

梁慧娟, 闫明, 李钧敏. 连续 2 代铜胁迫处理对海州香薷种子形态大小、萌发及幼苗生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(2): 209–212. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.02.053

连续 2 代铜胁迫处理对海州香薷种子形态大小、萌发及幼苗生长的影响

梁慧娟^{1,2,3}, 闫明¹, 李钧敏^{2,3}

(1. 山西师范大学生命科学学院, 山西临汾 041004; 2. 浙江省植物进化生态学与保护重点实验室, 浙江台州 318000;

3. 台州学院生态研究所, 浙江台州 318000)

摘要:以经过实验室连续 2 代重金属铜胁迫处理的海州香薷种群和对照种群的种子为供试材料, 探讨铜胁迫对海州香薷种子形态、萌发以及幼苗生长的影响。结果表明: 连续 2 代铜胁迫处理的海州香薷种群的种子表面积、周长、长度和宽度均显著低于对照种群; 在多数铜浓度下, 铜胁迫处理种群的种子活力指数明显低于对照种群; 在铜浓度为 5、100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 铜胁迫处理种群后代的胚轴长度显著低于对照种群; 在铜浓度为 5、500 $\mu\text{mol/L}$ 时, 铜胁迫处理的海州香薷种群幼苗的胚根长度显著高于对照种群; 在铜浓度为 5、20、100、250 $\mu\text{mol/L}$ 时, 铜胁迫处理种群后代的胚轴鲜质量要显著低于对照种群; 在铜浓度为 100、500 $\mu\text{mol/L}$ 时, 铜胁迫处理种群后代的胚根鲜质量显著低于对照种群。

关键词:海州香薷; 重金属; 铜胁迫处理; 种子萌发; 幼苗生长

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)02-0209-03

目前, 由于人类活动(如采矿等)所带来的土壤重金属污染已经成为全球环境污染治理的难题与焦点^[1]。重金属铜(Cu)既是植物光合作用、电子呼吸传递、蛋白质代谢、抗氧化反应等代谢过程所必需的元素, 同时过量的铜又对植物生长和发育具有强烈抑制作用^[2]。因此, 寻找铜耐受或超积累植物已成为铜污染区域的植被恢复或修复的主要途径之一^[3]。

海州香薷(*Elsholtzia splendens*)为唇形科香薷属的一年生草本植物, 别称“铜草”和“铜草花”, 广泛分布于我国的长江中下游地区。近年来的研究证实, 海州香薷对铜具有较高的耐性和较强的累积能力, 其根部铜含量高, 在铜矿区生长异常旺盛, 是矿区的优势种之一, 为铜矿的指示植物, 是一种有潜力的修复植物^[4-6]。当前较多研究集中在海州香薷对铜富集能力、光合作用、根系分泌物、铜结合蛋白质等一些生理生化机制上, 对其后代适合度影响的研究较少, 尤其是有关海州香薷的适应性进化几乎没有研究涉及。

种子作为植物的后代, 其形态是植物在长期进化过程中对环境适应的结果^[7], 它与种子数量、扩散对策及幼苗竞争能力有密切关系, 进而影响植物适合度的大小^[8]。种子萌发是植物最早接受重金属胁迫的阶段, 也是评价植物重金属耐性的重要指标。在植物生长过程中, 早期的幼苗大小是植物生存适合度的最主要指标^[9], 反映了子代幼苗建群的能力^[10]。有学者等采用溶液培养的方法, 发现海州香薷种子的发芽率随着铜浓度的升高而先升后降, 铜处理可以显著抑制海州香薷胚根与胚轴的生长。目前尚未见通过多代培养试验

来分析铜胁迫对海州香薷后代适合度影响的相关报道。

本研究以经过连续 2 代重金属铜胁迫的海州香薷种群和对照(同步培养 2 代, 未经过铜胁迫处理的海州香薷种群)种子为供试材料, 分析铜胁迫对海州香薷后代种子大小、种子萌发率及幼苗生长的影响, 以更深入地认识该植物响应铜胁迫的生长与发育规律。

