

干旱胁迫下外源硫化氢对烤烟幼苗光合 荧光参数及抗氧化系统的影响

李 冬¹, 申洪涛², 王艳芳¹, 王丽君¹, 赵世民³, 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, 郑州 450016; 3 河南省烟草公司洛阳市公司技术中心, 河南洛阳 471023)

摘 要:为探究干旱胁迫下外源硫化氢(H_2S)对烟草幼苗生长的缓解效应与机制,以烤烟‘豫烟6号’品种为试验材料,采用营养液水培的方法,研究15%聚乙二醇(PEG-6000)模拟干旱胁迫下,叶面喷施不同浓度(0、0.1、0.2和0.4 $mmol \cdot L^{-1}$)硫氢化钠(NaHS)对烤烟幼苗生长、活性氧代谢、抗氧化酶活性、叶绿素含量和光合荧光特性的影响。结果显示:(1)干旱胁迫下烤烟幼苗生长受到显著抑制。(2)外源 H_2S 处理显著提高了干旱胁迫下烤烟幼苗的地上部与地下部生物量,增加了总根长、总根表面积、根平均直径、根尖数,提高了叶绿素相对含量(SPAD)、叶片净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)、光系统II最大光化学效率(F_v/F_m)、光系统II实际光化学效率(Φ_{PSII})和光化学猝灭系数(qP),降低了胞间二氧化碳浓度(C_i)和非光化学猝灭系数(NPQ),增强了超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性,降低了丙二醛(MDA)含量和超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)产生速率,其中以0.20 $mmol \cdot L^{-1}$ NaHS处理效果最佳。(3)与单独干旱胁迫处理相比,叶面喷施0.20 $mmol \cdot L^{-1}$ NaHS使烟苗地上部和地下部生物量分别提高了41.82%和44.83%,SPAD、 P_n 、 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 qP 分别提高62.88%、246.96%、8.43%、23.71%和10.84%, C_i 和NPQ分别降低25.79%和22.68%,SOD、POD和CAT活性分别增加50.67%、140.59%和71.68%,MDA含量和 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率分别降低40.08%和47.58%。研究表明,外源 H_2S 处理通过提高烟草幼苗对光能的捕获与转换,增强光合作用,促进烟苗生长,并通过提高幼苗的抗氧化水平,减少干旱胁迫对烟草幼苗造成的氧化损伤,从而增强烤烟幼苗对干旱胁迫的适应能力。

关键词:烤烟幼苗;干旱胁迫;外源硫化氢;抗氧化能力;光合特性;叶绿素荧光

中图分类号:Q945.78; S572

文献标志码:A

Effect of Exogenous Hydrogen Sulfide on Photosynthetic Fluorescence Parameters and Antioxidant System of Flue-cured Tobacco Seedlings under Drought Stress

LI Dong¹, SHEN Hongtao², WANG Yanfang¹, WANG Lijun¹, ZHAO Shimin³, LIU Ling^{1*}

(1 College of Agricultural, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China; 2 Technology Center, China Tobacco Henan Industrial Limited Company, Zhengzhou 450016, China; 3 Technology Center, Luoyang Branch of Henan Provincial Tobacco Corporation, Luoyang, Henan 471023, China)

Abstract: Hydrogen sulfide (H_2S) is a novel endogenous gaseous signal molecule that regulates plant

收稿日期:2019-06-03;修改稿收到日期:2019-08-09

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

作者简介:李 冬(1995—),男,在读硕士研究生,主要从事烟草栽培与生理生态研究。E-mail:ldluoyang@126.com

*通信作者:刘 领,副教授,主要从事作物栽培与生理生态研究。E-mail:liulinghenan@126.com

stress resistance. To investigate the alleviation effect and mechanism of exogenous hydrogen sulfide (H_2S) on tobacco seedlings growth under drought stress. This study adopted the method of nutrient solution hydroponics and used 15% polyethylene glycol (PEG-6000) to simulate drought stress. Flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. 'Yuyan No. 6') was tested for their response following foliar-spraying with sodium hydrosulfide (NaHS) at concentrations of 0, 0.1, 0.2 and 0.4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. Parameters measured included seedling growth, active oxygen metabolism, antioxidant enzyme activity, chlorophyll content and photosynthetic fluorescence characteristics. The results showed that: (1) tobacco seedling growth was significantly inhibited under drought stress. (2) Exogenous H_2S treatments significantly enhanced both shoot and root fresh weight, increased the total root length, total root surface area, average root diameter and root tip number of tobacco seedlings, enhanced chlorophyll relative content (SPAD), net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r), stomatal conductance (G_s), maximal PS II quantum yield (F_v/F_m), PS II actual photochemical efficiency (Φ_{PSII}) and photochemical quenching coefficient (qP), and reduced intercellular carbon dioxide concentration (C_i) and non-photochemical quenching coefficient (NPQ), enhanced the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), and decreased malondialdehyde (MDA) content and superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot -}$) generation rate under drought stress. Foliar application with 0.20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS produced the largest growth promotion effects and drought stress alleviation. (3) Compared with drought stress alone, 0.20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHS increased shoot and root fresh weight of tobacco seedling by 41.82% and 44.83%, enhanced SPAD, P_n , F_v/F_m , Φ_{PSII} and qP by 62.88%, 246.96%, 8.43%, 23.71% and 10.84%, decreased C_i and NPQ by 25.79% and 22.68% enhanced the activities of SOD, POD and CAT by 50.67%, 140.59% and 71.68%, reduced MDA content and $\text{O}_2^{\cdot -}$ generation rate by 40.08% and 47.58%, respectively. These results indicated that exogenous H_2S positively stimulated tobacco seedlings to capture and convert solar energy, thus promoting seedling photosynthesis and growth, and also enhanced the adaptability of seedlings to drought stress by improving antioxidant capacity and reducing oxidative damage.

