.1 The germination percentages of newly matured *P. mallophylla* seeds at different temperatures

低温层积60 d后, 在不同温度且光照下的萌发率有了极大的变化, 且存在显著差异(P<0.05)。在恒温与周期性光照的条件下, 种子萌发率先增加后下降, 即从11°C的45%增加到23°C的97%, 然后降低至30°C的46%; 在变温(23°C/15°C)下, 种子亦能较好地萌发(92%) (图2)。然而, 低温层积(5°C) 60 d后, 在黑暗下, 种子的萌发率依然很低(≤12%) (图3)。

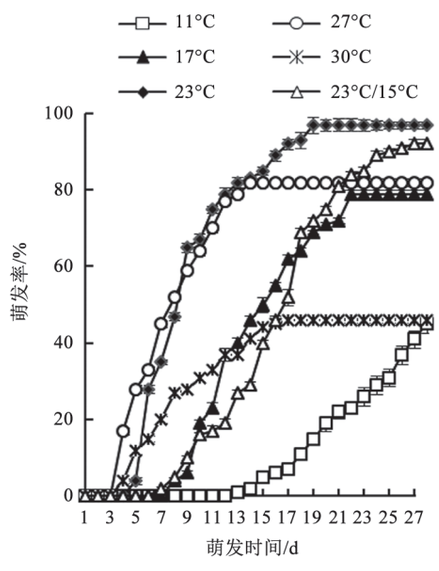

图2 冷层积(5°C) 60 d后, 川东灯台报春种子在不同温度下的萌发时间过程

Fig.2 The time course of seed germination of *P. mallophylla* at different temperatures after 60-d cold stratification at 5°C

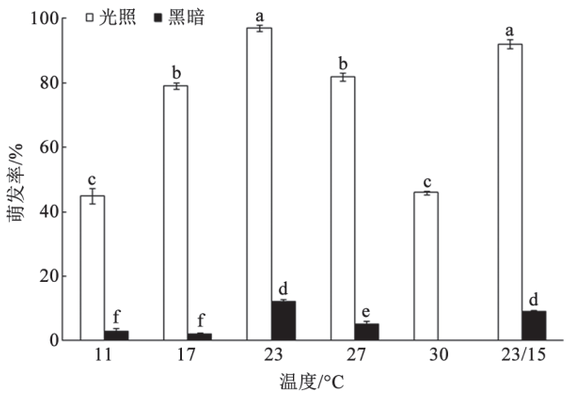

图3 低温层积60 d后, 川东灯台报春种子在光照、黑暗与不同温度下的萌发率

Fig.3 The final germination percentages of *P. mallophylla* at different temperatures after 60-d low temperature stratification at 5°C in either light or dark

图中各柱形上方标识的不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05), 图5同。

在恒温11~27°C之间, (中值)萌发速率和萌发温度之间存在简单的线性关系(图4)。27°C下的中值萌发速率最高($1/T_{50}$=6.3×10^{-3}·h^{-1}), 其次是23°C ($1/T_{50}$=4.5×10^{-3}·h^{-1}) (R^2=0.97)。种子萌发所需要的热时间(θ)约为2 200 K·h; 种子萌发的基础温度(T_b)约是2°C。

2 GA_3溶液对种子萌发的影响

GA_3溶液对新采集的川东灯台报春种子的萌发有明显的促进作用, 而且存在显著的浓度效应(图5) (P<0.05)。对照组的种子萌发率为3%; 在GA_3溶液浓度为0~200 mg·L^{-1}之间, 随着浓度的增大, 种子萌发率逐渐从3%增加至97%; 在用500 mg·L^{-1}的GA_3溶液处理后, 种子萌发率依然很高(95%) (图5)。

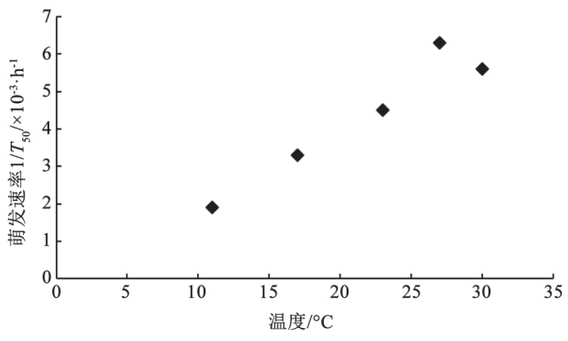

图4 在光照下, 低温层积60 d的川东灯台报春种子在恒温下的萌发速率

Fig.4 The germination rate of *P. mallophylla* at constant temperatures after 60-d low temperature stratification at 5°C in light

