

外源油菜素内酯(EBR)对Cu胁迫期间番茄幼苗的缓解效应

窦巧惠¹, 王娟², 尹博¹, 梁国鹏¹, 崔秀敏^{1,*}

¹山东农业大学资源与环境学院, 土肥资源高效利用国家工程实验室, 山东泰安271018; ²菏泽学院园林工程系, 山东菏泽274015

摘要: 采用营养液水培的方法, 以‘改良毛粉802F1’番茄为供试材料, 通过检测番茄植株内激素、根系分泌物、氨基酸、电解质渗漏率和生物量的变化, 研究外源2,4-表油菜素内酯(2,4-EBR, EBR)对Cu胁迫下番茄的缓解效应及机制。结果表明, 与Cu胁迫处理相比, 喷施0.1 mg·L⁻¹的EBR能显著提高叶片内源ZR和GA含量, 显著降低根系中ZR、ABA和IAA的含量, 同时提高番茄植株内各种有机酸的含量, 其中柠檬酸含量升高482.2%, 乳酸含量为0.187 mg·g⁻¹。植株中氨基酸总量增加了11.1%, 生物量增加20.9%。表明外源EBR可以降低Cu的生物毒性, 减缓过多Cu对番茄幼苗的抑制作用。

关键词: 番茄; Cu胁迫; 油菜素内酯; 激素; 根系分泌物; 氨基酸; 电解质渗漏率

Alleviating Effects of Exogenous EBR on Tomato Seedlings During Copper Stress

DOU Qiao-Hui¹, WANG Juan², YIN Bo¹, LIANG Guo-Peng¹, CUI Xiu-Min^{1,*}

¹National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; ²Department of Landscape Engineering, Heze University, Heze, Shandong 274015, China

Abstracts: Through nutrient solution cultivating, the tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivar ‘Gailiang Mao-fen 802F1’, was selected as the experiment material. The changes of hormones, root exudates, amino acids, electrolyte leakage rate and biomass were detected to study the alleviating effects and mechanism of 2,4-EBR on tomato seedlings under copper stress. The results showed that compared with copper stress treatment, spraying 0.1 mg·L⁻¹ EBR could significantly increase the contents of endogenous ZR and GA in leaves, while the ZR, ABA and IAA contents were remarkably reduced in roots. The contents of various organic acid in tomato plants were significantly improved at the same time, especially the citric acid was risen up to 482.2% and the content of the lactic acid was 0.187 mg·g⁻¹. The total amount of amino acid in tomato plants was increased 11.1% and the plant biomass was increased 20.9%. These results suggested exogenous EBR could reduce the biological toxicity of Cu, alleviate the inhibitory effect on tomato seedlings under superabundant Cu.

Key words: tomato (*Solanum lycopersicum*); copper stress; EBR; hormone; root exudate; amino acid; electrolyte leakage

Cu是植物正常生命活动必需微量元素, 但植物对Cu的需求很低, 当植物吸收并积累Cu超过一定量时就造成伤害, 如破坏结构、引发代谢紊乱、抑制植物生长发育等(王晓兰等2010; 谢建春等2009; Sharma和Dietz 2009; Wójcik和Tukiendorf 2003)。目前, 农业生产中含Cu农药和化肥的大量施用导致土壤系统中Cu的含量明显高于其背景值。因此, 研究Cu毒害的缓解机理已成为农业可持续发展中亟待解决的问题。

油菜素内酯(brassinosteroid, BR)又称芸薹素内酯, 是一种天然植物激素, 广泛存在于植物的花粉、种子、茎和叶等器官中, 油菜素内酯在植物

体内单一或协同其他激素对某些生理过程起调节作用(赵毓橘1995; Adam和Marquardt 1986; Mandava 1988), 对植物生长发育具有重要的作用, 被认为是一种新型的植物激素(郭奇珍1983)。近年来, 一些研究表明, 油菜素内酯能够促进蛋白质合成, 提高酶活性(陆晓民等2011; 尹博等2012), 调控植物碳水化合物同化及分配(Rao等2002), 缓解干旱(Yuan等2010)、盐害(Saygideger和Deniz 2008)等

收稿 2014-11-28 修定 2015-02-27

资助 国家自然科学基金(31201619)和泰安市科技发展计划项目(32606)。

* 通讯作者(E-mail: xiumincui@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8241546)。

多种逆境胁迫,提高植物对铝、镍等重金属的抗性(Abdullahi等2003; Alam等2007),降低番茄植株中铜含量,缓解Cu胁迫对番茄植株的生长抑制(尹博等2014),但油菜素内酯是否影响Cu胁迫下植物激素、根系分泌物以及氨基酸含量未见报道。

本研究以番茄为试验材料,研究外源2,4-表油菜素内酯(2,4-epi-brassinosteroid, EBR)对Cu胁迫下番茄幼苗激素、根系分泌物和氨基酸等的影响,研究外源EBR对番茄Cu胁迫下的缓解效应及机制。

材料与amp;方法

1 材料与试剂

供试番茄(*Solanum lycopersicum* L.)品种为‘改良毛粉802F1’。Hoagland营养液组成: Ca(NO_3)₂·4H₂O、KNO₃、NH₄NO₃、KH₂PO₄、MgSO₄、铁盐、微量元素,以上试剂均为分析纯,用蒸馏水配制适宜浓度待用。准确称取一定量的EBR,用少量无水乙醇溶解,用蒸馏水定容到一定体积,4℃保存备用。

