

外源抗坏血酸对番茄自毒作用的缓解效应

马彦霞^{1,2}, 张玉鑫¹, 胡琳莉², 吕剑², 郁继华^{2*}, 王晓巍^{1*}

(1.甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 兰州 730070; 2.甘肃农业大学园艺学院, 兰州 730070)

摘要:为探究外源抗坏血酸(AsA)提高自毒作用下番茄抗逆能力的内在机制,以优良番茄品种“粉冠一号”为材料,用连作3 a番茄的基质浸提液处理种子及幼苗,研究了不同浓度(0、0.25、0.5、1 mmol·L⁻¹)AsA对自毒作用下番茄种子发芽率、发芽势、发芽指数和幼苗主根、上胚轴长、抗氧化酶(SOD、POD、APX)活性、抗氧化剂(AsA、GSH)含量、MDA含量和电解质渗漏率及根系超微结构的影响。结果表明:单一基质浸提液处理可抑制番茄种子的萌发和幼苗生长,降低SOD、POD和APX酶活性及GSH和AsA含量,MDA含量和电解质渗漏率升高;当用含有不同浓度AsA的基质浸提液处理后,与单一基质浸提液处理相比,番茄种子的发芽率、发芽势和发芽指数均增大,幼苗主根和上胚轴的生长加快,植株的抗氧化酶活性和抗氧化剂含量升高,MDA含量和电解质渗漏率均降低,对幼苗根系结构的不良影响减少。外源AsA能维持番茄幼苗正常的生理功能,有效缓解连茬基质浸提液对其造成的自毒胁迫。所有处理各指标的综合隶属函数值分析表明,1 mmol·L⁻¹的AsA缓解效果最好,0.5 mmol·L⁻¹次之。

关键词:番茄;基质浸提液;抗坏血酸(AsA);自毒作用;种子萌发;超微结构

中图分类号:S641.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2015)07-1247-07 **doi:**10.11654/jaes.2015.07.004

Mitigation of Autotoxicity Stress of Tomato by Ascorbic Acid

MA Yan-xia^{1,2}, ZHANG Yu-xin¹, HU Lin-li², LÜ Jian², YU Ji-hua^{2*}, WANG Xiao-wei^{1*}

(1. Vegetable Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China; 2. College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Ascorbic acid widely present in many plant tissues is a high abundant and small molecular antioxidant. It plays an important role in protecting plant cells from oxidative damages and stimulating cell division and elongation. This experiment was carried out to explore the effects of exogenous ascorbic acid on resistance of tomato to autotoxicity. Tomato seeds were treated with substrate extracts of 3 year continuous tomato cropped soil, and the effects of exogenous ascorbic acid at different concentrations (0, 0.25, 0.5, 1 mmol·L⁻¹) on the seed germination and plant growth of tomato and the ultrastructure of roots were then investigated. It was found that substrate extracts suppressed seed germination, seedling growth, decreased the activities of superoxide dismutase, peroxidase, and ascorbate peroxidase, and reduced the content of glutathione and ascorbic acid, but increased malondialdehyde content and relative electrolyte leakage. Compared with substrate extracts, treatments with ascorbic acid at 0.25, 0.5 mmol·L⁻¹ and 1 mmol·L⁻¹ increased the seed germination rate, germination energy and germination index, enhanced seedling root and epicotyl, elevated the protective enzyme activity and antioxidant content, decreased malondialdehyde content and relative conductivity. In addition, exogenous ascorbic acid could alleviate harmful effects on root structure. There results indicate that supplying exogenous ascorbic acid could alleviate tomato autotoxicity caused by continuous cropping, with 1 mmol·L⁻¹ having the best effect.

Keywords: *Lycopersicon esculentum*; substrate extracts; ascorbic acid; autotoxicity; germination; ultra-microstructure

近年来,随着生态农业和可持续循环农业的发展,设施番茄有机生态型无土栽培发展迅速,种植面

积逐年扩大。但种植者为了降低成本,常常将栽培基质重复使用,导致番茄病虫害加重、果实品质和产量下降等连作障碍问题日益严重,成为制约番茄生态型无土栽培可持续发展的重要因素。已有研究表明,连茬栽培番茄的基质不适于番茄生长^[1]。连茬栽培时,植物残体与病原微生物的代谢产物对植物有致毒作用,并连同根系分泌的自毒物质一起影响植株生长发育,最后导致自毒作用^[2]。许多研究已证实自毒作用是导致植物产生连作障碍的重要因子之一^[3-5]。植物的许多部位都能合成自毒物质,并通过根系分泌、残茬腐解、

收稿日期:2015-01-31

基金项目:农业部西北地区蔬菜科学观测实验站项目(2015-A2621-620321-G1203-066);甘肃省农业科学院列创新专项(2014GAAS02);农业部农业产业技术体系建设资金项目(CARS-25-C-07)

作者简介:马彦霞(1982—),女,甘肃定西人,博士,副研究员,主要研究方向为蔬菜栽培生理与设施环境调控。

E-mail: mayx1982@126.com

*通信作者:郁继华 E-mail: yujihua@gsau.edu.cn;

