

叶面喷施 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗 生长和叶片生理生化指标的影响

刘凯歌^{1,2}, 朱月林^{1*}, 郝 婷¹, 宋云鹏², 龚繁荣²

(1 南京农业大学 园艺学院, 南京 210095; 2 上海市农业科学院园艺研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201403)

摘 要:以‘P13201’甜椒品种为材料,在光照培养箱内采用营养液栽培法,研究了叶面预喷施不同浓度 6-BA(5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$)溶液对高温胁迫(40 $^{\circ}\text{C}$ /30 $^{\circ}\text{C}$ 昼/夜)下甜椒幼苗的生长及生理生化指标的影响,探讨缓解甜椒高温胁迫的最佳 6-BA 浓度。结果显示:(1)高温胁迫致使甜椒幼苗的各生长指标及叶绿素含量显著下降,且 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 处理下的株高、茎粗、地上干重、根干重与常温对照(28 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$ 昼/夜)差异不显著,其幼苗的地上鲜重、根鲜重、叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素总含量在各处理中降幅也最小。(2)高温胁迫下甜椒幼苗叶片的 PS II 实际光化学量子产量(Yield)、PS II 实际光化学效率(Φ_{PSII})、PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)显著下降,非光化学猝灭(NPQ)显著升高;相比其他处理组,10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 溶液处理下的各荧光参数变化幅度最小,特别是 NPQ 与对照差异不显著。(3)甜椒叶片中 O_2^- 产生速率、抗氧化酶(SOD、APX、POD)活性、丙二醛(MDA)含量及相对电导率受高温胁迫后显著增大,但 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 溶液处理下 O_2^- 产率、MDA 含量及相对电导率显著小于 T_0 处理(蒸馏水+高温)下的各值,而其 SOD、APX、POD 活性则表现相反,相比 T_0 处理,显著升高了 50.5%、79.4%、50.3%。研究表明,高温显著抑制了甜椒幼苗正常生长,致使叶片中各抗逆生理生化指标变幅大增,而叶面喷施适宜浓度的 6-BA 有利于高温胁迫下抗氧化酶活性的升高及光能的捕获与转换,有效缓解高温胁迫伤害,维持甜椒幼苗的正常生长,并以 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 溶液处理效果最好。

关键词:甜椒; 6-BA; 高温胁迫; 生长; 抗氧化酶活性; 叶绿素荧光参数

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Effect of Foliar-spraying 6-BA on the Growth and Physiological and Biochemical Indexes of Sweet Pepper Seedlings under High Temperature Stress

LIU Kaige^{1,2}, ZHU Yuelin^{1*}, HAO Ting¹, SONG Yunpeng², GONG Fanrong²

(1 College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2 Shanghai Key Lab of Protected Horticultural Technology; Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China)

Abstract: The experiment was carried out by sweet pepper cultivar ‘P13201’ in light growth incubator and nutrient solution to investigate the effects of pre-spraying different concentrations of 6-BA (5, 10, 20, 50 $\mu\text{mol/L}$) on the growth and physiological and biochemical indexes of the sweet pepper seedlings under high temperature stress (40 $^{\circ}\text{C}$ /30 $^{\circ}\text{C}$ day/night). The results showed that: (1) Growth index and chlorophyll content were significantly descended under high temperature stress, while plant height, stem diameter, shoot and root dry matter weight of sweet pepper treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA concentration had no significant difference compared with the control check (CK), reduction of shoot and root fresh matter weight, contents of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll of sweet pepper with this concentration were

收稿日期: 2014-08-07; 修改稿收到日期: 2014-10-03

基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划项目(13391901100)

作者简介: 刘凯歌(1988—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事植物生理与生物技术的研究。E-mail: 809509748@qq.com

* 通信作者: 朱月林, 教授, 主要从事蔬菜生理与生物技术研究。E-mail: ylzhu@njau.edu.cn

the smallest as well, among all the treatments. (2) Actual photochemical yield of PS II (Yield), actual photochemical efficiency of PS II (Φ_{PSII}), optimal photochemical efficiency of PS II in the dark (F_v/F_m) were significantly decreased under heat stress, while the non-photochemical fluorescence quenching (NPQ) showed a reverse trend. The extent of variation of four fluorescence parameters mentioned above in leaves of sweet pepper treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA were the lowest among the all treatment groups, especially NPQ, displaying no significance with CK. (3) Affected by high temperature stress, the productivity of O_2^- , activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbic acid peroxidase (APX), peroxidase (POD) and malondialdehyde (MDA) content, relatively conductivity rate increased significantly. However, the productivity of O_2^- , MDA content and relatively conductivity rate in leaves of sweet pepper treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA were significantly smaller than those of T_0 treatment group (distilled water + high temperature). The activities of SOD, APX and POD revealed a remarkably increased tendency, namely, to rise by 50.5%, 79.4% and 50.3% respectively. The study indicated that high temperature inhibited the growth of sweet pepper seedlings and made the above indexes in leaves changed a lot. There were dosage effect of 6-BA on the alleviation of high temperature in sweet pepper seedlings, 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA, by means of enhancing activities of antioxidant enzymes, capturing and converting the light energy greatly, to maintain a normal growth, was the best relieving concentration to sweet pepper under heat stress.

