

除草剂二氯喹啉酸对粗梗水蕨有性繁殖的影响

陶玲^{1,2}, 尹黎燕¹, 李伟^{1*}

(1. 中国科学院武汉植物园水生植物生物学实验室, 武汉 430074; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 研究了除草剂二氯喹啉酸对国家二级重点保护野生植物粗梗水蕨(*Ceratopteris pteridoides*)有性繁殖的影响。研究发现二氯喹啉酸对粗梗水蕨孢子萌发没有影响, 但对粗梗水蕨配子体生长有抑制作用, 二氯喹啉酸浓度和粗梗水蕨配子体面积呈明显剂量-效应关系, 二氯喹啉酸对粗梗水蕨配子体生长抑制的EC₅₀为0.48 mg·L⁻¹。随着二氯喹啉酸浓度从0.1 mg·L⁻¹开始升高, 粗梗水蕨配子体分化形成的雌雄同体配子体逐渐减少, 同时雌雄同体配子体上颈卵器形成时间推迟, 颈卵器数量减少。当二氯喹啉酸浓度为4 mg·L⁻¹时, 没有雌雄同体配子体形成。以上研究结果表明, 粗梗水蕨配子体生长受到二氯喹啉酸的抑制, 自身的成精子囊素性别调控系统间接受到影响, 导致粗梗水蕨有性繁殖能力减弱。该研究可为除草剂对非靶标水生植物的生态风险评价提供基础资料, 保护水生植物多样性。

关键词: 水蕨属; 除草剂; 配子体; 性别分化

中图分类号: Q945.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)06-0601-04

Effects of Herbicide Quinclorac on Sexual Reproduction of *Ceratopteris pteridoides*

TAO Ling^{1,2}, YIN Li-Yan¹, LI Wei^{1*}

(1. Laboratory of Aquatic Plant Biology, Wuhan Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China;
2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The environmental impacts of herbicides cannot be overlooked when increasing attention is being focused on environmental issues. It is possible that rice herbicides are having adverse effects on on-target plants that grow around paddy fields. The effects of herbicide quinclorac on sexual reproduction of *Ceratopteris pteridoides* the second category of the key protected wild plants were studied in this paper. Results showed that quinclorac had no effect on germination of *C. pteridoides*. However, it dose-dependently inhibited the gametophyte growth of *C. pteridoides* with the EC₅₀ of 0.48 mg·L⁻¹. The hermaphrodite gametophyte ratio was reduced and archegonium differentiation was delayed with dose dependent manner when quinclorac concentrations were higher than 0.1 mg·L⁻¹. While quinclorac concentration reached 4 mg·L⁻¹, male but no hermaphrodite gametophyte formed. These results indicate that quinclorac affects the sexual reproduction of *C. pteridoides* by inhibiting the gametophyte growth and indirectly disturbing the antheridiogen systems of *C. pteridoides*. This can provide fundamental data to the ecological risk assessment of herbicides contamination on non-target aquatic plants and protect the aquatic plant biodiversity.

Key words: *Ceratopteris* Brongn; Herbicide; Gametophyte; Sexual differentiation

水蕨属(*Ceratopteris* Brongn)是水蕨科唯一的一个属, 在我国有水蕨(*C. thalictroides*)和粗梗水蕨(*C. pteridoides*)两个种^[1], 均为国家二级重点保护野生植物^[2]。水蕨属植物具有较高的食用价值和一定的药用价值, 也是研究植物遗传学的好材料, 因此备受关注。

收稿日期: 2007-04-13, 修回日期: 2007-08-27。

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2005AA6010100503); 国家自然科学基金资助项目(30570291); 国家重点基础研究发展计划项目(2002CB412300)资助。

作者简介: 陶玲(1981-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水生植物生态学。

* 通讯作者(E-mail: liwei@rose.whiob.ac.cn)。

农业生态系统中生物多样性保护逐渐受到关注^[3]。除草剂可能会污染农田周围水域并对非靶标水生植物产生负作用^[4-6], 导致农田周围水域水生植物多样性降低, 其中除草剂对敏感珍稀濒危水生植物的影响也应该考虑在内^[7]。Aida等研究了除草剂对日本满江红(*Azolla japonica*)、槐叶萍

