

网络出版时间:2020-04-28 17:30 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2020.11.004
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20200428.0926.004.html

油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗生长生理及光合特性的影响

王丽君¹,李 冬¹,申洪涛²,王艳芳¹,马宜林¹,
赵世民³,肖金胜⁴,刘 领¹

(1 河南科技大学 农学院,河南 洛阳 471023;2 河南中烟工业有限责任公司技术中心,河南 郑州 450000;
3 河南省烟草公司洛阳市公司技术中心,河南 洛阳 471023;4 湖北中烟工业有限责任公司,湖北 武汉 430000)

【摘 要】【目的】探讨外源 2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide,EBR)对干旱胁迫下烤烟幼苗生长的调控效应与生理机制。【方法】以烤烟品种‘豫烟 6 号’为材料,采用 Hoagland 营养液水培法,研究不同质量浓度 EBR(0, 0.10,0.20 和 0.40 mg/L)对 PEG-6000(质量分数 15%)模拟干旱胁迫下烤烟幼苗生长、活性氧代谢、抗氧化酶活性和光合荧光特性的影响。【结果】干旱胁迫对烤烟幼苗造成了严重的氧化伤害和光抑制,添加不同质量浓度的 EBR 后,烤烟幼苗的总根长、总根表面积、根平均直径、根尖数、地上部和地下部鲜质量均明显提高;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性显著提高,而超氧阴离子(O_2^-)和丙二醛(MDA)含量显著下降;幼苗叶片的叶绿素相对含量(SPAD)、净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)、气孔限制值(L_s)和水分利用效率(WUE)明显提高,而胞间二氧化碳浓度(C_i)显著降低;PSⅡ最大光化学效率(F_v/F_m)、PSⅡ实际光化学效率($\Phi_{PSⅡ}$)和光化学猝灭系数(qP)显著提高,而非光化学猝灭系数(NPQ)显著降低。上述指标均以 0.20 mg/L EBR 处理的效果最为显著。【结论】在干旱胁迫下,外源 EBR 能够通过提高烤烟幼苗的抗氧化酶活性,减轻细胞膜氧化损伤,从而增强烟草幼苗对干旱胁迫的耐受性,并通过提高叶片对光能的捕获与转化能力,增强叶片光合效能,促进烟苗的生长。

【关键词】 烤烟;油菜素内酯;干旱胁迫;抗氧化性能;光合特性;叶绿素荧光参数

【中图分类号】 S572.01

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2020)11-0033-09

Effects of brassinolide on growth, physiology and photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco seedlings under drought stress

WANG Lijun¹, LI Dong¹, SHEN Hongtao², WANG Yanfang¹,
MA Yilin¹, ZHAO Shimin³, XIAO Jinsheng⁴, LIU Ling¹

(1 College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China;

2 Technology Center, China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 450000, China;

3 Technology Center, Luoyang Branch of Henan Provincial Tobacco Corporation, Luoyang, Henan 471023, China;

4 China Tobacco Hubei Industrial Co., Ltd., Wuhan, Hubei 430000, China)

Abstract: 【Objective】 This study explored the regulating effects and physiological mechanism of exogenous 2,4-epibrassinolide (EBR) on growth of flue-cured tobacco seedlings under drought stress. 【Method】 This study adopted the method of nutrient solution hydroponics using 15% polyethylene glycol (PEG-6000) to simulate drought stress. Flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. ‘Yuyan No. 6’) was tested

【收稿日期】 2019-10-18

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31700367);河南省高等学校青年骨干教师培养计划项目(2016GGJS-062);河南科技大学学科提升振兴 A 计划项目(13660002);洛阳市烟草公司资助项目(LYKJ201803)

【作者简介】 王丽君(1996—),女,河南洛阳人,在读硕士,主要从事作物栽培与生理生态研究。E-mail:wlj18438616007@126.com

【通信作者】 刘 领(1978—),男,河南项城人,副教授,博士,主要从事作物栽培与生理生态研究。E-mail:liulinghenan@126.com

for response after foliar-spraying with exogenous EBR at mass concentrations of 0, 0.10, 0.20, and 0.40 mg/L. Parameters including seedling growth, active oxygen metabolism, antioxidant enzyme activity and photosynthetic fluorescence characteristics were measured and analyzed. **【Result】** Drought stress caused serious oxidative damage and photoinhibition to tobacco seedlings. Exogenous EBR effectively alleviated damage of drought stress on tobacco seedlings, particular including significantly increasing total root length, total root surface area, average root diameter, root tip number, fresh weight of root and shoot, significantly increasing activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), while significantly decreasing superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) generation rate and malondialdehyde (MDA) content. The chlorophyll content (SPAD), net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r), stomatal conductance (G_s), stomatal limitation (L_s) and water use efficiency (WUE) of leaves were enhanced, while intercellular carbon dioxide concentration (C_i) was significantly decreased. The maximal PS II quantum yield (F_v/F_m), PS II actual photochemical efficiency (Φ_{PSII}) and photochemical quenching coefficient (qP) were significantly increased, while non-photochemical quenching coefficient (NPQ) was significantly reduced. Foliar application with 0.20 mg/L EBR had the largest growth promotion effects and drought stress alleviation. **【Conclusion】** Exogenous EBR enhanced the adaptability of seedlings to drought stress by improving antioxidant capacity and reducing oxidative damage of cell membrane, and stimulated tobacco seedlings to capture and convert solar energy for better seeding photosynthesis and growth.

