

纳米氧化镁促进番茄植株生长的机理

蔡 璘, 丰 慧, 贾环宇, 杨会款, 孙现超*, 丁 伟*

(西南大学植物保护学院, 重庆 400715)

摘要: 【目的】探讨具有抗菌作用剂量的纳米氧化镁 (MgONPs) 对番茄早期生长发育的影响, 并明确其被吸收和在植株内的运输特性, 为 MgONPs 在植物营养和病害防控领域的应用提供理论依据。【方法】以番茄为模式植物, 利用 MgONPs (50~250 $\mu\text{g/mL}$) 处理番茄种子和幼苗, 测定种子萌发率、MgONPs 处理幼苗 30 天后的植株生物量、植物组织细胞形态、叶绿素含量和相对含水量等指标, 并通过电感耦合等离子发射光谱仪和透射电子显微镜 (TEM) 测定 MgONPs 的植株吸收情况。【结果】50~250 $\mu\text{g/mL}$ 的 MgONPs 对番茄种子的发芽无抑制, 但对番茄幼苗生长具有显著的促进作用, 其中 250 $\mu\text{g/mL}$ 剂量作用最显著; 此剂量处理后的番茄根长、根干重、地上部分干重和径围分别为 20.33 cm、0.11 g、0.20 g、1.65 cm, 对照分别为 15.63 cm、0.03 g、0.15 g 和 1.16 cm; 番茄叶绿素含量提高了 47.37%, 相对含水量提高了 10.33%。且 MgONPs 促进了镁元素的吸收, MgONPs 处理后番茄叶片中的镁含量较清水组提高了 35.16%; 透射电子显微镜 (TEM) 照片发现, MgONPs 处理后叶片叶绿体周围有纳米颗粒的聚集; 扫描电子显微镜 (SEM) 照片和石蜡切片观察证实 MgONPs 未破坏番茄植株的组织 and 细胞形态, 明确了在一定浓度下 MgONPs 对番茄植物细胞无毒副作用。【结论】MgONPs 在土壤中的分散程度虽然不如在去离子水中, 但是依然表现出对番茄生长的显著促进作用, 且对种子发芽和幼苗生长无任何不利影响。施入土壤后, MgONPs 能被番茄根系吸收, 通过维管束系统向上运输至叶片中, 从而显著增加叶绿素含量和相对含水量, 最终促进了幼苗的生长和干物质积累。在本试验条件下, 高浓度 (250 $\mu\text{g/mL}$) 的 MgONPs 促进番茄生长的效果好于低浓度。

关键词: 纳米氧化镁; 植物生长量; 叶绿素; 相对含水量; 镁吸收

Mechanism of magnesium oxide nanoparticles effectively stimulate the Mg absorption and growth of tomato plants

CAI Lin, FENG Hui, JIA Huan-yu, YANG Hui-kuan, SUN Xian-chao*, DING Wei*
(College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: 【Objectives】To evaluate the effect of the antibacterial-concentration magnesium oxide nanoparticles (MgONPs) application on growth and transportation efficiency of tomato, which would provide theoretical basis for the application of MgONPs in the field of plant nutrition and disease control. 【Methods】Taking tomato as the model plant, the tomato seeds and seedlings were treated with different concentrations of MgONPs to measure the seed germination, plant biomass, tissue cell morphology, chlorophyll content and relative water content, as well as the MgONPs-uptake in tomato plant using ICP-OES and TEM. 【Results】MgONPs had no inhibition on the tomato seeds germination at the concentration of 50–250 $\mu\text{g/mL}$, and significantly increased the tomato seedling growth, especially at the 250 $\mu\text{g/mL}$ treatment; In the 250 $\mu\text{g/mL}$ MgONPs group, the root length, dry root weight and dry weight of aboveground part of tomato were 20.33 cm, 0.11 g, 0.20 g and 1.65 cm, respectively, and the corresponding values in the control were 15.63 cm, 0.03 g, 0.15 g and 1.16 cm, respectively; The chlorophyll content and the relative water content of tomato were respectively increased by

收稿日期: 2019-10-08 接受日期: 2020-04-22

基金项目: 重庆市技术创新与应用示范专项 (cstc2018jcsx-mszdX0047)。

联系方式: 蔡璘 E-mail: lincai0203@163.com

* 通信作者 孙现超 E-mail: sunxianchao@163.com; 丁伟 E-mail: dwing818@163.com

47.37% and 10.33%. Furthermore, MgONPs enhanced Mg absorption and increased the Mg content in leaves by 35.16%; meantime, the aggregation of nanoparticles around chloroplasts in leaves was observed in TEM images. In addition, SEM and paraffin section observation confirmed that MgONPs did not damage tomato plant tissue and cell morphology, further clarify the non-toxic side effects of MgONPs on tomato plant cells.

【 Conclusions 】 Although the dispersing of MgONPs in soil is not as good as in di-ionized water, it still shows good promotion effect on the germination and seedling growth of tomato significantly, within the tested concentration range of 50–250 $\mu\text{g/mL}$, without toxicity to plant cells and organ structures. After applied into soil, MgONPs could be absorbed by root and up-transported into leaves through fibrovascular system completely. The increased Mg thus increases chlorophyll content and relative water content of leaves, and stimulate the growth and accumulation of dry biomass of tomato. Under the experimental condition, higher MgONPs concentration performs better than the lower concentration.

Key words: MgONPs; plant biomass; chlorophyll; relative water content; Mg-uptake

镁是仅次于 N、P、K 的植物第四大必需元素，在植物中的含量高达 0.1%~0.5%^[1]。镁起着稳定植物大分子如核酸、细胞膜、蛋白质、细胞壁等结构的作用，并可维持酶活性、平衡活性氧等^[2]，同时还参与细胞阴阳离子平衡及渗透压的调节^[1]。镁对植物淀粉和蛋白质的形成必不可少，据研究，植物叶片中的镁 75% 用于植物蛋白质的合成，20% 参与叶绿素的合成，并作为酶辅因子参与光合作用的碳固定和代谢过程^[3]。在镁缺乏的情况下，植物叶绿素难以合成，叶片光合作用受阻，导致作物生长受抑制。