Key words: flue-cured tobacco seedlings; drought stress; exogenous hydrogen sulfide; antioxidant capacities; photosynthetic characteristics; chlorophyll fluorescence

干旱是限制植物正常生长的重要环境因子之一。干旱胁迫导致植物体内活性氧的产生和清除系统之间的平衡遭到破坏,造成活性氧过量积累,从而损伤植物细胞膜结构,致使核酸、蛋白质、酶等生物活性丧失,植物叶片光合色素的积累减少,光合作用受到抑制,细胞正常代谢受阻,最终影响植物生长甚至死亡^[1-3]。近年来,随着全球气候变化的加剧,干旱发生频率高、范围广、持续时间长已成为制约中国许多地区农业生产的重要限制因素^[4-6]。因此,探究改善植物对干旱胁迫适应能力的有效农艺措施及其调节机制具有重要的理论和实践意义。

通过施用外源物质来调节植物抗旱性是目前较为行之有效的方法之一。继一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)之后,硫化氢(H_2S)是近年来发现的第3种内源气体信号分子,并在动物体内参与调节血管舒张、神经传导等多种生命活动进程^[7]。众多研究表明植物体内也存在 H_2S ,在植物体中具有参与气孔运动、调节花期、促进根系发育、减轻氧化损伤、提高抗逆性等多种生理功能^[8-10]。李永生等^[11]研究了

PEG 模拟干旱胁迫下外源 H_2S 对玉米种子萌发及幼苗生长的影响,发现外源 H_2S 能提高玉米种子的萌发能力和玉米幼苗的抗氧化水平,减轻干旱胁迫对玉米叶片的氧化损伤,在一定程度上提高了玉米幼苗对干旱胁迫的抵抗能力。丁会纳等^[12]研究了外源 H_2S 对干旱胁迫下小麦旗叶生理特性及籽粒产量的影响,发现外源 H_2S 可以通过提高小麦旗叶的抗氧化酶活性,降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)等有害物质的积累,提高小麦植株的抗旱性。郑州元等^[13]研究了外源 H_2S 对盐胁迫下加工番茄幼苗光合及叶绿素荧光特性的影响,发现外源 H_2S 能通过提高番茄幼苗叶片的光合色素量和光合电子传递效率,有效地缓解盐胁迫对加工番茄生长的抑制作用。

烤烟是我国重要的经济作物之一,我国大部分烟区由于烟苗移栽期干旱少雨,容易引起幼苗因无法得到充足的水分而导致的生理障碍,影响烟株正常缓苗生根,进而限制烟叶产量和品质的提升^[14]。尽管外源 H_2S 在非生物胁迫下调控植物抗氧化水

平、光合性能等方面已有较多研究报道,然而,在干旱胁迫下外源 H_2S 对植物生长的调节效应及其内在机制仍缺乏系统研究。为此,本研究以烤烟幼苗为试验材料,探讨了干旱胁迫下叶片喷施不同浓度的 H_2S 供体硫氢化钠($NaHS$)溶液对烤烟幼苗生物量积累、根系形态、抗氧化性能和光合荧光参数的影响,旨在进一步阐明外源 H_2S 调节植物抗旱性生理机制,为其在农业生产中的推广应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

供试烤烟品种为‘豫烟6号’,由洛阳市烟草公司提供。 H_2S 供体 $NaHS$ 购自美国 Sigma 公司,聚乙二醇-6000(PEG-6000)购自上海国药集团化学试剂有限公司。

1.2 试验设计

试验于2018年在河南科技大学农学院旱作与节水生理生态重点实验室进行,采用营养液水培法。选取大小均匀,籽粒饱满的烟草种子,用10%(V/V) H_2O_2 表面消毒10 min,蒸馏水冲洗后浸种8 h,然后在育苗盘中发芽,放入人工气候培养箱中,设置光照强度为4 000 Lx,昼/夜温度[28/(20±2)]℃,光照周期为14 h/10 h,当烟苗生长至四叶期时,选取形态长势基本一致的烟草幼苗,用蒸馏水洗净根部后移入盛有 Hoagland 营养液[pH(5.7±0.2)]的不透明水培盆中(规格:41 cm×31 cm×14.5 cm),每盆定苗20株,待烤烟幼苗培养至五叶一心时进行干旱胁迫处理试验,在 Hoagland 营养液中加入15% PEG-6000 模拟中度干旱胁迫。

试验共设5个处理:Hoagland 营养液+喷施蒸馏水(CK);Hoagland 营养液+15% PEG+喷施蒸馏水(T_1);Hoagland 营养液+15% PEG+喷施0.1 mmol·L⁻¹ $NaHS$ (T_2);Hoagland 营养液+15% PEG+喷施0.2 mmol·L⁻¹ $NaHS$ (T_3);Hoagland 营养液+15% PEG+喷施0.4 mmol·L⁻¹ $NaHS$ (T_4);每个处理20株,重复3次。处理期间每2 d更换1次处理液,每天按处理设置喷施1次蒸馏水或相应浓度的 $NaHS$ 溶液,叶片正反面均匀喷施至形成细雾状小液珠欲滴为止,每次喷完后覆膜保湿1 h。于处理6 d后选取烟株从上往下数第3片展开的叶片进行各项指标测定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 生物量及根系形态指标测定 取各处理整株烟苗用吸水纸将叶片和根系水分吸干,从根茎结

合处剪断,分别称量地上部和地下部的鲜重。采用 WinRHIZO 2008 根系扫描仪分析软件对根系总长度、根系表面积、根系平均直径和根尖数进行定量分析。

1.3.2 叶绿素相对含量的测定 采用日本柯尼卡美能达 SPAD-502PLUS 叶绿素仪进行测量,每片叶测定叶尖、叶中、叶基共3个部位,取平均值。

1.3.3 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9:00~11:00进行测量。测定时选择 Li-6400-02B 红蓝光光源叶室,温度为25℃,使用开放式气路,空气相对湿度为50%~70%,设定有效光合辐射(PAR)为800 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, CO_2 浓度为400 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。测定参数包括净光合速率(net photosynthetic rate, P_n)、蒸腾速率(transpiration, T_r)、气孔导度(stomatal conductance, G_s)和胞间 CO_2 浓度(intercellular CO_2 concentration, C_i)。