(*Salvinia natans*)等蕨类植物生长的影响,发现沟渠和河流中残留的除草剂苄嘧磺隆对这些日本濒危蕨类植物的生长产生抑制作用^[8],除草剂对非靶标水生植物特别是濒危植物的影响逐渐被引起重视。在我国,水蕨属植物主要分布于稻田、水沟、湖泊等生境,其有性繁殖时期与稻田除草剂施用时间一致,水蕨属植物的有性繁殖更容易受到影响。目前,有关除草剂对濒危蕨类植物有性繁殖影响方面的研究还未见报道。除草剂二氯喹啉酸(quinclorac)是目前国内应用最广泛的稻田除草剂之一,在土壤中有一定的积累性,易对后茬敏感作物产生药害,对地下水也存在潜在的污染^[9]。我们通过研究除草剂二氯喹啉酸对国家二级重点保护野生植物粗梗水蕨有性繁殖的影响,以期为安全使用除草剂、保护水生植物多样性和水生生态环境提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

粗梗水蕨(*Ceratopteris pteridoides*)孢子采自湖北斧头湖,孢子叶采回后装入纸袋自然晾干,待孢子自然脱落后收集,常温保存。除草剂为50%二氯喹啉酸可湿性粉剂。

1.2 实验方法

二氯喹啉酸用Knop's营养液按照逐级稀释的方法配成0.01、0.1、0.4、0.8、1、2、4 mg·L⁻¹的浓度梯度,浓度均为有效成分含量浓度,现用现配。实验时先在6 cm培养皿中加入5 mL各浓度二氯喹啉酸溶液,再各加入1滴粗梗水蕨孢子悬浮液,约1000个孢子。以Knop's营养液为对照,每个浓度6个重复。培养皿置于光照培养箱,光照强度1500 lx,(28±0.5)℃培养。孢子接种7 d后,每个浓度取3个培养皿在体视显微镜下观察和计算孢子萌发率,并在显微镜下拍摄配子体发育照片并计算配子体面积,每个培养皿拍摄5个配子体面积照片。其后,每天观察配子体发育状况并记录配子体上颈卵器出现时间和颈卵器数目,14 d后统计另外3个培养皿中雌雄同体配子体的数量。

1.3 数据分析

所有数据用SPSS10.0进行分析。粗梗水蕨配子体面积对二氯喹啉酸的反应采用log-logistic concentration model^[10]进行拟合:

$$U = C + \frac{D - C}{1 + \exp[B(\log x - \log(EC_{50}))]}.$$

其中U代表配子体对除草剂的反应,C和D分别代表配子体对除草剂反应的下限和上限,EC₅₀代

表除草剂对配子体产生半数效应时的浓度,B代表曲线在EC₅₀处的斜率。本实验中配子体对除草剂的反应的上限和下限设定为对照值和0。采用方差分析方法比较不同浓度除草剂对粗梗水蕨孢子萌发和配子体性别分化的影响。

2 结果与分析

2.1 二氯喹啉酸对粗梗水蕨孢子萌发的影响

粗梗水蕨孢子萌发以假根的出现为标志^[11]。孢子接种7 d后,对照和二氯喹啉酸处理后的粗梗水蕨孢子均能萌发,孢子萌发率见图1。方差分析表明,各浓度处理之间及和对照相比,粗梗水蕨孢子萌发率都没有显著差异($p > 0.05$)。

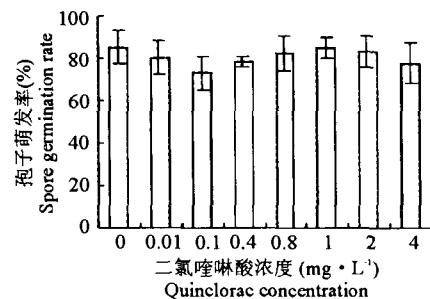


图1 二氯喹啉酸对粗梗水蕨孢子萌发率的影响

(数据表示为平均值±标准差)

Fig. 1 The effect of quinclorac on spore germination rate of *C. pteridoides* [Values are average ± SD (n = 3)]

2.2 二氯喹啉酸对粗梗水蕨配子体生长的影响

粗梗水蕨孢子接种7 d后,对照组中生长较快的粗梗水蕨配子体已经开始性别分化,形成心形的雌雄同体配子体和盾形雄性配子体。二氯喹啉酸0.01 mg·L⁻¹浓度中,粗梗水蕨配子体的发育与对照中一致。但从二氯喹啉酸浓度0.1 mg·L⁻¹开始,粗梗水蕨配子体面积均显著小于对照($p < 0.05$),且均未开始性别分化。随着二氯喹啉酸浓度升高,粗梗水蕨配子体面积减小,粗梗水蕨配子体面积对二氯喹啉酸的反应用log-logistic concentration model拟合后(见图2),由拟合曲线得出二氯喹啉酸对粗