Key words: sweet pepper; 6-BA; high temperature stress; growth; antioxidant enzymes activities; chlorophyll fluorescence parameters

甜椒 (*Capsicum annuum* L.) 俗称灯笼椒、柿子椒, 是茄科辣椒属辣椒的一个变种, 原产于热带, 属于喜温蔬菜, 分布于中国大陆的南北各地。甜椒喜温不耐热, 在生长发育过程中经常会遭受到高温的胁迫, 特别是中国长江以南地区夏季酷热, 早熟甜椒难以越夏, 造成产量低下。温度是影响植物生长的主要因子, 近年来随着温室效应的加剧, 全球气温上升, 植物生产面临着高温胁迫的严峻挑战^[1]。

目前喷施外源物质是提高植物对逆境耐性的简便、有效、可行的方法之一^[2]。对于高温胁迫, 前人研究的外源物质主要集中在水杨酸^[3]、茉莉酸^[4]、油菜素内酯^[5]、钙离子^[6]、脯氨酸^[7]、亚精胺^[8]等。6-BA (6-苄基腺嘌呤, 6-benzylaminopurine, $C_{12}H_{11}N_5$) 是一种较活跃的细胞分裂素。6-BA 作为一种外源物质对于缓解生物和非生物胁迫有重要的作用^[9]。吴雪霞等^[10]发现 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 对茄子盐胁迫伤害具有很好的缓解作用, 能够提高盐胁迫下抗氧化酶活性, 降低有害物质超氧阴离子和丙二醛 (MDA) 的产生; 杨芳芳等^[11]、张国斌等^[12]报道, 0.08 mmol/L 6-BA 预处理对增强辣椒幼苗抵抗低温弱光胁迫能力具有显著的效应, 可以减缓低温弱光下辣椒幼苗光系统 II (PS II) 最大光化学效率 (F_v/F_m)、PS II 实际光化学效率 (Φ_{PSII}) 和 PS II 反应中心光能捕获效率 (F_v'/F_m') 的下降。梁金凤等^[13]研究表明高温下喷施 6-BA 能明显增加紫花苜蓿恢复生长期植株鲜重、单株叶片数和分枝数增加量, 并以 30 mg $\cdot$ L⁻¹ 6-BA 处理的作用效果最佳。

但目前关于 6-BA 对高温胁迫下甜椒的影响还尚未见报道, 本实验以甜椒幼苗为材料, 研究了不同浓度 6-BA 处理对高温胁迫下甜椒叶绿素含量、叶绿素荧光参数、MDA 含量、相对电导率及超氧阴离子含量和各种抗氧化酶活性的影响, 探讨 6-BA 缓解甜椒高温胁迫的生理机制, 为生产中增强甜椒耐高温胁迫的能力提供一种新途径。

1 材料和方法

1.1 材料培养和处理

实验于 2014 年 3 月 13 日开始在上海市农业科学院玻璃温室内进行。实验用甜椒 ‘P13201’ 种子和光照培养箱由上海市农业科学院提供, 6-BA 购自 Sigma 公司。种子经过温汤浸种后播于草炭、蛭石和珍珠岩组成的混合基质中。幼苗出土后进行营养液和清水的隔天灌溉。生长温度控制在 28 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$ (昼/夜)。当幼苗具有 6~7 片真叶时, 挑选生长一致的植株, 并置于温度为 28 $^{\circ}\text{C}$ /18 $^{\circ}\text{C}$ (昼/夜)、光照强度为 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、相对湿度为 70% 的光照培养箱中进行常温营养液栽培。将实验材料分为 6 组 (每组 10 株), 其中 2 组叶片喷施蒸馏水, 另外 4 组分别喷施 5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 以及蒸馏水, 喷施时间为每天清晨 8:00 左右, 连续喷 2 d 进行预处理, 以便甜椒能提前充分吸收 6-BA。之后进行高温 40 $^{\circ}\text{C}$ /30 $^{\circ}\text{C}$ (昼/夜) 处理。处理设置如下: (1) 蒸馏水 + 常温 (CK); (2) 蒸馏水 + 高温 (T_0); (3) 5 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA + 高温 (T_1); (4) 10 $\mu\text{mol/L}$

6-BA+高温(T_2);(5)20 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA+高温(T_3);(6)50 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA+高温(T_4),其他培养条件同上,高温处理期间仍然按照上述方法对相应处理组喷施蒸馏水或 6-BA。高温处理 7 d 后取第二片真叶测定生长指标以及相应的生理指标。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 植株生长指标 用直尺测定甜椒株高,用电子游标卡尺测定茎基部作为茎粗,用电子秤称取地上、地下部鲜重,经 105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 15 min 后置于 75 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重后再称取地上、地下干重。

