

李亮, 辛在军, 王玺洋, 等. 褪黑素对镉胁迫下紫苏根系特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(2): 257–266.

LI L, XIN Z J, WANG X Y, et al. Effects of exogenous melatonin on root characteristics of *Perilla frutescens* under cadmium stress[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2022, 41(2): 257–266.

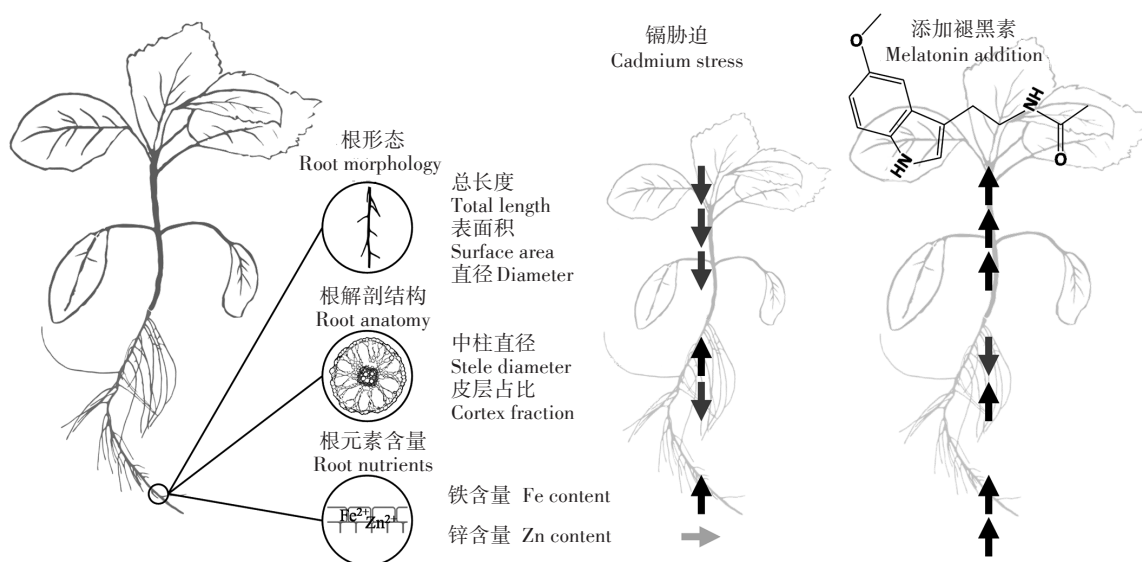


开放科学 OSID

褪黑素对镉胁迫下紫苏根系特征的影响

李亮^{1,2}, 辛在军^{1,2}, 王玺洋^{1,2}, 李晓晖^{1,2}, 孙小艳^{1,2*}

(1. 江西省科学院微生物研究所, 南昌 330096; 2. 江西省重金属污染生态修复工程技术研究中心, 南昌 330096)



摘要:为揭示根系在褪黑素缓解植物镉胁迫效应中的作用,利用水培实验探讨了外源褪黑素对不同浓度镉处理(0、2、10 mg·kg⁻¹)下紫苏(*Perilla frutescens*)生长、根系形态及解剖结构、镉及相关必需元素含量等的影响。结果显示:镉处理显著抑制了紫苏地上部生长,未造成紫苏根系生物量显著改变,但根系形态和解剖结构发生显著变化,长度变短、直径变粗、表面积减小、中柱变粗、皮层占横切面的比例降低;低浓度镉处理的紫苏在添加外源褪黑素后,地上部生物量显著提高,根系镉含量和累积量、镉转运系数以及地上部镉含量和累积量显著下降,同时根系长度变长、中柱变细、皮层占比增加,根系中锌和铁的含量显著增加;高浓度镉处理的紫苏在添加外源褪黑素后,镉转运系数和地上部累积量显著降低,根系中锌含量显著增加,但地上部生物量没有增加。研究表明,外源褪黑素可以通过改变紫苏根系形态和解剖结构,同时增加锌和铁元素吸收,降低根系对镉的吸收以及向地上部位的转运,进而缓解镉胁迫对紫苏生长的抑制作用,但缓解作用因紫苏受镉胁迫程度不同而有所差异。

关键词: 镉胁迫; 紫苏; 褪黑素; 根系形态; 解剖结构

中图分类号: X173; S567.219 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2022)02-0257-10 doi:10.11654/jaes.2021-0637

收稿日期: 2021-06-02 录用日期: 2021-09-03

作者简介: 李亮(1984—),男,河北石家庄人,博士,助理研究员,主要从事土壤修复和生态恢复研究。E-mail: 13811250131@126.com

*通信作者: 孙小艳 E-mail: xiaoyan_sun05@163.com

基金项目: 江西省科技创新杰出青年人才项目(20192BCB23026); 江西省科学院杰出青年学者项目(2020-JCQN-02); 江西省中央引导地方科技发展专项资金项目(20192ZDD01001); 江西省科学院协同创新专项普惠制项目(2019-XTPH1-18)

Project supported: Project of Outstanding Young Scientist of Science and Technology Innovation of Jiangxi Province (20192BCB23026); Project of President Youth Funding of Jiangxi Academy of Science (2020-JCQN-02); The National Guided Local Science and Technology Development Project(20192ZDD01001); Jiangxi Academy of Sciences Collaborative Innovation Special Project(2019-XTPH1-18)

Effects of exogenous melatonin on root characteristics of *Perilla frutescens* under cadmium stress

LI Liang^{1,2}, XIN Zaijun^{1,2}, WANG Xiyang^{1,2}, LI Xiaohui^{1,2}, SUN Xiaoyan^{1,2*}

(1. Institute of Microbiology, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330096, China; 2. Jiangxi Engineering and Technology Research Center of Eco-remediation of Heavy Metal Pollution, Nanchang 330096, China)

Abstract: To reveal the role of melatonin-induced root trait variation in alleviating plant cadmium stress, this study recorded the variation in growth, cadmium, and other metal elements contents, as well as morphological and anatomical traits of *Perilla frutescens* roots under different levels of cadmium stress and exogenous melatonin treatments using hydroponic experiments. The results showed that cadmium stress significantly reduced the growth rate of *P. frutescens*. Root biomass did not respond to cadmium stress, but root morphological and anatomical traits were significantly affected by cadmium stress. Cadmium stress resulted in shorter roots, thicker root diameter, reduced root surface area, thicker stele, and a reduction in the proportion of cortex in cross-section. Under exogenous melatonin application with low cadmium stress, the above-ground biomass was significantly increased, and root cadmium accumulation and concentration, translocation, and the content and accumulation of cadmium in above-ground parts were significantly decreased. Concurrently, the root length increased, the stele was thinner, the proportion of cortex in the cross-section increased, and the contents of zinc and iron in roots increased significantly. The application of melatonin under high cadmium stress resulted in decreased cadmium translocation and accumulation in aboveground parts and increased zinc content in roots. However, aboveground biomass did not increase. The results indicate that exogenous melatonin can reduce the absorption and translocation of cadmium in *P. frutescens* and reduce cadmium stress by changing root morphological and anatomical traits, as well as by increasing the absorption of zinc and iron. However, the mitigation effects are affected by the degree of cadmium stress.

