

2,4-表油菜素内酯对干旱胁迫下 垂丝海棠生理特性的影响

绿旭林,张 德,张仲兴,王双成,高彦龙,王延秀

(甘肃农业大学园艺学院,甘肃 兰州 730070)

摘要:以7~8叶龄的垂丝海棠实生苗为试验材料,研究外源喷施2,4-表油菜素内酯(EBR)对干旱胁迫下垂丝海棠幼苗光合及生理特性的影响。采用盆栽控水法,设置CK(正常水分)与干旱胁迫加6种浓度油菜素内酯处理,即T1(0 mg·L⁻¹)、T2(0.20 mg·L⁻¹)、T3(0.40 mg·L⁻¹)、T4(0.60 mg·L⁻¹)、T5(0.80 mg·L⁻¹)和T6(1.00 mg·L⁻¹),分别测定各处理下叶绿素含量、光合特性、抗氧化酶活性及渗透调节物质含量,并进行相关性分析与主成分分析。随干旱胁迫时间的延长,垂丝海棠叶片的Chl a、Chl b、Chl a+b、Chl a/b、净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)和蒸腾速率(T_r)均呈下降趋势;胞间CO₂浓度(C_i)、丙二醛(MDA)含量和相对电导率(REC)呈上升趋势;脯氨酸(Pro)含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性呈先升后降的趋势。与T1处理相比,喷施外源油菜素内酯处理下的垂丝海棠叶片各项指标的变化幅度均有所减小,且存在浓度效应;胁迫至9 d时,0.2 mg·L⁻¹(T2)处理Chl a、Chl b、Chl a+b、Chl a/b、 P_n 、 G_s 、 T_r 均显著高于其它喷施外源油菜素内酯处理,与CK相比,分别为CK的88.21%、97.67%、93.95%、90.32%、76.72%、66.23%、85.76%; C_i 、MDA、REC显著低于其它喷施外源油菜素内酯处理,分别为CK的1.27倍、1.11倍、1.12倍、1.93倍。相关性分析结果表明,垂丝海棠叶片的 P_n 与Chl a、Chl b、Chl a+b、Chl a/b、 G_s 呈极显著正相关($P<0.01$),与 T_r 呈显著正相关($P<0.05$),与REC、 C_i 呈极显著负相关($P<0.01$)。主成分分析提取到特征值>1的2个主成分,方差贡献率分别为69.75%、26.77%,累积方差贡献率达到96.52%。根据主成分得分排名可知,外源2,4-表油菜素内酯对垂丝海棠干旱胁迫的缓解能力为:T2>T3>T4>T5>T6>T1。0.20 mg·L⁻¹油菜素内酯可通过提高抗氧化酶活性,减轻细胞膜氧化损伤,从而增强垂丝海棠幼苗对干旱胁迫的耐受性,并通过提高叶片对光能的捕获和转化能力,增强叶片光合能力,促进垂丝海棠幼苗生长。

关键词:垂丝海棠;2,4-表油菜素内酯;干旱胁迫;生理特性;抗氧化酶

中图分类号:S661.5 **文献标志码:**A

Effects of 2,4-Epibrassinolide on physiological characteristics of *Malus halliana* under drought stress

XIAN Xulin, ZHANG De, ZHANG Zhongxing, WANG Shuangcheng, GAO Yanlong, WANG Yanxiu

(College of Horticulture of Gansu Agriculture University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: The effects of exogenous 2,4-Epibrassinolide (EBR) on the photosynthesis and physiological characteristics of *Malus halliana* seedlings under drought stress with seedlings of 7~8 leaf-age *Malus halliana* as experimental materials were studied. The experiment used pot water control method of CK (normal water level) and drought stress as well as 6 brassinolide concentrations of T1 (0 mg·L⁻¹), T2 (0.2 mg·L⁻¹), T3 (0.4 mg·L⁻¹), T4 (0.6 mg·L⁻¹), T5 (0.8 mg·L⁻¹) and T6 (1 mg·L⁻¹). The contents of chlorophyll, photosynthetic characteristics, antioxidant enzyme activity, relative electrical conductivity and osmotic regulating substances in each treatment were measured, and the correlation and principal component analysis were computed. With the extension of drought stress time, Chl a, Chl b, Chl a+b, Chl a/b, net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), transpiration rate (T_r) decreased, and intercellular CO₂ concentration (C_i), malonaldehyde (MDA), relative electrical conductivity (REC) increased. The activities of proline (Pro), superoxide dismutase (SOD),

收稿日期:2021-07-31

修回日期:2022-03-02

基金项目:国家自然科学基金(31960581);甘肃省自然科学基金(18JR3RA171)

作者简介:绿旭林(1996-),男,甘肃酒泉人,硕士研究生,研究方向为果树栽培生理与技术。E-mail:1105259430@qq.com

通信作者:王延秀(1976-),女,博士,博士生导师,主要从事果树栽培生理与技术研究。E-mail:wangxy@gsau.edu.cn

peroxidase (POD) and catalase (CAT) increased first and then decreased. Additionally, compared with the control group, the increase and decrease of each index of *Malus halliana* leaves decreased to different degrees after spraying different concentrations of exogenous brassinolide, and there was a concentration effect. Among them, under $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (T2) treatment, Chl a, Chl b, Chl a+b, Chl a/b, P_n , G_s and TR decreased the least, significantly higher than those in T1, while MDA and REC increased the most, which were significantly higher than those in T1. Subsequently, correlation analysis of 14 indexes showed that P_n was significantly positively correlated with Chl a, Chl b, Chl a+b, Chl a/b and G_s ($P < 0.01$) and T_r ($P < 0.05$), and negatively correlated with REC and C_i ($P < 0.01$). In addition, the 14 indexes were analyzed by principal component analysis, and the two principal components with eigenvalue > 1 were extracted, whose eigenvalues were 9.765 and 3.747, respectively. The variance contribution rates were 69.747% and 26.766%, respectively, and the cumulative variance contribution rate reached 96.513%, which met the requirements. Finally, according to the ranking of principal component scores, the alleviating ability of exogenous brassinolide to drought stress of *Malus halliana* was $T2 > T3 > T4 > T5 > T6 > T$. The $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ brassinolide treatment had better results in improving the photosynthetic capacity, enhancing the activity of antioxidant enzymes, and promoting the stability of membrane to alleviate drought stress.