1.2.2 叶片叶绿素含量 叶绿素含量参照 Arnon^[14] 的方法,称取叶片 0.2 g 加入 80% 丙酮,封口,置于暗处 24~36 h,至叶片发白,依次测定 663、646、470 nm 波长下的吸光值,最后按照文献中所给公式计算叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素总含量。

1.2.3 叶绿素荧光参数 采用 PAM-2100 便携式调制荧光仪(Walz, Effeltrich, Germany),利用配备了微型光量子/温度探头的叶夹 2030-B 夹住叶片,测定叶绿素荧光参数。各荧光指标参考张永平^[15] 的方法。

1.2.4 叶片相对电导率 电导率用电导仪测定。将鲜样冲洗干净,再用蒸馏水冲洗 2 次,用打孔器取样 0.3 g,装入大试管,加 15 mL 蒸馏水,抽气 3 次,室温摇动 24 h,测电导率 S_1 ,然后封口沸水浴 25 min,冷却,平衡 10 min 后测 S_2 ,同时测蒸馏水电导率 S_0 。

相对电导率(%) = $(S_1 - S_0) / (S_2 - S_0) \times 100\%$

1.2.5 MDA 含量及 O_2^- 产率 MDA 含量用硫代巴比妥酸法测定^[16], O_2^- 产率按文献^[17] 的方法测定。

1.2.6 SOD、POD 和 APX 活性 SOD 活性测定参

考 Giannopolitis 等^[18] 的方法,POD 活性测定采用 Cakmak 等^[19] 的方法,APX 活性测定采用 Nakano 等^[20] 的方法。

1.3 数据处理及分析

试验数据用 Microsoft Excel 绘图,采用 SPSS 统计软件进行方差分析和 Tukey 多重比较。

2 结果与分析

2.1 外源 6-BA 对高温下甜椒幼苗生长的影响

由表 1 可知, T_0 处理(单独高温)中,甜椒幼苗株高、茎粗、植株鲜重、植株干重、根鲜重、根干重均显著低于对照(CK),降幅分别为 36.8%、10.27%、73.8%、65.6%、82.8%、73.9%。与 T_0 相比较,不同浓度外源 6-BA 预处理甜椒幼苗各生长指标均随 6-BA 预处理浓度增加表现出先升高后降低的趋势,并均在 T_2 处理(10 $\mu\text{mol/L}$)时达到峰值。该处理幼苗的株高、茎粗、植株鲜重、植株干重、根鲜重、根干重相比 T_0 分别显著上升了 52.2%、10.9%、215.3%、178.1%、383.5% 和 277.2% ($P < 0.05$),其中株高、茎粗、植株干重、根干重甚至与 CK 接近 ($P > 0.05$),有不同程度增加;其余处理各生长指标大多均比 T_0 有不同程度增加,少数虽有降低但未达到显著水平。可见,外源 6-BA 预处理能有效缓解高温胁迫对甜椒幼苗生长的抑制作用,并以 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 的效果最佳,且其中的生物量指标(植株和根系的干鲜重)反应更为敏感。

2.2 外源 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗叶片叶绿素含量的影响

由表 2 可知,高温胁迫导致了各处理甜椒幼苗叶片叶绿素含量较常温对照(CK)不同程度降低。相比 CK, T_0 处理(高温)中幼苗叶绿素 a、叶绿素 b、

表 1 外源 6-BA 处理对高温胁迫下甜椒幼苗生长的影响

Table 1 Effect of exogenous 6-BA on the growth of sweet pepper seedlings under high temperature stress

处理 Treatment	株高 Plant height/cm	茎粗 Stem diameter/cm	地上鲜重 Shoot fresh weight/g	地上干重 Shoot dry weight/g	根鲜重 Root fresh weight/g	根干重 Root dry weight/g
CK	10.922 $\pm$ 0.077 a	0.438 $\pm$ 0.002 a	5.181 $\pm$ 0.088 a	0.688 $\pm$ 0.005 a	2.847 $\pm$ 0.018 a	0.216 $\pm$ 0.003 a
T_0	6.900 $\pm$ 0.067 c	0.393 $\pm$ 0.008 b	1.360 $\pm$ 0.079 e	0.237 $\pm$ 0.004 e	0.491 $\pm$ 0.013 d	0.057 $\pm$ 0.001 b
T_1	7.233 $\pm$ 0.178 c	0.427 $\pm$ 0.010 a	1.393 $\pm$ 0.075 e	0.457 $\pm$ 0.022 c	0.624 $\pm$ 0.027 d	0.070 $\pm$ 0.011 b
T_2	10.500 $\pm$ 0.467 a	0.436 $\pm$ 0.005 a	4.288 $\pm$ 0.076 b	0.659 $\pm$ 0.006 a	2.374 $\pm$ 0.254 b	0.215 $\pm$ 0.007 a
T_3	9.300 $\pm$ 0.067 b	0.365 $\pm$ 0.003 c	3.305 $\pm$ 0.244 c	0.550 $\pm$ 0.005 b	1.476 $\pm$ 0.069 c	0.135 $\pm$ 0.005 ab
T_4	6.533 $\pm$ 0.178 c	0.367 $\pm$ 0.008 bc	1.877 $\pm$ 0.068 d	0.293 $\pm$ 0.003 d	1.481 $\pm$ 0.079 c	0.087 $\pm$ 0.050 b