1.3.4 叶绿素荧光参数的测定 采用 PAM-2100 便携式调制荧光仪(PAM 2100, Walz, Germany)进行测定。先测定光下最大荧光(F_m')、稳态荧光(F_s)和光下最小荧光(F_o'),然后将同部位烤烟幼苗叶片暗适应20 min,测定初始荧光(F_o)、最大荧光(F_m)。通过以上测定的叶绿素荧光参数计算出光系统Ⅱ(PSⅡ)最大光化学效率(F_v/F_m)=($F_m - F_o$)/ F_m 、光系统Ⅱ实际光化学效率($\Phi_{PSⅡ}$)=($F_m' - F_s$)/ F_m' 、光化学猝灭系数(qP)=($F_m' - F_s$)/($F_m' - F_o'$)和非光化学猝灭系数(NPQ)=($F_m - F_m'$)/ F_m' 。

1.3.5 生理生化指标的测定 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性采用氮蓝四唑光化还原法测定,过氧化物酶(peroxidase, POD)活性采用愈创木酚法测定,过氧化氢酶(catalase, CAT)活性采用紫外吸收法测定,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸比色法测定^[15]。超氧阴离子产生速率($\text{O}_2^{\cdot-}$)参照王爱国等的方法^[16]。

1.4 数据处理

采用 Excel 2016 和 SPSS 22.0 软件进行数据处理和分析,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,Origin 9.0 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下外源 H_2S 对烤烟幼苗形态指标的影响

由表1可见,与对照(CK)相比,单独干旱胁迫

处理(T₁)的烤烟幼苗地上部鲜重和地下部鲜重分别降低了 30.67%和 38.40%,总根长、根表面积、根平均直径和根尖数分别降低了 33.98%、39.89%、54.17%和 40.49%,差异均达极显著水平($P>0.01$)。与单独干旱胁迫处理相比,叶片喷施不同浓度 NaHS 溶液对烤烟幼苗的地上部、地下部鲜重、总根长、根表面积、根平均直径和根尖数均具有显著促进作用,且随着外源 NaHS 的浓度增加表现出先升高后下降的趋势,以施用浓度为 0.2 mmol · L⁻¹ NaHS 处理(T₃)各项指标最高;与单独干旱胁迫相比,T₃ 处理烤烟幼苗的地上部和地下部鲜重分别增加了 41.82%和 44.83%,总根长、根表面积、根平均直径和根尖数分别增加了 34.82%、41.63%、77.27%和 53.07%,差异均达极显著水平($P>0.01$)。说明适宜浓度的外源 H₂S 能有效缓解干旱胁迫对烤烟幼苗的伤害,促进烟苗根系的生长,提高生物量。

2.2 干旱胁迫下外源 H₂S 处理对烤烟幼苗叶绿素含量的影响

由表 2 可知,与 CK 相比,单独干旱胁迫处理下

烤烟幼苗的 SPAD、 P_n 、 T_r 和 G_s 均显著下降,分别降低了 44.80%、79.88%、58.22%和 77.32%,而 C_i 则提高了 52.12%,差异均达极显著水平($P>0.01$)。与单独干旱胁迫处理相比,叶面喷施不同浓度 NaHS 溶液对烤烟幼苗的 SPAD、 P_n 、 T_r 和 G_s 均具有明显促进作用,但随着外源 NaHS 处理浓度的增加呈现先升高后降低的趋势,以施用 0.20 mmol · L⁻¹ NaHS 处理效果最佳,而 C_i 则表现出完全相反的规律。与单独干旱胁迫处理相比,T₃ 处理的 SPAD、 P_n 、 T_r 和 G_s 分别增加了 62.88%、246.96%、103.43%和 380.40%, C_i 降低了 25.79%,差异均达极显著水平($P>0.01$)。表明适宜浓度的外源 H₂S 处理能有效提高干旱胁迫下烤烟幼苗的光合速率,增强光合能力。

2.3 干旱胁迫下外源 H₂S 处理对烤烟幼苗叶绿素荧光参数的影响

由表 3 可知,与 CK 相比,单独干旱胁迫下烤烟幼苗的 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)分别降低了 10.71%、31.70%和 15.54%,非光化学猝灭系数

表 1 外源 H₂S 对干旱胁迫下烤烟幼苗生长的影响

Table 1 Effects of exogenous hydrogen sulfide on the growth of flue-cured tobacco seedlings under drought stress

处理 Treatment	单株地上部鲜重 Shoot fresh weight/g	单株地下部鲜重 Root fresh weight/g	总根长 Total root length/cm	总根表面积 Total root surface area/cm ²	根平均直径 Average root diameter/cm	根尖数 Root tip number
CK	9.52±0.58Aa	0.81±0.04Aa	83.78±3.19Aa	287.28±4.37Aa	0.96±0.03Aa	793.67±10.02Aa
T ₁	6.60±0.33Bc	0.58±0.02Cd	55.31±3.82Dd	172.69±6.43Cd	0.44±0.03Dd	472.33±32.72Dd
T ₂	7.94±0.64ABb	0.72±0.03Bc	66.07±1.60Cc	194.66±5.59Cc	0.59±0.07Cc	618.33±19.86Cc
T ₃	9.36±0.35Aa	0.84±0.04Aab	74.57±1.95Bb	244.58±11.96Bb	0.78±0.05Bb	723.00±18.00Bb
T ₄	7.78±0.67ABb	0.76±0.03ABbc	65.57±1.44Cc	196.51±19.98Cc	0.60±0.07Cc	642.67±10.79Cc

注:同列不同大写字母表示不同处理间差异达极显著水平($P<0.01$);同列不同小写字母表示不同处理间差异达显著水平($P<0.05$)。下同

Note: Different capital letters in the same column indicate extremely significant differences among different treatments at 0.01 level. Different normal letters in the same column indicate significant difference among different treatments at 0.05 level. The same as below