2 试验设计

种子经55℃温汤浸种消毒15 min,然后在润湿的吸水纸上26℃催芽。待种子露白后,播于洗净的细砂中,萌发后浇灌1/4Hoagland营养液。当幼苗长到3~4片真叶时,挑选生长一致的植株洗净根系,移栽于4 L塑料桶中,用厚度为3 cm的泡沫塑料板做成圆形盖子,覆盖在塑料桶顶部。每盆栽5株,用1/2Hoagland营养液培养,1周后换成完全营养液,此后每3 d更换一次营养液。营养液栽培期间用电动气泵24 h连续通气,待番茄植株长至5~6片真叶时进行Cu胁迫处理。处理期间,对相应处理每天均匀细雾喷施处理溶液(以叶面滴水为止),对照喷等量清水。试验用水全部为蒸馏水。

试验设4个处理:(1)完全营养液(对照);(2)50 μmol·L⁻¹ CuCl₂ (Cu);(3)50 μmol·L⁻¹ CuCl₂+0.1 mg·L⁻¹ EBR (Cu+EBR);(4)0.1 mg·L⁻¹ EBR (EBR)。每个处理3次重复,温室内随机排列,用低浓度的KOH或者HCl调节pH至5.5±0.2。处理8 d后,分别收获植株不同部位,用于分析测定。

3 测定指标及方法

3.1 植物内源激素含量的测定

分别取番茄叶片和根系各0.5 g,用液氮保存,

再转入-80℃下保存,待测。样品用80%甲醇(含有0.02% 2,6-二叔丁基对甲酚)冰浴研磨提取,玉米素核苷(zeatin riboside, ZR)、赤霉素(gibberellic acid, GA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和生长素(auxins, IAA)的测定均采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),试剂盒由中国农业大学农学与生物技术学院化学控制实验室提供,每个样品平行3次。用酶联免疫检测仪(华东电子管厂, DG-3022A型)进行测定。

3.2 根系分泌物的收集与测定

参照Rengel等(1998)的方法,选取阳光充足的上午,胁迫处理8 d后收集。用蒸馏水预先冲洗番茄根系1 min,以除去表面粘附的营养液,然后转入盛有200 mL蒸馏水的烧杯中,以使植物根系全部浸入水中为宜,收集4 h,取出植株后向收集液中迅速加入适量百里酚,将根系分泌物用真空旋转器在40℃下浓缩至5 mL。于-20℃冷冻保存,用于分析有机酸的组成和含量。采用高效液相色谱仪测定有机酸含量,上机前过0.45 μm滤膜,以除去杂质。色谱条件如下:流动相为磷酸二氢钾缓冲溶液,流速为0.9 mL·min⁻¹,检测波长为213 nm,灵敏度为0.8,手动进样为10 μL。标样为草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸,均为色谱纯(美国Sigma公司产品)。标样测定时间为20 min,样品测定时间为50 min。

3.3 氨基酸含量的测定

取出植株后先用自来水洗净,再用超纯水冲洗2遍,分别称取根、叶各1.00 g鲜样用于氨基酸测定。氨基酸自动分析仪为Biochrom 3.0 (Amersham公司)。

3.4 电解质渗漏率的测定

取新鲜叶片,自来水冲洗,再用蒸馏水冲洗2次,吸水纸吸干。打孔器($r=12$ mm)打取15片叶圆片,置于电导率试管中,加入20 mL蒸馏水,于真空干燥器中抽气30 min。取出后,震荡再抽气30 min,至叶片全部浸入水中。取出,室温放置4 h,多次摇动,用电导率仪(ORION conductivity TDS meter, 日本)测定其电导率 S_1 。封口沸水浴10 min,冷却平衡10 min后,再测电导率 S_2 ,同时测定蒸馏水电导率 S_0 。相对电导率(%)=100×(S_1-S_0)/(S_2-S_0) (赵世杰等1998)。

3.5 植株生物量的测定

处理8 d后, 收获植株。将植株的地上部和地下部分开, 用去离子水冲洗干净, 用吸水纸吸干, 直接测定鲜重(FW)。

4 数据处理

采用Microsoft Excel软件对数据进行处理及绘图, 采用DPS统计软件对平均数用LSD极差法进行多重比较。

实验结果

1 外源EBR对Cu胁迫下番茄叶片和根系中激素含量的影响

1.1 叶片和根系ZR含量的变化

从图1看出, 叶片内ZR含量明显高于根系, 且变化趋势不同。叶片内对照的ZR含量显著高于其它三个处理; Cu胁迫下外施EBR的叶片ZR含量比Cu胁迫的增加了3.4%, 但未达到显著水平; 单独喷施EBR降低叶片ZR含量。在Cu胁迫下, 根系的ZR含量显著升高, 添加EBR后ZR含量显著降低; 单独施用EBR对根系ZR含量没有显著影响。说明Cu胁迫下, 根系合成大量的ZR促进幼苗生长, 缓解Cu毒害, 外施EBR减弱铜毒害, 根系ZR含量下降。

