



## 外源褪黑素对干旱胁迫条件下大豆苗期光合及生理的影响

邹京南, 金喜军, 王孟雪, 张明聪, 任春元, 于 奇, 胡国华, 张玉先

(黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163319)

**摘 要:**为研究外源褪黑素对干旱胁迫下大豆的缓解作用,促进褪黑素在生产实际中的应用,本试验以大豆抗线 9 为供试品种,采用盆栽控水的方式模拟干旱胁迫,设置不同浓度褪黑素叶面喷施处理,研究外源褪黑素对干旱胁迫下大豆幼苗生长的调控效应,为实际生产提供理论基础和技术参考。结果表明:外源褪黑素可显著缓解干旱胁迫对大豆幼苗生长的抑制作用,与干旱胁迫相比,干旱胁迫下喷施 100 和 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  褪黑素处理促进叶面积和干物质积累总量,分别平均提高了 8.04% 和 9.05%、6.76% 和 9.32%、13.89% 和 11.20%;显著提高了叶片光合参数、叶绿素荧光参数和相对含水量,其中  $P_n$  在第 7 和第 14 天分别提高了 22.88% 和 54.57%、39.72% 和 57.53%,  $Tr$  分别提高了 37.01% 和 18.99%、59.65% 和 45.17%;提高了抗氧化酶活性和渗透调节物质含量,降低了膜脂过氧化水平,其中 SOD 活性分别提高了 41.73% 和 23.51%、19.77% 和 15.18%, MDA 分别降低了 37.47% 和 26.29%、33.68% 和 19.25%。综上所述,外源褪黑素可以提高干旱胁迫下大豆幼苗光合参数和叶绿素荧光参数,提高抗氧化酶活性进而促进 ROS 的清除,提高渗透调节物质含量有利于叶片保持较高的相对含水量,降低膜脂过氧化程度,从而提高大豆幼苗耐旱能力。

**关键词:**大豆;干旱;褪黑素;光合作用;膜脂过氧化

## Effects of Exogenous Melatonin on Photosynthesis and Physiology of Soybean Seedlings under Drought Stress

ZOU Jing-nan, JIN Xi-jun, WANG Meng-xue, ZHANG Ming-cong, REN Chun-yuan, YU Qi, HU Guo-hua, ZHANG Yu-xian

(Agronomy of College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

**Abstract:** In order to study the alleviation effect of exogenous melatonin on soybean under drought stress, promoted the application of melatonin in production, this experiment used soybean [*Glycine max* [L] Merr.] kang-xian 9 as the material by pot. The effects of 100 and 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  exogenous melatonin on the photosynthesis, antioxidant system and growth by 30% field capacity under drought stress and rewatered soybean seedlings were studied. The results showed that foliar application of melatonin under drought stress could alleviate the growth inhibition, leaf area index and dry matter caused by drought stress, 100 and 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  were more drought-treated, the stress plant height, leaf area and total dry matter increased by 8.04% and 9.05%, 6.76% and 9.32%, 13.89% and 11.20%, respectively.  $P_n$  increased by 22.88% and 54.57%, 39.72% and 57.53%, respectively on 7th day and 14th day, and  $Tr$  increased by 37.01% and 18.99%, 59.65% and 45.17%, respectively, other photosynthesis, chlorophyll fluorescence and RWC were consistent, and also enhanced antioxidant enzyme activity and osmotic adjustment substances, reduced membrane lipid peroxidation level and better effect under rehydration conditions, where in SOD activity increased by 41.73% and 23.51%, 19.77% and 15.18%, respectively, and MDA decreased by 37.47% and 26.29%, 33.68% and 19.25%, respectively. The other antioxidant enzyme activities, osmotic adjustment substances and membrane lipid peroxidation levels were consistent. In summary, exogenous melatonin can improved photosynthetic parameters and chlorophyll fluorescence parameters under drought stress, increased antioxidant enzyme activity, clear ROS and reduced membrane lipid peroxidation, and improved osmotic adjustment substances to maintain higher RWC of leaves, to improved the drought tolerance of soybean seedlings.