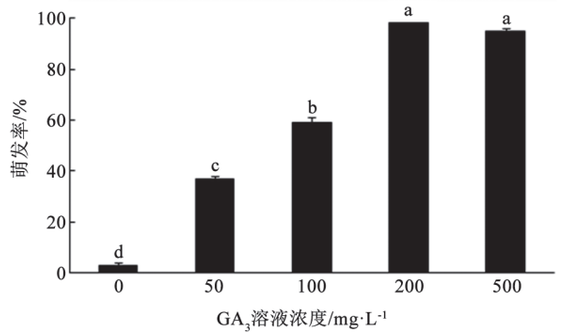

图5 外源GA_3溶液对川东灯台报春种子萌发的影响

Fig.5 Effects of exogenous GA_3 solutions on the germination of *P. mallophylla* seeds

3 幼苗发生动态

在野外实验中, 川东灯台报春的出苗动态是与气温(和降水)等因子相关联的, 3组实验样块间的出苗数量差异显著(P<0.05)。2013年9月至2014年2月, 在所有的实验小样块中没有观察到出土的幼苗。随着季节转变, 气温逐渐上升。2014年3月, 第1组小样块中首次记录了38株幼苗, 第2组有11株幼苗(图6)。随后, 幼苗数不断增加, 直至9月份; 此时, 第1组共标记了501株幼苗, 第2组共标记了384株幼苗。2015年1~6月, 第1组的幼苗数进一步增加到806株; 第2组的幼苗在6月份达到最大值(631株)。在实验期间, 自始至终没有观察到第3组的出土幼苗。

另外, 截至2014年12月初, 在第1组实验样块, 存活的幼苗有151株, 存活率为29.1%; 在第2组实验样块, 存活的幼苗有146株, 存活率为38%。然而, 2015年6月底, 第1组存活的幼苗数仅有22株, 存活率为2.7%。第2组存活的幼苗数仅有47株, 存活率为7.5%。综合地看, 第1组和第2组的平均幼苗存活率约为5.1%。可见, 只有极少数的幼苗能够存活于生境, 而且在被苔草层覆盖的样块中有更高的幼苗存活率。

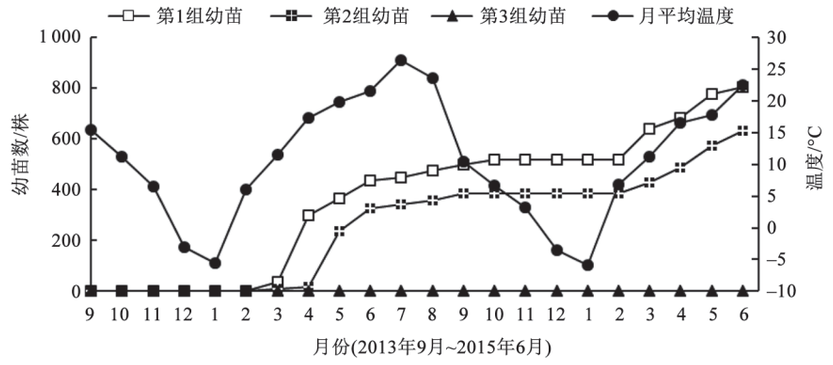

图6 川东灯台报春在生境实验样块中幼苗发生的季节性动态

Fig.6 Seasonal dynamics of seedling emergence of *P. mallophylla* in the experimental plots located in the habitat