植物中的镁主要依靠土壤供应，其丰缺程度与土壤酸度、土壤离子组成、土壤中阳离子交换量及土壤有效镁含量有关。土壤中的镁主要包括 3 种形式：基质镁（存在于矿物晶格中）、可代换镁（由静电电荷被土壤吸附）和土壤溶液中的镁（溶解于土壤湿存水中）。其中，基质镁占土壤中镁总量的 90%~99%，但基本不能被植物吸收。只有极少部分的可代换镁和土壤溶液中的镁能被植物吸收，称为有效镁^[4]。我国部分地区由于水土流失造成土壤镁供应能力降低，同时随着氮、磷、钾化肥用量增加及作物产量的提高，植物从土壤中携带走大量镁却得不到及时有效的补充，导致了植物缺镁现象。据报道，全国高达 54% 的土壤需要补充镁元素，缺镁已成为制约作物生产的一个重要因素^[5]。探索生产成本低廉、吸收率高的镁元素补充剂已成为农业生产中亟需解决的问题。

纳米材料具有传统材料不具备的理化特性，在工业、医药等领域已得到广泛应用。近年来，纳米技术逐渐应用到农业领域，纳米技术的合理使用有助于促进植物生长、提高产量和改善品质，逐渐成为农业领域新的研究热点^[6]。由于纳米材料具有粒径

小、比表面积大、吸附能力强等特性，运用到肥料中能增加肥料的吸附，减少肥料流失，提高肥料利用率^[7]。例如，500~4000 mg/L 的纳米二氧化铈能显著提高大豆的根系伸长量和干重^[8]。25~100 $\mu\text{g/mL}$ 的单壁碳纳米管能减少玉米、番茄、水稻和大豆等种子发芽所需时间，并促进幼苗生长^[9]。纳米二氧化硅可以减轻环境中铬元素对豌豆幼苗的毒性^[10]。目前大多数报道主要集中在研究金属纳米材料对植物的毒性效应^[11-12]，关于如何应用纳米材料促进植物生长和提高产量的研究较少，促进生长的机制也还有待探索。此外，纳米材料对植株生长的影响存在浓度相关性^[13]。因此，要实现纳米材料在植物科学上更好地应用，需系统研究纳米材料的种类、粒径大小、浓度、电荷，以及在特定植物的吸收和植物种类等，并且要充分考虑环境因素^[14]。但是目前为止，许多纳米材料的植物生物学效应尚不清楚，还有许多问题仍不明朗，尤其是纳米材料对植物生长调节的作用机制研究还处于起步阶段^[15-17]。

纳米氧化镁 (MgONPs) 是一种粒径 50 nm 左右的新颖氧化镁，具有纳米材料普遍的理化特性，易于被土壤吸附、提高肥料利用率，可作为元素补充剂来增加土壤中镁含量。本研究前期已证实 MgONPs 在 250 $\mu\text{g/mL}$ 剂量下对青枯雷尔氏菌有较强抗菌效果，能一定程度上减少茄科青枯病的发生^[6]，有作为植物杀菌剂的潜力。然而，MgONPs 对植物生长发育的影响，以及其吸收并在植物内的运输特性还不清楚。为此，本研究探讨了不同剂量的 MgONPs 对番茄种子发芽的影响和对番茄植株幼苗生长发育的影响，并测定了 MgONPs 在番茄幼苗植株的吸收利用情况。本研究进一步挖掘具有抗菌作用的 MgONPs 的农业应用潜力，以期对农业栽培过程中合理施用

MgONPs 提供新的思路和有益的参考。

1 材料和方法

1.1 MgONPs 形貌表征

称取一定量 MgONPs, 用透射电子显微镜 (TEM, JEM-2100, JEOL, Japan) 观察晶体结构和形貌。具体步骤为: MgONPs 在去离子水中分散, 超声处理 15 min, 滴在铜网上, 200 kV 电压下观察。另外, 称取一定量 MgONPs 加入去离子水中, 同样条件分散土壤过滤液中的 MgONPs, 用 TEM 表征。

1.2 番茄种子萌发试验

选择萌发率大于 80% 的番茄种子, 在 2.5% 次氯酸钠溶液中浸泡消毒 5 min, 用无菌水润洗去除残留物, 静态无菌条件下室温干燥种子。称量 MgONPs 在无菌水中制成 0、50、150 和 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 MgONPs 悬浮液, 调节 pH 为 7.0。培养皿底部 (100 mm \times 15 mm 规格) 贴合铺满无菌滤纸, 在每个培养皿滴加 5 mL 的 MgONPs 悬浮液至滤纸完全浸湿, 在湿润的滤纸片上放置等量番茄种子, 用聚乙烯薄膜密封培养皿防止水分蒸发。试验在 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 的人工气候培养箱 (相对湿度 85%~90%, 光周期 14 h) 中进行, 根据文献[15]报道的方法计算种子萌发率, 每处理重复 3 次。

1.3 盆栽试验

盆栽试验在西南大学植物保护学院温室 (温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度 85%~90%, 光周期 14 h) 中进行, 供试土壤采自西南大学植物保护学院药效试验园, 其土壤为黄壤, pH 6.24, 有机质含量 20.8 g/kg, 有效钾 91 mg/kg, 有效镁 52.8 mg/kg。试验作物为番茄 (HeinZ1706)。MgONPs 购买自美国 Sigma 公司, 纯度大于 99.9%。悬浮液配置: 根据试验剂量分别将 MgONPs 配置成一定浓度的供试药液, 用超声波清洗器震荡至纳米材料均匀悬浮后待用。

待番茄幼苗长至 4 叶 1 心时, 选择大小均匀一致的幼苗移栽到装有 130 g 黄壤的底径 6 cm、高 8 cm 的营养钵中。对幼苗分别用 0、50、150、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 MgONPs 水悬浮液灌入至番茄苗根部周围土壤中, 后置于温室中生长, 每盆施用 50 mL 水悬浮液, 共处理 1 次。期间, 采用 20 g 育苗基质 (Pindstrup Mosebrug A/S, 丹麦) 覆盖在土壤上用于提供试验中番茄幼苗生长发育所需要的营养, 并定期定量给试验苗浇水以保持土壤达到田间持水量的

70% 左右。处理 30 天后测量番茄根长、地上部分高度和生物量。其中植物生物量 (包括根茎叶) 是将新鲜植株采收后洗干净置于 70°C 烘箱完全干燥后测定。每次试验设置 20 株番茄/处理, 采用随机区组设计, 试验重复 3 次。

