

DOI: 10.5846/stxb201905090946

范翠枝, 吴馨怡, 关欣, 郑春芳, 赵海燕, 顾志壮, 刘伟成, 陈军, 郑青松. 油菜素内酯浸种对盐胁迫番茄种子萌发的影响及其生理机制. 生态学报, 2021, 41(5): 1857-1867.

Fan C Z, Wu X Y, Guan X, Zheng C F, Zhao H Y, Gu Z Z, Liu W C, Chen J, Zheng Q S. Concentration effects and its physiological mechanism of soaking seeds with brassinolide on tomato seed germination under salt stress. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(5): 1857-1867.

油菜素内酯浸种对盐胁迫番茄种子萌发的影响及其生理机制

范翠枝¹, 吴馨怡¹, 关欣¹, 郑春芳^{2,3}, 赵海燕¹, 顾志壮¹, 刘伟成³, 陈军⁴, 郑青松^{1,5,*}

1 南京农业大学资源与环境科学学院 江苏省海洋生物学重点实验室, 南京 210095

2 温州大学生命与环境科学学院, 温州 325035

3 浙江省海洋水产养殖研究所 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室, 温州 325005

4 苏州农业职业技术学院园艺科技学院, 苏州 215008

5 绵阳师范学院, 绵阳 621000

摘要:为揭示油菜素甾醇类化合物提高作物耐盐的效应和机理,研究了 10^{-11} 、 10^{-10} 、 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L 2,4-表油菜素内酯(EBL)浸种处理对0、50、100、150、175 mmol/L NaCl 胁迫7 d 的番茄种子萌发、生长、溶质积累、抗氧化代谢的影响。结果显示:NaCl 浓度越高的盐胁迫下, 10^{-9} mol/L EBL 浸种可体现出越显著的促进番茄种子萌发的效应;在所有处理下,EBL 浸种浓度过高,即 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L EBL,均表现出对种子萌发的抑制效应。盐胁迫下种子萌发后,一定浓度的 EBL 浸种可表现出明显的增加种子胚根和下胚轴长,提高萌发种子鲜重和种子活力指数,其中 10^{-9} mol/L EBL 浸种处理促进效果最适;EBL 浸种浓度过高,则表现出抑制效应。150 mmol/L NaCl 胁迫或非盐胁迫下, 10^{-9} mol/L EBL 浸种均可降低萌发种子体内的 O_2^- 、 H_2O_2 、丙二醛(MDA)和脯氨酸(Pro)含量;盐胁迫下, 10^{-9} mol/L EBL 浸种可显著提高萌发种子可溶性糖(SS)和可溶性蛋白(SP)的含量。150 mmol/L NaCl 胁迫或非盐胁迫下, 10^{-9} mol/L EBL 处理可不同程度促进番茄种苗超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性的上升。综上所述,盐胁迫下,一定浓度范围内的 EBL 浸种可明显促进番茄种子萌发或成苗,其中以 10^{-9} mol/L EBL 浸种的效果最好,主要是因为 EBL 施用可积极促进番茄种子萌发中物质转化,SS 和 SP 等溶质积累增多,增强其渗透调节能力;同时 SOD 和 POD 酶活增强,缓解盐胁迫导致番茄种子萌发中的次生氧化胁迫。

关键词:番茄;油菜素内酯;盐胁迫;种子萌发;抗氧化

Concentration effects and its physiological mechanism of soaking seeds with brassinolide on tomato seed germination under salt stress

FAN Cuizhi¹, WU Xinyi¹, GUAN Xin¹, ZHENG Chunfang^{2,3}, ZHAO Haiyan¹, GU Zhizhuang¹, LIU Weicheng³, CHEN Jun⁴, ZHENG Qingsong^{1,5,*}

1 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Marine Biology, Nanjing 210095, China

2 Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China

3 Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource, Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China

4 College of Horticulture Science and Technology, Suzhou Polytechnic Institute of Agriculture, Suzhou 215008, China

基金项目:国家自然科学基金(31672141);温州市科技计划项目(N20180001);南京农业大学 SRT 计划项目(1813A19);江苏省现代农业(蔬菜)产业技术体系苏州推广示范基地(JATS[2019]364)

收稿日期:2019-05-09; **修订日期:**2020-08-13

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: qszheng@njau.edu.cn

5 Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China

Abstract: The effects of seed soaking with 10^{-11} , 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , and 10^{-5} mol/L 2, 4-epibrassinolide (EBL) on the germination, growth, solute accumulation and antioxidant metabolism of tomato seeds under 0, 50, 100, 150, and 175 mmol/L NaCl stress for 7 days were studied to reveal the effect and mechanism of brassinosteroids on improving salt tolerance of crops. The results showed that 10^{-9} mol/L EBL soaking seeds could significantly promote the germination of tomato seeds under comparative higher salt stress of NaCl concentration. Under all treatments, excessive high EBL concentrations (10^{-6} and 10^{-5} mol/L EBL) of soaking seeds showed inhibition effect on tomato seed germination. After seed germination under salt stress, seed soaking with a certain concentration of EBL could significantly increase the length of the seed radicle and hypocotyl, the fresh weight of seedlings and seed vigor index, among which 10^{-9} mol/L EBL seed soaking treatment had the optimum promotion effect, while seed soaking treatments with excessive EBL concentration showed inhibition effect on them. Soaking seeds with 10^{-9} mol/L EBL could decrease the content of $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , malondialdehyde (MDA) and proline (Pro) in germinated seeds of tomato under both 150 mmol/L NaCl stress and non-salt stress. Soluble sugar (SS) and soluble protein (SP) in tomato seedlings were increased significantly under 150 mmol/L NaCl stress. The treatment of 10^{-9} mol/L EBL significantly promoted the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in tomato seedlings, especially under salt stress. In summary, EBL soaking in a certain concentration range can significantly promote the seed germination and its seedling formation, and the effect of soaking with 10^{-9} mol/L EBL is the optimum treatment under salt stresses, mainly because the application of EBL can actively promote the transformation of substances in the germination of tomato seeds, increase the accumulation of solutes such as SS and SP, enhance the osmotic adjustment, and increase the activity of SOD and POD enzymes, and alleviate the oxidative stress in tomato seed germination caused by salinity.

Key Words: tomato; brassinosteroids; salt stress; seed germination; antioxidant

全世界盐渍化土壤面积超过 10 亿 hm^2 , 成为一个威胁土壤生产力的典型问题, 且愈演愈烈^[1]。预计到 2050 年, 全球 50% 的耕地盐渍化^[2]。中国盐渍化土壤面积近 1 亿 hm^2 , 在全球各国排第 3 位, 严重抑制植物生长, 降低了农业产量, 也限制了经济发展和生活质量^[3]。番茄 (*Solanum lycopersicum*) 属茄科 (Solanaceae), 一年生或多年生草本植物, 对盐中度敏感, 主要种植在世界温暖和干旱地区, 而这些地区的土壤往往盐度比较高^[4]。在设施栽培中番茄也是种植最为普遍、广泛的蔬菜品种之一, 而设施栽培往往会导致土壤快速盐渍化^[5]。我国作为番茄生产第一大国, 番茄耐盐性及其调控研究由此就显得格外重要。