Key words: flue-cured tobacco; 2,4-epibrassinolide; drought stress; antioxidant capacities; photosynthetic characteristics; chlorophyll fluorescence characteristics

随着全球气候变暖以及环境的不断恶化,我国年降水量持续下降且时空分布严重不均,干旱灾害愈发频繁^[1],其已成为限制农业发展的主要气候灾害之一,对作物生长发育的危害程度在诸多非生物胁迫中占据首位^[2-3]。干旱胁迫会造成植物的形态结构发生变化,内源激素平衡出现紊乱,叶片的生长、叶面积、气孔指数及叶绿素含量均受到影响,植物根系活力下降,造成根系对水分以及养分的获取与转运受到抑制,进而造成植物生长发育缓慢、叶片萎焉、植株矮小,而严重的旱灾会直接导致植物死亡,造成农作物大幅度减产,严重制约农业的生产与发展^[4]。因此,研究如何提高植物自身的抗旱能力,是当前我国农业生产过程中亟需解决的重要问题。

油菜素内酯(brassinostreoid, BR)是一种具有极强生理活性的新型植物激素,可作为抗氧化剂,通过增强植物体内抗氧化酶的活性,清除多余活性氧(ROS),保护植物细胞免受氧化伤害,维持膜系统的稳定性和完整性^[5]。2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide, EBR)是由人工合成的一种油菜素内酯类似物,其生理功能与 BR 极为相似^[6]。众多研究表明,适宜浓度的 EBR 可以减少植物在极端温度^[7]、碱胁迫^[8]、盐害^[9]和水分胁迫^[10]等非生物胁迫条件下体内产生的大量 ROS,降低膜脂过氧化程度,提高植物叶片对光能的吸收、转换和利用能力,

进而增强植物的抗逆性,促进植物的生长发育。闫慧萍等^[11]研究表明,EBR 可有效促进玉米种子的萌发及幼苗的生长,增加生物量的积累,提高玉米对盐和低温胁迫的适应性;华智锐等^[12]研究表明,BR 可增强小麦抗氧化酶系统的活性,减少丙二醛(MDA)的产生,提高小麦对干旱的耐受性;王金平等^[13]研究表明,EBR 浸根处理能缓解盐胁迫对樟树光合系统的损伤,增强叶片的光合活性,减少光抑制,提高樟树的耐盐性。

烤烟是我国重要的叶用经济作物,豫西烟区是我国著名的优质烟叶产区之一,该烟区全年降雨量不足且时空分布不均,尤其烟苗移栽期干旱频发,致使烤烟的产量和品质受到严重影响^[14]。目前,有关外源 EBR 对烤烟根系形态、碳氮代谢、质体色素及降解产物方面的研究已有报道^[15-16],但有关施加外源 EBR 对干旱胁迫下烤烟生长的调节效应与机制仍缺乏系统研究。鉴于此,本研究针对豫西烟区烟苗在移栽后常年存在的干旱胁迫问题,通过叶面喷施 EBR 的调控手段,研究喷施不同质量浓度 EBR 对干旱胁迫下烤烟幼苗生长发育、叶绿素相对含量、光合参数、活性氧、抗氧化酶活性及叶绿素荧光参数的影响,探究外源 EBR 在增强烤烟幼苗干旱胁迫耐受性中的作用及其内在生理机制,为农业生产上烤烟的抗旱栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试烤烟品种为‘豫烟 6 号’,种子由洛阳市烟草公司提供;试验所需试剂是由上海国药集团化学试剂有限公司提供的聚乙二醇-6000(PEG-6000),及由上海源叶生物科技有限公司提供的 2,4-表油菜素内酯(2,4-epibrassinolide,EBR)。

1.2 试验设计

将选取的籽粒饱满、大小均匀的种子进行消毒浸种(体积分数 10% 的 H_2O_2 浸泡 10 min 后用蒸馏水反复冲洗,浸种 8 h),然后在盛有蛭石的育苗盘中发芽,放入人工气候培养箱(GZX 型光照培养箱,北京中兴伟业仪器公司)中,设置昼/夜温度为 28/(20±2)℃,光照周期 14 h/d,光照强度 4 000 lx。当烟苗普遍生长至四叶期时,选取形态长势基本一致的烟草幼苗移植于盛有 Hoagland 营养液(pH 值 5.7±0.2)的不透明水培箱(长×宽×高为 41 cm×31 cm×14.5 cm)中。定植前用蒸馏水洗净根部的育苗基质,每盆定苗 20 株,待烤烟幼苗培养至四叶一心期进行处理。

在 Hoagland 营养液中加入 15%(质量分数,下同)的 PEG-6000,模拟中度干旱胁迫,渗透势约为 -0.3 MPa。试验共设 5 个处理,CK:Hoagland 营养液+喷施蒸馏水;T1:Hoagland 营养液+15% PEG+喷施蒸馏水;T2:Hoagland 营养液+15% PEG+喷施 0.10 mg/L EBR;T3:Hoagland 营养液+15% PEG+喷施 0.20 mg/L EBR;T4:Hoagland 营养液+15% PEG+喷施 0.40 mg/L EBR。每个处理 20 株,3 次重复。试验开始后,每 2 d 更换 1 次处理液。T2、T3 和 T4 处理每天上午 08:00 叶面喷施相应质量浓度的 EBR,喷液量以叶片正反面均匀喷施至形成细雾状小液珠欲滴为准;CK 和 T1 处理喷施等量的去离子水。在胁迫后的第 6 天,选取烟株主茎从上向下第 3 片完全展开的叶片进行各项指标的测定。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 生物量及根系形态指标的测定 用吸水纸将随机选取的各个处理烟苗植株表面的水分吸干,分成地上和地下两部分,称其鲜质量。使用 WinRHIZO 2008 根系扫描仪采集图像,分析总根长、总根表面积、根系平均直径以及根尖数。

1.3.2 活性氧和抗氧化酶活性的测定 丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量的测定采用硫代巴比

妥酸比色法^[17],超氧阴离子(O_2^-)产生速率测定参照王爱国等^[18]的方法,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性测定采用氮蓝四唑光化还原法,过氧化物酶(peroxidase,POD)活性测定采用愈创木酚法,过氧化氢酶(catalase,CAT)活性测定采用紫外吸收法。

1.3.3 叶绿素相对含量的测定 采用日本柯尼卡美能达 SPAD-502PLUS 叶绿素仪,测定叶尖、叶中、叶基 3 个部位的叶绿素相对含量,取平均值。

1.3.4 光合参数的测定 采用美国 LI-COR 公司生产的 LI-6400 型光合作用仪,于上午 09:00—11:00 测定烤烟幼苗从上向下第 3 片完全展开叶的净光合速率(net photo synthetic rate, P_n)、气孔导度(stomatal conductance, G_s)、蒸腾速率(transpiration, T_r)和胞间 CO_2 浓度(intercellular CO_2 concentration, C_i),测定时空气相对湿度为 50%~70%,温度 25℃,设定 CO_2 浓度为 400 $\mu\text{mol}/\text{mol}$,有效光合辐射(PAR)为 800 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。并计算瞬间水分利用率(water use efficiency,WUE; $WUE = P_n/T_r$)和气孔限制值(stomatal limitation index, L_s ; $L_s = 1 - C_i/C_o$, C_o 为设定的 CO_2 浓度)。

