

Hg²⁺ 单一及与抗坏血酸复合处理对黑麦草毒害效应的研究

吴丽芳^{1,2}, 陆伟东¹

(1. 曲靖师范学院 生物资源与环境科学学院, 云南 曲靖 655011; 2. 云南农业大学 农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201)

摘要:以黑麦草“冬景”、“德比极品”和“泰德”为试材,研究了单一汞及汞与抗坏血酸复合处理对3个黑麦草品种种子萌发及幼苗生长的影响。结果表明:汞对3个黑麦草品种均有抑制作用,但各品种间的抑制作用不同。黑麦草“冬景”的发芽势单一处理下, Hg²⁺ 浓度 0~10 mg/L 时对种子发芽势的影响不显著,浓度达 100 mg/L 后,其抑制效应非常明显, Hg²⁺ 浓度为 100 mg/L 时发芽势比对照低 48 个百分点, 200 mg/L 中种子萌发严重受阻; 3 个品种的发芽率各处理间均有差异,呈递减趋势;根长、芽长和生物量的变化趋势一致,与胁迫浓度呈负相关。Hg²⁺ > 100 mg/L 时,严重抑制了种子发芽, Hg²⁺ > 50 mg/L 时,根的生长严重受阻; Hg²⁺ 与抗坏血酸复合处理具有一定的缓解作用,但缓解效应在高浓度下最为明显,对较抗汞的“冬景”其缓解作用不如“德比极品”和“泰德”;总体观察,3 个品种的抗汞能力为“冬景”>“德比极品”>“泰德”。

关键词:黑麦草; 萌发; 汞; 抗坏血酸

中图分类号: S 543+.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2013)05-0060-04

随着工农业及城乡建设的大力发展,土壤重金属污染越来越严重。重金属离子汞是主要的污染物之一,其对动植物及人体危害已引起不同领域学者们的关注。如对人体的危害最为典型的是日本因汞中毒发生的水俣病;对植物毒害方面其表现为一定浓度范围内可抑制植物细胞的分裂和根系伸长,刺激和抑制一些酶的活性。但某些元素如锌或稀土铜具缓解汞污染的生物学效应^[1-2]。抗坏血酸是一种非酶促小分子抗氧化剂,在植物生长发育及植物对环境胁迫响应的过程中具有积极作用^[3],可以与其它小分子及同工酶抗氧化剂共同作用调节植物细胞内的 AOS,保持细胞正常的分裂和生长^[4]。因此,研究抗坏血酸抗汞胁迫对植物毒害防御的效应具有重要的意义。

黑麦草是中国长江流域种植较普遍的优质牧草和各地常用的优质草坪草。有研究显示,黑麦草对重金属铜、镉有一定的抗性^[5-6],但对汞胁迫下黑麦草的耐性、抗性机制的报道很少,尤其是外源抗坏血酸对抗汞胁迫下黑麦草生理变化的研究尚鲜见报道。幼苗期是对环境胁迫最为敏感时期,因此,在 Hg²⁺ 单一及与抗坏血酸复

合处理下对其萌发特性进行研究,可为黑麦草抗污染能力的鉴定、筛选提供参考,也为缓解汞毒害,了解重金属的解毒机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黑麦草“冬景”、“德比极品”和“泰德”种子购于曲靖草种公司。Hg²⁺ 采用 HgCl₂,单一处理下其含 Hg²⁺ 分别为 0、5、10、25、50、100、200 mg/L,复合处理下为不同浓度的 Hg²⁺ 溶液中抗坏血酸含量为 5.0 mg/L,分别用符号表示为 CK、T1、T2、T3、T4、T5、T6。

1.2 试验方法

将3个多年生黑麦草品种种子用 20% 次氯酸钠溶液处理 10 min,无菌水冲洗数次,再用 70% 的酒精消毒 10 min,无菌水冲洗 4 次,放入置有双层滤纸并用蒸馏水润湿过的培养皿中,每皿 50 粒种子,每处理 4 次重复,于光照培养箱中培养,温度 25℃,光照强度 1 500 lx,光周期 12 h/12h。每天向各培养皿中定量添加不同浓度的 Hg²⁺ 或复合处理液,每天观察发芽情况,第 5 天统计发芽势,第 10 天统计发芽率,试验结束后,从每个重复中随机选取 10 株,不足 10 株的按现有苗数为准,测量芽长、根长,全株鲜重。