油菜素甾醇类化合物 (Brassinosteroids, BRs) 是第六类植物生长物质, 属于类固醇类, 广泛地存在于植物界中, 与传统的五大类植物激素相比, 其作用机理独特、生理效应广泛、生理活性极高, 且施用剂量远比五大类激素要低^[6]。BRs 不仅在植物的正常生长和发育过程中扮演着必不可少的角色, 而且它们能够缓解各种环境胁迫, 例如干旱、低温、高温、重金属胁迫和盐渍等^[7]。BRs 调控番茄正常的生长发育和抗逆性均见诸于一些国内外文献报告, 主要集中在 BRs 调控番茄的产量、品质、抗氧化能力和光合作用等方面^[8-9], 总体来说, 目前相关研究文献较少, 全面而深入的研究极为匮乏; 其中 BRs 调控番茄抗盐的文献如 Zhu 等^[10] 研究表明 BRs 诱导番茄幼苗耐盐性过程中, 乙烯和 H_2O_2 起了重要的作用。Söylemez 等^[11] 在番茄苗期进行盐胁迫, 每 10 d 喷施 1 次 0.5 $\mu\text{mol/L}$ EBL, 发现 EBL 喷施明显改善盐胁迫下番茄生长、水分状况、营养吸收、离子稳态和氧化还原稳态, 显著提高番茄果实产量。最近的番茄全生育期试验表明 0.01 $\mu\text{mol/L}$ EBL 喷施明显促进植株生长、开花和坐果, 提高番茄耐盐性, 其中内源多胺代谢变化发挥了重要作用^[4]。Yılmaz-Gokdogan 和 Burun^[12] 在番茄组培苗上的试验也表明, 1—2 $\mu\text{mol/L}$ EBL 可明显缓解植株盐害, 使用下胚轴为外植体的缓解盐害效果要高于子叶作为外植体的。BRs-EMS 抑制子 (BR11-EMS-Suppressor1) 被多种胁迫激活, 尤其是盐胁迫条件, 表明作为 BRs 诱导基因表达中的重要转录因子, 在抵抗逆境中发挥着重要的作用^[13]。作物在萌发期和幼苗

期对环境因素往往最为敏感^[14], Yanelis 等^[15]探讨了 75 mmol/L NaCl 胁迫下 BRs 的同系物螺旋甾烷(Biobras-16)调控两个番茄品种的种子萌发,发现 10^{-7} mol/L Biobras-16 可促进番茄品种 INCA 9(1)的萌发,但是对番茄品种 Amalia 没有促进萌发的效应, 10^{-6} mol/L Biobras-16 则进一步抑制番茄种子的萌发;分别用 10^{-7} mol/L EBL、 10^{-7} mol/L Biobras-16 和 10^{-5} mol/L BRz (BRs 生物合成抑制剂)对番茄浸种 4 h,然后置于 75 mmol/L NaCl 胁迫下 7 d,发现 EBL 和 Biobras-16 均能缓解盐胁迫对番茄种子萌发的抑制,而 BRz 则进一步抑制萌发;EBL 可缓解盐胁迫对番茄茎长和种苗鲜重的抑制,但是进一步抑制根长^[16]。这两篇古巴期刊上发表的论文^[15-16]对盐胁迫番茄种子萌发中的 EBL 调控做了一些初步的探讨,此外检索不到 BRs 调控番茄萌发阶段耐盐性的研究文献。BRs 施用提高植物抗逆性、推进农业生产成为研究热点的今天,加强 BRs 施用调控番茄萌发阶段耐盐性的研究就显得迫切。本研究以番茄“合作 903”为材料,分析 10^{-11} 、 10^{-10} 、 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L EBL 浸种处理后在不同浓度 NaCl 胁迫条件下的萌发和生长变化,并探讨外源 EBL 对高盐胁迫下番茄种子萌发生长过程中活性氧代谢、溶质积累以及抗氧化酶活性等生理活动的变化,以期找出最适 EBL 浸种浓度施用方式,为番茄的抗盐栽培以及应用 EBL 缓解植物盐害提供理论依据和实践参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计和处理

以番茄(*Solanum lycopersicum*)品种“合作 903”为试验材料。挑选大小一致、饱满的种子经 70% 乙醇清洗 1 min,然后用 20% NaClO 润洗 10 min,最后用蒸馏水冲洗干净,用吸水纸吸干后分别用 10^{-11} 、 10^{-10} 、 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L 2,4-表油菜素内酯(EBL, 2,4-epibrassinolide)浸种 24 h,分别表示为 EBL1、EBL2、EBL3、EBL4、EBL5、EBL6、EBL7,蒸馏水浸种 24 h 为对照。浸种完后取出种子清洗干净,选取健壮、饱满、大小一致的番茄种子转入直径 12 cm、高度 5 cm 的硬塑料发芽盒中,进行不同盐处理,即向发芽盒中加入分别为 0、50、100、150、175 mmol/L NaCl 溶液,每个处理设置 5 个重复,置于 25 °C 恒温培养箱中进行暗培养 7 d,培养期间始终保持滤纸湿润,即倾斜时盒底无溶液集聚。以胚根露出长度为种子的 1/2 为萌发标准,每天统计各处理的发芽率,第 7 天收样进行下列指标的测定和计算。

1.2 种苗根长、下胚轴长、鲜重、含水量的测定和计算

用最小刻度为 1 mm 的钢尺量取在发芽盒中萌发 7 d 的种苗根长和下胚轴长度。用万分之一电子天平(Sartorius, USA)量取番茄萌发种子的鲜重(FW),在 105 °C 杀青 15 min 后于 75 °C 烘干至恒重,称得干重(DW)。按下列公式计算含水量。

$$\text{番茄萌发种子含水量}(\%FW) = [(FW - DW) / FW] \times 100$$

1.3 发芽率、发芽指数、种子活力指数、含水量的测定和计算

每天统计各处理的发芽率,按照李志萍等^[17]文献计算发芽指数(GI)和种子活力指数(SVI)。

$$\text{发芽率}(\%) = (\text{规定天数内发芽种子数} / \text{供检测的种子数}) \times 100$$

$$GI = \sum Gt / Dt \quad (Gt \text{ 指时间 } t \text{ 的发芽数, } Dt \text{ 指相应的发芽天数})$$

$$SVI = \text{单株种苗鲜重} \times \text{发芽指数}$$

1.4 超氧阴离子自由基、过氧化氢、丙二醛、脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量的测定

超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)含量测定采用羟胺氧化法^[18],过氧化氢含量(H_2O_2)测定采用二甲酚橙法^[19]。硫代巴比妥酸法^[20]测定丙二醛(MDA, malondialdehyde)含量,磺基水杨酸法^[20]测定脯氨酸(Pro, proline)含量。可溶性糖(SS, soluble sugar)和可溶性蛋白(SP, soluble protein)含量的测定参考王学奎文献^[20]。

1.5 番茄萌发种子保护酶系统活性的测定

称取 0.5 g 鲜样用 5 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH=7.8)进行冰浴研磨,离心(4000 r/min, 4 °C) 15 min,取上清液进行相应抗氧化酶活性测定。超氧化物歧化酶(SOD, Superoxide dismutase)活性采用氮蓝四唑(NBT, Azoblue tetrazole)还原法测定^[20],SOD 活性单以抑制 NBT 光化还原的 50% 为一个酶活性单位(U)表

示;过氧化氢酶(CAT,catalase)活性采用紫外吸收法测定^[20],以每分钟 OD240 减少 0.1 的酶量为 1 个酶活性单位(U);过氧化物酶(POD,Peroxidase)活性采用愈创木酚比色法测定^[19],以每分钟 A470 变化 0.01 为 1 个过氧化物酶活性单位(U)。测定时方法略有修改。

1.7 数据处理与统计分析

利用 Microsoft Excel、SPSS 17.0 软件进行数据的处理、统计分析,数据均为“平均数±标准差”格式,采用 Duncan 新复极差测验法($P<0.05$)进行单因素显著性方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NaCl 处理下,不同浓度 EBL 浸种对番茄种子发芽率的调控效应

