

# 外源亚精胺对高温胁迫下番茄幼苗快速叶绿素荧光诱导动力学特性的影响

苏晓琼, 王美月, 束 胜, 孙 锦, 郭世荣\*

(南京农业大学园艺学院, 农业部南方蔬菜遗传改良重点开放实验室, 江苏省现代农业技术与装备工程实验室, 南京 210095)

**摘 要:** 以高温敏感型番茄品种‘浦红 968’为试材, 在人工气候箱中采用基质栽培的方式, 研究了外源亚精胺 (Spd) 处理对高温胁迫下幼苗生长、快速叶绿素荧光诱导动力学特性和叶绿素含量的影响。结果表明, 高温胁迫抑制番茄幼苗生长, 引起叶片快速叶绿素荧光诱导曲线变形, 初始荧光产额大幅增加, 最大荧光显著减小, 导致最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 下降, 而 Spd 处理促进了幼苗生长, 提高了高温胁迫下幼苗的最大荧光和  $F_v/F_m$ , 降低了初始荧光。高温胁迫引起单位反应中心吸收的光能 (ABS/RC)、捕获的光能 (TR<sub>o</sub>/RC) 和热耗散的能量 (DI<sub>o</sub>/RC) 增加, 而降低单位反应中心传递的能量 (ET<sub>o</sub>/RC) 和光合性能 [PI<sub>(abs)</sub>], 放氧复合体受损, 类囊体严重解离, 电子传递活性受到抑制。高温胁迫下, 外源 Spd 处理显著降低叶片 ABS/RC、TR<sub>o</sub>/RC、DI<sub>o</sub>/RC, 提高 ET<sub>o</sub>/RC 和 PI<sub>(abs)</sub>。说明外源 Spd 能够稳定光合系统的结构和功能, 优化能量在 PS II 反应中心的分配, 促进电子在 PS II 和 PS I 之间的传递, 进而缓解高温胁迫对番茄幼苗光化学活性和光合性能的抑制。

**关键词:** 番茄; 高温胁迫; 亚精胺; 叶绿素荧光

**中图分类号:** S 641.2

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2013) 12-2409-10

## Effects of Exogenous Spd on the Fast Chlorophyll Fluorescence Induction Dynamics in Tomato Seedlings Under High Temperature Stress

SU Xiao-qiong, WANG Mei-yue, SHU Sheng, SUN Jin, and GUO Shi-rong\*

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Key Laboratory of Southern Vegetable Crop Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Jiangsu Province Engineering Lab for Modern Facility Agriculture Technology and Equipment, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Taking a relatively heat-sensitive tomato (*Lycopersicon esculentum*) cultivar ‘Puhong 968’ as test material, a substrate culture experiment was conducted in growth chamber to investigate the effects of foliar spraying spermidine (Spd) on the protection in tomato seedling leaves under high temperature stress. The heat treatment at 38 °C significantly altered the shape of O-J-I-P fluorescence transient. An increase in basal fluorescence and decrease in maximum fluorescence was observed. Higher K, J, L-band and lower I-band were detected compared to control samples at 130 μs, 300 μs, 2 ms and 30 ms on the chlorophyll fluorescence induction curve. High temperature stress significantly increased the values of ABS/RC, TR<sub>o</sub>/RC, DI<sub>o</sub>/RC, φD<sub>o</sub>, M<sub>o</sub>, and  $F_v/F_m$ , but decreased ET<sub>o</sub>/RC, PI<sub>(abs)</sub>, S<sub>m</sub>, DF<sub>(abs)</sub>, Ψ<sub>o</sub>, RC/CS<sub>o</sub>

**收稿日期:** 2013-07-02; **修回日期:** 2013-10-24

**基金项目:** 国家重点基础研究发展计划项目 (2009CB119000); 现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-25-C-03)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: srguo@njau.edu.cn)

and  $\phi_{E_0}$  in leaves. However, Spd treatment reverted these changes induced by high temperature stress. Spd resulted in a better utilization of excitation energy and a higher stability of the photosystem II, causing much enhancement of the oxygen evolving complex capacity, thermal stability of thylakoid membranes, connectivity among PS II units and electron transport activity. Meanwhile, positive effects showed up in the photosynthetic pigment contents and growth in tomato seedling by heat treat treated with Spd.

**Key words:** tomato; high temperature stress; spermidine; chlorophyll fluorescence

温度是影响植物生长发育的主要环境因素之一。光合作用对高温胁迫极其敏感,在其他表性症状还未出现时光合作用就被高温胁迫部分抑制甚至完全抑制。光系统 II (PS II) 反应中心、CO<sub>2</sub> 同化以及 ATP 复合体是易遭受高温胁迫伤害的主要位点 (Berry & Björkman, 1980; Salvucci & Crafts-Brandner, 2004; Kalaji & Loboda, 2007; Allakhverdiev et al., 2008; Kalaji et al., 2011; Brestic et al., 2012)。当高等植物遭受高温胁迫时, PS II 是最敏感、最易受破坏的部位 (Baker, 1991; Havaux, 1996; Yamane et al., 1998), 其结构和功能会发生一系列变化甚至损伤 (宋春雨 等, 2002; 王梅 等, 2007); 高温会引起类囊体膜流动性改变, 导致 PS II 复合物稳定性降低且易分解 (Essemine et al., 2012)。

快速叶绿素荧光诱导动力学曲线 (OJIP 曲线) 是一种快速获得 PS II 光化学活性、电子传递和光合器官结构和状态等信息的方法 (Brestic et al., 2012)。JIP-test 通过定量分析 OJIP 曲线的变化, 来反映 PS II 反应中心光能吸收、转换、受体侧和供体侧的活性以及电子传递体氧化还原状态动态变化的一种手段。Strasser 等 (2004) 以生物膜能量流动为基础, 建立了针对快速叶绿素荧光诱导曲线的数据分析和处理方法, 并通过计算能量流和能量比率衡量在给定物理状态下样品内部变化, 建立了高度简化的能量流动模型图。这些能量流包括 ABS (吸收的光能)、TR (捕获的光能)、ET (电子传递)、DI (热耗散)、RE (还原 PS I 末端受体), 该方法广泛用于甄别低温、干旱、盐渍、水涝, 尤其是高温胁迫对植物的影响 (Force et al., 2003; Schansker et al., 2005; Zivcak et al., 2008; Mehta et al., 2010a; Brestic et al., 2012)。