1.5 叶绿素含量和相对含水量测定

叶绿素含量采用 Raliya 的方法^[15]进行少量调整: 自来水冲洗盆栽试验的叶片样品, 取第 2、3、4 片完全展开叶室温自然干燥后切块混合, 随机称取 1 g 叶片避光浸泡于 100% 丙酮中 12 h 至叶片完全脱绿。浸泡液用紫外-可见分光光度计测定叶绿素 a 含量 (661.2 nm 波长) 和叶绿素 b 含量 (644.8 nm 波长)。试验重复 3 次, 并根据以下公式计算总叶绿素含量:

$$\text{总叶绿素} = \text{叶绿素 a} + \text{叶绿素 b}$$

测定相对含水量: 新鲜叶片 (FW) 200 mg 加入至蒸馏水中浸泡 4 h, 吸水膨胀后测量叶片重量 (TW), 置于 80°C 烘箱烘干 4 h 得到干重 (DW)。试验重复 3 次, 相对含水量 (RWC) 计算公式:

$$\text{RWC} (\%) = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100$$

1.6 镁元素含量检测

电感耦合等离子发射光谱仪 (ICP-OES) 能有效检测纳米材料在植物中的运输和积累^[18]。收获的番茄植株样品, 用自来水冲洗干净, 放置于 70°C 烘箱下烘干至脆。10 mg 植物组织浸泡于 6 mL 硝酸过氧化氢溶液 (5 : 1) 中 10 h, 定容到 50 mL 后 10000 g 转速离心 15 min, 使用 1% 的硝酸溶液稀释上清液为 100 ppm, 用 ICP-OES (ICP-OES, PerkinElmer, USA) 检测番茄不同部位的镁元素含量, 试验重复 3 次。

1.7 透射电子显微镜切片观察

收获的番茄第 3 片完全展开叶避开叶脉切成 1 mm^2 左右的小块, 置于 2.5% 戊二醛溶液中 4°C 固定 4 h, 用 pH 7.4 的磷酸缓冲液 (PBS) 漂洗 3 次, 1% 四氧化锇溶液固定 2 h, PBS 漂洗 3 次, 乙醇梯度脱水, 然后用环氧树脂包埋, 超薄切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双染色, 使用透射电子显微镜 (TEM) 观察。

1.8 石蜡染色切片观察

参照文献[19]的方法, 采集番茄植株完整的组织 (根尖、茎、第 3 片完全展开叶) 浸泡在 FAA 固定液 (成分为 70% 乙醇 : 甲醛 : 乙酸 = 9 : 1 : 1) 中固定, 然后对固定的组织进行脱水、石蜡包埋和切片处理。最后, 用番红染色液染色后在光学显微镜

(Leika, USA) 下观察。

1.9 SEM 观察

采用扫描电子显微镜 (SEM, Hitachi, Japan) 观察 MgONPs 对番茄组织 (根尖、茎、第 3 片完全展开叶) 形态的影响^[20]。收获的番茄植株根茎叶样品使用 pH 7.4 的 PBS 溶液轻轻洗涤, 使用 2.5% 的戊二醛固定 4 h 后用 PBS 洗去戊二醛残留。酒精梯度 (浓度分别为 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 和 100%) 脱水, 临界点干燥, 使用离子溅射仪 (E1010, Hitachi, Japan) 镀膜。番茄根茎叶的形态变化用扫描电镜 (SEM) 观察。

2 结果与分析

2.1 MgONPs 的形貌表征

使用 TEM 对 MgONPs 进行形貌表征。如图 1 所示, MgONPs 的粒径为 50 nm 左右, 在水中表现为

不规则球状颗粒, 存在团聚现象, 团聚状态颗粒的粒径大多为 100 nm 左右; 土壤过滤液中团聚效应更为严重。团聚效应在一定程度上降低了 MgONPs 发挥纳米效应的有效剂量。

2.2 MgONPs 对番茄种子萌发的影响

本研究通过种子萌发试验, 测试不同浓度 MgONPs 对番茄种子活力的影响。如图 2 所示, 番茄种子放置在浸润 MgONPs 的滤纸片上, 5 天后, 250、150、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和对照的萌发率分别是 85.48%、84.60%、85.11% 和 85.01%, 处理间萌发率无显著差异 ($P < 0.05$)。从图 2 可以看出, MgONPs 对番茄萌发后的根茎伸长和幼苗生长无抑制。表明 MgONPs 对番茄种子无毒性影响。

2.3 MgONPs 对番茄幼苗生长的影响

由盆栽试验照片 (图 3e) 可以看出, MgONPs 处理后, 番茄长势更好, 植株也更加健壮。如图 3a~d,

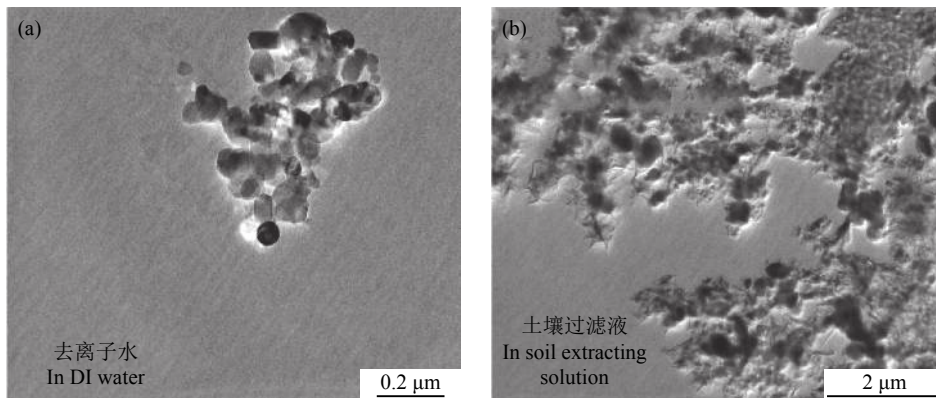


图 1 MgONPs 分散在去离子水和土壤中的 TEM 图

Fig. 1 Images of the MgONPs dispersing in deionized water and soil by transmission electron microscope

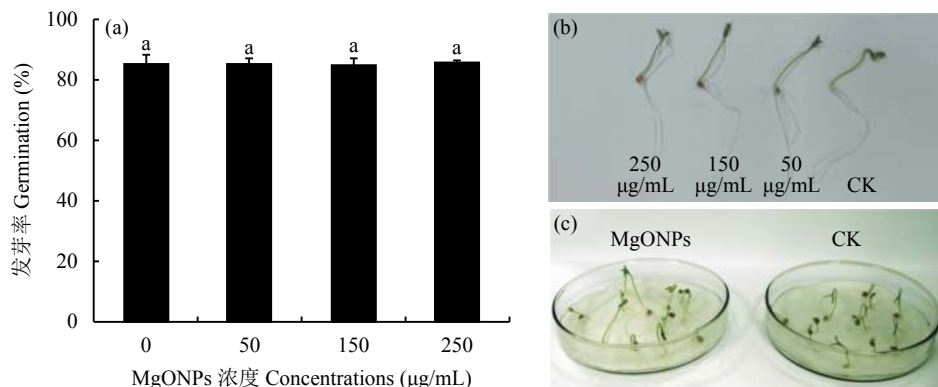


图 2 不同浓度 MgONPs 处理番茄种子萌发率

Fig. 2 Germination rate of tomato seeds treated with different concentrations of MgONPs

[注 (Note): 柱上相同小写字母表示处理间差异不显著

The same small letters above the bars mean not significantly different among treatments ($P > 0.05$).]