Keywords: cadmium stress; *Perilla frutescens*; melatonin; root morphology; anatomical structure

土壤重金属污染是我国面临的严峻环境问题。全国土壤污染状况调查公报显示,我国耕地土壤污染点位超标率为19.4%^[1],其中重金属超标点位占总超标点位的82.8%。以镉为代表的重金属污染耕地面积达 $7.33 \times 10^6 \text{ hm}^2$ ^[2]。镉是植物生长非必需元素,但其在土壤中具有较强的化学活性,易被植物吸收、累积,并通过食物链危害人体健康。高浓度镉胁迫会导致植物体内代谢功能紊乱,细胞内核酸、蛋白质、脂质氧化损伤,抑制植物生长发育,严重时甚至导致植物死亡^[3-4]。因此,降低土壤中镉的含量和活性,提高植物耐镉能力,并降低植物对镉的吸收富集成为农产品安全生产的重要内容。目前,研究人员对土壤酸碱度调节、栽培措施、中微量元素拮抗等技术措施控制植物吸收富集重金属开展了大量研究^[5-6]。其中,利用生长素、细胞分裂素、赤霉素、水杨酸等植物激素调节植物抗重金属能力、调控植物富集重金属特性受到较多的关注^[7-8]。

褪黑素是一种吲哚类小分子化合物,广泛存在于动物、植物及微生物体内。目前对于褪黑素对植物抗逆的作用已开展了较为广泛的研究,褪黑素具有:通过激发抗氧化酶、清除活性氧提高植物抗氧化水平;与脱落酸相互作用,介导气孔运动,保护叶绿素免受降解,提高光合效率;减少重金属和钠盐等有毒化合物的积累;上调防御基因;增强次生代谢物的生物合

成;修饰细胞壁成分,减少细胞损伤等众多机制来增强植物抵抗干旱、高温、重金属、高盐等非生物胁迫的能力^[9]。关于褪黑素提高植物镉胁迫耐受性的研究目前主要关注褪黑素对植物生理特征的作用,如褪黑素通过调节螯合素的生物合成、液泡隔离和抗氧化酶水平减轻镉对番茄(*Solanum lycopersicum*)的毒害^[10],通过清除过量累积的活性氧,并抑制镉吸收和转运相关的基因表达减少镉胁迫对小白菜(*Brassica chinensis*)^[11]和油菜(*Brassica napus*)的毒害^[12],通过增加可溶性蛋白、脯氨酸、酚类化合物等增强锦葵(*Malva parviflora*)对镉胁迫的耐受能力^[13]。由于一些植物必需的营养元素(如锌、铁、锰)与镉有相同的转运蛋白^[14],褪黑素对镉转运体的调节是否会影响其他营养元素的吸收,目前还未有相关研究。此外,褪黑素对植物形态建成,特别是根系形态构建有显著的调控作用^[15],而植物根系的形态和解剖结构对镉的吸收和转运有重要作用^[16],但褪黑素对根系形态构建的调控如何影响植物对镉胁迫的耐受性还不清楚,明确这一问题将为植物品种筛选和培育提供重要参考依据。

紫苏(*Perilla frutescens*)为唇形科紫苏属一年生草本植物,在我国各地均有栽培,植株和籽油具有食用和药用价值。有研究表明,紫苏在镉胁迫下生物量显著降低,且叶片具有一定的镉富集能力^[17],但油用紫苏其籽油中镉、铅等重金属含量极低^[18]。肖清铁

等^[5]探讨了不同栽培措施对镉胁迫下紫苏生长和镉累积的影响,但植物激素对镉胁迫下紫苏生长、根系形态、镉累积等方面的影响还未见报道。本研究以紫苏为实验材料,利用水培实验,探讨外源褪黑素对不同浓度镉胁迫下紫苏根系形态构建及镉和相关必需元素吸收和累积的影响,并深入分析以上根系特征在褪黑素缓解植物镉胁迫中的调节作用,为重金属污染耕地植物安全利用提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

选取饱满且大小一致的紫苏种子,用10%(V:V)的双氧水消毒20 min,去离子水冲洗2遍,25℃下萌发,7 d后将幼苗移植到黑色不透光水培盒(容量800 mL)中继续培养,每盒3株,1/2 Hoagland 培养液培养。调节营养液pH为5.8~6.0,培养7 d后换全营养液继续培养7 d,以待后续处理。

1.2 实验设计

在设置实验处理前参考相关研究^[19-20]开展预实验,对长势一致的紫苏植株进行5个浓度(0、5、10、20、50 mg·L⁻¹)的镉处理,以及4个浓度(0、1、10、50 μmol·L⁻¹)的外源褪黑素处理。通过观察地上部和根系的生长情况发现,紫苏地上部生长在5 mg·L⁻¹和10 mg·L⁻¹的镉处理下已经受到显著抑制,分别添加10 μmol·L⁻¹和50 μmol·L⁻¹的褪黑素处理后,根系形态有显著变化,但对地上部长势均无显著影响,两个褪黑素处理间无显著差异,添加1 μmol·L⁻¹的褪黑素处理对根系形态和地上部生长均无显著影响。在20 mg·L⁻¹和50 mg·L⁻¹的镉处理下紫苏叶片萎蔫、根系发黑,地上部和根系基本停止生长。在未添加镉处理下,添加1 μmol·L⁻¹的褪黑素对紫苏地上部和根系生长均无显著影响,添加10 μmol·L⁻¹和50 μmol·L⁻¹的褪黑素对紫苏地上部无显著影响,但根系形态显著改变,且50 μmol·L⁻¹的褪黑素处理对紫苏根系的生物量有显著的抑制作用。

根据以上预实验结果,正式实验去掉了5、20 mg·L⁻¹和50 mg·L⁻¹的镉处理,设置了一个更低浓度的镉处理以探讨外源褪黑素能否对低浓度镉胁迫下紫苏地上部的生长产生显著效应,最终镉胁迫处理设置为:不添加、添加2 mg·L⁻¹(低浓度)和添加10 mg·L⁻¹(高浓度)的氯化镉。考虑到1 μmol·L⁻¹的褪黑素处理对紫苏生长作用不显著,而50 μmol·L⁻¹的褪黑素对紫苏根系生长有抑制作用,正式实验中仅设置了2

个外源褪黑素处理,即不添加和添加10 μmol·L⁻¹的褪黑素。褪黑素和镉胁迫两因素共6个实验处理分别记为:MtCd₀(不添加褪黑素、不添加镉)、Mt₁₀Cd₀(添加褪黑素、不添加镉)、MtCd₂(不添加褪黑素、低浓度镉)、Mt₁₀Cd₂(添加褪黑素、低浓度镉)、MtCd₁₀(不添加褪黑素、高浓度镉)以及Mt₁₀Cd₁₀(添加褪黑素、高浓度镉)。选择长势一致的植株开始实验处理,每个处理12株。对有褪黑素处理的植株,为使褪黑素充分发挥对根系的调控作用,提前3 d添加褪黑素进行预处理,之后每3 d更换一次营养液并同时添加相应浓度的褪黑素和镉,连续培养14 d后取样分析。水培实验在光照培养箱中进行,光照强度为200~250 μmol·m⁻²·s⁻¹,光周期为14 h光照/10 h黑暗,温度为光照25℃/黑暗22℃,湿度为75%。

