

# 铅胁迫下腐植酸对番茄种子萌发及抗氧化系统的影响

马太光<sup>1</sup>, 李海平<sup>1\*</sup>, 郭秀霞<sup>1</sup>, 张瑞腾<sup>1</sup>, 李灵芝<sup>1</sup>, 周可杰<sup>2</sup>

(1. 山西农业大学 园艺学院, 山西 太谷 030801; 2. 新沂市苏蒙肥业有限公司, 江苏 新沂 221400)

**摘要:** [目的]揭示在铅胁迫下腐植酸对番茄种子萌发及抗氧化系统的影响。[方法]本试验通过在 255 mg·L<sup>-1</sup> 铅胁迫条件下,用不同浓度高活性腐植酸对“园帅1号”番茄种子浸种,探究铅胁迫下不同浓度高活性腐植酸对番茄种子萌发的影响。[结果]随着高活性腐植酸稀释浓度的增大,番茄种子的发芽率、发芽指数、活力指数、鲜重、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化酶(POD)活性都逐渐升高,胚根和胚轴逐渐增长,丙二醛(MDA)含量逐渐降低;而高浓度(70倍)的高活性腐植酸稀释液浸种处理,则抑制番茄种子的萌发。[结论]适宜浓度高活性腐植酸浸种对铅胁迫下番茄种子萌发均有不同的缓解效果,其中470倍的高活性腐植酸稀释液作用效果最好。

**关键词:** 腐植酸; 番茄; 铅胁迫

中图分类号: S641.2 文献标识码: A 文章编号: 1671-8151(2016)08-0572-04

## Effects of humic acid on the germination of *Lycopersicon esculentum* Mill seeds and protective system against active oxygen under plumbum Stress

Ma Taiguang<sup>1</sup>, Li Haiping<sup>1\*</sup>, Guo Xiuxia<sup>1</sup>, Zhang Ruiteng<sup>1</sup>, Li Lingzhi<sup>1</sup>, Zhou Kejie<sup>2</sup>

(1. College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2. Xinyi Sumeng Fertilizer Co., Ltd., Xinyi 221400, China)

**Abstract:** [Objective] In order to reveal the effect of humic acid on the germination and antioxidant system of tomato seed under plumbum stress. [Methods] In the condition of 255 mg·L<sup>-1</sup> plumbum stress, 'Yuanshuai No. 1' tomato seeds was soaked with different concentrations of high active humic acid to determined the effects on tomato seed germination under plumbum(255 mg·L<sup>-1</sup>) stress, the effect of different high active humic acid on germination of tomato seed were discussed. [Results] The results showed that tomato seed germination rate, germination index, vigor index, fresh weight, superoxide dismutase (SOD) and per-oxidase (POD) activity increased gradually, the radicle and hypocotyl increased gradually, and the content of malondialdehyde (MDA) decreased gradually. with increase of high active humic acid concentration; while the high concentration(70 times) high active humic acid inhibited seed germination. [Conclusion] Thus, soaked with appropriate concentration of the high active humic acid, tomato seed germination have different mitigation effect under plumbum stress, 470 times is the best.

**Key words:** Humic acid; *Lycopersicon esculentum* Mill; Plumbum stress

随着工业生产的发展,重金属污染土壤、地下水和农作物产量品质的问题越来越突出,城市周边的农田污染尤为严重。汽车尾气及工业污水中的铅是主要的重金属污染物之一<sup>[1]</sup>。铅对土壤、地下水和农作物危害特别大,吸收固定、富集到土壤中的铅会影响种子的萌发及幼苗的生长并产生毒害,

进而对农作物产量和品质造成影响,同时还会危及人的身体健康<sup>[2~6]</sup>。近年来,有关缓解铅胁迫对植物的种子萌发、生理生化的影响已有不少报道<sup>[7,8]</sup>,但腐植酸对铅胁迫下番茄种子影响的研究鲜见报道。腐植酸主要是植物残体经微生物分解转化,以及一系列化学过程形成的一种天然