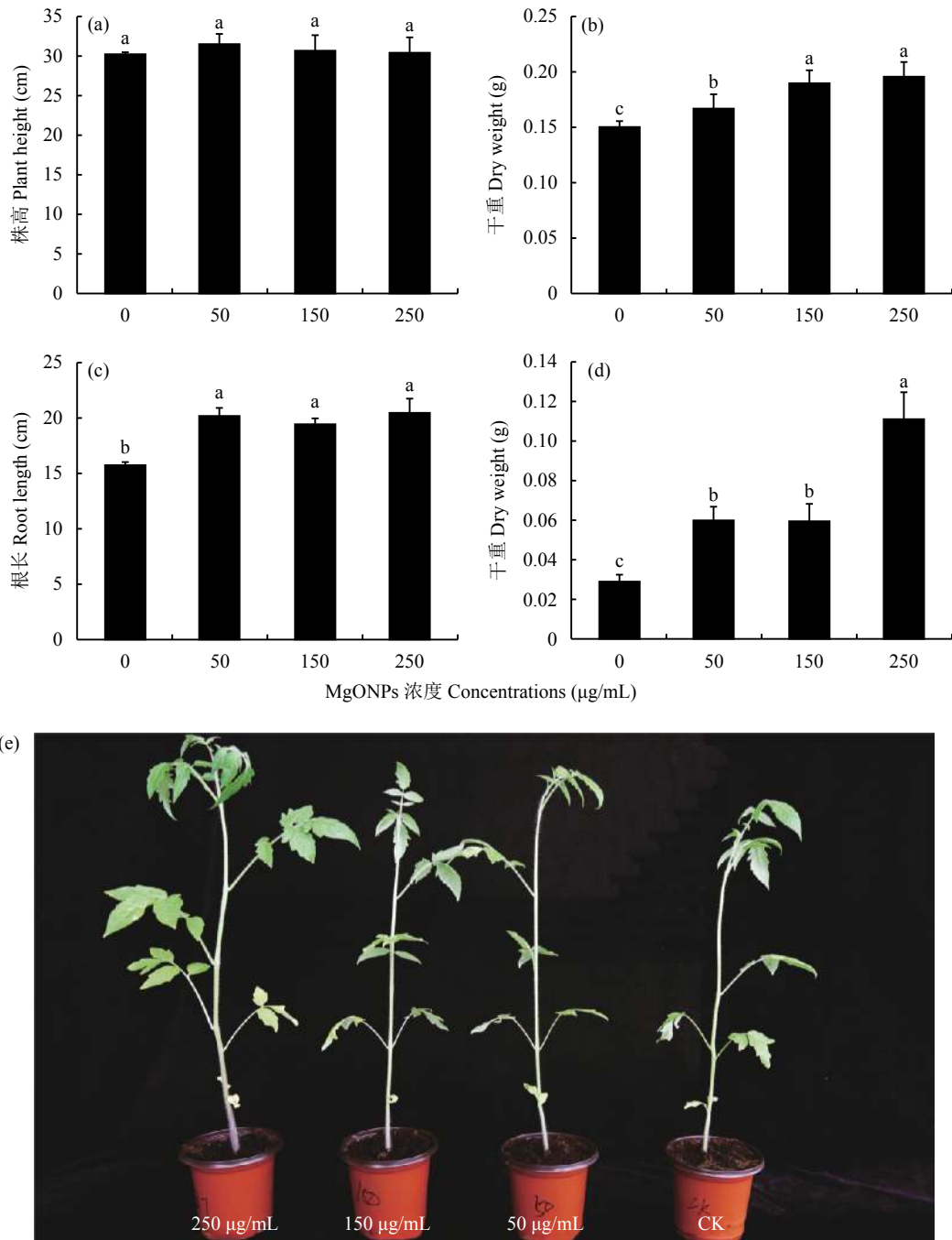


图 3 不同浓度的 MgONPs 对番茄幼苗根系长度、株高和对应部位干重的影响

Fig. 3 Effects of root length, height and corresponding weight of the tomato plants with different concentrations of MgONPs

[注 (Note): 不同小写字母表示处理间差异显著 Different small letters mean significant difference among treatments ($P > 0.05$).]

MgONPs 处理后番茄的株高与对照 (0 µg/mL) 相比, 植株和根系干重、根长均显著增加 ($P < 0.05$)。3 个 MgONPs 处理间, 根长没有显著差异, 根干重和地上部分干重分别为 15.63 cm、0.03 g、0.15 g, 150 µg/mL 和 250 µg/mL 处理植株干重显著高于 50 µg/mL 处理, 而根干重 250 µg/mL 处理又显著高于 50 和 150 µg/mL 处理 ($P < 0.05$)。表明在处理浓度范

围内, MgONPs 处理浓度的提高有利于植株和根系生物量的积累, 以 250 µg/mL 浓度处理效果最佳。

进一步测定 MgONPs 对番茄植株径围的影响, 由图 4 可以看出, MgONPs 250 µg/mL 处理显著高于其他 3 个浓度处理, 而其他 3 个浓度处理间无显著差异。这也解释了为什么番茄株高处理间没有显著差异而生物量干重却差异显著。

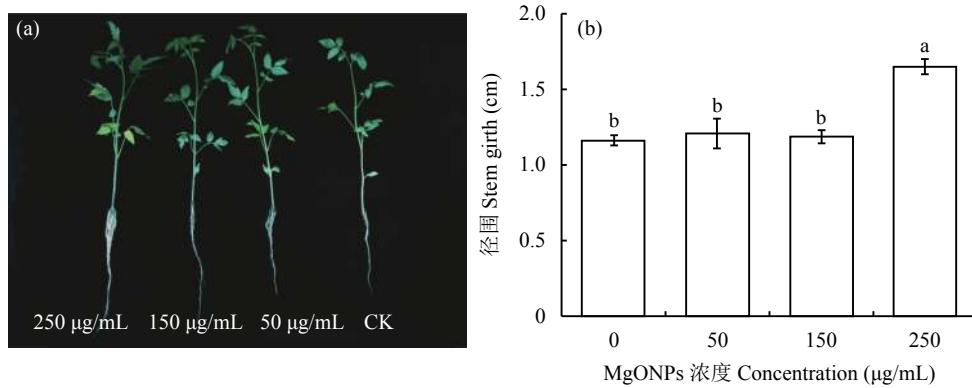


图4 不同浓度的MgONPs对番茄幼苗径围的影响

Fig. 4 Effects of stem girth of the tomato plants by different concentrations of MgONPs

[注 (Note): 柱上不同小写字母表示处理间差异显著]

Different small letters above the bars mean significant difference among treatments ($P > 0.05$.)