1.3 取样和指标测定

取样时先将每株紫苏根系用0.5 mmol·L⁻¹氯化钙溶液浸泡10 min,再用去离子水冲洗2遍,去除吸附于根系表面的镉离子后进行取样。随机选择6株植株,分为地上部和根系,65℃烘干48 h后称质量,计算单株生物量。从剩余的6株植株中随机选取10条约10 cm长的根段放入FAA固定液保存,从每条根段随机选取3个位置进行石蜡切片(横切)和番红固绿染色,用显微镜观察并拍照,利用ImageJ(National Institutes of Health, USA)和RootScan^[21]软件提取出皮层厚度、中柱直径、皮层细胞层数、皮层细胞大小、皮层占比(面积占横切面积的比例)以及皮层通气组织占比(面积占皮层面积的比例)等数据。剩下的根系用扫描仪(EPSON V600)以400 ppi分辨率扫描根系,利用根系分析软件(WinRhizo pro, Regent Instruments, Canada)分析图片,计算根系长度和平均直径。同时将扫描后的根进行烘干称质量,计算生物量,并结合根系长度和直径数据计算得到比根长和比表面积等根形态指标。烘干称质量后的紫苏地上部及根系样品经研磨后分别称取0.200 g(精确至0.001 g),加入消煮液($V_{\text{HNO}_3}:V_{\text{HClO}_4}=4:1$),在微波消煮仪(MDS-8GQ)中控温消煮至透明澄清,定容至50 mL后利用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测定镉、锌、铜、铁、镁浓度^[22]。镉转运系数=紫苏地上部镉含量(mg·kg⁻¹)/根系镉含量(mg·kg⁻¹)。

1.4 数据分析

利用统计软件PASW Statistics 18进行数据分析,对添加褪黑素和镉对紫苏地上部和根系生长和形态指标变异的作用进行方差分析,利用LSD多重检验比

较各指标在处理之间的差异。

2 结果与分析

2.1 紫苏生物量

本研究以单株的地上和地下生物量变化衡量镉对紫苏生长的胁迫作用及褪黑素对紫苏镉胁迫的缓解效应,结果见图1。低浓度和高浓度镉处理均显著抑制了紫苏地上部生物量($P<0.05$), $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Mt_0Cd_2)和 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉处理($\text{Mt}_0\text{Cd}_{10}$)下紫苏地上部生物量比不添加镉处理(Mt_0Cd_0)分别降低55.7%和60.4%。而两个浓度的镉处理对地下根系生物量的抑制作用不显著($P>0.05$)。低浓度镉胁迫下添加褪黑素处理($\text{Mt}_{10}\text{Cd}_2$)的紫苏地上部生物量比不添加褪黑素处理(Mt_0Cd_2)显著增加了106.7%($P<0.05$),高浓度镉胁迫下的紫苏地上部生物量以及所有镉处理的根系生物量在添加褪黑素后没有显著变化($P>0.05$)。表明褪黑素对紫苏镉胁迫的缓解效应与镉的浓度有关,褪黑素可以缓解低浓度镉对紫苏地上部生长的抑制,但未能缓解高浓度镉胁迫下的紫苏生长抑制。

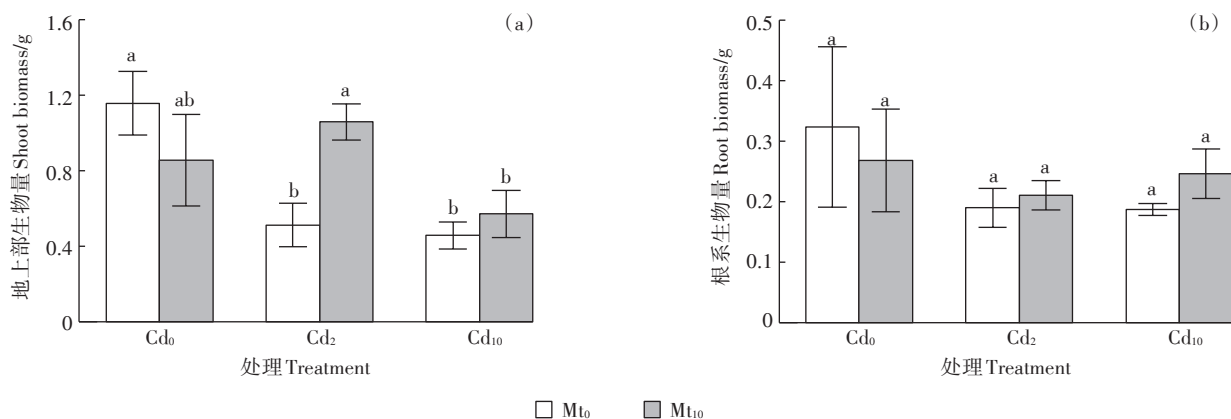
2.2 紫苏镉含量和镉累积量

阐明紫苏不同器官的镉含量和累积特征是探讨褪黑素缓解紫苏镉胁迫机制的基础。低浓度镉胁迫下添加外源褪黑素后($\text{Mt}_{10}\text{Cd}_2$)紫苏地上部镉含量、根系镉含量、地上部镉累积量、根系镉累积量以及镉转运系数分别比未添加褪黑素处理(Mt_0Cd_2)显著降低了70.7%、59.4%、38.8%、55.8%和27.8%($P<0.05$,图2),表明褪黑素缓解紫苏低浓度镉胁迫的作用与其对镉吸收和转运过程的抑制有关。高浓度镉胁迫($\text{Mt}_0\text{Cd}_{10}$)下紫苏地上部和根系镉含量分别是低浓度

镉处理(Mt_0Cd_2)的5.0倍和2.9倍,添加褪黑素后($\text{Mt}_{10}\text{Cd}_{10}$)地上部镉含量和镉累积量分别比未添加褪黑素处理($\text{Mt}_0\text{Cd}_{10}$)显著降低58.1%和46.9%($P<0.05$,图2a、图2c),但仍高于低浓度镉胁迫(Mt_0Cd_2)下的镉含量($P<0.05$),这可以解释为何褪黑素能够显著降低高浓度镉胁迫下地上部镉含量,但紫苏地上部生长依然受到抑制(图1a)。高浓度镉胁迫下添加褪黑素后($\text{Mt}_{10}\text{Cd}_{10}$)根系镉含量和镉累积量以及紫苏整株的镉累积量与未添加褪黑素处理($\text{Mt}_0\text{Cd}_{10}$)相比未发生显著变化($P>0.05$),但转运系数显著降低($P<0.05$),表明高浓度镉胁迫下褪黑素仍抑制了镉向紫苏地上部的转运。