王晓巍 E-mail: wangxw@gsagr.ac.cn

淋溶、挥发等途径滞留在土壤中,影响后续种植作物的生长发育。因此,寻求适宜的缓解方法对连作障碍的深入研究有着非常重要的理论和实践意义。

抗坏血酸(AsA)是普遍存在于植物组织中的高丰度小分子抗氧化物质,在植物细胞对氧化胁迫的抵御、细胞分裂和伸长中发挥着重要作用^[6]。已有大量研究证明,活性氧产生是化感物质的主要作用机理之一^[7]。研究表明,0.5 mmol·L⁻¹的AsA既能缓解肉桂酸的毒性,又能缓解多种苯基羧酸类化合物对黄瓜胚根生长的抑制作用^[8];Younis等^[9]报道,外源添加AsA能提高蚕豆种子对离子胁迫和渗透胁迫的抗性;外源AsA还能提高植物对高温、臭氧胁迫及镉胁迫的抗性^[9-11]。但是,外源AsA能否有效提高番茄对自毒作用的抗性及其作用机理目前未见报道。本研究拟用外源AsA处理自毒胁迫下的番茄种子,分析其萌发、生长及生理指标的变化,观察根系超微结构的差异,并利用数学隶属函数模型,综合评价了不同AsA浓度的缓解效果,为进一步明确AsA缓解番茄自毒作用的机理提供借鉴,也为日光温室番茄有机生态型无土栽培基质的重复利用提供理论和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验选用番茄品种为“粉冠一号”,无限生长型,抗病性强,耐低温、耐热性强,是日光温室、春秋大棚和春提早中小棚栽培的最佳品种。

抗坏血酸:规格BR,含量99%,购自Sigma公司。

1.2 试验方法

从甘肃酒泉戈壁绿丰农业专业合作社非耕地设施蔬菜标准园取连续种植3 a的番茄根圈基质(炉渣、菌渣、牛粪、鸡粪和玉米秸秆体积比为13:5:5:2:14的混合基质),样品风干、粉碎后过20目筛,称取25 g放入1 L锥形瓶,加入500 mL蒸馏水,密封后放入振荡器中浸提48 h(温度为25℃,振荡速度为200 r·min⁻¹),经过滤即得到浓度为0.05 g·mL⁻¹的基质浸提液。贮存于4℃冰箱中备用。

试验共设5个处理,分别为:(A1)0.05 g·mL⁻¹的基质提取液中含有0.25 mmol·L⁻¹的抗坏血酸;(A2)0.05 g·mL⁻¹的基质提取液中含有0.5 mmol·L⁻¹的抗坏血酸;(A3)0.05 g·mL⁻¹的基质提取液中含有1 mmol·L⁻¹的抗坏血酸;(CK1)0.05 g·mL⁻¹基质提取液;(CK2)1/2浓度Hoagland营养液。将经过10% H₂O₂消毒2 min的番茄种子置于5 mL离心管内,分

别滴加各处理液3 mL,稍振荡,使种子与溶液充分接触。浸种24 h后,将每个离心管中的种子各50粒整齐地摆放在铺有两层滤纸的培养皿(直径9 cm)中,开始每皿中分别加入5 mL处理液,以后各处理每天分别添加5 mL相应的处理液。将培养皿放在智能人工气候箱(RXZ-310B)中避光培养(温度25℃,湿度45%),每处理进行三次独立的生物学重复。每天用5 mL处理液冲洗培养皿中的滤纸,以保证处理浓度不变。

根据《国际种子检验规程》^[12]的要求,以处理的当天为发芽的第1 d,从第2 d起逐日统计种子发芽数,第4 d测定发芽势,第8 d测定发芽率,计算发芽指数。8 d后在光照(白天27℃,夜间18℃)条件下培养,第12 d时每个处理任选5株测量主根和上胚轴的长度,重复3次。剩下的幼苗继续培养到第21 d时取混合样(根茎叶)测定抗氧化酶活性、抗氧化剂和丙二醛(MDA)含量及电解质渗漏率(EL),取根尖观察超微结构。

1.3 测定项目与方法

(1)种子萌发生长指标的测定:发芽率、发芽势和发芽指数的测定参照陶嘉龄^[13]的方法;主根和上胚轴长用数显游标卡尺测定。

(2)生理生化指标的测定:超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定用氮蓝四唑法^[14];过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法^[15];抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参照沈文飏等^[16]的方法;抗坏血酸(AsA)含量的测定参照李合生^[14]的方法;还原型谷胱甘肽(GSH)含量的测定参照Ellman^[17]的方法;MDA含量的测定采用硫代巴比妥酸法^[14];电解质渗漏率用相对电导率表示,用DDS-11A型电导率仪测定^[18]。