研究发现多胺与植物抵抗逆境胁迫能力密切相关 (Bouchereau et al., 1999)。田婧等 (2009, 2011) 的研究表明, 外源 Spd 可以有效提高高温胁迫下黄瓜幼苗叶片的抗氧化能力, 降低叶片膜脂过氧化程度, 并提高质子泵活性, 稳定生物膜的结构和功能, 从而增强幼苗对高温胁迫的耐性。外源亚精胺还可显著提高盐胁迫下黄瓜植株叶绿素含量, 增强植株的光合能力 (李军 等, 2007), 促进番茄种子的萌发及幼苗生长 (胡晓辉 等, 2009), 提高番茄抗氧化酶活性, 维持光合机构的稳定性, 缓解盐胁迫对番茄幼苗的伤害 (周晨楠 等, 2012), 并且能有效保护热胁迫下番茄植株的光系统 II (Murkowski, 2001)。

多胺缓解逆境胁迫下蔬菜作物伤害的功效及作用机理已有许多报道, 但是有关外源多胺缓解高温胁迫下番茄幼苗光化学效率抑制的研究报道较少。本研究中以番茄为试材, 研究外源 Spd 处理对高温胁迫下番茄幼苗快速叶绿素荧光诱导动力学特性和叶绿素含量的影响, 探讨外源多胺缓解蔬菜作物热害的光合生理机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与处理

试验于 2012 年 9—11 月在南京农业大学玻璃温室内进行。番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 品

种为高温敏感型‘浦红 968’。在装有播种育苗基质（购于镇江培蕾基质厂）的营养钵中育苗，育苗期间平均昼/夜温度为 22 ~ 28 °C/16 ~ 18 °C，光合有效辐射（PPFD）500  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，相对湿度维持在 60% ~ 70%。幼苗长至三叶一心时，选取长势基本一致的幼苗移至人工气候箱（江南仪器厂，宁波），环境条件温度设置为 25 °C/15 °C（昼/夜），光照强度 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，光周期 12 h/12 h，相对湿度 60%。待幼苗适应 2 d 后，处理 7 d，设定 4 个处理：常温喷施去离子水（对照）、常温喷施亚精胺、高温喷施去离子水、高温喷施亚精胺。其中，高温条件为 38 °C/28 °C（昼/夜），常温条件为 25 °C/15 °C（昼/夜）；根据预试验的结果，叶面喷施亚精胺浓度为 1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每天 17:00 时进行 1 次叶面喷施处理，共喷施 7 次，以叶面正反两面全部湿润且无液体滴下为准。试验随机排列，3 次重复。处理 7 d 后，测定各项生长指标，并选择第 3 片真叶（从基部数）测定快速叶绿素荧光动力学曲线和叶绿素含量。

## 1.2 生长指标与光合色素测定

测量幼苗株高（子叶节至生长点）、子叶节粗度、植株所有完全展开功能叶的叶面积；植株鲜质量和干质量。

参照沈伟其（1988）方法测定叶绿素和类胡萝卜素含量。

## 1.3 快速叶绿素 a 荧光诱导曲线测量与 JIP - 参数计算

采用便携式植物效率分析仪 M-PEA（Hansatech，英国）测量荧光诱导动力学曲线。

根据 Strasser 等（2000）的方法计算以下荧光参数。单位反应中心吸收的光能： $\text{ABS}/\text{RC} = M_0 \cdot (1/V_J) \cdot (1/\phi_{P_0})$ ；单位反应中心捕获的用于还原  $Q_A$  的能量： $\text{TR}_0/\text{RC} = M_0 \cdot (1/V_J)$ ；单位反应中心捕获的用于电子传递的能量： $\text{ET}_0/\text{RC} = M_0 \cdot (1/V_J) \cdot \psi_0$ ；单位反应中心耗散的能量： $\text{DI}_0/\text{RC} = \text{ABS}/\text{RC} - \text{TR}_0/\text{RC}$ ；捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过  $Q_A$  的其它电子受体的概率： $\psi_0 = \text{ET}_0/\text{TR}_0 = 1 - V_J$ ；用于还原 PS I 受体侧末端电子受体的量子产额： $\phi_{R_0} = \text{RE}/\text{ABS} = \text{TR}_0/\text{ABS} (1 - V_I)$ ；用于热耗散的量子比率： $\phi_{D_0} = 1 - \phi_{P_0} = (F_0/F_m)$ ；用于电子传递的量子产额： $\phi_{E_0} = \text{ET}_0/\text{ABS} = \phi_{P_0} \cdot \psi_0$ ；OJIP 荧光诱导曲线的初始斜率： $M_0 = 4 \cdot (F_{300 \mu\text{s}} - F_0) / (F_m - F_0)$ ；单位面积有活性反应中心的数量： $\text{RC}/\text{CS}_0 = \phi_{P_0} \cdot (V_J/M_0) \cdot F_0$ ；标准化后的在 OJIP 荧光诱导曲线和  $F = F_m$  之间的面积： $S_m = \text{Area} / (F_m - F_0)$ ；以吸收光能为基础的性能指数： $\text{PI}_{(\text{abs})} = (\text{RC}/\text{ABS}) \cdot [\phi_{P_0} / (1 - \phi_{P_0})] [\psi_0 / (1 - \psi_0)]$ 。最大光化学效率： $\phi_{P_0} = F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$ ； $\text{DF}_{(\text{abs})} = \log(\text{PI})$ 。在这里： $V_J = (F_{2 \text{ms}} - F_0) / (F_m - F_0)$ ； $V_I = (F_{30 \text{ms}} - F_0) / (F_m - F_0)$ 。

根据 Li 等（2010）的方法计算相对可变荧光。 $V_t = (F_t - F_0) / (F_m - F_0)$ ， $\Delta V_t = V_{t \text{ 处理}} - V_{t \text{ 对照}}$ ； $W_K = (F_t - F_0) / (F_{300 \mu\text{s}} - F_0)$ ， $\Delta K$  -、 $\Delta J$  - 和  $\Delta I$  - band 分别为在 130  $\mu\text{s}$ 、300  $\mu\text{s}$ 、2 ms 和 30 ms 处测定的  $\Delta V_t$ ； $\Delta W_K = W_{K \text{ 处理}} - W_{K \text{ 对照}}$ ， $\Delta L$  - band 为在 130  $\mu\text{s}$  处测定的  $\Delta W_K$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源 Spd 对番茄幼苗生长的影响

