

网络出版时间:2021-12-10 17:40

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2022.06.003

网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20211209.0912.004.html

外源低分子有机酸对铜胁迫下 珊瑚樱种子萌发的影响

李芹梅,潘曲波,闻永慧,夏小丽,彭麟迪,汪琼

(西南林业大学 园林园艺学院,国家林业和草原局西南风景园林工程技术研究中心,云南省功能性花卉资源及
产业化技术工程研究中心,云南 昆明 650224)

【摘要】【目的】探究苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发的影响,筛选其最适外施浓度,为分析重金属胁迫下有机酸缓解作用和植物反应机制提供参考。【方法】以珊瑚樱为试材,用不同质量浓度铜胁迫(0,10,20,40,60,80,100 mg/L)处理,通过测定种子萌发指标筛选铜对珊瑚樱种子的半致死浓度。在此基础上,依据珊瑚樱果实中低分子量有机酸(苹果酸和柠檬酸),研究不同浓度(1,3,5 和 10 mmol/L)苹果酸和柠檬酸对铜胁迫(40 mg/L)下珊瑚樱种子萌发参数(发芽时间、发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数和芽长)和根系活力的影响,运用主成分分析(PCA)和聚类分析对 2 种有机酸缓解铜胁迫下珊瑚樱种子的效果进行综合评价。【结果】(1)当铜质量浓度为 40 mg/L 时,珊瑚樱种子发芽显著受抑($P<0.05$),且活力指数和芽长受抑程度均达到 50%。(2)当外源苹果酸浓度为 5 mmol/L 时,珊瑚樱种子发芽率、发芽指数和活力指数均达到最大值,与 Cu_{40} 处理相比,分别提高了 24.02%,42.49% 和 50.49%,均有显著性差异;不同浓度外源柠檬酸仅能提高珊瑚樱种子发芽率,当柠檬酸浓度为 1,3,5 和 10 mmol/L 时,发芽率分别提高了 5.25%,9.68%,10.78% 和 11.90%。(3)与 Cu_{40} 处理相比,当外源苹果酸浓度为 5 mmol/L 时,珊瑚樱根系活力提高 19.27%;其浓度为 10 mmol/L 时,会抑制种子发芽后幼苗生长。柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱根系活力没有起到缓解作用。(4)主成分分析和聚类分析表明,活力指数是评价有机酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发缓解作用的重要参数;5 mmol/L 苹果酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发的缓解效果最佳。【结论】外源苹果酸缓解铜胁迫下珊瑚樱受害的效果显著优于柠檬酸,且缓解作用表现出低促高抑的剂量效应。

【关键词】珊瑚樱;种子萌发;铜胁迫;苹果酸;柠檬酸

【中图分类号】S686.01

【文献标志码】A

【文章编号】1671-9387(2022)06-0020-08

Effect of exogenous low-molecular-organic acids on seed germination of *Solanum pseudocapsicum* L. under copper stress

LI Qinmei, PAN Qubo, WEN Yonghui, XIA Xiaoli, PENG Lindi, WANG Qiong

(Yunnan Engineering Research Center for Functional Flower Resources and Industrialization, Southwest Research Center for
Engineering Technology of Landscape Architecture(State Forestry and Grassland Administration), College of Landscape
Architecture and Horticultural Science, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China)

Abstract: 【Objective】 This study explored the effects of malic acid and citric acid on seed germination of *Solanum pseudocapsicum* and screened optimal application concentration to provide basis for understanding the alleviating effect of organic acids and plant response mechanisms under heavy metal stress. 【Method】 The semi-lethal concentration of copper on seeds of *Solanum pseudocapsicum* was screened by measuring germination rate and other indicators. Using this concentration (Cu_{40}) as control, the effects of

【收稿日期】 2021-08-02

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31760234);云南省教育厅项目(11070664)

【作者简介】 李芹梅(1992—),女,四川巴中人,在读硕士,主要从事风景园林植物资源研究。E-mail:466433251@qq.com

【通信作者】 汪琼(1974—),女,湖北鄂州人,硕士生导师,主要从事园林植物与观赏园艺研究。E-mail:1006078164@qq.com

malic acid and citric acid at different concentrations (1,3,5 and 10 mmol/L) on seed germination parameters (germination time, germination percentage, germination potential, germination index, vigor index and shoot length) and root activity of *Solanum pseudocapsicum* under copper stress (40 mg/L) were studied. Principal component analysis and cluster analysis were used to comprehensively evaluate and compare the effects of two organic acids on relieving copper stress in *Solanum pseudocapsicum* seeds. 【Result】 (1) When the copper concentration was 40 mg/L, the germination rate was significantly inhibited ($P < 0.05$), and the vigor index and shoot length were inhibited above 50%. (2) When the concentration of exogenous malic acid was 5 mmol/L, the germination percentage, germination index and vigor index of *Solanum pseudocapsicum* seeds were increased significantly by 24.02%, 42.49% and 50.49% and reached their maximum. Exogenous citric acid only improved the germination rate by 5.25%, 9.68%, 10.78% and 11.90% when the concentrations were 1,3,5 and 10 mmol/L, respectively. (3) Compared with the copper stress treatment (Cu_{40}), the root activity increased by 19.27% when malic acid was 5 mmol/L, and the growth of buds after germination was inhibited with the concentration greater than 10 mmol/L. Citric acid did not alleviate the root activity of *Solanum pseudocapsicum* under copper stress. (4) The principal component analysis (PCA) and cluster analysis showed that the vigor index was an important parameter to evaluate the alleviating effects of organic acids on the germination of *Solanum pseudocapsicum* seeds under copper stress. Malic acid at concentrations of 5 mmol/L had the best effects. 【Conclusion】 The effect of exogenous malic acid on alleviating copper stress damage was significantly better than that of citric acid on *Solanum pseudocapsicum* with promoting effects in low doses and inhibiting effects in high doses.