Keywords: *Malus halliana*; 2, 4 - Epibrassinolide; drought stress; photosynthetic characteristics; antioxidant enzyme

土壤水分对植物生长发育至关重要。干旱胁迫会引起植物根系呼吸速率下降,呼吸代谢途径改变、呼吸代谢相关酶活性及产物种类变化,造成根系吸收、运输水分和养分等功能紊乱^[1]。干旱胁迫下植物主要通过形态变化和渗透调节提高其抗旱性,其中形态变化主要表现为根系向土壤深处伸长、叶片表皮有发达角质层和表皮毛、加快叶片生长速度使老叶脱落和关闭气孔等;渗透调节主要表现为增加脱落酸含量、加快脯氨酸积累、提高与甜菜碱有关的酶类活性、水孔蛋白调控水分通透性、提高抗氧化酶活性清除活性氧等^[2]。我国西北黄土高原属于半干旱大陆性季风气候区,干旱已成为限制该地区苹果生产的主要非生物胁迫之一^[3]。研究发现,逆境胁迫下在番茄^[4]、茶树^[5]、黄瓜^[6]中喷施外源物质均取得较好的效果。因此,选用适宜的外源物质对植株在逆境胁迫下生长具有重要的意义。

油菜素内酯(BRs)是从油菜素花粉中分离出来的一种具有极强生理活性的物质,已被公认为第六大植物激素,具有增强植物抗逆性的生理功能,广泛应用于缓解植物逆境胁迫^[7-8]。2,4-表油菜素内酯(EBR)是目前在农作物上引用较多的BR化合物,其可以维持植物较高的叶绿素含量,减缓膜脂过氧化作用,增强植物的抗逆性^[9-10]。盐胁迫下外源EBR能够明显缓解刺槐幼苗的氧化损伤,保护光合细胞器-叶绿体的结构和功能稳定,提升抗氧化能力,维持刺槐叶片光合系统的运转,提高其耐受性^[11]。高温胁迫下外源施用油菜素内酯可明显增

大叶榕气孔导度,降低蒸腾速率^[12]。油菜素内酯也可调节杨树在盐、铜胁迫下叶片PSII最大光化学速率,进而提高其抗逆性^[13]。干旱胁迫下适宜浓度的EBR可增强葡萄抗氧化酶活性,减少丙二醛(MDA)的产生,保证其正常生长^[14];EBR处理后的羊草幼苗株高、叶面积和脯氨酸(Pro)含量均显著增加,抗旱能力显著提高^[15]。外源EBR在不同逆境下均有相关的应用报道,且多见于叶榕、水稻^[16]、辣椒^[17]等植物,而在木本植物经济林果类中的应用及报道鲜见,亟需研究其在苹果砧木中是否具有相同作用机理。

垂丝海棠(*Malus halliana* Koehne)原产于甘肃河西走廊地区,耐旱、耐盐碱^[18]。本试验以7~8叶龄的垂丝海棠实生苗为试验材料,探究外源喷施不同浓度的EBR对其生理特性的影响,并利用主成分综合分析法筛选出最适浓度,以为生产实践提供一定的理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

选择长势一致且生长健壮的7~8叶龄的垂丝海棠(*Malus halliana* Koehne)实生苗移栽到大小相同、盛装2 kg基质(20%蛭石,20%珍珠岩,60%泥炭)的塑料花盆内(内径11.2 cm,深16.8 cm),每盆1株,并置于甘肃农业大学避雨棚进行统一管理。移栽14 d后,采用称重法来控制土壤含水量进行干旱胁迫处理,始终保持盆中田间持水量在 $50\% \pm 2\%$,对照处理始终保持田间持水量的80%。试验共

设7个处理,每个处理6个重复,每个重复3株。分别以正常水分(CK)、干旱胁迫(T1)、干旱胁迫+0.20 mg·L⁻¹油菜素内酯(T2)、干旱胁迫+0.40 mg·L⁻¹油菜素内酯(T3)、干旱胁迫+0.60 mg·L⁻¹油菜素内酯(T4)、干旱胁迫+0.80 mg·L⁻¹油菜素内酯(T5)、干旱胁迫+1 mg·L⁻¹油菜素内酯(T6)代表各处理。其中,油菜素内酯溶液以叶面喷施的方式于每日18:00喷施,每盆均匀喷施50 mL,每隔2 d喷施1次,共喷施3次。干旱胁迫处理次日开始计算胁迫时间,分别于胁迫0、3、6、9 d进行各项指标的测定和分析。

1.2 生理指标的测定

1.2.1 光合及叶绿素含量的测定 光合参数测定:采用LI-6400便携式光合仪(LI-COR, Linco In, NE, USA)于胁迫0、3、6、9 d上午9:00—11:00,选取同一节位的功能叶进行净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、胞间CO₂浓度(C_i)和气孔导度(G_s)的测定,每个处理4次重复。

叶绿素含量测定:参照贾婷婷等^[19]方法进行测定。

1.2.2 抗氧化酶活性及渗透调节物质含量的测定 于胁迫0、3、6、9 d后,取植株中上部成熟叶片,去除叶脉剪碎并洗净磨碎,用于相关指标的测定。相对电导率(REC)测定采用电导法^[20],丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定^[21]。脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮法测定^[22]。过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法^[23],超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑光化还原法^[24],过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用紫外吸收法^[25]。每处理4次重复。

1.3 数据处理与分析

用Excel 2010和Origin 2018进行数据处理及作图,用SPSS 22.0进行相关性和主成分分析。统计分析采用单因素ANOVA的LSD比较差异的显著水平($\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 外源 EBR 对干旱胁迫下垂丝海棠叶片光合色素含量的影响

由图1A可知,随干旱胁迫时间的延长,各处理叶绿素a含量均呈持续下降的趋势,但降幅不同。胁迫至9 d时,各处理叶绿素a含量达到最低值,T2处理叶绿素a含量显著低于CK。但显著高于其它处理。与CK处理相比,T1、T2、T3、T4、T5和T6处理下叶绿素a含量降幅分别为40.20%、8.64%、

24.10%、29.29%、34.15%和38.00%,说明0.20 mg·L⁻¹EBR处理可降低干旱胁迫下垂丝海棠叶片叶绿素含量a生物合成的抑制作用。

由图1B可知,随干旱胁迫的持续,叶绿素b含量呈不断下降的趋势。胁迫至9 d时,各处理叶绿素b含量达到最低值。其中,叶绿素b含量在T1处理下显著低于其它处理,在T2处理下显著高于其它处理,低于CK。与CK处理相比,T1、T2、T3、T4、T5和T6处理下叶绿素b含量降幅分别为20.86%、2.33%、15.08%、16.72%、17.61%和20.28%,说明0.2 mg·L⁻¹EBR处理可有效降低干旱胁迫下垂丝海棠叶片叶绿素b生物合成的抑制作用。