注:CK 为未经 6-BA 和高温处理(40 $^{\circ}\text{C}$ /30 $^{\circ}\text{C}$); T_0 ~ T_4 为依次喷施 0、5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 溶液并经高温处理;同列中不同字母表示差异达 5% 显著水平;下同。

Note:CK is the control check without 6-BA and high temperature(40 $^{\circ}\text{C}$ /30 $^{\circ}\text{C}$) treatment; T_0 ~ T_4 represent treatments sprayed by 0,5,10,20 and 50 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA respectively,and stressed with high temperature;Different letters in the same columns indicate significant differences among treatments at 5% level. The same as below.

叶绿素 a+b 含量分别显著下降了 76.2%、57.8%、72.6%;各 6-BA 处理对高温胁迫下叶绿素含量降低具有不同程度的缓解作用,且存在明显的剂量效应,即随着 6-BA 浓度的升高表现出先升后降的趋势,并在 T_2 处理下达到最大值;各 6-BA 处理均高于相应 T_0 处理,10 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA(T_2 、 T_3)处理均显著高于 T_0 。其中,以 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA(T_2)缓解效果最好,其叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a+b 含量相比 CK 分别下降了 17.2%、0.9%、14.0%,相比 T_0 处理组分别显著上升了 71.2%、57.4%、67.1%。以上结果说明适宜浓度 6-BA 溶液可以缓解叶片叶绿素含量的降低从而保证甜椒幼苗正常的光合作用。

2.3 外源 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

F_v/F_m 反映 PS II 反应中心光能转换效率;Yield 反映了 PS II 反应中心在部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率; Φ_{PSII} 反映 PS II 反应中心在部分关闭情况下的实际原初光化学效率^[21]。图 1, A~C 显示,高温导致了各处理组甜椒幼苗叶片 Yield、 Φ_{PSII} 、 F_v/F_m 不同程度的下降。与 CK 相比, T_0 处理(蒸馏水)中幼苗叶片的荧光参数 Yield、 Φ_{PSII} 、 F_v/F_m 分别下降了 68.3%、71.8%、53.2%。不同浓度 6-BA 处理中,发现 10 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 溶液处理下的以上 3 个荧光参数与 T_0 处理相比上升幅度最大,特别是 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理与 T_0 处理相比,分别上升了 168.0%、215.0%、110.3%。

非光化学淬灭(NPQ)反映的是 PS II 天线色素吸收光能中不能用于光合电子传递而以热形式耗散掉的光能部分,植物通过热耗散的形式减小外界环境对机体的伤害。由图 1, D 可知,高温导致了不同处理下甜椒幼苗叶片 NPQ 的升高。不同浓度外源 6-BA 预处理甜椒幼苗叶片的 NPQ 随 6-BA 预处理浓度增加表现出先降低后升高的趋势,并在 T_2 (10 $\mu\text{mol/L}$)处理时达到谷值。与 CK 相比, T_0 (蒸馏水)、 T_1 (5 $\mu\text{mol/L}$)和 T_4 (50 $\mu\text{mol/L}$)处理的 NPQ 显著升高,而 T_2 (10 $\mu\text{mol/L}$)和 T_3 (20 $\mu\text{mol/L}$)处理与 CK 相比差异不显著。通过对以上 4 个荧光参数的分析,适宜浓度 6-BA 可以在一定程度上提升甜椒幼苗叶片光能利用率。这一结果和前文 6-BA 提升叶绿素含量有一定的联系。

表 2 外源 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗叶片叶绿素含量的影响
Table 2 Effect of exogenous 6-BA on chlorophyll contents in the leaves of sweet pepper seedlings under high temperature stress

处理 Treatment	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content /(mg · g ⁻¹)	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content /(mg · g ⁻¹)	叶绿素 a+b 含量 Chlorophyll(a+b) content /(mg · g ⁻¹)
CK	1.742±0.048 a	0.422±0.037 a	2.164±0.130 a
T ₀	0.415±0.025 e	0.178±0.015 b	0.593±0.040 d
T ₁	0.603±0.016 de	0.204±0.009 b	0.807±0.024 cd
T ₂	1.443±0.073 b	0.418±0.055 a	1.862±0.127 b
T ₃	1.204±0.106 c	0.420±0.036 a	1.624±0.094 b
T ₄	0.812±0.047 d	0.275±0.012 b	1.087±0.059 c