1 材料与方法

1.1 试验材料

于 2013 年在湖北省红安县华河镇的几个自然村周围, 在无 Cu 污染的背景下, 随机采集相应的海州香薷种子。于 2014 年 5 月上旬对种子进行杀菌处理(0.5% 次氯酸钠)后放入 48 孔穴盘中萌发, 待植物幼苗长至 6 叶苗龄时, 取相似大小的幼苗进行移栽, 采用筐栽方法进行重金属驯化。培养基质由泥炭土、河沙、蛭石按 6:3:1 的比例混合而成, 基质均于 121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 2 h。Cu 处理为添加 CuSO_4 (分析纯)溶液(0.16 mol/L)至终浓度达 1 000 mg/kg 的土壤; 对照(CK)添加等体积的无菌水, 作为不添加 Cu 处理。处理后将土壤放在大棚中平衡 1 周后移栽海州香薷, 每筐栽种 80 株。每个处理 6 次重复。于同年 12 月底收获种子, 备用。2015 年 5 月开始参照 2014 年的方法对已收获的海州香薷种子进行第 2 次重金属驯化, 于同年 12 月底收获二代试验种子, 备用。

1.2 种子大小及形态分析

随机抽取 2 个处理二代海州香薷种子各 1 000 粒, 用精确度为万分之一的天平称其千粒质量, 每筐种子重复 3 次。再随机选取 10 粒种子, 均匀撒在 Epson 扫描仪的玻璃板上, 扫描获得图像后, 用 SmartGrain 软件直接分析种子的形态指标, 获得种子表面积、周长、长度、宽度和长宽比。

1.3 种子萌发试验

随机抽取 2 个处理的二代海州香薷种子, 用 0.3% 次氯

收稿日期: 2017-01-24

基金项目: 浙江省自然科学基金(编号: LY12C03002)。

作者简介: 梁慧娟(1991—), 女, 山西大同人, 硕士研究生, 主要从事植物生态学研究。E-mail: 529724328@qq.com。

通信作者: 闫明, 博士, 副教授, 主要从事生态学研究。Tel: (0357) 2051750; E-mail: mycorrhiza@sina.com。

酸钠表面消毒 20 min,用蒸馏水冲洗干净后,置于恒温光照培养箱中萌发(25 ℃、16 h 光照+20 ℃、8 h 黑暗),用不同 Cu²⁺ 浓度(0、5、20、100、250、500、1 000、2 000 μmol/L)溶液(主要成分为 CuSO₄·5H₂O)处理 9d。每个培养皿放置 25 粒种子,共 3 个重复。将处理后的种子以 5×5 的方阵形式整齐摆放在铺有双层滤纸的 90 mm 培养皿中,并添加等量的不同浓度的铜溶液,使滤纸完全湿润,置于恒温光照培养箱中萌发,于每天的固定时间统计种子发芽数,当胚根长度大于 2 mm 时计为萌发,并用移液枪统一补充适量铜溶液。在第 3 天统计发芽势,在第 8 天统计发芽率。

1.4 幼苗生长指标测定

在第 9 天,用电子游标卡尺和电子天平测量幼苗的胚轴长度、胚根长度、胚轴鲜质量和胚根鲜质量,并分别按以下公式计算发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数等指标^[11]:

发芽率(G_r) = ($\sum G_i/N$) × 100% ;

发芽势(G_e) = 3 d 内发芽种子数/ N ;

发芽指数(G_i) = ($\sum G_i/D_i$) ;

活力指数(V_i) = $G_i \times S$ 。

式中: G_i 为在 t 天的发芽数,粒; D_i 为相应的发芽时间,d; N 为种子总数,粒; S 为幼苗长度,mm。

1.5 数据分析

采用 Excel 2010、SPSS 17.0 对数据进行统计分析,采用独立样本 t 检验比较种群间各项指标平均数间差异的显著性($\alpha=0.05$),采用 Origin 8.5 软件辅助作图。

2 结果与分析

2.1 铜胁迫对海州香薷种子形态及大小的影响

由表 1 可以看出,与对照相比,铜胁迫处理 2 代后海州香薷种子表面积、周长、长度和宽度均显著低于对照种群,但种子长宽比与种子千粒质量没有明显变化。

表 1 铜驯化种群与无驯化种群海州香薷种子形态指标及千粒质量

种群类别	种子表面积 (mm ²)	种子周长 (mm)	种子长度 (mm)	种子宽度 (mm)	种子长宽比	种子千粒质量 (g)
无驯化(CK)	0.24 ± 0.03a	1.86 ± 0.11a	0.69 ± 0.04a	0.50 ± 0.02a	1.39 ± 0.04a	0.236 6 ± 0.02a
铜驯化	0.20 ± 0.03b	1.71 ± 0.12b	0.63 ± 0.04b	0.46 ± 0.03b	1.38 ± 0.04a	0.223 3 ± 0.00a

