

## 外源H<sub>2</sub>S对桃根系构型及叶片光合特性的影响

高晓兰, 吴雪莲, 张淑辉, 杜安齐, 肖元松\*, 彭福田\*

山东农业大学园艺科学与工程学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

**摘要:** 以一年生毛桃(*Prunus persica*)实生苗为试材, 研究了0、0.05、0.1、0.2、0.3 mmol·L<sup>-1</sup>硫氢化钠(NaHS)以及0.1 mmol·L<sup>-1</sup>硫化氢(H<sub>2</sub>S)清除剂亚牛磺酸(HT)对桃实生苗根系构型、叶片光合特性、根系和叶片中H<sub>2</sub>S合成酶编码基因(*PpDCD*和*PpLCD*)表达及根系H<sub>2</sub>S含量的调控作用。结果表明, 与对照相比, 0.1~0.3 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS处理显著提高了桃实生苗根系活力、一级侧根数量、根系总长度、总体积、总表面积、平均直径、根尖数、分叉数、分形维数、根冠比、叶片净光合速率以及植株生物量, 以0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS处理作用最显著, 较高浓度(0.3 mmol·L<sup>-1</sup>) NaHS处理对根系生长和叶片光合作用的促进作用减弱; 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS+0.1 mmol·L<sup>-1</sup> HT处理部分消除了外源H<sub>2</sub>S对根系生长、叶片光合作用及植株生物量积累的促进作用; 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> HT处理抑制了根系生长, 降低了叶片光合作用水平和植株生物量的积累。其他钠盐(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>、NaAc、NaHSO<sub>4</sub>、NaHSO<sub>3</sub>)对根系生长的作用效果甚微, 表明NaHS对桃实生苗根系生长的促进作用归因于其释放的H<sub>2</sub>S。0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS处理后, 桃实生苗根系和叶片中*PpDCD*和*PpLCD*表达量分别在2和4 h达到最高水平, 随后均逐渐下降至初始水平。0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS处理显著提高了桃实生苗根系H<sub>2</sub>S含量。可见, 外源H<sub>2</sub>S可诱导桃实生苗根系和叶片中H<sub>2</sub>S合成酶编码基因表达, 提高根系内源H<sub>2</sub>S含量, 并促进根系生长, 提高叶片净光合速率。

**关键词:** 桃实生苗; 外源H<sub>2</sub>S; 根系构型; 光合特性

根系是植物生长的根本, 是植物吸收水分、养分和氧气的重要组织器官。侧根能够大幅增加根系的吸收面积, 其数量、分布及发育状况的好坏直接影响根系对水肥的吸收。侧根的发生是由各种内部信号和外部因素共同决定的, 侧根的数量、长度、直径及侧根级次等对根区环境、营养条件等因素非常敏感(Ma等2001; Fan等2007)。桃树(*Prunus persica*)为浅根性果树, 根系呼吸强度高, 对氧气的需求量大, 根区氧气含量高低显著影响侧根的发生。本课题组前期研究了增氧栽培对桃根系生长的调控效应, 发现桃根区通气可显著促进根系的发生和生长, 并促进根系对养分的吸收利用, 提高养分利用效率(Xiao等2015, 2018), 表明根区气体环境对桃根系生长具有重要的调控作用。

硫化氢(H<sub>2</sub>S)是继一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)之后第3个被发现的气体信号分子, 参与种子萌发、生长发育、气孔运动, 以及耐逆性等多种生理过程(闵雄等2016)。在植物中H<sub>2</sub>S主要是由L/D-半胱氨酸脱巯基酶分解半胱氨酸产生的(Álvarez等2010; Lisjak等2013)。最近越来越多的研究表明, H<sub>2</sub>S在动植物体内广泛存在, 作为第二信使, 能够改善植物叶片光合作用, 调节气孔运动, 诱导侧根的发生, 并可调节植物对非生物胁迫的应答(Lin等

2012; Fang等2014; Qiao等2015; Lv等2017; 周凡超等2018)。H<sub>2</sub>S不仅对根系的伸长具有剂量效应, 而且与植物侧根的发生相关(Mei等2017)。H<sub>2</sub>S可通过与其他植物激素和信号分子相互作用, 影响植物的生长发育。Li等(2014)研究表明H<sub>2</sub>S可与生长素(auxin, IAA)相互作用, 调节甘薯(*Ipomoea batatas*)和番茄(*Solanum lycopersicum*)植株的不定根和侧根形成。

桃树根系构型对于养分和水分的吸收利用至关重要, H<sub>2</sub>S参与调控植物生长发育的很多生命过程, 但其对桃树生长发育的作用效果尚不明确。为明确H<sub>2</sub>S对桃根系生长和光合特性的影响, 本试验以桃实生苗为试材, 研究外源H<sub>2</sub>S及其清除剂亚牛磺酸(hypotaurine, HT)对其根系构型、叶片光合特性、根系和叶片中H<sub>2</sub>S合成酶编码基因(*PpDCD*和*PpLCD*)表达及根系H<sub>2</sub>S含量的调控作用, 探讨H<sub>2</sub>S调控桃树生长发育的作用效果, 以期对桃树栽培生理提供有益的参考。

收稿 2018-09-12 修定 2018-12-13

资助 国家自然科学基金(31801812)、国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS: 30-2-02)、山东省自然科学基金(ZR2017BC017)和山东省“双一流”建设奖补资金(SYL2017YSTD10)。