Key words: *Solanum pseudocapsicum*; seed germination; copper stress; malic acid; citric acid

重金属污染是全球性问题,也是人们关注的焦点。铜是植物必需的微量营养元素,但过量时会有害,妨碍植物生长和新陈代谢^[1]。2014年发布的《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国土壤重金属总的点位超标率为16.1%,其中铜污染位居第4位,点位超标率占2.1%^[2]。因此,对铜污染土壤防治措施研究具有重要意义。

外源化学品处理是一种简单易行、见效快的降解植物重金属毒性的方法^[3]。苹果酸和柠檬酸作为重要的低分子有机酸,参与植物生理代谢过程,对植物耐旱性、耐寒性、抗养分胁迫和抗重金属胁迫能力等具有调节作用^[4-5]。研究表明,添加适量有机酸对植物种子萌发、生长有显著影响,能增加植株生物量。庄正等^[6]发现,低浓度苹果酸和柠檬酸能促进杉木种子萌发及幼苗生长。低浓度柠檬酸浸种能提高番茄种子发芽率、发芽势和发芽指数^[7]。15%柠檬酸浸种能提高苦荞种子萌发率,促进幼苗生长^[8]。植物根系分泌的有机酸能提高其根系活力,促进养分吸收和幼苗根系生长^[9-10]。詹淑威等^[11]发现加入苹果酸和柠檬酸能显著提高小飞扬草根系活力、减小根细胞膜透性。镉胁迫下加入柠檬酸能使苕麻根系活力上升,缓解重金属毒性^[12]。铝胁迫下植株根系会分泌柠檬酸和苹果酸来抵御铝毒害,缓解根际

铝毒^[13-14]。

珊瑚樱(*Solanum pseudocapsicum* L.)是茄科茄属常绿小灌木,其果实为球形,观赏期达3个月以上,是深受人们喜爱的观果植物^[15-16]。前期研究发现,珊瑚樱果实中含有大量低分子有机酸,主要成分为苹果酸和柠檬酸。有机酸能与重金属离子络合,通过植物吸收、运输、积累等过程,降低重金属毒性^[5,17]。在重金属胁迫下,不同浓度有机酸可能会影响珊瑚樱生理代谢(如种子萌发、根系活力等)。因此,可考虑将珊瑚樱作为修复重金属土壤污染的植物材料。目前有关苹果酸和柠檬酸对重金属胁迫下珊瑚樱种子萌发的影响研究报道很少。鉴于此,本研究以珊瑚樱种子为试验材料,研究不同浓度苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发的影响,以充实有机酸缓解重金属毒害作用的理论数据,为后续深入研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

成熟珊瑚樱果实采自西南林业大学一号门(E102°44'49", N25°03'50")旁边。

1.2 试验设计

1.2.1 珊瑚樱果实中有机酸成分提取 采集成熟

珊瑚樱果实 19.02 g(鲜质量),捣碎后用 200 mL 甲醇浸泡 48 h 并过滤,滤液用旋转蒸发仪浓缩至 20 mL 后用石油醚等体积萃取 3 次,下层溶液真空浓缩后用色谱纯甲醇溶解,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后得到待测样品。

1.2.2 铜质量浓度筛选 挑选籽粒饱满均匀的珊瑚樱种子,在室温下浸种 6 h。设置 7 个质量浓度的 CuSO₄ 处理,分别为 0(CK),10,20,40,60,80 和 100 mg/L。在培养皿底部铺 2 层定性滤纸,每个处理放 40 粒种子,加入 5 mL 处理液,每个处理重复 5 次。将培养皿放置于(25±1)℃的培养箱中进行常规催芽。种子萌发期间,每天上午 10:00 观察、记录种子发芽数,更换滤纸并施加处理液。

1.2.3 苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子的处理 根据 1.2.1 和 1.2.2 试验结果,发现在半致死状态下,CuSO₄ 溶液质量浓度为 40 mg/L,将此设置为铜胁迫水平。外源分别施加苹果酸(MA)和柠檬酸(CA)对珊瑚樱种子进行处理,其浓度分别为 1,3,5 和 10 mmol/L。试验共设置 9 个处理,分别为 Cu₄₀(pH 5.81),Cu₄₀+MA₁(pH 3.31),Cu₄₀+MA₃(pH 3.05),Cu₄₀+MA₅(pH 2.83),Cu₄₀+MA₁₀(pH 2.60),Cu₄₀+CA₁(pH 3.20),Cu₄₀+CA₃(pH 2.72),Cu₄₀+CA₅(pH 2.62)和 Cu₄₀+CA₁₀(pH 2.44),其余处理方式同 1.2.2。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 有机酸成分 采用 HPLC-LTQ-Orbitrap(美国赛默飞世尔科技公司)XL 测定珊瑚樱果实中的有机酸成分,通过 Thermo xcalibur qual browser 筛选软件建立各化合物的分子式数据库信息表,设立正离子模式下 H⁺ 和 Na⁺ 2 种加合物离子,化合

物筛选的离子提取窗口宽度为 3×10⁻⁶。

1.3.2 种子萌发指标 以胚根长 2 mm 作为发芽标准,每 24 h 统计 1 次发芽数,记录第 1 粒种子发芽时间和种子萌发峰值时的时间,第 4 天计算发芽势,第 8 天终止珊瑚樱种子萌发试验,从 5 个重复中随机取样 10 株用游标卡尺测量珊瑚樱芽长,精确到 0.01 cm,参考郝俊峰等^[18]的方法计算萌发指标:

发芽率=(第 8 天发芽种子数/供试种子总数)×100%。

发芽势=(第 4 天发芽种子数/供试种子总数)×100%。

发芽指数=Σ(*t* 天的发芽数/相应的发芽时间)。

活力指数=芽长×发芽指数。

平均发芽速率=Σ(第 *t* 天的发芽数×相应发芽粒数)/总发芽粒数。

1.3.3 根系活力 采用 TTC 法^[19]对珊瑚樱根系活力进行测定。

1.4 数据处理

采用 Excel 2010 和 SPSS 26.0 软件,对苹果酸和柠檬酸处理铜胁迫下珊瑚樱种子受抑的缓解作用进行相关性分析、主成分分析和聚类分析,绘图用 Origin 2021 软件完成。

