

外源独角金内酯对铅胁迫下番茄幼苗生理特性的缓解效应

史沉鱼, 韦芳灵, 黄彩腰, 邓晰朝

(广西蚕桑生态学与智能化技术应用重点实验室·广西现代蚕桑丝绸协同创新中心·微生物及植物资源开发利用广西高校重点实验室·河池学院化学与生物工程学院 广西河池 546300)

摘要: 为了研究外源独角金内酯(GR24)对重金属铅胁迫下番茄幼苗生长生理的影响,以番茄品种上海红宝石 908 为材料,在河池学院植物生理材料培养室进行试验,培养室平均温度 28 °C,平均相对湿度为 70.85%。选择生长状态较为一致且为 3 叶 1 心的番茄幼苗移栽至 1/2 Hoagland 营养液中,试验共设 4 个处理,CK(完全营养液)、GR24(完全营养液+50 nmol·L⁻¹ GR24)、Pb(完全营养液+200 mg·L⁻¹ Pb)、Pb+GR24(完全营养液+200 mg·L⁻¹ Pb + 50 nmol·L⁻¹ GR24)。研究了 GR24 对正常生长和铅胁迫下番茄幼苗的长势、抗氧化系统和渗透调节物质等的影响。结果表明,与 CK 相比,200 mg·L⁻¹ 的 Pb 胁迫处理番茄幼苗的株高、根长、单叶面积分别降低了 21.03%、35.15%、27.27%。与单独 Pb 胁迫处理相比,施加外源 GR24 可以明显提高番茄幼苗叶片中叶绿素、类胡萝卜素、可溶性糖、可溶性蛋白含量(SP)和生物积累量;显著提高 POD、CAT 等抗氧化酶活性和根系活力;降低植株叶片 H₂O₂、O₂^{-·}、脯氨酸和 MDA 含量。综上,外源施加 50 nmol·L⁻¹ 的 GR24 能加快铅胁迫下番茄幼苗叶绿素合成速度,提高叶片抗氧化能力,促进番茄苗期生长,缓解铅胁迫对番茄幼苗生长的毒害作用。

关键词: 番茄幼苗; 铅胁迫; GR24; 生理指标; 缓解效应

中图分类号: S641.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2024)05-115-09

Effects of exogenous on the physiological characteristics of tomato seedlings under Pb stress

SHI Chenyu, WEI Fangling, HUANG Caiyao, DENG Xichao

(Guangxi Key Laboratory of Sericulture Ecology and Applied Intelligent Technology/Guangxi Collaborative Innovation Center of Modern Sericulture and Silk/Guangxi Colleges Universities Key Laboratory of Exploitation and Utilization of Microbial and Botanical Resources/Institute of Chemical and Biological Engineering, Hechi University, Hechi 546300, Guangxi, China)

Abstract: In order to study the effect of exogenous GR24 on the growth physiology of tomato seedlings under heavy metal Pb stress, the tomato variety Shanghai Ruby 908 was used as the experimental material. The experiment was conducted in a plant physiological material culture room, with an average temperature of 28 °C and an average relative humidity of 70.85%. Tomato seedlings with consistent growth status and three leaves and one heart were transplanted into 1/2 Hoagland nutrient solution. The experiment included four treatments: CK (complete nutrient solution), GR24 (complete nutrient solution+50 nmol·L⁻¹ GR24), Pb (complete nutrient solution+200 mg·L⁻¹ Pb), and Pb+GR24 (complete nutrient solution+200 mg·L⁻¹ Pb+50 nmol·L⁻¹ GR24). The results showed that the Pb stress of 200 mg·L⁻¹ reduced the plant height, root length, and single leaf area of tomato seedlings by 21.03%, 35.15%, and 27.27%, respectively. Compared with individual Pb stress treatment, applying exogenous GR24 can significantly increase the content of chlorophyll, carotenoids, soluble sugars, soluble proteins, and bioaccumulation in tomato seedling leaves; significantly increase the activity of antioxidant enzymes such as SOD, POD, CAT, and root activity; reduce the content of H₂O₂, O₂^{-·}, proline and MDA in leaf. Therefore, exogenous application of 50 nmol·L⁻¹ GR24 can alleviate the toxic effect of Pb stress on the growth of tomato seedlings.

Key words: Tomato seedlings; Pb stress; GR24; Physiological indicators; Alleviative effect

收稿日期: 2022-11-22; 修回日期: 2023-11-07

基金项目: 广西自然科学基金项目(2024GXNSFAA010145); 广西教育厅科研项目(2021KY0623); 河池学院科研项目(2021GCC023, 2021GCC016, 2021GCC017); 河池学院教改项目(2022EA002); 桂西北特色植物资源开发与功能研究中心研究平台(2017-05-02)

作者简介: 史沉鱼, 女, 副教授, 主要从事植物生理学研究。E-mail: shichenyu521@163.com

通信作者: 邓晰朝, 女, 副教授, 主要从事植物学研究工作。E-mail: hcxydc@163.com

近年来,我国农业环境受重金属污染的现象屡见不鲜,据报道,中国总耕地面积将近有 1/5 遭受重金属污染,0.12 亿 t 粮食被重金属毒害^[1]。在众多重金属种类中铅是污染面积最大的重金属之一,极易累积在动植物体内,对人体组织器官和植物的生长发育造成损伤^[2]。国内外研究发现,在铅胁迫环境下,植物形态会发生变化,同时能引起植物地上部分缓慢生长,根系生物量减少、根系活力降低、细胞膜透性急剧增加、保护酶系统修复能力减弱等^[3]。在高浓度铅胁迫下,油菜种子活力降低,幼苗质膜受损,当铅浓度超过一定限度时,POD 和 SOD 活性呈下降的趋势^[4]。在铅胁迫下,绿豆种子活力、发芽率、发芽势以及根长、芽长和幼苗鲜质量、幼苗根冠比等指标明显表现为随铅浓度升高而降低^[5]。铅胁迫下常春藤生长会受到刺激,生长缓慢;高浓度铅胁迫下,会出现植株徒长、节间距拉长、生长异常等情况^[6]。由此可见,研究铅对植物的毒害机制及如何缓解植物的铅毒害效应,保证作物质量安全具有重要意义。