\* 共同通讯作者: 肖元松(ysxiao@sdau.edu.cn)、彭福田(pft@sdau.edu.cn)。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

试验在山东农业大学作物生物学国家重点实验室进行,选取经沙藏层积处理100 d、大小基本一致的毛桃[*Prunus persica* (L.) Batsch]种子,播种在育苗穴盘中。当幼苗长至5、6片真叶时,选取长势基本一致、无病虫害的植株200株,定植于塑料盆内进行处理,塑料盆规格为内径16 cm、高15 cm。栽培基质为石英砂,石英砂表面距盆钵上沿3 cm,每盆定植1株,常规管理。

为研究H<sub>2</sub>S对桃实生苗根系构型的影响,以NaHS作为外源H<sub>2</sub>S供体处理桃实生苗,设置以下7个处理:0NaHS(100 mL清水,对照)、0.05NaHS(100 mL 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS)、0.1NaHS(100 mL 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS)、0.2NaHS(100 mL 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS)、0.3NaHS(100 mL 0.3 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS)、0.2NaHS+0.1HT(100 mL 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS和0.1 mmol·L<sup>-1</sup>的H<sub>2</sub>S清除剂HT)、0.1HT(100 mL 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> HT)。每处理30株。每隔3 d处理1次,共处理3次。NaHS(H<sub>2</sub>S供体,纯度70%)、HT(H<sub>2</sub>S清除剂,纯度≥98%)均购自Sigma公司。

### 1.2 测定项目和方法

研究外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗根系和叶片H<sub>2</sub>S合成关键酶编码基因、根系H<sub>2</sub>S含量、根系构型参数、根系活力、叶片光合特性及生物量的影响。分别在处理第1次的0、0.5、1、2、4、6、8 h后取样,检测桃实生苗根系和叶片H<sub>2</sub>S合成关键酶编码基因(*PpLCD*和*PpDCD*)表达水平;处理12 h测定根系H<sub>2</sub>S含量;处理2周后取样测定根系活力和根系构型参数;处理3周后测定叶片光合特性及植株生物量。

为确定在本研究NaHS对桃实生苗根系生长的影响是否归因于其释放出的H<sub>2</sub>S,排除钠离子对试验的影响,分别用0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>、NaAc、NaHSO<sub>4</sub>和NaHSO<sub>3</sub>等钠盐处理桃实生苗,每隔3 d处理1次,共处理3次。于第1次处理2周后取样测定侧根数量,比较其他钠盐与NaHS处理对桃实生苗根系生长的影响。

#### 1.2.1 根系构型参数的测定

进行破坏性取样,取出整个根系,冲洗干净,

使用专业版WinRHIZO根系分析系统测定根系构型参数,包括总表面积(cm<sup>2</sup>)、根尖数、总体积(cm<sup>3</sup>)、分枝数、交叉数、根系平均直径(cm)、侧根数量、根系总长度(cm)。每处理重复3次,结果取其平均值(下同)。

#### 1.2.2 根系H<sub>2</sub>S含量的测定

H<sub>2</sub>S含量参照Sekiya等(1982)的亚甲基蓝法,略做修改进行测定。取0.1 g桃叶片,加入0.9 mL 20 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl缓冲液(pH=8.0),研磨至匀浆,离心取上清液,移500 μL于试管中,再加入2 mL匀浆液,然后加入一定量ZnAc。之后在试管中加入100 μL 30 mmol·L<sup>-1</sup> FeCl<sub>3</sub>溶液和100 μL 20 mmol·L<sup>-1</sup> N,N-二甲基对苯二胺。将试管用塞子塞好,室温反应30 min,然后测定670 nm下的吸光度值。

#### 1.2.3 叶片气体交换参数的测定

采用CIRAS-3便携式光合仪(PP Systems, 英国),在9:00~11:00时测定叶片光合参数。选取每个处理植株中部枝条成熟叶片测定其净光合速率、气孔导度、胞间CO<sub>2</sub>浓度和蒸腾速率,并使用便携式叶绿素仪(SPAD-502PLUS, 日本)测定叶片SPAD值。

#### 1.2.4 桃实生苗根系生物量和根冠比的测定

将植株解析为根系地下部和地上部两部分,分别称量各部分鲜重,并计算根冠比(地下部鲜重与地上部鲜重的比值)。

#### 1.2.5 实时荧光定量PCR分析

采用EASYspin Plus植物RNA快速提取试剂盒(北京爱德莱生物科技有限公司)提取样品RNA,利用反转录试剂盒(Perfect Real Time, TaKaRa)获得用于实时荧光定量PCR的cDNA。实时荧光定量PCR采用SYBR Green PCR *Premix Ex Taq* (宝生物公司),操作参照说明书进行。使用CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, USA)进行实时荧光定量PCR。反应程序为:95°C预变性30 s;95°C变性5 s,退火30 s(退火温度根据设计的引物温度而定),退火延伸65°C、5 s,40个循环。所有反应设3次技术学重复,所得数据采用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>进行计算分析。引物参见表1。