注:表中数据格式为“平均值±SD”。同列数据后标有不同小写字母者表示处理间存在显著性差异($P<0.05$)。

2.2 铜处理对不同种群海州香薷种子萌发的影响

由图 1、图 2 可见,随着铜浓度增加,2 个种群的海州香薷种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数大致呈先升高后降低的趋势,表明高浓度的铜处理可以显著抑制海州香薷种子的萌发。不管是在哪个铜浓度下,2 个海州香薷种群的种子发芽率、发芽指数和第 3 天的发芽势均不存在显著差

异,但铜胁迫处理种群的种子活力指数始终明显低于对照种群。

2.3 铜处理对不同种群海州香薷幼苗生长的影响

由图 3、图 4 可以看出,随着铜浓度的增加,海州香薷幼苗胚根和胚轴长度、鲜质量先逐渐升高再逐渐降低,表明高浓度的铜处理可以显著抑制海州香薷的幼苗生长。当铜浓度为

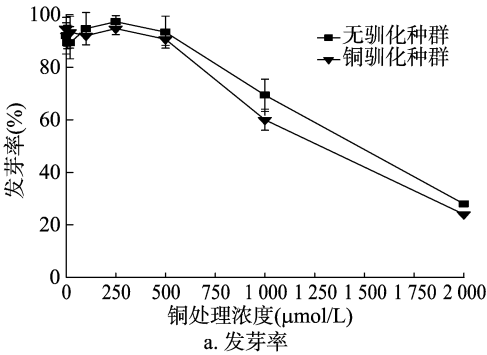


图1 铜处理对不同种群海州香薷种子发芽率、发芽势的影响

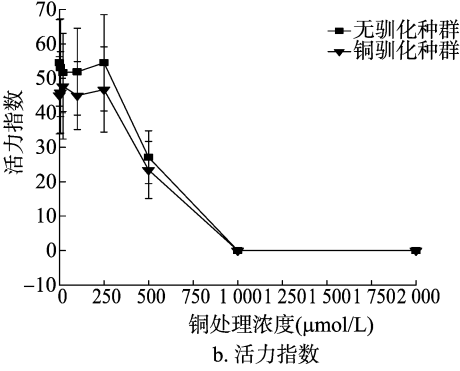
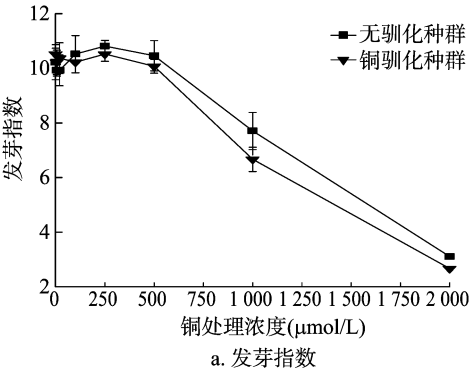
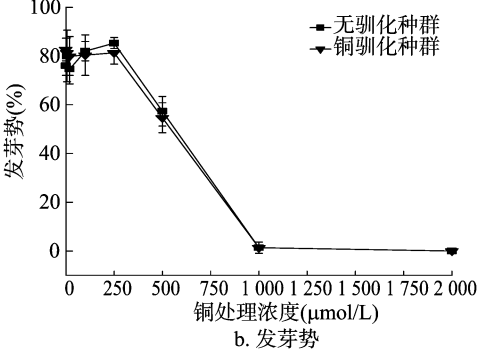
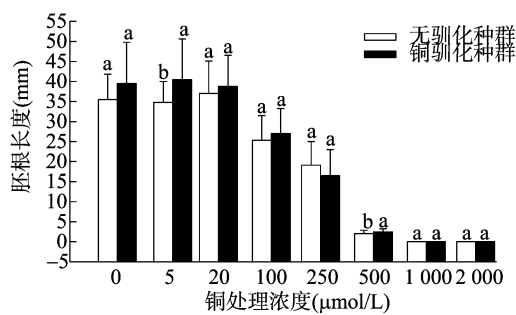
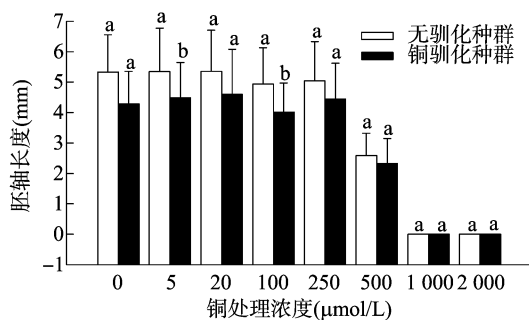