收稿日期: 2016-04-12

修回日期: 2016-05-07

作者简介: 马太光(1991-),男(汉),山西孝义人,硕士研究生,研究方向: 蔬菜栽培与生理

\* 通讯作者: 李海平,副教授。Tel: 18703545568; E-mail: lihp0205@163.com

基金项目: 山西省科技攻关项目(20130311008-4); 山西农业大学引进人才博士科研启动基金项目(2013YJ23); 山西省农业技术推广示范行动项目(SXNKTG11)

大分子有机物质<sup>[9]</sup>,腐植酸可以络合重金属阳离子,减弱重金属离子移动,缓解重金属胁迫<sup>[10~12]</sup>。本试验将以番茄为材料,研究腐植酸对铅胁迫下番茄种子萌发特性、胚根长、胚轴长和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性以及丙二醛(MDA)含量的影响,探讨腐植酸缓解铅胁迫对植物毒害的机理,为提高蔬菜产量及农业环境保护提供理论依据和实践指导。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

以番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)“园帅1号”品种为试验材料;高活性腐植酸液剂由江苏新沂市苏蒙肥业有限公司提供;化学试剂为分析纯乙酸铅。

### 1.2 试验设计

试验共设置6个处理,详见表1。

表1 试验设计  
Table 1 Test design

处理 Treatment	方法 Methods
CK	去离子水浸种、0 mg·L <sup>-1</sup> 铅处理
T1	去离子水浸种、255 mg·L <sup>-1</sup> 铅处理
T2	稀释70倍高活性腐植酸稀释液浸种、255 mg·L <sup>-1</sup> 铅处理
T3	稀释270倍高活性腐植酸稀释液浸种、255 mg·L <sup>-1</sup> 铅处理
T4	稀释470倍高活性腐植酸稀释液浸种、255 mg·L <sup>-1</sup> 铅处理
T5	稀释670倍高活性腐植酸稀释液浸种、255 mg·L <sup>-1</sup> 铅处理

挑选大小一致的种子,用0.1%的高锰酸钾溶液消毒,然后用去离子水冲洗干净后,分别用不同稀释倍数的高活性腐植酸稀释液剂(70、270、470、670倍)和去离子水浸种6 h(27℃)。在培养皿内垫入2层无菌滤纸作为发芽床,分别加入8 mL 255 mg·L<sup>-1</sup>铅溶液(CK加入8 mL去离子水)使滤纸湿润,再将各处理的番茄种子摆入培养皿中,每皿40粒,重复5次。在人工智能气候培养箱内避光培养(27℃),之后试验过程中隔天轮换添加1~2 mL去离子水和铅溶液。从第2天起开始统计种子发芽数,以根长为2 mm时作为萌芽标志<sup>[13]</sup>,第7天结束试验。计算发芽率、发芽指数、活力指数、胚轴长、胚根长、幼苗鲜重及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性以及丙二醛(MDA)含量。

### 1.3 测定指标

发芽率  $GP = \frac{\text{第7天发芽种子数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$ ;

发芽指数  $GI = \sum Gt/Dt$  ( $Gt$  指时间  $t$  的发芽数,  $Dt$  指对应的发芽天数);

活力指数  $VI = GI \times S$  ( $GI$  为发芽指数,  $S$  为幼苗鲜重)。

从每个处理中随机取15个幼苗用直尺测胚根长和胚轴长,然后用分析天平测其鲜重,利用紫外分光光度计进行抗氧化酶活性的测定,用氮蓝四唑(NBT)还原法<sup>[14]</sup>测定SOD活性,以  $U \cdot \text{mg}^{-1} \text{FW}$  表示;用愈创木酚方法<sup>[14]</sup>测定POD活性,以  $\Delta OD_{470 \text{ nm}} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$  表示;用硫代巴比妥酸法<sup>[14]</sup>测番茄幼苗内MDA的含量,MDA含量用  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$  表示。

