植物营养与肥料学报 2003,9(3):364～368
Plant Nutrition and Fertilizer Science

铜对不同苹果砧木实生苗生长的影响差异研究

刘春生[1]，孙百晔[2]，王正直[1]，郑永明[1]，叶优良[1]，张福锁[3]
(1 山东农业大学资环学院,山东泰安 271018; 2 潍坊学院,山东潍坊 261000; 3 中国农业大学资环学院,北京 100094)

摘要：在网室采用盆栽的方法研究了当年生八棱海棠、平邑甜茶(*M. hupehensis* Rehd.)、莱芜难咽及海棠果4种苹果砧木实生苗在外源铜0、75、150 mg/kg处理下对植株相对株高、胸径、生物量,细胞膜透性及根茎叶中的铜、钙、铁矿质元素含量等的影响。结果表明,海棠果比平邑甜茶、莱芜难咽和八棱海棠等3种砧木实生苗具有较强的抗铜毒害能力。

关键词：苹果；砧木实生苗；铜毒害
中图分类号：S143.7；S666.1　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1008-505X(2003)03-0364-05

Effect of copper on growth of different apple stock seedlings

LIU Chun-sheng[1], SUN Bai-ye[2], WANG Zheng-zhi[1], ZHENG Yong-ming[1], YE You-liang[1], ZHANG Fu-suo[3]
(*1 Resources and Environment College, Shandong Agric. Univ., Taian 271018, China; 2 Weifang College, Weifang, Shandong 261000, China; 3 Resources and Environment College, Chinese Agric. Univ., Beijing 100094, China*)

Abstract: Pot experiment with application of 0, 75, 150 mg/kg external copper treatments to study the relative height, chest diameter, biomass, cell membrane transmissibility and the Cu, Fe, Ca contents in root, stem and leaf of four apple parent stock seedlings: Balenghaitang(*Malus micromalus* Makino.), Pingyitiancha(*M. hupehensis* Rehd.), Laiwunanyan(*M. micromalus* Makino.) and Haitangguo(*M. pruniforlia* Borkh.). The results showed that the Haitangguo had stronger resistance to copper toxicity than the other three species relatively.

Key words: apple; stock seedling; copper toxicity

含铜杀菌剂波尔多液是国内外果园中使用历史悠久的农药,其使用量大且频度高,导致果园土壤中的铜逐渐积累。Josanidia[1]报道,巴西可可种植园施用波尔多液16年后表层土壤的含铜量达到近1000 mg/kg。常年使用波尔多液使英国部分苹果园土壤含铜量高达1500 mg/kg,意大利部分果园也因土壤含铜过高而影响葡萄正常生长[2]。对山东省部分长期施用波尔多液的苹果园树冠下表层土壤含铜量的调查表明,这些土壤平均含铜为252.52 mg/kg,最高为487.62 mg/kg[3],超出我国土壤环境质量标准规定的铜含量二级标准值。土壤铜素的大量积累必然影响果树的生长和代谢,因而培育抗铜能力强且可利用部分又不增加铜吸收的优良品种不失为解决这一问题的途径之一。我们在研究果园土壤铜素含量特征及过量铜对苹果树生长代谢影响的基础上进行了外源铜对不同苹果实生苗生长代谢影响差异的研究,试图为果树嫁接苗的培育提供耐高铜胁迫的优良砧木实生苗。

1 材料与方法

盆栽用土为棕壤,取自泰山南麓坡洪积扇的果园,轻粘质。其pH 5.5,有机质8.9 g/kg,全Cu含量28.8 mg/kg,有效Cu 7.37mg/kg。以八棱海棠(*Malus micromalus* Makino.,采自河北怀来)、海棠果(*M. pruniforlia* Borkh.,采自山东莱芜)、莱芜难咽(*M. micromalus* Makino.,采自山东莱芜)及平邑甜茶(*M. hupehensis* Rehd.,采自山东平邑)等4种为供试砧木。每种设3个Cu水平,分别为Cu 0、75及150 mg/kg(用Cu0、Cu75、Cu150表示),4次重复。以$CuSO_4 \cdot 5H_2O$的形式施入土壤。