图2 铜处理对不同种群海州香薷种子发芽指数、活力指数的影响



同一铜浓度的不同处理间标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同图

图3 铜处理对不同种群的海州香薷胚轴长度、胚根长度的影响

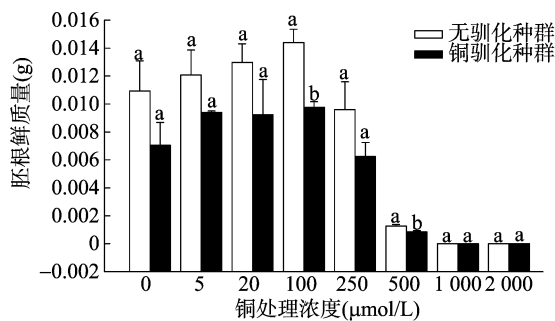
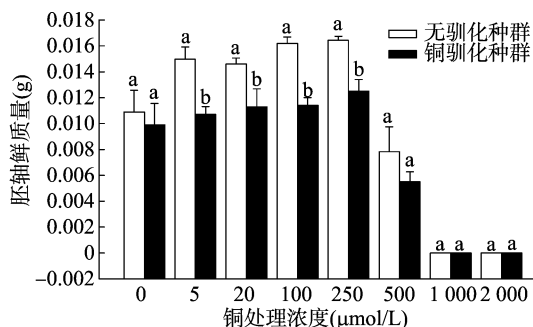


图4 铜处理对不同种群的海州香薷胚轴鲜质量、胚根鲜质量的影响

5、100 $\mu\text{mol/L}$ 时,铜胁迫处理种群的胚轴长度显著低于对照种群;但胚根长度在铜浓度为 5、500 $\mu\text{mol/L}$ 时显著高于对照种群。在铜浓度为 5、20、100、250 $\mu\text{mol/L}$ 时,铜胁迫处理种群的胚轴鲜质量要显著低于对照种群,而在铜浓度为 100、500 $\mu\text{mol/L}$ 时的胚根鲜质量也显著低于对照种群。

3 讨论

种子萌发是健全的种子在充足的水分、适宜的温度和足够的氧气等适宜条件下,能够发芽并长成正常植株的能力。发芽率和发芽势能较好地反映种子萌发的速度、整齐性,发芽指数、活力指数是种子萌发的综合指标,能更全面地反映种子萌发期耐受重金属的能力^[11]。植物幼苗生长快慢可以反映植物生长形态的特征,也可以反映植物后期的生长状况^[12]。重金属对种子萌发的影响存在低浓度下的刺激效应和高浓度下的抑制作用^[13]。本研究发现,不管是铜胁迫处理过的海州香薷种群的种子还是对照种群的种子,其发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数、胚根和胚轴长度及鲜质量在响应不同浓度铜处理时均存在“低促高抑”的现象。过量的铜会对植物产生毒害,可降低植株的存活率、降低生物量、延迟开花和果实成熟时间以及籽粒的发育等^[3]。鱼小军等发现,随着铜浓度的增大,显著抑制了 7 种豆科牧草种子的发芽及幼苗生长^[14]。王丹等也证实,高含量铜对小白菜种子萌发、幼苗生长产生显著抑制作用^[15]。本研究发现,1 000 mg/kg 铜胁迫处理 2 代的海州香薷种群的种子表面积、周长、长度和宽度均显著低于对照种群;不管是在哪个铜浓度下,铜胁迫处理种群的种子活力指数始终明显低于对照种群;在铜浓度为 5、100 $\mu\text{mol/L}$ 时,铜胁迫处理种群后代的胚轴长度显著低于对照种群;在铜浓度为 5、20、100、250 $\mu\text{mol/L}$ 时,铜胁迫处理种