2 结果与分析

2.1 珊瑚樱果实中的有机酸成分

通过高分辨质谱的精确相对分子量等结构信息,确定珊瑚樱果实含有的有机酸主要为苹果酸和柠檬酸,其 Na⁺ 加合物离子精确相对分子质量、强度等见表 1。

表 1 成熟珊瑚樱果实中的有机酸成分

Table 1 Determination of organic acids in mature *Solanum pseudocapsicum* fruits

序号 Serial number	化合物名称 Chemical compound	分子式 Molecular	相对分子质量 Relative molecular mass	强度 Intensity	加合物 Bulky adduct	
					H ⁺	Na ⁺
1	苹果酸 Malic acid	C ₄ H ₆ O ₅	157.010 7	816 880.479	否 No	是 Yes
2	柠檬酸 Citric acid	C ₆ H ₈ O ₇	215.016 2	3 002.770	否 No	是 Yes

2.2 铜胁迫对珊瑚樱种子萌发的影响

从表 2 可以看出,随铜质量浓度增加,珊瑚樱种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数和芽长均呈先增后降趋势。在铜质量浓度为 20 mg/L 时,发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数和芽长都达到最大值,与 CK 均有显著性差异(*P*<0.05)。当铜质量浓度大于 40 mg/L 时,珊瑚樱种子活力指数和芽长显著受抑(*P*<0.05)。与 CK 相比,40,60,80 和 100

mg/L CuSO₄ 溶液处理珊瑚樱种子活力指数分别降低 52.28%,66.04%,75.57%和 85.30%,芽长分别缩短 51.29%,64.22%,72.84%和 82.33%。综上所述可知,铜质量浓度为 40 mg/L 时,珊瑚樱种子发芽率显著降低,且活力指数和芽长的降幅均超过 50%,因此确定珊瑚樱种子铜胁迫质量浓度为 40 mg/L。

表 2 铜胁迫对珊瑚樱种子萌发的影响

Table 2 Effects of copper stress on seed germination of *Solanum pseudocapsicum*

铜质量浓度/ (mg·L ⁻¹) Copper concentration	发芽率/% Germination percentage	发芽势/% Germination potential	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	芽长/cm Shoot length
0(CK)	83.16±1.91 c	28.60±2.00 cd	6.43±0.20 b	14.90±0.45 c	2.32±0.10 b
10	90.00±3.33 b	36.67±3.33 b	7.29±0.13 a	18.06±0.13 b	2.47±0.05 b
20	95.55±1.92 a	48.89±1.92 a	7.46±0.10 a	20.73±1.15 a	2.78±0.12 a
40	75.22±2.17 d	32.24±0.46 bc	6.26±0.27 bc	7.11±1.01 d	1.13±0.11 c
60	71.67±1.44 d	25.00±2.50 de	6.07±0.11 c	5.06±0.99 e	0.83±0.15 d
80	64.47±2.66 e	22.30±2.20 ef	5.76±0.14 d	3.64±0.25 f	0.63±0.06 e
100	52.50±2.50 f	18.33±1.44 f	5.27±0.12 e	2.19±0.12 g	0.41±0.03 f

注:同列数据后标不同小写字母表示各处理在 $P<0.05$ 水平上差异显著。下同。

Note:Different lowercase letters indicate significant difference at the $P<0.05$ level. The same below.

2.3 苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发特性的影响

2.3.1 对发芽时间和平均发芽速率的影响 从表 3 可知,铜胁迫下,用 5 mmol/L 苹果酸(MA)处理后,第 1 粒珊瑚樱种子发芽时间比 Cu₄₀ 处理种子提

前了 1 d,其平均发芽速率最快。当苹果酸浓度为 10 mmol/L 时,第 1 粒珊瑚樱种子发芽时间、平均发芽速率均比 Cu₄₀ 处理种子时间长。而用不同浓度柠檬酸(CA)处理的第 1 粒珊瑚樱种子发芽时间、平均发芽速率均比 Cu₄₀ 处理种子慢。

表 3 苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子发芽时间及平均发芽速率的影响

Table 3 Effects of malic acid and citric acid on germination time and average germination rate of *Solanum pseudocapsicum* seeds under copper stress

处理 Treatments	第 1 粒发芽时间/d Days of first germination	萌发峰值时时间/d Days of peak germination	平均发芽速率/d Average germination speed
Cu ₄₀	3	5	4.96±0.18 bc
Cu ₄₀ +MA ₁	3	4	4.77±0.07 cd
Cu ₄₀ +MA ₃	3	4	4.50±0.24 d
Cu ₄₀ +MA ₅	2	4	4.45±0.23 d
Cu ₄₀ +MA ₁₀	4	5	5.25±0.33 ab
Cu ₄₀ +CA ₁	4	5	5.57±0.21 a
Cu ₄₀ +CA ₃	4	5	5.62±0.12 a
Cu ₄₀ +CA ₅	4	5	5.60±0.23 a
Cu ₄₀ +CA ₁₀	4	5	5.47±0.13 a

2.3.2 对种子萌发的影响 苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发的影响见表 4。

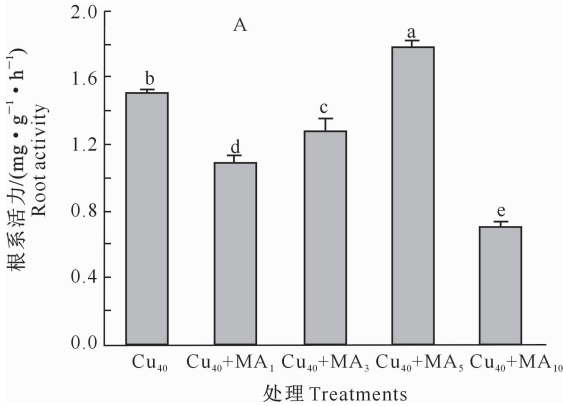
表 4 苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发的影响