用SAS和Microsoft Office Excel 2013对试验结果进行统计和方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 腐植酸对铅胁迫下番茄种子发芽的影响

由表2可知,在255 mg·L<sup>-1</sup>铅胁迫条件下,番茄种子发芽率、发芽指数、活力指数显著低于CK ( $P < 0.05$ )。说明铅胁迫抑制了番茄种子的萌发。用270~670倍高活性腐植酸稀释液浸种处理后,铅胁迫下番茄种子的各项发芽指标都有不同程度的增加,而且随着高活性腐植酸液剂稀释倍数的增加,发芽率、发芽指数和活力指数都先增加后降低,表明高活性腐植酸液剂可以在一定程度上缓解重金属铅对番茄种子萌发的抑制,且470倍高活性腐植酸稀释液缓解效果最好,分别较T1增加了28.23%、33.87%、77.55%,差异显著。然而高活性腐植酸稀释倍数为70倍时,发芽率却低于T1处理,可见高活性腐植酸浓度过高,失去了促进番茄种子萌发的效用。

### 2.2 腐植酸处理对铅胁迫下番茄种子胚根长、胚轴长的影响

由表2可看出,T1与CK相比,铅对番茄胚根和胚轴生长的抑制作用显著,胚根和胚轴长度分别为CK长度的1/3和1/2左右。在铅胁迫条件下,3个不同浓度高活性腐植酸稀释液(除70倍)浸种处理对铅胁迫条件下番茄胚根和胚轴的生长起到

表 2 铅胁迫下腐植酸处理对番茄种子的萌发特性的影响

Table 2 Humic acid effect on tomato seed germination under plumbum stress

处理 Treatment	发芽率/% Germination	发芽指数 Germination Index	活力指数 Vigor Index	胚根长/cm Radical Length	胚轴长/cm Hypocotyls Length	鲜重/g Fresh Weight
CK	95.50 a	31.37 a	1.35 a	8.03 a	4.73 a	0.043 a
T1	62.00 d	17.89 d	0.49 d	2.91 cd	2.56 cd	0.027 c
T2	46.00 e	15.11 e	0.32 e	2.09 d	2.35 d	0.021 d
T3	68.50 c	20.65 c	0.64 c	3.63 c	3.48 b	0.031 c
T4	79.50 b	23.95 b	0.87 b	4.95 b	4.26 a	0.036 b
T5	65.50 cd	18.11 d	0.51 d	3.61 c	3.25 bc	0.028 c

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),下同

Note: Different lowercase letters show difference at the 0.05 level in the same row, the same as follows

了一定的缓解作用。其中,470 倍的高活性腐植酸稀释液促进作用最显著,比 T1 胚根和胚轴的长度提高了 0.7 倍左右,但仍未恢复到正常水平。

### 2.3 腐植酸处理对铅胁迫下番茄种子 SOD 活性的影响

由图 1 可见,铅胁迫可以使番茄种子中 SOD 活性显著降低。用适宜浓度的高活性腐植酸液剂浸种后可以有效地提高番茄种子中 SOD 活性,且差异显著。整体来看,番茄种子中 SOD 保护性酶活性随着高活性腐植酸液剂稀释倍数的增大呈先上升后下降的趋势,当加入 470 倍高活性腐植酸稀释液时,SOD 活性最高,较 T1 增加了 22.38%,表明该浓度对铅胁迫的缓解效果最好。