(3)根系超微结构的观察:培养21 d后,取处理A3和CK1样品的根尖,用双面刀片切成2 mm长的根段,迅速放入3%戊二醛(0.2 mol·L⁻¹的磷酸缓冲液,pH=7.2)固定,用真空抽气法将材料沉入固定液底部,4℃保存。将固定好的样品用0.2 mol·L⁻¹的磷酸缓冲液漂洗3次(每次10 min),1%锇酸固定2 h,上行梯度乙醇脱水,丙酮置换浸透,Epon-812环氧树脂包埋聚合,修块切片,醋酸铀和柠檬酸铅双染色,HI-TACHI透射电镜观察,每处理共观察30个视野并照相。用Leica EM UC6超薄切片机切片,JEM-1230型透射电镜观察照相。

1.4 统计分析

采用Microsoft Excel 2003软件处理数据并制图,

采用 SPSS16.0 的 ANONA 进行方差分析,用新复极差法(Duncan)对数据进行差异显著性分析。

各处理自毒作用的大小用隶属函数值比较^[9],综合隶属函数值越大,表明自毒作用越小。

化感隶属函数值 $X_{(ij)}$ 用模糊数学隶属函数值的方法计算,公式如下所列。

$$X_{(ij)}=(X_{ij}-X_{j\min})/(X_{j\max}-X_{j\min})$$

式中: $X_{(ij)}$ 表示*i*种类*j*指标的化感隶属值; X_{ij} 表示*i*种类*j*指标的测定值; $X_{j\max}$ 、 $X_{j\min}$ 分别为*j*指标的最大值和最小值。

$$M_i=\sum X_{(ij)}$$

式中: M_i 表示第*i*类型的综合化感隶属值。

参照 Willamson 等^[20]的方法,利用化感效应指数(RI)表示自毒效应抑制率($RI>0$ 为促进作用, $RI<0$ 为抑制作用,绝对值大小与作用强度一致),当 $T\geq C$ 时, $RI=1-C/T$;当 $T<C$ 时, $RI=T/C-1$ 。其中: C 为对照值, T 为处理值。

2 结果与分析

2.1 AsA 对自毒作用下番茄种子萌发的影响

从表 1 可以看出,AsA 处理后,番茄的发芽率显著升高,且随着 AsA 处理浓度的增大发芽率逐渐增高,A1、A2 和 A3 处理的发芽率分别比 CK1 提高了 35.7%、43.9%和 46.9%。发芽势的变化基本与发芽率

一致,A1 处理与 A2、A3 处理间的差异达显著水平;A2 处理与 A3 和 CK2 差异不显著,但与 CK1 差异显著;A3 处理与 CK1 间的差异达显著水平,与 CK2 差异不显著。不同处理的发芽指数大小为 CK2>A3>A2>A1>CK1,且 A3 处理与 CK2 差异不显著,与其他所有处理差异达显著水平;A1 和 A2 均与所有处理间差异显著。番茄幼苗主根长度变化趋势与发芽指数一致,随着 AsA 浓度的增大主根长度增大。幼苗上胚轴对 AsA 的反应没有其他指标敏感,处理后 A3 与 CK2 差异不显著,与其他处理差异达显著水平;A1、A2 与 CK1 间的差异不显著,与 A3 和 CK2 差异显著;A1 与 A2 两处理间没有显著性差异。

2.2 AsA 对自毒作用下番茄幼苗抗氧化酶活性的影响

自毒作用下外源 AsA 对番茄幼苗 SOD、POD 及 APX 活性的影响不同处理间差异显著。由表 2 可知,外源添加 AsA 后,A1、A2、A3 处理的 SOD 活性较 CK1 显著升高;所有添加 AsA 处理的 SOD 活性均显著低于 CK2,说明外源 AsA 对 SOD 活性的调节能力较差。与 SOD 活性相比,POD 活性对 AsA 的调控更敏感,外源 AsA 处理后,A2 与 A3 处理间差异不显著,且 POD 活性均极显著高于 CK2;A1、A2 和 A3 处理的化感效应指数分别为-0.270、0.082 和 0.079,说明 A2、A3 处理能显著提高番茄植株的 POD 活性。外源 AsA 处理后,植株的 APX 活性随着 AsA 浓度的增

表 1 AsA 对自毒作用下番茄种子萌发和幼苗生长的影响
Table 1 Effects of ascorbic acid on germination and growth of tomato under autotoxicity stress

处理 Treatment	发芽率 Germination rate/%	发芽势 Germination energy/%	发芽指数 Germination index	主根长 Root length/cm	上胚轴长 Epicotyl length/cm
A1	88.67Ab	17.33Bb	26.24Cc	9.63Bc	4.02Bb
A2	94.00Aab	30.00Aa	32.14Bb	10.47Bb	4.04Bb
A3	96.00Aab	29.33Aa	34.59Aa	12.08Aa	4.62Aa
CK1	65.33Bc	11.78Bc	16.02Dd	9.18Cd	3.56Bb
CK2	98.67Aa	31.33Aa	35.74Aa	12.29Aa	4.70Aa

注:同列方差分析小写字母表示处理间在 5%水平上的差异显著性;大写字母表示处理间在 1%水平上的差异显著性。下同。
Note:Different small letter mean significant difference between treatments at 0.05 levels, different capital letters mean significant difference between treatments at 0.01 levels. The same below.