讨 论

无论是在光照下还是在黑暗中, 新成熟的川东灯台报春种子在多个温度下经历28 d后的萌发率都是很低的(≤11%) (图1), 但是, 低温层积60 d后, 在相同的萌发条件下, 种子萌发率显著地增加, 在23°C且光照时, 种子的最终萌发率为97% (图2)。而且, 适当浓度的GA_3溶液处理种子48 h也能极大地提高种子的萌发率, 其中200和500 mg·L^{-1}的GA_3溶液使种子萌发率分别增加至98%和95% (图5)。这表明川东灯台报春的种子是非深度生理休眠的, 且是原发性的初级休眠。初级休眠是指在种子发育过程中逐渐形成的, 它不同于因环境胁迫(如高温或干旱)诱导产生的次级休眠(Foley 2001)。就休眠类型而言, 川东灯台报春种子与野生型的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)种子相似(Baskin和Baskin 1972), 也与华中碎米荠(*Cardamine urbaniana*)的种子类似(田美华等2016)。非深度生理休眠是一种十分常见的种子休眠类型, 广泛见诸于温带地区的植物种子(Baskin和Baskin 2004; Finch-Savage和Leubner-Metzger 2006)。一旦休眠被打破后, 多数种子可以在较宽的温度范围内顺利萌发, 但不同温度下的萌发速率是不同的(Shimono和Washitani 2004)。在本研究中, 在低温下(如11°C), 种子萌发缓慢; 在高温下(如30°C), 种子的萌发率急剧下降(图2)。而且, 在11~23°C之间, 萌发率和萌发速率都随温度的增加而增加; 当温度进一步上升后, 种子萌发表现出明显的热抑制现象, 抑或被诱导出了次级休眠(图2和4)。

川东灯台报春分布于亚高山区, 冬季常下雪, 积雪可达10~30 cm, 气温降至–11°C或更低。冬季长时间的低温非常有利于种子休眠解除。进入春季后, 气温逐渐回暖, 融雪不仅为种子提供了充足的水分, 也减少了对光的遮挡。因此, 非休眠的川东灯台报春在水热适宜的4~6月就能萌发。但是, 在该时段内, 种子也未全部萌发, 这可能与一些种子仍处于休眠状态或已失去活力有关。在7~9月, 白天的最高温度常超过30°C, 因此, 尽管该时段降雨较多, 水分充足, 但在高温作用下, 种子萌发受到抑制, 甚至诱导出了次级休眠。可见, 气温和降水的季节性变化格局直接影响着川东灯台报春出苗的季节性模式。从生态适应的角度看, 动态变化的休眠/萌发生理是川东灯台报春对其分布区环境的一种适应, 也是其进化策略之一, 以此确保种子萌发于适宜的时机, 如春季或夏初。类似的现象既发生于报春花科的其他物种, 如*Primula siebodii* (Washitani和Kabaya 1988)、*Primua modesta* (Shimono和Washitani 2004)和*Primula cusickiana* var. *maguirei* (Rayburn等2013), 也见之于温带的其他物种(Schwienbacher等2011; Baskin和Baskin 2014)。所以, 在更广泛的意义上, 敏锐地捕捉环境的温度信号, 选择适当的萌发时机, 不仅是自然选择的结果, 也是川东灯台报春与其他多种植物重要的进化机制之一。

在野外, 幼苗在生长过程中是极为脆弱的, 其根系和枝叶系统尚未发育完善, 对逆境的抵抗力很差, 因此生物和非生物胁迫可能对幼苗造成严重的伤害(Donohue 2013)。在本研究中, 截至2014年12月, 出土幼苗的存活率是比较高的(33.6%), 然而在2015年6月底, 幼苗的存活率是非常低的

(5.85%)。为什么年际间的幼苗存活率竟如此之大呢？原因非常复杂, 这不仅与动物干扰及微生物的侵染有关, 也与异常的天气事件密切相关。2015年5月中旬, 川东灯台报春所在的亚高山草场出现了一场持续了5天的寒潮。在低温胁迫下, 抗性较差的大部分幼苗被冻死, 而且成年植株的嫩叶也被冻死。所以, 在天气异常的情况下, 休眠所致的萌发异型与土壤种子库在种群的更新过程中有着重要的生态意义。

种子对光的响应也能控制种子萌发的时机, 并影响幼苗的建成及其他生活史阶段的适合度(Pons 2000)。研究发现, 即使经过低温层积之后, 川东灯台报春的种子在黑暗中仍然不能顺利萌发(图3和6)。特别地, 覆土5 cm时, 始终未见到出土的川东灯台报春幼苗(图6)。这表明川东灯台报春种子是需光性的, 较深的覆土会抑制种子萌发。在自然界, 需光性种子通常是细小的, 如拟南芥种子(Footitt等2013)。比较而言, 川东灯台报春的种子比拟南芥种子还细小(千粒重为0.27 g)。暗处或隐蔽环境中的红光/远红光的比值较低, 不能有效地启动萌发的生理调节机制, 如赤霉素的合成及其转录因子SPATULA的表达(Penfield等2005)。在本研究中, 较厚的土壤覆盖阻止了光的透入而抑制了川东灯台报春的种子萌发。这暗示了川东灯台报春的萌发位点需要良好的光照。鉴于种子的需光性, 我们认为, 非休眠的川东灯台报春种子在生长季节能被新发生的伴生草本或灌木遮阳之后而滞留于土壤种子库。根据种子萌发季节的多寡, Walck等(2005)将土壤种子库分为暂时性土壤种子库和持久性土壤种子库, 前者的种子在一个萌发季内全部萌发, 后者的种子可在2个及其以上的萌发季萌发。依据此观点及所获得的实验数据(图6), 我们认为, 川东灯台报春的种子能形成持久性土壤种子库。这对于川东灯台报春野生种群的有性更新、扩展与进化是有重要意义的。