### 1.3 数据分析

试验数据采用Excel绘制图表,采用DPS软件

表1 本研究所用的引物

Table 1 Primers used in this study

引物名称	引物序列(5'→3')
PpLCD-F	AGGATTGGCTATAGGTATGATTGCAG
PpActinR	TTGAAGCAGGCATTGTAATGATAAG
PpLCD-R	ATCCCTTCTCATATCTTCTCTC
PpDCD-F	ATCATCACGCTTCAACCA
PpDCD-R	GTTATCTTCATCGGCGTCTTCG
PpActinF	CTTACCATTCCAGTTCATTGTC

对数据进行显著差异性检验(Duncan's新复极差法,  $P<0.05$ )。

## 2 实验结果

### 2.1 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗根系构型的影响

外源H<sub>2</sub>S处理促进了桃实生苗一级侧根的发生, 提高了一级侧根的数量、根尖数、分叉数, 同时促进了根系的伸长和加粗生长。除0.05NaHS处理外, 根系总长度、总体积、总表面积、根系平均直径显著高于对照, 以0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS处理效果最明显, 但0.3 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS处理对根系生长的促进作用减弱。另外, NaHS外加H<sub>2</sub>S清除剂HT可部分消除H<sub>2</sub>S对桃根系生长的促进作用, 单独使用0.1 mmol·L<sup>-1</sup> HT处理在一定程度上抑制了根系的生长(表2)。

### 2.2 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗根系分形维数的影响

外源H<sub>2</sub>S处理提高了桃实生苗根系的分形维数, 以0.2NaHS处理下根系分形维数最高, 但添加H<sub>2</sub>S清除剂后根系分形维数降低(图1), 表明外源H<sub>2</sub>S可提高根系结构的复杂程度。

### 2.3 其他钠盐对桃实生苗侧根数量的影响

结果表明, 除0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS处理外, 其他处理均未明显提高桃实生苗一级侧根的数量(图2), 可见本试验中硫化钠对桃实生苗根系生长的促进作用归因于其释放的H<sub>2</sub>S。

外源H<sub>2</sub>S可提高桃实生苗根系活力, 以0.2NaHS处理根系活性最高, 但添加H<sub>2</sub>S清除剂可在一定程度上降低根系活力(图3)。与对照相比, 除0.05NaHS处理外, 0.1NaHS、0.2NaHS、0.3NaHS和0.2NaHS+0.1HT处理根系活力显著提高, 以0.2NaHS效果最好; 0.1HT处理根系活力降低了4.20%。

### 2.4 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗根系生物量的影响

外源H<sub>2</sub>S处理促进了桃实生苗的生长。由表3可以看出, 与对照相比, 除0.05NaHS处理外, 0.1NaHS、0.2NaHS、0.3NaHS和0.2NaHS+0.1HT处理显著提高了桃实生苗地下部鲜重、地上部鲜重和植株总质量, 而添加H<sub>2</sub>S清除剂的处理在一定程度上降低了桃实生苗地下部鲜重、地上部鲜重和植株总质量; 外源H<sub>2</sub>S处理在一定程度上提高了桃实生苗的根冠比。结果表明, H<sub>2</sub>S对桃植株地下部生长的促进作用大于对地上部生长的促进作用。

### 2.5 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗叶片光合特性的影响

外源H<sub>2</sub>S可提高桃叶片叶绿素含量和净光合速率。与对照相比, 除0.05NaHS处理外, 0.1 NaHS、0.2NaHS、0.3NaHS和0.2NaHS+0.1HT处理桃实生苗叶片SPAD值分别提高了4.90%、7.69%、12.59%、8.50%和4.44%, 差异显著; 0.1HT处理下降了1.64%, 无显著差异。与对照相比, 除0.05NaHS外, 0.1NaHS、0.2NaHS、0.3NaHS和0.2NaHS+0.1HT处理桃实生苗

表2 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗根系构型的影响Table 2 Effect of exogenous H<sub>2</sub>S on root architecture of peach seedlings

处理	0NaHS	0.05NaHS	0.1NaHS	0.2NaHS	0.3NaHS	0.2NaHS+0.1HT	0.1HT
一级侧根数	32 <sup>cd</sup>	35 <sup>cd</sup>	38 <sup>bc</sup>	45 <sup>a</sup>	41 <sup>ab</sup>	35 <sup>cd</sup>	27 <sup>e</sup>
总长度/cm	56.67 <sup>cd</sup>	58.50 <sup>d</sup>	63.72 <sup>bc</sup>	75.43 <sup>a</sup>	70.09 <sup>ab</sup>	59.25 <sup>e</sup>	51.06 <sup>d</sup>
总体积/cm <sup>3</sup>	0.24 <sup>c</sup>	0.25 <sup>c</sup>	0.30 <sup>b</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.32 <sup>ab</sup>	0.25 <sup>e</sup>	0.22 <sup>c</sup>
平均直径/mm	0.30 <sup>d</sup>	0.33 <sup>c</sup>	0.36 <sup>bc</sup>	0.39 <sup>a</sup>	0.38 <sup>ab</sup>	0.33 <sup>e</sup>	0.29 <sup>d</sup>
根尖数	64 <sup>de</sup>	67 <sup>cd</sup>	74 <sup>bc</sup>	82 <sup>a</sup>	77 <sup>ab</sup>	67 <sup>cd</sup>	58 <sup>e</sup>
分叉数	122 <sup>cd</sup>	132 <sup>bc</sup>	146 <sup>ab</sup>	159 <sup>a</sup>	154 <sup>a</sup>	133 <sup>bc</sup>	109 <sup>d</sup>
总表面积/cm <sup>2</sup>	4.04 <sup>de</sup>	4.26 <sup>cd</sup>	4.67 <sup>bc</sup>	5.50 <sup>a</sup>	5.01 <sup>ab</sup>	4.31 <sup>cd</sup>	3.74 <sup>e</sup>