由图1C可知,叶绿素a+b和叶绿素b含量变化趋势相一致。胁迫至9 d时,叶绿素a+b在各处理下降至最低,均显著低于CK,与CK处理相比,T1、T2、T3、T4、T5和T6处理下叶绿素a+b含量降幅分别为32.24%、6.01%、20.39%、24.12%、27.35%和30.71%。

由图1D可知,各处理下的Chl a/b值呈逐渐下降的趋势。胁迫至9 d时,各处理下的Chl a/b值达到最低,其中T2处理显著低于CK,但显著高于其它处理。与CK处理相比,T1、T2、T3、T4、T5和T6处理下叶绿素a/b降幅分别为37.63%、9.68%、16.13%、22.58%、31.18%和35.48%。

2.2 外源 EBR 对干旱胁迫下垂丝海棠叶片光合特性的影响

由图2A可知,随干旱胁迫时间的延长,垂丝海棠叶片的 P_n 呈逐渐下降的趋势,但不同处理下 P_n 的降幅不同。胁迫至9 d时,各处理的 P_n 降至最低,均显著低于CK;与CK相比,降幅分别为25.34%、13.08%、19.86%、21.91%、23.74%、22.87%,说明0.20 mg·L⁻¹EBR处理可有效抑制干旱胁迫下垂丝海棠叶片 P_n 的下降。

由图2B可知,随干旱胁迫时间的延长,垂丝海棠叶片的 G_s 与 P_n 变化趋势相同,但不同处理下 G_s 的降幅不同。胁迫6 d后, G_s 呈现出逐渐下降的趋势,胁迫至9 d时,各EBR处理下的 G_s 降至最低,显著低于CK,与CK相比,T1、T2、T3、T4、T5和T6处理下 P_n 降幅分别为67.53%、33.77%、38.96%、45.45%、62.34%和64.94%,说明0.20 mg·L⁻¹EBR处理可有效抑制干旱胁迫下垂丝海棠叶片 G_s 的下降。

由图2C可知,随干旱胁迫时间的延长,垂丝海棠叶片的 C_i 呈逐渐上升的趋势,但不同处理下 C_i 的升幅不同。胁迫至9 d时,不同EBR处理下垂丝海棠叶片的 C_i 达到峰值,分别为CK的2.53倍、1.27

倍、1.79 倍、2.03 倍、2.24 倍和 2.35 倍。由此可见, 适宜浓度 EBR 能显著抑制干旱胁迫下 C_i 的升高。

由图 2D 可知, 随着干旱胁迫时间的延长, 垂丝海棠叶片的 T_r 与 G_s 变化趋势相同, 呈逐渐下降的趋势。但不同处理对 T_r 的降幅不同。胁迫至 9 d 时, 垂丝海棠叶片的 T_r 出现明显的下降, 且各处理下垂

丝海棠叶片的 T_r 达到最低, 均显著低于 CK, 与 CK 相比, T1、T2、T3、T4、T5 和 T6 处理下 T_r 降幅分别为 45.82%、14.24%、18.58%、26.93%、31.588% 和 38.70%, 说明 0.20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 处理可有效抑制干旱胁迫下垂丝海棠叶片 T_r 的下降。

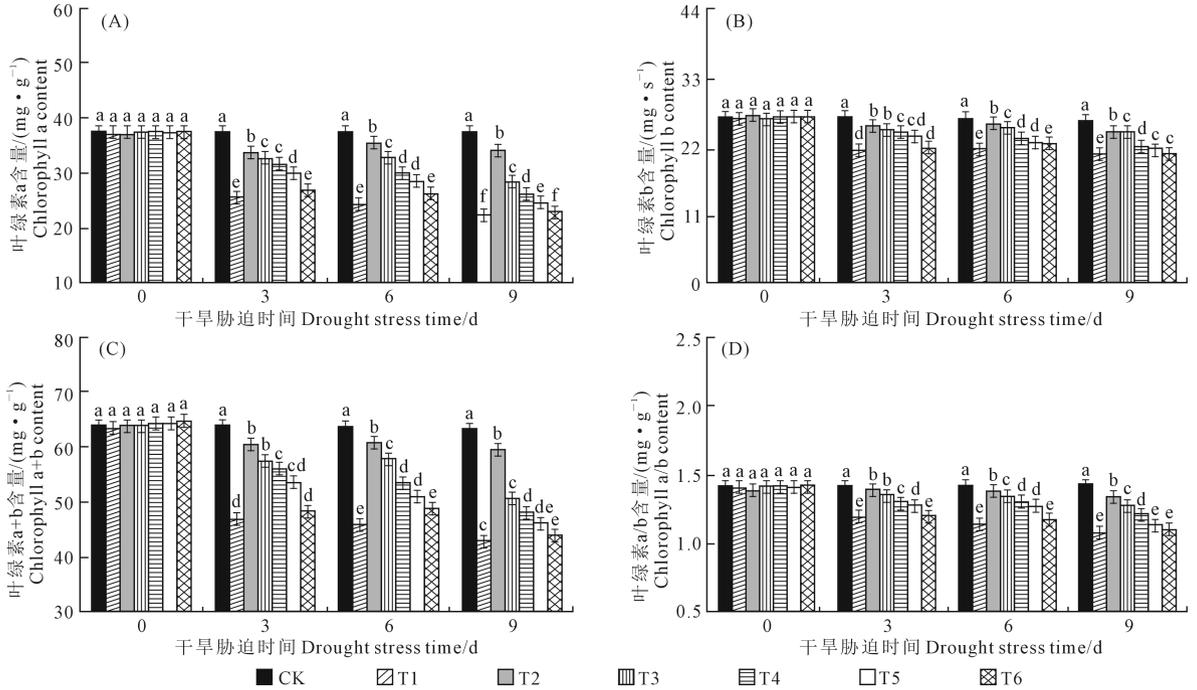


图 1 外源油菜素内酯对干旱胁迫下垂丝海棠叶片光合色素含量的影响

Fig.1 Effect of exogenous EBR on photosynthetic pigment content in leaves of *Malus halliana* under drought stress