群后代的胚轴鲜质量要显著低于对照种群;在铜浓度为 100、500 $\mu\text{mol/L}$ 时,铜胁迫处理种群后代的胚根鲜质量显著低于对照种群。这些结果表明,1 000 mg/kg 重金属铜连续处理 2 代可显著抑制海州香薷种子的发育、种子萌发及幼苗生长。李月灵研究也发现,铜处理可以推迟海州香薷的始花期、开花高峰期、终花期,缩短花期持续时间,使植物花序宽、花序生物量、种子总数量、总质量显著下降^[3],从而降低了海州香薷后代的适合度。

重金属会对生物产生的一定的影响,而生活在重金属环境中的生物也会对重金属产生一定的适应性^[16]。驯化在动物与微生物研究中应用较多。近年来的研究发现,植物会在长期进化中演变出耐受重金属的多种响应机制^[17]。重金属处理可以显著降低种子千粒质量^[3]。本研究发现,铜胁迫连续处理 2 代的海州香薷种群的千粒质量与对照种群相似,表明铜胁迫处理 2 代后,海州香薷种子的成分组成可能发生了适应性改变,虽然表面积变小,但质量变化不大。本研究还发现,在铜浓度为 5、500 $\mu\text{mol/L}$ 时,铜胁迫处理 2 年的海州香薷种群幼苗的胚根长度显著高于对照种群,表明铜胁迫处理 2 代后,海州香薷幼苗会提高胚根长度以增强幼苗对外界养分的捕获能力,从而减缓铜胁迫对后代生长的抑制作用^[3]。后续研究将继续增加培养代数,以进一步确认海州香薷对铜胁迫的快速适应性进化发生的可能性及机制。

参考文献:

- [1] Li J M, Jin Z X, Gu Q P. Effect of plant species on the function and structure of the bacterial community in the rhizosphere of lead - zinc mine tailings in Zhejiang, China [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2011, 57 (7): 569 - 577.

尤 笛,蒋金豹,郭海强,等. 低丘缓坡地空间拓展的主成分聚类分析评价[J]. 江苏农业科学,2018,46(2):212-216.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.02.054

低丘缓坡地空间拓展的主成分聚类分析评价

尤 笛¹, 蒋金豹¹, 郭海强¹, 尤 倩²

[1. 中国矿业大学(北京)地球科学与测绘工程学院,北京 100083; 2. 沈阳工业大学理学院,辽宁沈阳 110870]

摘要:土地资源紧缺制约着社会经济的发展,开发低丘缓坡地是解决人地矛盾、优化土地配置的有效举措。以福建省邵武市为研究区域,从空间区位、自然地理、社会经济、生态环境 4 个方面构建评价指标体系。基于 GIS 和 RS 技术,综合运用主成分分析法(principal component analysis,PCA)对邵武市低丘缓坡地进行适宜性综合评价,并通过 K-均值聚类分析(K-means clustering analysis)将建设用地适宜性分为 4 类。结果表明,福建省邵武市低丘缓坡土地资源总面积为 119 512.71 hm²,占邵武市总面积的 41.83%;其中最适宜、较适宜面积达 44 529.57 hm²,占低丘缓坡资源的 37.26%,集中分布在中心城区附近,涉及主要乡(镇)有城郊镇、水北镇等。该评价结果与规划文本相吻合,不仅能为邵武市开发低丘缓坡地提供合理的科学依据,还能为各乡(镇)制定区域规划政策指引方向。

关键词:低丘缓坡;适宜性评价;主成分分析;K-均值聚类分析;规划文本;定量分析;定性分析;政策建议

中图分类号: F323.212 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)02-0212-05

在国家“一带一路”战略构想下,国家发展和改革委员会等联合发布《推动共建丝绸之路经济带和 21 世纪海上丝绸之路的愿景与行动》,打造以福建省为“海上丝路”核心的经济枢纽。福建省有着“八山一水一分田”的地理格局,境内山地丘陵约占 90%,建设用地严重不足,无法承载 21 世纪海上丝绸之路核心区的建设。解决这一问题的关键就是加快土地后备资源的开发,即低丘缓坡的建设用地空间拓展。为此,