1.3.5 叶绿素荧光参数的测定 利用 PAM-2100 型便携式荧光仪(德国 Walz 公司)测定光下最大荧光(F'_m)、稳态荧光(F_s)和光下最小荧光(F'_o);将叶片进行 20 min 暗适应,在黑暗条件下测定其初始荧光(F_o)与最大荧光(F_m)。由以上测定的荧光参数计算光系统 II(PS II)最大光化学效率(F_v/F_m)= $(F_m - F_o)/F_m$ 、PS II 实际光化学效率 $\Phi_{PSII} = (F'_m - F_s)/F'_m$ 、光化学猝灭系数 $qP = (F'_m - F_s)/(F'_m - F'_o)$ 及非光化学猝灭系数 $NPQ = (F_m - F'_m)/F'_m$,测定时间同光合参数。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2016 和 IBM SPSS 22.0 软件进行数据处理与分析,运用 Duncan's 多重比较法进行差异显著性检验,图表中数据以“平均值±标准误(Means±SE)”表示,用 Origin 9.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗生长及根系形态的影响

由表 1 可知,T1 处理烤烟幼苗的地上部鲜质量、地下部鲜质量、总根长、总根表面积、根系平均直径和根尖数与 CK 相比,分别下降了 30.67%,28.40%,33.98%,39.89%,54.17%和 40.49%,均

达到差异显著水平;随着 EBR 质量浓度的升高,干旱胁迫下烤烟幼苗的上述指标均呈现出先升高后降低的趋势,且均以 T3 处理效果最为显著,分别较 T1 提高了 25.00%, 24. 14%, 42. 22%, 47. 45%,

93. 18%和 43. 40%。说明干旱胁迫会显著抑制烤烟幼苗的生长,而叶面喷施 EBR 能够有效缓解干旱对烤烟幼苗生长及根系造成的损伤,促进烟苗的生长发育,并以 0. 20 mg/L EBR 处理效果最好。

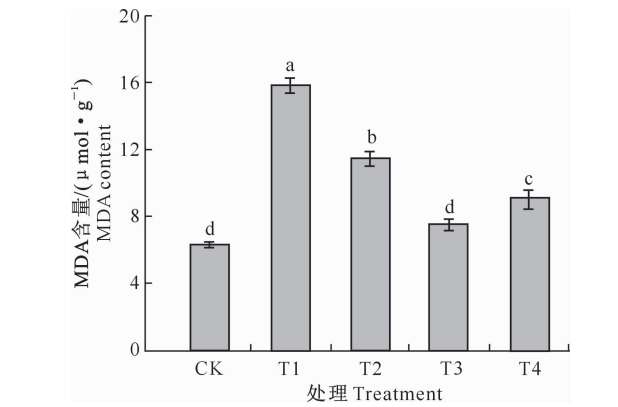
表 1 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗生长及根系形态的影响

处理 Treatment	地上部鲜质量/ (g·株 ⁻¹)	地下部鲜质量/ (g·株 ⁻¹)	总根长/cm	总根表面积/cm ²	根系平均直径/cm	根尖数
	Shoot fresh weight	Root fresh weight	Total root length	Total root surface area	Average root diameter	Root tip number
CK	9. 52±0. 58 a	0. 81±0. 02 a	83. 78±3. 19 a	287. 28±4. 37 a	0. 96±0. 03 a	793. 67±10. 02 a
T1	6. 60±0. 33 c	0. 58±0. 02 d	55. 31±3. 83 e	172. 69±6. 43 e	0. 44±0. 03 d	472. 33±32. 72 e
T2	7. 21±0. 43 c	0. 61±0. 04 cd	60. 12±3. 40 d	196. 43±8. 88 d	0. 56±0. 04 c	618. 67±29. 02 c
T3	8. 25±0. 56 b	0. 72±0. 03 b	78. 66±0. 62 b	254. 63±14. 05 b	0. 85±0. 07 b	677. 33±22. 14 b
T4	7. 27±0. 29 c	0. 65±0. 04 c	66. 05±2. 24 c	225. 37±8. 67 c	0. 60±0. 06 c	566. 67±32. 72 d

注:同列数据后标不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。下同。
Note: Different lowercase letters in each column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below.

2.2 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗活性
氧和抗氧化酶活性的影响

2.2.1 MDA 含量 由图 1 可知,与 CK 相比,T1 处理的 MDA 含量显著提高了 226. 69%;与 T1 处理相比,干旱胁迫下喷施 EBR 处理显著抑制了烟苗叶片中 MDA 的生成,随着 EBR 质量浓度的增加,MDA 含量呈现先下降后上升的趋势,T2、T3 和 T4 较 T1 分别降低了 27. 50%,52. 55%和 42. 48%,均达到差异显著水平。说明干旱胁迫下不同质量浓度外源 EBR 处理显著降低了烤烟幼苗的 MDA 含量,减少了植物的氧化损伤,其中以 0. 20 mg/L EBR 处理效果最为显著。



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

图 1 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗
MDA 含量的影响

Fig. 1 Effects of exogenous EBR on MDA content of
flue-cured tobacco seedlings under drought stress

2.2.2 O_2^- 产生速率 由图 2 可知,T1 处理的 O_2^- 产生速率迅速升高,与 CK 相比显著增加了

207. 18%;与 T1 处理相比,随着 EBR 质量浓度的升高, O_2^- 产生速率呈现先降低后升高的趋势,T2、T3 和 T4 处理较 T1 处理分别降低了 38. 66%, 55. 16%和 33. 28%,T3 处理的 O_2^- 产生速率达到最低值。说明外源 EBR 能够显著抑制干旱胁迫下烤烟幼苗体内 O_2^- 的产生和积累,有效缓解干旱对烤烟幼苗造成的氧化伤害,其中以 0. 20 mg/L EBR 处理效果最佳。