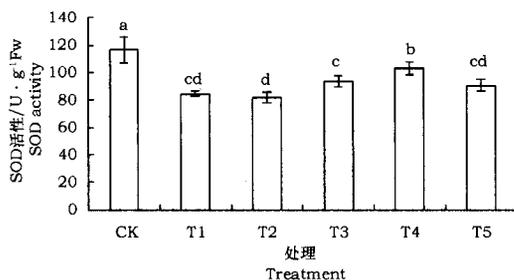


图 1 腐植酸对铅胁迫下番茄种子中 SOD 活性的影响

Fig. 1 Humic acid effect on SOD activity in tomato seed under plumbum stress

### 2.4 腐植酸处理对铅胁迫下番茄种子中 POD 活性的影响

由图 2 可知,T1 处理显著抑制了番茄种子中 POD 的活性。铅胁迫下,470 倍高活性腐植酸稀释液浸种处理的番茄种子中 POD 活性比 T1 处理

显著增加,表明适宜浓度的高活性腐植酸稀释液可以有效地缓解铅胁迫对番茄种子萌发的影响。

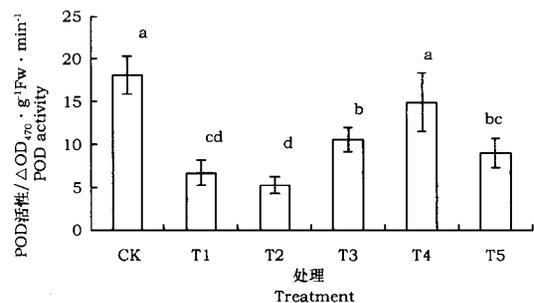


图 2 腐植酸对铅胁迫下番茄种子中 POD 活性的影响

Fig. 2 Humic acid effect on POD activity in tomato seed under plumbum stress

### 2.5 腐植酸处理对铅胁迫下番茄种子 MDA 含量的影响

从图 3 可以看出,255 mg · L<sup>-1</sup> 铅处理下番茄种子中的 MDA 含量比 CK 处理显著增加。可见铅胁迫使番茄种子质膜过氧化,阻碍了番茄种子的萌发。用 270、470、670 倍不同浓度高活性腐植酸稀释液浸种处理,发现番茄种子内的 MDA 含量均低于 T1,其中 470 倍高活性腐植酸稀释液浸种处理的 MDA 含量最低,差异显著。说明适宜浓度高活性腐植酸溶液浸种可以减轻番茄种子膜质过氧化,从而减缓铅胁迫对番茄种子萌发的抑制作用。

## 3 讨论与结论

植物在自然环境下,经常受到如干旱、盐、重金属、高低温和大气污染等逆境条件的胁迫。这些胁

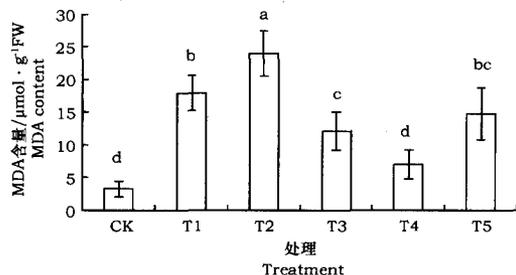


图3 腐植酸对铅胁迫下番茄种子中MDA含量的影响  
Fig. 3 Humic acid effect on MDA content in tomato seed under plumbum stress

胁迫均会使植物形成大量的活性氧自由基(ROS),而ROS对植物细胞膜系统、蛋白质和核酸等大分子物质造成极大的破坏<sup>[15]</sup>。有人认为逆境条件下植物体内的膜保护系统能够清除多余的活性氧自由基,这一保护酶系统实际上是一个抗氧化系统,它是由SOD和POD等主要的抗氧化酶组成,它们协同起来可清除体内有害的活性氧,保护植物细胞免受活性氧的损伤,从而保护植物的膜系统<sup>[16]</sup>。

植物处于逆境条件时体内会发生膜脂过氧化,MDA是膜脂过氧化的重要产物之一,因此通过测量植物内MDA含量来衡量植物在逆境条件下膜

脂过氧化程度。张颖等<sup>[17]</sup>研究表明,重金属损害细胞膜通透性来影响种子的萌发和幼苗的生长。王友保等<sup>[18]</sup>研究表明,重金属抑制酶的活性,阻碍了植物细胞的生长分裂,其表现为发芽率、发芽势降低。