2 结果与分析

2.1 Hg²⁺ 单一和复合处理对黑麦草发芽势的影响

该试验 3 个品种黑麦草种子培养 24~48 h 后即可

第一作者简介:吴丽芳(1980-),女,云南宣威人,在读博士,实验师,现主要从事植物资源的评价与利用等研究工作。E-mail: wulifang0871@163.com。

基金项目:曲靖师范学院校级重点资助项目(2009ZD003)。

收稿日期:2012-11-09

发芽,5 d内多数种子发芽基本完成,但发芽程度与植物的基因型有关。由表1可知,该试验中 Hg^{2+} 对3个品种黑麦草种子都产生了抑制作用,黑麦草“冬景”的发芽势在单一处理下, Hg^{2+} 浓度0~10 mg/L时对种子发芽势影响不显著,但发芽势仍呈下降趋势,故低浓度 Hg^{2+} 对其种子发芽势仍有一定抑制效应。随着处理浓度的增加,当浓度达100 mg/L时,其抑制效应非常明显,T5处理时发芽势比对照低48个百分点,T6处理中种子萌发受阻更为严重。 Hg^{2+} 与抗坏血酸复合处理时,发芽势与对照相比均有所下降,也表现出一定的抑制作用,抗坏血酸的作用在 Hg^{2+} 为5~25 mg/L不起作用,反而比单一处理时有所下降,当 Hg^{2+} >50 mg/L时,才表现出一定的缓解作用,尤其高浓度时(Hg^{2+} >100 mg/L)其缓解效应较明显。与“冬景”相比,“德比极品”和“泰德”的发芽势不及“冬景”,随处理浓度的增加,其发芽势呈递减趋势。复合处理下,抗坏血酸表现出了一定的缓解作用,尤其对发芽势本身较差的“泰德”来说,其缓解效应较明显。

表1 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草发芽势的影响

Table 1 Effects of single Hg^{2+} and Hg^{2+} with ascorbic acid combination treatment on the seed germination potential of ryegrass

处理	“冬景”	“Winter game”	“德比极品”	“Derby supreme”	“泰德”	“Ted”
Treatments	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理
CK	91a	91a	82a	82a	86a	86a
T1	89a	88a	71b	75b	72b	79b
T2	84a	80b	69b	71b	64c	71c
T3	77b	74c	66b	66c	50d	61d
T4	69c	74c	42c	56d	27e	50e
T5	43d	34d	30d	37e	19f	29f
T6	8e	20e	4e	12f	—	10g

注:同一列中标有相同字母的为差异不显著,标有不同字母的为差异显著($P<0.01$)。下同。

Note: The datas with different letters in the same row have significant difference at 0.01 level. The same below.

2.2 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草发芽率的影响

从表2可以看出,3个品种黑麦草种子发芽率随 Hg^{2+} 浓度的增加均呈降低趋势,但不同品种间其耐受反应有所差异。“冬景”单一 Hg^{2+} 处理与对照相比均有显著差异,但复合处理下, Hg^{2+} 为5 mg/L时与对照没有差异,除T2外, Hg^{2+} +抗坏血酸处理与相同浓度的 Hg^{2+} 单一胁迫其发芽率有所提高,但低浓度时其作用效果不明显,高浓度(Hg^{2+} >100 mg/L)其效果较好。“德比极品”单一处理时,各处理间有显著差异,复合处理中,低浓度 Hg^{2+} 为5 mg/L时与对照没有差异,其余处理间均有差异。 Hg^{2+} >50 mg/L时严重抑制了种子发芽,与对照相比,单一处理时分别下降了42、56、82个百分点,而复合处理下,与单一处理相比均有所提高,分别提高了25、24、11个百分点。“泰德”种子发芽率趋势与

“冬景”和“德比极品”相同,即单一处理时各处理间均有显著差异,复合处理时对照组与T1处理间没有差异,高浓度汞严重制约了种子发芽,尤其汞为200 mg/L时,发芽率为0。发芽势高的种子,其种子活力高,出苗整齐,而发芽率高的种子出苗率高,但苗不一定整齐,也不一定粗壮。3个品种相比,发芽势和发芽率“冬景”都较高,说明“冬景”较其余2个品种耐性更强, Hg^{2+} +抗坏血酸处理具有缓解其毒害效应,但低浓度时缓解作用没有高浓度明显,对较高发芽率的“冬景”而言,其缓解作用不及“德比极品”和“泰德”。

表2 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草发芽率的影响

Table 2 Effects of single Hg^{2+} and Hg^{2+} with ascorbic acid combination treatment on the seed germination rate of ryegrass