独脚金内酯(SLs)是独脚金醇类化合物及其衍生物的总称,是近年来发现的一类能调控植物发育过程的信号分子,具有促进种子萌发、刺激丛枝菌根有丝分裂和生长、调控植物分枝等多种功能^[7]。天然独脚金内酯主要包括独脚金醇(strigol)、列当醇(orobanchol)及其衍生物、高粱内酯(sorgolactone)等。人工合成的独脚金内酯主要是独脚金醇类似物(germination re-leaser, GR),如 GR24、GR7、GR6、GR3 等,其中 GR24 活性最高,常被用作独脚金内酯信号通路相关研究中的常规性参照物^[8]。GR24 能够调控植物的形态结构、生殖发育并且在植物抵御如水涝、干旱、弱光以及重金属镉、高盐等胁迫的过程中也发挥了举足轻重的作用^[9-11]。有研究表明,独脚金内酯能在基因水平与 ABA 相互作用调控乌柏干旱和盐渍胁迫^[12]。外源添加独脚金内酯处理后能显著减轻镉对大麦光合作用的抑制^[13]。

番茄在蔬菜栽培中占重要地位,是我国种植面积最大、最具象征性的无土栽培作物之一^[14]。有研究表明,高浓度的重金属会抑制番茄幼苗的生长,表现为种子萌发率、株高明显降低,幼苗根系明显生长不良等^[15]。独角金内酯作为新型植物激素,在调控植物生长生理及抗性生理方面的研究已有相关报道^[10-13],但独角金内酯能否缓解铅对番茄的生理毒害还不十分清楚。笔者以重要蔬菜栽培种类

和研究模式作物番茄为试验材料,探究了铅胁迫对番茄幼苗生理特性的影响,并初步探索了独角金内酯(GR24)在缓解番茄铅遭受铅胁迫方面的生理效应,以期为实际生产中通过施用外源 GR24 提高番茄对重金属胁迫的耐受性提供理论指导。

1 材料与试验方法

1.1 材料

试验材料为上海红宝石 908 番茄,属早熟品种,生长势强、适应范围、耐黄瓜花叶病毒,是较抗病的番茄品种。独角金内酯购自广西卓一生物技术有限公司。

1.2 试验设计

1.2.1 单独铅胁迫处理 试验于 2021 年 2 月至 2022 年 7 月在河池学院植物生理材料培养室进行,培养室平均温度 28 °C,平均相对湿度为 70.85%。试验材料做如下处理:先用 40 °C 温水浸种 3 h,捞出擦干后再用 1% KMnO₄ 消毒 10 min,消毒后用蒸馏水冲洗 3~4 次,将种子放入底部铺有两层滤纸的干净玻璃培养皿进行催芽,每皿 20 粒,加入 20 mL 蒸馏水,种子萌发期间每日补充少量蒸馏水溶液以保持滤纸湿润,待种子萌发后转移到土壤中进行培养。对预培养 7 d 的番茄幼苗进行胁迫处理,分别用不同质量浓度(0、50、100、200、300、400 mg·L⁻¹)的硝酸铅溶液进行处理,试验采用完全随机设计,共设 6 个处理,每个处理 3 次重复,每次 18 个样本。处理 6 d 后选取健壮的番茄幼苗洗净,擦干,测量根长、株高、真叶数、单叶面积等形态指标,从 6 个处理中筛选出合适的铅胁迫浓度进行下一步试验。

1.2.2 外源施加 GR24 处理 将番茄种子按照上述方法预培养 7 d 后,选择生长状态较为一致的 3 叶 1 心期番茄幼苗移栽至 1/2 Hoagland 营养液中,进行 Pb 胁迫和施加外源 GR24(浓度依据前期预试验结果)处理,浓度参照相关研究^[13]。铅(Pb)以硝酸铅溶液形式加入,试验共设 4 个处理:CK(完全营养液)、GR24(完全营养液+50 nmol·L⁻¹ GR24)、Pb(完全营养液+200 mg·L⁻¹ Pb)、Pb+GR24(完全营养液+200 mg·L⁻¹ Pb+50 nmol·L⁻¹ GR24)。每瓶放 1 株,每个处理设 20 瓶(玻璃瓶容量 350 mL),3 次重复。处理 20 d 后进行番茄幼苗外观形态以及相关生理指标的测定。

1.3 测定指标及方法

采用丙酮-乙醇提取法测定叶绿素和类胡萝卜

素含量^[16];采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量^[16];采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量^[17];采用磺基水杨酸法测定游离脯氨酸含量^[16];采用愈创木酚法测定 POD 活性^[18];采用硫代巴比妥酸比色法测定 MDA 含量^[19];采用氮蓝四唑光化学还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性^[16];采用紫外吸收法测定 CAT 含量^[16]。采用叶片化学染色法,根据染色结果判断超氧阴离子自由基 $O_2^{\cdot-}$ 积累量^[19],采用直接测量法测定主根长度与侧根数量^[20],采用 TTC 法测定根系活力^[21],测定株高、单叶面积、单株真叶数、地上地下部干鲜质量^[22]。以上生理指标测定每个处理测定 15 枚叶片,3 次重复。

1.4 数据分析

采用 Excel(2016)软件作图,同时运用 SPSS 18.0 软件进行单因素方差分析,采用 Duncan's 测验在 0.05 水平上进行显著性分析,对 GR24、Pb 胁迫以及二者的互作效应进行双因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 外源 Pb 对番茄幼苗形态指标的影响