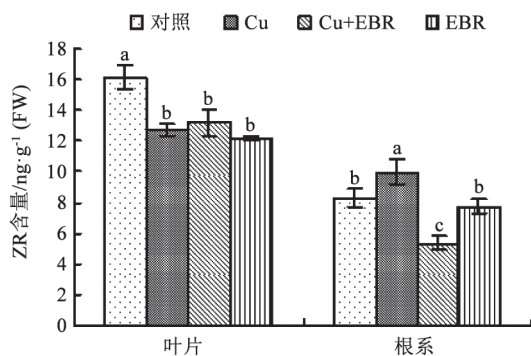


图1 外源EBR对Cu胁迫下番茄叶片和根系ZR含量的影响
Fig.1 Effects of exogenous EBR on ZR content in tomato leaves and roots under Cu stress
不同字母表示差异显著($P < 0.05$), 下图同此。

1.2 叶片和根系GA含量的变化

从图2可以看出, 叶片的GA含量明显高于根系, 不同处理的GA含量均低于对照。叶片中, Cu胁迫的GA含量比对照降低21.3%, 差异显著; Cu+EBR处理显著提高叶片GA含量, 几乎恢复到

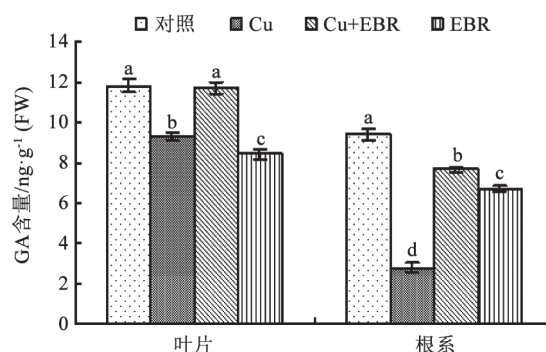


图2 外源EBR对Cu胁迫下番茄叶片和根系GA含量的影响
Fig.2 Effects of exogenous EBR on GA content in tomato leaves and roots under Cu stress

对照水平; 单独施用外源EBR的GA含量显著下降。而根系中, Cu胁迫的GA含量比对照处理的显著降低70.2%; 外施EBR后, GA含量比Cu胁迫的增加了1.74倍, 差异极显著; 单独外施EBR的GA含量也显著降低。综合以上结果说明, 外源EBR可通过增加Cu胁迫下番茄幼苗中GA含量, 降低Cu的毒害作用。

1.3 叶片和根系ABA含量的变化

由图3可以看出, 番茄叶片和根系内ABA含量的变化趋势一致, 叶片中明显高于根系。叶片内对照、Cu和Cu+EBR三个处理的ABA含量较单独EBR处理的高, 且差异极显著; Cu胁迫可使ABA含量显著升高, 外施EBR后, ABA的含量有所下降, 但变化幅度较小。根系中, Cu胁迫处理与对照相比, ABA的含量提高了1.48倍, 达极显著水平; 添加外源EBR后, 根系中ABA的含量显著下降。单独喷

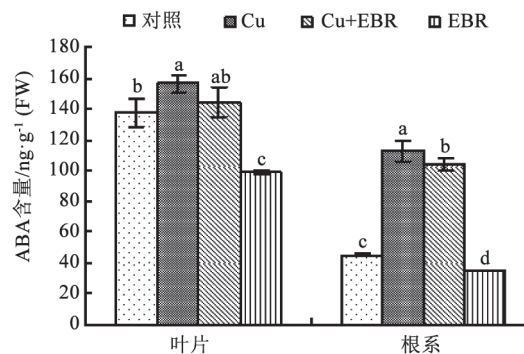


图3 外源EBR对Cu胁迫下番茄叶片和根系ABA含量的影响
Fig.3 Effects of exogenous EBR on ABA content in tomato leaves and roots under Cu stress

施EBR可使叶片和根系内ABA含量降低, 差异达极显著水平。这说明, 外源EBR可降低Cu胁迫下番茄植株中ABA含量, 减缓幼苗衰老速度。

1.4 叶片和根系IAA含量的变化

由图4可以看出, Cu胁迫使叶片中IAA的含量显著降低。外施EBR后的番茄幼苗叶片IAA含量继续下降, 差异极显著; 单独施用外源EBR也显著降低了叶片IAA的含量。根系中, Cu胁迫下IAA的含量显著升高, 与对照相比, Cu处理根系IAA含量提高20.8%, 差异显著; Cu+EBR与Cu处理相比使根系IAA的含量下降16.7%, 几乎恢复到对照水平。单独施用EBR对根系内IAA的含量影响不大。这说明, 外施EBR显著缓解了Cu胁迫对根系中IAA含量的影响, 且对叶片的影响大于根系。

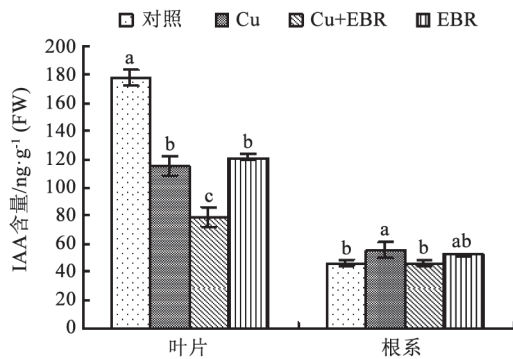


图4 外源EBR对Cu胁迫下番茄叶片和根系IAA含量的影响

Fig. 4 Effects of exogenous EBR on IAA content in tomato leaves and roots under Cu stress