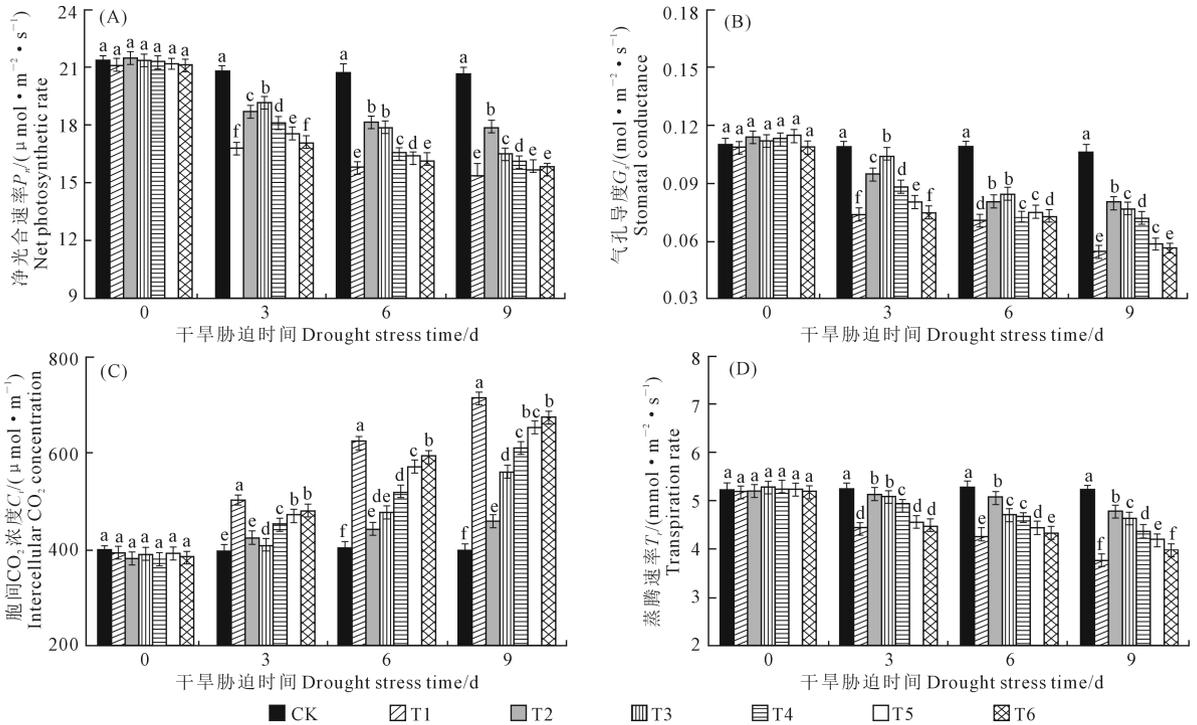


图 2 外源油菜素内酯处理对干旱胁迫下垂丝海棠叶片 P_n , G_s , C_i , T_r 含量的影响

Fig.2 Effect of exogenous EBR on P_n , G_s , C_i , T_r content in leaves of *Malus halliana* under drought stress

2.3 外源 EBR 对干旱胁迫下垂丝海棠叶片 *REC* 和 Pro 含量的影响

由图 3A 可知,随干旱胁迫时间的延长,垂丝海棠叶片 *REC* 呈先升后降的趋势。胁迫至 3 d 时,各 EBR 处理下垂丝海棠叶片 *REC* 出现显著升高,胁迫至 6 d 时,*REC* 达到峰值,与 CK 相比, T1、T2、T3、T4、T5 和 T6 处理下 *REC* 升幅分别为 52.73%、16.98%、27.05%、25.41%、31.22%和 38.49%,说明外源 EBR 对干旱胁迫引起的细胞膜透性变化有缓解作用,从而降低垂丝海棠叶片 *REC* 含量。

由图 3B 可知,随干旱胁迫时间的延长,垂丝海棠叶片 Pro 含量变化趋势与 *REC* 相同。胁迫至 3 d 时,各处理的 Pro 含量出现明显的增加,且随着 EBR 浓度的增加,Pro 含量呈逐渐下降的趋势;胁迫至 6 d 时,各处理下的 Pro 含量达到峰值,在 T1 处理积累量最小,为 $27.33 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;T2 处理积累量最大,为 $40.52 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。与 CK 相比,T1、T2、T3、T4、T5 和 T6 处理下 Pro 升幅为 35.13%、95.99%、67.54%、63.62%、44.21%和 42.19%,说明外源 EBR 能进一步

促进干旱胁迫下垂丝海棠叶片 Pro 的积累,且存在明显的浓度效应。

2.4 外源 EBR 对干旱胁迫下垂丝海棠叶片 MDA 含量的影响

由图 4 可知,随胁迫时间的增加,垂丝海棠幼苗叶片的 MDA 含量呈上升的趋势,且不同处理下 MDA 含量的升幅不同。胁迫至 9 d 时,各处理下的 MDA 含量达到峰值,其中 T1 处理下 MDA 含量最高,为 $8.25 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$;T2 处理下含量最低,为 $6.52 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$,且显著高于 CK ($5.92 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$),与 CK 相比,T1、T2、T3、T4、T5 和 T6 处理下 MDA 升幅为 39.36%、10.14%、14.36%、15.88%、23.99%和 26.01%,说明 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EBR 处理可有效降低干旱胁迫下垂丝海棠叶片 MDA 含量,缓解了干旱胁迫对垂丝海棠的伤害。

2.5 外源 EBR 对垂丝海棠叶片抗氧化酶活性的影响

由图 5A 可知,随干旱胁迫时间的延长,各处理的 CAT 活性呈先升后降的趋势。胁迫至 3 d 时,T3

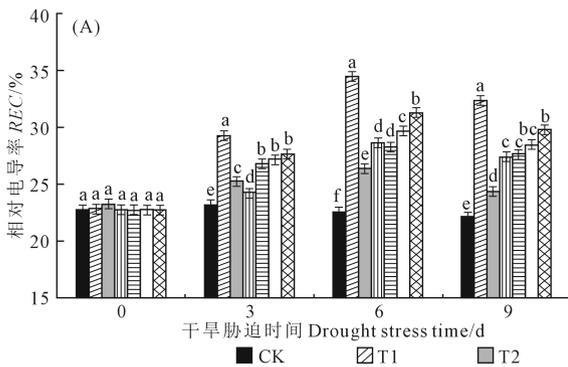


图3 外源油菜素内酯处理对干旱胁迫下垂丝海棠叶片 *REC* 和 Pro 含量的影响

Fig.3 Effect of exogenous EBR on REC and Pro content in leaves of *Malus halliana* under drought stress

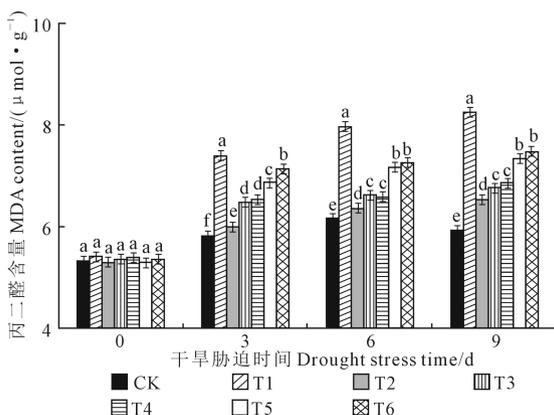


图4 外源油菜素内酯处理对干旱胁迫下垂丝海棠叶片 MDA 含量的影响

Fig.4 Effect of exogenous EBR on MDA content in leaves of *Malus halliana* under drought stress