处理	“冬景”	“Winter game”	“德比极品”	“Derby supreme”	“泰德”	“Ted”
Treatments	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理
CK	96a	96a	91a	91a	88a	88a
T1	89b	93a	86b	90a	82b	86a
T2	86bc	86b	80c	84b	77c	82b
T3	80cd	81bc	64d	79c	62d	77c
T4	76d	77c	49e	74d	40e	69d
T5	44e	55d	35f	59e	26f	42e
T6	25f	41e	9g	21f	—	12f

2.3 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草根长的影响

黑麦草在发芽过程中,先长芽后长根,且根的变化随处理浓度而有所不同,最先发芽长根时,根为白色,随处理时间的延长和胁迫浓度的增大,根尖严重受抑,根尖变粗变黑变烂,有些植株最后死亡。由表3可以看出,汞胁迫对3个品种黑麦草均有明显的抑制作用。汞浓度达50 mg/L时,根生长严重受阻,“冬景”单一处理时,在胁迫浓度为50、100 mg/L时分别与对照下降了92.3%和95.0%,胁迫浓度为200 mg/L时,种子仅发芽,不长根或根系变烂无法测量。复合处理时,抗坏血酸表现出一定的缓解作用,尤其在低浓度下,缓解效果比低浓度时好。“德比极品”和“泰德”根的变化与冬景相似,随处理浓度增加呈递减趋势,各处理间均有差异,高浓度时抑制作用最为明显。总体来说,3个品种中,根的长势“冬景”>“德比极品”>“泰德”。

表3 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草幼根的影响

Table 3 Effects of single Hg^{2+} and Hg^{2+} with ascorbic acid combination treatment on young root of ryegrass

处理	“冬景”	“Winter game”	“德比极品”	“Derby supreme”	“泰德”	“Ted”
Treatments	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理
CK	5.59a	5.59a	5.49a	5.49a	4.10a	4.10a
T1	4.78b	5.13b	4.85b	5.12b	3.72b	3.92a
T2	3.62c	4.29c	4.38c	4.81c	2.30c	3.36b
T3	3.78c	3.70d	3.12d	4.12d	1.88d	2.98c
T4	0.43d	1.16e	0.14e	3.10e	0.24e	1.99d
T5	0.28d	1.00e	0.10e	2.61f	0.20e	0.85e
T6	—	0.44f	—	0.46g	—	0.51e

2.4 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草芽长的影响

黑麦草在芽的萌发及生长时,随汞胁迫浓度增长,芽有不同的变化,部分芽弯曲变畸,部分基部变红,随处理时间的延长,有些芽全株变烂死亡。但总体观察,芽长远大于根长,主要因为在植物受重金属胁迫时,最先受伤害的部位是植物的根尖组织。由表4可以看出,汞胁迫对3种黑麦草均有抑制作用,随处理浓度的增加,芽长均呈递减趋势,各处理间均有显著差异。当汞浓度为200 mg/L时,严重抑制了芽的生长。

表4 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草芽长的影响Table 4 Effects of single Hg^{2+} and Hg^{2+} with ascorbic acid combination treatment on bud length of ryegrass cm

处理	“冬景”“Winter game”“德比极品”“Derby supreme”		“泰德”“Ted”			
Treatments	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理
CK	6.83a	6.83a	6.40a	6.40a	6.24a	6.24a
T1	6.44b	6.50b	5.55b	6.21a	5.16ab	5.17b
T2	5.88c	5.51c	4.79c	5.81b	4.28b	4.79c
T3	5.46d	5.12d	4.28d	4.78c	3.12c	3.99d
T4	5.18e	4.63e	4.03d	4.12d	2.66c	3.23e
T5	3.29f	3.33f	3.35e	3.71e	1.45d	2.41f
T6	1.31g	2.19g	0.74f	2.13f	—	1.12g

2.5 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草鲜重的影响

由表5可以看出,汞对黑麦草3个品种均有抑制作用,随着汞胁迫浓度的增大,植株的鲜重逐渐下降,单一处理和复合处理下均有显著差异。抗坏血酸的缓解作用依然表现为高浓度下表现最为明显,缓解效果也是对抗汞较强的“冬景”不如“德比极品”和“泰德”。

表5 Hg^{2+} 单一和复合处理对黑麦草鲜重的影响Table 5 Effects of single Hg^{2+} and Hg^{2+} with ascorbic acid combination treatment on fresh weight of ryegrass mg