Table 4 Effects of malic acid and citric acid on seed germination of *Solanum pseudocapsicum* under copper stress

处理 Treatments	发芽率/% Germination percentage	发芽势/% Germination potential	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	芽长/cm Shoot length
Cu ₄₀	75.22±2.17 e	32.24±0.46 c	6.26±0.28 d	7.11±1.01 c	1.13±0.12 a
Cu ₄₀ +MA ₁	80.00±2.50 cd	31.67±1.44 c	7.21±0.24 bc	6.37±0.42 cd	0.88±0.03 b
Cu ₄₀ +MA ₃	83.33±1.44 bcd	43.33±2.89 a	7.66±0.62 b	8.93±0.81 b	1.17±0.06 a
Cu ₄₀ +MA ₅	93.29±1.37 a	39.51±1.81 b	8.92±0.34 a	10.70±0.77 a	1.20±0.10 a
Cu ₄₀ +MA ₁₀	85.83±3.81 b	22.50±2.50 d	6.77±0.67 cd	3.49±0.20 f	0.52±0.03 d
Cu ₄₀ +CA ₁	79.17±2.89 de	10.83±1.44 f	6.07±0.52 d	6.04±0.11 d	1.00±0.10 b
Cu ₄₀ +CA ₃	82.50±2.50 bcd	11.67±2.89 f	6.09±0.43 d	4.55±0.18 e	0.75±0.05 c
Cu ₄₀ +CA ₅	83.33±1.44 bcd	14.17±1.44 ef	6.14±0.44 d	2.98±0.56 f	0.48±0.08 d
Cu ₄₀ +CA ₁₀	84.17±1.44 bc	16.67±2.89 e	6.52±0.54 cd	1.73±0.14 g	0.27±0.03 e

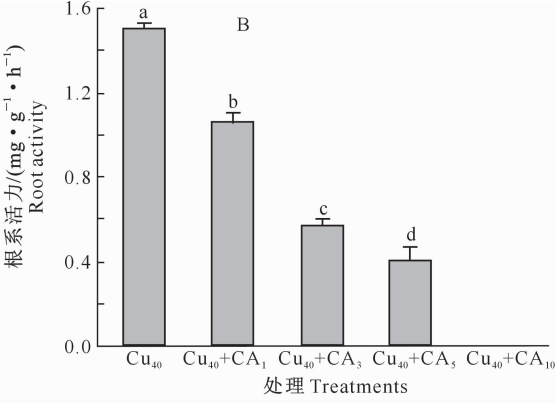
从表 4 可知,当苹果酸浓度为 5 mmol/L 时,珊瑚樱种子发芽率、发芽指数和活力指数都达到最大值,与 Cu₄₀ 处理种子相比分别提高 24.02%,42.49%和 50.49%,且均有显著性差异($P<0.05$)。

当苹果酸浓度为 10 mmol/L 时,珊瑚樱种子发芽势、活力指数和芽长均较 Cu₄₀ 处理显著下降 ($P<0.05$),说明低浓度苹果酸能缓解铜胁迫对珊瑚樱种子萌发的抑制作用,而高浓度苹果酸会抑制珊瑚樱种子发芽后的芽苗生长。铜胁迫下不同浓度柠檬酸仅能提高珊瑚樱种子发芽率,与 Cu₄₀ 处理相比,1,3,5,10 mmol/L 柠檬酸处理种子发芽率分别提高 5.25%,9.68%,10.78% 和 11.90%,而对发芽势、发芽指数、活力指数和芽长等指标均无缓解作用。表明苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发有一定缓解作用,且苹果酸的缓解效果显著优于柠檬酸。



2.4 苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子根系活力的影响

从图 1-A 可知,随苹果酸浓度增加,珊瑚樱根系活力呈先增后减趋势,当苹果酸浓度为 5 mmol/L 时,根系活力最大为 1.79 mg/(g · h),显著高于 Cu₄₀ 处理 ($P<0.05$),其余均显著低于 Cu₄₀ 处理。从图 1-B 可知,随柠檬酸浓度增加,珊瑚樱根系活力呈下降趋势,均显著低于 Cu₄₀ 处理 ($P<0.05$),柠檬酸浓度为 10 mmol/L 时,珊瑚樱种子发芽后芽苗停止生长,即柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱根系活力的降低没有起到缓解作用。



图柱上标不同小写字母表示各处理在 $P<0.05$ 水平上差异显著
Different lowercase letters indicate significant difference between different treatment at the $P<0.05$ level

图 1 苹果酸(A)和柠檬酸(B)对铜胁迫下珊瑚樱种子根系活力的影响

Fig. 1 Effects of malic acid (A) and citric acid (B) on root activity of *Solanum pseudocapsicum* seeds under copper stress

2.5 苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发影响的综合评价

2.5.1 萌发特性的相关性分析 从表 5 可知,苹果酸浓度与珊瑚樱发芽势呈显著负相关 ($P<0.05$),

与芽长和根系活力呈极显著负相关 ($P<0.01$)。柠檬酸浓度与活力指数、芽长和根系活力均呈极显著负相关 ($P<0.01$),与其他指标相关性均不显著。

表 5 苹果酸和柠檬酸与铜胁迫下珊瑚樱种子萌发特性的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of malic acid, citric acid and seed germination characteristics of *Solanum pseudocapsicum* under copper stress

指标 Index	发芽率 Germination percentage	发芽势 Germination potential	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	芽长 Shoot length	平均发芽速率 Average germination speed	根系活力 Root activity
苹果酸浓度 Malic acid concentration	0.215	-0.505 *	-0.191	-0.467	-0.616 **	0.427	-0.594 **
柠檬酸浓度 Citric acid concentration	0.032	-0.242	-0.348	-0.975 **	-0.982 **	0.088	-0.977 **

注: * 和 ** 分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平上相关性显著。
Note: * and ** mean significant correlation at the $P<0.05$ and $P<0.01$ level, respectively.