由表 1 可知,与对照相比,番茄幼苗铅处理质量浓度 $\geq 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,株高均表现为下降,铅质量浓度 $\geq 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时各处理株高均与对照存在显著差异;当铅质量浓度为 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,番茄幼苗株高最小,比对照组降低 30.04%。当铅质量浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时番茄根长显著高于对照,增加了 10.38%,此时的铅浓度能够促进番茄幼苗根的伸长;其余浓度铅胁迫下根长与对照组相比均显著下降,分别降低了 13.92%、35.15%、29.47%、37.63%,表明高浓度铅处理对番茄幼苗根的伸长表现为抑制作用。仅当铅质量浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时番茄单叶面积与对照存在显著差异,此浓度单叶面积最小,比对照下降了 27.27%;其他各浓度铅处理对单叶面积的影响与对照组相比无显著差异。各浓度铅处

表 1 铅对番茄幼苗形态指标的影响

Table 1 Effects of Pb on morphological indicators of tomato seedlings

$\rho(\text{Pb})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	株高 Plant height/cm	根长 Root length/cm	单叶面积 Single leaf area/cm ²	单株真叶数 True leaves number per plant
0(CK)	22.44±3.35 ab	20.97±4.66 b	29.70±10.85 ab	5.63±1.03 ab
50	24.77±5.65 a	23.89±4.63 a	34.17±15.50 a	6.27±1.91 a
100	21.89±5.06 b	18.05±4.96 c	29.93±15.08 ab	5.73±1.74 ab
200	17.72±4.45 c	13.60±5.41 d	21.60±9.55 c	5.33±1.71 ab
300	17.51±5.25 c	14.79±5.39 d	27.47±12.79 abc	5.30±1.92 ab
400	15.70±4.25 c	13.08±4.55 d	23.70±10.16 bc	5.13±1.79 b

注:同列数字后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (at the 0.05 level). The same below.

理番茄单株真叶数均与对照无显著差异。

综合幼苗的生长情况,后续试验模拟铅胁迫对番茄幼苗的生理响应选取 Pb 处理的质量浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗生理指标的影响

2.2.1 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的影响 由表 2 可知,与 CK 相比,铅胁迫使番茄叶片中的叶绿素 a、总叶绿素含量和叶绿素 a/b 分别降低了 17.01%、9.28%和 21.86%,但均与对照无显著差异。与铅胁迫相比,在重金属铅胁迫下添加 GR24,叶片中的叶绿素 a、总叶绿素含量和叶绿素 a/b 水平均显著增加,类胡萝卜素含量增加,但二者间差异不显著。在无铅胁迫条件下,GR24 处理相较于对照,番茄叶片中的叶绿素 a 含量、总叶绿素含量、叶绿素 a/b、类胡萝卜素含量水

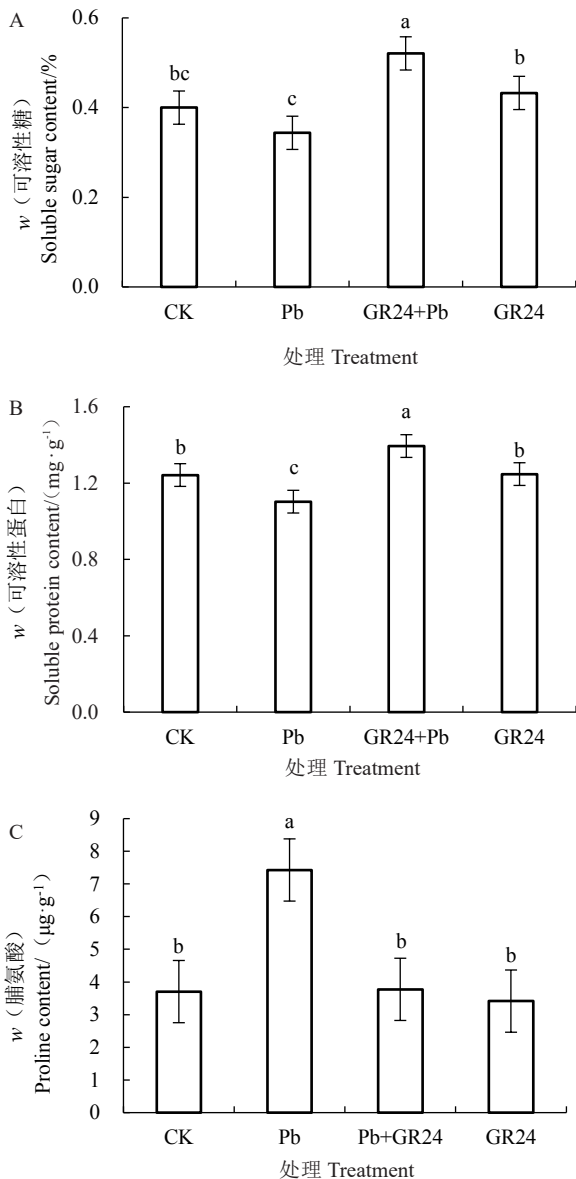
平总体上有所增加,但差异并不显著。

2.2.2 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗渗透调节物质含量的影响 从图 1 可以看出,铅处理下番茄幼苗可溶性糖含量与对照相比虽没有达到显著差异水平但明显降低。说明铅胁迫可抑制植物体内可溶性糖的合成。添加外源 GR24 后,可溶性糖含量与对照存在显著差异,增加了 30.25%;单独施加 GR24 番茄幼苗的可溶性糖含量略高于对照,二者间无显著差异。在铅胁迫下添加 GR24 可促进番茄植株可溶性糖的合成,降低细胞内的渗透势,使番茄幼苗能够表现出更高的耐铅性。铅胁迫处理幼苗的可溶性蛋白含量(SP)显著低于对照;铅胁迫下施加外源 GR24 处理番茄幼苗 SP 含量显著高于对照和铅胁迫处理,相比对照提高了 12.23%。与对照相比,在铅胁迫下对番茄幼苗施加外源 GR24 可促进

表2 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

Table 2 Effects of exogenous GR24 on chlorophyll and carotenoids content in tomato seedlings under Pb stress