2 外源EBR对Cu胁迫下番茄根系分泌物的影响

对照处理的番茄幼苗根系分泌物以草酸、苹果酸、琥珀酸为主, 占总量的95%以上(表1)。而在Cu、Cu+EBR、EBR三个处理中, 根系分泌物以柠檬酸和草酸为主, 这两种有机酸含量之和分别

占三个处理有机酸总量的76.1%、85.7%和70.3%。Cu胁迫显著影响番茄根系分泌的有机酸种类和含量。与对照相比, Cu胁迫根系分泌的有机酸总量下降34.7%, 其中草酸、苹果酸和琥珀酸分别下降60.8%、48.1%和71.8%, 而柠檬酸升高4.15倍, 另外还检测出酒石酸; 外施EBR后能显著提高各种有机酸含量, 与Cu处理相比, 根系分泌有机酸总量升高2.5倍, 其中草酸、酒石酸、琥珀酸和柠檬酸分别升高了115.7%、154.8%、95.1%和482.2%, 并且多检测出乳酸; 与对照相比较, 单独EBR处理草酸和琥珀酸分别降低56.6%和31.5%, 苹果酸和柠檬酸分别升高16.4%和1158.5%。以上结果说明, Cu胁迫使番茄根系分泌有机酸含量及总量下降(柠檬酸升高), 外源EBR能显著提高Cu胁迫下有机酸种类和部分有机酸含量, 尤其是柠檬酸的含量激增数倍。推测, 柠檬酸可能在番茄根系抵抗Cu毒害方面发挥作用, 而EBR有效诱导番茄根系有机酸的分泌。

3 外源EBR对Cu胁迫下番茄氨基酸含量的影响

氨基酸等有机化合物对重金属具螯合作用, 这是植物对重金属毒害的重要策略之一(王松良和郑金贵2007)。从表2可以看出, 在番茄幼苗各处理中天冬氨酸、谷氨酸、缬氨酸和亮氨酸为优势氨基酸。Cu胁迫使番茄叶片中氨基酸总量降低10%, 其中脯氨酸、蛋氨酸、组氨酸、赖氨酸和精氨酸的含量分别降低62.3%、20.0%、31.7%、20.0%和20.2%, 而半胱氨酸增加39.3%。与Cu胁迫相比, Cu+EBR处理使氨基酸总量升高, 几乎恢复到对照水平, 其中天冬氨酸、组氨酸、赖氨酸和精氨酸分别升高了33.1%、60.7%、47.4%和49.3%, 而脯氨酸和蛋氨酸却分别下降了72.5%和85%。表3显示, 根系中, 与对照处理相比, Cu胁迫下氨基酸总

表1 外源EBR对Cu胁迫下番茄根系分泌物中有机酸组成及含量的影响

Table 1 Effects of exogenous EBR on the contents and composition of organic acid in tomato root exudates under Cu stress

处理	草酸含量/ mg·g ⁻¹	酒石酸含量/ mg·g ⁻¹	苹果酸含量/ mg·g ⁻¹	琥珀酸含量/ mg·g ⁻¹	柠檬酸含量/ mg·g ⁻¹	乳酸含量/ mg·g ⁻¹	乙酸含量/ mg·g ⁻¹	有机酸总含 量/mg·g ⁻¹
对照	2.925±0.3471 ^a	—	0.575±0.1067 ^a	0.912±0.0520 ^a	0.224±0.1224 ^c	—	—	4.636 ^b
Cu	1.147±0.2181 ^b	0.168±0.0994 ^b	0.298±0.0812 ^b	0.258±0.1017 ^c	1.154±0.4214 ^c	—	—	3.025 ^b
Cu+EBR	2.474±1.0331 ^a	0.429±0.0436 ^a	0.420±0.0915 ^b	0.503±0.1613 ^b	6.720±1.7558 ^a	0.187±0.0426 ^a	—	10.733 ^a
EBR	1.271±0.2429 ^b	—	0.669±0.0102 ^a	0.625±0.1972 ^b	2.819±0.0210 ^b	0.130±0.0248 ^a	0.308	5.822 ^b

同列数字后不同小写字母表示差异达5%显著水平; —: 未检测出。

表2 外源EBR对Cu胁迫下番茄叶片氨基酸含量的影响

Table 2 Effects of exogenous EBR on amino acid contents of tomato leaves under Cu stress

处理	天冬氨酸含量/mg·g ⁻¹	苏氨酸含量/mg·g ⁻¹	丝氨酸含量/mg·g ⁻¹	谷氨酸含量/mg·g ⁻¹	脯氨酸含量/mg·g ⁻¹	甘氨酸含量/mg·g ⁻¹	丙氨酸含量/mg·g ⁻¹	半胱氨酸含量/mg·g ⁻¹	缬氨酸含量/mg·g ⁻¹
对照	15.10	7.00	5.30	23.30	10.60	9.00	11.80	5.60	15.00
Cu	13.60	6.10	4.80	20.30	4.00	8.70	11.30	7.80	15.20
Cu+EBR	18.10	7.70	5.70	25.80	1.10	9.80	12.30	6.70	15.70
EBR	14.10	6.10	4.70	20.10	5.20	7.80	10.10	5.10	13.30
处理	蛋氨酸含量/mg·g ⁻¹	异亮氨酸含量/mg·g ⁻¹	亮氨酸含量/mg·g ⁻¹	酪氨酸含量/mg·g ⁻¹	苯丙氨酸含量/mg·g ⁻¹	组氨酸含量/mg·g ⁻¹	赖氨酸含量/mg·g ⁻¹	精氨酸含量/mg·g ⁻¹	总量含量/mg·g ⁻¹
对照	5.00	12.10	20.70	8.90	11.20	4.10	9.50	8.90	183.10
Cu	4.00	12.00	19.60	9.30	10.70	2.80	7.60	7.10	164.90
Cu+EBR	0.60	11.20	19.70	9.10	11.40	4.50	11.20	10.60	181.20
EBR	1.70	10.30	18.40	9.50	10.30	3.10	8.50	7.30	155.60