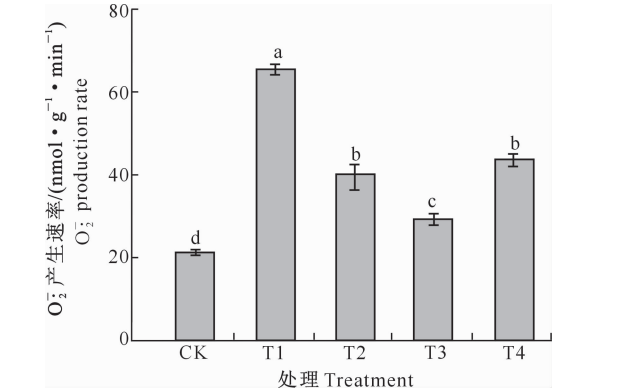


图 2 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗
 O_2^- 产生速率的影响

Fig. 2 Effects of exogenous EBR on O_2^- production rate of
flue-cured tobacco seedlings under drought stress

2.2.3 抗氧化酶活性 由表 2 可知,与 CK 相比,T1 处理的 POD 和 SOD 活性均有显著升高,CAT 活性虽有升高,但并未达到显著差异;与 T1 处理相比,随着 EBR 质量浓度的增加,烤烟幼苗体内的 POD、CAT 和 SOD 活性均呈现先升高后下降的趋势,且以 T3 处理效果最为显著,其 POD、CAT 和 SOD 活性较 T1 处理显著提高了 143. 05%, 72. 92%和 44. 04%。说明外源 EBR 能够诱导干旱胁迫下烤烟幼苗抗氧化酶活性显著提高,增强植株

体内 ROS 清除能力,有效缓解膜脂过氧化对烤烟幼苗造成的伤害,其中以 0.20 mg/L EBR 处理效果最佳。

表 2 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗抗氧化酶活性的影响

Table 2 Effects of exogenous EBR antioxidant enzyme activity of flue-cured tobacco seedlings under drought stress			
处理 Treatment	POD 活性/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹) POD activity	CAT 活性/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹) CAT activity	SOD 活性/(U · g ⁻¹) SOD activity
CK	15.53±2.64 e	36.40±2.42 c	179.54±7.50 d
T1	22.00±1.31 d	42.02±1.65 c	202.81±10.25 c
T2	33.73±2.14 c	64.99±4.00 b	276.53±13.78 ab
T3	53.47±3.06 a	72.66±8.71 a	292.13±6.12 a
T4	44.60±1.51 b	59.71±5.57 b	258.79±15.60 b

2.3 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗叶绿素相对含量的影响

图 3 为外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗 SPAD 值的影响。

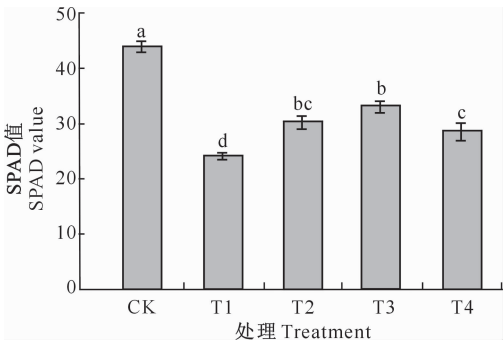


图 3 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗 SPAD 值的影响

Fig. 3 Effects of exogenous EBR on SPAD value of flue-cured tobacco seedlings under drought stress

由图 3 可知,T1 处理的 SPAD 值与 CK 相比显著降低了 44.80%;与 T1 处理相比,随着 EBR 质量浓度的提高,烟苗叶片中 SPAD 值呈现先增加后降低的趋势,T2、T3 和 T4 处理的 SPAD 值较 T1 处

理分别提高了 25.38%,37.49%和 18.38%。说明喷施外源 EBR 能够有效促进干旱胁迫下叶绿素的合成,在一定程度上提高烤烟幼苗叶片的光合速率,且以 0.20 mg/L EBR 处理效果最好。

2.4 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗光合特性的影响

由表 3 可知,与 CK 相比,T1 处理的 T_r 、 P_n 、 G_s 、WUE 和 L_s 分别降低了 58.22%,79.88%,77.32%,52.39%和 53.82%,而 C_i 增加了 52.12%,且均达到差异显著水平;与 T1 处理相比,不同质量浓度 EBR 处理下,T2,T3 和 T4 处理烟苗叶片的 T_r 、 P_n 、 G_s 、WUE、 L_s 较 T1 处理均有明显提高;其中以 T3 处理效果最为显著,上述各指标较 T1 处理分别增加了 37.73%,183.27%,347.46%,107.76%和 90.60%;随着 EBR 质量浓度的增加, C_i 值呈现出先下降后上升的趋势,以 T3 处理效果最为明显,较 T1 处理显著降低了 26.64%。表明适宜质量浓度的 EBR 能够减轻干旱胁迫对烤烟幼苗光合作用的抑制效应,维持烤烟幼苗生理代谢的能量供应,促进烟苗生长,尤以 0.20 mg/L EBR 处理效果最好。

表 3 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗光合特性的影响

Table 3 Effects of exogenous EBR on photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco seedlings under drought stress						
处理 Treatment	T_r /(mmol · m ⁻² · s ⁻¹)	P_n /(μmol · m ⁻² · s ⁻¹)	G_s /(mol · m ⁻² · s ⁻¹)	C_i /(μmol · mol ⁻¹)	WUE/(μmol · mol ⁻¹)	L_s
CK	1.60±0.07 a	9.64±0.26 a	0.06±0.00 a	203.21±11.96 e	6.03±0.34 a	0.49±0.03 a
T1	0.67±0.05 d	1.94±0.60 e	0.01±0.00 c	309.12±3.15 a	2.87±0.69 d	0.23±0.01 e
T2	0.78±0.02 c	2.76±0.19 d	0.02±0.00 c	273.21±11.96 b	3.54±0.36 c	0.32±0.03 d
T3	0.92±0.02 b	5.49±0.20 b	0.06±0.01 a	226.77±7.35 d	5.96±0.19 a	0.43±0.02 b
T4	0.69±0.03 d	3.62±0.47 c	0.05±0.00 b	253.52±0.57 c	5.23±0.44 b	0.37±0.00 c