2.5.2 萌发指标的主成分分析 以不同浓度苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发指标进行主成分分析,结果如表 6 所示。由表 6 可知,从苹果酸缓解铜胁迫(Cu₄₀)各指标中提取出 2 个主成分,主

成分 1 贡献率为 73.84%,主成分 2 贡献率为 20.16%,累计贡献率达 94.00%,其中主成分 1 载荷最高的是活力指数(0.437 92),其次是发芽势(0.406 53);主成分 2 载荷最高的是发芽率

(0.738 14)。从柠檬酸缓解铜胁迫各影响指标中只数(0.400 52)载荷最高。提取了 1 个主成分,其贡献率为 85.90%,以活力指

表 6 苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发指标的主成分分析

Table 6 Principal component analysis on the influence of malic acid and citric acid on various indexes of seed germination of *Solanum pseudocapsicum* under copper stress

指标 Index	苹果酸 Malic acid		柠檬酸 Citric acid
	主成分 1 Principal component 1	主成分 2 Principal component 2	主成分 1 Principal component 1
特征值 Eigenvalue	5.168 64	1.411 63	6.012 83
累计贡献率/% Accumulated contribution	73.84	94.00	85.90
发芽率 Germination percentage	0.199 16	0.738 14	−0.363 22
发芽势 Germination potential	0.406 53	−0.168 19	−0.402 92
发芽指数 Germination index	0.355 84	0.486 89	−0.374 41
活力指数 Vigour index	0.437 92	−0.061 47	0.400 52
芽长 Shoot length	0.390 40	−0.380 06	0.400 37
平均发芽率 Average germination speed	0.382 11	−0.203 89	0.398 51
根系活力 Root activity	−0.422 20	−0.003 12	0.293 29

2.5.3 萌发影响的聚类分析 为进一步筛选苹果酸和柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发缓解作用的最佳浓度,对种子萌发各指标进行聚类分析,结果见图 2。从图 2-A 可知,在欧氏距离为 15 时,将不同浓度苹果酸处理聚为 2 类,其中以 0,1 和 10 mmol/L 为第 I 类,3 和 5 mmol/L 为第 II 类,表明

苹果酸为 3 和 5 mmol/L 时缓解效果较好。从图 2-B 可知,在欧氏距离为 10 时,将不同浓度柠檬酸处理聚为两类,其中以 0 mmol/L 为第 I 类,1~10 mmol/L 为第 II 类,表明柠檬酸对铜胁迫(Cu₄₀)下珊瑚樱种子萌发缓解效果不佳。

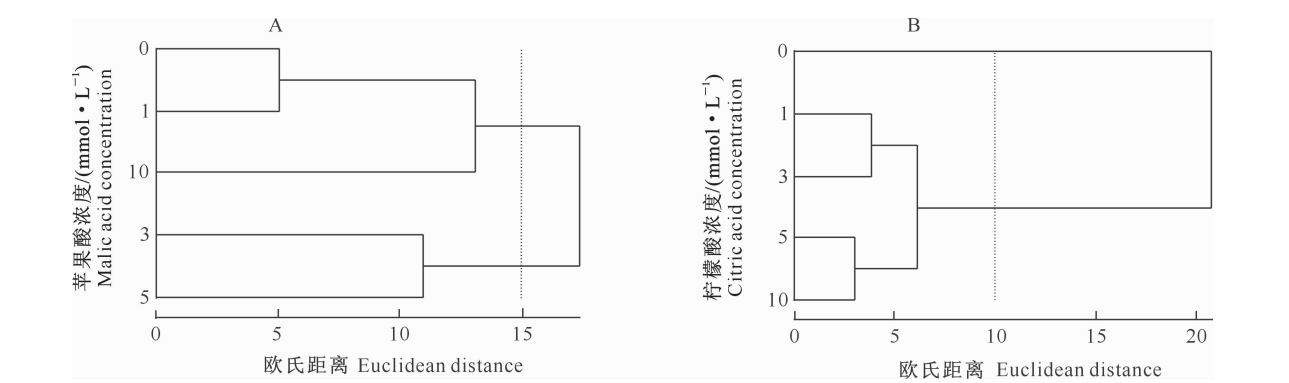


图 2 苹果酸(A)和柠檬酸(B)对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发影响的聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis on the effects of malic acid (A) and citric acid (B) on seed germination of *Solanum pseudocapsicum* under copper stress

3 讨 论

种子能否正常萌发和成苗决定着植物种群的繁衍与生存^[20],在萌发过程中其易受外界环境影响,重金属污染是其中最重要的影响因素。但也有植物表现出对重金属的超强耐受性,如蓖麻^[21]种子在铜锌复合质量浓度为 1 320 mg/L 时仍未死亡,表明其对 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 复合胁迫具有很强的耐受性。本研究发现,随铜质量浓度增加,珊瑚樱种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数及芽长等指标均呈现出低促高抑现象,与在高羊茅^[22] 和 水稻^[23] 上的研究结果一致。当铜质量浓度为 40 mg/L 时,珊瑚樱种子发

芽率显著受抑,活力指数和芽长的受抑程度均达到 50%,故将此视为半致死浓度。

苹果酸和柠檬酸是植物体内重要的营养物质和常见的有机酸,也是植物生理代谢的主要调节物质,对植物生长发育有着显著影响^[4-5]。本研究发现,当苹果酸浓度为 5 mmol/L 时,珊瑚樱种子发芽率、发芽指数和活力指数均达到最大值;苹果酸浓度与发芽势呈显著负相关($P<0.05$),与芽长和根系活力呈极显著负相关($P<0.01$)。表明低浓度苹果酸能缓解铜胁迫对珊瑚樱种子萌发的抑制作用,而高浓度苹果酸会抑制珊瑚樱种子发芽后芽苗的生长,这与在甜瓜^[24]、荞麦^[25] 和 杉木^[6] 上的研究结果一致。