2.3 紫苏根系形态

根系形态变化会影响紫苏对镉和营养元素的吸收。低浓度和高浓度镉处理使单株紫苏的根系总长度及表面积显著降低(图3),根系平均直径变粗($P<0.05$),而比根长、比表面积及根尖数等形态指标没有显著变化($P>0.05$)。与不添加镉处理(Mt_0Cd_0)相比,添加 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Mt_0Cd_2)和 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 镉处理($\text{Mt}_0\text{Cd}_{10}$)的根系总长度分别降低23.8%和22.9%,根系表面积分别降低35.4%和22.4%,根系平均直径分别增加21.4%和19.6%,表明镉胁迫降低了紫苏根系的吸收能力,有助于减少紫苏对镉的吸收,但同时也会减少必需营养元素(如铁)的吸收,导致其地上部生长受到抑制。褪黑素改变了镉胁迫下紫苏根系形态,低浓度镉胁迫下添加褪黑素处理($\text{Mt}_{10}\text{Cd}_2$)的根系长度和表面积比不添加褪黑素处理(Mt_0Cd_2)分别显著升高40.1%和54.8%($P<0.01$),根系平均直径降低9.2%($P<0.05$),说明褪黑素的添加增强了根系吸收能力,



不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同
Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below

图1 紫苏生物量对镉和褪黑素的响应

Figure 1 Growth response of *P. frutescens* to cadmium and melatonin

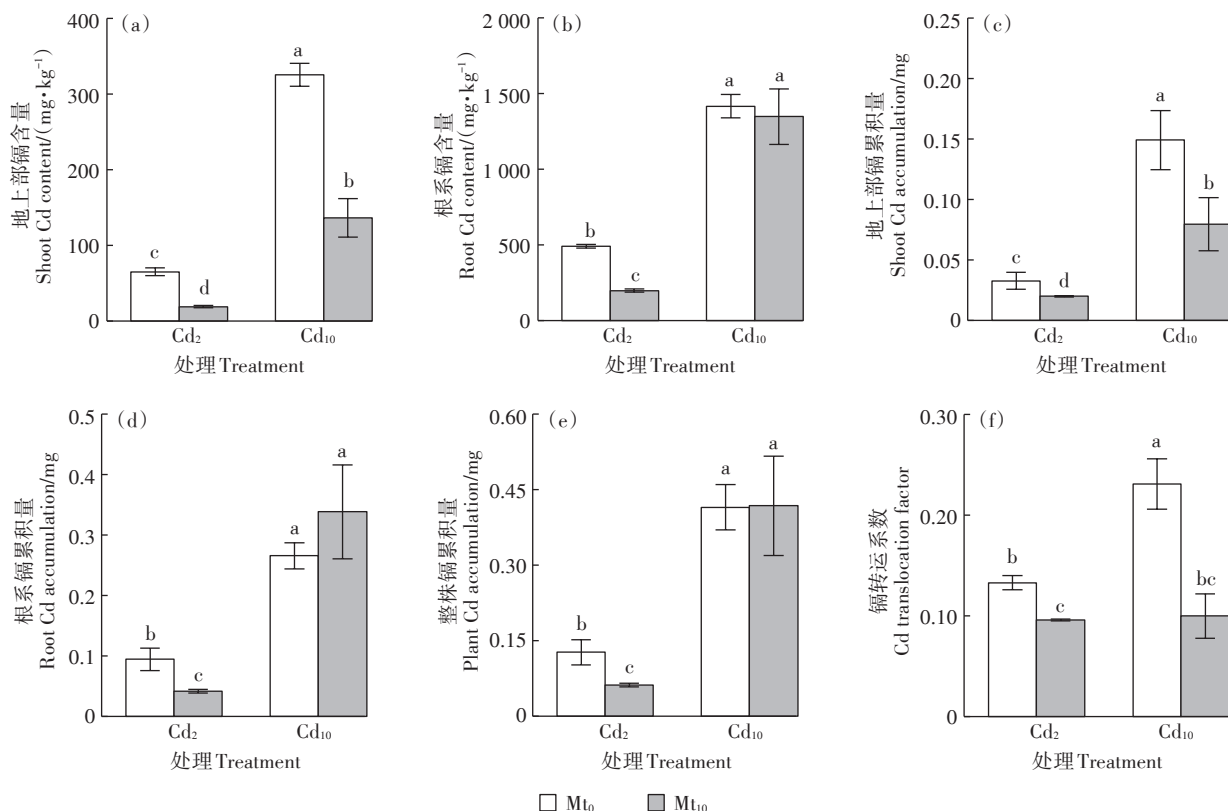


图2 镉胁迫下添加褪黑素对镉在紫苏体内转运和累积的影响

Figure 2 Effects of adding melatonin under cadmium stress on the translocation and accumulation of cadmium in *P. frutescens*

但在提高养分吸收的同时也增加了镉吸收的风险。同时,褪黑素对紫苏根系形态的作用受镉浓度的影响,高浓度镉胁迫下的根系长度、表面积及平均直径在添加褪黑素后没有显著变化($P>0.05$)。此外,褪黑素对不同镉处理的比根长、比表面积以及根尖数没有显著影响($P>0.05$)。

2.4 紫苏根系解剖结构

解剖结构可以反映根系的吸收和转运能力。低浓度和高浓度镉处理下紫苏根皮层占横切面比例显著降低($P<0.05$,图4)。与不添加镉处理(Mt₀Cd₀)相比,添加2 mg·L⁻¹ (Mt₀Cd₂)和10 mg·L⁻¹ 镉处理(Mt₀Cd₁₀)的根中柱直径分别增加63.4%和25.7%,皮层占比分别降低5.9%和5.0%。以上变化表明根系在镉胁迫下向地上部传输镉的能力提高,是减少镉对根系伤害的适应性响应,但同时也增加了镉在地上部的累积。此外,高浓度镉胁迫还使皮层通气组织的占比降低以及皮层细胞层数增加($P<0.05$),与不添加镉处理(Mt₀Cd₀)相比,添加10 mg·L⁻¹ 镉处理(Mt₀Cd₁₀)的根皮层通气组织占比降低了70.6%,皮层细胞层数增加15%,这不利于水培条件下紫苏根系对低氧环境的适应。褪黑素也导致镉胁迫下紫苏根系解剖结构的变

化,低浓度和高浓度镉胁迫下添加褪黑素(Mt₁₀Cd₂和Mt₁₀Cd₁₀)使皮层占比分别比未添加褪黑素处理(Mt₀Cd₂和Mt₀Cd₁₀)显著提高2.8%和3.1%($P<0.05$)。低浓度镉胁迫下褪黑素对皮层占比的影响可能与褪黑素使镉胁迫处理下的根中柱直径降低($P<0.05$,图4b)有关,即降低了根系向地上部传输镉的能力。此外,高浓度镉胁迫下添加褪黑素(Mt₁₀Cd₁₀)与未添加褪黑素处理(Mt₀Cd₁₀)相比,皮层通气组织占比显著提高($P<0.05$),从而提高了根系对水培条件下低氧环境的适应性。