收稿日期:2002-09-11
基金项目:山东省自然科学基金(Y98D18066)资助。
作者简介:刘春生(1955—),男,山东费县人,教授,主要从事植物营养与肥料教学与科研工作。

2000 年将供试的砧木种子经冬天层积后，于 2001 年春季播入苗床。待长出 4 片叶时，选取生长一致的小苗，栽入 10cm×18cm 的盆钵中，每盆装土 4kg，加入肥底（每盆施含氮磷钾各 15% 的复合肥 2.66g）和相应剂量的硫酸铜，混匀后每盆栽 4 棵实生苗。生长过程中进行常规管理，用精度为 0.02 mm 的游标卡尺测其胸径，10 月 14 日分部位收获。样品磨碎过筛，浓 HNO_3 消煮后，WFX—IE2 型原子吸收分光光度法测定 Ca、Fe、Cu 等矿质元素的含量。

膜透性用电解质相对渗漏率表示。测定方法根据刘彦琴等[4]、艾尼莫明[5]、柴丽娜及齐小明[6]、阎秀峰等[7]的方法改进：选取成熟的功能叶，将叶片用重蒸水冲洗干净，吸水纸吸干，用 6cm² 的模具，将叶片切成不含主叶脉的面积相同的方形叶片。放入 50 mL 的小烧杯中，按 5 mL/cm² 的比例加入重蒸馏水 30 mL，立即用 DDS-1 1 A 型电导仪测定背景电导值 L0。然后抽真空 10 min，静置 30 min。将上清液倒入另一小烧杯中，测定电导值 L1。然后将上清液倒回原来相应的装有叶片的小烧杯中，样品在 97℃ 水浴保温处理 30 min，静置，冷却后，测定电导值 L2 。按下列公式计算：

电解质相对渗漏率（%）= 100×(L1-L0)/(L2-L0)

2　结果与分析

2.1　铜处理对不同砧木实生苗生长势的影响

为了便于比较，采用相对株高、相对胸径和相对生物量作为生长势指标。相对值是指其绝对量占正常植株该指标绝对量的百分数。各品种的正常植株（即对照处理）的生长势相对值均为 100，可以消除品种间的本底差异，增加可比性。

随土壤施铜量的逐步增加，海棠果的相对株高呈现出先升高后降低的趋势（图 1a）。土壤中施加 Cu 75 mg/kg 时，海棠果的相对株高是对照的 1.77 倍，F 检验表明差异达极显著水平；之后随着铜施加量的增加，株高随之极显著减少。在本试验中，土壤施加铜使莱芜难咽和平邑甜茶的相对株高有降低的趋势，但统计检验差异不显著。土壤中低量的铜（Cu 75 mg/kg）使八棱海棠的相对株高极显著降低，只有正常植株的 82.88%，但随着土壤施铜量的增加，相对株高便维持在这一水平上，没有显著的升高或降低。

同相对株高的变化趋势相同，随土壤施铜量的增加，海棠果的相对胸径也呈先升高后降低的趋势。土壤施加 Cu 75 mg/kg 时，海棠果的相对胸径比对照增加 11.65%，F 检验差异达极显著水平；之后随着铜施加量的增加，相对胸径随之极显著减少，只有对照的 87.51%（图 1b）。

低量的外源铜（Cu 75mg/kg）使莱芜难咽和平邑甜茶的相对胸径显著低于对照。随着施铜量的增加，莱芜难咽的相对胸径极显著下降，当施铜量达到 Cu 150 mg/kg 时其相对胸径只有对照的 76.91%；但平邑甜茶的相对胸径却没有继续下降，而是维持在施铜量 Cu 75mg/kg 的水平上。低量外源铜（Cu 75mg/kg）对八棱海棠的相对胸径没有显著的影响；但施铜量达 Cu 150 mg/kg 时，相对胸径比对照增加了 9.1%。