主成分分析表明,活力指数可作为评价有机酸缓解铜胁迫(Cu_{40})对珊瑚樱种子萌发影响的重要参数;聚类分析进一步表明,3 和 5 mmol/L 苹果酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发的缓解效果较佳。对不同浓度柠檬酸缓解铜胁迫下珊瑚樱种子萌发各指标进行分析发现,铜胁迫下柠檬酸仅能提高珊瑚樱种子发芽率,而对发芽势、发芽指数、活力指数和芽长等指标的影响较小,此结果与在水稻^[26]、黑麦草^[27]和番茄^[7]上的研究结果不一致。柠檬酸浓度与珊瑚樱种子活力指数、芽长和根系活力呈极显著负相关($P < 0.01$),而与其他指标相关均不显著。从聚类分析结果可知,1~10 mmol/L 柠檬酸聚为一类,表明柠檬酸对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发受抑的缓解效果不佳。由此可知,不同浓度和 pH 有机酸对不同植物种子萌发、生长发育的影响有别。

根系活力是反映植物根系生命活动的一项指标^[28]。本研究发现,苹果酸浓度与珊瑚樱根系活力呈极显著负相关($P < 0.01$),表明适宜浓度(5 mmol/L)苹果酸能促进珊瑚樱根系生长发育、缓解铜毒害,而高浓度苹果酸反而会降低其根系活力,这与在油菜^[28]、小白菜^[29]和玉米^[30]上的研究结果一致。不同浓度柠檬酸对铜胁迫抑制珊瑚樱根系活力无显著缓解效果,这与在荞麦^[31]上的研究结果不一致。

4 结 论

本研究根据珊瑚樱果实中低分子量有机酸配制不同浓度苹果酸、柠檬酸,分析其对铜胁迫下珊瑚樱种子萌发的影响。结果发现,随铜质量浓度增加,珊瑚樱种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数及芽长等指标表现出低促高抑现象。当铜质量浓度为 40 mg/L 时,珊瑚樱种子发芽率显著受抑($P < 0.05$),且活力指数和芽长受抑程度均达到 50%。相关性分析表明,高浓度苹果酸和柠檬酸会抑制珊瑚樱种子发芽后芽苗的生长。通过主成分分析和聚类分析可知,活力指数可作为评价有机酸缓解铜胁迫下珊瑚樱种子萌发受抑的重要参数,苹果酸和柠檬酸对铜胁迫抑制珊瑚樱种子萌发均有一定缓解作用,但苹果酸的缓解效果显著优于柠檬酸,苹果酸浓度为 5 mmol/L 时,对铜胁迫抑制珊瑚樱种子萌发的缓解效果最佳。

[参考文献]

[1] Wang S, He T, Xu F, et al. Analysis of physiological and me-

- tabolite response of *Celosia argentea* to copper stress [J]. *Plant Biology* (Stuttgart, Germany), 2021, 23(2): 391-399.
- [2] 陈能场, 郑煜基, 何晓峰, 等. 《全国土壤污染状况调查公报》探析 [J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36(9): 1689-1692.
Chen N C, Zheng Y J, He X F, et al. Analysis of the *Report on the national general survey of soil contamination* [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(9): 1689-1692.
- [3] Tahjib-Ul-Arif M, Sohag A A M, Mostofa M G, et al. Comparative effects of ascorbin and glutathione on copper homeostasis and oxidative stress metabolism in mitigation of copper toxicity in rice [J]. *Plant Biology* (Stuttgart, Germany), 2021, 23(S1): 162-169.
- [4] Eva O, Guy J D K, Walter W W, et al. Interactive effects of organic acids in the rhizosphere [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 41(3): 449-457.
- [5] Yang J L, Fan W, Zheng S J. Mechanisms and regulation of aluminum-induced secretion of organic acid anions from plant roots [J]. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 2019, 20(6): 513-527.
- [6] 庄 正, 李艳娟, 刘青青, 等. 外源低分子有机酸对杉木种子萌发及幼苗抗氧化特性的影响 [J]. *江西农业大学学报*, 2017, 39(2): 302-311.
Zhuang Z, Li Y J, Liu Q Q, et al. Effect of exogenous low-molecular-weight organic acids on the seed germination and seedling antioxidant properties of *Cunninghamia lanceolata* [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2017, 39(2): 302-311.
- [7] 靳 琇, 陈浩婷, 石 玉, 等. 柠檬酸浸种引发对低磷胁迫下番茄幼苗生长及生理特性的影响 [J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2021, 29(7): 1159-1170.
Jin X, Chen H T, Shi Y, et al. Effect of citric acid seed priming on the growth and physiological characteristics of tomato seedlings under low phosphorus stress [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2021, 29(7): 1159-1170.
- [8] 宋 超, 王跃华, 赵 钢, 等. 不同酸处理对苦荞种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. *种子*, 2015, 34(8): 79-82.
Song C, Wang Y H, Zhao G, et al. Effect of soaking with different acid on seed germination and seedling growth of tartary buckwheat [J]. *Seed*, 2015, 34(8): 79-82.
- [9] Günter N, Agnès M, Nicolas L, et al. Physiological aspects of cluster root function and development in phosphorus-deficient white lupin (*Lupinus albus* L.) [J]. *Annals of Botany*, 2000, 85(6): 909-919.
- [10] Liao H, Wan H Y, Shaff J, et al. Phosphorus and aluminum interactions in soybean in relation to aluminum tolerance exudation of specific organic acids from different regions of the intact root system [J]. *Plant Physiology*, 2006, 141(2): 674-684.
- [11] 詹淑威, 潘伟斌, 赖彩秀, 等. 外源有机酸对小飞扬草 (*Euphorbia thymifolia* L.) 修复镉污染土壤的影响 [J]. *环境工程学报*, 2015, 9(10): 5096-5102.
Zhan S W, Pan W B, Lai C X, et al. Effects of exogenous or-