收稿日期:2016-08-11

基金项目:国土资源部公益性行业科研专项(编号:201411003)。

作者简介:尤 笛(1991—),女,辽宁鞍山人,硕士研究生,主要从事土地利用、多光谱及高光谱遥感等理论及应用研究。E-mail:1530678555@qq.com。

2014 年 4 月在福建省国土资源厅下发《关于创建节地型、生态型低丘缓坡土地开发利用示范(片)区的通知》后,将邵武市确定为低丘缓坡地示范区。而在开发低丘缓坡地之前,须要对其建设用地的空间拓展进行适宜性评价,以期提供科学合理的参考。低丘缓坡指地形起伏适中,坡度小于 25°且具备一定成片开发利用规模的山坡地和荒滩区域^[1],广泛分布在我国东南沿海,浙闽交界的武夷山脉区域。近年来,低丘缓坡土地资源的适宜性评价越来越受到学者的关注。罗鹏等基于“3S”技术,结合特尔斐法、层次分析法对浙江金衢地区低丘红壤土地的开发利用潜力进行综合评价^[2];朱晓芸以浙江省余姚市为例,在 GIS 和 RS 支持下,充分考虑地形、植被覆盖、土壤及区位等因素,对研究区低丘缓坡耕地开发利用潜力

[2] Kamali M, Pour M S, Moud A A M. Copper effects on growth parameters of hollyhock (*Althaea rosea* L.) [J]. Journal of Ornamental and Horticultural Plants, 2012, 2(2): 95-101.

[3] 李月灵. 接种丛枝菌根真菌对海州香薷耐受铜胁迫的影响及机制[D]. 上海:上海师范大学,2014:59-73.

[4] 柯文山,席红安,杨 毅,等. 大冶铜绿山矿区海州香薷(*Elsholtzia haichowensis*)植物地球化学特征分析[J]. 生态学报, 2001, 21(6): 907-912.

[5] 柯文山,熊治廷,金则新,等. 海州香薷(*Elsholtzia haichowensis* Sun)不同生态型 Cu 吸收和酸性磷酸酶活性差异[J]. 生态学报, 2007, 27(8): 3172-3181.

[6] Ke W S, Xiong Z T, Chen S J, et al. Differences of Cu accumulation and Cu-induced ATPase activity in roots of two populations of *Elsholtzia haichowensis* Sun [J]. Environmental Toxicity, 2008, 23(2): 193-199.

[7] 周 旋,何正飏,康宏樟,等. 温带-亚热带栓皮栎种子形态的变异及其与环境因子的关系[J]. 植物生态学报, 2013, 37(6): 481-491.

[8] 王桔红,杜国祯,崔现亮,等. 青藏高原东缘 61 种常见木本植物种子萌发特性及其与生活史的关联[J]. 植物生态学报, 2009, 33

(1): 171-179.

[9] 武高林,杜国祯. 植物种子大小与幼苗生长策略研究进展[J]. 应用生态学报, 2008, 19(1): 191-197.

[10] 张丽坤,王 朔,冯玉龙. 紫茎泽兰种子形态特征和萌发特性与其入侵性的关系[J]. 生态学报, 2014, 34(13): 3584-3591.

[11] 陈俊任,柳 丹,吴家森,等. 重金属胁迫对毛竹种子萌发及其富集效应的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(22): 6501-6509.

[12] 张凡凡,于 磊,鲁为华,等. 不同驯化年限野生线叶野豌豆种子特性及幼苗耐寒性[J]. 草业科学, 2013, 30(11): 1771-1777.

[13] 陈 伟,张苗苗,宋阳阳,等. 重金属胁迫对 4 种草坪草种子萌发的影响[J]. 草地学报, 2013, 21(3): 556-563.

[14] 鱼小军,张建文,潘涛涛,等. 铜、镉、铅对 7 种豆科牧草种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 草地学报, 2015, 23(4): 793-803.

[15] 王 丹,魏 威,王松山,等. 铜、铬单一及复合污染对小白菜种子萌发及根长的生态毒性[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(12): 63-68, 74.

[16] 徐 池. 重金属 Cu 对蚯蚓的驯化研究[D]. 南京:南京农业大学, 2012: 38-46.

[17] 李 洋,于丽杰,金晓霞. 植物重金属胁迫耐受机制[J]. 中国生物工程杂志, 2015, 35(9): 94-104.