2.4 MgONPs对番茄总叶绿素含量和相对含水量的影响

在处理30天后, MgONPs处理对番茄植株总叶绿素含量和相对含水量都显示为促进效应(图5)。分析数据可知, 清水对照处理番茄叶片总叶绿素含量为12.92 µg/g, 而MgONPs 50、150和250 µg/mL灌根处理的含量依次为16.54、16.35和19.04 µg/g, 均显著高于对照($P < 0.05$), 其中以250 µg/mL处理效果最好, 显著高于其他两个MgONPs处理($P < 0.05$)。对照番茄叶片含水量为78.47%, 3个MgONPs处理比对照处理显著升高了7.09%~13.14% ($P < 0.05$), 3个处理间差异不显著。因此, 对叶绿素和叶片含水量的促进作用也以在MgONPs 250 µg/mL处理的效果最佳。

2.5 番茄植株对MgONPs的吸收

清水对照和MgONPs 250 µg/mL处理的番茄植

株根、茎、叶的镁元素含量如图6所示。处理番茄叶片中镁元素含量为9.15 mg/g, 对照仅为6.77 mg/g, 二者间差异显著。但是在番茄根部和茎部, 镁元素含量无显著性差异。表明MgONPs可以高效从根部向上运输至叶片, 提高叶片中的镁含量。

在TEM切片中观察到, MgONPs处理后的番茄叶片叶绿体周围有纳米形态的颗粒(图7), 表明番茄根尖吸收的MgONPs运输至叶片积累。

2.6 MgONPs对番茄植株细胞形态的影响

与对照相比, 250 µg/mL的MgONPs处理后, 光学显微镜下番茄植株根、茎、叶的解剖形态无显著改变。根、茎、叶植物组织及表皮和中柱鞘的生长结构均紧致; 茎部、木质部环大小和形状在MgONPs处理和对照中也未观察到差异, 且植株细胞间隙没有变化(图8)。

扫描电镜观察结果可知, MgONPs处理番茄组

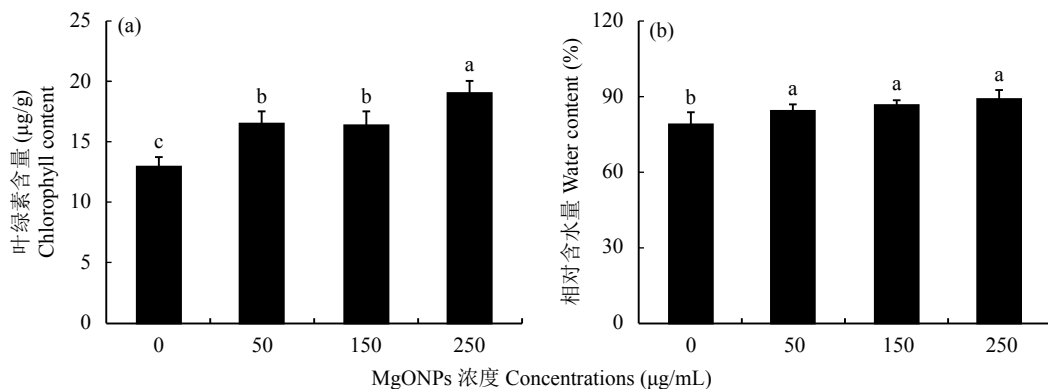


图5 MgONPs处理30天后番茄叶片的总叶绿素含量和含水量

Fig. 5 Chlorophyll and relative water content of tomato leaves after 30 days of MgONPs treatment

[注 (Note): 柱上不同小写字母表示处理间差异显著]

Different small letters above the bars mean significant difference among treatments ($P > 0.05$.)

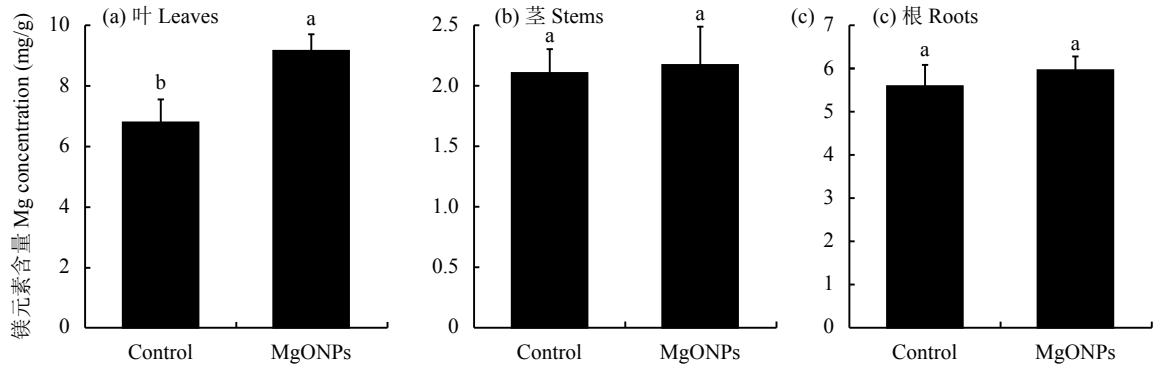


图 6 番茄植株中叶、茎和根部镁元素含量

Fig. 6 Magnesium content in the leaves, stems and roots of tomato plants

[注 (Note): 柱上不同小写字母表示处理间差异显著

Different small letters above the bars mean significant difference among treatments ($P > 0.05$.)]