表 2 外源 H₂S 对干旱胁迫下烤烟幼苗光合特性的影响

Table 2 Effects of exogenous hydrogen sulfide on the photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco seedlings under drought stress

处理 Treatment	叶绿素相对含量 SPAD	净光合速率 P_n /($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	蒸腾速率 T_r /($\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	气孔导度 G_s /($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	胞间 CO ₂ 浓度 C_i /($\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$)
CK	44.0±1.8Aa	9.64±0.26Aa	1.60±0.06Aa	0.057±0.003Aa	203.21±11.96Dd
T ₁	24.3±0.8De	1.94±0.60Dd	0.67±0.05Dd	0.013±0.003Cc	309.12±3.15Aa
T ₂	31.9±1.3Cd	4.12±0.97Cc	1.07±0.11BCc	0.039±0.009Bb	281.37±7.65Bb
T ₃	39.5±1.1Bb	6.73±0.71Bb	1.36±0.10ABb	0.062±0.003Aa	229.40±6.48Cc
T ₄	37.1±1.7Bc	4.17±0.46Cc	0.94±0.14CDc	0.032±0.001Bb	269.15±5.25Bb

NPQ 提高了 54.88%,差异均达极显著水平($P>0.01$),说明干旱胁迫对烤烟叶片的光合机构造成了一定程度的损伤。与 T_1 相比, T_2 、 T_3 和 T_4 的 PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)分别显著提高了 6.36%、8.43%和 4.63%;PS II 实际光化学效率(Φ_{PSII})分别显著提高了 11.15%、23.71%和 8.67%;光化学猝灭系数(qP)分别显著提高了 7.28%、10.84%和 5.43%;非光化学猝灭系数 NPQ 分别显著降低了 11.55%、22.68%和 8.40%。说明外源 H_2S 能有效减缓干旱胁迫对烤烟幼苗的光抑制作用,提高光能的吸收和电子传递速率,且以 $0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源 H_2S 处理效果最佳。

2.4 干旱胁迫下外源 H_2S 对烤烟幼苗 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率和 MDA 含量的影响

从图 1 可以看出,与 CK 相比,单独干旱胁迫下烤烟幼苗叶片超氧阴离子产生速率和 MDA 含量均显著提高,分别增加了 207.18%和 151.82%,差异均达极显著水平($P>0.01$),说明干旱胁迫下烤烟

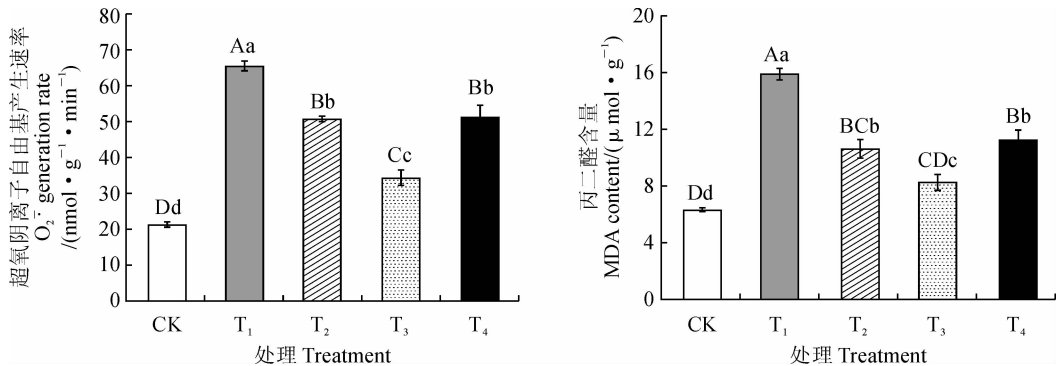
幼苗叶片的细胞膜受到了一定程度的损害。与单独干旱胁迫处理相比,叶面喷施不同浓度 NaHS 溶液处理显著降低了烤烟幼苗超氧阴离子产生速率和 MDA 含量,且随外源 NaHS 处理浓度的增加呈现先降低后升高的趋势,以 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaHS 处理效果最为明显; T_3 处理下烤烟幼苗超氧阴离子产生速率和 MDA 含量较单独干旱处理降低了 47.58%和 29.33%,差异均达极显著水平($P>0.01$)。表明外源 H_2S 处理可以显著降低烤烟幼苗超氧阴离子产生速率,抑制烟草幼苗体内 MDA 的积累,有效降低干旱胁迫对细胞膜脂的过氧化损伤,保护细胞膜结构,从而减轻干旱胁迫伤害。

2.5 干旱胁迫下外源 H_2S 对烤烟幼苗抗氧化酶活性的影响

由图 2 可知,与 CK 相比,单独干旱胁迫导致烤烟幼苗的 SOD 活性显著升高,而 POD 和 CAT 活性无明显变化。与单独干旱胁迫处理相比,随着叶片喷施外源 NaHS 溶液浓度的增加,烤烟幼苗的 POD、

表 3 外源 H_2S 对干旱胁迫下烤烟幼苗叶绿素荧光参数的影响
Table 3 Effects of exogenous hydrogen sulfide on the chlorophyll fluorescence parameters of flue-cured tobacco seedlings under drought stress

处理 Treatment	PS II 最大光化学效率 F_v/F_m	PS II 实际光化学效率 Φ_{PSII}	光化学猝灭系数 qP	非光化学猝灭系数 NPQ
CK	0.825±0.003Aa	0.478±0.010Aa	0.762±0.010Aa	0.228±0.007Dd
T_1	0.737±0.012Dd	0.327±0.009Cd	0.643±0.009Cd	0.353±0.009Aa
T_2	0.784±0.002BCbc	0.363±0.007Cc	0.690±0.004Bc	0.313±0.006Bb
T_3	0.799±0.002Bb	0.404±0.006Bb	0.713±0.005Bb	0.273±0.007Cc
T_4	0.771±0.003Cc	0.355±0.003Cc	0.678±0.004Bc	0.324±0.005ABb