2.5 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗叶绿素荧光参数的影响

由图 4 可知,与 CK 相比,T1 处理的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 qP 分别降低了 13.57%,35.91%和 18.45%,而 NPQ 增加了 65.92%,均达到差异显著水平;干旱胁迫下,烤烟幼苗的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 qP 随着外源 EBR 质量浓度的升高均呈现出先上升后

下降的趋势,而 NPQ 呈现先下降后上升的趋势;其中以 T3 处理效果最为显著,其 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 qP 较 T1 处理分别增加了 12.80%,37.10%和 15.35%,而 NPQ 显著降低了 28.07%。表明外源 EBR 能够改善干旱胁迫下烤烟幼苗的 PS II 光化学活性,促使光合作用正常进行,从而促进烟苗的生长发育,其中以 0.20 mg/L EBR 处理效果最好。

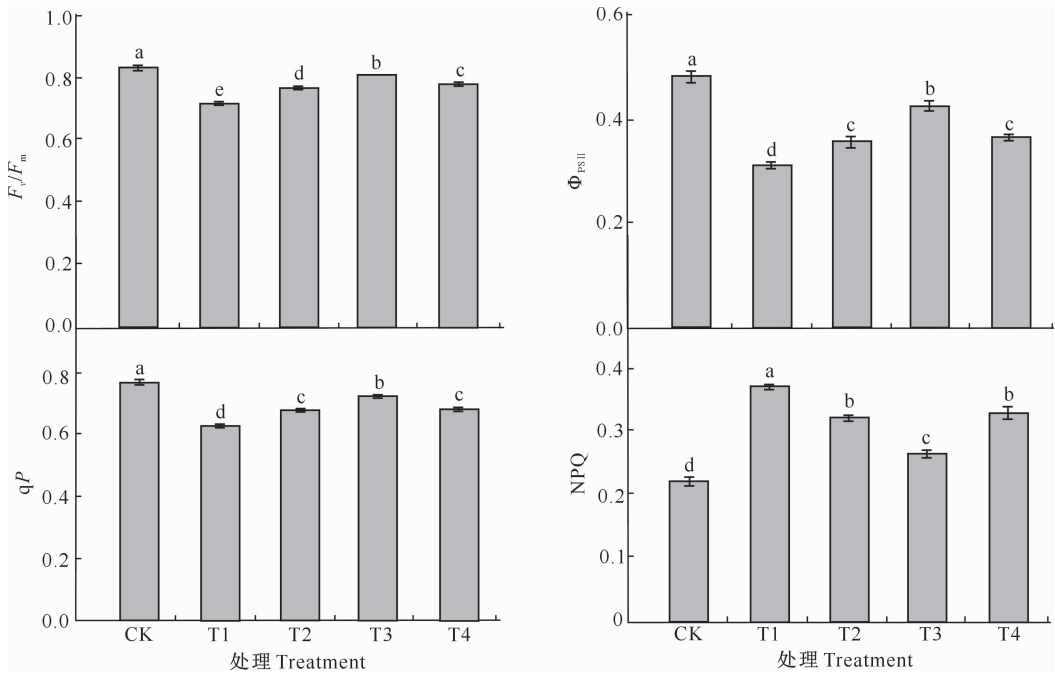


图 4 外源油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗叶绿素荧光参数的影响

Fig. 4 Effects of exogenous EBR on chlorophyll fluorescence characteristics of flue-cured tobacco seedlings under drought stress

3 讨 论

植物在生长发育过程中不可避免会受到外界环境因子的胁迫^[19]。在干旱条件下,植物最先感受胁迫的器官是根系,而根系又与植物吸收水分和养分密切相关,进而导致植物的生长发育受到抑制,生物量显著下降。李杰等^[7]研究表明,外源 EBR 处理可使低温胁迫下辣椒幼苗根系更发达,增强根系吸收养分和水分并进行物质转化的能力,促进辣椒幼苗的生长发育。本试验研究表明,干旱胁迫下,烤烟幼苗根系的生长、地上和地下部分生物量的积累均受到显著抑制,喷施适宜质量浓度的外源 EBR 可以有效促进烤烟幼苗根系伸展,减轻干旱胁迫对烤烟幼苗生长发育的抑制程度,地上部和地下部鲜质量、总根长、总根表面积、根系平均直径和根尖数均有显著升高,其中以喷施 0.20 mg/L EBR 的效果最佳。说明外源 EBR 可作为生长调节剂显著促进干旱胁迫下烤烟幼苗的生长和生物量积累,促进新根产生,提高根系活力,增强根系吸收和利用水分的能力,减轻干旱胁迫对烤烟幼苗造成的伤害,这与马野等^[20]在玉米上的研究结果一致。

干旱胁迫会引起植物细胞体内 ROS 产生与清除系统失衡,造成脂质发生过氧化反应,产物 MDA 与蛋白质、核酸等生命大分子发生交联聚合,会加剧膜的损伤程度,进而对植物的生长造成抑制^[21-22]。

MDA 是膜脂过氧化作用的终产物,可作为研究质膜受损程度和植物抗逆性强弱的重要指标^[23]。宋吉轩等^[24]研究表明,干旱胁迫下植物的 MDA 含量急剧上升,渗透调节能力降低,严重影响植物的生理代谢。本试验中,干旱胁迫下烤烟幼苗的 O_2^- 产生速率与 MDA 含量均显著升高,说明干旱胁迫下烟苗正常的生理代谢系统发生紊乱,细胞内 ROS 的产生与消除不平衡,进而对烟苗造成严重的氧化损伤。已有研究表明,施加外源 EBR 能够提高植物消除活性氧的能力,缓解植物受到的氧化损伤^[6],本试验也发现,喷施不同质量浓度的 EBR 均能降低 O_2^- 产生速率和 MDA 含量,尤以质量浓度为 0.20 mg/L EBR 处理最佳。说明外源 EBR 可作为抗氧化物质清除烟苗体内大量生成的 ROS,降低 O_2^- 产生速率,抑制膜脂过氧化,减少 MDA 的积累量,增强膜的稳定性,从而缓解干旱胁迫对烤烟幼苗的氧化伤害。