非盐胁迫下,与 EBL0(清水浸种)处理相比,EBL1—EBL5 处理,即 10^{-11} 、 10^{-10} 、 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} mol/L EBL 浸种,对番茄种子发芽没有显著影响($P>0.05$),EBL6、EBL7(10^{-6} 、 10^{-5} mol/L EBL 浸种)推迟萌发,显著降低番茄种子 7 d 的萌发率(图 1)。50 mmol/L NaCl 胁迫明显推迟番茄种子发芽,但没有显著降低 7 d 的发芽率;50 mmol/L NaCl 胁迫下,EBL1—EBL6 处理不影响 7 d 的种子发芽率;EBL7 处理显著降低了番茄种子 7 d 的发芽率($P>0.05$)。100 mmol/L NaCl 胁迫下,EBL1—EBL5 处理,对种子萌发无显著影响,EBL6 和 EBL7 处理显著推迟和降低了番茄种子的发芽率,尤其是 EBL7 处理的(图 1)。150 mmol/L NaCl 胁迫下,EBL1—EBL4 处理 7 d,即 10^{-11} 、 10^{-10} 、 10^{-9} 、 10^{-8} mol/L EBL 处理不同程度的提高番茄种子的萌发率,其中 EBL3、EBL4 处理,即 10^{-9} 、 10^{-8} mol/L EBL 促进发芽率达到显著水平($P<0.05$),分别比 150 mmol/L NaCl 胁迫下发芽率增加 82% 和 59%。EBL5、EBL6 和 EBL7 处理,即 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L EBL 不同程度降低了番茄种子的发芽率,其中 EBL6、EBL7 处理,即 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L EBL 降低发芽率达到显著水平,分别比 150 mmol/L NaCl 胁迫下发芽率降低 65% 和 91%。175 mmol/L NaCl 胁迫下的 EBL 促进效应和抑制效应更为明显,EBL2—EBL4 处理 7 d,即 10^{-10} 、 10^{-9} 、 10^{-8} mol/L EBL 处理促进发芽率分别达到 35%、87% 和 59%。EBL5、EBL6 和 EBL7 处理,即 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L EBL 分别比 150 mmol/L NaCl 胁迫下发芽率降低 27%、66% 和 92%(图 1)。

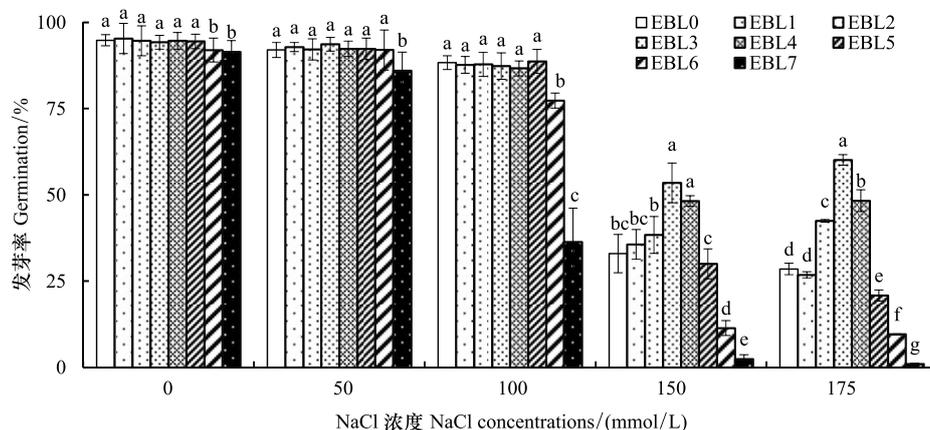


图 1 不同浓度 NaCl 处理下,不同浓度 EBL 浸种对番茄种子发芽率的影响

Fig. 1 Effect of seed soaking with different concentration of EBL on germination rate of tomato seeds under different concentration of NaCl. EBL: 2,4-表油菜素内酯(EBL, 2,4-epibrassinolide); EBL0: 清水浸种, EBL1: 10^{-11} mol/L 24-EBL 浸种, EBL2: 10^{-10} mol/L 24-EBL 浸种, EBL3: 10^{-9} mol/L 24-EBL 浸种, EBL4: 10^{-8} mol/L 24-EBL 浸种, EBL5: 10^{-7} mol/L 24-EBL 浸种, EBL6: 10^{-6} mol/L 24-EBL 浸种, EBL7: 10^{-5} mol/L 24-EBL 浸种;同一簇柱上不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

2.2 不同浓度 NaCl 处理下,不同浓度 EBL 浸种对番茄种子下胚轴和根长的调控效应

非盐胁迫下,与 EBL0 相比,随着 EBL 浸种浓度的上升,番茄种子胚根长增加,在 EBL3 处理,即 10^{-9} mol/L EBL 浸种,番茄胚根长达最大值;当 EBL 浸种浓度进一步上升,胚根长逐渐显著下降,EBL5—EBL7 显

著抑制胚根长。非盐胁迫下,EBL1—EBL6 处理的番茄下胚轴长与 EBL0 处理的差异均不显著($P>0.05$),EBL7(10^{-5} mol/L EBL 浸种)处理显著降低下胚轴长度($P<0.05$)。50 mmol/L NaCl 胁迫下 7 d,番茄萌发种子胚根长和下胚轴长与对照差异均不显著,随着 EBL 浸种浓度的上升,番茄种子胚根和下胚轴长均先上升、再下降,其中胚根长的变幅要比下胚轴的更为明显,且在 EBL3,即 10^{-9} mol/L EBL 浸种处理胚根长和下胚轴长均达到最大值,甚至显著高于非盐处理组的,随着 EBL 浸种浓度的增加,胚根长、下胚轴长逐渐显示为抑制效应,根长的抑制效应尤为明显(图 2)。100 mmol/L NaCl 胁迫显著抑制根长与下胚轴长,下胚轴长的抑制更为明显,随着 EBL 浸种浓度的上升,番茄种子根长和下胚轴长均先上升、再下降,且同样在 EBL3,即 10^{-9} mol/L EBL 浸种处理根长和下胚轴均达到最大值,其中根长与对照差异不显著,随着 EBL 浸种浓度的增加,根长、下胚轴长逐渐显示为抑制效应,根长的抑制效应尤为明显(图 2)。150、175 mmol/L NaCl 胁迫均极显著抑制根长与下胚轴长,随着 EBL 浸种浓度的上升,番茄种子根长和下胚轴长均先上升、再下降,且同样在 EBL3,即 10^{-9} mol/L EBL 浸种处理根长和下胚轴均达到最大值(图 2)。