- ganic acids on phytoremediation of Cd-contaminated soil by *Euphorbia thymifolia* L. [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, 9(10): 5096-5102.
- [12] 李华英. 外源柠檬酸和草酸对镉胁迫下苧麻生理响应的影响研究 [D]. 长沙: 湖南大学, 2014.
- Li H Y. The effects of exogenous citric acid and oxalic acid on cadmium induced physiological response in *Boehmeria nivea* (L.) Gaud [D]. Changsha: Hunan University, 2014.
- [13] Ma J F, Peter R R, Emmanuel D. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(6): 273-278.
- [14] 王志颖. 有机酸和抑制剂对铝胁迫下油菜 (*Brassica napus* L.) 生长、生理和根系分泌物的调控研究 [D]. 浙江金华: 浙江师范大学, 2011.
- Wang Z Y. The regulation of organic acids and inhibitors to growth, physiology and root exudates of rape (*Brassica napus* L.) under aluminum stress [D]. Jinhua, Zhejiang: Zhejiang Normal University, 2011.
- [15] Xu H, Xu L F, Yang P P, et al. Tobacco rattle virus-induced phytoene desaturase (PDS) and Mg-chelatase H subunit (ChlH) gene silencing in *Solanum pseudocapsicum* L. [J]. Peer J, 2018, 6: e4424.
- [16] Alagarmalai J, Selvaraj P, Kuppusamy E. Biological activities of *Solanum pseudocapsicum* (Solanaceae) against cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* Hübner and armyworm, *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 2(12): 981-986.
- [17] 刘腾腾, 邵红建, 宛晓春, 等. 铝对茶树根细胞膜透性和根系分泌有机酸的影响 [J]. 茶叶科学, 2011, 31(5): 458-462.
- Liu T T, Gao H J, Wan X C, et al. Impacts of aluminum on root cell membrane permeability and organic acids in root exudates of tea plant [J]. Journal of Tea Science, 2011, 31(5): 458-462.
- [18] 郝俊峰, 张玉霞, 贾玉山, 等. PEG-6000 胁迫下苜蓿萌发期抗旱性鉴定与评价 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, 48(11): 23-32.
- Hao J F, Zhang Y X, Jia Y S, et al. Identification and evaluation of drought resistance of alfalfa at germination stage under PEG-6000 stress [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition), 2020, 48(11): 23-32.
- [19] 俞佳, 黄颖, 张晋龙, 等. 砷胁迫下外源磷对香蒲根表铁膜形成及吸附砷的影响 [J]. 生态环境学报, 2021, 30(4): 866-873.
- Yu J, Huang Y, Zhang J L, et al. Effect of phosphorus on the formation and adsorption of arsenic in the iron film of the fenel root table under arsenic stress [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2021, 30(4): 866-873.
- [20] 李天永, 严子柱, 姜生秀. 两种独行菜种子萌发对不同浓度 NaCl 胁迫的响应 [J]. 草地学报, 2021, 29(1): 88-94.
- Li T Y, Yan Z Z, Jiang S X. Responses of seed germination of two *Lepidium* species to different concentrations of NaCl stress [J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(1): 88-94.
- [21] 文艳鹏, 罗蕊, 王志妍, 等. 蓖麻种子萌发和幼苗生长对重金属铜锌离子胁迫响应 [J/OL]. 分子植物育种, 2021: 1-16 [2021-09-03] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210308.0905.004.html>.
- Wen Y P, Luo R, Wang Z Y, et al. Responses of *Ricinus communis* L. seed germination and seedling growth to heavy metal copper and zinc ion stress [J/OL]. Molecular Plant Breeding, 2021: 1-16 [2021-09-03] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210308.0905.004.html>.
- [22] 刘骐华, 王慧慧, 刘璐, 等. 铜、镉、铅对高茅种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. 草原与草坪, 2019, 39(4): 10-18.
- Liu Q H, Wang H H, Liu L, et al. Effects of copper, cadmium and lead on seed germination and seedling growth of tall fescue [J]. Grassland and Turf, 2019, 39(4): 10-18.
- [23] 王泽正, 杨亮, 李婕, 等. 微塑料和镉及其复合对水稻种子萌发的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(1): 44-53.
- Wang Z Z, Yang L, Li J, et al. Single and combined effects of microplastics and cadmium on the germination characteristics of rice seeds [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(1): 44-53.
- [24] 张志忠, 孙志浩, 陈文辉, 等. 有机酸类化感物质对甜瓜的化感效应 [J]. 生态学报, 2013, 33(15): 4591-4598.
- Zhang Z Z, Sun Z H, Chen W H, et al. Allelopathic effects of organic acid allelochemicals on melon [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(15): 4591-4598.
- [25] 杨洪兵. 外源有机酸对盐胁迫下荞麦种子萌发及幼苗生长的效应 [J]. 吉林农业科学, 2013, 38(4): 5-7.
- Yang H B. Effect of exogenous organic acid on seed germination and seedling growth of buckwheat under salt stress [J]. Journal of Northeast Agricultural Sciences, 2013, 38(4): 5-7.
- [26] 于敏, 王文国, 王胜华, 等. 外源柠檬酸对水稻铜毒害的缓解效应 [J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(5): 617-621.
- Yu M, Wang W G, Wang S H, et al. Alleviative effect of exogenous citric acid on rice under copper toxicity [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2010, 16(5): 617-621.
- [27] 黄玉婷, 王栋麟, 张卫红, 等. 铝胁迫下柠檬酸对多年生黑麦草种子萌发和幼苗生理特性的影响 [J]. 草原与草坪, 2019, 39(1): 54-59.
- Huang Y T, Wang D L, Zhang W H, et al. Effects of citric acid on germination and seedling physiological characteristics of perennial ryegrass under aluminum stress [J]. Grassland and Turf, 2019, 39(1): 54-59.
- [28] 鄢盛尧, 王月平, 王志颖, 等. 铝胁迫下外源有机酸对油菜根系分泌物特性的影响 [J]. 广东农业科学, 2013, 40(11): 16-20.
- Yan S Y, Wang Y P, Wang Z Y, et al. Effects of the exogenous organic acids on rape root exudates characteristics under aluminum stress [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013, 40(11): 16-20.