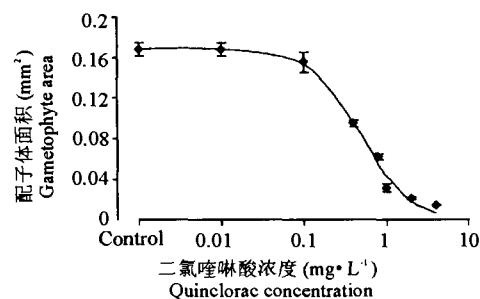


图2 二氯喹啉酸对粗梗水蕨配子体生长的影响

(数据表示为平均值±标准差)

Fig. 2 The effect of quinclorac on gametophyte growth of *C. pteridoides* [Values are average ± SD (n = 3)]

梗水蕨配子体生长的 EC_{50} 为 $0.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 二氯喹啉酸对粗梗水蕨配子体分化的影响

二氯喹啉酸处理后,除了 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度外,随着二氯喹啉酸浓度升高,粗梗水蕨分化形成的雌雄同体配子体减少,雄性配子体增加,雌雄同体配子体占所形成的配子体比例下降,且粗梗水蕨配子体分化形成的雌雄同体配子体的比例与对照相比均有显著差异($p < 0.05$)。当二氯喹啉酸为 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度时,粗梗水蕨配子体全部分化为雄性配子体,没有雌雄同体配子体形成(见图3)。

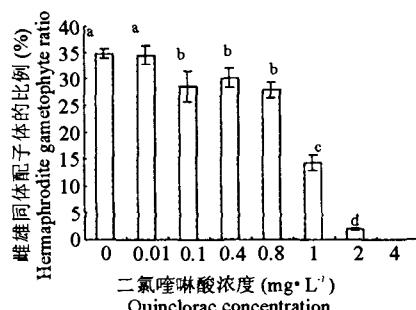


图3 二氯喹啉酸对粗梗水蕨配子体分化的影响
(数据表示为平均值 \pm 标准差,不同字母表示差异显著)
Fig. 3 The effect of quinclorac on gametophyte differentiation of *C. pteridoides* [Values are average \pm SD($n = 3$), different letter means significant difference($p < 0.05$)]

2.4 二氯喹啉酸对粗梗水蕨配子体上颈卵器形成的影响

二氯喹啉酸浓度从 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 开始,粗梗水蕨配子体上颈卵器形成的时间开始推迟,形成的颈卵器数量减少,二氯喹啉酸浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,粗梗水蕨雌雄同体配子体上形成的边缘分生组织向中间靠拢,仅形成一个颈卵器。二氯喹啉酸浓度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,粗梗水蕨配子体上没有颈卵器形成,所有配子体只分化出精子器,形成雄性配子体(见表1)。

表1 二氯喹啉酸对粗梗水蕨配子体上颈卵器形成的影响
Table 1 The effect of quinclorac on archegonium differentiation of *C. pteridoides* gametophytes

二氯喹啉酸浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Quinclorac concentration	颈卵器出现时间 (d) Day archegonium developed	颈卵器数量 (个) Archegonium number
0	7	4~5
0.01	7	4~5
0.1	7	4~5
0.4	9	3~4
0.8	11	3~4
1	12	1
2	15	1
4	-	0

3 讨论

除草剂二氯喹啉酸处理后,粗梗水蕨孢子的萌发率与对照之间没有显著差异,表明二氯喹啉酸不影响粗梗水蕨孢子的萌发。可能的原因是二氯喹啉酸只能在粗梗水蕨孢子萌发以后,被配子体细胞吸收才能产生毒性作用。