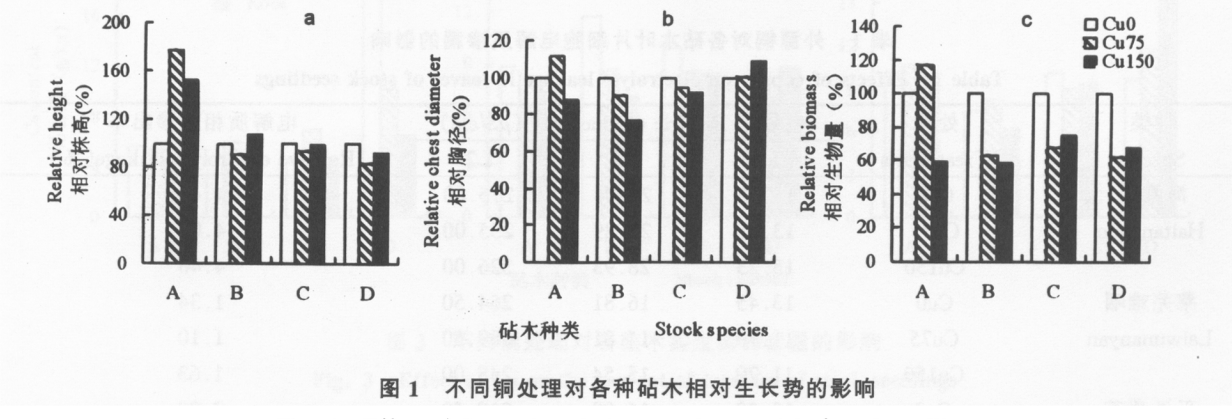

图 1　不同铜处理对各种砧木相对生长势的影响

Fig. 1　Effect of Cu on the relative growth potential of stock seedlings

（A- 海棠果 Haitangguo, *Malus pruniforlia* ; B - 莱芜难咽 Laiwunanyan, *M. micromalus*; C-平邑甜茶 Pingyitiancha, *M. hupehensis*; D-八棱海棠 Balenghaitang, *M. micromalus*. 下同 Same as follows.）

同相对株高和相对胸径的变化趋势相同，随施铜量的增加，海棠果的相对生物量呈现先升高后降低的趋势（图 1c）。土壤施 Cu 75 mg/kg 时，海棠果的相对生物量比对照增加 16.73%，F 检验差异达极显著水平；之后随着铜施加量的增加（Cu 150 mg/kg），相对生物量随之急剧下降，只有对照的

59.78%,与对照、施铜量 Cu 75 mg/kg 处理的差异均达极显著水平。土壤施加低量的外源铜(Cu 75mg/kg)使莱芜难咽、平邑甜茶和八棱海棠的相对生物量分别比对照下降 37.23%、32.72% 和 37.57%,统计检验达极显著水平。之后随着施铜量的增加,这 3 种砧木的相对生物量没有显著的变化,而是维持在施铜量 Cu 75 mg/kg 土的水平上,在对照相对生物量 65%左右的范围内浮动。

从以上结果可以看出,外源铜对苹果砧木实生苗生长势的影响动态既有其共性,不同种间又有个性。当苹果砧木实生苗在遭受铜毒害时,会出现植株变矮、主干变细、生物量减少的现象。但各苹果砧木在对土壤外源铜的反应上具有各自的特点,种间的铜毒害临界值存在差异。莱芜难咽、八棱海棠和平邑甜茶,当施铜量为 Cu 75 mg/kg 时便已经或开始对苹果砧木苗产生了毒害,株高、胸径和总生物量表现出不同程度的减少。而海棠果,Cu 75 mg/kg 的外源铜施加量不仅没有对砧木苗的生长产生危害,反而促进其生长,其株高、胸径和总生物量都显著或极显著地增加,起到了铜肥的作用。说明海棠果比莱芜难咽、平邑甜茶和八棱海棠等 3 种具有较强抗铜毒害能力。

2.2 铜处理对不同砧木实生苗细胞膜透性的影响

电解质渗漏是细胞膜受到损伤的直接证据。本文采用电解质相对渗出率表示细胞膜的损伤程度,来探讨土壤铜污染对苹果砧木实生苗叶片细胞膜的损伤情况。由表 1 可知,土壤中施加 Cu 75mg/kg 时,莱芜难咽的电解质相对渗出率比对照降低了 17.91%,说明此时的铜并未造成叶片细胞膜的伤害;随着施铜量增加,莱芜难咽叶片细胞的电解质相对渗出率急剧升高。当土壤中施加 Cu 150 mg/kg 时,其电解质相对渗出率比施 Cu 75 mg/kg 的处理增加了 48.18%,说明在高铜胁迫下,莱芜难咽实生苗叶片的选择透性大大降低,而透性则大幅度增加,胞内营养物质开始大量外渗,细胞膜已受到严重损伤。