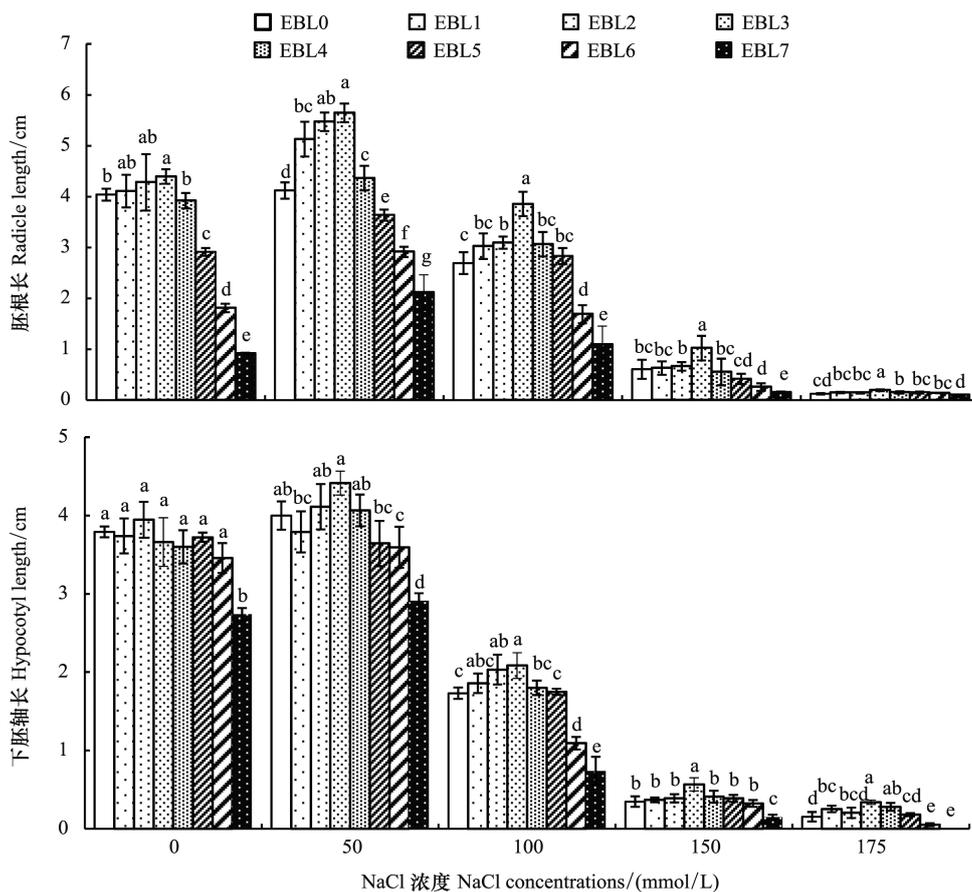


图 2 不同浓度 NaCl 处理下,不同浓度 EBL 浸种对番茄萌发种子胚根长和下胚轴长的影响

Fig. 2 Effect of seed soaking with different concentration of EBL on root length and hypocotyl of germinated tomato seeds under different concentration of NaCl

2.3 不同浓度 NaCl 处理下,不同浓度 EBL 浸种对番茄萌发种子鲜重和种子活力指数的调控效应

由图 3 可知,非盐处理下,EBL1—EBL3 (10^{-11} — 10^{-9} mol/L EBL) 处理的萌发种子鲜重(FW)和种子活力指数(SVI)与清水浸种的相比没有显著差异($P>0.05$),EBL4—EBL7 浸种处理(10^{-8} — 10^{-5} mol/L EBL)下,随着浸种 EBL 浓度的增加,番茄萌发种子 FW 和 SVI 显著性递减($P<0.05$)。50 mmol/L NaCl 处理下,其 FW 明显高于非盐处理的,盐胁迫下随着 EBL 浸种浓度的增加,种苗 FW 先上升,再下降,在 EBL2 处理(10^{-10} mol/L EBL)下 FW 达到最大值,但是 EBL0、EBL1、EBL2、EBL3 处理下 FW 差异不显著,而 EBL6 和 EBL7 处理(10^{-6} 、

10^{-5} mol/L EBL) 的种子 FW 显著低于 EBL0。50 mmol/L NaCl 处理下,随着 EBL 浸种浓度的增加,SVI 出现先增加后下降,但是增幅均未达到显著水平,EBL5 处理 (10^{-7} mol/L EBL) 的 SVI 显著下降,EBL 浓度进一步增加,SVI 显著降低。100、150、175 mmol/L NaCl 处理下,随着 EBL 浸种浓度的增加,萌发种子 FW 和 SVI 均出现先上升后下降的现象,且均在 EBL3 处理 (10^{-9} mol/L EBL) 下,其 FW 和 SVI 均达到最大值。0、50、100、150、175 mmol/L NaCl 处理下,辅以 EBL3 处理 (10^{-9} mol/L EBL),萌发种子 FW 分别比各自对照增加 2%、4%、21%、13%、14%,SVI 分别比各自不加 EBL 处理的增加 -7%、7%、21%、103%、151%。EBL 浸种浓度过高对番茄萌发种子 FW 和 SVI 有显著的抑制效应,0、50、100、150、175 mmol/L NaCl 处理下,EBL7 处理 (10^{-5} mol/L EBL),萌发种子鲜重分别比各自对照降低 30%、26%、42%、14%、3%,SVI 分别比各自对照降低 47%、54%、84%、94% 和 97%。

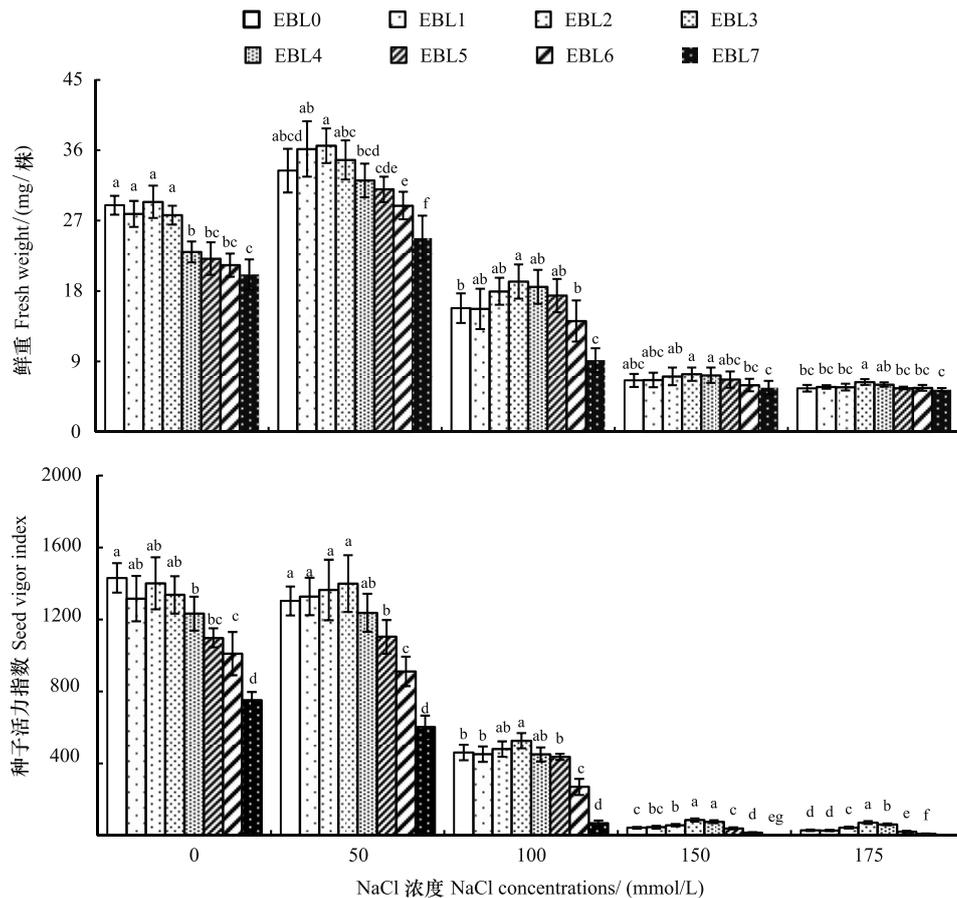


图3 不同浓度 NaCl 处理下,不同浓度 EBL 浸种对番茄萌发种子鲜重和种子活力指数的影响

Fig. 3 Effect of seed soaking with different concentration of EBL on fresh weight and seed vigor index of germinated tomato seeds under different concentration of NaCl