表 2 AsA 对自毒作用下番茄幼苗 SOD、POD 及 APX 活性的影响
Table 2 Effects of ascorbic acid on SOD, POD and APX activities in tomato plants under autotoxicity stress

处理 Treatment	SOD 活性 SOD activity/ U·g ⁻¹ FW	化感效应指数 Response index	POD 活性 POD activity/ U·g ⁻¹ FW·min ⁻¹	化感效应指数 Response index	APX 活性 APX activity/ U·g ⁻¹ FW·min ⁻¹	化感效应指数 Response index
A1	393.8±13.37Cc	-0.177	43.98±1.211Cc	-0.270	4.985±0.148Cc	-0.241
A2	441.4±5.09Bb	-0.077	65.69±0.808Aa	0.082	6.397±0.163Bb	-0.026
A3	459.6±8.86ABab	-0.039	65.46±1.616Aa	0.079	7.665±0.303Aa	0.143
CK1	364.0±12.54Cd	-0.239	37.72±1.966Dd	-0.374	3.564±0.096Dd	-0.457
CK2	478.2±17.17Aa	0.000	60.28±1.041Bb	0.000	6.565±0.246Bb	0.000

大而增大,且A1、A2和A3处理的APX活性均高于CK1,且差异显著;A1与所有处理间差异显著;A2与CK2处理间无显著性差异;A3处理的APX活性显著高于CK1和CK2。总体来说,各处理的化感效应指数大小为CK1<A1<A2<A3<CK2。

2.3 AsA对自毒作用下番茄幼苗抗氧化剂含量的影响

自毒作用下外源AsA处理后幼苗的GSH含量显著升高,且所有处理间均达到差异显著水平(表3)。与CK1相比,A1、A2和A3处理的GSH含量分别增加了48.9%、70.9%和56.9%。番茄幼苗的GSH含量随着外源AsA浓度的升高呈先升后降的趋势,所有处理中,A2处理的GSH含量最高,为 $9.335\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,CK2次之,CK1最小,说明GSH对外源AsA的反应较敏感,当用 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的AsA处理时幼苗的GSH含量最大,高浓度的AsA反而会抑制幼苗的GSH含量。与GSH相比,植株体内的AsA对外源AsA的处理更敏感,当用不同浓度的外源AsA处理后,植株的AsA含量较CK1极显著升高,说明外源AsA可以直接被植株吸收利用;A2处理的AsA含量显著高于所有处理和对照,但随着外源AsA浓度的升高植株的GSH含量却急剧下降,可能是由于AsA的反作用造成的。不同处理的化感效应指数的绝对值大小为CK1>A2>A3>A1>CK2,说明A2、A3处理可促进植株GSH的合成和转化。

表3 AsA对自毒作用下番茄幼苗GSH和AsA含量的影响
Table 3 Effects of ascorbic acid on GSH and AsA content in tomato plants under autotoxicity stress

处理 Treatment	GSH含量 GSH content/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	化感效应指数 Response index	AsA含量 AsA content/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	化感效应指数 Response index
A1	$8.133\pm 0.148\text{Dd}$	-0.092	$83.360\pm 1.811\text{Bd}$	-0.050
A2	$9.335\pm 0.040\text{Aa}$	0.040	$101.045\pm 2.012\text{Aa}$	0.132
A3	$8.571\pm 0.303\text{Cc}$	-0.044	$97.667\pm 1.882\text{Ab}$	0.102
CK1	$5.462\pm 0.096\text{Ee}$	-0.391	$55.987\pm 0.671\text{Ce}$	-0.362
CK2	$8.962\pm 0.246\text{Bb}$	0.000	$87.710\pm 0.997\text{Bc}$	0.000

2.4 AsA对自毒作用下番茄幼苗丙二醛(MDA)含量和电解质渗漏率(EL)的影响

由表4可知,基质浸提液单独处理时(CK1),番茄幼苗的MDA含量显著高于未经基质浸提液处理的(CK2),增加了212.3%。与CK1相比,含有不同浓度抗坏血酸的浸提液处理均可降低自毒作用下MDA的含量,其中以A3含量最低,比CK1降低了67.5%,表明抗坏血酸处理(A3)可以显著减轻由于自毒作用

表4 AsA对自毒作用下番茄幼苗MDA含量和电解质渗漏率(EL)的影响

Table 4 Effects of ascorbic acid on MDA content and relative conductivity in tomato plants under autotoxicity stress

处理 Treatment	MDA含量 MDA content/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$	化感效应指数 Response index	相对电导率 Relative conductivity/%	化感效应指数 Response index
A1	$6.404\pm 0.027\text{Bb}$	1.483	$47.450\pm 0.783\text{Bb}$	1.388
A2	$5.407\pm 0.028\text{Cc}$	1.097	$38.823\pm 0.449\text{Cc}$	0.953
A3	$2.622\pm 0.065\text{Dd}$	0.017	$20.079\pm 0.883\text{Dd}$	0.010
CK1	$8.053\pm 0.054\text{Aa}$	2.123	$56.519\pm 0.680\text{Aa}$	1.844
CK2	$2.579\pm 0.009\text{Dd}$	0.000	$19.874\pm 0.855\text{Dd}$	0.000