细胞膜是一种半透性膜,能够对植物细胞内外环境之间的物质运输和交换进行调节和控制^[25]。干旱会诱导植物体内产生大量的 O_2^- 和 H_2O_2 等活性氧,导致脂质过氧化,损伤植物的细胞膜系统,增大细胞膜的通透性,从而危害植物的生长^[26]。POD、CAT 和 SOD 作为重要的抗氧化酶,能够清除逆境胁迫下大量累积的 ROS,它们的协同作用可以维持细胞膜结构的完整性,抑制膜脂过氧化作用,缓解植物受到的氧化损伤^[27-29]。本试验中,干旱胁迫

在一定程度上可以促进烤烟幼苗体内抗氧化酶活性的提高,喷施外源 EBR 能够进一步增强 POD、SOD 和 CAT 活性,且随着 EBR 质量浓度的提高,POD、CAT 和 SOD 活性呈现先增强后减弱的趋势,以 0.20 mg/L EBR 处理效果最为显著。其可能原因是,烤烟受到低质量浓度 EBR 刺激改善了抗氧化酶活性;而在高质量浓度下,烤烟的生理代谢系统发生紊乱,酶活性比例失调,减弱了抗氧化酶清除活性氧的能力。说明在干旱胁迫下,外源 EBR 可提高烤烟幼苗体内抗氧化酶活性,降低 ROS,维持细胞内 ROS 系统的代谢平衡,增强植物对干旱胁迫的耐受性。这与赵莉等^[30]在烤烟上的研究结果一致。

光合作用是植物合成有机物并获取能量的主要方式,同时也是对各种内外因子最敏感的生理过程之一^[31]。叶绿素是植物叶片中主要的光合色素和功能物质,在光合作用中担负着光能吸收与转化的重要作用,直接影响植物对氮素营养的吸收^[32]。短时间或者轻度干旱胁迫下,植物通过关闭气孔以减少蒸腾作用,降低体内水分的散失,但同时叶片对 CO₂ 的摄取及其光合速率也会随之降低,而长时间或重度干旱则会对植物生长造成一些不可逆的损伤,严重威胁到植物的存活^[33]。在本试验中,干旱胁迫下烤烟幼苗的 SPAD、 T_r 、 P_n 、 G_s 、WUE 和 L_s 均显著降低,而 C_i 显著升高,原因可能是干旱胁迫破坏了植物的光合组织结构,损伤植物的叶肉细胞,增强了叶绿素降解酶的活性并造成叶绿素快速分解,进而对植物的光合作用造成抑制,阻碍烟株生命活动的正常进行。外源 EBR 处理显著提高了烟苗叶片的 SPAD、 T_r 、 P_n 、 G_s 、WUE 和 L_s ,降低了 C_i ,这与马野等^[20]在玉米上的研究结果一致,说明适宜质量浓度的 EBR 能够通过减轻烟苗叶片内叶绿素的降解程度,关闭气孔以减少叶片中水分的蒸腾,增强植物对水分的利用效率,降低干旱胁迫对烟苗光合作用的抑制程度,保证干旱胁迫下能量的供应以维持烟苗的正常生命活动,从而提高烤烟的抗旱性。

叶绿素荧光参数作为探究植物光合作用与环境关系的内在探针,极易受到不良环境的影响,其数值变化能够反映出不同的环境条件对植物光合性能的影响^[34]。 F_v/F_m 代表 PS II 最大光能转化效率, Φ_{PSII} 表示 PS II 实际光能转化效率,两指标可直接反映出植物 PS II 的受损程度^[12]; qP 在一定程度上可表示 PS II 反应中心的开放程度,其值升高,说明 PS II 中的电子传递速率增强; NPQ 反映植物耗散过剩光能为热的能力^[35]。在本试验中,干旱胁迫下烤

烟幼苗的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 qP 均显著降低,而 NPQ 大幅上升,由此说明,干旱胁迫破坏了烤烟幼苗的 PS II 光化学反应中心,降低了烟苗的光合活性,进而阻碍其光合作用,外源 EBR 处理则显著提高了烟苗的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 qP ,降低了 NPQ,原因可能是叶面喷施 EBR 提高了 PS II 中的电子传递效率,增强了对过剩光能的耗散能力,从而缓解干旱胁迫对 PS II 光合器官的破坏,这与李涛涛等^[36]在杨树上的研究结果一致。说明适宜质量浓度的 EBR 可显著改善烤烟幼苗 PS II 光化学活性,减轻干旱胁迫对 PS II 反应中心的损伤,增加其开放比例,使叶片更有利于吸收光能,提高光能转换效率,缓解光抑制,从而促进烤烟幼苗的生长。

4 结 论

干旱胁迫下烤烟幼苗的生长发育受到抑制,外源 EBR 能够通过提高烤烟幼苗抗氧化酶活性,减少 O₂⁻ 和 MDA 的产生,降低膜脂过氧化程度,有效缓解干旱胁迫对光合系统的破坏,增强 PS II 光化学活性,提高叶片对光能的利用效率,从而促进干旱胁迫下烤烟幼苗的正常生长,增强烤烟幼苗的抗旱性,其中以 0.20 mg/L EBR 的处理效果最佳。

【参考文献】

- [1] 王 曦,胡红玲,胡庭兴,等. 干旱胁迫对桉楠幼树渗透调节与活性氧代谢的影响及施氮的缓解效应 [J]. 植物生态学报, 2018, 42(2): 240-251.
Wang X, Hu H L, Hu T X, et al. Effects of drought stress on the osmotic adjustment and active oxygen metabolism of *Phoebe zhennan* seedlings and its alleviation by nitrogen application [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2018, 42(2): 240-251.
- [2] 付士磊,周永斌,何兴元,等. 干旱胁迫对杨树光合生理指标的影响 [J]. 应用生态学报, 2006, 17(11): 2016-2019.
Fu S L, Zhou Y B, He X Y, et al. Effects of drought stress on photosynthesis physiology of *Populus pseudosimonii* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(11): 2016-2019.
- [3] 何梦迪,钟宣伯,周启政,等. 氮肥缓解苗期干旱对小麦根系形态建成及生理特性的影响 [J]. 核农学报, 2019, 33(11): 2246-2253.
He M D, Zhong X B, Zhou Q Z, et al. Effects of nitrogen fertilizer on root morphogenesis and physiological characteristics under drought stress at seedling stage in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2019, 33(11): 2246-2253.
- [4] 王福祥,肖开转,姜身飞,等. 干旱胁迫下植物体内活性氧的作用机制 [J]. 科学通报, 2019, 64(17): 1765-1779.
Wang F X, Xiao K Z, Jiang S F, et al. Mechanisms of reactive oxygen species in plants under drought stress [J]. Chinese Sci-

ence Bulletin, 2019, 64(17): 1765-1779.