如表 1 所示，38 °C/28 °C 高温胁迫后番茄幼苗生长显著受到抑制，植株鲜质量、干质量、叶面积、株高和茎粗分别比对照降低了 19.77%、18.11%、16.03%、15.74% 和 16.35%。外源亚精胺缓解了高温胁迫对番茄幼苗生长的抑制，鲜质量、干质量和叶面积比高温下喷去离子水处理增加了 13.43%、14.59% 和 7.0%，而株高和茎粗增加不明显。25 °C/15 °C 常温条件下喷施 Spd 对番茄幼苗生长无显著影响。

表 1 外源 Spd 对高温胁迫下番茄幼苗生长的影响

Table 1 Effect of exogenous Spd on the growth of tomato seedlings under high temperature stress

处理 Treatments	鲜质量/(g·plant <sup>-1</sup> ) Fresh weight	干质量/(g·plant <sup>-1</sup> ) Dry weight	叶面积/cm <sup>2</sup> Leaf area	株高/cm Plant height	茎粗/mm Stem diameter
25 °C/15 °C, H <sub>2</sub> O (对照 Control)	19.52 ± 0.67 a	1.90 ± 0.09 ab	90.46 ± 1.95 a	18.63 ± 0.15 a	4.95 ± 0.22 a
25 °C/15 °C, Spd	19.97 ± 0.19 a	1.94 ± 0.02 a	89.26 ± 1.83 a	18.60 ± 0.25 a	5.15 ± 0.11 a
38 °C/28 °C, H <sub>2</sub> O	15.66 ± 1.03 c	1.55 ± 0.04 c	75.96 ± 0.84 c	15.70 ± 0.50 b	4.14 ± 0.32 b
38 °C/28 °C, Spd	17.77 ± 0.26 b	1.78 ± 0.03 b	81.26 ± 2.28 b	16.43 ± 0.20 b	4.22 ± 0.25 b

## 2.2 外源 Spd 对番茄幼苗快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的影响

如图 1 所示, 高温胁迫下, 番茄幼苗叶片 OJIP 曲线发生变形, 最大荧光大幅下降, 到达最大荧光所需时间减短。图 2 显示高温胁迫显著增加最小荧光产额 ( $F_0$ )。高温胁迫下喷施 Spd 后, 曲线能够部分恢复到 OJIP 线型, 到达最大荧光所需时间增加 (图 1 和图 2),  $F_0$  则减小至对照水平, 可见 Spd 可缓解高温胁迫对番茄幼苗叶绿素荧光的影响。常温条件下, 喷施 Spd 对 OJIP 曲线没有明显的影响, 但  $F_0$  显著增加, 说明常温下 Spd 会对叶绿素荧光产生微弱影响 (图 1, 图 2)。

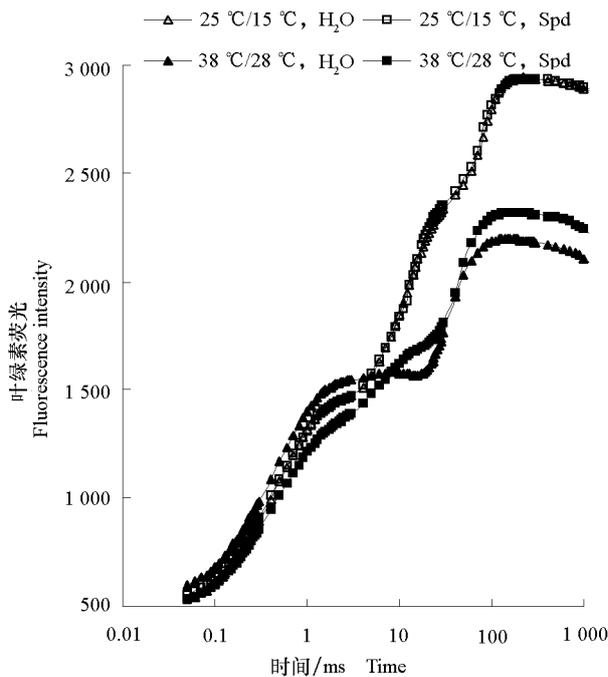


图 1 外源 Spd 对高温胁迫下番茄幼苗叶片快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的影响

Fig. 1 Effect of exogenous Spd on the fast induction curves of chlorophyll a fluorescence (OJIP) in leaves of tomato seedlings under high temperature stress

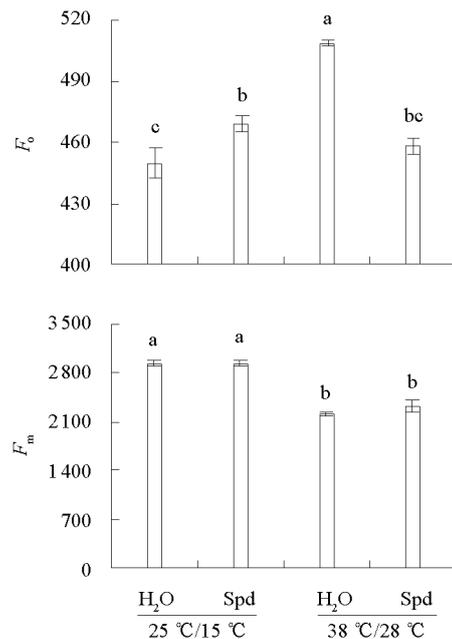


图 2 外源 Spd 对高温胁迫下番茄幼苗初始荧光和最大荧光的影响

Fig. 2 Effect of exogenous Spd on the  $F_0$  and  $F_m$  in leaves of tomato seedlings under high temperature stress

## 2.3 外源 Spd 对番茄幼苗叶片相对可变荧光的影响

比较相对荧光强度的差异可以分析番茄幼苗放氧复合体和 PS II 复合物单元对高温胁迫及 Spd

的响应 (Li et al., 2010)。图 3 显示高温胁迫下  $\Delta K\text{-band} > 0$ ,  $\Delta J\text{-band} > 0$ , 说明放氧复合体遭受破坏, 导致失活,  $Q_A^-$  有大量积累, 同时结合  $\Delta I\text{-band} > 0$ ,  $Q_B^{2-}$  合成减少, 可以分析出  $Q_A^-$  与  $Q_B^{2-}$  之间的电子传递受到严重抑制, PS II 受体侧遭受高温破坏。高温胁迫下喷施 Spd 后,  $\Delta K\text{-band}$ 、 $\Delta J\text{-band}$  和  $\Delta I\text{-band}$  的绝对值大幅减小, 表明 Spd 可以有效缓解高温对电子传递链的破坏。常温条件下, 喷施 Spd 对  $\Delta K\text{-band}$  和  $\Delta I\text{-band}$  没有明显的影响, 而  $\Delta J\text{-band}$  略大于 0, 表明此时有少量  $Q_A^-$  积累, 这也是其  $F_0$  高于对照的原因。