的 CAT 活性达到峰值,为 $130.41 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,胁迫至 6 d 时,T1、T2、T4、T5、T6 的 CAT 活性达到峰值,分别为 139.76 、 145.64 、 131.71 、 129.55 、 $127.82 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,且随 EBR 浓度的增加,CAT 活性呈降-升-降趋势。胁迫至 9 d 时各处理 CAT 活性下降,相比 CK ($125.83 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$),T2 ($135.17 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$) 降幅最大,为 7.42%,说明外源 EBR 增强了植物抗氧化系统的防御能力,维持了细胞内 ROS 系统的代谢平衡,从而在一定程度上缓解了干旱胁迫引起的氧化损伤。

由图 5B 可得,随胁迫时间的延长,垂丝海棠幼苗叶片 POD 活性呈先升后降的趋势。胁迫至 6 d 时 T2 的 POD 活性达到峰值,为 $198.38 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$,显著高于 CK,较 CK 提高 46.73%。胁迫 9 d 时各处理下的 POD 活性下降,但各处理的 POD 活性均显著高

于 CK, 说明外源 EBR 处理使干旱胁迫下垂丝海棠叶片 POD 活性升高, 有效增强了植株抗氧化能力, 从而提高了垂丝海棠抗旱性, 其中 T2 处理效果最佳。

由图 5C 可知, 随着胁迫时间的延长, 垂丝海棠叶片的 SOD 与 POD 活性的变化趋势相同。各处理分别在胁迫 3 d (T1、T6)、6d (T2、T3、T4、T5) 达到峰值后不断降低, 但不同处理对 SOD 活性的降幅不同。胁迫至 9 d 时, SOD 活性下降, 其中 T2 处理 SOD 活性最高 ($126.76 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$), 显著高于 CK ($88.23 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$), 是 CK 的 1.44 倍, 说明外源 EBR 能缓解干旱胁迫对垂丝海棠叶片抗氧化酶活性的抑制作用, 但浓度过高或过低时, 缓解效果都会大大减弱。

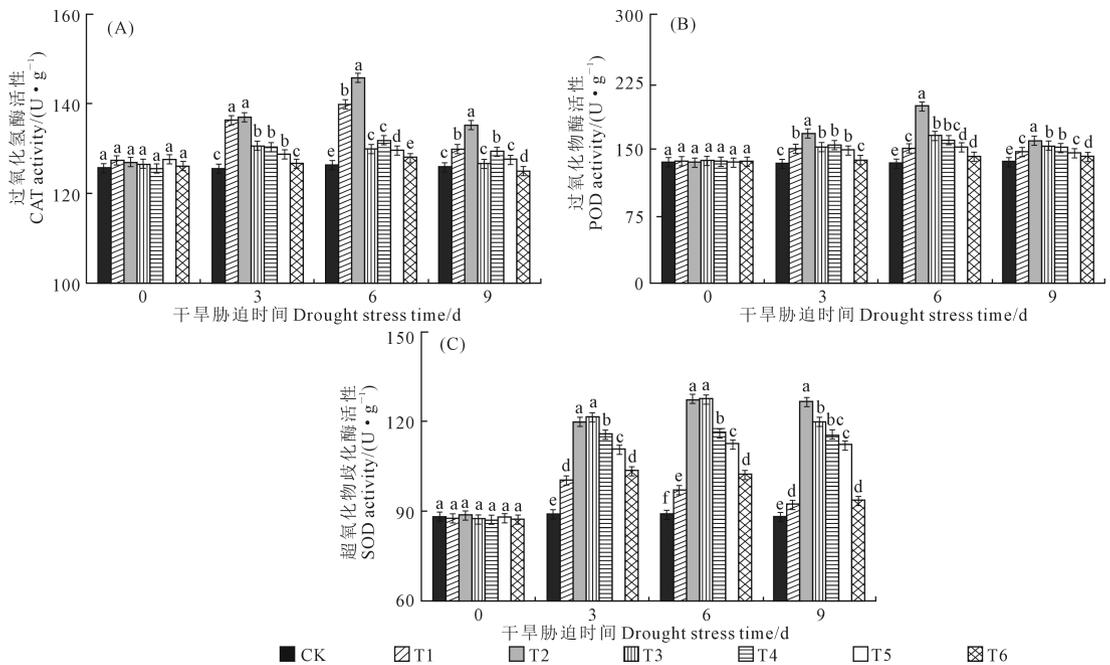


图 5 外源油菜素内酯处理对干旱胁迫下垂丝海棠叶片 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

Fig.5 Effect of exogenous EBR on SOD、POD and CAT activities in leaves of *Malus halliana* under drought stress

表 1 不同处理下垂丝海棠叶片各项指标的相关性分析

Table 1 Correlation analysis of various indexes of *Malus halliana* under different treatments

指标 Index	P_n	Chla	Chlb	Chla+b	Chla/b	REC	MDA	Pro	SOD	POD	CAT	G_s	T_r	C_i
P_n	1													
Chla	0.971**	1												
Chlb	0.990**	0.985**	1											
Chla+b	0.979**	0.999**	0.992**	1										
Chla/b	0.990**	0.985**	1.000**	0.992**	1									
REC	-0.880**	-0.949**	-0.908**	-0.941**	-0.908**	1								
Pro	-0.358	-0.203	-0.353	-0.243	-0.353	-0.015	1							
MDA	-0.752	-0.829**	-0.787*	-0.820*	-0.787*	0.949**	-0.058	1						
SOD	0.008	0.200	0.074	0.168	0.074	-0.479	0.751	-0.602	1					
POD	0.009	0.193	0.034	0.152	0.034	-0.411	0.902**	-0.444	0.887**	1				
CAT	0.238	0.392	0.273	0.362	0.273	-0.645	0.681	-0.748	0.949**	0.869*	1			
G_s	0.986**	0.976**	0.995**	0.983**	0.995**	-0.887**	-0.410	-0.755*	0.011	-0.021	0.212	1		
T_r	0.873*	0.956**	0.912**	0.948**	0.912**	-0.978**	-0.042	-0.915**	0.426	0.381	0.565	0.896**	1	
C_i	-0.929**	-0.977**	-0.937**	-0.969**	-0.937**	0.972**	0.005	0.858*	-0.345	-0.369	-0.543	-0.911**	-0.952**	1

注: * 表示相关性显著 ($P < 0.05$); ** 表示相关性极显著 ($P < 0.01$)。

Note: * indicates significant correlation ($P < 0.05$); ** indicates extremely significant correlation ($P < 0.01$).