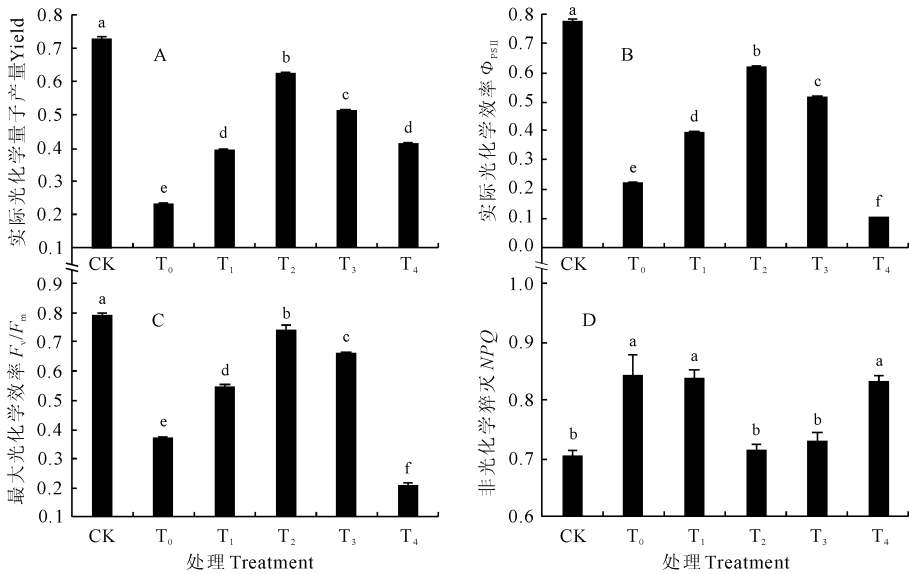


图 1 外源 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗叶片叶绿素荧光参数 Yield、 Φ_{PSII} 、 F_v/F_m 、NPQ 的影响
Fig. 1 Effect of exogenous 6-BA on Yield, Φ_{PSII} , F_v/F_m and NPQ in the leaves of sweet pepper seedlings under high temperature stress

2.4 外源 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗叶片超氧阴离子和抗氧化酶活性的影响

由图 2, A 可知, 高温导致了各处理组甜椒幼苗叶片中 O_2^- 的升高, T_0 处理(蒸馏水)相比 CK 显著升高了 81.0%。不同浓度 6-BA 处理中, 10 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 处理明显降低了 O_2^- 的产生, 相比 T_0 处理分别下降了 65.4% 和 51.6%。

由图 2, B~D 可知, 高温胁迫导致甜椒幼苗叶片 SOD、POD、APX 活性的升高, 而 6-BA 对 SOD、POD、APX 活性具有显著影响, 随着施加浓度的不同, 可以不同程度地提高这些抗氧化酶的活性(除 50 $\mu\text{mol/L}$ 处理下的甜椒幼苗叶片 POD 活性)。随着 6-BA 溶液预处理浓度的递增, 3 种酶活性均呈先升高后下降的趋势, 并均在 T_2 (10 $\mu\text{mol/L}$) 处理时达到峰值, 表明 6-BA 对甜椒幼苗上述 3 种酶活性

的影响具有剂量效应。这 3 种酶活性随着高温及不同 6-BA 处理浓度的变化趋势基本一致, 各高温处理的 3 种酶活性显著大于 CK (50 $\mu\text{mol/L}$ 处理下的 POD 除外), 其中 10 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 处理的幼苗酶活性升高幅度较大, 特别是 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 处理下, 叶片 SOD、APX、POD 活性分别比 T_0 处理升高了 50.5%、79.4%、50.3%。可见, 在适宜浓度的 6-BA 溶液处理下, 幼苗通过增大以上 3 种抗氧化酶的活性降低叶片中 O_2^- 的产率来缓解高温胁迫, 减小高温对植株的伤害。