图 3 显示高温胁迫下  $\Delta L\text{-band} > 0$ , 说明基粒类囊体解离, 导致 PS II 复合物之间的离散度增加, 从而引发 PS II 复合物单元之间的能量传递受阻。高温胁迫下喷施 Spd 有效减小  $\Delta L\text{-band}$ , 疏通了能量传递链, PS II 复合物之间亲密度得到加强。常温喷施 Spd 处理下, 其 L-band 略低于对照水平, 说明光合膜系统完整, 能量传递顺畅 (Brestic et al., 2012)。

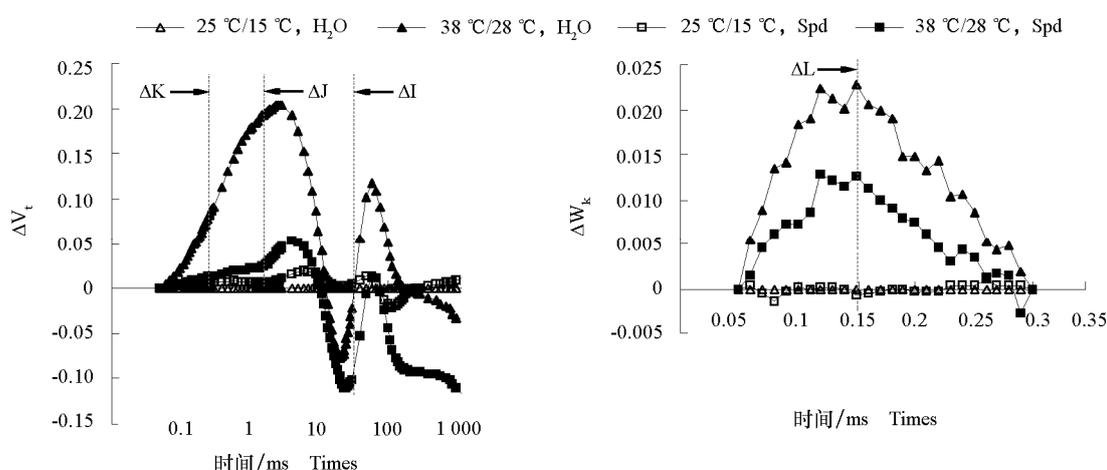


图 3 外源 Spd 对高温胁迫下番茄幼苗叶片相对可变荧光  $\Delta V_t$  和  $\Delta W_k$  的影响

Fig. 3 The differences between the treated and the control in the relative variable fluorescence  $\Delta V_t$  and  $\Delta W_k$  in leaves of tomato seedlings under high temperature stress

## 2.4 外源 Spd 对高温胁迫下番茄幼苗 JIP-test 参数的影响

对快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的信息进行数学解析, 可以得到多个荧光参数。由表 2 可以看出, 以有活性的反应中心(RC)为基础, 在高温胁迫下, 单位有活性反应中心吸收的光能( $ABS/RC$ )、捕获的光能( $TR_0/RC$ )和热耗散的光能( $DI_0/RC$ )显著增加, 用于电子传递的能量( $ET_0/RC$ )明显减小, 说明叶片减少用于电子传递的能量份额, 而增加热耗散的能量份额以减少高温引起的伤害。高温胁迫下喷施 Spd 显著降低了  $ABS/RC$ 、 $TR_0/RC$  和  $DI_0/RC$  的数值, 使其恢复至对照水平, 而提高了番茄叶片  $ET_0/RC$ , 说明 Spd 优化了高温胁迫下叶片光能的分配, 增强了电子传递的能力, 从而缓解高温胁迫诱导的伤害。常温下喷施 Spd 后, 番茄叶片  $ABS/RC$ 、 $DI_0/RC$ 、 $TR_0/RC$  和  $ET_0/RC$  的值与对照相比无明显差异。

高温胁迫下, 番茄幼苗叶片电子传递到电子传递链中  $Q_A^-$  下游的电子受体的概率 ( $\Psi_0$ ) 和用于电子传递的量子产额 ( $\phi E_0$ ) 大幅下降, 而 PS I 受体侧末端电子受体的量子产额 ( $\phi R_0$ ) 与对照水平无异, 说明高温胁迫下电子传递受到严重抑制, 光反应活性显著下降, 但对 PS I 的相对活性无明显影响。同时, 热耗散的量子比率 ( $\phi D_0$ ) 大幅上升。高温胁迫下喷施 Spd,  $\Psi_0$  恢复到对照水平,  $\phi E_0$  和  $\phi D_0$  均得到有效恢复, 同时 PS I 的相对活性维持对照水平。常温下喷施 Spd, 各项参数与对照水平没有显著差异。

表 2 外源 Spd 对高温胁迫下番茄幼苗比活性和能量分配的影响

Table 2 Effect of exogenous Spd on specific energy fluxes and yields in leaves of tomato seedlings under high temperature stress

处理 Treatments	ABS/RC	TR <sub>v</sub> /RC	ET <sub>o</sub> /RC	DI <sub>o</sub> /RC	$\psi_o$	$\phi R_o$	$\phi D_o$	$\phi E_o$
25 °C/15 °C H <sub>2</sub> O (对照 Control)	1.96 ± 0.07 b	1.65 ± 0.02 b	0.99 ± 0.03 a	0.35 ± 0.02 c	0.62 ± 0.01 a	0.21 ± 0.01 a	0.18 ± 0.01 c	0.51 ± 0.01 a
25 °C/15 °C Spd	2.04 ± 0.06 b	1.67 ± 0.02 b	1.01 ± 0.06 a	0.38 ± 0.01 c	0.61 ± 0.02 a	0.21 ± 0.03 a	0.20 ± 0.02 c	0.50 ± 0.01 a
38 °C/28 °C H <sub>2</sub> O	2.30 ± 0.04 a	1.76 ± 0.04 a	0.70 ± 0.01 b	0.63 ± 0.02 a	0.42 ± 0.01 b	0.21 ± 0.01 a	0.27 ± 0.01 a	0.31 ± 0.01 c
38 °C/28 °C Spd	2.10 ± 0.03 b	1.66 ± 0.01 b	0.88 ± 0.09 a	0.48 ± 0.01 b	0.54 ± 0.05 a	0.23 ± 0.01 a	0.23 ± 0.01 b	0.42 ± 0.04 b