在连续的调查中, 我们发现野生的川东灯台报春种群能产生大量的种子(除非遭遇异常的干旱或寒冷)。散播后, 种子或形成土壤种子库, 或被取食, 抑或因微生物侵染而腐烂。换而言之, 适合种子产生的环境不一定总是适合种子萌发的。如果高质量的种子未能适时萌发, 那么也会由于外界因素的影响而逐渐劣变而失去活力——这可能是野外第1组实验样块中的种子未能全部萌发的重要原因。亟需关注的是, 在川东灯台报春分布区, 旅游践踏及药农采挖药材等活动也正在影响甚至破坏种子的萌发生态位, 进而阻遏种子向幼苗的转化过程。所以, 为了保护极小种群的川东灯台报春, 必须保护其生境, 包括禁止采挖药材和建设旅游线路。不仅如此, 在气候变暖的趋势下, 亟需深入研究川东灯台报春种群的繁殖过程、土壤种子库的年际变化及其对气候变暖的响应机制, 也须探究群落内种间的相互作用。唯有如此, 我们才能更全面地揭示这一特有濒危植物的生态适应性及其进化机制, 更好地以保护促发展。

参考文献

Baskin CC, Baskin JM (2004). A classification system of seed dormancy. Seed Sci Res, 14: 1–16

Baskin CC, Baskin JM (2014). Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination (2nd Ed). London: Academic Press/Elsevier

Baskin JM, Baskin CC (1972). Ecological life-cycle and physiological ecology of seed germination of *Arabidopsis thaliana*. Can J Bot, 50: 353–360

Bewley JD, Bradford KJ, Hilhorst HWM, Nonogaki H (2013). Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy (3rd Ed). London: Springer

Cerabolini B, De Andreis R, Ceriani RM, Pierce S, Raimondi B (2004). Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: *Physoplexis comosa* and *Primula glaucescens*. Biol Conserv, 117: 351–356

Cogoni D, Mattana E, Fenu G, Bacchetta G (2012). From seed to seedling: a critical transitional stage for the Mediterranean psammophilous species *Dianthus morisianus* (Caryophyllaceae). Plant Biosyst, 146 (4): 910–917

Donohue K (2013). Why ontogeny matters during adaptation: developmental niche construction and pleiotorpy across the life cycle in *Arabidopsis thaliana*. Evolution, 68 (1): 32–47

Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G (2006). Seed dormancy and the control of germination. New Phytol, 171: 501–523

Foley ME (2001). Seed dormancy: an update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. Weed Sci, 49: 305–317

Footitt S, Huang ZY, Clay HA, Mead A, Finch-Savage WE (2013). Temperature, light and nitrate sensing coordinate *Arabidopsis* seed dormancy cycling, resulting in winter and summer annual phenotypes. Plant J, 74: 1003–1015

Garcia-Huidobro J, Monteith JL, Squire GR (1982). Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoide*s S. & H.) I. constant temperature. J Exp Bot, 33 (2): 288–296

Harper JL (1977). Population biology of Plants. New York: Academic

Press

Penfiled S, Josse E, Kannangara R, Gilday AD, Halliday KJ, Graham IA (2005). Cold and light control seed germination through the bHLH transcription factor SPATULA. Curr Biol, 15 (22): 1998–2006

Pons TL (2000). Seed responses to light. In: Fenner M (ed). Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities (2nd Ed). Oxford: CAB International, 237–260

Rayburn A, Davidson J, Schupp EW (2013). Effect of storage time, site and floral morph on seed germination of the threatened distylous primrose *Primula cusickiana* var. *maguirei*. Plant Spec Biol, 28: 101–108