处理	“冬景”“Winter game”“德比极品”“Derby supreme”		“泰德”“Ted”			
Treatments	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理	单一处理	复合处理
CK	9.56a	9.56a	10.95a	10.95a	10.80a	10.80a
T1	8.32b	8.91b	9.41b	9.88b	9.16b	9.43b
T2	7.43c	8.21c	8.12c	8.77c	8.01c	8.45c
T3	7.18c	7.85d	6.57d	7.56d	6.56d	7.89d
T4	6.82d	7.12e	4.27e	6.88e	5.98e	6.52e
T5	4.80e	6.21f	3.33f	5.42f	4.41f	4.57f
T6	3.10f	5.09g	1.22g	4.56g	—	3.21g

3 讨论

重金属中占“五毒”之一的汞为生物的非必须元素,具有较强的毒性。有报道认为, Hg^{2+} 能降低种子活力,抑制萌发代谢,抑制植物根伸长和细胞分裂^[7]。该研究得出,汞对黑麦草种子萌发有抑制作用,低浓度时就有毒害效应,这一点与某些学者的研究结论不一致,如杨保华等^[8]、杨肖娥等^[9]认为,低浓度 Hg^{2+} 可一定程度地刺激植物的生长,促进某些酶的活性。关于这一结论,不同学者持有不同意见,作者比较赞同朱志梅等^[10]引用的观点,诱变剂无论浓度多高,对生物的生理生化过程

都是有害的,只不过生物对诱变剂的反应是一个过程中的2种作用的效应。在诱变剂作用下,植物一方面应激产生保护作用,另一方面受到抑制毒害作用,这2种作用哪种占上风,由诱变剂的种类、处理剂量以及生物的不同代谢活动等因素决定^[11]。依据这一观点,试验观察发现,黑麦草种子24~48 h后即可发芽,且此时的芽健康情况和发芽数在不同处理浓度下几乎相同,甚或有些较高浓度下发芽数还相对高,这可能是植物的应激保护作用占了上风,随着处理时间的延长,其毒害作用比较强烈,植物种子萌发代谢发生了一系列变化,如根尖变短、变粗、变黑,黑麦草芽随处理浓度增大,茎基部变红且发红的长度与处理剂量呈正相关。

外源抗坏血酸对重金属胁迫下植物有保护作用已有报道,如AsA能有效缓解镉对黑藻的毒害^[12];AsA可以对小麦幼苗的铝毒害有一定的保护作用^[13]。该试验利用5 mg/L的抗坏血酸与 Hg^{2+} 复合处理研究它们的互作效应,结果得出,抗坏血酸具有缓解汞的毒害作用,这一作用在不同汞胁迫下均有效果,但高浓度下缓解效果更明显,这与马剑敏等^[14] Hg^{2+} 与POD复合处理对小麦萌发的作用结果有相似观点。

参考文献

- [1] 沈宗根,王立新,张海芸,等. 镉对镉、汞复合污染下豌豆生长发育效应的影响[J]. 北方园艺,2009(5):9-12.
- [2] 王立新,郁建峰,张泉波,等. 锌对汞胁迫下豌豆幼苗生长发育效应的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(20):8444-8446.
- [3] Muller-Moule P, Conklin P L, Niyogi K K. Ascorbate deficiency can limit violaxanthin de-epoxidase activity *in vitro* [J]. Plant Physiol, 2002, 128: 970-977.
- [4] Noctor G, Foyer C H. Ascorbic and glutathione keeping active oxygen under control[J]. Annu Rev Plant Physiol, Plant Mol Biol, 1998, 49: 249-279.
- [5] Hao X Z, Zhou D M, Si Y B. Revegetation of copper mine tailings with ryegrass and willow[J]. Edosphere, 2004, 14(3): 283-288.
- [6] 廖敏,黄昌勇. 黑麦草生长过程中有机酸对镉毒性的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(1): 109-112.
- [7] 周启星,孔繁翔,朱琳. 生态毒理学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 325-352.
- [8] 杨保华,官春云,陈剑红. 莴苣眼子菜、沼生水马齿对汞耐受性与浓缩性研究[J]. 湖南有色金属, 2004, 20(2): 36-39.
- [9] 杨肖娥,龙新宪,倪吾钟. 超积累植物吸收重金属的生理及分子机制[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 8-15.
- [10] 朱志梅,侯昭华,刘康,等. Hg^{2+} 对蚕豆根尖细胞的微核效应[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2008, 38(1): 96-98.
- [11] 赵宇玮,郝建国,步怀宇,等. 小麦耐甘磷醇变异细胞系的离体筛选及植株再生[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2005, 35(2): 184-190.
- [12] 许丙军,施国新,徐勤松,等. 外源抗坏血酸对镉胁迫下黑藻抗氧化系统的保护作用[J]. 应用生态学报, 2006, 17(9): 1768-1771.
- [13] 王洪政,沈振国. 根系抗坏血酸在小麦幼苗铝胁迫中的作用[J]. 西北植物学报, 2006, 26(4): 753-758.
- [14] 马剑敏,李今,张改娜,等. Hg^{2+} 与POD复合处理对小麦萌发及幼苗生长的影响[J]. 植物学通报, 2004, 21(5): 531-538.