水蕨属植物配子体性别的决定与配子体发育速度相关。在一个孢子群体当中,体积大的孢子形成的配子体生长快,先在配子体一侧形成分生组织,并在分生组织分化出颈卵器,发育成为雌雄同体配子体。雌雄同体配子体向环境中分泌成精子囊素(Ace),生长慢的配子体在成精子囊素的作用下形成雄性配子体^[12]。水蕨(*C. thalictroides*)的配子体在IBA、IAA、NAA、2,4-D等激素相应浓度处理后,随激素浓度升高,配子体面积也逐渐减小,分化形成的雌雄同体配子体减少,雄性配子体增加。Hickok和Kiriluk推测是由于水蕨配子体生长受到抑制,只有少数的配子体能相对快速生长继续生长分化为雌雄同体配子体,大多数配子体生长缓慢或停滞,在成精子囊素存在的情况下全部发育为雄性配子体,随浓度逐渐升高,形成的雌雄同体配子体的数量越少^[13]。本实验中粗梗水蕨配子体对二氯喹啉酸的反应与此相似。可见,水蕨属植物配子体的分化特异受到成精子囊素的控制,二氯喹啉酸不会直接影响其配子体的分化。但二氯喹啉酸达到一定浓度时,配子体生长会受到抑制,间接影响其性分化,使雌雄同体配子体减少并形成时间推迟,颈卵器减少,最终会导致孢子体减少和形成时间推迟。因此,在野外环境中,粗梗水蕨配子体生长过程中,其环境中存在的除草剂达到抑制的浓度时,就会使有性繁殖能力减弱。植物种群数量减少,种群遗传变异程度有可能也产生变化。水蕨属植物种群相对隔离,种群个体达到一定数量才能维持其种群内数量性状的遗传变异以及种群对未来环境变化的适应能力^[14]。因此在受到除草剂污染后,种群内个体数目减少和遗传多样性变化可能使粗梗水蕨及其它水蕨属植物更易遭到种群灭绝的危险。

除草剂导致水生植物的减少或灭绝,一些淡水物种的灭绝是否与除草剂的使用有关值得研究^[15]。我们研究了除草剂二氯喹啉酸对粗梗水蕨配子体生长及分化的影响,发现当二氯喹啉酸浓度达到 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,粗梗水蕨有性繁殖受到抑制。本实验中仅研究了二氯喹啉酸这一种除草剂对粗梗水蕨

有性繁殖的单一毒性,但目前国内普遍使用由多种除草剂复配而成的复配剂。今后,应研究多种除草剂联合作用下对非靶标水生植物特别是国家保护水生植物的影响,以反映非靶标水生植物受到环境中除草剂残留的影响,并采取合理有效措施,减少除草剂污染对生态环境的破坏。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志(第3卷,第1分册)[M].北京:科学出版社,1990.274-276.
- [2] 于永福.中国野生植物保护工作的里程碑[J].植物学杂志,1999(5):30-32.
- [3] Dobson A P, Bradshaw A D, Baker A J M. Hopes for the future: restoration ecology and conservation biology[J]. *Science*, 1997, 277(25):515-522.
- [4] Aida M, Itoh K, Ikeda H, Harada N, Ishii Y, Usui K. Susceptibilities of some aquatic ferns to paddy herbicide bensulfuron methyl[J]. *Weed Biol Manage*, 2004, 4(3):127-135.
- [5] Roshon R D, McCann J H, Thompson D G, Stephenson G R. Effects of seven forestry management herbicides on *Myriophyllum sibiricum*, as compared with other non-target aquatic organisms[J]. *Can J For Res*, 1999, 29(7):1158-1169.
- [6] Ueji M, Inao K. Rice paddy field herbicides and their effects on the environment and ecosystems[J]. *Weed Biol Manage*, 2001, 1(1):71-79.
- [7] Luo X Y, Ikeda H. Effects of four rice herbicides on seed germination and seedling growth of a threatened vascular plant *Penthorum chinense* Pursh[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2005, 75(2):382-389.
- [8] Aida M, Ikeda H, Itoh K, Usui K. Effects of five rice herbicides on the growth of two threatened aquatic ferns[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2006, 63(3):463-468.
- [9] 刘乾开,朱国念.新编农药使用手册[M].上海:上海科学技术出版社,1999.463-465.
- [10] Seefeldt S S, Jensen J E, Fuerst E. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships[J]. *Weed Technol*, 1995, 9(2):218-227.
- [11] Warne T, Hickok L. (2-Chloroethyl) phosphonic acid promotes germination of immature spores of *Ceratopteris richardii* Brongn[J]. *Plant Physiol*, 1987, 83(4):723-725.
- [12] Chasan R. Ceratopteris: a model plant for the 90s[J]. *Plant Cell*, 1992, 4(2):113-115.
- [13] Hickok L G, Kiriluk M R. Effects of auxins on gametophyte development and sexual differentiation in the fern *Ceratopteris thalictroides* (L.) Brongn[J]. *Bot Gaz*, 1984, 145(1):37-42.
- [14] 吴翠,董元火,王青锋.水蕨(*Ceratopteris thalictroides*)种群的分布格局[J].武汉大学学报(理学版),2004,50(4):515-519.
- [15] 吴晓霞,吴进才,金银根,董波,王荣生.除草剂对水生植物的生理生态效应[J].生态学报,2004,24(9):2037-2042.