Schwienbacher E, Navarro-Cano JA, Neuner G, Erschbamer B (2011). Seed dormancy in alpine species. Flora, 206: 845–856

Shimono A, Washitani I (2004). Seedling emergence patterns and dormancy/germination physiology of *Primula modesta* in a subalpine region. Ecol Res, 19: 541–551

Tang AJ (2014). Seed dormancy and storage behavior of *Magnolia sargentiana* endemic to China. Plant Physiol J, 50 (1): 105–110 (in Chinese with English abstract) [唐安军(2014). 中国特有植物凹叶木兰种子的休眠与贮藏行为. 植物生理学报, 50 (1): 105–110]

Tian MH, Luo AC, Yang YQ, He H, Tang AJ (2016). Dormancy/germination physiology and seedling emergence patterns of *Cardamine urbaniana* in a subalpine region. Plant Physiol J, 52 (2): 187–194 (in Chinese with English abstract) [田美华, 罗安才, 杨永清, 何海, 唐安军(2016). 亚高山区华中碎米荠种子的休眠/萌发生理及出苗模式. 植物生理学报, 52 (2): 187–194]

Vleeshouwers LM, Bouwmeester HJ, Karssen CM (1995). Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. J Ecol, 83: 1031–1037

Walck JL, Baskin JM, Baskin CC, Hidayati SN (2005). Defining transient and persistent seed banks in species with pronounced seasonal dormancy and germination patterns. Seed Sci Res, 15 (3): 189–196

Washitani I, Kabaya H (1988). Germination responses to temperature responsible for the seedling emergence seasonality of *Primula sieboldii* E. Morren in its natural habitat. Ecol Res, 3: 9–20

Weitbrecht K, Müller K, Leubner-Metzger G (2011). First off the mark: early seed germination. J Exp Bot, 62 (10): 3289–3309

Wu ZK, Zhang CQ, Qiao Q, Shen M (2009). Rediscovery of *Primula mallophylla* (Primulaceae), an endangered species endemic to Dabashan Mountain, China. Acta Bot Yunnanica, 31 (3): 265–268 (in Chinese with English abstract) [吴之坤, 张长芹, 乔琴, 申敏(2009). 中国特有濒危种川东灯台报春(报春花科)的重新发现. 云南植物研究, 31 (3): 265–268]

Yang WZ, Kang HH, Zhang SS, Peng ZN (2014). Methods and techniques for conserving wild plant species with extremely small populations. J West China For Sci, 43 (5): 24–29 (in Chinese with English abstract) [杨文忠, 康洪海, 向振勇, 张珊珊, 彭宗妮(2014). 极小种群野生植物保护的主要内容和技术要点. 西部林业科学, 43 (5): 24–29]

Dormancy/germination physiology and seedling emergence patterns of endangered *Primula mallophylla* (Primulaceae)

TANG An-Jun*

Chongqing Key Laboratory of Molecular Biology of Plant Environmental Adaptations, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China

Abstract: The species of *Primula mallophylla* (Primulaceae), which had disappeared for almost 100 years and assumed extinct, was surprisingly rediscovered in 2006. The only extant extremely small population was found in the Daba Mountain of Chengkou County in northeast Chongqing, west China, implying that thorough investigation and conversation must be immediately conducted. On the basis of the dormancy/germination responses of seeds to temperature and light, the dynamics of seedling emergence of *P. mallophylla* was investigated in this study. Newly collected seeds were with non-deep physiological dormancy. The dormancy-broken seeds by 60 d cold stratification (5°C) could germinate well only under the combination of light and appropriate temperatures. Soil cover significantly inhibited the germination of this species. The seeds were demonstrated to have a light requirement even after experiencing moist chilling, which might facilitate the incorporation of the seeds into the soil seed bank. In the field where illumination was fully provided, the seasonal patterns of seedling emergence with a peak between April and June was enslaved to the seasonal change trend of both temperature and precipitation in this subalpine region.

Key words: endangered plants; cold stratification; physiological dormancy; seed germination; light-requiring seeds; *Primula mallophylla*

Received 2016-08-02 Accepted 2016-09-02

This work was supported by Natural Science Foundation of Chongqing (Grant No. cstc2013jcyjA00002) and the Science and Technology Research Project of Chongqing Education Committee (Grant No. KJ1400504).

*Corresponding author (E-mail: tanganjun@mail.kib.ac.cn).