处理 Treatment	w(叶绿素 a) Chlorophyll-a content/(mg·g ⁻¹)	w(叶绿素 b) Chlorophyll-b content/(mg·g ⁻¹)	w(总叶绿素) Total chlorophyll content/(mg·g ⁻¹)	叶绿素 a/b Chlorophyll a/b	w(类胡萝卜素) Carotenoid content/ (mg·g ⁻¹)
CK	10.05±0.55 b	5.90±1.76 a	15.95±1.44 b	1.83±0.64 b	0.99±0.96 b
Pb	8.34±0.78 b	6.13±1.57 a	14.47±0.85 b	1.43±0.43 b	2.58±1.06 ab
GR24+Pb	21.16±3.21 a	3.59±1.13 a	24.75±2.13 a	6.65±3.57 a	4.04±0.58 a
GR24	11.21±1.39 b	5.61±1.74 a	16.82±0.80 b	2.17±0.84 b	1.65±0.87 b



注:不同小写字母表示差异显著(0.05水平)。下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences (at the 0.05 level). The same below.

图1 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗渗透调节物质含量的影响

Fig. 1 Effect of exogenous GR24 on the content of osmotic regulatory substances content in tomato seedlings under Pb stress

幼苗 SP 含量提高来适应铅胁迫环境。与对照相比,在铅胁迫下,番茄幼苗叶片中的脯氨酸含量显著增加了 1 倍;在铅胁迫下施用外源 GR24,使幼苗脯氨酸含量比铅胁迫处理下降 49.19%,但与对照相比没有达到显著水平。在单独施用 GR24 时,幼苗脯氨酸含量略低于对照,二者无显著差异。

2.2.3 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗几种抗氧化酶活性的影响 由图 2 可知,铅胁迫下番茄幼苗细胞内的 POD 活性与对照相比显著下降 29.80%;铅胁迫下施加外源 GR24 后,POD 活性显著升高,且显著高于对照。表明适宜浓度的 GR24 可以提高番茄幼苗的耐铅性,可以有效缓解番茄幼苗的铅毒害作用。单独施加 GR24 时番茄叶片内 POD 活性与对照组无显著差异。

与对照相比,铅处理下番茄细胞内 SOD 活性显著降低 42.60%;对幼苗进行 GR24 修复处理后发现 SOD 活性开始回升,与对照无显著差异,相比于铅处理提高了 38.00%,这表明外源 GR24 可以缓解铅胁迫下引起的 SOD 活性降低现象。无铅处理下对幼苗施加 GR24 时 SOD 活性与对照无显著差异。与对照相比,铅胁迫处理番茄幼苗 CAT 活性显著下降了 37.90%。添加外源 GR24 后番茄幼苗 CAT 活性显著升高,比对照显著提高 43.56%,表明番茄幼苗在铅胁迫下施加外源 GR24 能够通过提高 CAT 活性来缓解铅诱发的氧化胁迫。单独施加外源 GR24 对 CAT 活性影响不大,与对照无显著差异。

2.2.4 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗 MDA 和 ROS 含量的影响 由图 3-A 可知,与对照相比,铅胁迫下番茄幼苗的 MDA 含量显著提高 30.80%,推测铅胁迫会使番茄幼苗生物膜脂过氧化程度加深,生物膜系统遭到破坏。经过 GR24 修复后 MDA 含量下降,与对照无显著差异。单独施加 GR24 对幼苗 MDA 含量无显著影响。

由图 3-B 所示,用 3 种不同的染色液分别对番茄叶片进行染色时,对照叶片的颜色较淡或仅有几

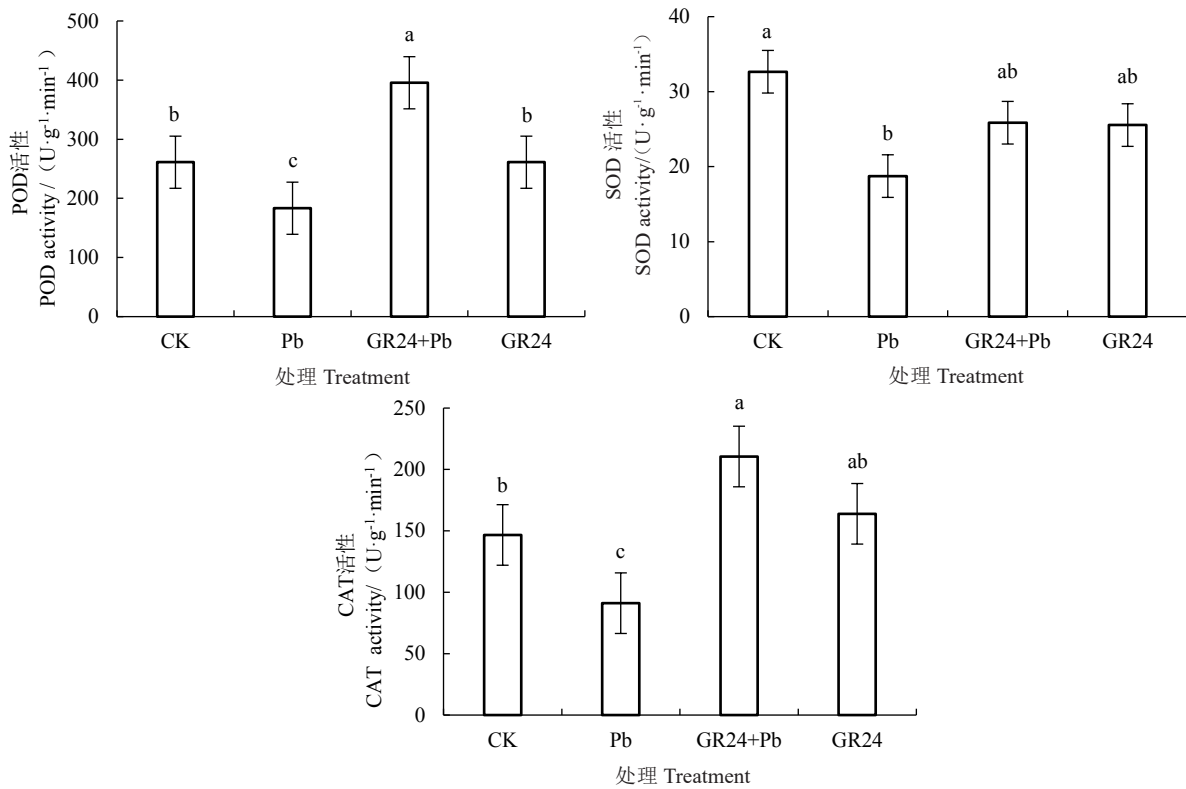


图2 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗几种抗氧化酶活性的影响

Fig. 2 Effects of exogenous GR24 on the activity of several antioxidant enzymes in tomato seedlings under Pb stress