2.5 紫苏微量元素含量

其他微量元素会影响根系对镉的吸收,不同处理下紫苏微量元素含量见表1。低浓度镉胁迫(Mt₀Cd₂)与未添加镉处理(Mt₀Cd₀)相比,紫苏地上部和根系中铁含量分别显著降低38.7%和29.3%($P<0.05$),而地上部和根系中锌、镁、铜含量未发生显著变化($P>0.05$)。添加褪黑素后(Mt₁₀Cd₂),与未添加褪黑素处理(Mt₀Cd₂)相比,地上部铁和镁含量分别显著增加72.2%和44.9%($P<0.05$),根系锌和铁含量分别显著增加117.9%和159.9%($P<0.05$),而地上部锌和铜含量以及根系镁和铜含量未发生显著变化($P>0.05$)。

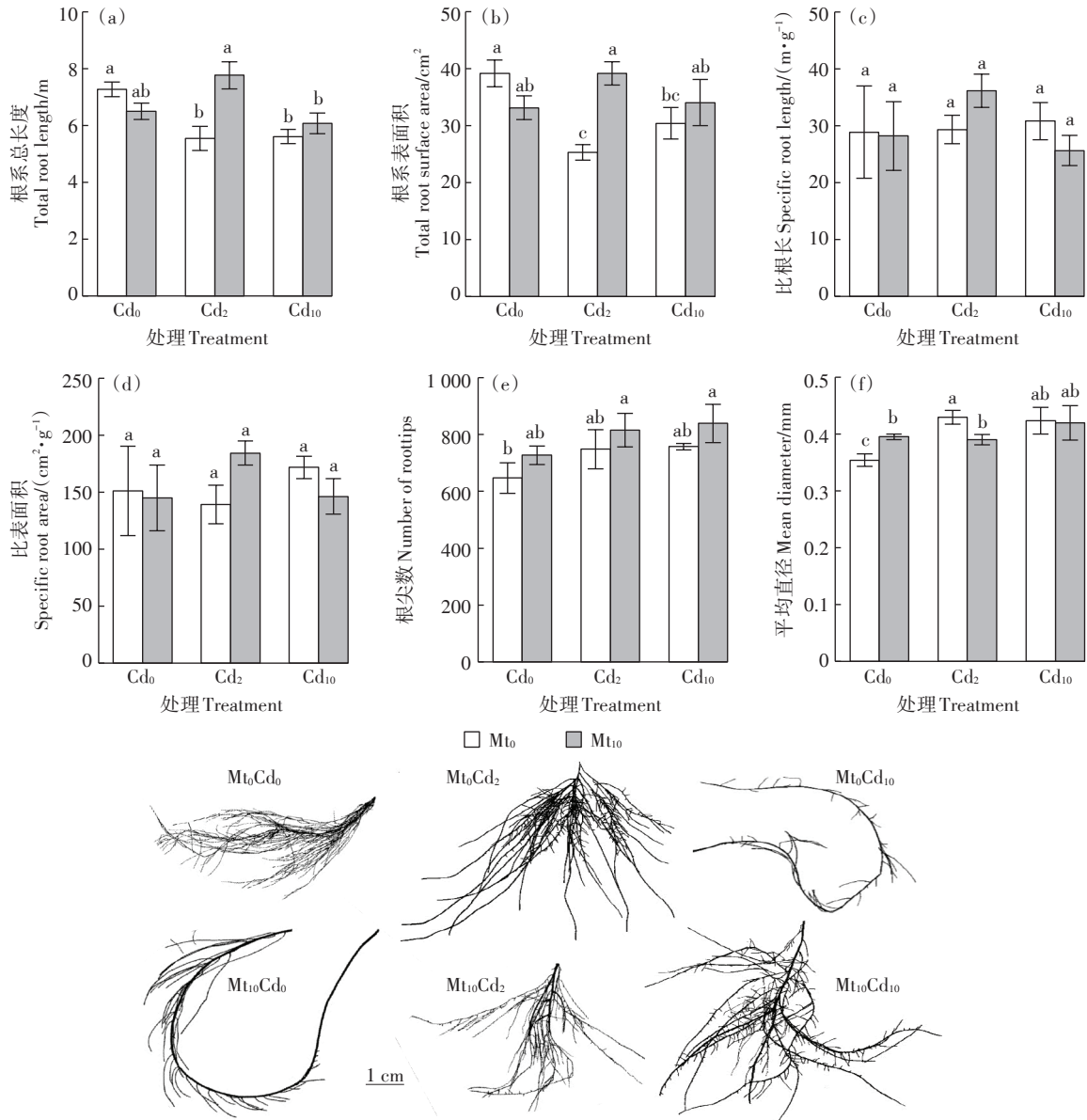


图3 紫苏根系形态对镉和褪黑素的响应

Figure 3 Response of *P. frutescens* root morphology to cadmium and melatonin

表1 紫苏中微量元素对添加镉和褪黑素的响应(mg·kg⁻¹)

Table 1 Responses of microelements in *P. frutescens* to cadmium and melatonin additions(mg·kg⁻¹)

部位 Part	元素 Element	Cd ₀		Cd ₂		Cd ₁₀	
		Mt ₀	Mt ₁₀	Mt ₀	Mt ₁₀	Mt ₀	Mt ₁₀
地上部 Shoot	锌	100.7±7.2a	77.4±7.7a	95.0±9.6a	95.2±4.6a	108.3±7.4a	78.9±10.4a
	铁	143.9±7.9a	156.4±16.8a	88.2±1.6b	151.9±7.9a	86.4±8.5b	87.3±6.9b
	镁	3 076.9±283.8b	3 678.6±302.7ab	3 012.7±188.2b	4 365.8±27.2a	3 266.5±202.5ab	3 468.7±202.4ab
	铜	4.8±1.0a	5.2±1.7a	4.2±0.6a	7.8±2.3a	3.5±0.4a	3.2±0.9a
根系 Root	锌	87.8±8.8d	151.9±13.7c	104.3±7.5d	227.3±7.6b	171.6±5.3bc	403.3±43.0a
	铁	2 177.0±580.6b	4 332.3±606.1a	1 538.3±235.8b	3 998.7±166.2a	2 603.4±181.1b	4 112.2±448.1a
	镁	3 756.3±341.8a	3 717.3±185.7a	2 990.8±190.5a	3 646.0±70.9a	3 337.1±37.0a	3 704.9±513.9a
	铜	5.8±0.3c	9.8±0.9ab	8.4±0.1bc	10.0±0.5ab	12.8±1.2a	10.6±1.3ab

注:不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences among treatments(P<0.05).