**Keywords:** Soybean; Drought; Melatonin; Photosynthesis; Membrane lipid peroxidation

大豆是我国重要的粮油作物和经济作物,在生产中经常受到干旱胁迫的影响。我国干旱、半干旱地区约占国土面积的一半以上,干旱会引起植物组织水分亏缺,引起植物的生理生化异常,导致生长受阻、产量降低。干旱胁迫会造成大豆植株体内产

生大量的活性氧,破坏正常的氧化还原平衡,从而影响大豆的细胞结构和生理代谢<sup>[1]</sup>。研究表明,干旱胁迫会降低大豆光合速率和叶面积指数<sup>[2]</sup>。经过长期进化,植物通过提高抗氧化酶活性来清除由干旱胁迫引起的过多 ROS,但大多数情况下这一机

收稿日期:2018-09-08

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0201000);国家现代农业产业技术体系(CARS-04-01A);黑龙江省自然科学基金(C2017049);黑龙江省农垦总局重点科研计划(HNK135-02-06)。

第一作者简介:邹京南(1989-),男,硕士,主要从事大豆逆境栽培生理研究。E-mail: zoujingnan222@163.com。

通讯作者:张玉先(1968-),男,教授,博导,主要从事大豆逆境栽培生理和轮作体系研究。E-mail: zyx\_lxy@126.com。

胡国华(1951-),男,博士,研究员,主要从事大豆栽培生理和遗传育种研究。E-mail: hugh757@vip.163.com。

制并不足以完全清除过多产生的 ROS<sup>[3]</sup>。ROS 过度积累会使叶绿素降解,并降低光系统 II (PSII) 的光化学效率<sup>[4]</sup>。此外,过多的 ROS 可通过脂质过氧化损伤膜,破坏 DNA 链,并降低合成代谢酶的活性<sup>[5]</sup>。植物通过提高渗透调节物质如可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸的积累减少水分蒸发<sup>[6]</sup>,以保持细胞代谢趋于正常水平。

褪黑素 (Melatonin) N-乙酰-5-甲氧基色胺,是一种多效和高度保守的分子,广泛存在于动植物体内<sup>[7]</sup>,植株中褪黑素主要存在于细胞线粒体中<sup>[8]</sup>。众多研究表明,褪黑素在调节植物生长、发育和应对各种环境胁迫等方面起重要作用<sup>[9-11]</sup>。褪黑素能提高渗透胁迫下的光合速率,抑制叶绿素降解,提高抗氧化酶活性,并能提高干物质积累<sup>[12-14]</sup>。用 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  褪黑素对大豆种子进行预处理,会提高干旱胁迫条件下光合及糖代谢基因表达量,提高大豆植株株高并增加产量<sup>[15]</sup>。目前,关于褪黑素调控干旱胁迫下大豆幼苗生长的研究报道较少。本试验采用重量法模拟干旱,研究了叶面喷施褪黑素预处理对不同干旱胁迫时间及复水后大豆幼苗光合及生理生化调控效应,为在实际生产中利用褪黑素提高大豆幼苗抗旱能力、提高大豆产量提供理论依据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验于 2017 年 7 月在国家杂粮工程技术研究中心试验基地遮雨大棚进行。培养基质为黑炭土,有机质 27.52  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、全氮 1.92  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、碱解氮 141  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、速效磷 9.8  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、速效钾 96.75  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , pH 6.8,田间持水量 43.7%。

### 1.2 材料

供试大豆品种为抗线 9 号,由黑龙江省农业科学院大庆分院提供。

### 1.3 试验设计

于 2017 年 7 月 28 日用高 15 cm,盆底直径 10 cm 的圆柱形红棕色培养钵(桶底有 12 个直径为 0.3 cm 的圆形小眼,装土前垫上 10 cm  $\times$  10 cm 的纱网)装入 1 kg 土壤,用水浇透,于第 2 天每盆播 6 粒色泽均匀,大小一致的种子,种子提前用 5% 次氯酸钠进行消毒。然后覆盖 0.2 kg 土壤,生长至 V1 期(8 月 8 日)进行间苗,每盆保留均匀一致幼苗 3 株。