图 4 所示, 高温胁迫下, 番茄叶片 PS II 受体侧醌库容量减小 ( $S_m$ ), 由于  $Q_A$  往下的电子传递受到抑制, 使得更多的能量用于还原  $Q_A$ , 导致最大荧光 ( $F_m$ ) 减少,  $Q_A$  被还原的最大速率增加 ( $M_o$ ), 同时反应中心密度 (RC/CS<sub>o</sub>)、光合作用驱动力 ( $DF_{(abs)}$ ), 最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 和光合性能指数 [ $PI_{(abs)}$ ] 下降。高温胁迫喷施 Spd 后, 各个参数均有不同程度的恢复, 其中  $PI_{(abs)}$  和  $F_v/F_m$  的恢复说明 Spd 可以有效地缓解高温对光合性能和光化学效率的抑制。常温条件下, 喷施 Spd 后番茄的各个参数的变化与对照相比无显著差异。

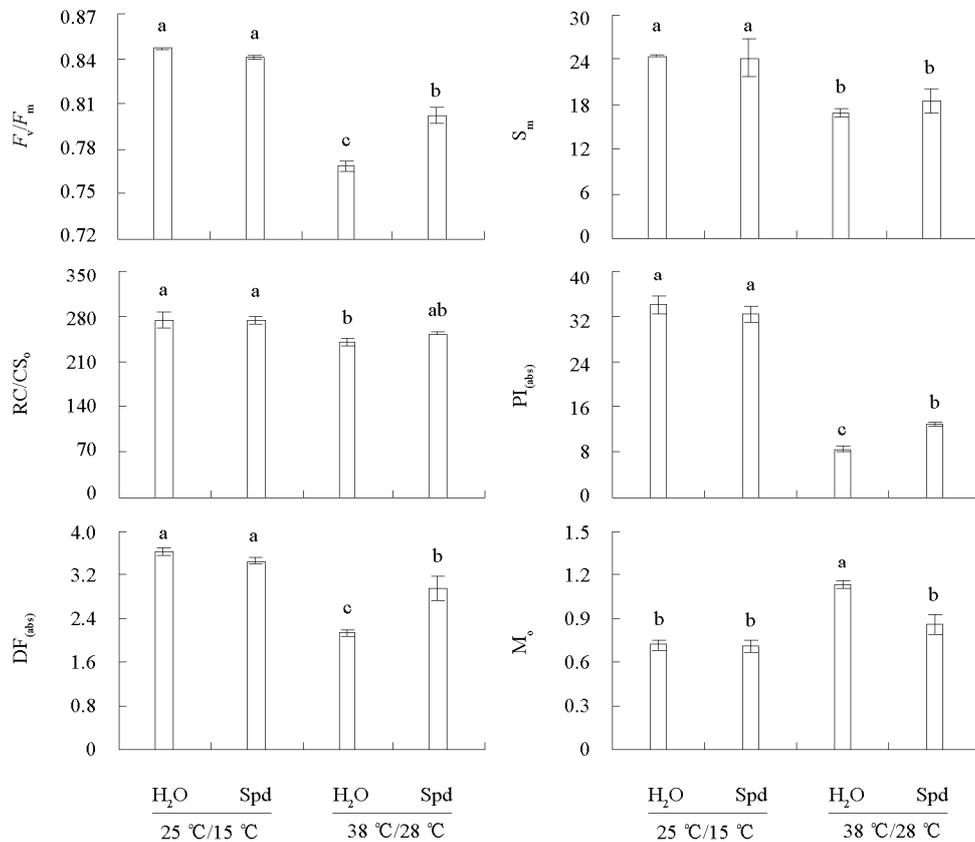


图 4 高温胁迫下喷施外源 Spd 处理后番茄幼苗 JIP-test 参数变化的影响

Fig. 4 Effect of exogenous Spd on fluorescence parameters, density of reaction centers, performance indexes and driving forces in leaves of tomato seedlings under high temperature stress

## 2.5 外源 Spd 对高温胁迫下番茄幼苗光合色素含量的影响

如表 3 所示, 与对照相比, 高温胁迫抑制了番茄叶片光合色素合成, 叶绿素 a、b 和类胡萝卜素分别下降了 26.77%、26.27% 和 19.22%, 喷施亚精胺则促进了光合色素合成, 叶绿素 a、b 和类胡萝卜素分别增加了 40.52%、47.37% 和 29.85%, 且逐渐恢复到对照水平。由表 3 还可以看出, 在常温和高温条件下 Spd 均有助于促进光合色素的合成。

表 3 外源 Spd 对高温胁迫下番茄幼苗叶片光合色素含量的影响

Table 3 Effect of exogenous Spd on photosynthetic pigment contents in leaves of tomato seedlings under high temperature stress

处理 Treatment	叶绿素 a/ (mg · cm <sup>-2</sup> ) Chl. a	叶绿素 b/ (mg · cm <sup>-2</sup> ) Chl. b	总叶绿素/ (mg · cm <sup>-2</sup> ) Chl. (a+b)	类胡萝卜素/ (mg · cm <sup>-2</sup> ) Car
25 °C/15 °C, H <sub>2</sub> O (对照 Control)	54.40 ± 1.87 a	16.91 ± 0.33 a	71.32 ± 1.93 a	31.48 ± 1.14 a
25 °C/15 °C, Spd	56.61 ± 1.45 a	17.45 ± 0.87 a	74.06 ± 2.25 a	32.99 ± 0.93 a
38 °C/28 °C, H <sub>2</sub> O	39.84 ± 0.25 b	12.47 ± 0.35 b	52.31 ± 0.60 b	25.43 ± 0.18 b
38 °C/28 °C, Spd	55.98 ± 0.32 a	18.38 ± 0.27 a	74.40 ± 0.50 a	33.02 ± 0.12 a