峨眉含笑扦插繁殖研究

刘晓捷

(乐山师范学院 生命科学院, 四川 乐山 614000)

摘要:以 3、5、8、10 a 生健壮无病虫害的实生峨眉含笑为试材,采用 5 因素 4 水平正交实验设计,研究了母株年龄、激素种类、处理浓度、插条在激素中的浸泡时间和扦插基质对峨眉含笑扦插生根的影响。结果表明:对峨眉含笑生根影响最大的因素是母株年龄和植物生长调节剂的种类。峨眉含笑扦插的最佳组合是 $A_1B_4C_4D_1E_4$,即采用 3 a 生健康母株上的半木质化枝条,ABT1 生根剂 400 mg/L 浸泡处理 8 h 后扦插在腐殖土:珍珠岩 1:1 的基质中,嫁接苗易于生根。

关键词:峨眉含笑;扦插;正交实验

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2013)05-0063-03

峨眉含笑(*Michelia wilsonii*) 为木兰科含笑属乔木树种,别名威氏黄心树、峨眉白兰、黄木兰,是我国特有种^[1]。其树型优美,材质优良,是我国一些地区的园林绿化重要观赏树种和珍贵用材树种。除此以外,其花叶含芳香油^[2],可以抗菌防腐保鲜,是一类天然植物性添加剂,峨眉含笑是一种具有较高开发利用价值及极具发

展潜力的树种^[3]。

峨眉含笑是古老的濒危木兰科植物,在第 4 纪冰川时所受影响相对较小,其特定的进化历史决定了其分布的狭域性,目前峨眉含笑主要分布在四川的沐川、洪雅、平武、峨眉山和重庆市金佛山等地,自然种群通常较小,野外资源稀少,对生态环境的要求比较严格,仅生于海拔 900~1 700 m 的阔叶林中。长期以来由于自然灾害及人为破坏等原因使得峨眉含笑的生境受到严重破坏,加上其生长缓慢,结实率小,种子发芽率低,自然更新能力弱,林下几乎无实生苗,从而使峨眉含笑植株量越来

作者简介:刘晓捷(1981-),女,硕士,讲师,现主要从事植物生理生态及园林树木花卉研究工作。E-mail:zeta2003188@126.com

收稿日期:2012-11-05

Study on Single Hg^{2+} and Hg^{2+} with Ascorbic Acid Combination Treatment on Toxic Effect of Ryegrass

WU Li-fang^{1,2}, LU Wei-dong¹

(1. College of Biologic Resource and Environmental Science, Qujing Normal University, Qujing, Yunnan 655011; 2. School of Agriculture and Biological Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201)

Abstract: Taking 3 varieties ryegrass 'Winter game', 'Derby supreme' and 'Ted' as test materials, the effect of single Hg^{2+} and Hg^{2+} with ascorbic acid combination treatment on seed germination and seedling growth of ryegrass were studied. The results showed that Hg^{2+} had inhibition and its effect was different between three varieties. Seed germination potential of 'Winter game' did not show significant with concentration of Hg^{2+} at 0~10 mg/L in alone treatment. When Hg^{2+} reached up 100 mg/L, the inhabitation was very obvious. Compared with control, germination potential decreased 48% in Hg^{2+} 100 mg/L treatment, and in Hg^{2+} 200 mg/L treatment, seed germination obstructed seriously. Germination rate of three varieties had differences and decreased progressive between every treatments. The change trend of root length, bud length and biomass were consistent, and correlated negatively with Hg^{2+} concentration. Hg^{2+} and ascorbic acid combination treatment had certain soothing effects which was obvious in high concentration. The soothing effects for resistant mercury 'Winter game' was lower 'Derby supreme' and 'Ted'. Generally, 'Winter game' for resistant mercury ability was the strongest, second 'Derby supreme', third 'Ted'.

Key words: ryegrass; germination; Hg; ascorbic acid