[5] 魏鑫,倪虹,张会慧,等. 外源脱落酸和油菜素内酯对于干旱胁迫下大豆幼苗抗旱性的影响[J]. 中国油料作物学报, 2016, 38(5): 605-610.

Wei X, Ni H, Zhang H H, et al. Effects of exogenous abscisic acid and brassinolide on drought resistance of soybean seedlings[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2016, 38(5): 605-610.

[6] 夏原野,杜志敏,杨宇尘,等. 喷施表油菜素内酯对籼稻和粳稻花时的影响[J]. 作物杂志, 2019(4): 139-147.

Xia Y Y, Du Z M, Yang Y C, et al. Effects of epi-brassinolide treatments on floret opening time of indica and japonica rice[J]. Crops, 2019(4): 139-147.

[7] 李杰,杨萍,颜建明,等. 2,4-表油菜素内酯对低温胁迫下辣椒幼苗根系生长及抗氧化酶系统的影响[J]. 核农学报, 2015, 29(5): 1001-1008.

Li J, Yang P, Xie J M, et al. Effects of 2,4-epibrassinolide on growth and antioxidant enzymes system in pepper roots under chilling stress[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2015, 29(5): 1001-1008.

[8] 刘丹,郭广昊,刘磊,等. 外源喷施油菜素内酯对碱胁迫下甜菜生长的影响[J]. 西北农业学报, 2018, 27(10): 1461-1469.

Liu D, Guo G H, Liu L, et al. Effects of exogenous application of brassinolide on sugar beet growth under alkali stress[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2018, 27(10): 1461-1469.

[9] 岳健敏,张金池,尤焱煌,等. 油菜素内酯对盐胁迫刺槐苗光合作用及叶绿体超微结构的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2017, 45(10): 56-66.

Yue J M, Zhang J C, You Y H, et al. Effects of brassinosteroids on photosynthesis and ultrastructure of chloroplasts in *Robinia pseudoacacia* seedlings under salt stress[J]. Journal of Northwest A&F University(Nat Sci Ed), 2017, 45(10): 56-66.

[10] Mahesh K, Balaraju P, Ramakrishna B, et al. Effect of brassinosteroids on germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus* L.) under PEG-6000 induced water stress[J]. American Journal of Plant Sciences, 2013, 4(12): 2305-2313.

[11] 同慧萍,彭云玲,赵小强,等. 外源 2,4-表油菜素内酯对逆境胁迫下玉米种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 核农学报, 2016, 30(5): 988-996.

Yan H P, Peng Y L, Zhao X Q, et al. Effect of exogenous 2,4-epibrassinolide on seed germination and seedling growth of maize under different stress[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2016, 30(5): 988-996.

[12] 华智锐,李小玲. 油菜素内酯对小麦幼苗抗旱性的诱导效应[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(1): 62-65.

Hua Z R, Li X L. Effect of brassinolide on drought resistance of wheat seedlings[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(1): 62-65.

[13] 王金平,张金池,岳健敏,等. 油菜素内酯对氯化钠胁迫下樟树幼苗光合色素和叶绿素荧光参数的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2017, 34(1): 20-27.

Wang J P, Zhang J C, Yue J M, et al. BRs, photosynthetic pigments, and chlorophyll fluorescence parameters in *Cinnamomum camphora* seedlings with NaCl stress[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2017, 34(1): 20-27.

[14] 刘领,李冬,马宜林,等. 外源褪黑素对于干旱胁迫下烤烟幼苗生长的缓解效应与生理机制研究[J]. 草业学报, 2019, 28(8): 95-105.

Liu L, Li D, Ma Y L, et al. Alleviation of drought stress and the physiological mechanisms in tobacco seedlings treated with exogenous melatonin[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(8): 95-105.

[15] 李健忠,郝浩浩,薛立新,等. 打顶后喷施油菜素内酯和吲哚乙酸对烤烟质体色素及其降解产物的影响[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(2): 113-116.

Li J Z, Hao H H, Xue L X, et al. Effects of spraying brassinolide and indoleacetic acid after topping on plastid pigment and its degradation products of tobacco[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(2): 113-116.

[16] 李健忠,薛立新,朱金峰,等. 打顶后喷施油菜素内酯和生长素对烤烟田间生长、碳氮代谢及烟叶品质的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(11): 1404-1412.

Li J Z, Xue L X, Zhu J F, et al. Effects of brassinolide and auxin on growth, carbon and nitrogen metabolism and tobacco quality of flue-cured tobacco leaves after topping[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(11): 1404-1412.

[17] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 142-231.

Gao J F. Plant physiology experiment guidance[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 142-231.

[18] 王爱国,罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 55-57.

Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. Plant Physiology Communications, 1990, 26(6): 55-57.

[19] 杨新元. 外源褪黑素对于干旱胁迫下向日葵幼苗生长、光合及抗氧化系统的影响[J]. 华北农学报, 2019, 34(4): 113-121.

Yang X Y. Effects of exogenous melatonin on growth, photosynthesis and antioxidant system of sunflower seedling under drought stress[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2019, 34(4): 113-121.

[20] 马野,原换换,裴新涌,等. 干旱胁迫下外源油菜素内酯对玉米幼苗光合作用和 D1 蛋白的调控效应[J]. 华北农学报, 2017, 32(3): 118-124.

Ma Y, Yuan H H, Pei X Y, et al. Exogenous BR alleviates drought stress by regulating photosynthesis and D1 protein in maize seedlings[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2017, 32(3): 118-124.

[21] 牟雪姣,张强,吴燕,等. 外源 CO 对于干旱胁迫下黄瓜种子萌发生长的缓解效应[J]. 华北农学报, 2018, 33(5): 168-173.