试验设置 4 个处理,分别是 V1 期停止供水的 3 个干旱处理:100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  褪黑素处理 + 干旱胁迫 (M100 + D),200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  褪黑素处理 + 干旱胁迫 (M200 + D),干旱胁迫处理 (D) 和正常供水处理 (CK),每个处理 36 盆。2 个喷施褪黑素处理连续 3 d 每晚喷施相应浓度的褪黑素于每个叶片正反面,达

到悬挂不滴落为标准,D 和 CK 叶面喷施等量清水,干旱处理保持 30% 的田间持水量。分别于干旱 7 d (8 月 15 日),14 d (8 月 22 日) 和 21 d 恢复供水 (8 月 29 日) 时进行取样,分别测定各处理的大豆幼苗生长、光合参数、叶绿素荧光参数、抗氧化酶活性以及叶片渗透调节物质和膜脂过氧化产物含量。

### 1.4 测量项目与方法

1.4.1 相对含水量 叶片相对含水量 (RWC) 采用烘干称重法测定。取主茎上倒 2 功能叶片,分成相同重量的两份,称鲜重 ( $F_w$ )。然后一份浸入去离子水中 12 h 后称它的饱和鲜重 ( $T_w$ );将等量的另一等份置放入烘箱中 80℃ 烘干至恒重后记为干重 ( $D_w$ )。按如下公式计算,叶片相对含水量 (%) =  $(F_w - D_w) / (T_w - D_w) \times 100$ 。

1.4.2 气体交换参数 于取样当天 11:00 选取完全生长的倒 2 叶片采用 (Li-6400; LiCor, Huntington Beach, CA, USA) 光合仪测定净光合速率 ( $P_n$ )、叶片气孔导度 ( $g_s$ )、蒸腾速率 ( $T_r$ )、胞间  $\text{CO}_2$  浓度 ( $C_i$ )。测定光强为 1 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $\text{CO}_2$  供应浓度为 400 ( $\text{CO}_2$ )  $\cdot\text{mol}^{-1}$ ,叶片温度 25℃,相对湿度约为 25%,每个处理测量 5 次重复。

1.4.3 叶绿素荧光分析 叶绿素荧光参数采用便携式叶绿素荧光仪 (FMS-2, Hansatech, England) 在设定光强下测定大豆叶片的测定植株顶部向下第 2 片完全展开功能叶片的叶绿素荧光参数。测定前将叶片暗适应 15 min,以弱检测光测定初始荧光 ( $F_o$ ),之后以饱和脉冲光测定最大荧光 ( $F_m$ )。当荧光从  $F_m$  回落至接近  $F_o$  时,以连续的作用光测定稳态荧光 ( $F_s$ )。之后叠加一个饱和脉冲光,测定光下最大荧光 ( $F_m'$ )。最后关闭作用光,并立即打开远红光,测定光下最小荧光 ( $F_o'$ )。可变荧光 ( $F_v$ ) 按  $F_m - F_o$  计算,PSII 的最大光化学效率按  $F_v/F_m$  计算,PSII 的量子产额 ( $\Phi_{psII}$ ) 按  $(F_m' - F_s)/F_m'$  计算,最大光能转化潜力 ( $F_v/F_o$ ) =  $(F_v/F_m)/(1 - F_v/F_m)$ ,每次处理包括 5 次重复。

1.4.4 抗氧化酶活性 取样当天取完成生长的倒 2 叶,放入液氮中 30 min,然后储存于 -80℃ 进行下列生理测定,超氧化物歧化酶 (SOD) 活性,过氧化物酶 (POD) 活性,过氧化氢酶 (CAT) 活性根据<sup>[16]</sup>测定,抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性根据<sup>[17]</sup>测定,每次处理包括 5 次重复。

1.4.5 渗透调节物质和膜脂过氧化水平 游离脯氨酸含量的测定采用酸性茚三酮比色法,可溶性蛋白采用考马斯亮蓝 G-250 比色法,可溶性糖含量采用蒽酮比色法,丙二醛采用硫代巴比妥酸法 (TBA) 测定<sup>[18]</sup>,用电导率仪 (DDS-307) 测量相对电导率<sup>[19]</sup>, $\text{H}_2\text{O}_2$  参照郭欣欣<sup>[20]</sup>方法测定。