不同浓度 NaCl 处理下,不同浓度 EBL 浸种对番茄萌发种子鲜重和种子活力的影响

2.4 盐处理下 EBL3 浸种对番茄萌发种子含水量、活性氧和丙二醛含量的调控效应

150 mmol/L NaCl 处理显著降低番茄萌发种子的含水量 (WC, water content) ($P < 0.05$), 辅以 EBL3 浸种处理可明显提高其 WC, 比盐处理的增加 11% (图 4)。鉴于萌发阶段不同处理种子 WC 差异大, 分别以 FW 和 DW 为基础计, 分析了萌发种子的 O_2^- 、 H_2O_2 和丙二醛 (MDA) 含量变化。发现无论以鲜重或干重为基础, 盐胁迫均显著降低番茄萌发种子 O_2^- 和 H_2O_2 含量 (图 5)。以 FW 为基础计, 盐胁迫显著增加番茄萌发种子 MDA 含量; 而以 DW 为基础计, 盐胁迫则显著降低番茄萌发种子 MDA 含量。与盐胁迫处理相比, 盐胁迫下 EBL3 浸种的番茄萌发种子 MDA、 O_2^- 和 H_2O_2 含量不同程度下降, 尤其以鲜重计, 其下降更为明显, 其中 MDA

和 O_2^- 含量的下降以鲜重和干重计,均达到显著水平,而 H_2O_2 含量的下降均未达到显著水平 ($P>0.05$) (图 5)。

2.5 盐处理下 EBL3 浸种对番茄萌发种子脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量的调控效应

图 6 显示,与对照相比,EBL3 浸种处理下,除了以 DW 为基础计的脯氨酸(Pro)含量显著下降外 ($P<0.05$),种子 Pro、可溶性糖(SS)和可溶性蛋白(SP)含量均无显著变化 ($P>0.05$)。150 mmol/L NaCl 处理下,以 FW 为基础计,萌发种子 Pro、SS、SP 含量均显著上升 ($P<0.05$),以 DW 为基础计,萌发种子 Pro、SS、SP 含量均显著下降 ($P<0.05$)。与盐处理相比,盐胁迫辅以 EBL3 浸种处理下,无论以 FW 还是 DW 为基础计,萌发种子的 Pro 均显著下降,而 SS、SP 含量均显著上升。

2.6 盐处理下 EBL3 浸种对番茄萌发种子保护酶活性的调控效应

分别以以萌发种子 FW 和 SP 为基础计,分析了保护酶活性的变化。与对照相比,EBL3 处理的番茄萌发种子 POD 活性均显著上升 ($P<0.05$),CAT 活性均呈现下降趋势,而 SOD 活性差异不显著 ($P>0.05$) (图 7)。盐胁迫下,以 FW 为基础计,萌发种子的 3 种酶活性均显著上升;以 SP 为基础计,萌发种子的 3 种酶活性均显著下降。与盐胁迫相比,盐胁迫辅以 EBL3 浸种处理下,SOD 和 POD 活性均显著上升,而其 CAT 活性均无显著变化(图 7)。

3 讨论与结论

土壤盐渍化已经构成世界上农作物生产的主要限制因素之一。除了选育耐盐品种外,采用外源植物生长物质或化学物质提高作物耐盐性也成为国内外研究的热点^[21-22]。本研究针对 EBL 对植物耐盐性的调节的浓度效应报道不一,开展了 EBL 一系列浓度浸种 24 h 应对不同强度盐胁迫调控番茄种子萌发的探讨,发现在正常条件下,过高的 EBL 浸种浓度,即 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L EBL,显著延迟番茄种子萌发,降低 7 d 的种子发芽率和鲜重,对根长的抑制明显高于对下胚轴长的抑制,显著降低种子活力指数。 10^{-7} mol/L EBL 虽然对 7 d 的番茄种子萌发率没有显著影响,但是对其萌发的种子根长、种苗鲜重的抑制很显著。古巴 Larré 等^[22]用 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} mol/L EBL 浸种盐敏感水稻和耐盐水稻种子 2 h,然后置于 100 mmol/L NaCl 处理下,发现盐敏感水稻“BRS Querência”的发芽率和活力指数的抑制可以被 EBL 浸种处理缓解,且 EBL 浓度越高,缓解盐害的效果越好;而耐盐水稻的发芽率和活力指数在盐胁迫下并不显著下降,辅以 10^{-8} mol/L EBL 浸种处理发芽率和活力指数则上升,EBL 浓度为 10^{-7} mol/L EBL,其发芽率和活力指数与盐胁迫的差异不显著,辅以 10^{-6} mol/L EBL 浸种处理发芽率和活力指数则显著下降。本研究在不同浓度 NaCl 的盐胁迫下, 10^{-7} mol/L EBL 对番茄种子发芽率、根长、下胚轴长、鲜重等影响不明显,或者表现出抑制作用,不存在促进效应。本研究的特色和创新在于全面探讨了浓度效应,发现无论在正常条件、还是不同强度的盐胁迫下, 10^{-11} mol/L EBL 对萌发各指标影响不显著, 10^{-10} — 10^{-8} mol/L EBL 表现出不同程度的促进萌发的现象,其中 10^{-9} mol/L EBL 表现出的促进萌发最为显著。闫慧萍等^[23]发现 180 mmol/L NaCl 胁迫下,0.025、0.05、0.1、0.2 mg/L EBL 浸种玉米种子 12 h,对提高玉米株高、根长、单株干鲜重、发芽率均有促进作用,其中 0.05 mg/L EBL(相当于 1.05×10^{-7} mol/L)浸

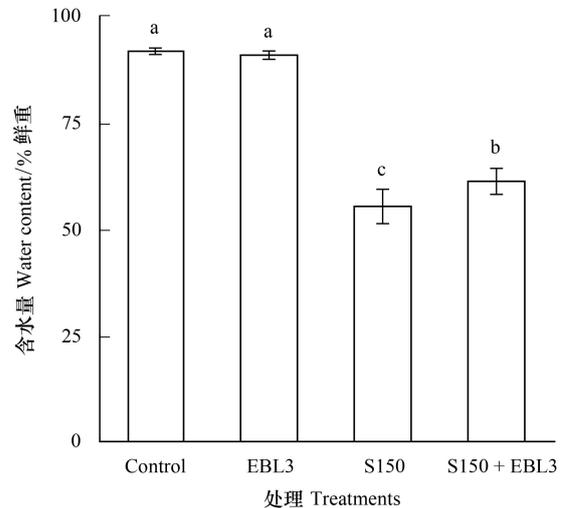


图 4 150 mmol/L NaCl 处理下 10^{-9} mol/L EBL 浸种对番茄萌发种子含水量的影响

Fig.4 Effect of seed soaking with 10^{-9} mol/L EBL on water content of germinated tomato seeds under 150 mmol/L NaCl condition

Control: 清水浸种, EBL3: 10^{-9} mol/L 24-EBL 浸种, S150: 150 mmol/L NaCl 处理, S150 + EBL3: 10^{-9} mol/L 24-EBL 浸种 + 150 mmol/L NaCl 处理