- tal nitrogen content in fresh leaves and leaf powder of *Dendrobium orchids* using near-infrared spectroscopy [J]. Horticulture, Environment and Biotechnology, 2021, 62(1): 31-40.
- [17] 林 艳, 何紫迪, 毛积鹏, 等. 基于近红外光谱技术建立沉香含油量预测模型 [J]. 热带作物学报, 2018, 39(1): 182-188.
Lin Y, He Z D, Mao J P, et al. Prediction models of oil content of agarwood based on near infrared spectroscopy [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(1): 182-188.
- [18] 林 智, 吕海鹏, 张 盛. 茶叶活性成分的化学和药理作用 [J]. 中国茶叶, 2018, 40(11): 1-6.
Lin Z, Lü H P, Zhang S. Chemical and pharmacological effects of active components of tea [J]. China Tea, 2018, 40(11): 1-6.
- [19] Grzesik M, Naparło K, Bartosz G, et al. Antioxidant properties of catechins: comparison with other antioxidants [J]. Food Chemistry, 2018, 241: 480-492.
- [20] 顾莹婕, 金恩惠, 李 博, 等. 茶叶药理成分抑制口腔致病菌的作用及机制 [J]. 中国食品学报, 2019, 19(8): 303-311.
Gu Y J, Jin E H, Li B, et al. Inhibitory effects and mechanism of pharmacological active ingredients from tea on oral pathogens [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(8): 303-311.
- [21] Huang Y F, Dong W T, Alireza S, et al. Development of simple identification models for four main catechins and caffeine in fresh green tea leaf based on visible and near-infrared spectroscopy [J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2020, 173: 105388.
- [22] Maninder M, Uma K, Anupma S, et al. Green method for determination of phenolic compounds in mung bean (*Vigna radiata* L.) based on near-infrared spectroscopy and chemometrics [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(12): 2520-2527.
- [23] 张桂芳, 杜珊珊, 史 蕊, 等. 处理方法和提取溶剂对松针提取物抗氧化活性的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(16): 1602-1606.
- Zhang G F, Du S S, Shi R, et al. Effects of treatment methods and extraction solvents on the antioxidant activity of pine needle extract [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2017, 37(16): 1602-1606.
- [24] Qiu J Y, Chen X, Li Z, et al. LC-MS/MS method for the simultaneous quantification of 11 compounds of *Ginkgo biloba* extract in lysates of mesangial cell cultured by high glucose [J]. Journal of Chromatography B, 2015, 997: 122-128.
- [25] 张若秋, 杜一平. 仪器噪声在近红外光谱偏最小二乘模型内的传播效应 [J]. 分析测试学报, 2020, 39(10): 1282-1287.
Zhang R Q, Du Y P. Propagation effect of instrument noise in the partial least square model of near infrared spectrum [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2020, 39(10): 1282-1287.
- [26] 李姝寰. 基于 NIR 和 HSI 技术的祁门工夫红茶数字化拼配研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2018.
Li S H. Study on the digital tea blending tea of Keemun Gongfu black tea based on NIR and HIS technology [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2018.
- [27] Li X L, Sun C J, Zhou B X, et al. Determination of hemicellulose, cellulose and lignin in moso bamboo by near infrared spectroscopy [J]. Scientific Reports, 2015, 5(1): 229-244.
- [28] 刘洪林. 工夫红茶咖啡碱和 5 种儿茶素组分近红外快速测定方法的研究 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(15): 316-320.
Liu H L. Research of rapid measurement methods of caffeine and five kinds of catechin components quality ingredients of congou black tea using near infrared spectroscopy [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(15): 316-320.
- [29] 陈华才, 吕 进, 陈星旦, 等. 基于径向基函数网络的茶多酚总儿茶素近红外光谱检测模型的研究 [J]. 光学精密工程, 2006, 14(1): 58-62.
Chen H C, Lü J, Chen X D, et al. Near infrared spectroscopic model for determining total catechins in tea polyphenol powder based on radical basis function network [J]. Optics and Precision Engineering, 2006, 14(1): 58-62.

(上接第 27 页)

- [29] 陈 露, 李家明, 王树彬, 等. 外施苹果酸对紫色小白菜生长、生理与品质的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, 48(9): 105-113.
Chen L, Li J M, Wang S B, et al. Effects of malic acid on growth, physiology and quality of purple cabbage [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2020, 48(9): 105-113.
- [30] 李迟园, 田霄鸿, 曹翠玲. 外源有机酸对玉米磷吸收及其生长发育的影响 [J]. 西北植物学报, 2011, 31(7): 1376-1383.
- Li C Y, Tian X H, Cao C L. Effects of exogenous organic acids on phosphate uptake and growth of maize [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(7): 1376-1383.
- [31] 李朝苏, 刘 鹏, 徐根娣, 等. 外源有机酸对荞麦幼苗铝毒害的缓解效应 [J]. 作物学报, 2006(4): 532-539.
Li C S, Liu P, Xu G D, et al. Ameliorating effects of exogenous organic acids on aluminum toxicity in buckwheat seedlings [J]. Acta Agronomica Sinica, 2006(4): 532-539.