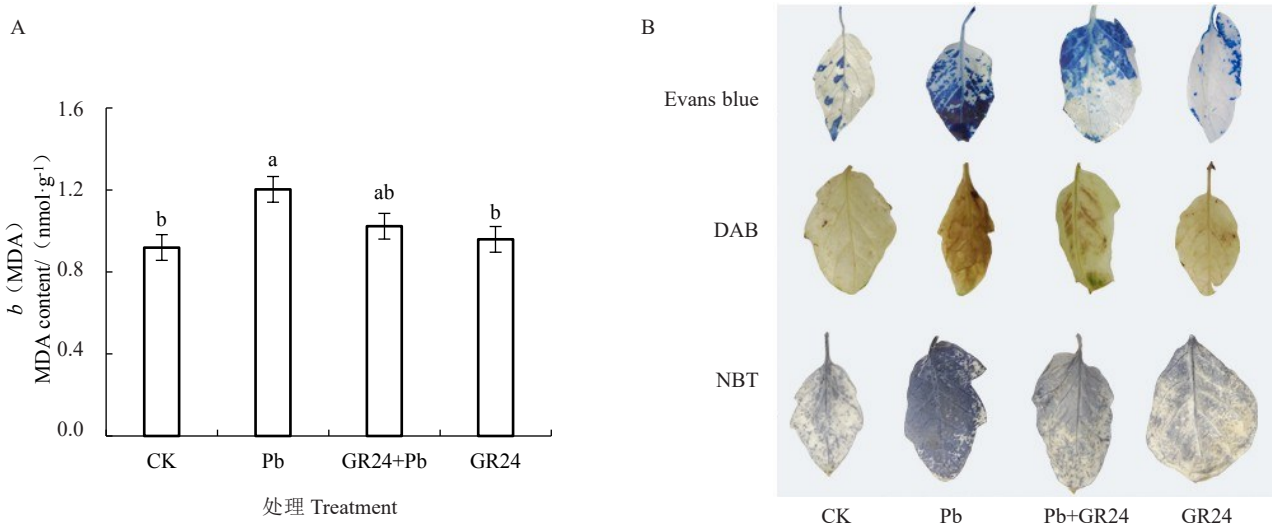


图3 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗 MDA 和叶片 ROS 含量的影响

Fig. 3 Effects of exogenous GR24 on MDA and leaf ROS content in tomato seedlings under Pb stress

个蓝色小斑点,可以说明 CK 叶片的细胞膜结构比较完整, H₂O₂ 含量很低, O₂⁻ 生成能力也比较弱。单独铅胁迫处理的叶片,用 Evans blue、DAB 和 NBT 进行染色后,叶片颜色均变深,斑点数量也有所增加。在重金属铅胁迫下施加外源 GR24,其染色叶片颜色明显变浅,斑点减少,但缓解程度不同。而与对照相比,外源 GR24 单独处理的植株叶片颜色

与对照更为相似,表明外源 GR24 明显减轻了番茄植株的铅胁迫损害。

2.2.5 外源 GR24 对铅胁迫下番茄根系活力的影响 由图 4-A 可知,相比于对照组,铅胁迫下番茄幼苗的主根长与侧根数量均显著降低,分别下降 25.58%、27.27%。铅胁迫下同时添加 GR24,主根长较 Pb 处理显著提高了 21.06%,此时的侧根数量

仍持续减少,达到最小值。单独添加 GR24 时,番茄幼苗的主根长达到最大值,比对照高出 16.50%,而侧根数较对照降低了 22.73%,均与对照存在显著差异。

从图 4-B 可以看出,番茄植株施用 GR24 处理

的根系活力最高,达 $13.53 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,显著高于对照。而在 Pb 胁迫下,番茄的根系活力最低,与对照相比,降低了 42.14%。对铅胁迫下的番茄幼苗施加 GR24 根系活力较 Pb 处理有显著上升趋势,升高了 24.35%。

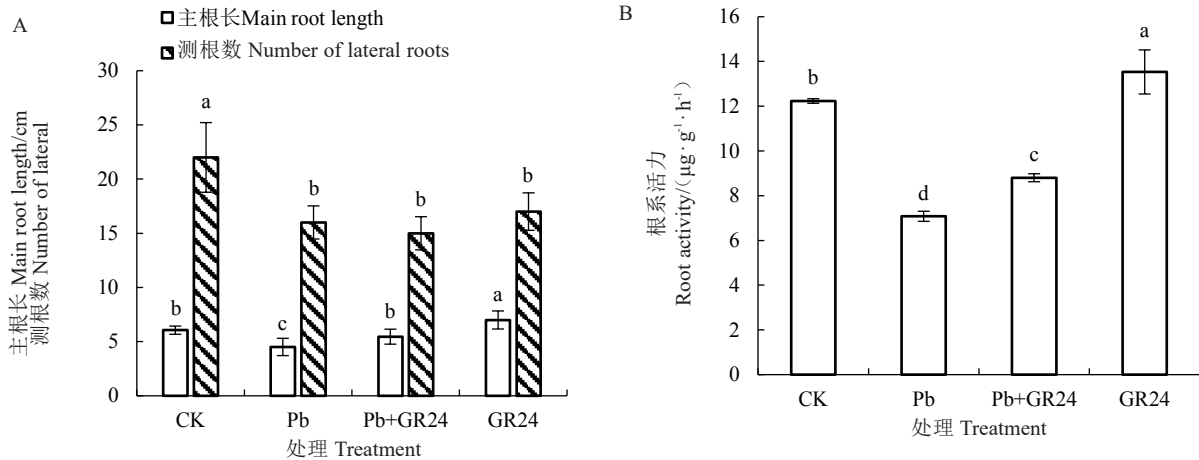


图 4 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗主根长、侧根数及根系活力的影响

Fig. 4 Effects of exogenous GR24 on the main root length, lateral root number, and root vitality of tomato seedlings under Pb stress