### 3 讨论

生长量是植物响应逆境胁迫的综合体现,也是确定胁迫耐性时的常用指标 (Sairam & Srivastava, 2002)。高温逆境是降低作物产量及品质的主要环境因子之一 (Paulsen, 1994)。本试验结果表明,高温胁迫下番茄幼苗的生长状况以及生物积累量均受到明显抑制,叶面喷施外源 Spd 对番茄幼苗的茎粗无显著影响,但有效缓解了高温胁迫对番茄幼苗生长的抑制 (表 1)。

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,其含量的多少可以反映植物在高温条件下光合作用的强弱 (李洪燕 等, 2010)。研究表明,叶绿素的含量与光合作用有正相关的关系 (Sairam & Srivastava, 2002),高温胁迫破坏了叶绿素合成和降解的动态平衡,从而引起番茄幼苗叶绿素含量的降低 (陈新斌 等, 2012; 刘春英 等, 2012),喷施亚精胺提高了番茄幼苗叶绿素含量 (表 3),这与外源亚精胺提高植株高温胁迫下的光合能力有着紧密的联系 (田婧 等, 2010)。同时,亚精胺促进了类胡萝卜素含量增加,有助于清除过剩激发能的积累,从而起到光保护作用。

为了进一步理解高温胁迫对番茄幼苗光合结构伤害的位点和外源 Spd 提高光合器官性能的作用机制,本试验利用快速叶绿素荧光技术来反映高温胁迫下番茄幼苗光合器官结构和性能的变化。结果表明,高温胁迫下番茄叶片初始荧光显著增加 (图 2),可能是由于高温加强了叶绿体呼吸,导致仍有一部分 Q<sub>A</sub> 发生还原作用,也可能是部分反应中心失活,如放氧复合体遭受破坏或捕光色素复合体 (LHC<sub>2</sub>) 三聚体低聚化 (Brestic et al., 2012)。进一步分析显示,最大光化学效率 (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) 的减少 (图 4) 主要是由于高温胁迫增加初始荧光 (F<sub>0</sub>) 和减少最大荧光 (F<sub>m</sub>) 所导致 (图 2),表明高温胁迫导致 PS II 受体侧受到严重破坏,电子传递能力明显下降 (Mehta et al., 2010 b; Essemine et al., 2012)。此外,高温胁迫引起叶片单位反应中心吸收的光能和捕获的光能增加,而用于电子传递的光能减少 (表 2),说明 PS II 受体侧的电子初级受体 Q<sub>A</sub> 向二级受体 Q<sub>B</sub> 的电子传递被抑制,导致电子在 Q<sub>A</sub> 处的大量积累。喷施 Spd 后, Q<sub>A</sub> 向 Q<sub>B</sub> 的电子传递得到促进,缓解了电子在 Q<sub>A</sub> 处的积累,醌库容量增加 (图 4),更多的电子进入到电子传递链中,使得电子传递超过 Q<sub>A</sub> 的概率 (ψ<sub>0</sub>) 增加, J 相荧光减小,用于电子传递的能量和量子产额 (φE<sub>0</sub>) 增加,降低了用于非光化学猝灭的热耗散 (图 1 和表 2)。考虑到 PS I 活性未受高温胁迫的影响 (φR<sub>0</sub> 无明显变化) (表 2) 以及 Q<sub>B</sub> 是光合电子传递链中含量最多的电子传递体 (邱念伟 等, 2012),以上结果可能是缘于 Spd 抑制了 Q<sub>B</sub> 从蛋白复合体上脱落 (李鹏民 等, 2005),缓解高温对质体醌引起的伤害,从而增加了 PS II 受体一侧电子受体数量,扩增了醌库容量,促进了电子传递。ABS/RC 可以衡量天线色素的大小,当该值和 TR<sub>0</sub>/RC 均增加时 (表 2),说明天线色素尺寸增大 (Brestic et al., 2012)。Mathur 等 (2011) 报道高温处理的样品的 PS II 复合物之间离散增加,并伴随着天线色素的改变和还原侧异质化。Shu 等 (2012) 报道腐胺可调节盐胁迫下黄瓜幼苗叶片天线色素的大小,增加有活性的反应中心密度 (RC/CS<sub>0</sub>),且多胺通过与捕光色素复合体相结合,可以增强光合器官对盐胁迫的适应性。本研究表明,高温胁迫下喷施 Spd 后减少了捕光色素复合体的大小 (ABS/RC),而光合性能指数 [PI<sub>(abs)</sub>] 和质子驱动力 [DF<sub>(abs)</sub>] 显著增加,并且提高了有活性反应中心密度 (RC/CS<sub>0</sub>) (表 2、图 4),从而

增强光合器官的耐热性。这些结果表明, Spd 可以缓解高温对 PS II 反应中心的伤害, 稳定其结构和功能, 这可能是由于 Spd 可以共价键的形式与 PS II 反应中心上的 D1 蛋白、D2 蛋白和细胞色素 b6/f 蛋白复合体等 PS II 外周物质相结合, 进而稳定反应中心的分子结构 (Besford et al., 1993)。

多胺在生理 pH 条件下具有多聚阳离子特性, 容易以游离态和结合态的形式同酚酸和其他小分子化合物或蛋白、核酸结合 (Shu et al., 2012)。研究表明, Spd 通过自身所带的电荷可以与核酸、蛋白质及带电荷的磷脂等相互作用, 有利于稳定类囊体的完整性, 并参与膜的构建, 阻止膜脂过氧化及膜蛋白水解, 调节植物生理活性和功能, 从而提高植物抗逆性 (赵福庚 等, 2000)。本试验中, 高温胁迫下 K-band 和 L-band 的出现, 表明类囊体膜流动性发生改变 (图 3), 引起 PS II 复合物稳定性下降, 导致其功能和结构完整性受到了破坏 (Essemine et al., 2012)。喷施 Spd 减缓了类囊体的解离和 PS II 复合体之间的离散, 缓解了放氧复合体遭受的损伤, 这可能是 Spd 抑制了 PS II 外周蛋白上锰聚合物的解离, 进而抑制放氧复合体上外周蛋白的水解, 从而维持放氧复合体结构与功能的稳定, 并且 Spd 可以多聚阳离子的状态与膜结构上带负电的磷酸基团结合, 有利于维持膜的稳定性, 同时影响热激蛋白的合成 (Helga & Sigrid, 2002; Mizusawa et al., 2009; Brestic et al., 2012)。