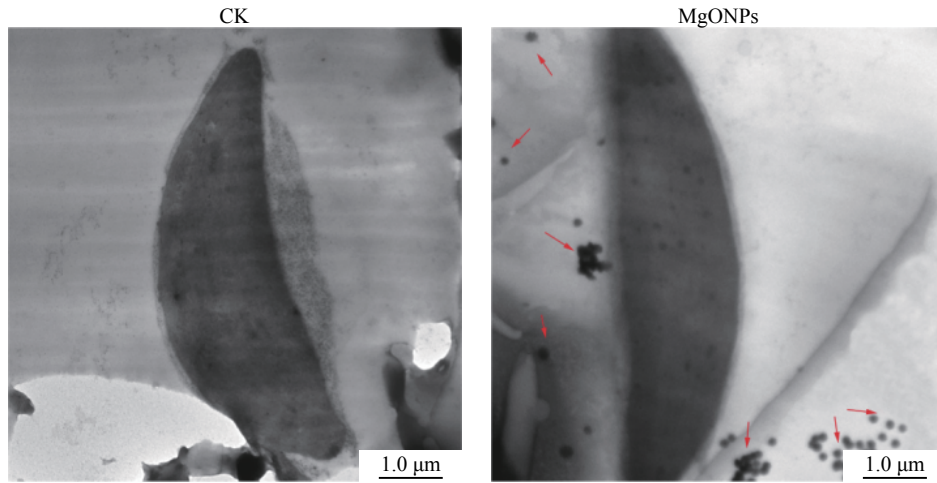


图 7 MgONPs 处理 30 天的番茄叶片 TEM 切片图

Fig. 7 Images of tomato leaves after 30 days of MgONPs treatment by transmission electron microscope

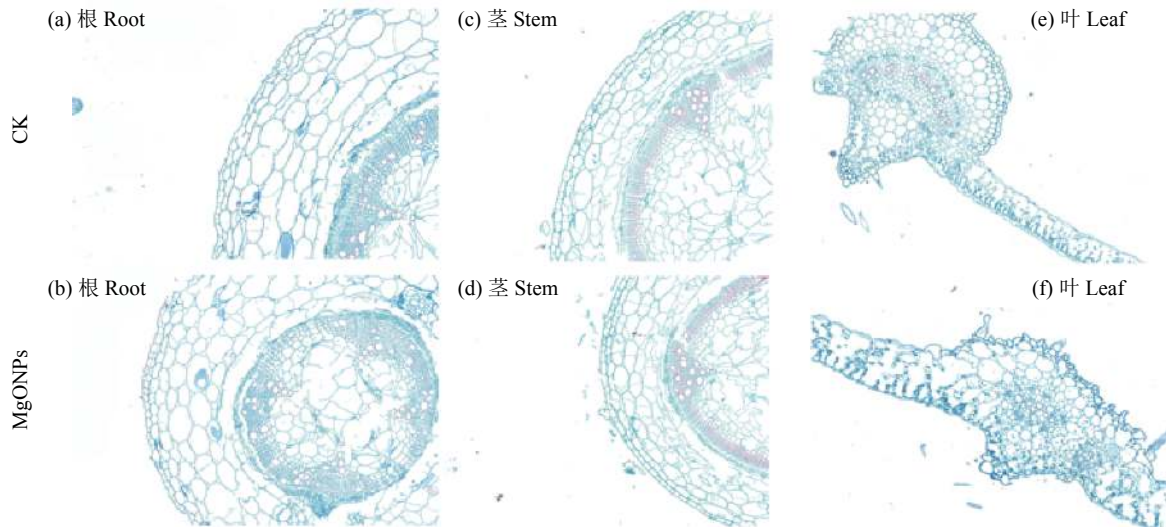


图 8 番茄幼苗的石蜡切片图

Fig. 8 Paraffin section images (cross-sections) of the tomato plants

织没有产生如变形、卷曲、萎黄或者坏死等现象，与对照植株具有同样致密、正常有序的结构，且组织细胞圆滑完整，植物形态未受任何破坏(图9)。同时，在根部也未发现纳米材料的吸附。

因此，扫描电镜图和石蜡切片图相互印证，表明 MgONPs 处理后没有引起番茄植株细胞形态学的改变，对番茄植株没有毒性效应。

3 讨论

纳米材料之所以能引起广泛的研究和关注度，主要是因为具有区别于大颗粒物质的性质^[21]。在试验浓度 50~250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 下，MgONPs 对番茄种子发芽率和发芽后的根尖形态无影响。然而文献报道 MgONPs 粒径大于 18 nm 时，500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的剂量会抑制花生种子萌发^[22]，本试验得出粒径 50 nm 的 MgONPs 在 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下对番茄早期的生长发育无毒性，可能是因为 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的剂量较小，对植物不足以产生毒害作用；其次，在土壤中的团聚现象(图1)也降低了 MgONPs 的有效浓度；或者不同植物应对外界胁迫的能力有差异。而文献报道粒径 15~20 nm 的 MgONPs 促进了花生种子的萌发，原因是此类纳米材料渗透种皮的能力加强了种子对水分的吸收^[22]。因此，同类纳米材料对不同植物具有不同效应。本研究发现 MgONPs 对番茄发芽无影响，也许是因为 MgONPs 分散在水中作为镁元素补充剂被植物吸收，但并没有改变种子的水分吸收能力，同时对植物也无毒害，因此对番茄种子的萌发

无影响。

50~250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 MgONPs 灌根至根际土壤 30 天显著促进了番茄幼苗的生长。有研究表明，粒径 35 nm 的 MgONPs 喷施到西瓜叶面后导致叶片局部坏死^[23]。推测本研究中 MgONPs 分散在土壤中的团聚效应也许有利于降低纳米材料对植物的毒性。而 MgONPs 施用到土壤中产生一定程度上的团聚效应，可能是由于粒子间静电引力的结果^[24]。

研究表明，纳米材料促进植物生长的作用机制关键在于提高植物光合作用的电子传递效率^[25]。其他纳米金属氧化物(例如纳米二氧化钛、纳米氧化锌和纳米金)也有类似的生理响应^[15, 17, 26]。镁元素作为叶绿素和许多辅酶的结构成分，可以触发辅酶因子，促进光合作用^[27]。本研究的测定结果证实了土壤施用 50~250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 MgONPs 能增加番茄叶片中的叶绿素含量(图5a)。文献报道小麦经 20 ppm 的 MgONPs 处理后，总叶绿素含量增加了 16.7%，而相同浓度的普通 MgO 处理总叶绿素含量仅提高了 2.9%^[27]。相比于普通 MgO，MgONPs 能更大程度上增强植物的光合活性；而且能进一步提高根际酶的活性(例如脱氢酶、酯酶、硝酸盐还原酶等)，效果显著高于普通 MgO^[27]。因此，在土壤中施用 50~250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 MgONPs 可以显著提高番茄叶片的叶绿素含量，可能是增加了镁元素的吸收和促进了植物生长相关的酶活性。但是，MgONPs 对光合作用以及光合色素的影响机理仍有待深入研究。植物的相对含水量也是判定植物生长状况和重金属毒性的