2.6 干旱胁迫下不同浓度 EBR 对垂丝海棠生理效应的综合评价

2.6.1 相关性分析 将处理后垂丝海棠叶片的 14 个生理指标进行相关性分析 (表 1)。结果表明, 垂丝海棠叶片的 P_n 与 Chl a、Chl b、Chl a+b、Chl a/b、 G_s 呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 与 T_r 呈显著正相关 ($P < 0.05$), 与 REC、 C_i 呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。

2.6.2 主成分分析 为综合评价干旱胁迫下不同浓度 EBR 对垂丝海棠的生理响应特性, 将胁迫处理后的 14 个指标进行主成分分析, 提取特征值大于 1 的 2 个主成分, 其特征值分别为 9.765、3.747 (表 2)。第一、二主成分方差贡献率为 69.747%、26.766%, 累积方差贡献率达到 96.513%, 符合分析

要求。如表2所示,第一主成分(PC1)综合了 P_n 、Chl a、Chl b、Chl a+b、Chl a/b、REC、MDA、 G_s 、 T_r 、 C_i 等指标,第二主成分(PC2)综合了Pro、SOD、POD和CAT等指标。

综合得分(F)是每个主成分得分与相对方差贡献率的乘积之和,即: $F = F1 \times 69.747\% + F2 \times 26.766\%$ 。由表3可知,垂丝海棠在不同处理下的综合得分分别为:-1.20624(T1)、0.880667(T2)、0.318411(T3)、0.068989(T4)、-0.276(T5)和-0.56878(T6)。因此,干旱胁迫下不同浓度EBR对垂丝海棠生理特性的影响排名依次为:T2>T3>T4>T5>T6>T1。

3 讨论

叶绿素能够吸收和转换光能,是植物进行光合作用的物质基础^[26]。干旱胁迫会影响植物体内叶绿素生成,甚至会促进原有的叶绿素分解^[27]。马野等^[28]在玉米幼苗的研究中发现,喷施EBR可使叶绿素的含量显著增加。本试验中,随胁迫时间的延长,垂丝海棠叶片的Chl a、Chl b、Chl a+b、Chl a/b含量均呈下降趋势,通过不同浓度的外源EBR处理后,Chl a、Chl b、Chl a+b、Chl a/b含量相比T1均有不同程度的上升,这可能是外源EBR处理缓解了干旱胁迫对垂丝海棠叶绿体的损坏,从而保持其结构的完整性,与吴晓丽等^[29]在花椰菜中的研究结论相似,进一步证实外源EBR可以有效缓解这种伤害。本试验相关性分析表明, P_n 与Chl a、Chl b、Chl a+b、Chl a/b均呈极显著正相关,说明叶绿素含量的降低

表2 主成分分析及方差解释

Table 2 Principal component analysis and variance interpretation

指标 Index	载荷 Load	
	PC1	PC2
P_n	0.940	-0.308
Chl a	0.986	-0.131
Chl b	0.960	-0.275
Chl a+b	0.982	-0.169
Chl a/b	0.960	-0.275
REC	-0.987	-0.143
Pro	-0.107	0.945
MDA	-0.907	-0.262
SOD	0.340	0.906
POD	0.297	0.922
CAT	0.525	0.824
G_s	0.941	-0.335
T_r	0.979	0.086
C_i	-0.984	-0.052
特征根 Eigen values	9.765	3.747
方差贡献率/%	69.747	26.766
Proportion of variance		
累积方差贡献率/%	69.747	96.513
Cumulative variance		

注:PC1、PC2分别表示主成分1、主成分2。下同。

Note: PC1 and PC2 respectively indicate: principal component 1, principal component 2. The same below.

可能是光合作用减弱的重要因素。有研究表明,气孔限制和非气孔限制均会引起 P_n 下降^[30-31]。若 C_i 和 G_s 同时下降,说明气孔因素是引起光合速率下降的主要原因,如果 G_s 下降,而 C_i 维持不变甚至上升,则表明叶肉细胞同化能力降低等非气孔因素是引起光合速率下降的主要原因^[32]。本试验中,干旱胁迫下垂丝海棠叶片的 G_s 下降的同时 C_i 上升,说明在干旱胁迫下垂丝海棠 P_n 下降是由非气孔限制因素造成,即由垂丝海棠叶肉细胞的光合活性降低引起,这可能是干旱胁迫下细胞过氧化使光合电子传递受阻,影响类囊体蛋白质合成,导致叶片气孔导度降低、 CO_2 同化缓慢、叶片蒸腾速率和光合速率下降^[33]。通过不同浓度外源施EBR处理,垂丝海棠 C_i 升幅显著小于未施EBR处理, P_n 、 G_s 显著升高,说明EBR抑制叶肉细胞光合活性的过度降低,从而提高垂丝海棠的净光合效率^[32]。这与丁丹阳等^[34]在烟草上的研究结果相一致。

细胞膜作为半透性膜,在细胞内外之间的物质交换和利用方面起着重要作用,相对电导率可评估植物受害程度^[35]。干旱胁迫会破坏细胞膜的稳定性,导致细胞内电解质外渗,相对电导率升高^[36]。本试验表明,随胁迫时间的延长,REC呈升高趋势,喷施外源EBR后,REC显著下降,说明外源EBR对干旱胁迫引起的细胞膜透性变化有缓解作用,从而降低REC,这与安汶铠等^[37]在棉花抗旱上的研究结果相似。Pro含量通常被视作衡量植物抗逆性的指标^[23]。本试验研究表明,随胁迫时间的延长,Pro含量急剧增加,可能是干旱胁迫引起蛋白质分解,脯氨酸首先被游离出来^[38]。通过不同浓度外源EBR处理,垂丝海棠叶片中Pro含量显著高于对照,这可能是外源EBR直接参与植物生理生长过程而促进了Pro的合成。这与王雨婷等^[14]在葡萄上的研究结论相同,说明外源EBR能进一步促进干旱胁迫下Pro的积累,且存在明显的浓度效应。

逆境胁迫下会打破植物体内ROS产生与清除的动态平衡,MDA含量受到影响,引发和加剧生物

表3 不同处理下垂丝海棠的综合得分及排名

Table 3 Comprehensive score and ranking of *Malus halliana* under different treatments

处理 Treatment	主成分得分 Principal component score		综合得分(F) Comprehensive score	综合得分排名 Comprehensive score ranking
	PC1(F_1)	PC2(F_2)		
T1	-1.30890	-1.09512	-1.206240	6
T2	0.77702	1.26548	0.880667	1
T3	0.16522	0.75908	0.318411	2
T4	-0.12648	0.58733	0.068989	3
T5	-0.45198	0.14663	-0.276000	4
T6	-0.74989	-0.17095	-0.568780	5