总之, 高温胁迫抑制了番茄幼苗的生长, 破坏了番茄幼苗光系统的结构和功能, 而喷施亚精胺可以保护叶片中的光合色素, 稳定光合反应中心的分子结构, 保持电子传递链畅通, 增强电子传递效率, 有助于促进光化学活性和光合性能的提高以及能量的高效分配, 从而缓解高温胁迫对光合器官结构和功能的伤害, 进而增强番茄植株的热稳定性, 促进番茄植株的生长。

## References

- Allakhverdiev S I, Kreslavski V D, Klimov V V, Los D A, Carpentier R, Mohanty P. 2008. Heat stress: An overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 98 (1 - 3): 541 - 550.
- Baker N R. 1991. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 81: 563 - 570.
- Berry J A, Björkman O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 31 (1): 491 - 543.
- Besford R T, Richardson C M, Campos J L, Tiburcio A F. 1993. Effect of polyamines on stabilization of molecular complexes in thylakoid membranes of osmotically stressed oat leaves. *Planta*, 189 (2): 201 - 206.
- Bouchereau A, Aziz A, Larher F, Martin-Tanguy J. 1999. Polyamines and environmental challenges: Recent development. *Plant Science*, 140 (2): 103 - 125.
- Brestic M, Zivcak M, Kalaji H M, Carpentier R, Allakhverdiev S I. 2012. Photosystem II thermostability *in situ*: Environmentally induced acclimation and genotype-specific reactions in *Triticum aestivum* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 57: 93 - 105.
- Chen Xin-bin, Sun Jin, Guo Shi-rong, Gao Pan, Du Jing. 2012. Chlorophyll metabolism of spinach leaves under seawater stress. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 32 (9): 1781 - 1787. (in Chinese)
- 陈新斌, 孙锦, 郭世荣, 高攀, 杜静. 2012. 海水胁迫对菠菜叶绿素代谢的影响. *西北植物学报*, 32 (9): 1781 - 1787.
- Essemine J, Govindachary S, Ammar S, Bouzid S, Carpentier R. 2012. Enhanced sensitivity of the photosynthetic apparatus to heat stress in digalactosyl-diacylglycerol deficient *Arabidopsis*. *Environmental and Experimental Botany*, 80: 16 - 26.
- Force L, Critchley C, van Rensen J J S. 2003. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynthesis Research*, 78 (1): 17 - 33.
- Helga K, Sigrid L. 2002. Are polyamines involved in the synthesis of heat-shock proteins in cell suspension cultures of tobacco and alfalfa in response to high-temperature stress? *Plant Physiology and Biochemistry*, 40 (1): 51 - 59.
- Havaux M. 1996. Short-term responses of photosystem I to heat stress. *Photosynthesis Research*, 47 (1): 85 - 97.
- Hu Xiao-hui, Wang Su-ping, Qu Bin. 2009. Effects of spermidine on seed germination and seedling antioxidant system of tomato under NaCl stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20 (2): 446 - 450. (in Chinese)
- 胡晓辉, 王素平, 曲斌. 2009. NaCl 胁迫下亚精胺对番茄种子萌发及幼苗抗氧化系统的影响. *应用生态学报*, 20 (2): 446 - 450.

- Kalaji H M, Bosa K, Kościelniak J, Hossain Z. 2011. Chlorophyll a fluorescence—A useful tool for the early detection of temperature stress in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) . *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 15 (12): 925 - 934.
- Kalaji H M, Loboda T. 2007. Photosystem II of barley seedlings under cadmium and lead stress. *Plant Soil and Environment*, 53 (12): 511.
- Li Hong-yan, Zheng Qing-song, Liu Zhao-pu, Li Qing. 2010. Effects of various concentration of seawater on the growth and physiological characteristics of *Lactuca indica* seedlings. *Chinese Bulletin of Botany*, 45 (1): 73 - 78. (in Chinese)
- 李洪燕, 郑青松, 刘兆普, 李青. 2010. 海水胁迫对苦苣菜幼苗生长及生理特性的影响. *植物学报*, 45 (1): 73 - 78.
- Li Jun, Gao Xin-hao, Guo Shi-rong, Zhang Run-hua, Wang Xu. 2007. Effects of exogenous spermidine on photosynthesis of salt-stressed *Cucumis sativus* seedlings. *Chinese Journal of Ecology*, 26 (10): 1595 - 1599. (in Chinese)
- 李军, 高新昊, 郭世荣, 张润花, 王旭. 2007. 外源亚精胺对盐胁迫下黄瓜幼苗光合作用的影响. *生态学杂志*, 26 (10): 1595 - 1599.
- Li Peng-min, Gao Hui-yuan, Strasser R J. 2005. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study. *Acta Photophysiologica Sinica*, 31 (6): 559 - 566. (in Chinese)
- 李鹏民, 高辉远, Strasser R J. 2005. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. *植物生理与分子生物学学报*, 31 (6): 559 - 566.
- Li Qing, Chen Li-song, Jiang Huan-xin, Tang Ning, Yang Lin-tong, Lin Zheng-he, Li Yan, Yang Gang-hua. 2010. Effects of manganese-excess on CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport of leaves, and antioxidant systems of leaves and roots in *Citrus grandis* seedlings. *BMC Plant Biology*, 10 (1): 42.
- Liu Chun-ying, Chen Da-yin, Gai Shu-peng, Zhang Yu-xi, Zheng Guo-sheng. 2012. Effects of high and low temperature stress on the leaf PS II functions and physiological characteristics of tree peony (*Paeonia suffruticosa* cv. 'Roufufong'). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 23 (1): 133 - 139. (in Chinese)
- 刘春英, 陈大印, 盖树鹏, 张玉喜, 郑国生. 2012. 高、低温胁迫对牡丹叶片 PS II 功能和生理特性的影响. *应用生态学报*, 23 (1): 133 - 139.
- Mathur S, Allakhverdiev S I, Jajoo A. 2011. Analysis of high temperature stress on the dynamics of antenna size and reducing side heterogeneity of photosystem II in wheat leaves (*Triticum aestivum*) . *Biochim Biophys Acta*, 1807 (1): 22 - 29.
- Mehta P, Allakhverdiev S I, Jajoo A. 2010a. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*) . *Photosynthesis Research*, 105 (3): 249 - 255.
- Mehta P, Jajoo A, Mathur S, Bharti S. 2010b. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiol Biochem*, 48 (1): 16 - 20.
- Mizusawa N, Sakata S, Sakurai I, Sato N, Wada H. 2009. Involvement of digalactosyldiacylglycerol in cellular thermotolerance in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Archives of Microbiology*, 191 (7): 595 - 601.
- Murkowski A. 2001. Heat stress and spermidine: Effect on chlorophyll fluorescence in tomato plants. *Biologia Plantarum*, 44 (1): 53 - 57.
- Paulsen G M. 1994. High temperature response of crop plants//Boote K J, Bennett J M, Sinclair T R, Paulsen G M. *Physiology and determination of crop yield*. American Society of Agronomy, Crop science Society of America and Soil Science Society of America, Madison: 365 - 389.
- Qiu Nian-wei, Zhou Feng, Gu Zhu-jun, Jia Shu-qin, Wang Xing-an. 2012. Photosynthetic functions and chlorophyll fast fluorescence characteristics of five *Pinus* species. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 23 (5): 1181 - 1187. (in Chinese)
- 邱念伟, 周峰, 顾祝军, 贾树芹, 王兴安. 2012. 5 种松属树种光合功能及叶绿素快相荧光动力学特征比较. *应用生态学报*, 23 (5): 1181 - 1187.
- Sairam R K, Srivastava G C. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in responses to long term salt stress. *Plant Science*, 162 (6): 897 - 904.
- Salvucci M E, Crafts-Brandner S J. 2004. Inhibition of photosynthesis by heat stress: The activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 120 (2): 179 - 186.
- Schansker G, Tóth S Z, Strasser R J. 2005. Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl a fluorescence rise OJIP. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1706 (3): 250 - 261.
- Shen Wei-qi. 1988. Extraction of mixed solution for determination of chlorophyll content in rice leaf blade. *Plant Physiology Communications*, 24 (3): 62 - 64. (in Chinese)