2.5 外源 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗叶片相对电导率和 MDA 含量的影响

图 3 显示, 甜椒叶片 MDA 含量及相对电导率随着高温及不同 6-BA 处理浓度的变化趋势基本一致, 高温显著增大了叶片中 MDA 的含量及叶片的

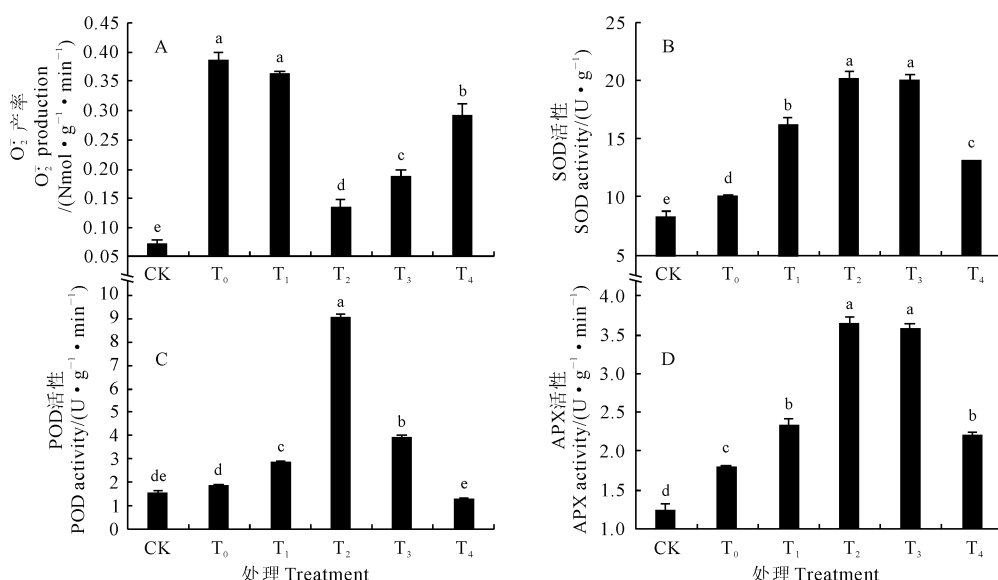


图 2 外源 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗叶片中 O_2^- 产率、SOD、POD、APX 活性的影响

Fig. 2 Effect of exogenous 6-BA on the production of O_2^- , the activities of SOD, POD and APX in the leaves of sweet pepper seedlings under high temperature stress

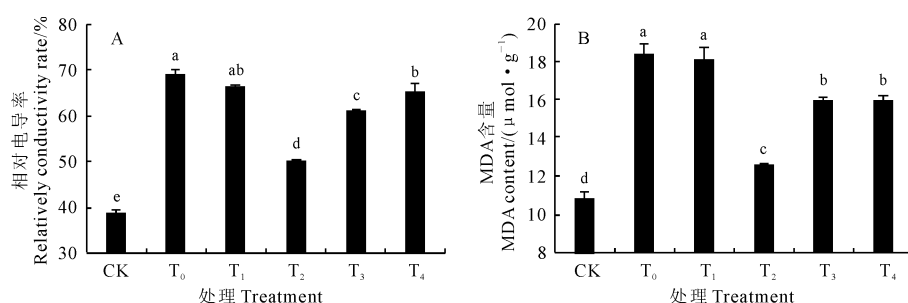


图 3 外源 6-BA 对高温胁迫下甜椒幼苗叶片中相对电导率和 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effect of exogenous 6-BA on relatively conductivity rate and MDA content in the leaves of sweet pepper seedlings under high temperature stress

相对电导率, T_0 处理(蒸馏水)中二者相比 CK 分别增大了 41.4% 和 43.8%; 高温胁迫下的 6-BA 处理组中, 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 使得叶片 MDA 含量及相对电导率的降低效果最为显著, 相比 T_0 分别下降了 31.9%、28.0%。说明 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 溶液处理下的甜椒幼苗受到高温伤害要小于其他处理。

3 讨 论

细胞分裂素是一类具有腺嘌呤环结构的植物激素, 它在高等植物中通过对细胞分裂与分化的调节而广泛参与了对植物生长发育的调控^[22], 从而在植物抗逆性中也起着重要的作用^[23]。本试验中, 甜椒幼苗生长指标在受到高温胁迫 7 d 后显著降低, 而在喷施浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 溶液后, 其根系生长和地上部生长表现基本正常, 可以很好地缓解高温对甜椒幼苗所造成的伤害。同时, 幼苗叶绿素含量的变化也有类似的趋势。叶绿素是高等植物进行光合作用的重要物质, 其含量的降低会导致植株光合效率降低, 生长迟缓, 有的甚至会导致植株死亡, 它的生物合成需要通过一系列的酶促反应, 温度过高和过低都会抑制酶反应的进行, 甚至会破坏原有的叶绿素^[24]。本研究中, 甜椒幼苗叶片叶绿素含量在高温胁迫下明显降低, 这可能是因为高温使叶绿素合成系统受阻, 原有叶绿素受到破坏; 而适宜浓度的外源 6-BA (10 $\mu\text{mol/L}$) 显著提高了高温胁迫下叶绿素的含量。这说明 6-BA 可以调节叶绿素的合成和降解, 减轻高温对叶绿体的伤害, 维持植株正常的生长状态, 实验中 6-BA 的这种调节作用可能与其能调节核编码的叶绿体蛋白基因的表达, 促进叶绿素前体 δ -氨基乙酰丙酸的合成有关^[12]。

叶绿素吸收的光能除用于光合作用外, 还有一部分在形成同化力之前以热耗散的形式流失和以荧光的形式重新发射出来^[25]。目前, 叶绿素荧光技术已经广泛应用于植物逆境生理、光合作用机理等方面的研究^[26]。在高温逆境方面, 前人运用叶绿素荧光动力学对高温胁迫下的柑橘^[27]及花椰菜^[28]做了相应的分析和研究, 发现高温胁迫下温州蜜柑和脐橙叶片的 F_v/F_m 、 ETR 下降, F_0 升高, 早熟花椰菜叶片的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 q_p 均明显降低。本研究中, 高温胁迫导致叶片 F_v/F_m 降低, NPQ 增大, 说明高温