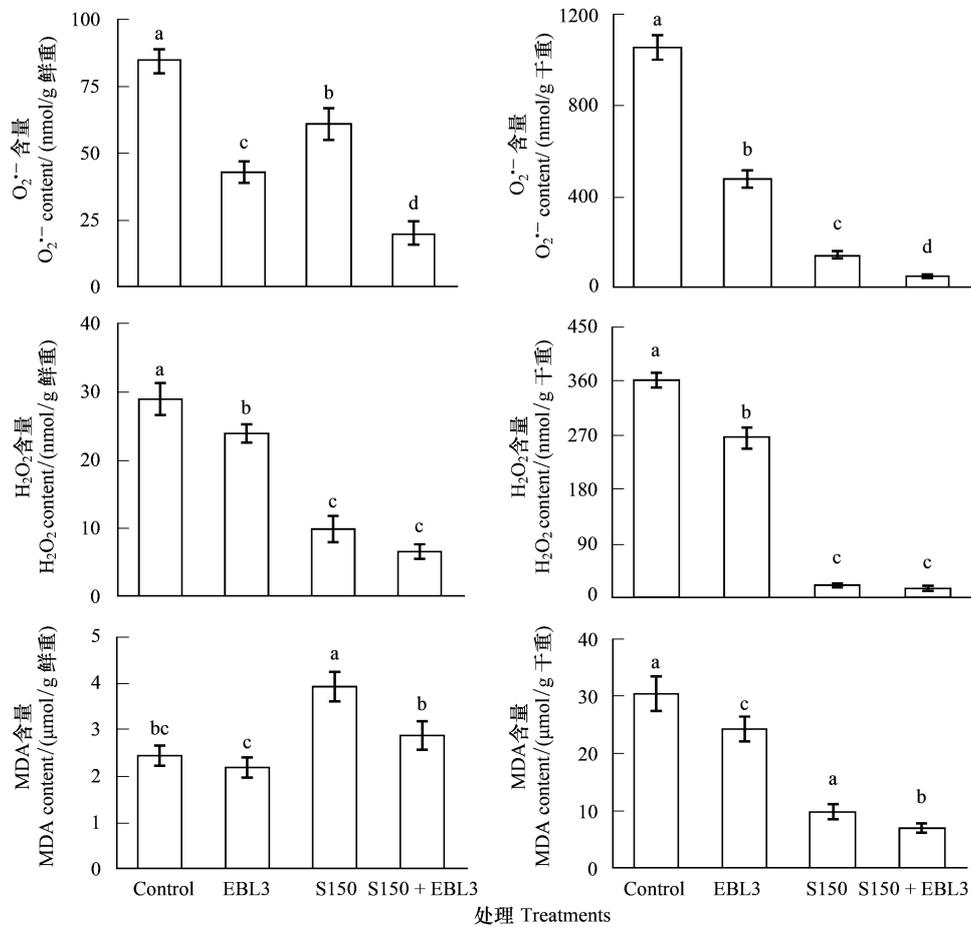


图5 150 mmol/L NaCl 处理下 10^{-9} mol/L EBL 浸种对番茄萌发种子 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 和丙二醛(MDA) 含量的影响

Fig. 5 Effect of seed soaking with 10^{-9} mol/L EBL on contents of $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 and malondialdehyde (MDA) of germinated tomato seeds under 150 mmol/L NaCl condition

种的促进效果最佳。闫慧萍等^[23]还发现在冷胁迫下,0.1 mg/L EBL 浸种玉米种子 12 h,对提高玉米株高、根长、单株干鲜重、发芽率促进作用最佳,这表明胁迫下 EBL 促进作物萌发出苗,不同的作物物种、甚至不同的品种、不同胁迫类型等都会存在着施用浓度的差异。

BRs 处理通常可以调控相关抗氧化防御系统的活性,保持细胞内外离子平衡,降低膜脂过氧化物 MDA 的产生,用以保护作物抵御盐害,这一结论在黄瓜、辣椒、茄子、番茄等蔬菜作物植株研究中得到证实^[6]。但是在调控盐胁迫下作物种子萌发中的抗氧化研究还鲜有文献报告。闫慧萍等^[23]发现盐胁迫下玉米 0.05 mg/L EBL(相当于 1.05×10^{-7} mol/L) 浸种幼苗萌发促进最佳的原因在于该处理下玉米叶片的 MDA 含量最低,而叶片的 POD、CAT、SOD、APX 活力最高(指标均以鲜重为基础计)。Arora 等^[24]研究发现 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 10^{-9} mol/L 28-表油菜素内酯(HBL) 添加促进玉米萌发成苗的效果要优于 10^{-7} 、 10^{-11} mol/L HBL 的,主要是因为该处理下萌发种子的 MDA 含量(以 FW 为基础计)最低,CAT 活性(以 SP 为基础计)最高;但是其 SOD、POD、APX、GR 等酶活(均以 SP 为基础计)随着 HBL 处理浓度的上升而逐渐上升。Marakli 等^[25]研究发现 150 和 250 mmol/L NaCl 胁迫大麦种子萌发 48 和 72 h,显著降低其萌发,而单纯施用 0.5×10^{-6} 和 10^{-6} mol/L HBL,萌发也下降;150 和 250 mmol/L NaCl 胁迫大麦种子萌发 48 h,添加 0.5×10^{-6} 和 10^{-6} mol/L HBL,则显著促进萌发,低浓度 HBL 效果更好;150 和 250 mmol/L NaCl 胁迫大麦种子萌发 72 h,添加 0.5×10^{-6} 和 10^{-6} mol/L HBL,高浓度 HBL 促进萌发的效果更好。Marakli 等^[25]进一步研究分析 150 和 250 mmol/L NaCl 胁迫大麦

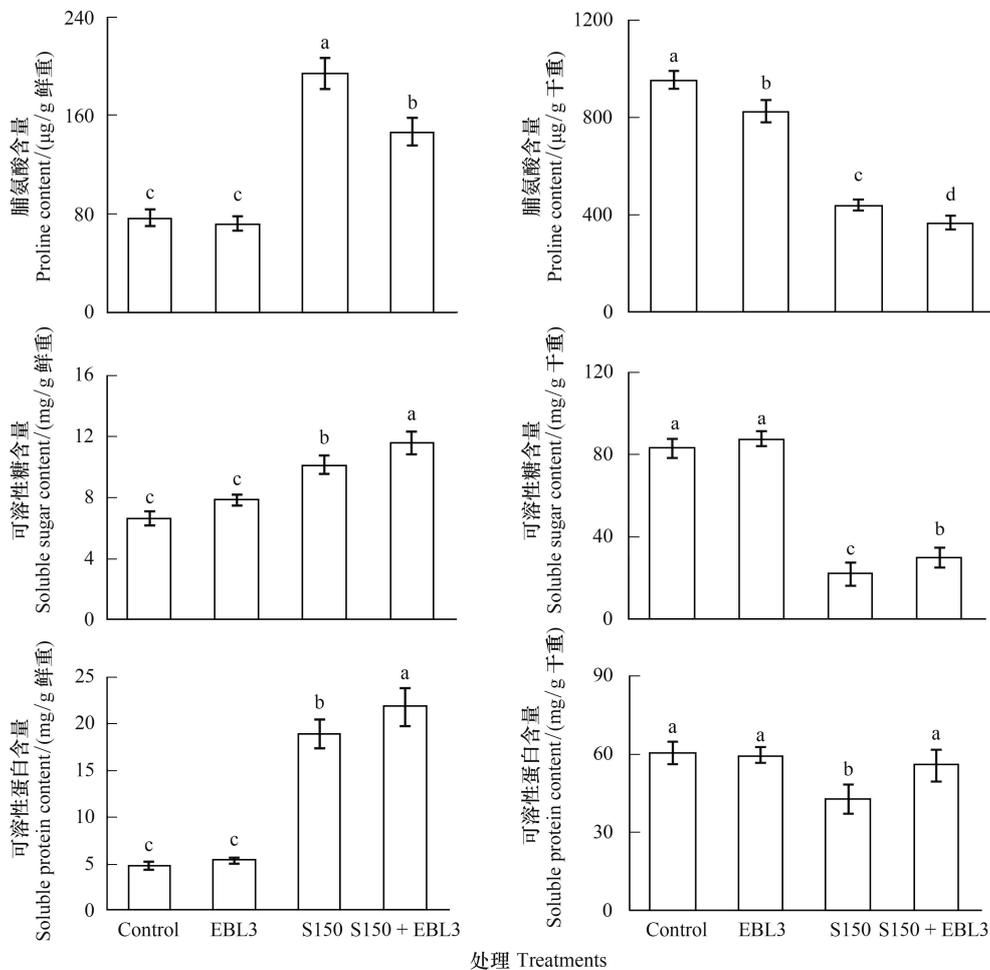


图 6 150 mmol/L NaCl 处理下 10^{-9} mol/L EBL 浸种对番茄萌发种子脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响