量升高13.6%，其中谷氨酸、酪氨酸、组氨酸和赖氨酸升高36.6%、23.8%、61.9%和23.5%，脯氨酸和蛋氨酸降低22.0%和27.8%。外施EBR后，氨基酸总量增加12.4%，其中谷氨酸、脯氨酸和蛋氨酸的含量升高28.7%、219.6%和15.4%，组氨酸和赖氨酸的含量降低23.5%和9.5%。综上可以看出，与Cu处理相比，外施EBR可明显增加番茄叶片和根系氨基酸的总量，增加根系螯合过多Cu的能力，降低其生物毒性，有效缓解Cu胁迫。

4 外源EBR对Cu胁迫下番茄叶片电解质渗漏率的影响

从图5可以看出，与对照相比，Cu胁迫处理可使番茄幼苗叶片的相对电解质渗漏率增加10.5%，差异达显著水平；外施EBR后，叶片的相对电解质

渗漏率比Cu胁迫处理显著下降11.04%，恢复到对照水平；单独施加EBR也可使叶片相对电解质渗漏率明显降低。表明外源EBR能够显著缓解Cu胁迫对叶片的伤害。

5 外源EBR对Cu胁迫下番茄植株生物量的影响

植物的生物量可以直观地反映逆境胁迫对植物的影响。图6表明，Cu胁迫下，番茄幼苗地上部和地下部生物量均显著降低，地上部的生物量比对照下降26.8%，外施EBR后地上部生物量显著升高，但仍未恢复到对照水平。与对照相比，Cu处理使地下部生物量下降18.8%，差异极显著，外施EBR也使其生物量显著上升。单独喷施EBR反而使番茄幼苗的生物量显著降低。说明EBR在Cu胁迫下更能发挥其调控作用。

表3 外源EBR对Cu胁迫下番茄根系氨基酸含量的影响

Table 3 Effects of exogenous EBR on amino acid contents of tomato roots under Cu stress

处理	天冬氨酸含量/mg·g ⁻¹	苏氨酸含量/mg·g ⁻¹	丝氨酸含量/mg·g ⁻¹	谷氨酸含量/mg·g ⁻¹	脯氨酸含量/mg·g ⁻¹	甘氨酸含量/mg·g ⁻¹	丙氨酸含量/mg·g ⁻¹	半胱氨酸含量/mg·g ⁻¹	缬氨酸含量/mg·g ⁻¹
对照	11.70	4.80	4.70	18.60	5.90	6.50	8.00	6.40	12.40
Cu	12.60	4.80	4.70	25.40	4.60	7.40	8.80	6.70	13.50
Cu+EBR	13.20	4.80	4.70	32.70	14.70	7.20	8.50	7.30	14.00
EBR	12.40	4.50	4.30	19.70	4.30	7.60	9.30	9.50	15.10
处理	蛋氨酸含量/mg·g ⁻¹	异亮氨酸含量/mg·g ⁻¹	亮氨酸含量/mg·g ⁻¹	酪氨酸含量/mg·g ⁻¹	苯丙氨酸含量/mg·g ⁻¹	组氨酸含量/mg·g ⁻¹	赖氨酸含量/mg·g ⁻¹	精氨酸含量/mg·g ⁻¹	总量含量/mg·g ⁻¹
对照	1.80	9.20	14.80	6.30	7.50	2.10	6.80	4.80	132.30
Cu	1.30	10.50	16.50	7.80	8.10	3.40	8.40	5.80	150.30
Cu+EBR	1.50	10.40	17.40	8.20	8.80	2.60	7.60	5.30	168.90
EBR	4.10	12.80	17.70	7.30	8.40	2.50	8.00	5.40	152.90

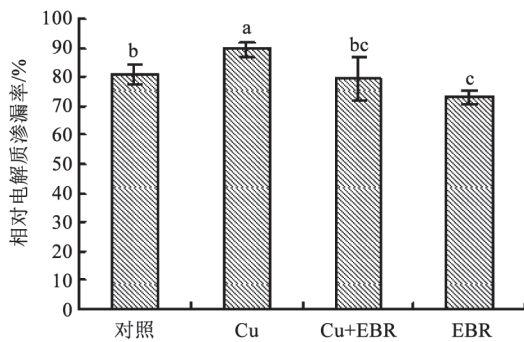


图5 外源EBR对Cu胁迫下番茄叶片电解质渗漏率的影响
Fig.5 Effects of exogenous EBR on electrolytic leakage of tomato leaves under Cu stress