胁迫下甜椒植株叶绿体结构受到破坏, 叶片的捕光能力降低, 用于光化学反应的能量减少, 进而导致了 Yield 和 Φ_{PSII} 的降低; 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 对这种高温伤害有所缓解, 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理的缓解效果最好, 而高浓度却起到相反的作用。这说明叶面喷施适宜浓度的 6-BA 可以增加 PS II 反应中心的开放比例, 使之捕获更多的光化学能, 从而维持植株正常的光合作用。

在热胁迫条件下, 植物叶片中超氧阴离子、过氧化氢(H_2O_2)等活性氧(ROS)的含量明显升高, 过量的 ROS 攻击细胞膜时, 会引起膜脂过氧化, MDA 即是膜脂氧化的最终产物^[29-30], 且细胞膜遭到破坏直接引起细胞渗透性增强, 电解质泄漏。本试验中, 高温导致了甜椒幼苗叶片细胞 O_2^- 产生速率显著升高, 相对电导率和 MDA 在此基础上也呈现上升趋势, 而 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 处理的 MDA 含量和相对电导率显著降低, 极大地缓解了高温对细胞膜的伤害。Gan 等^[31]曾报道过适宜浓度的细胞分裂素可以降低 MDA 含量, 从而延缓衰老, 本实验也有类似的结论。植物清除体内的过量 ROS 主要依赖于植株体内的抗氧化酶, 高温胁迫下抗氧化酶活性的变化在不同条件下表现不同, 主要与品种耐热性、处理温度及处理时间有关^[32]。本实验中, 高温胁迫下, 甜椒幼苗叶片 SOD、POD 和 APX 活性增加, 说明甜椒幼苗可通过自身的调节机制, 维持较高的抗氧化酶活性, 以适应环境胁迫, 这一结论和张永平^[33]的类似; 同时, 与未用 6-BA 处理相比, 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA 处理可显著提高甜椒幼苗抗氧化酶(SOD、POD 和 APX)活性, 有利于其及时清除活性氧自由基, 减少膜脂过氧化产物 MDA 的生成, 保护膜的结构和功能的完整。

综上所述, 适宜浓度外源 6-BA 可以有效缓解高温胁迫对甜椒幼苗生长的抑制, 它可能是通过减缓植株叶片叶绿素的降解和光化学效率的降低, 以及增强体内抗氧化酶活性以减轻膜脂过氧化作用, 进而降低 O_2^- 的产率及有害物质 MDA 积累而实现的。另外, 这种缓解作用存在明显的剂量效应, 本实验中有效缓解甜椒幼苗高温胁迫所需 6-BA 的适宜浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 。

参考文献:

- [1] CHEN P Q(陈培琴), YU S L(郁松林), SHAN Y Y(詹妍妮), et al. A review on plant heat stress physiology[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2006, 22(5): 223—226(in Chinese).