不同大写字母表示不同处理间差异达极显著水平($P<0.01$);不同小写字母表示不同处理间差异达显著水平($P<0.05$)。下同
图 1 外源 H_2S 对干旱胁迫下烤烟幼苗超氧阴离子产生速率和 MDA 含量的影响
Different capital letters mean extremely significant differences among different treatments at 0.01 level. Different normal letters mean significant difference among different treatments at 0.05 level. The same as below
Fig. 1 Effects of exogenous hydrogen sulfide on the generation rate of superoxide anion and MDA content of flue-cured tobacco seedlings under drought stress

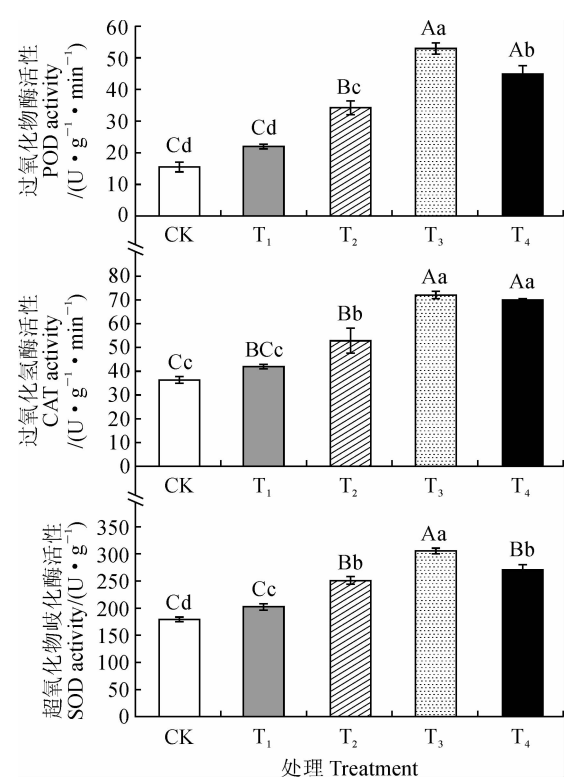


图2 外源 H₂S 对干旱胁迫下烤烟幼苗 POD、CAT 和 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of exogenous hydrogen sulfide on the POD, CAT and SOD activities of flue-cured tobacco seedlings under drought stress

CAT 和 SOD 活性呈现出先升高后降低的趋势,且均以施用 0.2 mmol · L⁻¹ NaHS 时增幅最大;与单独干旱胁迫相比,T₃ 处理下烤烟幼苗 POD、CAT 和 SOD 活性分别提高了 140.59%、71.68%和 50.67%,差异均达极显著水平($P>0.01$)。说明外源 H₂S 能显著提高干旱胁迫下烟草幼苗的 POD、CAT 和 SOD 活性,增强烤烟幼苗叶片细胞对活性氧的清除能力,缓解因干旱胁迫而引起的膜脂过氧化程度。

3 讨论

当植物遭受干旱胁迫时通常会导致植株生长发育受阻,生物量降低^[17]。根系是植物吸收水分、养分并进行物质转化的重要场所,也是最先感知逆境胁迫信号的部位,其生长状况和形态特征将直接影响植株地上部器官的生长发育,因此根系形态常被作为衡量植物抗旱性的重要指标^[18-19]。李丽杰等^[20]采用营养液培养 20% PEG 模拟干旱胁迫试验研究表明干旱胁迫显著降低了玉米幼苗地上部及根系生物量、根系总根长、总根表面积、总根体积和根平均直径。本研究中采用 15% PEG 模拟中度干旱

对烟草幼苗也达到了相似的胁迫效果,说明中度干旱胁迫已超出烟苗耐旱能力的极限,对烤烟幼苗的生长及根系形态指标产生了明显的抑制作用。本研究也表明叶面喷施不同浓度的外源 NaHS 使干旱胁迫下烤烟幼苗的地上部与地下部鲜重、总根长、根表面积、根平均直径和根尖数均得到显著提高,表明外源 H₂S 通过促进根系伸长,增大根表面积,来增强根系吸收水分和养分的能力,有效缓解了干旱胁迫对烤烟幼苗的损伤,进而促进到植株地上部分的生长。这与 Shen 等^[21]在拟南芥上的研究结果相似,可能与 H₂S 是生长素的下游信号分子,通过上调细胞循环过程中的相关基因的表达,促进生长素对细胞伸长的刺激作用,来调控根系的生长发育有关^[22]。

光合作用是作物生长发育的基础,直接影响着作物的产量和品质,叶绿素是重要的光合色素,在光能的吸收、传递与转化等方面起着重要的作用,是光合作用的主要执行者^[23-24]。叶绿素含量对干旱胁迫的反应是敏感的,干旱胁迫会导致植物叶片失水,影响叶绿素的合成,甚至促进已合成的叶绿素分解^[5]。本试验研究表明,干旱胁迫下烤烟幼苗的叶绿素含量明显降低,而喷施外源 H₂S 在不同程度上增加了叶绿素含量,缓解了干旱胁迫对烤烟幼苗光合系统的伤害,增强了烤烟叶片对光能的吸收和利用,促进了干物质的积累,这与黄茵^[25]在茶树耐盐性研究中的结果一致,可能与外源 H₂S 能有效减弱植株叶片中叶绿素的降解能力有关。气孔是植物与周围空气进行气体交换的重要通道,为植物的光合作用提供原料——CO₂,干旱胁迫时光合作用受抑制常有气孔限制和非气孔限制因素共同作用,当 G_s 与 C_i 同时下降时,P_n 下降主要是由于气孔因素引起的;反之,G_s 下降而 C_i 升高则说明 P_n 下降是因为非气孔因素起主要作用,即植物叶片光合细胞活性降低^[26-28]。本研究表明干旱胁迫处理下,烤烟幼苗叶片的 P_n 和 G_s 均显著降低,而 C_i 显著增加,说明烤烟幼苗光合速率的下降是由非气孔因素导致的,究其原因可能是叶绿体结构受到破坏,造成叶片光合器官损伤,光合活性下降,导致 CO₂ 的固定和转化受到抑制,胞间 CO₂ 浓度升高。外源 H₂S 能有效提高干旱胁迫下烤烟幼苗叶片 T_r、P_n 和 G_s,降低 C_i,说明外源 H₂S 能增强烤烟幼苗吸水与运输能力,提高光合底物传导能力,进而提高光合效率。这可能是 H₂S 能通过提高逆境胁迫下植物体内光合作用过程中相关编码基因的表达量来增强植物光合作用能力^[10]。