同一行内数据用不同小写字母标识表示差异显著( $P<0.05$ ), 下表同此。

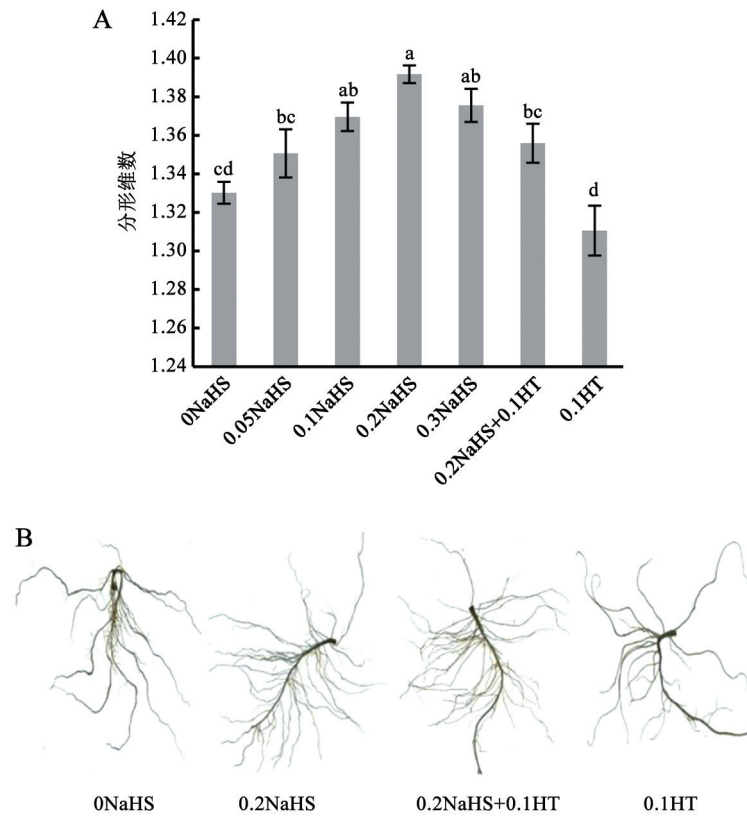
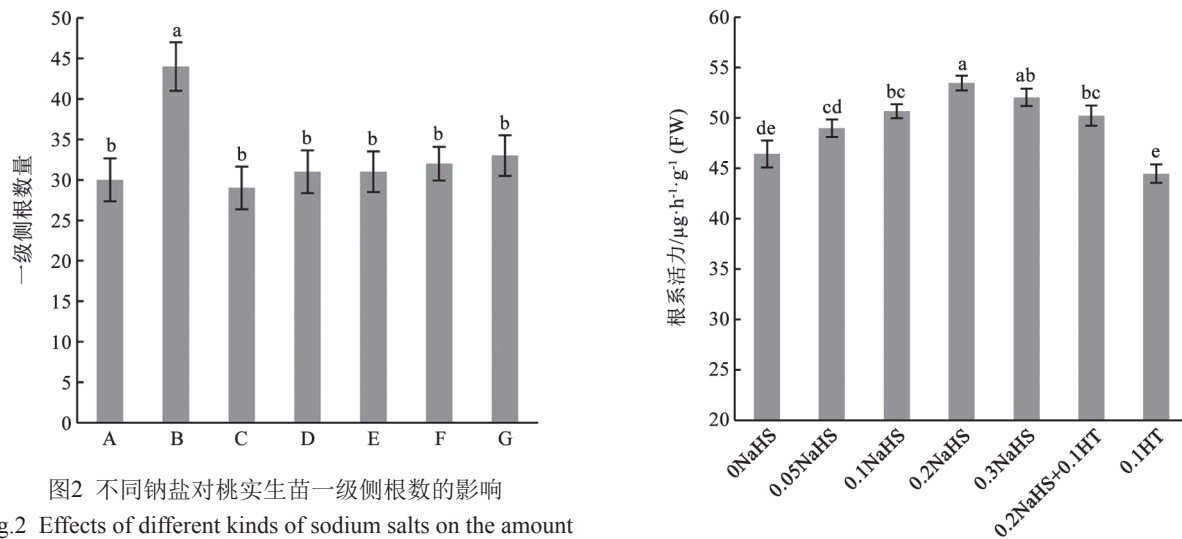
图1 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗根系分形维数的影响Fig.1 Effect of exogenous H<sub>2</sub>S on fractal dimension of roots of peach seedlings  
各柱形上不同小写字母标识表示差异显著( $P < 0.05$ ), 下图同此。

图2 不同钠盐对桃实生苗一级侧根数的影响

Fig.2 Effects of different kinds of sodium salts on the amount of first lateral roots

A: H<sub>2</sub>O; B: 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS; C: 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; D: 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>; E: 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaAc; F: 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHSO<sub>4</sub>; G: 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHSO<sub>3</sub>.