而造成的膜脂过氧化作用。电解质渗漏率(EL)的变化趋势与MDA基本一致,与单一基质浸提液处理相比(CK1),含有抗坏血酸的基质浸提液处理后,EL均有所降低,且随抗坏血酸浓度的增大而降低,但A3与CK2处理间差异不显著。

2.5 AsA对自毒作用下番茄幼苗根系超微结构的影响

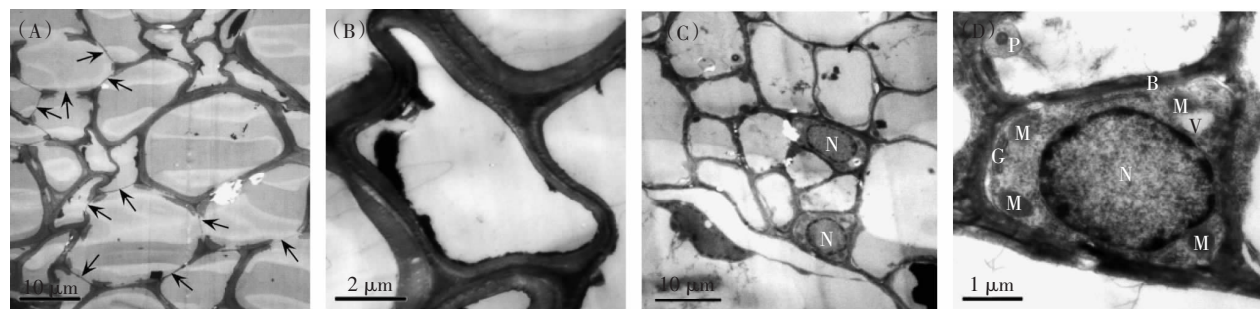
从图1可以看出,基质浸提液处理的番茄根尖细胞壁增厚,且细胞壁不完整,有破损现象(图1A中箭头指示方向为细胞壁受损的地方);局部细胞形状极不规则;没有发现细胞核、质体、液泡及其他结构。这表明番茄幼苗在连茬基质浸提液处理下,幼苗根尖的超微结构受到破坏。加入浓度为 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的AsA处理后,根尖细胞中发现细胞核、前质体、线粒体、液泡、基粒片层等结构(图1C、图1D),但细胞核边缘略显不规则,可能是由于AsA的浓度太小,还没有完全缓解化感物质造成的伤害。这表明添加外源AsA虽然不能完全消除连茬基质浸提液对根尖细胞的伤害作用,但是能在一定程度上减少伤害。

2.6 各处理自毒作用大小的综合评价

从表5可以看出,自毒作用下不同浓度的外源AsA处理后番茄幼苗各测定指标的综合隶属函数值大小为A1(4.968)、A2(6.044)、A3(6.753);与CK1相比,A1、A2、A3处理的各指标综合隶属函数分别增大了6.69%、29.78%和45.01%,外源AsA浓度越大增幅亦越大。所有处理各指标的综合隶属函数值大小为A3>CK2>A2>A1>CK1,说明外源AsA对由连茬基质浸提液造成的自毒作用具有缓解效应,其中A3的缓解效果最好,A2次之,A1较差。

3 讨论

AsA是普遍存在于植物组织中的高丰度小分子抗氧化物质,对植物的生长调控具有积极作用。



(A)、(B)为基质水浸液处理根尖,(C)、(D)为“基质水浸液+1 mmol·L⁻¹ 抗坏血酸”处理的根尖。A(×2.5K);B(×15K);C(×3K);D(×25K); N. 细胞核(Cell nucleus);P. 前质体(Proplastid);V. 液泡(Vacuole);B. 细胞壁(Cell wall);M. 线粒体(Mitochondria);G. 基粒片层(Grana lamella)

图 1 AsA 对自毒作用下番茄幼苗根尖超微结构的影响
Figure 1 Effect of ascorbic acid on ultrastructure of root tips of tomato seedling

表 5 AsA 对自毒作用下番茄各测定指标的隶属函数值
Table 5 Subjection values of ascorbic acid effect on measurement index of tomato under autotoxicity stress

测定指标 Measurement index	各处理的隶属函数值 Subjection values of each treatment				
	A1	A2	A3	CK1	CK2
发芽率 Germination rate	0.444	0.500	0.600	0.417	0.667
发芽势 Germination energy	0.417	0.500	0.556	0.444	0.556
发芽指数 Germination index	0.430	0.452	0.522	0.395	0.520
主根长 Root length	0.452	0.486	0.593	0.439	0.599
上胚轴长 Epicotyl length	0.389	0.424	0.533	0.362	0.542
SOD 活性 SOD activity	0.426	0.543	0.566	0.375	0.580
POD 活性 POD activity	0.406	0.534	0.523	0.396	0.417
APX 活性 APX activity	0.393	0.543	0.649	0.348	0.563
AsA 含量 Ascorbic acid content	0.410	0.647	0.637	0.356	0.575
GSH 含量 Glutathione content	0.432	0.529	0.481	0.408	0.488
MDA 含量 MDA content	0.408	0.468	0.512	0.378	0.515
相对电导率 Relative conductivity	0.362	0.418	0.581	0.339	0.484
各指标综合隶属函数值 Integrate subjection value of each index	4.968	6.044	6.753	4.657	6.506