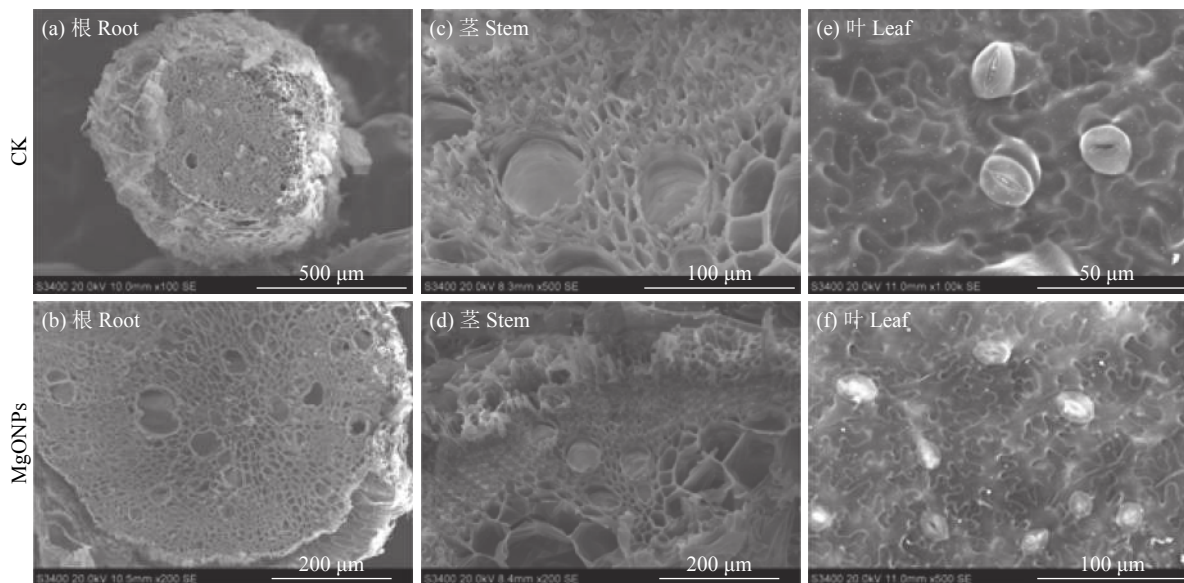


图9 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MgONPs 处理番茄植株形态学电镜扫描图

Fig. 9 Scanning images of electron microscopic of tomato plant at 30 days of 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MgONPs treatment

重要指标^[21], 本研究发现测试剂量下的 MgONPs 能显著提高番茄叶片的含水量, 从另一个方面证明了 MgONPs 对植物生长的安全性。

一旦受到外界有毒物质的压力, 植物代谢活性会降低, 进一步诱导植物细胞产生氧化应激性 (ROS), 氧化膜磷脂脂肪酸上的双键, 从而破坏细胞膜, 最终抑制植物生长, 甚至引起植株死亡^[28]。例如, 高浓度 AgNPs 直接接触植株会对水稻生长显示出明显毒性, 导致该植株颜色、细胞形态和结构特征发生改变^[29]。本研究使用 MgONPs 处理番茄后, 虽然部分 MgONPs 被植株吸收, 但植株组织细胞完整性没有受到破坏, 表明 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 MgONPs 对番茄无胁迫作用。有报道称纳米材料一旦被吸附到根系表面, 可能中断植物对大量和微量营养元素的吸收, 从而导致叶绿素含量下降^[30], 但是本研究中 SEM 结果 (图 9) 表明, 在番茄根表面没有观察到纳米颗粒聚集, 推测也许是因为 MgONPs 在土壤中产生团聚 (图 1) 从而减少了根部吸附, 同时也减轻了纳米材料本身的毒性。类似的研究也观察到, 纳米氧化铁导致南瓜根变长, 原因是纳米氧化铁溶解的铁离子被植物根吸收^[30], 由此可知, 在根部施用 MgONPs 番茄根系变长, 也许是因为 MgONPs 中部分镁离子在根际溶解, 被植株吸收, 促进了根尖伸长。

利用 ICP-OES 检测到 MgONPs 处理后番茄叶片镁元素升高至 9.15 mg/g, 对比清水对照 (6.77 mg/g) 具有显著性差异; 而根部和茎部与清水对照相比无显著差异 ($P < 0.05$)。Maynard^[31]表明, 正常生长的番茄叶片镁含量为 3~9 mg/g, 但是具体含量与不同的番茄品种对镁元素的敏感程度有关; 有研究证实“中杂 9 号”、“改良毛粉”等品种的番茄叶片出现缺镁黄化症状时, 对应地上部分镁含量小于 4 mg/g^[32]。同时, TEM 观察到叶片中有纳米颗粒 (图 7), 表明部分 MgONPs 被植株根尖吸收, 经由茎部运输, 在番茄叶片中积累。而镁元素作为植物光合作用的组成元素之一, 能增加叶绿素含量, 促进光合作用, 提高植物的物质同化作用, 最终促进植物生长。本研究通过灌根的方式处理植株, MgONPs 可能由土壤中腐殖酸和根系分泌物进行生物转化, 接触根系表面的孔隙, 根系细胞吸收纳米材料后再通过木质部单向途径与水一起运输, 最后由维管束系统分布于整个植株^[33]。纳米材料由于具有较小的粒径和较高的表面活性, 有利于增加水和矿物质的流动及养分的吸收^[34], 此作用方式可能促进了植株的健康

生长和产量的提高。不仅如此, 带电荷的纳米材料能迅速在植物体内目标位置聚集^[35], 关于这点, 前期研究已经证实。MgONPs 在盐溶液中带正电荷^[6], 推测此特性也许是 MgONPs 在番茄植株体内吸收传导的重要原因。且 MgONPs 还能作为抗菌剂在植物保护方面显示出较好的应用前景^[6]。综上所述, MgONPs 在农业生产领域有巨大的应用潜力, 但是其与植物和病原菌的互作机制还有待进一步探索。

4 结论

MgONPs 在土壤中的分散程度虽然不如在去离子水中, 但是依然表现出对番茄生长的显著促进作用, 且对种子发芽和幼苗生长无任何不利影响。施入土壤后, MgONPs 能被番茄根系吸收, 通过维管束系统向上运输至叶片中, 从而显著增加叶绿素含量和相对含水量, 最终促进了幼苗的生长和干物质积累。在基本试验条件下, 高浓度 (250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的 MgONPs 促进番茄生长的效果好于低浓度。

参 考 文 献:

- [1] Schonewille J T. Magnesium in dairy cow nutrition: an overview[J]. *Plant and Soil*, 2013, 368(1-2): 167-178.
- [2] Guo W, Nazim H, Liang Z, et al. Magnesium deficiency in plants: An urgent problem[J]. *Crop Journal*, 2016, 4(2): 83-91.
- [3] Cakmak I, Kirkby E A. Role of magnesium in carbon partitioning and alleviating photooxidative damage[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 133(4): 692-704.
- [4] 袁婷, 王正银, 谷守宽, 等. 低钾配施纳米氢氧化镁对白菜的营养效应研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(1): 254-261.
Yuan T, Wang Z Y, Gu S K, et al. Effect of combined application of low level potassium fertilizer with nano-Mg(OH)₂ on Chinese cabbage quality[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2017, 23(1): 254-261.
- [5] 自由路, 金继运, 杨俐苹. 我国土壤有效镁含量及分布状况与含镁肥料的应用前景研究[J]. *土壤肥料*, 2004, (2): 3-5.
Bai Y L, Jin J Y, Yang L P. Study on the content and distribution of soil available magnesium and foreground of magnesium fertilizer in China[J]. *Soils and Fertilizers*, 2004, (2): 3-5.
- [6] Cai L, Chen J, Liu Z, et al. Magnesium oxide nanoparticles: effective agricultural antibacterial agent against *Ralstonia solanacearum*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 790.
- [7] Song G, Ma S, Tang G, et al. Preparation and characterization of flame retardant form-stable phase change materials composed by EPDM, paraffin and nano magnesium hydroxide[J]. *Energy*, 2010, 35(5): 2179-2183.
- [8] López-Moreno M L, de la Rosa G, Hernández-Viezas J Á, et al. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(19): 7315-7320.

- [9] Lahiani M H, Chen J, Lrin F, *et al.* Interaction of carbon nanohorns with plants: uptake and biological effects[J]. *Carbon*, 2015, 81: 607–619.
- [10] Tripathi D K, Singh V P, Prasad S M, *et al.* Silicon nanoparticles (SiNp) alleviate chromium (VI) phytotoxicity in *Pisum sativum* (L.) seedlings[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2015, 96: 189–198.
- [11] Ghormade V, Deshpande M V, Paknikar K M. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants[J]. *Biotechnology Advances*, 2011, 29(6): 792–803.
- [12] Yuan L, Richardson C J, Ho M, *et al.* Stress responses of aquatic plants to silver nanoparticles[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(5): 2558–2565.
- [13] Lee W M, Kwak J I, An Y J. Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: Media effect on phytotoxicity[J]. *Chemosphere*, 2012, 86(5): 491–499.
- [14] López-Moreno M L, de la Rosa G, Hernández-Viezcás J A, *et al.* X-ray absorption spectroscopy (XAS) corroboration of the uptake and storage of CeO₂ nanoparticles and assessment of their differential toxicity in four edible plant species[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(6): 3689–3693.
- [15] Raliya R, Nair R, Chavalmane S, *et al.* Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant[J]. *Metallomics*, 2015, 7(12): 1584–1594.
- [16] Arruda S C C, Silva A L D, Galazzi R M, *et al.* Nanoparticles applied to plant science: A review[J]. *Talanta*, 2015, 131: 693–705.
- [17] Kumar V, Guleria P, Kumar V, *et al.* Gold nanoparticle exposure induces growth and yield enhancement in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 461: 462–468.
- [18] Wang H, Kou X, Pei Z, *et al.* Physiological effects of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and pumpkin (*Cucurbita mixta*) plants[J]. *Nanotoxicology*, 2011, 5(1): 30–42.
- [19] Chen J, Yang L, Li S, *et al.* Various physiological response to graphene oxide and amine-functionalized graphene oxide in wheat (*Triticum aestivum*)[J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 1104.
- [20] Krishnaraj C, Jagan E G, Ramachandran R, *et al.* Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. Plant Growth Metabolism[J]. *Process Biochemistry*, 2012, 47(4): 651–658.
- [21] Kole C, Kole P, Randunu K M, *et al.* Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*)[J]. *BMC Biotechnology*, 2013, 13(1): 37.
- [22] Jhansi K, Jayarambabu N, Reddy K P, *et al.* Biosynthesis of MgO nanoparticles using mushroom extract: effect on peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed germination[J]. *3 Biotech*, 2017, 7(4): 263.
- [23] Wang W, Tarafdar J, Biswas P. Nanoparticle synthesis and delivery by an aerosol route for watermelon plant foliar uptake[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2013, 15(1): 1417.
- [24] Stoimenov P K, Klinger R L, Marchin G L, *et al.* Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents[J]. *Langmuir*, 2002, 18(17): 6679–6686.
- [25] Nadtochenko V A, Nikandrov V V, Gorenberg A A, *et al.* Nanophotobiocatalysts based on mesoporous titanium dioxide films conjugated with enzymes and photosynthetic reaction centers of Bacteria[J]. *High Energy Chemistry*, 2008, 42(7): 591–593.
- [26] Hong F, Zhou J, Liu C, *et al.* Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach[J]. *Biological Trace Element Research*, 2005, 105(1–3): 269–279.
- [27] Rathore I, Tarafdar J C. Perspectives of biosynthesized magnesium nanoparticles in foliar application of wheat plant[J]. *Journal of BioNanoScience*, 2015, 9(3): 209–214.
- [28] Smirnov N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation[J]. *New Phytologist*, 1993, 125(1): 27–58.
- [29] Mirzajani F, Askari H, Hamzelou S, *et al.* Effect of silver nanoparticles on *Oryza sativa* L. and its rhizosphere bacteria[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 88: 48–54.
- [30] Ruttkay-Nedecky B, Krystofova O, Nejdil L, *et al.* Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2017, 15(1): 33.
- [31] Jones B J. Tomato plant culture. in the field, greenhouse, and home garden[M]. Florida: CRC Press LLC, 1999.
- [32] 李惠霞. 石灰性土壤日光温室栽培番茄缺镁原因研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- Li H X. The reason of magnesium deficiency in tomato grown in calcareous soil under solar greenhouse[D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2018.
- [33] López-Moreno M L, de la Rosa G, Hernández-Viezcás J A, *et al.* X-ray absorption spectroscopy (XAS) corroboration of the uptake and storage of CeO₂ nanoparticles and assessment of their differential toxicity in four edible plant species[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(6): 3689–3693.
- [34] Castiglione M R, Giorgetti L, Geri C, *et al.* The effects of nano-TiO₂ on seed germination, development and mitosis of root tip cells of *Vicia narbonensis* L. and *Zea mays* L.[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2011, 13(6): 2443–2449.
- [35] Corredor E, Testillano P S, Coronado M J, *et al.* Nanoparticle penetration and transport in living pumpkin plants: in situ subcellular identification[J]. *BMC Plant Biology*, 2009, 9(1): 45.