本文结果表明,铅浓度为 $255 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,番茄种子的发芽率、发芽指数、活力指数、胚根长、胚轴长均比CK显著下降;种子中的抗氧化酶SOD、POD活性降低,MDA含量增加,番茄种子细胞中清除活性氧的系统受到影响,严重抑制了番茄种子的萌发。说明番茄种子中的细胞膜受到铅离子毒害。当番茄种子用不同浓度腐植酸浸种处理后,低浓度的腐植酸均不同程度减弱了铅胁迫对番茄种子的抑制作用。适宜的高活性腐植酸浓度提高铅胁迫下番茄种子中SOD、POD的活性,降低MDA含量来保护细胞膜的完整性,减弱重金属铅对番茄幼芽的毒害,其中高活性腐植酸稀释浓度为470倍时促进作用最显著,但浓度过大则抑制种子的萌发。因此,用适宜浓度的高活性腐植酸浸种后,铅对番茄的毒害作用能得到有效缓解,并在绿色蔬菜的生产上有重要的应用前景。但是,腐植酸提高番茄种子萌发的其他生理代谢还需进一步深入研究。

#### 参 考 文 献

- [1]秦天才,吴玉树,王焕校,等.镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究[J].生态学报,1998,18(3):320-325.
- [2]尚英男,尹观,倪师军,等.成都市土壤-植物系统铅污染状况初步研究[J].广东微量元素科学,2005,12(3):8-13.
- [3]徐和宝,王嘉熙,谢明云.铅对几种作物生长的影响及其在植物体内的积累[J].植物生态学与植物学丛刊,1983(4):273-279.
- [4]刘秀梅,聂俊华,王庆仁.Pb对农作物的生理生态效应[J].农业环境保护,2002,21(3):201-203.
- [5]陈同斌,宋波,郑袁明,等.北京市菜地土壤和蔬菜铅含量及其健康风险评估[J].中国农业科学,2006,39(8):1589-1597.
- [6]林丹.浅谈铅的污染及对人的危害[J].新余高专学报,2006,11(2):109-110.
- [7]庞欣,王东红,彭安.镉对铅胁迫下小麦幼苗抗氧化酶活性的影响[J].环境化学,2002,21(4):318-323.
- [8]王彩霞,吕有军.硒对铅胁迫下西葫芦幼苗膜系统和抗氧化酶的影响[J].种子,2015,34(8):14-17.
- [9]张学才,张德祥.我国的腐植酸资源及其工农业应用[J].中国煤炭,2000,26(12):13-183.
- [10]Nicholas P, Hankins, Na Lu, et al. Enhanced removal of heavy metal ions bound to humic acid by Polyelectrolyte flocculation[J]. Separation and Purification Technology, 2006,51(1):48-56.
- [11]马建军,邹德文,吴贺平,等.腐植酸钠对镉胁迫小麦幼苗生物效应的研究[J].中国生态农业学报,2005,13(2):91-93.
- [12]任学军,杜彬,任艳军,等.腐植酸钠对镉胁迫小白菜生物效应的研究[J].安徽农业科学,2010,38(30):16888-16890.
- [13]薛志忠,吴新海.赤霉素对盐胁迫下番茄种子萌发特性的影响[J].北方园艺,2011(15):59-61.
- [14]高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006:210-217.
- [15]Becana M, David D A, Moran J F, et al. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules [J]. Physiologia Plantarum, 2000, 109(4):372-381.
- [16]何学利.植物体内的保护酶系统[J].现代农业科技,2010(10):37-38.
- [17]张颖,高景慧.镉胁迫对红三叶种子萌发及幼苗生理特性的影响[J].西北农业学报,2007,16(3):57-59.
- [18]王友保,刘登义,张莉,等.铜、砷及其复合污染对黄豆(Glycine max)影响的初步研究[J].应用生态学报,2001,12(1):117-120.