平邑甜茶和八棱海棠的电解质相对渗出率随土壤施铜量的变化表现出了比莱芜难咽更明显的趋势。施 Cu 75mg/kg 时,平邑甜茶的电解质相对渗出率比对照降低了 30.49%,八棱海棠比对照降低了 39.47%。但随着铜施加量的增加,这两种砧木叶片细胞的电解质相对渗出率便急剧升高。Cu150 处理,平邑甜茶的电解质相对渗出率比 Cu75 增加了 69.03%,而八棱海棠增加了 3.09 倍。说明高量外源铜使细胞膜受到严重损伤,导致叶片的选择透性降低,而透性增加,使细胞内营养物质大量外渗,造成电解质相对渗出率成倍升高的现象。土壤施加 Cu 75mg/kg 时,海棠果的电解质相对渗出率比对照降低了 7.67%,说明铜未造成叶片细胞膜的伤害。而施加 Cu 150mg/kg 时,电解质相对渗出率与对照基本持平,且比对照的电解质相对渗出率低 0.68%,说明海棠果的细胞膜相对稳定,高施铜量没有损伤海棠果叶片的细胞膜。这与生长势的结果一致。

表 1 外源铜对各砧木叶片细胞电解质渗漏的影响

Table 1 Effects of copper on electrolyte leakage in leaves of stock seedlings

种类 Species	处理 Treatments	电导率 Electric conductivity (μS/cm) L0	L1	L2	电解质相对渗出率 Relative electrolyte leakage(%)
海棠果	Cu0	15.55	27.04	275.00	4.43
Haitangguo	Cu75	13.85	22.89	235.00	4.09
	Cu150	15.25	28.93	326.00	4.40
莱芜难咽	Cu0	13.45	16.81	264.50	1.34
Laiwunanyan	Cu75	11.75	14.81	289.50	1.10
	Cu150	11.70	15.54	248.00	1.63
平邑甜茶	Cu0	12.20	16.82	219.50	2.23
Pingyitiancha	Cu75	11.80	15.16	228.00	1.55
	Cu150	11.55	15.51	162.50	2.62
八棱海棠	Cu0	13.15	20.23	324.00	2.28
Balenghaitang	Cu75	15.80	20.79	378.00	1.38
	Cu150	14.15	25.06	270.00	4.26

2.3　铜处理对不同砧木实生苗中铜铁钙含量影响

2.3.1　对铜含量的影响　有研究表明，植物根的铜含量是铜毒害的重要指标[4]。本试验条件下，4 种砧木实生苗根中 Cu 含量都明显高于茎叶，且随着施铜量的增加而增加，但海棠果在根中 Cu 的含量却低于在同等条件下的另外 3 种(图 2)。说明海棠果根具有降低铜吸收减轻毒害的能力。图 2 还看出，八棱海棠根中 Cu 含量虽不很高，但茎和叶中却高于其他 3 种，且施铜量越高，这种趋势越明显，这对茎叶的代谢极为不利。海棠果在根茎叶中的含量低于莱芜难咽和平邑甜茶，而在茎叶中的含量又低于八棱海棠，特别是在高铜(Cu150)条件下，这个特点有利于海棠果在铜胁迫下的正常生长代谢。