- [2] LU X M(陆晓民), SUN J(孙 锦), GUO SH R(郭世荣), *et al.* Effects of exogenous 24-epibrassinolide on the leaf photosynthetic characteristics and polyamines content of cucumber seedlings under hypoxia stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2012, **23**(1): 140—146(in Chinese).
- [3] SUN Y(孙 艳), XU W J(徐伟君), FAN A L(范爱丽). Effects of salicylic acid on chlorophyll fluorescence and xanthophyll cycle in cucumber leaves under high temperature and strong light[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2006, **17**(3): 399—402(in Chinese).
- [4] HAN X Y(韩忻彦), WANG Y SH(王云山), ZHANG CH(张 超), *et al.* Effect of exogenous jasmonic acids(JAs) on *Anthurium andraeanum* seedlings under high temperature stress[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2009, **25**(20): 144—148(in Chinese).
- [5] CAO Y Y(曹云英), ZHAO H(赵 华). Protective roles of brassinolide in rice seedlings under heat stress[J]. *Chinese J. Rice Sci.* (中国水稻科学), 2007, **21**(5): 525—529(in Chinese).
- [6] CHEN G L(陈贵林), JIA K ZH(贾开志). Effects of calcium and calmodulin antagonist on antioxidant systems of eggplant seedlings under high temperature stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2005, **38**(1): 197—202(in Chinese).
- [7] LIU SH R(刘书仁), GUO SH R(郭世荣), LIU CH J(刘超杰), *et al.* Effects of proline on the content of nitrogen compounds and nitrate reductase activity of cucumber under high temperature stress[J]. *Jiangsu J. of Agr. Sci.* (江苏农业学报), 2011, **27**(2): 366—370(in Chinese).
- [8] TIAN J(田 婧), GUO SH R(郭世荣), *et al.* Effects of exogenous spermidine pretreatment on antioxidant system in cucumber seedling leaves under high temperature stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2009, **29**(11): 2 261—2 267(in Chinese).
- [9] NISHIYAMA R, WATANABE Y, *et al.* Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis[J]. *Plant Cell*, 2011, **23**(6): 2 169—2 183.
- [10] WU X X, ZHU Z W, LI X, *et al.* Effects of cytokinin on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant system in seedlings of eggplant (*Solanum melongena* L.) under salinity stress[J]. *Acta Physiol. Plan.*, 2012, **34**(6): 2 105—2 114.
- [11] YANG F F(杨芳芳), ZHANG G B(张国斌), XIE J M(靳建明), *et al.* Effects of 6-BA pretreatment on chlorophyll fluorescence parameter and lipid peroxidation in pepper seedlings under low temperature and weak light stress[J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 2009, **45**(6): 575—578(in Chinese).
- [12] ZHANG G B(张国斌), YANG F F(杨芳芳), YU J H(郁继华). Effects of 6-BA pretreatment on photosynthesis characteristics and endogenous hormone content in pepper seedlings under low temperature and weak light stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica* (草业学报), 2013, **22**(3): 177—183(in Chinese).
- [13] LIANG J F(梁金凤), AN Y(安 渊). Effect of 6-benzyladenine on heat tolerance of alfalfa[J]. *Chinese Journal of Grassland* (中国草地学报), 2006, **28**(4): 39—43(in Chinese).
- [14] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*[J]. *Plant Physiology*, 1981, **24**(1): 1—15.
- [15] ZHANG Y P(张永平), YANG SH J(杨少军), *et al.* Effects of 2,4-epibrassinolide on antioxidant enzyme activities and photosynthesis in melon seedlings under high temperature stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2011, **31**(7): 1 347—1 354(in Chinese).
- [16] HEATH RL, PACKER L. Photo peroxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1968, **125**(1): 189—198.
- [17] WANG A G(王爱国), LUO G H(罗广华). Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. *Plant Physiol. Commun.* (植物生理学通讯), 1990, (6): 55—57(in Chinese).
- [18] GIANNOPOLITIS N, RIES S K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiology*, 1977, **59**(2): 309—314.
- [19] CAKMAK I, MARSCHNER H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves[J]. *Plant Physiology*, 1992, **98**(4): 1 222—1 227.
- [20] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant Cell Physiol.*, 1981, **22**(5): 867—880.
- [21] LI J(李建建), CHANG Y J(常雅君), *et al.* Changes of some photosynthetic properties and photosystem II photochemical activities in cucumber seedlings under high temperature stress[J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 2007, **43**(6): 1 085(in Chinese).
- [22] DENG Y(邓 岩), WANG X CH(王兴春), YANG SH H(杨淑华), *et al.* New insights into cytokinins: metabolism, signal transduction, cross talks and potentials in agricultural applications[J]. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), 2006, **23**(5): 478—498(in Chinese).
- [23] WANG S G(王三根). Roles of cytokinin on stress-resistance and delaying senescence in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), 2000, **17**(2): 121—126(in Chinese).
- [24] WANG P R(王平荣), ZHANG F T(张帆涛), GAO J X(高家旭), *et al.* An overview of chlorophyll biosynthesis in higher plants[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2009, **29**(3): 629—636(in Chinese).
- [25] LIN D D(林达定), ZHANG G F(张国防), YU J B(于静波), *et al.* Analyses of photosynthetic pigment content and chlorophyll fluorescence parameter in leaves of different clones of *Cinnamomum camphora*[J]. *Journal of Plant Resources and Environment* (植物资源与环境学报), 2011, **20**(3): 56—61(in Chinese).
- [26] LI X(李 晓), FENG W(冯 伟), ZENG X CH(曾晓春). Advances in chlorophyll fluorescence analysis and its uses[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2006, **26**(10): 2 186—2 196(in Chinese).
- [27] WANG B L(汪炳良), XU M(徐 敏), *et al.* Effects of high temperature stress on antioxidant systems, chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in early cauliflower leaves[J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2004, **37**(8): 1 245—1 250(in Chinese).
- [28] GUO Y P(郭延平), ZHOU H F(周慧芬), ZENG G H(曾光辉), *et al.* Effects of high temperature stress on net photosynthetic rate and photosystem[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2003, **14**(6): 867—870(in Chinese).
- [29] LI Y S(李衍素), GAO J J(高俊杰), CHEN M SH(陈民生), *et al.* Effects of high temperature stress on membrane damage and activities of protective enzymes in cowpea seedling leaves[J]. *Journal of Shandong Agricultural University* (Nat. Sci. Ed.) (山东农业大学学报·自然科学版), 2007, **38**(3): 378—382(in Chinese).
- [30] CHAOU I A, MAZHOUDI S, GHORBAL M H. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in Bean[J]. *Plant Sci.*, 1997, **127**(2): 139—147.
- [31] GAN S S, AMASINO R M. Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin[J]. *Science*, 1995, **270**(5 244): 1 986—1 988.
- [32] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993.
- [33] ZHANG Y P(张永平), CHEN Y Y(陈幼源), *et al.* Effects of 2,4-epibrassinolide on physiological characteristics and photosynthesis of melon seedlings under high temperature stress[J]. *Plant Physiology Journal* (植物生理学报), 2012, **48**(7): 683—688(in Chinese).