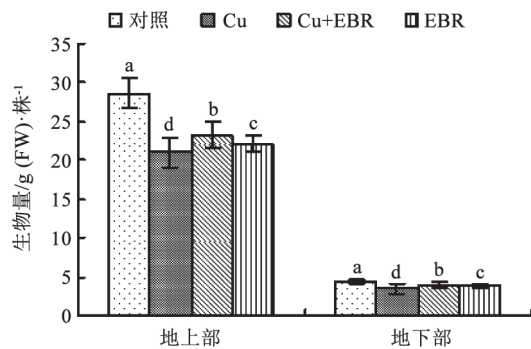


图6 外源EBR对Cu胁迫下番茄生物量的影响
Fig.6 Effects of exogenous EBR on the plant weight of tomato under Cu stress

讨 论

激素之间具有明显的相互作用, 这些相互作用与外界环境信号及自身发育程序对激素作用的调控, 共同组成精细和复杂的调控网络(Wolters和Jürgens 2009)。研究发现, 在油菜素内酯缺陷的背景下, 许多受生长素诱导的基因表达水平降低(Nemhauser等2004, 2006); 生长素与BR的协同作用可能通过影响共同调节的下游基因实现(Nemhauser等2006)。Cu胁迫对植物激素也有一定的影响。Coomes等(1976)研究表明过量Cu影响大麦根中IAA-氧化酶活性。

本试验中, Cu胁迫显著降低了叶片中ZR、GA、IAA含量以及根系GA含量, 显著提高了根系内ZR和IAA含量。ZR含量变化的不同, 可能是由于ZR主要由根部合成, 通过木质部向上运输, 而Cu胁迫会破坏番茄的生理结构, 抑制ZR向地上部的

转移, 使其在根部积累。ABA含量的升高可能是由于番茄幼苗受到Cu胁迫时, 促使大量ABA诱导基因表达, 使细胞内ABA含量迅速增加(Bueno 1998)。叶片和根系内IAA含量变化的不同, 可能是由于IAA在植株上部叶片合成, 向下运输, 促进作物生长(赵竹青等1998), 而Cu胁迫可以降低IAAase活性, 抑制IAA的极性运输, 从而导致生长活跃部位根尖IAA的累积和功能叶中IAA含量的下降。Cu胁迫条件下, 外施EBR可提高叶片内ZR及叶片、根系内GA含量, 降低叶片、根系内ABA、IAA含量以及根系ZR含量。叶片和根系内各种激素变化趋势的不同可能是由于BRs与不同激素的作用机制存在差别(Hardtke等2007), 或是由于各种激素间也存在复杂的相互作用。EBR的施用使番茄幼苗叶片和根系内源激素发生显著变化, 说明EBR参与Cu胁迫下番茄幼苗叶片和根系中内源激素的变化并使其含量水平达到了一个新的平衡。因此推测EBR可能是通过改变Cu胁迫条件下番茄不同组织的内源激素含量, 影响内源激素的基因表达, 增强植株对Cu胁迫的耐性, 从而缓解Cu胁迫对番茄植株的不利影响。

植物可通过根系分泌的有机酸改变根际酸碱度(pH)、氧化还原电位(Eh)、含水量、有机质和养分有效性, 影响根际土壤中重金属的化学特性和根系对重金属的吸收。重金属胁迫下, 植物根系会分泌一系列有机酸, 如草酸、柠檬酸、苹果酸、酒石酸和琥珀酸等(徐卫红等2006)。有机酸能与重金属形成稳定的络合物, 将离子态的金属转变成低毒或无毒的螯合态形式, 减轻过量金属对植物的毒害效应。大量研究显示, 重金属胁迫下, 植物种类、重金属元素的不同, 均影响着植物根系所分泌有机酸的种类和数量(傅晓萍等2010)。Zeng等(2008)发现, 草酸、苹果酸和柠檬酸含量的增加可以促进水稻对重金属铬的积累。Yang等(2005)报道菠菜在受到重金属胁迫后30 min内迅速分泌草酸从而保护根尖免受重金属的毒害。Nian等(2002)发现Cu胁迫可以使大豆和小麦产生大量柠檬酸和苹果酸, 此外, Cu胁迫还可促进黑麦和玉米内柠檬酸的大量分泌。于敏等(2010)的研究结果也表明外源柠檬酸对植物铜毒害具有明显的缓解效应。本试验中, Cu胁迫下, 番

茄分泌的柠檬酸含量比对照增加了4.15倍, 并且多检测出酒石酸。这与Murphy等(1999)报道的Cu²⁺可诱导植物根系分泌柠檬酸的结果一致。但本试验测得的有机酸总量却下降, 这与以往重金属毒害下植物大量分泌有机酸的研究结果不一样, 可能是Cu处理后番茄根系通过减少有机酸的分泌量改善根际环境以缓解铜毒害, 也可能是根系分泌的大量有机酸与溶液中的Cu螯合, 降低Cu的毒害浓度, 从而使所检测到的有机酸含量降低。外施EBR后草酸、苹果酸、琥珀酸、柠檬酸都显著增加数倍, 其中柠檬酸涨幅最大。由此可推断柠檬酸可能与Cu²⁺形成无毒形式的Cu-柠檬酸复合物进行地上部分运输, 减轻自身光系统II、细胞结构、酶系统等所受的毒害, 并通过与土壤中的铜解吸进行富集作用, 从而在番茄根系抵抗Cu毒害方面起到关键作用(林义章和徐磊2007; Cao和Hu 2000; Murphy等1999; Yang等2001)。而外施EBR促进了番茄根系有机酸(尤其是柠檬酸和乳酸)的分泌, 从而增加了有机酸对Cu的螯合, 减少了环境中游离态Cu的含量, 对过量Cu的胁迫有显著缓解作用。