Rudrappa 等^[21]研究表明,0.5 mmol·L⁻¹ AsA 能缓解由化感物质(没食子酸)造成的拟南芥生物量的降低,使其地上、地下部鲜重提高 80%;此外,AsA 能有效清除没食子酸处理后产生的大量 H₂O₂,使解体的细胞骨架恢复正常。张韵^[6]报道,0.25~1 mmol·L⁻¹ 的外源AsA 能减弱自毒物质造成的黄瓜胚根伸长受抑制现象,且以 0.5 mmol·L⁻¹ 效果最佳。本研究结果同样表明,0.25、0.5、1 mmol·L⁻¹ 的外源 AsA 对由连茬基质浸提液造成的番茄种子萌发和幼苗生长受抑制作用具有缓解效应,其中 1 mmol·L⁻¹ 的缓解效果最好。这与 Rudrappa^[21]、张韵^[6]等的研究结果不太一致,可能是由于研究的作物、方法及测试的指标、试验的环境和条件等不同造成的。

AsA 能够直接或间接地清除活性氧^[22],维持植物体内细胞的氧化还原处于动态平衡。化感物质常引起活性氧的产生、引发氧化胁迫,使植物种子的萌发和

生长受阻^[7]。我们之前的研究表明,0.05 g·mL⁻¹ 的连茬基质水浸液能显著抑制叶片叶绿素含量、幼苗 SOD 和 APX 酶活性及根系活力,进而抑制番茄植株生长。Ding 等^[23]报道,黄瓜根系分泌的自毒物质能加速活性氧的大量产生,造成生长量显著降低。活性氧与植物体内的抗氧化酶系统关系密切^[24],有研究表明抗氧化酶活性是鉴定植物抗逆性强弱的重要指标^[25],SOD、POD 和 APX 是植物体内主要的保护酶^[26-27],其中 SOD 可以将 O₂^{·-}歧化,转化为 H₂O₂,而 APX 可以清除 H₂O₂。在本研究中,外源添加不同浓度的 AsA 能提高基质水浸液处理下番茄幼苗的 SOD、POD、APX 酶活性,且以 1 mmol·L⁻¹ 的效果最好,还发现 POD 酶对植株 AsA 的调控比 SOD 更敏感。这说明外源 AsA 能刺激番茄植株内的 SOD、POD、APX 酶活性,从而消除植株体内的氧自由基,起到缓解水浸液胁迫的作用。

提高植物体内的抗氧化物质含量是提高植物抗

逆性的重要措施之一^[28]。还原型谷胱甘肽(GSH)是植物体内一种必需的代谢物和调节物^[29],是植物体内广泛存在的一种重要抗氧化物质。赵娟等^[30]报道,植物体内 GSH 水平的高低与植物对胁迫的耐受性密切相关,其在组织中的含量变化可以作为植物是否遭受氧化胁迫的标志^[31]。本研究结果表明,基质浸提液胁迫下外源添加 AsA 能显著提高植株的 GSH 含量,其中以 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AsA 处理的植株 GSH 含量最大。与 GSH 相比,植株内源 AsA 对外源 AsA 的处理更敏感,当用外源 AsA 处理后,植株的 AsA 含量较浸提液处理极显著升高,说明外源 AsA 被提供到 AsA-GSH 循环,使植株 AsA 的合成和转化加快。本研究发现,外源 AsA 浓度为 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时植株的 AsA 含量最高, $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的含量降低,说明外源 AsA 的添加可以影响自毒作用下番茄植株内源 AsA 的含量,高浓度外源 AsA 使内源 AsA 降解速度加快,或使内源 AsA 的合成和转化受阻。

MDA 是直接反映膜脂过氧化的指标之一,其含量的高低反映了细胞氧化损伤的程度。本研究结果表明,单一基质浸提液处理后番茄幼苗的 MDA 含量和电解质渗漏率显著增高,说明细胞膜系统受到严重伤害;当用含有不同浓度抗坏血酸的基质浸提液处理后,MDA 含量和电解质渗漏率均显著降低,且以高浓度($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理效果最好,说明外源抗坏血酸显著降低了幼苗 MDA 的积累和电解质外渗,维持了自毒作用下番茄幼苗细胞膜系统的稳定性。

逆境条件下,细胞器结构会被破坏,并将最终导致细胞相关生理功能的降低甚至丧失^[32]。本试验结果表明,连茬基质水浸液处理下根尖细胞受到伤害,细胞壁有破损,没有细胞核、质体、液泡及其他结构,这种细胞形态结构的改变是自毒作用下番茄的重要生理反应之一。自毒胁迫下加入浓度为 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AsA 后,减轻了伤害症状,细胞中发现细胞核、前质体、线粒体、液泡、基粒片层等结构,说明 AsA 降低了基质浸提液对细胞结构的负作用,发挥了保护作用。