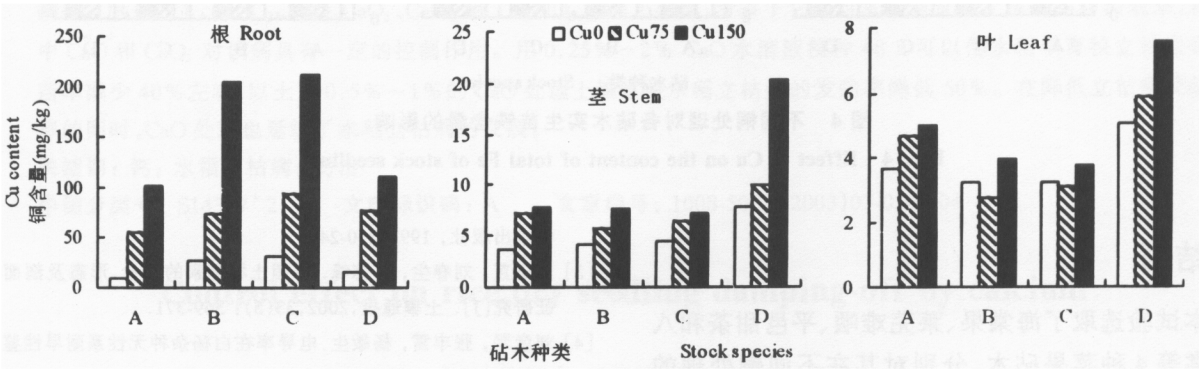

图 2　不同铜处理对各砧木实生苗铜含量的影响

Fig. 2　Effects of Cu on the content of total Cu of stock seedlings

2.3.2　对钙含量影响　4 种砧木实生苗平均含钙量均为根低于茎叶(图 3)，这与铜铁的器官含量差别顺序相反，但种间的差别却很明显。海棠果和八棱海棠根中的钙含量随铜量的增高而降低，茎中则表现为先降低而后升高；而莱芜难咽和平邑甜茶则表现为随施铜量的增加，根中的钙含量先升后降，茎中的含量为降低。据报道，钙是可以缓解作物铜毒害的矿质元素[8,9]。海棠果在叶中的钙含量高于莱芜难咽和平邑甜茶，而在根中的含量差别不大，说明海棠果钙的转移率较高，缓解铜毒害的能力较强，而八棱海棠叶的含钙高是与生长量相对较低的“浓缩效应”有关。

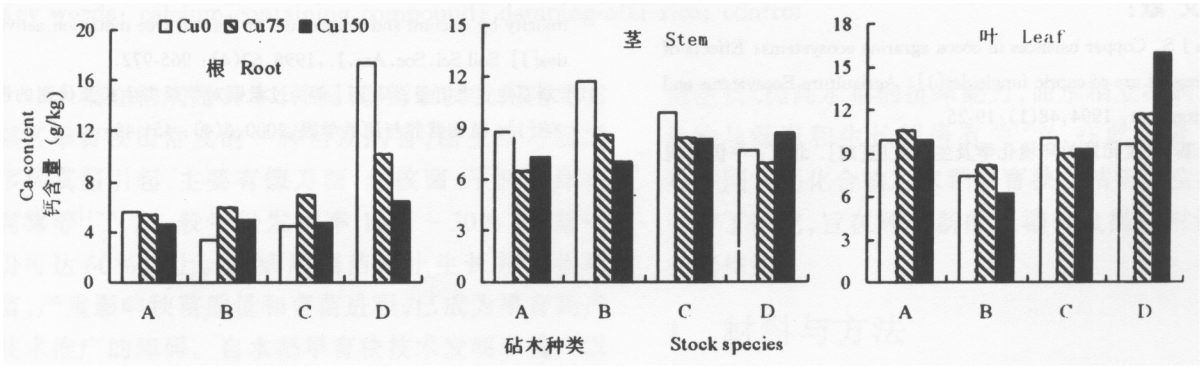

图 3　不同铜处理对各砧木实生苗钙含量的影响

Fig. 3　Effect of Cu on the content of total Ca of stock seedlings

2.3.3　对铁含量影响　4 种砧木品种的全铁含量是根＞叶＞茎(图 4)。但不同的铜处理条件下，不同砧木苗也表现出了铁吸收的差异。海棠果根的铁含量除 Cu150 处理高于八棱海棠外，其余含量与同条件相比几乎都是最低；在茎中铁含量低于莱芜难咽和平邑甜茶，与八棱海棠基本相同。而叶中铁含量海棠果表现出了较高的特性，说明海棠果较耐高铜是对铁的运输具有较高的效率。已有研究[10]发现，高铜对苹果叶片叶绿素的稳定及光合作用产生不利的影响，而高铁能缓解这种不利影响。