图3 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗根系活力的影响Fig.3 Effect of exogenous H<sub>2</sub>S on root vigor of peach seedlings



表3 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗生物量和根冠比的影响Table 3 Effect of exogenous H<sub>2</sub>S on biomass and root-shoot ratio of peach seedlings

处理	0NaHS	0.05NaHS	0.1NaHS	0.2NaHS	0.3NaHS	0.2NaHS+0.1HT	0.1HT
地下部鲜重/g	1.61 <sup>a</sup>	1.69 <sup>de</sup>	1.99 <sup>bc</sup>	2.30 <sup>a</sup>	2.18 <sup>ab</sup>	1.87 <sup>cd</sup>	1.35 <sup>f</sup>
地上部鲜重/g	3.21 <sup>de</sup>	3.24 <sup>de</sup>	3.80 <sup>bc</sup>	4.29 <sup>a</sup>	4.11 <sup>ab</sup>	3.50 <sup>cd</sup>	2.89 <sup>e</sup>
总质量/g	4.82 <sup>d</sup>	4.93 <sup>d</sup>	5.79 <sup>bc</sup>	6.59 <sup>a</sup>	6.29 <sup>ab</sup>	5.27 <sup>cd</sup>	4.24 <sup>e</sup>
根冠比	0.50 <sup>ab</sup>	0.52 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>	0.54 <sup>a</sup>	0.53 <sup>a</sup>	0.51 <sup>a</sup>	0.47 <sup>b</sup>

叶片净光合速率分别提高了3.70%、7.32%、12.83%、8.11%和3.39%，差异显著；0.1HT处理下降了6.54%，无显著差异(表4)。

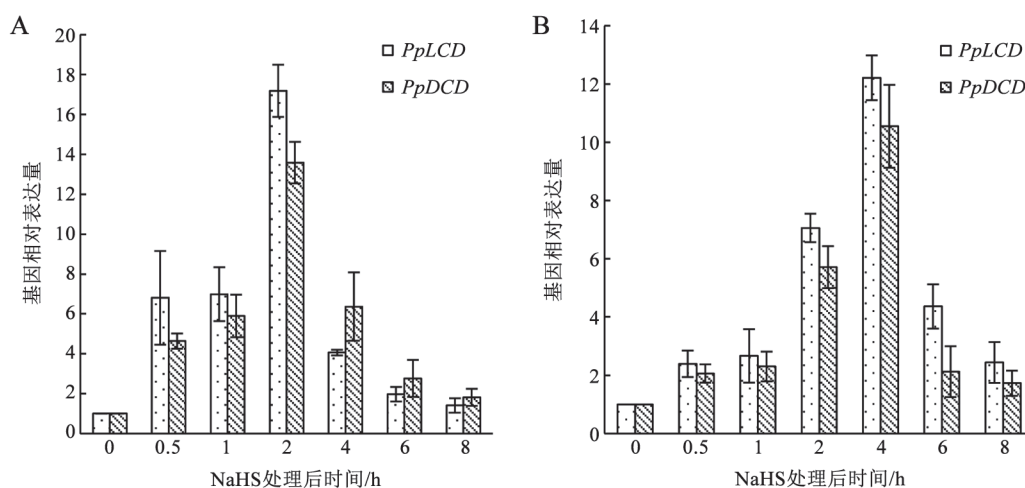
## 2.6 桃根系和叶片中H<sub>2</sub>S合成酶关键基因表达量对外源H<sub>2</sub>S的响应

桃实生苗根系和叶片中H<sub>2</sub>S合成酶L-半胱氨酸脱巯基酶(L-cysteine desulhydrase, LCD)的编码基因*PpLCD*和*PpDCD*均对外源H<sub>2</sub>S产生响应,但存在一定差异。结果表明,在根中,外源施用0.2 mm·L<sup>-1</sup>的

NaHS处理桃实生苗根系0.5 h后, *PpLCD*和*PpDCD*表达水平分别上调了6.8和4.6倍。处理2 h后其表达量达到最高,分别上调了17.2和13.6倍,之后表达量逐渐降低,直至稳定到初始水平(图4-A)。在叶片中, *PpLCD*和*PpDCD*对外源H<sub>2</sub>S的反应相对迟钝。在处理4 h后表达量达到最高水平, *PpLCD*和*PpDCD*分别上调了12.2和10.5倍,随后逐渐下降到初始水平(图4-B)。结果表明,外源H<sub>2</sub>S可诱导H<sub>2</sub>S合成酶LCD编码基因的表达。

表4 外源H<sub>2</sub>S对桃实生苗叶片光合特性的影响Table 4 Effect of exogenous H<sub>2</sub>S on photosynthetic characteristics of peach seedlings

处理	0NaHS	0.05NaHS	0.1NaHS	0.2NaHS	0.3NaHS	0.2NaHS+0.1HT	0.1HT
叶绿素含量(SPAD值)	28.60 <sup>c</sup>	30.00 <sup>bc</sup>	30.80 <sup>ab</sup>	32.20 <sup>a</sup>	31.03 <sup>ab</sup>	29.87 <sup>bc</sup>	28.13 <sup>c</sup>
净光合速率/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	12.70 <sup>cd</sup>	13.17 <sup>bc</sup>	13.63 <sup>ab</sup>	14.33 <sup>a</sup>	13.73 <sup>ab</sup>	13.13 <sup>bc</sup>	11.87 <sup>d</sup>
胞间CO <sub>2</sub> 浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$	319.00 <sup>a</sup>	312.00 <sup>ab</sup>	300.67 <sup>bc</sup>	282.00 <sup>e</sup>	289.00 <sup>de</sup>	311.00 <sup>bc</sup>	324.00 <sup>a</sup>
蒸腾速率/ $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	3.10 <sup>cd</sup>	3.27 <sup>bc</sup>	3.43 <sup>ab</sup>	3.67 <sup>a</sup>	3.50 <sup>ab</sup>	3.30 <sup>bc</sup>	2.93 <sup>cd</sup>
气孔导度/ $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	154.00 <sup>bc</sup>	157.00 <sup>bc</sup>	162.00 <sup>ab</sup>	166.00 <sup>a</sup>	162.00 <sup>ab</sup>	159.00 <sup>ab</sup>	149.00 <sup>c</sup>