4 结论

外源 AsA 处理引起自毒胁迫的番茄幼苗产生一系列的积极应答,种子发芽率、发芽势和发芽指数升高,幼苗主根和上胚轴生长加快,植株抗氧化酶(SOD、POD、APX)活性和抗氧化剂(AsA、GSH)含量升高,MDA 含量和电解质渗漏率均降低,对幼苗根系结构的不良影响减少,能维持其正常的生理功能,有

效缓解了自毒胁迫造成的伤害。本试验所有处理各指标的综合隶属函数值分析表明, $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AsA 对番茄自毒作用的缓解效果最好,但此浓度是否为最佳浓度还有待进一步研究验证。

参考文献:

- [1] 马彦霞,任静,曹刚,等.不同茬口设施番茄栽培的根圈基质中酶活性与养分效应[J].中国生态农业学报,2013,21(6):681-688.
MA Yan-xia, REN Jing, CAO Gang, et al. Effect of different rotation systems on media nutrient and enzyme activity in solar greenhouse tomato rhizosphere[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(6): 681-688.
- [2] 马彦霞.自毒作用下外源谷胱甘肽(GSH)对辣椒幼苗生理生化特性的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2009.
MA Yan-xia. Effects of exogenous glutathione on physiological and biochemical characteristics of pepper seedlings under autotoxicity[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2009.
- [3] 喻景权,松井佳久.豌豆根系分泌物自毒作用的研究[J].园艺学报,1999,26(3):175-179.
YU Jing-quan, Matsui Y. Autointoxication of root exudates in *Pisum sativum*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1999, 26(3): 175-179.
- [4] 李彦斌,刘建国,谷冬艳.植物化感自毒作用及其在农业中的应用[J].农业环境科学学报,2007,26(增刊):347-350.
LI Yan-bin, LIU Jian-guo, GU Dong-yan. Allelopathic autotoxicity of plants and its application in agriculture[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(Suppl): 347-350.
- [5] 王芳,王敬国.连作对茄子苗期生长的影响研究[J].中国生态农业学报,2005,13(1):79-81.
WANG Fang, WANG Jing-guo. Study on the effect of continuous cropping on the growth of eggplant seedlings[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2005, 13(1): 79-81.
- [6] 张韵.黄瓜自毒物质对细胞生长的影响及缓解机制[D].杭州:浙江大学,2009.
ZHANG Yun. Effect of autotoxic agents on cell growth in cucumber and alleviation mechanism[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009.
- [7] Bais H P, Vepachedu R, Gilroy S, et al. Allelopathy and exotic plant invasion: From molecules and genes to species interactions[J]. *Science*, 2003, 301(5638): 1377-1380.
- [8] Younis M E, Hasaneen M N A, Kazamel M S. Plant growth, metabolism and adaptation in relation to stress conditions: XXVII. Can ascorbic acid modify the adverse effects of NaCl and mannitol on amino acids, nucleic acids and protein patterns in vicia faba seedlings[J]. *Protoplasma*, 2009, 35(1-4): 37-47.
- [9] 庞勇,马峰旺,徐凌飞.抗坏血酸对苹果组培苗耐热性的生理效应[J].果树学报,2005,22(2):160-162.
PANG Yong, MA Feng-wang, XU Ling-fei. Physiological effect of ascorbic acid on thermo tolerance of apple plantlets from tissue culture[J]. *Journal of Fruit Science*, 2005, 22(2): 160-162.
- [10] 张佩,周琴,孙小芳,等.抗坏血酸对镉胁迫下油菜幼苗生长的影响[J].农业环境科学学报,2008,27(6):2362-2366.
ZHANG Pei, ZHOU Qin, SUN Xiao-fang, et al. The alleviative effects