2.2.6 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗生物量的影响 从表 3 可以看出,在铅胁迫下,番茄幼苗的地上部鲜、干质量和地下部鲜、干质量与对照相比均有显著下降,分别下降了 24.63%、25.70%、34.12%、

和 44.89%。在铅胁迫的同时添加 GR24,各部分生物量较 Pb 处理均有提高。所有处理中,单独施加外源 GR24 处理的生物量最高,其地上部鲜质量、地上部干质量和地下部鲜质量分别比对照显著提升

表 3 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗生物量的影响

Table 3 Effects of exogenous GR24 on the biomass of tomato seedlings under Pb stress

处理 Treatment	地上部鲜质量 Fresh mass of aboveground parts /mg	地下部鲜质量 Fresh mass underground /mg	地上部干质量 Dry mass of aboveground /mg	地下部干质量 Dry mass of underground /mg
CK	4 318.23±213.71 b	1 054.33±13.75 b	268.47±31.54 b	88.43±5.76 a
Pb	3 254.73±317.38 c	694.63±46.23 d	199.47±4.12 c	48.73±2.35 b
Pb+GR24	3 296.23±102.11 c	721.47±11.24 c	220.17±9.07 bc	54.20±3.63 b
GR24	5 526.77±536.49 a	1 173.70±25.56 a	366.83±36.21 a	88.77±7.67 a

了 27.99%,36.64%和 11.32%。

3 讨论与结论

3.1 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗光合色素的影响

植物体内叶绿素与类胡萝卜素等光合色素含量与植株的衰老、营养胁迫以及光合作用强弱都密切相关,是评估植物营养、生长、干物质含量、新陈代谢和酶活性的重要依据^[23]。本研究结果表明,铅能抑制光合色素的产生,降低番茄叶片中的总叶绿素含量,提高类胡萝卜素水平。施加外源 GR24 能

有效促进总叶绿素和类胡萝卜素合成,显著减轻铅胁迫对某些叶绿体结构的破坏,增强植物的抗逆性,更有利于光合产物形成和积累,缓解了铅对植物光合作用的抑制效应,这与前人的研究结果一致^[13,24]。

3.2 外源 GR24 对铅胁迫下番茄幼苗渗透调节物质含量的影响

可溶性糖和可溶性蛋白是重要的渗透调节因子,可以调节植物细胞渗透势来抵御逆境伤害,重金属铅的过量积累同样会使植物营养物质的摄取和分配发生紊乱,进而削弱植物体内的氧化过程以

及脂肪代谢过程强度^[25]。在本试验中与对照相比,番茄幼苗在铅胁迫下可溶性糖含量下降,SP含量显著下降,表明铅胁迫影响植物生理机能,抑制可溶性糖和SP积累,加快分解,致使植物体内可溶性糖和SP含量降低,这与前人的研究结果一致^[26-27]。GR24作用后可溶性糖含量显著升高,甚至高于对照,表明GR24能够促进番茄幼苗可溶性糖的积累,增强细胞膜的渗透调节能力,从而起到抗逆性调节作用。游离脯氨酸是植物中最重要的渗透调节物质之一,用于抗氧化、清除自由基、稳定细胞膜结构和保护细胞质中的各种酶,正常情况下,植物体内脯氨酸的水平非常低,当遇到逆境胁迫时,植物会产生大量的脯氨酸,以降低自身所受伤害,从而维持机体的正常生理代谢功能^[28]。铅胁迫下番茄幼苗中的脯氨酸含量大幅上升,说明在不利条件下番茄可通过调节体内的渗透物质来保护细胞膜结构,这与在小麦中的研究结果一致^[29]。对铅胁迫后的番茄添加GR24,叶片中的脯氨酸含量较单一铅胁迫处理显著下降,说明GR24可以降低铅胁迫下番茄幼苗脯氨酸含量,减轻铅胁迫对植物细胞膜的损伤,减少脯氨酸在植物体内的积累量,进而维持细胞的渗透平衡,从而提高番茄抵御铅胁迫伤害的能力。以上结果表明,铅胁迫下施加外源GR24会增加番茄植株SP含量,进而增强番茄植株的渗透调节作用及膜透性,提高细胞保水能力,维持细胞渗透平衡。

3.3 外源GR24对铅胁迫下番茄幼苗SOD、POD、CAT活性的影响

重金属胁迫能使植物体内产生大量活性极高并且伴有毒性的活性氧自由基,严重损害植物体内蛋白质、脂类、核苷酸等物质。植物体内的保护酶系统可有效清除因环境胁迫而产生的过量的活性氧,其中SOD、POD、CAT是普遍存在的重要的抗氧化酶,可以清除过量活性氧自由基^[30]。在本试验中番茄幼苗由于铅胁迫导致SOD、POD、CAT活性均显著下降,施加外源GR24后这3种酶活性均有提高,表明铅处理下添加外源GR24可不同程度地增强番茄幼苗中SOD、POD、CAT活性,清除番茄幼苗组织在铅胁迫下产生的过量活性氧自由基,提高番茄幼苗在铅胁迫环境的生存能力,这与张灿^[13]研究独角金内酯能缓解大麦镉毒害结果一致。因此,在受铅胁迫毒害的番茄幼苗中,外源GR24能够促进抵抗活性氧自由基物质的再生,增强幼苗的抗氧化酶活性,缓解铅胁迫对番茄幼苗生长发育的