叶绿素荧光技术对研究植物光合性能具有重要作用,能够直接反映 PS II 的活性、功能以及电子传递方面的变化,是对光合器官进行“无损伤探查”的常用研究方法^[29-31]。植物叶片通过天线色素吸收光能传递给 PS II,PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)是暗适应下 PS II 反应中心完全开放时的最大光化学效率,反映 PS II 反应中心最大光能转换效率。PS II 实际光化学效率(Φ_{PSII})反映 PS II 反应中心在部分关闭情况下的实际光化学效率。光化学荧光猝灭系数(qP)代表开放的 PS II 反应中心捕获并转化为化学能的能量,反映了 PS II 反应中心的开放程度^[32]。本试验结果表明,干旱胁迫下烤烟幼苗的 PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)、PS II 实际光化学效率(Φ_{PSII})和光化学猝灭系数(qP)显著降低,NPQ 显著上升,说明干旱胁迫下烤烟幼苗叶片的 PS II 反应中心活性和开放程度明显降低,烤烟叶片的能量耗散机制受到抑制,PS II 反应中心的过剩光能大量积累,光合机构受到损伤,从而导致其光能利用能力降低。外源 H_2S 能增加干旱胁迫下 PS II 反应中心的开放比例、降低热耗散程度,增加光合电子传递速率,使更多的光能用于光合作用,维持光合机构的稳定,提高光合效率,有效缓解干旱胁迫对烤烟幼苗生长的抑制作用,这与郑州元等^[13]在加工番茄幼苗上的研究结果相一致。

植物在干旱胁迫时产生的大量活性氧自由基能够与生物大分子发生氧化反应,引起膜脂过氧化及质膜透性增加,导致大量电解质渗漏和膜脂过氧化产物 MDA 含量增加,蛋白质活性降低乃至丧失,从而造成植物代谢紊乱^[33-34]。Shan 等^[35]研究发现外源 H_2S 能降低水分胁迫下小麦幼苗叶片中的 MDA 含量,缓解小麦幼苗的膜脂过氧化,降低干旱条件下小麦幼苗的细胞质膜透性,稳定膜的结构,提高小麦幼苗的耐水胁迫能力。本研究发现,干旱胁迫下烤烟幼苗叶片中 MDA 含量和 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率均显著提高,喷施不同浓度的外源 H_2S 均能显著降低干旱胁迫下烤烟幼苗叶片中的 MDA 含量和 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率,其中以外源 H_2S 浓度为 $0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的效果最为显著,说明适宜浓度的外源 H_2S 能有效缓

解干旱胁迫对烤烟幼苗的氧化损伤作用,减轻活性氧对细胞膜的损害,保护膜结构的完整性。植物为防御活性氧带来的伤害,会通过自身酶促系统来清除自由基,以维持体内的自由基动态平衡。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是细胞抵御活性氧伤害的酶保护系统,可清除植物体内多余的活性氧、调节膜脂过氧化作用,增强植物对逆境胁迫的抵抗能力,SOD 是植物体内活性氧自由基清除系统的第一道防线,能通过歧化作用把 $O_2^{\cdot -}$ 转变成 H_2O_2 ,使细胞内的自由基维持在一个较低的水平上,保护膜不受自由基的损害;CAT 是植物体内重要的活性氧清除酶,通过分解 H_2O_2 ,来维护细胞膜系统的稳定性;POD 在细胞保护酶系统中负责清除光呼吸、线粒体电子传递过程中产生的 H_2O_2 ,并将其分解为 O_2 和 H_2O ^[36]。牟雪姣等^[37]研究表明,外源 H_2S 能诱导增强黄瓜种子的 SOD、POD 和 CAT 的活性,降低 MDA 的含量,缓解干旱胁迫导致的膜脂过氧化伤害。本试验研究表明,外源 H_2S 处理可提高干旱胁迫下烤烟幼苗的 SOD、POD 和 CAT 的活性,且随着外源 H_2S 浓度的升高呈先增加后降低的趋势,说明外源 H_2S 可通过调节抗氧化酶的活性最终清除植株体内的活性氧,维持细胞内氧化还原平衡,从而提高烤烟幼苗抵御干旱的能力,但较高浓度 H_2S 对烟草幼苗又具有一定的生理毒害作用,这与汪伟等^[7]在桃果实上的研究结果相似,其具体的内在机制还有待深入研究。

4 结 论

干旱胁迫导致烤烟幼苗叶片中活性氧自由基大量积累,膜脂过氧化加剧,光合系统受损,严重抑制了植株地上部分及根系生长。叶面喷施外源 H_2S 能够提高干旱胁迫下烤烟幼苗的抗氧化酶活性,降低活性氧水平,保护叶绿体结构和光合器官,降低叶片膜系统及 PS II 的损伤程度,提高叶片光合效率,有效缓解干旱胁迫对烤烟幼苗的生理伤害,增强烤烟幼苗抵御干旱胁迫的能力。本研究中外源 H_2S 对干旱胁迫下烤烟幼苗的缓解作用具有剂量效应,以叶片喷施 $0.20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaHS 溶液效果最佳。

参考文献:

[1] 江洪强,邢兴华,周 琴,等. 外源 α -萘乙酸对花期长期干旱大豆叶片抗氧化系统的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26 (6): 1 718-1 726.