- 沈伟其. 1988. 测定水稻叶片叶绿素含量的混合液提取法. 植物生理学通讯, 24 (3): 62 - 64.
- Shu Sheng, Guo Shi-rong, Sun Jin, Yuan Ling-yun. 2012. Effects of salt stress on the structure and function of the photosynthetic apparatus in *Cucumis sativus* and its protection by exogenous putrescine. *Physiologia Plantarum*, 146 (3): 285 - 296.
- Song Chun-yu, Liu Xiao-bing, Jin Cai-xia. 2002. Mechanisms of damage and acclimation of photosynthetic apparatus due to heat stress. *System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture*, 18 (4): 252 - 256. (in Chinese)
- 宋春雨, 刘晓冰, 金彩霞. 2002. 高温胁迫下光合器官受损及其适应机理. 农业系统科学与综合研究, 18 (4): 252 - 256.
- Strasser R J, Srivastava A, Tsimilli-Michael M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *Probing photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*: 445 - 483.
- Strasser R J, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. 2004. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. *Chlorophyll a Fluorescence*. Berlin: Springer Netherlands: 321 - 362.
- Tian Jing, Guo Shi-rong, Liu Xiang-e, Zhang Run-hua, Cheng Yu-jing. 2009. Effects of exogenous spermidine pretreatment on antioxidant system in cucumber seedling leaves under high temperature stress. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 29 (11): 2261 - 2267. (in Chinese)
- 田 婧, 郭世荣, 刘香娥, 张润花, 程玉静. 2009. 外源亚精胺对高温下黄瓜幼苗叶片抗氧化系统的影响. 西北植物学报, 29 (11): 2261 - 2267.
- Tian Jing, Guo Shi-rong, Sun Jin, Wang Li-ping, Yang Yan-juan, Li Bin. 2011. Effects of exogenous spermidine on lipid peroxidation and membrane proton pump activity of cucumber seedling leaves under high temperature stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 22 (12): 3252 - 3258. (in Chinese)
- 田 婧, 郭世荣, 孙 锦, 王丽萍, 阳燕娟, 李 斌. 2011. 外源 Spd 对高温胁迫下黄瓜幼苗叶片膜脂过氧化及质子泵活性的影响. 应用生态学报, 22 (12): 3252 - 3258.
- 田 婧, 郭世荣, 王丽萍, 刘书仁, 孙 锦. 2010. 外源亚精胺对高温胁迫下黄瓜幼苗光合特性及叶绿体超微结构的影响. 园艺学报, 37 (增刊): 2135.
- Wang Mei, Gao Zhi-kui, Huang Rui-hong, Wang Hui-ying, Zhang Wen-li, Gao Rong-fu. 2007. Heat stress characteristics of photosystem II in eggplant. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 18 (1): 63 - 68. (in Chinese)
- 王 梅, 高志奎, 黄瑞虹, 王惠英, 张文丽, 高荣孚. 2007. 茄子光系统II的热胁迫特性. 应用生态学报, 18 (1): 63 - 68.
- Yamane Y, Kashino Y, Koike H, Satoh K. 1998. Effects of high temperatures on the photosynthetic systems in spinach: Oxygen-evolving activities, fluorescence characteristics and the denaturation process. *Photosynthesis Research*, 57 (1): 51 - 59.
- Zhao Fu-geng, Sun Cheng, Liu You-liang, Liu Zhao-pu. 2000. Effects of salinity stress on the levels of covalently and noncovalently conjugated polyamines in plasmamembrane and tonoplast isolated from barley seedlings. *Acta Botanica Sinica*, 42 (9): 920 - 926. (in Chinese)
- 赵福庚, 孙 诚, 刘友良, 刘兆普. 2000. 盐胁迫对大麦幼苗质膜、液泡膜上共价和非共价结合多胺含量的影响. 植物学报, 42 (9): 920 - 926.
- Zhou Chen-nan, Shi Xiao-meng, Yuan Ying-hui, Guo Shi-rong, Shu Sheng. 2012. Effects of exogenous spermidine on photosynthesis and activities of antioxidant enzymes in tomato seedlings under  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  stress. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 32 (3): 498 - 504. (in Chinese)
- 周晨楠, 施晓梦, 袁颖辉, 郭世荣, 束 胜. 2012. 外源亚精胺对  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  胁迫下番茄幼苗光合特性和抗氧化酶活性的影响. 西北植物学报, 32 (3): 498 - 504.
- Zivcak M, Brestic M, Olsovska K. 2008. Application of photosynthetic parameters in the screening of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for improved drought and high temperature tolerance//Allen J F, Gatt E, Golbeck J H, Osmond B. *Photosynthesis. Energy from the Sun: 14th International Congress on Photosynthesis*. Berlin: Springer.