抑制。

3.4 外源GR24对铅胁迫下番茄幼苗MDA和叶片ROS含量的影响

MDA是植物膜脂过氧化的终产物,可以作为植物抗逆境胁迫耐受性检测的指标,当植物受到胁迫时,大量活性氧自由基积累在植物体内致使植物膜脂过氧化程度加深,MDA含量增加^[31]。MDA含量与胁迫程度呈正相关,其含量越高代表膜损伤程度越高。植物自身在应对逆境胁迫时会本能地进行生理调节。在笔者的试验中,MDA含量在重金属铅的处理下升高,施加GR24之后,MDA含量开始下降,表明在一定程度上GR24能够使植物叶片中的MDA含量降低。这与王乔健^[12]在乌桕上的研究结果一致:GR24能够使MDA含量减少,加速乌桕幼苗清除细胞膜脂过氧化终产物,减轻其对细胞膜的伤害,增强乌桕在逆境胁迫环境中的生存能力。

在正常环境下,活性氧(ROS)在植物中的代谢水平处于平衡状态。然而,在遭受不利环境胁迫下,植物体内会产生和积累大量的 $O_2^{\cdot-}$,从而对植物造成伤害^[32]。铅胁迫会造成醌类化合物在植物中积累,从而产生大量活性氧物质(ROS),如 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 。 $O_2^{\cdot-}$ 具有很强的氧化作用,可损害植物细胞; H_2O_2 是细胞膜发生膜脂过氧化的重要因素之一^[33]。在不同处理条件下, H_2O_2 的积累量通过DAB染液染色后,叶片颜色由浅褐色至深褐色的变化情况来评估;NBT染液染色后,叶片上蓝色斑点的数目可以反映出叶片细胞产生 $O_2^{\cdot-}$ 活性的强弱;而Evans blue染色后,叶片上的颜色由淡蓝色至深蓝色的变化,可用来评价叶片细胞受损伤的程度,斑点的数目愈多,或者颜色愈蓝,则说明植物叶片在逆境中所遭受的损伤越重^[19]。在本研究中,单一铅胁迫下,染色使番茄幼苗叶片颜色加深,斑点数量增加,表明重金属铅胁迫破坏了番茄叶片的细胞膜结构,并诱导了大量 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 产生。施加外源GR24后,其染色叶片颜色明显变浅,斑点数量较单一铅胁迫明显减少,这与董亚茹等^[19]在桑树中的研究结果一致,进一步说明外源GR24可通过减少叶片中 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 的积累量,缓解番茄幼苗在铅胁迫下受到的伤害,提高植株的耐铅性。

3.5 外源GR24对铅胁迫下番茄主根长度、侧根数量及根系活力的影响

根是植物的主要营养器官,很容易受到外界环境因素的影响,对毒性响应的敏感度极高,因此,根系的形态直接反映出其对环境的适应性^[20]。在本试

验4个处理中,铅胁迫下的番茄幼苗主根长度最短,侧根数也低于对照,表明铅胁迫对番茄主根的伸长和侧根的形成均有明显的抑制作用。施加外源GR24后,主根长度增加,但侧根数继续减少,尤其是单独添加GR24时,主根长度达到最大值,表明GR24能有效促进番茄主根的伸长,并抑制侧根的形成,这一点与庞娟^[20]在黄芪中的研究结果相似,这也进一步证实了GR24可以参与调控番茄根系的生长发育,调整作物根部构型和营养吸收状况,提高作物对水和养分的吸收效率。

根是植物的主要营养器官,可以从土壤中吸取水分和养分、合成氨基酸和内源激素等,根的生长与发育情况直接影响着植物对水分和营养的吸收^[34]。植物根系的呼吸速率越高,其活性越强,因此根系中TTC还原量就越多;反之,随着根系呼吸能力减弱,TTC还原量也相应地降低^[35]。笔者试验发现,在铅的作用下,番茄幼苗的根系活力明显下降,铅对番茄根系的正常生理机能产生了损害,在一定程度上影响了根系的生长发育,进而降低了根系活力。施加GR24后,较铅胁迫下根系活力整体上升,表明GR24可有效缓解铅胁迫对番茄根系的生长抑制,并能对植株的正常生长起到一定的调节作用,将根系活力维持在一定水平。

3.6 外源GR24对铅胁迫下番茄幼苗生长的影响

过量的铅能使植物根系受损,减缓植物地上部分的生长。有研究表明,女贞苗体内积累过量的Pb会抑制植株生长,严重时甚至导致死亡^[36]。另有研究表明,与对照相比,0.05 mmol·L⁻¹ Pb处理对矮牵牛组培苗的根长、茎长、茎鲜质量以及根干质量均无显著影响,但随着Pb浓度的升高,矮牵牛组培苗的株高、根长以及生物量均显著下降^[37]。在笔者的试验中,高浓度铅胁迫能够降低番茄幼苗的株高、根长、单叶面积和真叶数,铅胁迫环境下,番茄幼苗的地上部鲜、干质量和地下部鲜、干质量相比对照也有显著下降趋势,在铅胁迫的同时添加GR24,各部分生物量较Pb处理均表现出上升趋势。所有处理组中,单独施加外源GR24处理的生物量最高,其地上部鲜质量、地上部干质量和地下部鲜质量分别比对照显著提升。

本试验结果表明,高于200 mg·L⁻¹的铅会抑制番茄幼苗的生长发育,铅胁迫下施用外源GR24能够显著提高番茄叶片光合色素、SP、可溶性糖含量;还可以通过增强SOD、POD、CAT等抗氧化酶活性来降低番茄植株体内活性氧水平,同时减少叶片