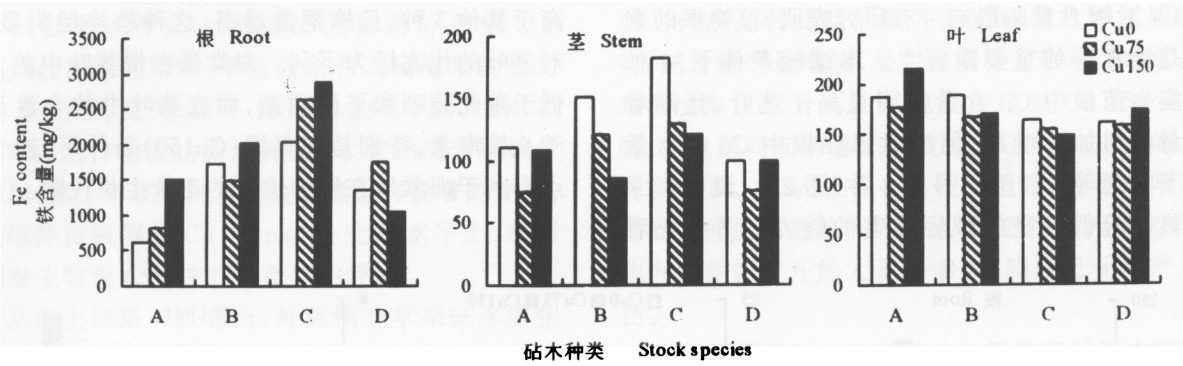

图 4 不同铜处理对各砧木实生苗铁含量的影响

Fig. 4 Effect of Cu on the content of total Fe of stock seedlings

3 结语

本试验选取了海棠果、莱芜难咽、平邑甜茶和八棱海棠等 4 种苹果砧木，分别对其在不同铜处理的土壤环境中生长的相对株高、胸径、生物量、膜透性、铜铁钙含量进行了研究，结果证明这些指标的差异是非常明显的。砧木间在铜毒害指标上的差异反应了种间对铜敏感程度和抗铜能力的差异，说明可以从育种的角度来缓解铜毒害，即选用对铜具有抗性的种类作为苹果育苗的砧木。本试验条件下，海棠果是相对于莱芜难咽、平邑甜茶和八棱海棠的较耐高铜胁迫的优良砧木实生苗。

参 考 文 献：

[1] Lima J S. Copper balances in cocoa agrarina ecosystems: Effects of differential use of cupric fungicides[J]. Agriculture Ecosystems and Environment, 1994,48(1):19-25.

[2] 廖自基.微量元素的环境化学及生物效应[M]. 北京：中国环境科学出版社，1992.210-240.

[3] 王正直，刘春生，邱德峰. 果园土壤铜素的含量、形态及剖面特征研究[J]. 土壤通报,2002,33(5)：369-371.

[4] 刘彦琴，张丰雪，杨敏生.电导率在白杨杂种无性系耐旱性鉴定中的应用[J]. 河北林果研究,1997,12(4)：301-305.

[5] 艾尼莫明. 几种植物细胞膜的差别透性及其与抗旱性的关系[J].干旱区研究,1994,11(1)：57-61.

[6] 柴丽娜，齐小明.冬小麦幼苗细胞膜透性的变化与品种抗旱性的关系及测定[J]. 北京农学院学报,1999,14(3):61-63.

[7] 阎秀峰，孙国荣，那守海,等.盐胁迫下星星草幼苗的生理反应——盐胁迫对星星草幼苗膜透性的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医，1994，(3):1-3.

[8] Alva A K, Graham J H and Tucker D P H. Role of calcium in amelioration of copper phytotoxicity for citrus[J]. Soil Sci.,1993,155(3): 211-218.

[9] Parker D R, Pedler J F and David N. Alleviation of copper rhizotoxicity by calcium and magnesium at defined free metai-ion activities[J]. Soil Sci. Soc. Am. J.,1998,62(4): 965-972.

[10] 刘春生，史衍玺，马 丽，等. 过量铜对苹果树生长及代谢的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2000,6(4)：451-456.