膜脂过氧化作用,从而对植物体造成伤害^[39]。王丽君等^[26]研究发现,喷施 EBR 可使干旱胁迫下烤烟叶片 MDA 含量下降 52.55%。本研究表明,随胁迫时间的延长,垂丝海棠叶片 MDA 含量呈上升趋势,通过喷施外源 EBR 处理后,T2(8.2%)升幅显著低于 T1(22.9%),表明通过外源 EBR 处理能有效缓解 MDA 含量升高,这与王雨婷等^[14]在葡萄上的研究结果相同,可能是外源 EBR 作为抗氧化物质清除植物体内生成的 ROS,抑制膜脂过氧化,减少 MDA 的大量积累,增强膜的稳定性,从而缓解干旱胁迫对垂丝海棠幼苗的氧化伤害^[26]。研究发现,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)三种抗氧化酶在预防 ROS 毒害方面具有重要作用^[40-41]。本试验研究表明,随干旱胁迫时间的延长,SOD、POD、CAT 活性呈先升后降的趋势,可能是由于植物在初期自发调节生理活动来增强 SOD、POD、CAT 活性,及时清除活性氧,但若胁迫持续或加剧,植物不能进行自发调节,导致酶活性下降,植物氧化伤害加剧^[14]。通过不同浓度外源 EBR 处理后,其叶片 SOD、POD、CAT 活性显著高于未施 EBR 处理,且具有明显的浓度效应,这可能是外源 EBR 增强了植物抗氧化系统的防御能力,维持了细胞内 ROS 系统的代谢平衡,从而在一定程度上缓解了干旱胁迫引起的氧化损伤,这与李一萍等^[42]在木薯中的研究结果一致。

4 结 论

干旱胁迫下,外源 2,4-表油菜素内酯通过缓解叶绿素的降解,改善叶片的光合能力,通过稳定抗氧化酶活性降低对膜透性损害,增加其稳定性来缓解干旱胁迫,且具有浓度效应,0.2 mg · L⁻¹处理效果最显著。

参 考 文 献:

- [1] 王晓雪,李越,张斌,等.干旱胁迫及复水对燕麦根系生长及生理特性的影响[J].草地学报,2020,28(6):1588-1596.
WANG X X, LI Y, ZHANG B, et al. Effects of drought stress and rehydration on root growth and physiological characteristics of oats[J]. Acta Agrestia Sinica, 2020, 28(6): 1588-1596.
- [2] 徐云刚,詹亚光.植物抗旱机理及相关基因研究进展[J].生物技术通报,2009,25(2):11-17.
XU Y G, ZHAN Y G. Progress of the research on plant drought-resistant mechanism and related genes[J]. Biotechnology Bulletin, 2009, 25(2): 11-17.
- [3] 杨文杰,吴发启,方丽.陕西省渭北黄土高原苹果发展战略研究[J].西北农业学报,2004,13(3):158-161.
YANG W J, WU F Q, FANG L. Development strategy of apple industry of Weiwei loess plateau in Shaanxi Province [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2004, 13(3): 158-161.
- [4] 范翠枝,吴馨怡,关欣,等.油菜素内酯浸种对盐胁迫番茄种子萌发的影响及其生理机制[J].生态学报,2021,41(5):1857-1867.
FAN C Z, WU X Y, GUAN X, et al. Concentration effects and its physiological mechanism of soaking seeds with brassinolide on tomato seed germination under salt stress [J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(5): 1857-1867.
- [5] 燕飞,蒋文华,曲东,等.外源 5-氨基乙酰丙酸对低温胁迫下茶树叶片光合及生理特性的影响[J].茶叶科学,2020,40(5):597-606.
YAN F, JIANG W H, QU D, et al. Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid on photosynthetic and physiological characteristics of tea plants under low temperature stress [J]. Journal of Tea Science, 2020, 40(5): 597-606.
- [6] HU W H, WU Y, ZENG J Z, et al. Chill-induced inhibition of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in cucumber during chilling and subsequent recovery [J]. Photosynthetica, 2010, 48(4): 537-544.
- [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, JIE 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] XIA X J, WANG Y J, ZHOU Y H, et al. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber [J]. Plant Physiology, 2009, 150(2): 801-814.
- [9] JAILLAIS Y, VERT G. Brassinosteroids, gibberellins and light-mediated signalling are the three-way controls of plant sprouting [J]. Nature Cell Biology, 2012, 14(8): 788-790.
- [10] FRIDMAN Y, SAVALDI G S. Brassinosteroids in growth control: how, when and where [J]. Plant Science, 2013, 209: 24-31.
- [11] YUE J M, FU Z Y, ZHANG Z H, et al. The positive effect of different 24-epiBL pretreatments on salinity tolerance in *Robinia pseudoacacia* L. seedlings [J]. Forests, 2019, 10(1): 4-9.
- [12] JANEČKO A, OKLEŠTKOVÁ J, POCIJECHA E, et al. Physiological effects and transport of 24-epibrassinolide in heat-stressed barley [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33(4): 1249-1259.
- [13] 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.
- [14] 王雨婷,王智真,赵婷,等.24-表油菜素内酯预处理对干旱胁迫下葡萄幼苗抗氧化系统和渗透调节物质的影响[J].西北植物学报,2019,39(3):489-497.
WANG Y T, WANG Z Z, ZHAO T, et al. Effect of 24-epibrassinolide pretreatments on the antioxidant system and osmotic adjustment substance in vitis vinifera seedlings under drought stress [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2019, 39(3): 489-497.
- [15] 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.
- [16] 周伟江,吴旺斌,唐才宝,等.外源油菜素内酯对低温胁迫下水稻幼苗生长及生理特性的影响[J].西北农业学报,2020,29(9):1410-1416.
ZHOU W J, WU W P, TANG C B, et al. Effect of exogenous 2,4-epibrassinolide on germination and physiological characteristics of rice seedlings under chilling stress [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2020, 29(9): 1410-1416.
- [17] 胡文海,詹秀花,闫小红,等.24-表油菜素内酯对干旱胁迫下辣椒幼苗叶片抗氧化酶系统及耐旱相关基因表达的影响[J].植物研究,2015,35(6):908-914.
HU W H, ZHAN X H, YAN X H, et al. Effects of 24-epibrassinolide on antioxidant system and expression of drought-tolerance relative genes