Mu X J, Zhang Q, Wu Y, et al. Alleviating effects of exoge-

- nous CO on germination and growth of cucumber seeds under drought stress [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2018, 33(5):168-173.
- [22] 寇江涛,师尚礼. 2,4-表油菜素内酯对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿幼苗根系生长抑制及氧化损伤的缓解效应 [J]. *中国生态农业学报*, 2015, 23(8):1010-1019.
- Kou J T, Shi S L. 2,4-epibrassinolide protection against root growth inhibition and oxidative damage of *Medicago sativa* L. [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2015, 23(8):1010-1019.
- [23] 赵永长,宋文静,董建新,等. 黄腐酸钾对于旱胁迫下烤烟幼苗活性氧代谢的影响 [J]. *中国烟草科学*, 2017, 38(4):29-36.
- Zhao Y C, Song W J, Dong J X, et al. Effects of fulvic acid potassium on reactive oxygen metabolism of flue-cured tobacco seedlings grown under drought stress [J]. *Chinese Tobacco Science*, 2017, 38(4):29-36.
- [24] 宋吉轩,李金还,刘美茹,等. 油菜素内酯对于旱胁迫下羊草渗透调节及抗氧化酶的影响研究 [J]. *草业学报*, 2015, 24(8):93-102.
- Song J X, Li J H, Liu M R, et al. Effects of brassinosteroid application on osmotic adjustment and antioxidant enzymes in *Leymus chinensis* under drought stress [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, 24(8):93-102.
- [25] 李文彬,宁楚涵,李 伟,等. 菲和芘胁迫下 AMF 和 PGPR 对高羊茅生理生态的响应 [J]. *草业学报*, 2019, 28(8):84-94.
- Li W B, Ning C H, Li W, et al. Responses of AMF and PGPR to *Festuca elata* under phenanthrene and pyrene stress [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(8):84-94.
- [26] 刘建新,欧晓彬,王金成. 外源 H_2O_2 对于旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片生理特性的影响 [J]. *干旱地区农业研究*, 2019(4):146-153.
- Liu J X, Ou X B, Wang J C. Effects of exogenous hydrogen peroxide (H_2O_2) on the physiological characteristics in leaves of *Avena nuda* L. seedlings under drought stress [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2019(4):146-153.
- [27] 张海娜,鲁向晖,金志农,等. 高温条件下稀土尾砂干旱对 4 种植物生理特性的影响 [J]. *生态学报*, 2019, 39(7):1-8.
- Zhang H N, Lu X H, Jin Z N, et al. Effects of drought on physiological characteristics of seedlings of four species grown on rare earth mill tailings at high temperatures [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(7):1-8.
- [28] 唐 琪,姜天华,韩丛聪,等. 干旱胁迫对刺槐品种抗氧化酶、光合特性及叶绿体超微结构的影响 [J]. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2018, 49(5):731-737.
- Tang Q, Jiang T H, Han C C, et al. Effects of drought stress on the antioxidant enzyme activities, photosynthetic characteristics and chloroplast ultrastructures of *Robinia pseudoacacia* cultivars [J]. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2018, 49(5):731-737.
- [29] 魏 明,童秦怡,柴瑞娟,等. 兰科菌根真菌对于旱胁迫下铁皮石斛生长和抗氧化能力及相关基因表达的影响 [J]. *西北植物学报*, 2018, 38(10):1905-1912.
- Wei M, Tong Q Y, Chai R J, et al. Effects of orchid mycorrhizal fungi on growth, antioxidant defense and related gene expression of dendrobium of ficinale under drought stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, 38(10):1905-1912.
- [30] 赵 莉,周 炎,汪海燕,等. 干旱处理下不同烤烟品系的生理差异研究 [J]. *核农学报*, 2019, 33(3):607-615.
- Zhao L, Zhou Y, Wang H Y, et al. Research on the differential physiological responses in different flue-cured tobacco lines under drought stress [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(3):607-615.
- [31] 董 斌,韦雪芬,蓝来娇,等. 干旱胁迫对 4 个油茶品种光合特性的影响 [J]. *经济林研究*, 2018, 36(4):9-15.
- Dong B, Wei X F, Lan L J, et al. Effects of drought stress on photosynthetic characteristics of four camellia oleifera clones [J]. *Non-wood Forest Research*, 2018, 36(4):9-15.
- [32] 王 磊,汤家鑫,高兴国,等. PEG 模拟干旱胁迫条件下光叶珙桐幼苗叶片叶绿素含量变化 [J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(32):91-92, 95.
- Wang L, Tang J X, Gao X G, et al. Chlorophyll changes in seedling leaves of *Davidia involucreata* var. *vilmoriniana* under PEG simulated drought stress [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2018, 46(32):91-92, 95.
- [33] 施 钦,包学文,华建峰,等. 干旱胁迫及复水对海滨木槿光合作用和生理特性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2019, 30(8):2600-2606.
- Shi Q, Bao X W, Hua J F, et al. Effects of drought stress and recovery on photosynthesis and physiological characteristics of *Hibiscus hamabo* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(8):2600-2606.
- [34] 王立涵,王 翔,李世斌,等. 高温胁迫下外源物质对黄瓜幼苗叶绿素荧光和抗氧化酶活性的影响 [J]. *安徽农学通报*, 2019, 25(10):20-22, 95.
- Wang L H, Wang X, Li S B, et al. Effects of exogenous substances on chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant enzyme activities in leaves of cucumber seedlings under high temperature stress [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2019, 25(10):20-22, 95.
- [35] 樊佳茹,章丽珍,王景荣,等. 自毒胁迫下外源硅对甜瓜幼苗生长和叶绿素荧光的影响 [J]. *福建农业学报*, 2019, 34(6):638-645.
- Fan J R, Zhang L Z, Wang J R, et al. Effects of exogenous silicon on growth and photosynthesis of melon seedlings under autotoxicity stress [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 34(6):638-645.
- [36] 李涛涛,高永峰,马 瑄,等. 外源油菜素内酯对三种杨树在干旱、盐和铜胁迫下光合生理的影响 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2016, 35(1):218-226.
- Li T T, Gao Y F, Ma X, et al. Effects of exogenous brassinosteroid on photosynthesis of three species of populus under drought, salt and copper stress [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2016, 35(1):218-226.