JIANG H Q, XING X H, ZHOU Q, *et al.* Effects of exogenous α -naphthaleneacetic acid on the antioxidation system in soybean leaves subjected to long-term drought stress during flowering[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26

(6): 1 718-1 726.

[2] 张金政, 张起源, 孙国峰, 等. 干旱胁迫及复水对玉簪生长和光合作用的影响[J]. 草业学报, 2014, **23**(1): 167-176.
ZHANG J Z, ZHANG Q Y, SUN G F, *et al.* Effects of drought stress and re-watering on growth and photosynthesis of *Hosta* [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, **23**(1): 167-176.

[3] 张兴华, 高 杰, 杜伟莉, 等. 干旱胁迫对玉米品种苗期叶片光合特性的影响[J]. 作物学报, 2015, **41**(1): 154-159.
ZHANG X H, GAO J, DU W L, *et al.* Effects of drought stress on photosynthetic characteristics of maize hybrids at seedling stage[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, **41**(1): 154-159.

[4] RIADH K, WIDED M, HANS-WERNER K, *et al.* Responses of halophytes to environmental stresses with special emphasis to salinity[J]. *Advances in Botanical Research*, 2010 53: 117-145.

[5] SHAHIDI R, YOSHIDA J, COUGNON M, *et al.* Morphophysiological responses to dehydration stress of perennial ryegrass and tall fescue genotypes[J]. *Functional Plant Biology*, 2017, **44**(6): 612.

[6] 单长卷, 赵新亮, 汤菊香. 水杨酸对于干旱胁迫下小麦幼苗抗氧化特性的影响[J]. 麦类作物学报, 2014, **34**(1): 91-95.
SHAN C J, ZHAO X L, TANG J X. Effects of exogenous salicylic acid on antioxidant properties of wheat seedling under drought stress[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2014, **34**(1): 91-95.

[7] 汪 伟, 沈勇根, 石晶莹, 等. 外源硫化氢对桃果实保鲜效果及活性氧代谢的影响[J]. 果树学报, 2014, **31**(2): 302-307.
WANG W, SHEN Y G, SHI J Y, *et al.* Effects of exogenous H₂S on preservation of peaches and active oxygen metabolism [J]. *Journal of Fruit Science*, 2014, **31**(2): 302-307.

[8] 田 云, 蒋景龙, 李 丽, 等. 信号分子硫化氢调控植物逆境性研究进展[J]. 核农学报, 2017, **31**(11): 2 279-2 287.
TIAN Y, JIANG J L, LI L, *et al.* Research advances in plant stress resistance regulated by signal molecule hydrogen sulfide [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, **31**(11): 2 279-2 287.

[9] ZHANG H, HU S L, ZHANG Z J, *et al.* Hydrogen sulfide acts as a regulator of flower senescence in plants[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, **60**(3): 251-257.

[10] 王鸿蕉, 张丽萍, 刘志强, 等. 外源硫化氢对冷胁迫下白菜幼苗生长和光合作用的影响[J]. 西北植物学报, 2015, **35**(4): 780-786.
WANG H J, ZHANG L P, LIU Z Q, *et al.* Influence of H₂S on growth and photosynthesis of *Brassica rapa* var. *pekinensis* under chilling stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2015, **35**(4): 780-786.

[11] 李永生, 方永丰, 李 玥, 等. 外源硫化氢对 PEG 模拟干旱胁迫下玉米种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 核农学报, 2016, **30**(4): 813-821.
LI Y S, FANG Y F, LI Y, *et al.* Effects of exogenous hydrogen sulfide on seed germination and seedling growth under PEG stimulated drought stress in maize[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, **30**(4): 813-821.

[12] 丁会纳, 马冬云, 秦海霞, 等. 外源 H₂S 对于干旱胁迫下小麦旗叶生理特性及籽粒产量的影响[J]. 河南农业科学, 2016, **45**(7): 13-17.
DING H N, MA D Y, QIN H X, *et al.* Effect of exogenous hydrogen sulfide on physiological characteristics of flag leaf and grain yield of wheat under drought stress[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2016, **45**(7): 13-17.

[13] 郑州元, 林海荣, 崔辉梅. 外源硫化氢对盐胁迫下加工番茄幼苗光合参数及叶绿素荧光特性的影响[J]. 核农学报, 2017, **31**(7): 1 426-1 435.
ZHENG Z Y, LIN H R, CUI H M. Effect of exogenous hydrogen sulfide on photosynthesis parameters and chlorophyll fluorescence characteristics of processing tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill ssp. *subspontaneum* Brezh) seedlings under NaCl stress[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, **31**(7): 1 426-1 435.

[14] 丁燕芳, 孙计平, 尚晓颖, 等. 干旱对不同烤烟品种叶片细胞膜伤害和保护酶活性的影响[J]. 西南农业学报, 2015, **28**(6): 2 746-2 749.
DING Y F, SUN J P, SHANG X Y, *et al.* Effects of drought on cell membrane damage and activities of protective enzyme of different flue-cured tobacco leaves[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2015, **28**(6): 2 746-2 749.

[15] 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.

[16] 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.

[17] 常云霞, 徐克东, 杨同文, 等. 外源水杨酸对野生龙葵幼苗干旱胁迫的缓解效应[J]. 干旱地区农业研究, 2014, **32**(4): 43-46.
CHANG Y X, XU K D, YANG T W, *et al.* Mitigative effects of exogenous salicylic acid on the inhibition of drought stress to wild *Solanum nigrum* seedlings[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2014, **32**(4): 43-46.

[18] 李 杰, 杨 萍, 颀建明, 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): 1 001-1 008.
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): 1 001-1 008.