- of AsA on the growth of rape seedlings under Cd stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(6):2362-2366.
- [11] 郑启伟,王效科,谢居清,等. 外源抗坏血酸对臭氧胁迫下水稻叶片膜保护系统的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(4):1131-1137.
- ZHENG Qi-wei, WANG Xiao-ke, XIE Ju-qing, et al. Effects of exogenous ascorbic acid on membrane protective system of in situ rice leaves under O₃ stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(4):1131-1137.
- [12] 国际种子检验协会(ISTA). 1996 国际种子检验规程[M]. 北京:中国农业出版社, 1999.
- ISTA. International rules for seed testing 1996[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1999.
- [13] 陶嘉龄. 种子活力[M]. 北京:科学出版社, 1991:108-110.
- TAO Jia-ling. Seed vigor[M]. Beijing: Science Press, 1991:108-110.
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000:164-169, 260-261.
- LI He-sheng. Experimental principle and technique for plant physiology and biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000:164-169, 260-261.
- [15] 郑炳松. 现代植物生理生化研究技术[M]. 北京:气象出版社, 2006:91-92, 41-42.
- ZHENG Bing-song. Research techniques in contemporary plant physiology and biochemistry[M]. Beijing: China Meteorological Press, 2006:91-92, 41-42.
- [16] 沈文彪,徐郎莱,叶茂炳,等. 抗坏血酸过氧化物酶活性测定的探讨[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(3):203-205.
- SHEN Wen-biao, XU Lang-lai, YE Mao-bing, et al. Study on determination of APX activity[J]. *Plant Physiology Communications*, 1996, 32(3):203-205.
- [17] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1959, 82(1):70-77.
- [18] 郝再彬,苍品,徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社, 2004:101-104.
- HAO Zai-bin, CANG Pin, XU Zhong. Experimental plant physiology[M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2004:101-104.
- [19] 周艳丽,程智慧,孟焕文,等. 大蒜根系水浸液及根系分泌物的化感作用评价[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2007, 35(10):87-92.
- ZHOU Yan-li, CHENG Zhi-hui, MENG Huan-wen, et al. Allelopathy of garlic root aqueous extracts and root exudates[J]. *Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition)*, 2007, 35(10):87-92.
- [20] Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1988, 14(1):181-187.
- [21] Rudrappa T, Bonsall J, Gallagher J L, et al. Root-secreted allelochemical in the noxious weed *Phragmites australis* deploys a reactive oxygen species response and microtubule assembly disruption to execute rhizotoxicity[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2007, 33(10):1898-1918.
- [22] 王贺正,马均,李旭毅,等. 水分胁迫对水稻结实期活性氧产生和保护系统的影响[J]. 中国农业科学, 2007, 40(7):1379-1387.
- WANG He-zheng, MA Jun, LI Xu-yi, et al. Effects of water stress on active oxygen generation and protection system in rice during grain filling stage[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(7):1379-1387.
- [23] Ding J, Shi K, Zhou Y H, et al. Effects of root and foliar applications of 24-epibrassinolide on fusarium wilt and antioxidant metabolism in cucumber roots[J]. *Hort Sci*, 2009, 44(5):1340-1345.
- [24] 马彦霞,张国斌,颜建明,等. 外源谷胱甘肽对自毒作用下辣椒幼苗叶片活性氧清除系统的影响[J]. 西北植物学报, 2009, 29(7):1380-1386.
- MA Yan-xia, ZHANG Guo-bin, XIE Jian-ming, et al. Effects of glutathione on active oxygen scavenging system in leaves of pepper seedlings under autotoxicity[J]. *Acta Bot Boreo-Occident Sin*, 2009, 29(7):1380-1386.
- [25] 乔佩,卢存福,李红梅,等. 盐胁迫对诱变小麦种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(6):720-727.
- QIAO Pei, LU Cun-fu, LI Hong-mei, et al. Influence of salt on seed germination and seedling physiological characteristics of mutagenic wheat[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(6):720-727.
- [26] 刘忠霞,刘建朝,胡景江. 干旱胁迫对苹果树苗活性氧代谢及渗透调节的影响[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(2):15-19.
- LIU Zhong-xia, LIU Jian-chao, HU Jing-jiang. Effects of drought stress on active oxygen metabolism and contents of osmotic adjustment substances in the leaves of apple seedling[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2013, 28(2):15-19.
- [27] 李艳宾,万传星,张琴,等. 棉秆腐解液对棉花种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(6):1258-1262.
- LI Yan-bin, WAN Chuan-xing, ZHANG Qin, et al. Effect of decomposed liquids of cotton stalk on cotton seeds germination and seedling growth[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(6):1258-1262.
- [28] 马彦霞,郁继华,张国斌,等. 壳聚糖对水分胁迫下辣椒幼苗氧化损伤的保护作用[J]. 中国农业科学, 2012, 45(10):1964-1971.
- MA Yan-xia, YU Ji-hua, ZHANG Guo-bin, et al. Protective effects of exogenous chitosan on oxidative damage in pepper seedling leaves under water stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(10):1964-1971.
- [29] 刘传平,郑爱珍,田娜,等. 外源 GSH 对青菜和大白菜镉毒害的缓解作用[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(4):26-30.
- LIU Chuan-ping, ZHENG Ai-zhen, TIAN Na, et al. Alleviation of glutathione on cadmium toxicity of *Brassica chinensis* L. and *Brassica pekinensis* Rupr.[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2004, 27(4):26-30.
- [30] 赵娟,施国新,徐勤松,等. 外源谷胱甘肽(GSH)对水鳖 Zn²⁺毒害的缓解作用[J]. 热带亚热带植物学报, 2006, 14(3):213-217.
- ZHAO Juan, SHI Guo-xin, XU Qin-song, et al. Alleviatory effect of exogenous glutathione(GSH) on hydrocharis dubia toxicated by Zn²⁺[J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2006, 14(3):213-217.
- [31] Tausz M, Sircelj H, Grill D. The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: Is a stress-response concept valid[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(404):1955-1962.
- [32] Shao H B, Chu L Y, Jaleel C A, et al. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2008, 331(3):215-225.