MDA含量,有效缓解铅胁迫造成的氧化损伤,减缓植物衰老进程;降低铅胁迫下番茄幼苗的脯氨酸含量,抑制叶片中H₂O₂和O₂⁻的产生,促进植株生物量的积累,促进主根的伸长,抑制侧根的形成,提升根部的根系活力。可见,外源独脚金内酯能有效缓解铅胁迫对番茄幼苗的损害,缓解铅的毒害效应。由于独脚金内酯的作用机制比较复杂,其对番茄的具体影响机制有待研究,在实际生产中的应用需进一步探讨。

参考文献

- [1] 韦朝阳,陈同斌. 重金属超富集植物及植物修复技术研究进展[J]. 生态学报, 2001, 21(7): 1196-1203.
- [2] SHAHID M, ARSHAD M, KAEMMERER M, et al. Long-term field metal extraction by pelargonium: Phytoextraction efficiency in relation to plant maturity[J]. International Journal of Phytoremediation, 2012, 14(5): 493-505.
- [3] ESTRELLA- GOMEZ N, MENDOZA- COZATL D, MORENO-SANCHEZ R, et al. The Pb-hyperaccumulator aquatic fern *Salvinia minima* Baker, responds to Pb²⁺ by increasing phytochelatin synthesis via changes in SmPCs expression and in phytochelatin synthase activity[J]. Aquatic Toxicology, 2009, 91(4): 320-328.
- [4] 田学军,刘成兴,卢焕仙. 铅胁迫对油菜生理的影响[J]. 西南农业学报, 2010, 23(2): 605-607.
- [5] 段代祥,刘俊华. 重金属铅胁迫对绿豆种子萌发及幼苗生长的抑制效应[J]. 种子, 2021, 40(1): 84-87.
- [6] 李婉婷,黄轩,程小毛,等. 铅胁迫对中华常春藤生长和生理特性的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2019, 34(1): 103-109.
- [7] 郑晨. 新型植物生长调节剂独脚金内酯生物学功能及应用[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(2): 9-13.
- [8] JIANG L, LIU X, XIONG G S, et al. DWARF 53 acts as a repressor of strigolactone signalling in rice[J]. Nature, 2013, 504(7480): 401-405.
- [9] 马敏艳. 独脚金内酯(±)-GR24及其类似物的合成研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2016.
- [10] 万林,李张开,李素,等. 外源独脚金内酯对油菜苗期干旱胁迫的缓解效应[J]. 中国油料作物学报, 2020, 42(3): 461-471.
- [11] 胡超,万林,张利艳,等. 独脚金内酯缓解油菜渍水胁迫的生理机制[J]. 中国油料作物学报, 2017, 39(4): 467-475.
- [12] 王乔健. 独脚金内酯调控乌柏抗旱耐盐的分子机理研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019.
- [13] 张灿. 外源独脚金内酯缓解大麦镉毒害的机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- [14] 郭世荣. 无土栽培学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [15] 李西进. 铅胁迫对番茄种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 长江蔬菜, 2009(12): 21-22.
- [16] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [17] 刘家尧,刘新. 植物生理学实验教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010.

- [18] 刘新,刘洪庆.植物生理学实验[M].北京:高等教育出版社,2018.
- [19] 董亚茹,张艳波,赵东晓,等.外源 24-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下桑树幼苗的缓解效应[J].核农学报,2021,35(6):1466-1475.
- [20] 庞娟.生长素与独角金内酯调控黄芪幼苗根系生长发育的机制研究[D].呼和浩特:内蒙古大学,2020.
- [21] 刘新,刘洪庆.植物生理学实验[M].北京:高等教育出版社,2018.
- [22] 张天莹.两种典型抗生素对小麦幼苗生态毒性效应的影响[D].扬州:扬州大学,2020.
- [23] 罗静.毛竹林不同施肥方式对叶片光合特性的影响[D].杭州:浙江农林大学,2015.
- [24] 申璐.外源亚精胺对铅胁迫下茶树生长的影响[D].陕西杨凌:西北农林科技大学,2014.
- [25] 赵钢,邹亮,彭镰心,等.铅胁迫对苦荞生理特性的影响[J].江苏农业科学,2012,40(7):98-100.
- [26] 岳永成.乌苏里风毛菊对铅胁迫的生理抗性研究[D].兰州:西北师范大学,2014.
- [27] 王芳,陈晓燕,曹廷俊,等.外源一氧化氮对铅胁迫下玉米幼苗的缓解作用[J].干旱地区农业研究,2014(4):24-29.
- [28] 马英超.铅胁迫对构树幼苗光合和生理生化性质的影响[D].南昌:江西农业大学,2016.
- [29] 钮力亚,王伟,王伟伟,等.盐胁迫下小麦品种生理指标的变化规律[J].中国农学通报,2019,35(2):1-4.
- [30] 徐学华.北方地区 7 种主要绿化树种对铅镉胁迫的生理生态响应[D].保定:河北农业大学,2010.
- [31] 何若韪.植物低温逆境生理[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [32] 秦建桥,赵华荣,赵鹏.镉胁迫下不同生态型五节芒的膜脂过氧化水平及抗氧化能力比较[J].安徽农业科学,2011,39(12):7418-7421.
- [33] 陈晟,施木田,吴宇芬,等.应用组织染色法研究镉胁迫对西瓜叶片的生理伤害[J].中国农学通报,2016,32(7):64-68.
- [34] 纠松涛,徐岩,张才喜,等.独角金内酯及其调控植物根系生长发育的研究进展[J].分子植物育种,2021,19(15):5164-5171.
- [35] 朱秀云,梁梦,马玉.根系活力的测定(TTC法)实验综述报告[J].广东化工,2020,47(6):211-212.
- [36] ZHOU J, ZHANG Z P, ZHANG Y C, et al. Effects of lead stress on the growth, physiology, and cellular structure of privet seedlings[J]. PLoS One, 2018, 13(3):e0191139.
- [37] 杨颖丽,施树倩,李嘉敏,等.铅胁迫对矮牵牛组培苗生长及光合特性的影响[J].兰州大学学报(自然科学版),2023,59(1):47-62.