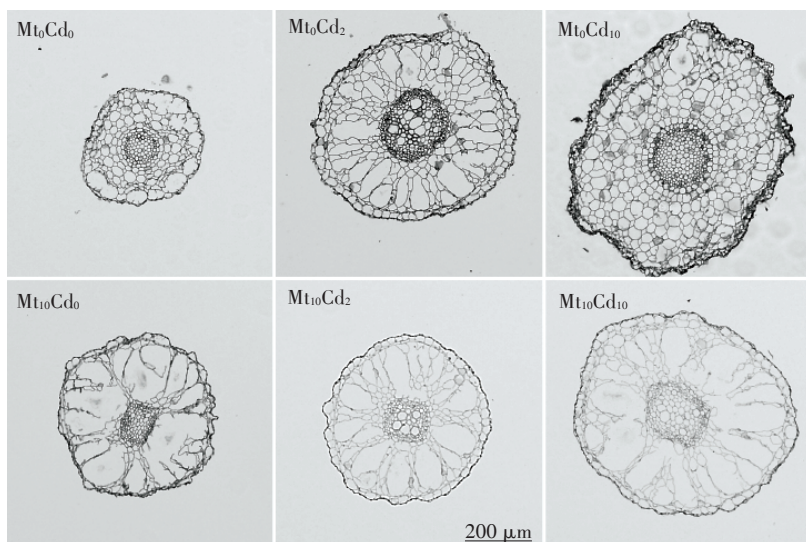
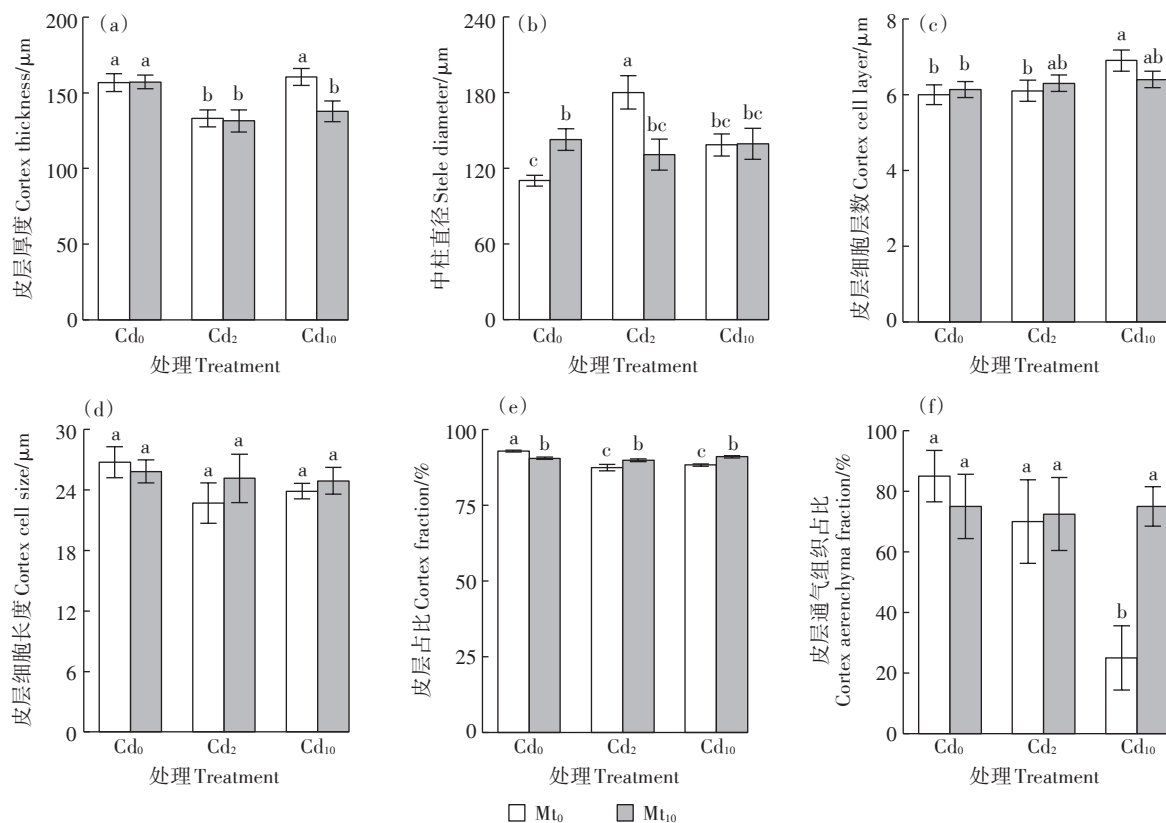


图4 紫苏根系解剖结构对镉和褪黑素的响应

Figure 4 Response of *P. frutescens* root anatomy to cadmium and melatonin

表明低浓度镉胁迫抑制了紫苏根系对铁的吸收,而褪黑素可以缓解镉胁迫对铁吸收的抑制作用。同时褪黑素还增加了根系对锌的吸收,通过锌和镉的竞争关系抑制镉的吸收。与未添加镉处理(Mt₀Cd₀)相比,高浓度镉胁迫(Mt₀Cd₁₀)下紫苏地上部铁含量显著降低40.0% ($P<0.05$),根系锌和铜含量分别显著升高

95.4%和120.7% ($P<0.05$)。与未添加褪黑素处理(Mt₀Cd₁₀)相比,添加外源褪黑素后(Mt₁₀Cd₁₀)根系锌含量显著升高135.0% ($P<0.05$),而地上部锌、铁、镁和铜含量以及根系铁、镁和铜含量均未发生显著变化 ($P>0.05$),表明褪黑素未能缓解高浓度镉胁迫对铁吸收的抑制作用,同时,尽管褪黑素提高了高浓度镉胁迫

迫下根系对锌的吸收,但未能抑制根系对镉的吸收。

3 讨论

重金属镉是植物非必需元素,植物受到镉胁迫后生长发育会受到影响。本研究表明,低浓度和高浓度镉胁迫均对紫苏地上部的生长产生了显著的抑制作用。这一结果与镉胁迫对小麦、玉米、水稻等作物生长的影响一致^[23-26]。此外根系形态和解剖结构以及微量元素含量也受到显著影响。本研究中镉胁迫并未造成紫苏根系生物量的显著降低(图1b),因此紫苏根系长度和表面积降低,会造成根系其他特征的变化,如根系直径变粗(图3f)、中柱直径变粗(图4b)、皮层占比降低(图4e)。中柱是主要负责水分和养分向上传输的组织,其直径及横切面占比与根系传导能力呈正相关^[27-28],而根系总长度、表面积和皮层占横切面比例的降低则反映出根系吸收能力的下降^[29]。紫苏根系对镉胁迫的综合响应表明根系在降低吸收能力的同时增加传导能力,以此来减弱过量的镉对植物根系的胁迫作用。然而,根系对镉胁迫的适应性调整可能会造成过量的镉对地上部的生长抑制(图1a),同时也可能会影响紫苏对其他必需元素的吸收和转运,如铁含量在镉胁迫下显著降低(表1)。