植物可通过氨基酸、多肽、蛋白质等螯合剂的螯合作用固定重金属离子以降低其生物毒性。Cu胁迫下, 番茄幼苗根系和叶片中氨基酸总量发生明显变化是对重金属伤害的一种应激性生理响应; 同时, 通过产生胁迫蛋白和可溶性渗透物质清除活性氧或阻止活性氧对细胞结构的损害, 维持细胞正常代谢(陈英旭2008)。本试验中, Cu胁迫使叶片氨基酸总量有所降低, 外施EBR后氨基酸的含量增加并恢复至对照水平。根系中, Cu胁迫增加了氨基酸的总量, 其中增幅最大的为组氨酸, 高达61.9%; 其次是谷氨酸, 为36.6%。组氨酸在Ni处理的遏蓝菜属根系中有类似的变化(Krämer等1996)。外施EBR后, 番茄根系中组氨酸含量显著下降并恢复到对照水平, 而脯氨酸增加了2.2倍。组氨酸是组成一些酶活性中心的重要氨基酸, 可通过酶与金属离子在活性部位结合, 组氨酸的积累是植物抗逆性的一种适应性表现, 施用EBR后组氨酸恢复到对照水平, 表明铜毒害作用降低。脯氨酸不仅具有调节渗透平衡的作用, 还有清除Cu胁迫下活性氧的功能(Wu等1995), 可有效缓解Cu胁迫对番茄根系的毒害, 外施EBR促进脯氨酸的分

泌。综合以上结果推测, EBR可通过调节番茄体内组氨酸、脯氨酸等氨基酸含量, 降低Cu胁迫的毒害作用, 有效提高番茄幼苗的抗铜性。

电解质渗漏率是检验植物受逆境胁迫后细胞膜透性的重要指标, 与作物的抗逆性负相关(李建勇等2003)。研究表明, Cu胁迫下, 黄瓜幼苗的电解质渗漏率迅速增加(张自坤等2010)。张自坤(2009)等的研究显示随Cu胁迫的增强, 细胞膜的半透性发生改变, 电解质渗漏率升高。本实验中, Cu胁迫显著提高番茄叶片的电解质渗漏率, 外施EBR后番茄叶片的电解质渗透率显著下降, 可能是EBR可综合调控Cu胁迫下的物质代谢和细胞分化。EBR对Cu胁迫下番茄幼苗叶片细胞膜伤害有显著的缓解作用, 最终体现在植株生物量的显著增加。

参考文献

- 陈英旭(2008). 土壤重金属的植物污染化学. 北京: 科学出版社, 147~148
- 傅晓萍, 豆长明, 胡少平, 陈新才, 施积炎, 陈英旭(2010). 有机酸在植物对重金属耐性和解毒机制中的作用. 植物生态学报, 34(11): 1354~1358
- 郭奇珍(1983). 新型植物激素-油菜素内酯. 植物生理学通讯, (2): 7~13
- 李建勇, 张振贤, 葛均青, 王磊, 史修柱(2003). 冬季田间冻害胁迫对露地越冬甘蓝膜系统的影响. 中国生态农业学报, 11(3): 58~60
- 林义章, 徐磊(2007). 铜污染对高等植物的生理毒害作用研究. 中国生态农业学报, 15(1): 201~204
- 陆晓民, 孙锦, 郭世荣, 何立中(2011). 外源2,4-表油菜素内酯对低氧胁迫下黄瓜幼苗生长和可溶性蛋白表达的影响. 南京农业大学学报, 34(6): 31~35
- 王松良, 郑金贵(2007). 土壤重金属污染的植物修复与金属超富集植物及其遗传工程研究. 中国生态农业学报, 15(1): 190~194
- 王晓兰, 周守标, 杨集辉, 郑和权, 张栋(2010). 铜胁迫对弯囊薹草(*Carex dispalata*)生长和生理特性的影响. 农业环境科学学报, 29(2): 264~269
- 谢建春, 赵娟, 杨世勇(2009). 铜尾矿对油菜生长和生理功能的影响. 生态与农村环境学报, 25(2): 74~79
- 徐卫红, 刘吉振, 黄河, 熊治庭(2006). 高锌胁迫下不同大白菜品种生长、Zn吸收及根系分泌物的研究. 中国农学通报, 22(8): 458~463
- 尹博, 梁国鹏, 贾文, 崔秀敏(2014). 外源油菜素内酯介导Cu胁迫下番茄生长及Cu、Fe、Zn的吸收与分配. 中国生态农业学报, 22(5): 578~584
- 尹博, 王秀峰, 姜春辉, 李晓云, 崔秀敏(2012). 外源油菜素内酯对番茄铜胁迫的缓解效应. 植物营养与肥料学报, 18(1): 162~168
- 于敏, 王文国, 王胜华, 陈放(2010). 外源柠檬酸对水稻铜毒害的缓解效应. 应用与环境生物学报, 16(5): 617~621
- 张自坤, 刘世琦, 刘素慧, 张宇, 陈昆, 黄治军(2010). 嫁接对铜胁