[19] 丁 红, 张智猛, 戴良香, 等. 干旱胁迫对花生根系生长发育和生理特性的影响[J]. 应用生态学报, 2013, **24**(6): 1 586-1 592.
DING H, ZHANG Z M, DAI L X, *et al.* Effects of drought stress on the root growth and development and physiological characteristics of peanut[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, **24**(6): 1 586-1 592.

[20] 李丽杰, 顾万荣, 张 倩, 等. 外源亚精胺对干旱胁迫下玉米幼苗叶片生理及根系特征参数的影响[J]. 农药学报, 2015, **17**(3): 291-299.

- LI L J, GU W R, ZHANG Q, *et al.* Effects of exogenous spermidine on leaf physiologic and root feature parameter of maize seedling under drought stress[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2015, **17**(3): 291-299.
- [21] SHEN J J, XING T J, YUAN H H, *et al.* Hydrogen sulfide improves drought tolerance in *Arabidopsis thaliana* by microRNA expressions [J]. *PLoS One*. 2013, **8**(10): e77047.
- [22] FANG T, CAO Z Y, LI J L, *et al.* Auxin-induced hydrogen sulfide generation is involved in lateral root formation in tomato[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, **76**: 44-51.
- [23] 秦红艳, 艾 军, 许培磊, 等. 盐胁迫对山葡萄叶绿素荧光参数及超微结构的影响[J]. 西北植物学报, 2013, **33**(6): 1 159-1 164.
- QIN H Y, AI J, XU P L, *et al.* Chlorophyll fluorescence parameters and ultrastructure in Amur grape (*Vitis amurensis* Rupr.) under salt stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2013, **33**(6): 1 159-1 164.
- [24] 冯国郡, 章建新, 李宏琪, 等. 甜高粱光合生理特性及其与产量的关系[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, **41**(4): 93-100.
- FENG G J, ZHANG J X, LI H Q, *et al.* Correlativity between photosynthetic physiological characteristics and biological yield of sweet sorghum strain[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2013, **41**(4): 93-100.
- [25] 黄 茵. 外源硫化氢对茶树耐盐性的影响[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [26] 邵瑞鑫, 李蕾蕾, 郑会芳, 等. 外源一氧化氮对干旱胁迫下玉米幼苗光合作用的影响[J]. 中国农业科学, 2016, **49**(2): 251-259.
- SHAO R X, LI L L, ZHENG H F, *et al.* Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis of maize seedlings under drought stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, **49**(2): 251-259.
- [27] 常青山, 张利霞, 杨 伟, 等. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下夏枯草幼苗抗氧化能力及光合特性的影响[J]. 草业学报, 2016, **25**(7): 121-130.
- CHANG Q S, ZHANG L X, YANG W, *et al.* Effects of exogenous nitric oxide on antioxidant activity and photosynthetic characteristics of *Prunella vulgaris* seedlings under NaCl stress [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, **25**(7): 121-130.
- [28] HARTLEY I P, ARMSTRONG A F, MURTHY R, *et al.* The dependence of respiration on photosynthetic substrate supply and temperature: integrating leaf, soil and ecosystem measurements[J]. *Global Change Biology*, 2006, **12**(10): 1 954-1 968.
- [29] PAN X L, ZHANG D Y, CHEN X, *et al.* Effects of short-term low temperatures on photosystem II function of samara and leaf of Siberian maple (*Acer ginnala*) and subsequent recovery[J]. *Journal of Arid Land*, 2009, **1**(1): 57-63.
- [30] BAKER. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, **59**(1): 89-113.
- [31] 冯 伟, 李 晓, 王永华, 等. 小麦叶绿素荧光参数叶位差异及其与植株氮含量的关系[J]. 作物学报, 2012, **38**(4): 657-664.
- FENG W, LI X, WANG Y H, *et al.* Difference of chlorophyll fluorescence parameters at different positions and its relationship with nitrogen content in winter wheat plant[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, **38**(4): 657-664.
- [32] 吴雪霞, 杨晓春, 朱宗文, 等. 外源 6-BA 对低温胁迫下茄子幼苗光合作用、叶绿素荧光参数及光能分配的影响[J]. 植物生理学报, 2013, **49**(11): 1 181-1 188.
- WU X X, YANG X C, ZHU Z W, *et al.* Effects of exogenous 6-BA on photosynthesis, chlorophyll fluorescence characteristics and the allocation of absorbed light in eggplant seedlings under low temperature stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2013, **49**(11): 1 181-1 188.
- [33] 宋吉轩, 李金还, 刘美茹, 等. 油菜素内酯对干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.
- [34] 张仁和, 郑友军, 马国胜, 等. 干旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响[J]. 生态学报, 2011, **31**(5): 1 303-1 311.
- ZHANG R H, ZHENG Y J, MA G S, *et al.* Effects of drought stress on photosynthetic traits and protective enzyme activity in maize seedling[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, **31**(5): 1 303-1 311.
- [35] SHAN C J, ZHANG S L, LI D F, *et al.* Effects of exogenous hydrogen sulfide on the ascorbate and glutathione metabolism in wheat seedlings leaves under water stress[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, **33**(6): 2 533-2 540.
- [36] 刘 晶, 张鹤婷, 殷 悦, 等. 外源硫化氢对干旱胁迫下萌发水稻种子抗氧化代谢的影响[J]. 南方农业学报, 2017, **48**(1): 31-37.
- LIU J, ZHANG H T, YIN Y, *et al.* Effects of exogenous hydrogen sulfide on antioxidant metabolism of rice seed germinated under drought stress[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2017, **48**(1): 31-37.
- [37] 牟雪蛟, 张远兵, 吴 燕, 等. 外源 H₂S 缓解黄瓜种子萌发过程中干旱胁迫伤害的生理机制[J]. 西北农业学报, 2018, **27**(9): 1 328-1 334.
- MU X J, ZHANG Y B, WU Y, *et al.* Physiological mechanism of exogenous H₂S in alleviating drought stress-induced injury in germination of cucumber seed[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2018, **27**(9): 1 328-1 334.

(编辑:潘新社)