图4 外源H<sub>2</sub>S对桃根系(A)和叶片(B) H<sub>2</sub>S合成酶编码基因表达的影响Fig.4 Effect of exogenous H<sub>2</sub>S on expressions of H<sub>2</sub>S synthase-encoding genes in peach roots (A) and leaves (B)

### 2.7 外源H<sub>2</sub>S对桃根系H<sub>2</sub>S含量的影响

外源H<sub>2</sub>S处理桃实生苗12 h后, 根系中H<sub>2</sub>S含量显著提高, 与对照相比, 除0.05NaHS处理外, 0.1NaHS、0.2NaHS、0.3NaHS处理根系中H<sub>2</sub>S含量分别提高了1.2倍、1.4倍、1.7倍和1.9倍, 差异显著。同时, 研究发现添加H<sub>2</sub>S清除剂HT的处理降低了根系中H<sub>2</sub>S的含量, 其中, 与对照相比, 0.1HT处理根系中H<sub>2</sub>S含量降低了22.5% (图5)。结果表明, 桃根系H<sub>2</sub>S的合成可受外源H<sub>2</sub>S的诱导。

## 3 讨论

桃树根系是其生长发育的基础, 在植株各生理过程中具有重要作用, 如对水分和养分的吸收利用, 在植物生长中起到固定和机械支撑的作用等 (Smith和De Smet 2012)。侧根的形成对于植物根系构型的形成至关重要, 可直接影响水肥的吸收, 最终影响到植物的产量。

最近的研究结果表明, H<sub>2</sub>S信号分子在植物生理过程中发挥重要作用, 参与调控植物多种生理过程。Lin (2012)等研究结果表明, H<sub>2</sub>S供体NaHS可以诱导黄瓜幼苗不定根的产生。本试验结果表明, 随着外源H<sub>2</sub>S浓度的提高, 对桃实生苗根系生长的促进作用呈现先升高后降低的趋势, 其中0.2 mmol·L<sup>-1</sup>的NaHS处理对根系生长的促进作用最显著, 较高浓度(0.3 mmol·L<sup>-1</sup>)的NaHS处理对根系生

长和叶片光合作用的促进作用减弱(图1、2和表2、4), 表明相对低浓度的H<sub>2</sub>S可以促进桃实生苗根系生长, 而高浓度H<sub>2</sub>S抑制根系的生长。这显现了H<sub>2</sub>S在生物体内的生理和毒理作用(孙丽敏等2016), 也表明H<sub>2</sub>S对根系的伸长具有剂量效应(李东波等2010)。推测植物体内H<sub>2</sub>S生理作用表现为高浓度的H<sub>2</sub>S对植物生长有害, 低浓度的H<sub>2</sub>S在调节植物的生长发育中起到很重要的作用。但H<sub>2</sub>S调控桃根系生长的具体机理还有待进一步研究。

最近越来越多的研究表明, H<sub>2</sub>S在动植物体内广泛存在。植物中H<sub>2</sub>S的产生主要是由D-半胱氨酸脱巯基酶(D-cysteine desulfhydrase, DCD)和LCD催化半胱氨酸分解产生的(Álvarez等2010; Linden等2010)。本试验发现, 外源H<sub>2</sub>S可诱导桃实生苗根系中H<sub>2</sub>S合成酶编码基因*PpLCD*和*PpDCD*表达量升高(图4), 还可显著提高桃实生苗根系内源H<sub>2</sub>S的含量, 并且随着外源H<sub>2</sub>S浓度的提高, 根系内源H<sub>2</sub>S含量逐渐提高; 而HT作为H<sub>2</sub>S清除剂, 可清除根系内的H<sub>2</sub>S。Fang等(2014)研究发现, NaHS处理番茄幼苗可提高其根系中硫化氢合成酶活性和内源H<sub>2</sub>S的含量。本试验发现, HT在一定程度上消除了NaHS对桃根系内源H<sub>2</sub>S含量的提高作用, 且单独使用HT处理显著降低了根系内源H<sub>2</sub>S的含量(图5), 表明外源NaHS处理可通过诱导桃实生苗根系H<sub>2</sub>S合成酶编码基因的表达量上调, 进一步提高桃根系中H<sub>2</sub>S的含量, 进而促进根系的生长。