Fig. 6 Effect of seed soaking with 10^{-9} mol/L EBL on contents of proline, soluble sugar and soluble protein of germinated tomato seeds under 150 mmol/L NaCl condition

种子,降低其种子 SP 含量,但是显著增加其抗氧化酶 SOD 和 CAT 的活性(酶活均以 SP 为基础计);而单独外施 HBL,其 SP 含量也下降,SOD 和 CAT 活性上升,HBL 浓度上升,其 SP 含量进一步下降,SOD 活性也下降,而 CAT 活性进一步上升;盐胁迫下添加 0.5×10^{-6} 和 10^{-6} mol/L HBL,则显著增加 SP 含量,且 HBL 浓度越高,SP 含量就越高,高盐胁迫下其增幅更明显;研究还表明 150 mmol/L NaCl 胁迫下 48 h, 10^{-6} mol/L HBL 施用下,大麦种子 SOD 酶活显著增加,盐胁迫增加到 250 mmol/L NaCl,其 SOD 酶活显著降低; 0.5×10^{-6} mol/L HBL 施用下,无论低盐或高盐胁迫下,大麦种苗 SOD 酶活均无明显变化;150 mmol/L NaCl 胁迫下 48 h, 10^{-6} mol/L HBL 施用下,CAT 酶活无显著变化,盐胁迫增加到 250 mmol/L NaCl, 10^{-6} mol/L HBL 施用下,CAT 酶活显著下降; 0.5×10^{-6} mol/L HBL 施用下,无论低盐还是高盐处理下,CAT 酶活均显著上升,盐胁迫越重,酶活上升越高;胁迫萌发 72 h,上述现象又发生迥异的不同。所以在作物种子萌发过程中,由于种子储藏物质的差异、盐胁迫强度的差异、物种的差异、施用 BRs 浓度的差异,得到的结果均不同。本研究表明,番茄种子萌发 7 d,无论盐处理或非盐处理,EBL 浸种均不同程度的降低种苗中的 ROS、MDA 含量,说明 EBL 可清除番茄萌发种子的 ROS 水平,降低膜脂过氧化。无论以 FW,或是 SP 为基础计,检测出的萌发番茄种子的 SOD 和 POD 的活性表现了对盐度的积极响应,从而改善了种子萌发中次生的氧化胁迫,而 CAT 没有体现出这样的响应。

Pro 和 SS 是参与渗透调节的小分子物质,在植物对水分胁迫的适应性调节中,是渗透性溶质的重要组成

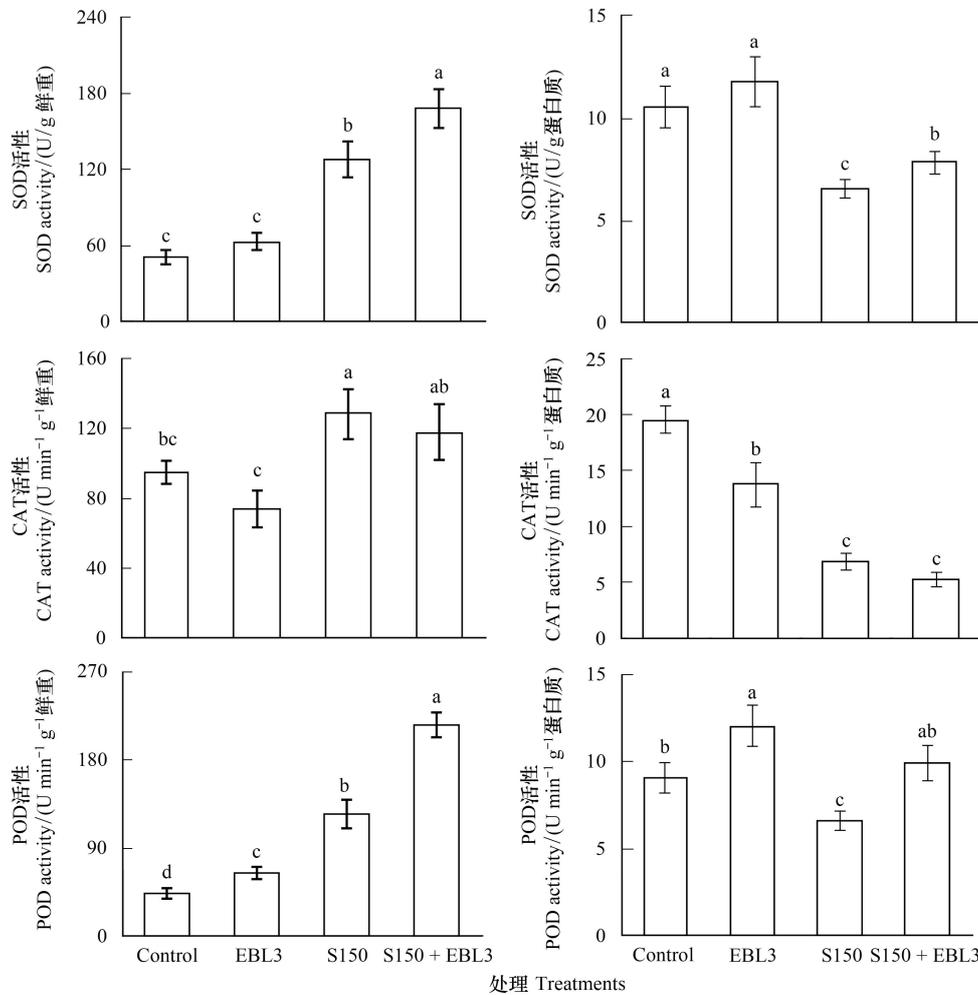


图7 150 mmol/L NaCl 处理下 10^{-9} mol/L EBL 浸种对番茄萌发种子保护酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性的影响

Fig. 7 Effect of seed soaking with 10^{-9} mol/L EBL on protective enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) of germinated tomato seeds under 150 mmol/L NaCl condition

成分。植物体内的 SP 大多数是参与各种代谢的酶类, SP 含量是一个重要的生理生化指标, 测其含量是了解植物体总代谢的一个重要指标, 植物在失水时还可以产生一些具有脱水保护功能的 SP。120 mmol/L NaCl 胁迫下水稻种子萌发受抑制, 其 Pro 和 SP 含量(均以 FW 为基础计)显著上升; 辅以 $3 \mu\text{mol/L}$ EBL 浸种, 促进其萌发, 降低了 Pro 含量, 进一步增加 SP 含量^[26]。与水稻种子 EBL 浸种萌发幼苗中 Pro 含量降低这一现象不同的是, 在 180 mmol/L NaCl 胁迫下, 0.05 mg/L EBL 浸种可显著提高玉米种子萌发中 Pro 和 SS 含量(均以 FW 为基础计), 从而缓解其胁迫伤害^[23]。本研究番茄种子在 150 mmol/L NaCl 胁迫下, 如果以 FW 为基础计, 其 Pro、SS 和 SP 含量均显著上升, 辅以 EBL 浸种则进一步显著增加 SS 和 SP 含量, 但是显著降低了 Pro 含量。说明 Pro 含量在番茄种苗中的上升是作为其伤害反应, 而不是适应的响应, 和 Yanelis 等^[16]在番茄上的结论相一致。如果以 DW 为基础计, 由于种子萌发阶段高盐处理下吸水明显受限, 反映出的 Pro、SS 和 SP 含量在高盐胁迫下均显著下降, 但辅以 EBL 浸种依然体现 SS 和 SP 含量的显著增加。可见外源 EBL 可以调控番茄种苗体内 Pro、SS 和 SP 的变化, 通过增加 SS 和 SP 的积累, 来提高渗透调节能力, 调节细胞的渗透势, 维持水分平衡, 增强细胞代谢活力, 从而提高番茄在萌发期的耐盐性, 这些现象和陈淑芳等^[27]在番茄嫁接苗上的结果相一致。