外源褪黑素可通过改变紫苏根系形态和解剖结构,进而缓解镉胁迫对紫苏地上部生长的抑制。一方面,褪黑素通过降低根系中柱直径(图4b)、提高皮层占比(图4e)、减少皮层通气组织占比(图4f),增加了镉从外皮层向中柱鞘径向运输的阻力^[30],从而减少镉向地上部的转运(图2f),缓解镉对地上部的抑制和伤害,促进地上部的生长(图1a)。另一方面,褪黑素使紫苏根变细(图3b)、根系总长度变长(图3a),而皮层厚度、皮层细胞层数以及细胞大小均未受到显著影响(图4),可以推断根系皮层细胞数量增加,在一定程度上降低了皮层细胞中镉的相对含量,从而减弱镉对根系的伤害。值得注意的是,在低浓度镉胁迫下,褪黑素通过调控根系形态变化缓解镉胁迫伤害的效应较高浓度镉胁迫更加明显。在高浓度镉胁迫下,虽然褪黑素降低了中柱直径(图4b),提高了根系皮层的占比(图4e),降低了镉向地上部的转运及累积,但根系镉含量和累积量并未降低,地上部的镉含量过高(图2),依然使紫苏生长受到抑制(图1)。受实验处理设置的限制,本研究目前未能确定适度增加外源褪黑素的浓度是否能进一步降低紫苏各器官镉含量,同时缓解高浓度镉胁迫对紫苏地上部生长的抑制。

虽然根系形态和解剖结构对褪黑素的响应可以减少紫苏地上部和根系的镉含量,但添加褪黑素后根系总长度和表面积的增加并不利于减少根系吸收镉的总量,而外源褪黑素对根系锌和铁等微量元素的调控可能是降低其对镉吸收的潜在影响因素。植物根系中的锌可以加速吡啶类物质的分解^[31],因此添加褪黑素(吡啶类)导致紫苏根系中锌含量增加(表1),这可能是紫苏为降低根系中相对较高的外源褪黑素含量做出的适应性调整。锌和镉的化学性质相似,在根表面有类似的吸收位点,植物根系对两种元素的吸收存在权衡关系,即负相关关系^[32]。有研究表明,添加锌肥可以抑制植物对镉的吸收^[6,33]。因此,本研究中,在低浓度镉胁迫下添加褪黑素导致紫苏根系中锌含量增加也可能是造成紫苏根系及地上部镉含量降低的重要原因之一。低浓度的镉胁迫也造成紫苏根系及地上部铁含量的降低(表1),铁元素是叶绿素形成不可缺少的条件,因此叶片中铁含量的减少可能导致叶绿素含量及地上生物量降低,而添加褪黑素后地上部生物量的恢复也可能与铁元素含量的增加有密切关系。此外,锌、铁和镉在进入一些植物根系皮层时共用相同的转运蛋白^[34],相关研究也表明外源褪黑素可以调控转运蛋白相关基因的表达^[11,35-36],其是否可以抑制紫苏根系镉吸收相关的转运蛋白的合成,以及根系中锌、铁含量的增加和镉含量的降低是不是由竞争相同的转运蛋白而引起,这些分子调控机制还有待进一步研究。

根系是紫苏响应镉胁迫的重要器官,其形态及解剖结构改变,会影响锌、铁等微量元素的吸收和累积,这些适应性调整对植物抵御镉胁迫起重要作用。低浓度镉胁迫下,外源褪黑素通过增加根系长度和表面积促进根系对锌和铁的吸收,降低根系对镉的吸收及其向地上部的转运,进而缓解镉对地上器官的伤害及对地上部生长的抑制;在高浓度镉胁迫下,外源褪黑素抑制了镉从根系向地上部的转运,降低了地上部镉含量,说明褪黑素通过调控镉胁迫下植物对重金属离子的吸收和转运,降低镉向地上部的运输,缓解植物镉胁迫毒害效应。需要注意的是,本研究提出的外源褪黑素通过调控根系形态、解剖结构以及微量元素含量从而缓解植物镉胁迫机制的普遍性仍需要通过其他种类的植物进行验证,同时本研究讨论的一些根系特征指标与镉吸收和转运的定量关系,如镉胁迫下根系总长度与根系对营养元素和镉吸收能力、根中柱直径或横切面占比与镉转运能力、根系锌和铁含量与镉

吸收能力等的直接证据,仍需更多实验数据的支撑,以进一步确定褪黑素通过调控根系特征缓解植物镉胁迫的机制。

4 结论

(1)镉胁迫对紫苏地上部生物量产生了显著的抑制作用,但对紫苏根系生物量影响不显著。根系对镉胁迫的响应主要体现在形态和解剖结构方面。

(2)添加外源褪黑素可以通过改变紫苏根系形态和解剖结构,同时促进根系对锌和铁等微量元素的吸收,降低根系对镉的吸收及向地上部的转运,缓解镉对地上部生长的抑制,但缓解作用因紫苏受镉胁迫程度不同而有所差异。

参考文献:

- [1] 环境保护部,国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[R]. 北京:生态环境部,自然资源部,2014. Ministry of Environmental Protection, Ministry of Land and Resources. Bulletin of national soil contamination survey[R]. Beijing: Ministry of Ecology and Environment, Ministry of Natural Resources, 2014.
- [2] 国土资源部中国地质调查局. 中国耕地地球化学调查报告[R]. 北京:自然资源部中国地质调查局,2015. China Geological Survey, Ministry of Land and Resources. Survey report of cultivated land geochemistry in China[R]. Beijing: China Geological Survey, Ministry of Natural Resources, 2015.
- [3] DAS P, SAMANTARAY S, ROUT G R. Studies on cadmium toxicity in plants: A review[J]. *Environmental Pollution*, 1997, 98(1): 29-36.
- [4] ANDRESEN E, KÜPPER H. Cadmium toxicity in plants[M]//SIGEL A, SIGEL H, SIGEL R. Cadmium: From toxicity to essentiality, Dordrecht: Springer, 2013: 395-413.
- [5] 肖清铁,郑新宇,韩永明,等. 不同栽培措施对紫苏镉富集能力的影响[J]. 福建农业学报, 2018, 33(7): 724-731. XIAO Q T, ZHENG X Y, HAN Y M, et al. Cd-uptake of *Perilla frutescens* (L.) Britt as affected by cultivation conditions[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 33(7): 724-731.
- [6] 龙思斯,杨益新,宋正国,等. 三种类型阻控剂对不同品种水稻富集镉的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2016, 33(5): 459-465. LONG S S, YANG Y X, SONG Z G, et al. Effects of three inhibitors on the accumulation of cadmium in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2016, 33(5): 459-465.
- [7] 陈晶,庞思琪,赵秀兰. 外源生长素对镉胁迫下玉米幼苗生长及抗氧化系统的影响[J]. 植物生理学报, 2016, 52(8): 1191-1198. CHEN J, PANG S Q, ZHAO X L. Effects of exogenous auxins on growth and antioxidation system in maize seedlings under cadmium stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2016, 52(8): 1191-1198.
- [8] 陈华,陈永快,王涛,等. 水杨酸对镉胁迫下不结球白菜幼苗生长及生理的响应[J]. 福建农业学报, 2020, 35(12): 1321-1329. CHEN H, CHEN Y K, WANG T, et al. Effects of salicylic acid on growth and physiology of non-heading Chinese cabbage seedlings under cadmium stress[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35(12): 1321-1329.
- [9] SUN C, LIU L, WANG L, et al. Melatonin: A master regulator of plant development and stress responses[J]. *Journal of Integrative Biology*, 2021, 63(1): 126-145.
- [10] HASAN M K, AHAMMED G J, YIN L, et al. Melatonin mitigates cadmium phytotoxicity through modulation of phytochelatin biosynthesis, vacuolar sequestration, and antioxidant potential in *Solanum lycopersicum* L.[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 601.
- [11] 刘自力,黄一凡,朱正波,等. 叶面喷施褪黑素对小白菜幼苗镉耐受性的影响[J]. 植物生理学报, 2018, 54(4): 660-668. LIU Z L, HUANG Y F, ZHU Z B, et al. Effects of foliar feeding of melatonin on cadmium tolerance of Chinese cabbage seedlings[J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(4): 660-668.
- [12] SAMI A, SHAH F A, ABDULLAH M, et al. Melatonin mitigates cadmium and aluminium toxicity through modulation of antioxidant potential in *Brassica napus* L.[J]. *Plant Biology*, 2020, 22: 679-690.
- [13] TOUSI S, ZOUFAN P, RAHNAMA A. Alleviation of cadmium-induced phytotoxicity and growth improvement by exogenous melatonin pretreatment in mallow (*Malva parviflora*) plants[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 206(12): 111403.
- [14] SASAKI A, YAMAJI N, YOKOSHO K, et al. *Nramp5* is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice[J]. *The Plant Cell*, 2012, 24(5): 2155-2167.
- [15] 臧祎娜,张德闪,李海港,等. 褪黑素调控根系生长和根际互作的机制研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(4): 671-682. ZANG Y N, ZHANG D S, LI H G, et al. Progress in mechanism of melatonin regulation of root growth and rhizosphere interactions[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2019, 25(4): 671-682.
- [16] HUANG L, LI W C, TAM N F Y, et al. Effects of root morphology and anatomy on cadmium uptake and translocation in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 75: 296-306.
- [17] 谢惠玲,陈爱萍,张凤英,等. 紫苏对不同浓度镉胁迫的生理响应[J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(3): 672-675. XIE H L, CHEN A P, ZHANG F Y, et al. Physiological response of *Perilla frutescens* (L.) Britt. to cadmium[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2011, 19(3): 672-675.
- [18] 江波,黄建华. 应用 ICP-MS/MS 准确测定紫苏籽油中的重金属元素[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(1): 125-130. JIANG B, HUANG J H. Accurately determination the heavy metal elements in *Perilla* seed oil applying ICP-MS/MS[J]. *Journal of the Chinese Cereal and Oils Association*, 2019, 34(1): 125-130.
- [19] 刘仕翔,黄益宗,罗泽娇,等. 外源褪黑素处理对镉胁迫下水稻种子萌发的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(6): 1034-1041. LIU S X, HUANG Y Z, LUO Z J, et al. Effects of exogenous melatonin on germination of rice seeds under Cd stresses[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(6): 1034-1041.
- [20] 黄科文,林立金,王均,等. 不同浓度褪黑素对豆瓣菜镉积累的影响[J]. 华北农学报, 2019, 34(4): 140-147. HUANG K W, LIN L J, WANG J, et al. Effects of different concentrations of melatonin on cad-

- mium accumulation of *Nasturtium officinale*[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2019, 34(4):140-147.
- [21] BURTON A L, WILLIAMS M S, LYNCH J P, et al. RootScan: Software for high-throughput analysis of root anatomical traits[J]. *Plant and Soil*, 2012, 357:189-203.
- [22] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社, 2000. BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. Beijing:China Agriculture Press, 2000.
- [23] 汪洪, 赵士诚, 夏文建, 等. 不同浓度镉胁迫对玉米幼苗光合作用、脂质过氧化和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(1):36-42. WANG H, ZHAO S C, XIA W J, et al. Effect of cadmium stress on photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) seedlings[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2008, 14(1):36-42.
- [24] 王慧忠, 何翠屏, 赵楠. 镉对草坪植物生长特性及生物量的影响[J]. 草业科学, 2003, 20(5):32-34. WANG H Z, HE C P, ZHAO N. The effect of cadmium on turf grass growth characteristics and biomass[J]. *Pratacultural Science*, 2003, 20(5):32-34.
- [25] 秦天才, 阮捷, 王腊娇. 镉对植物光合作用的影响[J]. 环境科学与技术, 2000(增刊1):33-35, 44. QIN T C, RUAN J, WANG L J. Effect of Cd on the plant photosynthesis[J]. *Environmental Science & Technology*, 2000(Suppl 1):33-35, 44.
- [26] LARSSON E H, BORNMAN J F, ASP H. Influence of UV-B radiation and Cd²⁺ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1998, 49(323):1031-1039.
- [27] OLIVERAS I, MARTÍNEZ-VILALTA J, JIMENEZ-ORTIZ T, et al. Hydraulic properties of *Pinus halepensis*, *Pinus pinea* and *Tetraclinis articulata* in a dune ecosystem of eastern Spain[J]. *Plant Ecology*, 2003, 169:131-141.
- [28] RODRÍGUEZ-GAMIR J, INTRIGLIOLO D S, PRIMO-MILLO E, et al. Relationships between xylem anatomy, root hydraulic conductivity, leaf/root ratio and transpiration in citrus trees on different rootstocks[J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, 139(2):159-169.
- [29] GUO D L, XIA M X, WEI X, et al. Anatomical traits associated with absorption and mycorrhizal colonization are linked to root branch order in twenty-three Chinese temperate tree species[J]. *New Phytologist*, 2008, 180(3):673-683.
- [30] MAKSIMOVIĆ I, KASTORI R, KRSTIĆ L, et al. Steady presence of cadmium and nickel affects root anatomy, accumulation and distribution of essential ions in maize seedlings[J]. *Biologia Plantarum*, 2007, 51:589-592.
- [31] 高圣义, 王焕校, 吴玉树. 锌污染对蚕豆 (*Vicia faba* L.) 部分生理生化指标的影响[J]. 中国环境科学, 1992, 12(4):281-284. GAO S Y, WANG H X, WU Y S. The effects of zinc pollution on some physiological and biochemical indexes of *Vicia faba* L. [J]. *China Environmental Science*, 1992, 12(4):281-284.
- [32] 宋敏, 徐文竞, 彭向永, 等. 外源脯氨酸对镉胁迫下小麦幼苗生长的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(1):129-134. SONG M, XU W J, PENG X Y, et al. Effects of exogenous proline on the growth of wheat seedlings under cadmium stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(1):129-134.
- [33] 韩潇潇, 任兴华, 王培培, 等. 叶面喷施锌离子对水稻各器官镉积累特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(8):1809-1817. HAN X X, REN X H, WANG P P, et al. Effects of foliar application with zinc on the characteristics of cadmium accumulation in organs of rice plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(8):1809-1817.
- [34] NEVO Y, NELSON N. The NRAMP family of metal-ion transporters[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 2006, 1763(7):609-620.
- [35] XU L, ZHANG F, TANG M, et al. Melatonin confers cadmium tolerance by modulating critical heavy metal chelators and transporters in radish plants[J]. *Journal of Pineal Research*, 2020, 69:e12659.
- [36] HE J L, ZHUANG X L, ZHOU J T, et al. Exogenous melatonin alleviates cadmium uptake and toxicity in apple rootstocks[J]. *Tree Physiology*, 2020, 40(6):746-761.