研究表明, 低浓度的H<sub>2</sub>S能够改善光合作用, 调节气孔运动(Fang等2014)。本试验结果表明, 外源H<sub>2</sub>S处理可有效提高桃叶片叶绿素含量和净光合速率, 改善叶片光合功能, 并且促进植株的形态建成(表3和4), H<sub>2</sub>S清除剂部分消除了外源H<sub>2</sub>S对根系生长、叶片光合作用以及植株生物量积累的促进作用, 而添加H<sub>2</sub>S清除剂降低了植株H<sub>2</sub>S含量, 减弱了H<sub>2</sub>S调控植株生长发育的生理作用, 表明H<sub>2</sub>S在调控桃根系生长和光合作用中发挥一定作用, 其具体机制还有待进一步研究。一方面认为H<sub>2</sub>S在植物光合作用过程中, 可能通过改变叶绿体的超微结构, 使植物叶片中叶绿素含量升高, 从而提高光合效率, 并最终导致植物体的可溶性蛋白含量和总生物量的增加(Chen等2011), 改善叶片功

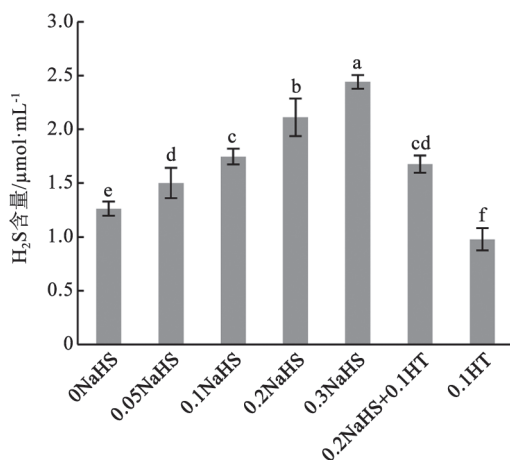


图5 外源H<sub>2</sub>S对桃根系H<sub>2</sub>S含量的影响

Fig.5 Effect of exogenous H<sub>2</sub>S on H<sub>2</sub>S content in peach roots

能, 进而促进植株的生物量的积累。另一方面, 可能是因为H<sub>2</sub>S作为信号分子, 通过调节核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, RuBisCO)活性以及巯基化合物氧化还原修饰作用等方面, 进而增强光合作用(Chen等2011)。

综上所述, 外源H<sub>2</sub>S处理可诱导桃实生苗根系和叶片中H<sub>2</sub>S合成酶编码基因*PpDCD*和*PpLCD*的表达, 提高桃实生苗根系内源H<sub>2</sub>S含量, 并促进根系生长, 提高叶片净光合速率。

### 参考文献(References)

- Álvarez C, Calo L, Romero LC, et al (2010). An *O*-acetylserine(thiol)lyase homolog with L-cysteine desulfhydrase activity regulates cysteine homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 152 (2): 656–669
- Chen J, Wu FH, Wang WH, et al (2011). Hydrogen sulphide enhances photosynthesis through promoting chloroplast biogenesis, photosynthetic enzyme expression, and thiol redox modification in *Spinacia oleracea* seedlings. *J Exp Bot*, 62 (13): 4481–4493
- Fan WG, Yang HQ (2007). Nutrient deficiency affects root architecture of young seedlings of *Malus hupehensis* (Pamp) Rehd. under conditions of artificial medium cultivation. *Agr Sci China*, 6 (3): 296–303
- Fang T, Cao Z, Li J (2014). Auxin-induced hydrogen sulfide generation is involved in lateral root formation in tomato. *Plant Physiol Bioch*, 76 (5): 44–51
- Li D, Xiao Z, Liu L, et al (2010). Effects of exogenous hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) on the root tip and root border cells of *Pisum sativum*. *Chin Bull Bot*, 45 (3): 354–362 (in Chinese with English abstract) [李东波, 肖朝霞, 刘灵霞等 (2010). 外源硫化氢对豌豆根尖及其边缘细胞的影响. *植物学报*, 45 (3): 354–362]
- Li J, Jia H, Wang J, et al (2014). Hydrogen sulfide is involved in maintaining ion homeostasis via regulating plasma membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter system in the hydrogen peroxide-dependent manner in salt-stress *Arabidopsis thaliana* root. *Protoplasma*, 251 (4): 899–912
- Lin YT, Li MY, Cui WT (2012). Haem oxygenase-1 is involved in hydrogen sulfide induced cucumber adventitious root formation. *J Plant Growth Regul*, 31: 519–528
- Linden DR, Levitt MD, Farrugia G, et al (2010). Endogenous production of H<sub>2</sub>S in the gastrointestinal tract: still in search of a physiologic function. *Antioxid Redox Signal*, 12 (9): 1135–1146
- Lisjak M, Teklic T, Wilson ID, et al (2013). Hydrogen sulfide: environmental factor or signalling molecule? *Plant Cell Environ*, 36 (9): 1607–1616
- Lv W, Yang L, Xu C, et al (2017). Cadmium disrupts the balance between hydrogen peroxide and superoxide radical by regulating endogenous hydrogen sulfide in the root tip of *brassica rapa*. *Front Plant Sci*, 8: 232
- Ma Z, Walk TC, Marcus A, et al (2001). Morphological synergism in root hair length, density, initiation and geometry for phosphorus acquisition in *Arabidopsis thaliana*: a modeling approach. *Plant Soil*, 236 (6): 221–235
- Mei Y, Chen H, Shen W, et al (2017). Hydrogen peroxide is involved in hydrogen sulfide-induced lateral root formation in tomato seedlings. *BMC Plant Biol*, 17: 162–170
- Min X, Zhou ZH, Li ZG (2016). The metabolism of signal molecule hydrogen sulfide and its role in the acquisition of heat tolerance in plants. *Plant Physiol J*, 52 (1): 37–46 (in Chinese with English abstract) [闵雄, 周志豪, 李忠光 (2016). 信号分子硫化氢的代谢及其在植物耐热性形成中的作用. *植物生理学报*, 52 (1): 37–46]
- Qiao Z, Jing T, Liu Z, et al (2015). H<sub>2</sub>S acting as a downstream signaling molecule of SA regulates Cd tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Soil*, 393 (1): 137–146
- Sekiya J, Schmidt A, Wilson LG, et al (1982). Emission of hydrogen sulfide by leaf tissue in response to L-cysteine. *Plant Physiol*, 70 (2): 430–436
- Smith S, De Smet I (2012). Root system architecture: insights from *Arabidopsis* and cereal crops. *Phil Trans R Soc B*, 367: 1441–1452
- Sun LM, Pei YX, Liu ZQ (2016). Relationship between H<sub>2</sub>S signal and WRKY in ABA regulating root growth and stomatal movement. *Bull Bot Res*, 36 (1): 97–104 (in Chinese with English abstract) [孙丽敏, 裴雁曦, 刘志强 (2016). H<sub>2</sub>S信号和WRKY在ABA调节根生长和气孔运动中的关系. *植物研究*, 36 (1): 97–104]
- Xiao Y, Peng F, Dang Z, et al (2015). Influence of rhizosphere ventilation on soil nutrient status, root architecture and the growth of young peach trees. *Soil Sci Plant Nutr*, 61: 775–787
- Xiao Y, Peng Y, Peng F, et al (2018). Effects of concentrated application of soil conditioners on soil–air permeability and absorption of nitrogen by young peach trees. *Soil Sci Plant Nutr*, 64 (3): 423–432
- Zhou FC, Wu CT, Li DD, et al (2018). Hydrogen sulfide promotes chilling tolerance of cucumber seedlings by alleviating low-temperature photoinhibition. *Plant Physiol J*, 54 (3): 411–420 (in Chinese with English abstract) [周超凡, 吴春涛, 李丹丹等(2016). 外源H<sub>2</sub>S通过减轻低温光抑制增强黄瓜幼苗耐冷性. *植物生理学报*, 54 (3): 411–420]