综上所述,本研究初步全面的探讨了 EBL 浸种对盐胁迫下番茄种子萌发、渗透调节物质、抗氧化代谢等调控作用。发现 EBL 浸种在番茄种子萌发上存在着明显的浓度效应,浓度过高如 10^{-6} 、 10^{-5} mol/L EBL 明显抑制番茄种子萌发,而 10^{-9} mol/L EBL 在促进盐胁迫下番茄种子萌发的总评价下最好,尤其在高盐胁迫下, 10^{-9} mol/L EBL 浸种可通过积累 SS、SP 等溶质,增强抗氧化酶活性,降低 ROS,从而改善抗氧化等,增强番茄种子萌发过程中的抗盐性。在研究中,还发现番茄种子萌发中脯氨酸的上升是典型的盐胁迫伤害反应,EBL 浸种处理则可以显著降低这一上升,从而起到保护番茄种子萌发的功效。当然,要进一步更好的理解番茄种子萌发中的抗盐性,以及不同浓度 EBL 浸种的浓度效应及其机制,需要进一步开展研究工作。

参考文献 (References):

- [1] Shahid S A, Abdelfattah M A, Taha F K. Developments in Soil Salinity Assessment and Reclamation: Innovative Thinking and Use of Marginal Soil and Water Resources in Irrigated Agriculture. New York, London: Springer, 2013: 3-44.
- [2] Yue J M, Fu Z Y, Zhang L, Zhang Z H, Zhang J C. The positive effect of different 24-epiBL pretreatments on salinity tolerance in *Robinia pseudoacacia* L. Seedlings. Forests, 2019, 10(1): 4.
- [3] Li J G, Pu L J, Han M F, Zhu M, Zhang R S, Xiang Y Z. Soil salinization research in China: advances and prospects. Journal of Geographical Sciences, 2014, 24(5): 943-960.
- [4] Zheng Q S, Liu J L, Liu R, Wu H, Jiang C Q, Wang C H, Guan Y X. Temporal and spatial distributions of sodium and polyamines regulated by brassinosteroids in enhancing tomato salt resistance. Plant and Soil, 2016, 400(1/2): 147-164.
- [5] Daliakopoulos I N, Apostolakis A, Wagner K, Deligianni A, Koutskoudis D, Stamatakis A, Tsanis I K. Effectiveness of *Trichoderma harzianum* in soil and yield conservation of tomato crops under saline irrigation. CATENA, 2019, 175: 144-153.
- [6] Nawaz F, Naeem M, Zulfiqar B, Akram A, Ashraf M Y, Raheel M, Shabbir R N, Hussain R A, Anwar I, Aurangzaib M. Understanding brassinosteroid-regulated mechanisms to improve stress tolerance in plants: a critical review. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(19): 15959-15975.
- [7] Planas-Riverola A, Gupta A, Betegón-Putze I, Bosch N, Ibañes M, Caño-Delgado A I. Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. Development, 2019, 146(5): dev151894.
- [8] Khan T A, Yusuf M, Ahmad A, Bashir Z, Saeed T, Fariduddin Q, Hayat S, Mock H, Wu T Q. Proteomic and physiological assessment of stress sensitive and tolerant variety of tomato treated with brassinosteroids and hydrogen peroxide under low-temperature stress. Food Chemistry, 2019, 289: 500-511.
- [9] Lee J, Han S, Lee H Y, Jeong B, Heo T Y, Hyun T K, Kim K, Je B I, Lee H, Shim D, Park S J, Ryu H. Brassinosteroids facilitate xylem differentiation and wood formation in tomato. Planta, 2019, 249(5): 1391-1403.
- [10] Zhu T, Deng X G, Zhou X, Zhu L S, Zou L J, Li P X, Zhang D W, Lin H H. Ethylene and hydrogen peroxide are involved in brassinosteroid-induced salt tolerance in tomato. Scientific Reports, 2016, 6(1): 35392.
- [11] Söylemez S, Kaya C, Dikilitas S K. Promotive effects of epibrassinolide on plant growth, fruit yield, antioxidant, and mineral nutrition of saline stressed tomato plants. Pakistan Journal of Botany, 2017, 49(5): 1655-1661.
- [12] Yılmaz-Gokdogan E, Burun B. The ameliorative effects of 24-epibrassinolide on shoot organogenesis inhibition occurring under NaCl-stressed conditions in cultures of cotyledon and hypocotyl explants of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Acta Botanica Croatica, 2017, 76(2): 163-170.
- [13] Gao Y M, Hu J K, Zhao T T, Xu X Y, Jiang J B, Li J F. Genome-wide identification and expression pattern analysis of BRI1-EMS-suppressor transcription factors in tomato under abiotic stresses. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2018, 143(1): 84-90.
- [14] 孙清琳, 张瑞红, 易三桂, 杨柳, 李巧燕, 周继华, 来利明, 姜联合, 郑元润. 长芒草(*Stipa bungeana*)种子萌发与出苗对关键环境因子的响应. 生态学报, 2019, 39(6): 2034-2042.
- [15] Reyes Y, Mazorra L M, Núñez L M Y M. Efecto del análogo de brasinoesteroide (Biobras-16) en la germinación y el crecimiento inicial de las plantas de dos variedades de tomate en condiciones de estrés salino. Cultivos Tropicales, 2010, 31(3): 82-88.
- [16] Guerrero Y R, Ayan L R, González L M, Vázquez L M M Y M N. Efecto de los brasinoesteroides y un inhibidor de su biosíntesis en plántulas de dos variedades de tomate sometidas a estrés salino. Cultivos Tropicales, 2014, 35(1): 25-34.
- [17] 李志萍, 张文辉, 崔豫川. NaCl 和 Na₂CO₃ 胁迫对栓皮栎种子萌发及幼苗生长的影响. 生态学报, 2015, 35(3): 742-751.
- [18] 李忠光, 龚明. 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进. 云南植物研究, 2005, 27(2): 211-216.
- [19] 李忠光, 宋玉泉, 龚明. 二甲酚橙法用于测定植物组织中的过氧化氢. 云南师范大学学报: 自然科学版, 2007, 27(3): 50-54.
- [20] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术(第二版). 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [21] 宿梅飞, 魏小红, 辛夏青, 岳凯, 赵颖, 韩厅, 马文静, 骆巧娟. 外源 cGMP 调控盐胁迫下黑麦草种子萌发机制. 生态学报, 2018, 38(17): 6171-6179.
- [22] Larré C F, de Moraes D M, Lopes N F. Qualidade fisiológica de sementes de arroz tratadas com solução salina e 24-epibrassinolídeo. Revista Brasileira de Sementes, 2011, 33(1): 86-94.
- [23] 闫慧萍, 彭云玲, 赵小强, 吕玉燕. 外源 24-表油菜素内酯对逆境胁迫下玉米种子萌发和幼苗生长的影响. 核农学报, 2016, 30(5): 988-996.
- [24] Arora N, Bhardwaj R, Sharma P, Arora H K. Effects of 28-homobrassinolide on growth, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities in seedlings of *Zea mays* L. under salinity stress. Acta Physiologiae Plantarum, 2008, 30(6): 833-839.
- [25] Marakli S, Temel A, Gozukirmizi N. Salt stress and homobrassinosteroid interactions during germination in barley roots. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2014, 42(2): 446-452.
- [26] Özdemir F, Bor M, Demiral T, Türkan İ. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. Plant Growth Regulation, 2004, 42(3): 203-211.
- [27] 陈淑芳, 朱月林, 刘友良, 李式军. NaCl 胁迫对番茄嫁接苗保护酶活性、渗透调节物质含量及光合特性的影响. 园艺学报, 2005, 32(4): 609-613.