- in pepper seedlings under drought stress[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2017, 35(6): 908-914.
- [18] 石晓响.3个苹果砧木对长期水分胁迫的响应特性[D].兰州:甘肃农业大学,2017.
SHI X Y. Response characteristics of three apple rootstocks to long-term water stress[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2017.
- [19] 贾婷婷,常伟,范晓旭,等.盐胁迫下AM真菌对沙枣苗木光合与叶绿素荧光特性的影响[J].*生态学报*,2018,38(4):1337-1347.
JIA T T, CHANG W, FAN X X, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics in *elaegnus angustifolia* seedlings under salt stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(4): 1337-1347.
- [20] ZHOU W J, LEUL M. Uniconazole-induced alleviation of freezing injury in relation to changes in hormonal balance, enzyme activities and lipid peroxidation in winter rape[J]. *Plant Growth Regulation*, 1998, 26(1): 41-47.
- [21] 赵世杰,许长成,邹琦,等.植物组织中丙二醛测定方法的改进[J].*植物生理学通讯*,1994,(3):207-210.
ZHAO S J, XU C C, ZOU Q, et al. Improvement of the method for determination of malondialdehyde in plant tissues[J]. *Plant Physiology Communications*, 1994, (3): 207-210.
- [22] GUO R, SHI L A, YANG Y F. Germination, growth, osmotic adjustment and ionic balance of wheat in response to saline and alkaline stresses[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2009, 55(5): 667-679.
- [23] 山雨思,代欢欢,何潇,等.外源茉莉酸甲酯和水杨酸对盐胁迫下颠茄生理特性和次生代谢的影响[J].*植物生理学报*,2019,55(9):1335-1346.
SHAN Y S, DAI H H, HE X, et al. Effects of exogenous methyl jasmonate and salicylic acid on physiological characteristics and secondary metabolism of *atropa belladonna* under NaCl stress[J]. *Plant Physiology Communications*, 2019, 55(9): 1335-1346.
- [24] KAWAGUCHI S, KITANO T, ITO K, et al. Sodium ion activity and electrical conductivity of poly(maleic acid) and poly(isobutylene-alt-maleic acid) in aqueous salt-free solution[J]. *Macromolecules*, 1991, 24: 6335-6339.
- [25] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006.
ZOU Q. Experimental guidance of plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [26] 王丽君,李冬,申洪涛,等.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[J].*西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2020,48(11):33-41.
WANG L J, LI D, SHEN H T, et al. Effects of brassinolide on growth, physiology and photosynthetic characteristics of flue-cured tobacco seedlings under drought stress[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2020, 48(11): 33-41.
- [27] SHAHIDI R, YOSHIDA J, COUGNON M, et al. Morpho-physiological responses to dehydration stress of perennial ryegrass and tall fescue genotypes[J]. *Functional Plant Biology*, 2017, 44(6): 612-623.
- [28] 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的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.
- [29] 吴晓丽,罗立津,黄丽岚,等.水杨酸和油菜素内酯对花椰菜幼苗生长及抗旱性的影响[J].*干旱地区农业研究*,2011,29(2):168-172.
WU X L, LUO L J, HUANG L L, et al. Effect of salicylic acid (SA) and brassinolide (BR) on growth and drought resistance of cauliflower (*Brassica oleracea* L.var.botrytis) seedlings[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2011, 29(2): 168-172.
- [30] FARQUHAR G D, SHARKEY T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1982, 33: 317-345.
- [31] 刘馨,游诗尧,周海霞,等.钙离子浓度对NaCl胁迫下嫁接黄瓜幼苗光合与荧光特性的影响[J].*干旱地区农业研究*,2018,36(4):193-199, 206.
LIU X, YOU S Y, ZHOU H X, et al. Effects of calcium ion concentration on photosynthetic and fluorescence characteristics of grafted cucumber seedlings under NaCl stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2018, 36(4): 193-199, 206.
- [32] MAFAKHERI A, SIOSEMARDEH A, BAHRAMNEJAD B, et al. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars[J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2010, 4(8): 580-585.
- [33] 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):1303-1311.
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): 1303-1311.
- [34] 丁丹阳,张璐翔,朱智威,等.叶面喷施2,4-表油菜素内酯对烟草抗旱性的影响[J].*中国烟草科学*,2018,39(4):50-57.
DING D Y, ZHANG L X, ZHU Z W, et al. Effect of leaf spray 2,4-epibrassinolide on drought resistance of tobacco[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2018, 39(4): 50-57.
- [35] 李雅男,袁素霞,徐雷锋,等.百合在NaHCO₃胁迫下的生理响应机制[J].*园艺学报*,2016,43(6):1126-1140.
LI Y N, YUAN S X, XU L F, et al. The physiological response of lily to NaHCO₃ stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(6): 1126-1140.
- [36] 赵婷,杨建宁,吴玉霞,等.外源H₂S处理对盐碱胁迫下垂丝海棠幼苗生理特性的影响[J].*果树学报*,2020,37(8):1156-1167.
ZHAO T, YANG J N, WU Y X, et al. Effects of exogenous H₂S treatment on physiological characteristics of salt-alkali stressed seedling of *malus halliana*[J]. *Journal of Fruit Science*, 2020, 37(8): 1156-1167.
- [37] 安汶铠,常丹,张富春.喷施2,4-表油菜素内酯(EBR)提高棉花抗旱生理响应性的研究[J].*基因组学与应用生物学*,2015,34(10):2217-2224.
AN W K, CHANG D, ZHANG F C. Improving the physiological response of cotton by spraying 2,4-epibrassinolide (EBR) under the drought[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2015, 34(10): 2217-2224.
- [38] 阚丽艳,谢贵水,王纪坤.干旱胁迫对入侵植物假臭草幼苗生长和生理生态指标的影响[J].*热带作物学报*,2009,30(5):608-612.
KAN L Y, XIE G S, WANG J K. Effect of drought stress on the growth and eco-physiologic characteristics of invasive plant *eupatorium catarium* seedlings[J]. *Journal of Tropical Crops*, 2009, 30(5): 608-612.
- [39] 苍晶,李唯.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2017.
CANG J, LI W. Plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2017.
- [40] KRAUSE G H, WEIS E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1991, 42: 313-349.
- [41] AMOR N B, JIMENEZ A, MEGDICHE W, et al. Response of antioxidant systems to NaCl stress in the halophyte *cakile maritima*[J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 126(3): 446-457.
- [42] 李一萍,黄洁,许瑞丽,等.干旱胁迫下水杨酸和油菜素内酯对木薯苗生理特性的影响[J].*热带农业科学*,2013,33(10):6-11, 15.
LI Y P, HUANG J, XU R L, et al. Effects of salicylic acid and brassinolide on physiological characteristics in cassava seedling under drought stress[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2013, 33(10): 6-11, 15.