- 迫下黄瓜幼苗根系多胺代谢的影响. 应用生态学报, 21 (8): 2051~2056
- 张自坤, 刘作新, 张颖, 舒乔生(2009). 铜胁迫对嫁接和自根黄瓜幼苗光合作用及营养元素吸收的影响. 中国生态农业学报, 17 (1): 135~139
- 赵世杰, 刘华山, 董新纯(1998). 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科技出版社, 54~56
- 赵毓橘(1995). 油菜素内酯研究进展. 植物学通报, 12: 30~34
- 赵竹青, 王运华, 吴礼树(1998). 缺硼对黄瓜生长素代谢的影响. 华中农业大学学报, 17 (3): 232~236
- Abdullahi BA, Gu XG, Gan QL, Yang YH (2003). Brassinolide amelioration of aluminum toxicity in mungbean seedling growth. J Plant Nutr, 26 (9): 1725~1734
- Adam G, Marquardt V (1986). Brassinosteroids. Phytochemistry, 25 (8): 1787~1799
- Alam MM, Hayat S, Ali B, Ahmad A (2007). Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. Photosynthetica, 45 (1): 139~142
- Bueno P, Piqueras A, Kurepa J, Savouré A, Verbruggen N, Van Montagu M, Inzé D (1998). Expression of antioxidant enzymes in response to abscisic acid and high osmoticum in tobacco BY-2 cell cultures. Plant Sci, 138 (1): 27~34
- Cao ZH, Hu ZY (2000). Copper contamination in paddy soils irrigated with wastewater. Chemosphere, 41: 3~6
- Coombes AJ, Lepp NW, Phipps DA (1976). The effect of copper on IAA-oxidase activity in root tissue of barley (*Hordeum vulgare*. c. v. Zephyr). Z Pflanzenphysiol, 80: 236~242
- Hardtke CS, Dorcey E, Osmont KS, Sibout R (2007). Phytohormone collaboration: zooming in on auxin-brassinosteroid interactions. Trends Cell Biol, 17 (10): 485~492
- Krämer U, Cotter-Howells JD, Charnock JM, Baker AJM, Smith JAC (1996). Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. Nature, 379: 635~638
- Mandava NB (1988). Plant growth-promoting brassinosteroids. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 39: 23~52
- Murphy AS, Eisinger WR, Shaff JE, Kochian LV, Taiz L (1999). Early copper-induced leakage of K⁺ from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. Plant Physiol, 121 (4): 1375~1382
- Nemhauser JL, Hong F, Chory J (2006). Different plant hormones regulate similar processes through largely nonoverlapping transcriptional responses. Cell, 126 (3): 467~475
- Nemhauser JL, Mockler TC, Chory J (2004). Interdependency of brassinosteroid and auxin signaling in *Arabidopsis*. PLoS Biol, 2 (9): e258
- Nian H, Yang ZM, Ahn SJ, Cheng ZJ, Matsumoto H (2002). A comparative study on the aluminium-and copper-induced organic acid exudation from wheat roots. Physiol Plant, 116 (3): 328~335
- Rao SSR, Vardhini BV, Sujatha E, Anuradha S (2002). Brassinosteroids—A new class of phytohormones. Curr Sci, 82 (10): 1239~1245
- Rengel Z, Römheld V, Marschner H (1998). Uptake of zinc and iron by wheat genotypes differing in tolerance to zinc deficiency. J Plant Physiol, 152 (4): 433~438
- Saygideger S, Deniz F (2008). Effect of 24-epibrassinolide on biomass, growth and free proline concentration in *Spirulina platensis* (*Cyanophyta*) under NaCl stress. Plant Growth Regul, 56: 219~223
- Sharma SS, Dietz KJ (2009). The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. Trends Plant Sci, 14 (1): 43~50
- Wójcik M, Tukiendorf A (2003). Response of wild type of *Arabidopsis thaliana* to copper stress. Biol Plant, 46 (1): 79~84
- Wolters H, Jürgens G (2009). Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development. Nat Rev Gen, 10: 305~317
- Wu JT, Chang SJ, Chou TL (1995). Intracellular proline accumulation in some algae exposed to copper and cadmium. Bot Bull Acad Sin, 36: 89~93
- Yang H, Wong JWC, Yang ZM, Zhou LX (2001). Ability of *Agropyron elongatum* to accumulate the single metal of cadmium, copper, nickel and lead and root exudation of organic acids. J Environ Sci, 13 (3): 368~375
- Yang JL, Zheng SJ, He YF, Matsumoto H (2005). Aluminium resistance requires resistance to acid stress: a case study with spinach that exudes oxalate rapidly when exposed to Al stress. J Exp Bot, 56 (414): 1197~1203
- Yuan GF, Jia CG, Li Z, Sun B, Zhang LP, Liu N, Wang QM (2010). Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. Sci Horti, 126 (2): 103~108
- Zeng FR, Chen S, Miao Y, Wu FB, Zhang GP (2008). Changes of organic acid exudation and rhizosphere pH in rice plants under chromium stress. Environ Pollut, 155 (2): 284~289