## Effect of exogenous H<sub>2</sub>S on root architecture and leaf photosynthetic characteristics of peach seedlings

GAO Xiao-Lan, WU Xue-Lian, ZHANG Shu-Hui, DU An-Qi, XIAO Yuan-Song\*, PENG Fu-Tian\*

College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University; State Key Laboratory of Crop Biology, Taian, Shandong 271018, China

**Abstract:** Peach (*Prunus persica*) seedlings were used to investigate the effects of different concentrations (0, 0.05, 0.1, 0.2 and 0.3 mmol·L<sup>-1</sup>) of NaHS (as H<sub>2</sub>S donor) and 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> hypotaurine (HT, as H<sub>2</sub>S scavenger) on root architecture, leaf photosynthetic characteristics, expression characteristics of H<sub>2</sub>S synthase-encoding genes (*PpDCD* and *PpLCD*) in roots and leaves, and H<sub>2</sub>S content in roots. The results show that compared to control, H<sub>2</sub>S content in root, root activity, primary lateral root amount, total root length, total root volume, total root surface area, average diameter, amount of root tips, amount of root branches, root fractal dimension, leaf net photosynthetic rate, plant biomass and root-shoot ratio of peach seedlings were significantly increased under 0.1–0.3 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS treatments. 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS treatment showed the best effects. Higher concentration (0.3 mmol·L<sup>-1</sup>) of NaHS treatment weakened the promotion of root growth and leaf photosynthesis. The promotion of root growth, leaf photosynthesis and plant biomass accumulation were partially eliminated under 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS + 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> HT treatment. 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> HT treatment reduced root H<sub>2</sub>S content, inhibited root growth, and decreased leaf photosynthesis and plant biomass accumulation. Otherwise, there had no significant effect on the root growth of peach seedlings under the treatments with other sodium salt including Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, NaAc, NaHSO<sub>4</sub> and NaHSO<sub>3</sub>. It indicates that the promoting effect of NaHS on the root growth of peach seedlings is attributed to the release of H<sub>2</sub>S. The expressions of *PpDCD* and *PpLCD* within 2 and 4 h reached the highest levels in roots and leaves, and then dropped to the initial levels. The H<sub>2</sub>S content in the roots of peach seedlings was significantly increased under 0.2 mmol·L<sup>-1</sup> NaHS treatment. These results indicate that the expression of H<sub>2</sub>S synthase-encoding genes in roots and leaves of peach seedlings can be induced by exogenous H<sub>2</sub>S. Exogenous H<sub>2</sub>S can increase H<sub>2</sub>S content in root, and promote the root growth and the leaf photosynthetic rate.

**Key words:** peach seedlings; exogenous H<sub>2</sub>S; root architecture; photosynthetic characteristics

Received 2018-09-12 Accepted 2018-12-13

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31801812), Foundation of China Agricultural Research System (CARS: 30-2-02), Shandong Natural Science Foundation (ZR2017BC017), and Foundation of Shandong “Double Tops” Program (SY-L2017YSTD10).

\*Co-corresponding authors: Xiao YS (ysxiao@sdau.edu.cn), Peng FT (pft@sdau.edu.cn).