1.4.6 叶面积和形态 叶面积测量采用 Yanyu-1241 叶面积仪测量完全生长的倒 2 叶,统计株高、根长和茎粗每个处理测量 20 个重复。

1.4.7 干物质积累量 干物质积累于第 7、14 和 21 天取样结束后将每株大豆组织干燥并烘干(80℃)至恒重,采用分析天平分别测量叶、根、茎、根瘤干物质积累,每次处理包括 20 次重复。

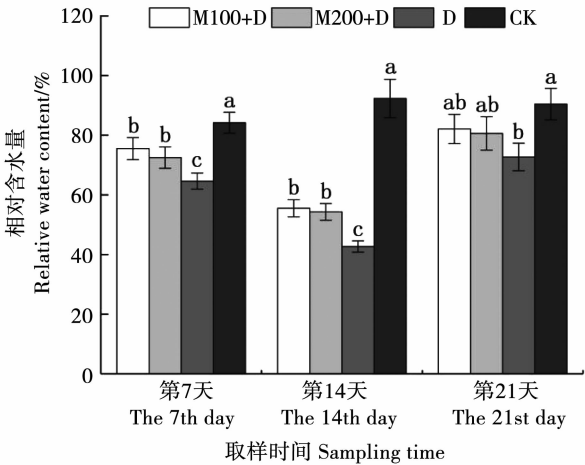
1.5 数据分析

试验数据以软件 SPSS 20.0 进行统计分析,用软件 Origin 2017 作图。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下褪黑素对大豆叶片相对含水量的影响

如图 1 所示,随着干旱胁迫时间延长,叶片相对含水量呈下降趋势,第 7 天干旱处理 D 的叶片含水量较 CK 下降 23.26%,第 14 天下降 53.50%。叶面喷施褪黑素能提高干旱胁迫条件下叶片相对含水量,第 7 天 M100 + D 和 M200 + D 较干旱胁迫分别提高 16.85% 和 12.21%,第 14 天分别提高了 29.97% 和 27.16%,100 μmol · L<sup>-1</sup> 褪黑素处理较 200 μmol · L<sup>-1</sup> 褪黑素处理叶片相对含水量更高,第 14 天比第 7 天较干旱胁迫相比效果更显著。在复水后,干旱胁迫和干旱胁迫加褪黑素处理均有所缓解,但褪黑素处理较干旱胁迫恢复更快。



不同小写字母表示同一时间不同处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

Different lowercase indicate significant differences between treatments at the same time ( $P < 0.05$ ). The same below.

图 1 干旱胁迫条件下褪黑素对大豆叶片相对含水量的影响

Fig. 1 Effects of melatonin on leaf relative water content of soybean under drought stress

2.2 干旱胁迫下褪黑素对大豆光合特性的影响

如图 2 所示,干旱胁迫 D 较 CK 显著降低了干旱至第 7 天和第 14 天净光合速率 ( $P_n$ )、蒸腾速率

( $Tr$ )、气孔导度 ( $G_s$ ),降低了干旱至第 7 天胞间  $CO_2$  浓度 ( $C_i$ ),提高了干旱至第 14 天  $C_i$ 。干旱胁迫条件下褪黑素处理较干旱胁迫能显著提高  $P_n$ 、 $Tr$ 、 $G_s$  和第 7 天  $C_i$ ,降低了第 14 天  $C_i$ ,其中第 7 天 M100 + D 和 M200 + D 处理较干旱胁迫  $P_n$  分别提高了 22.88% 和 54.57%,  $Tr$  提高了 37.01% 和 18.99%,  $G_s$  提高了 54.79% 和 123.21%,  $C_i$  提高了 7.40% 和 4.06%,第 14 天  $P_n$  分别提高了 39.72% 和 57.53%,  $Tr$  提高了 59.65% 和 45.17%,  $G_s$  提高了 66.03% 和 103.05%,  $C_i$  降低了 7.50% 和 4.98%。复水后  $P_n$  200 μmol · L<sup>-1</sup> 复水后褪黑素处理较干旱胁迫恢复的更快,提高了 86.79%, $Tr$  和  $G_s$  100 μmol · L<sup>-1</sup> 褪黑素恢复的更快,分别提高了 19.48% 和 64.62%。干旱胁迫中的  $C_i$  第 7 天降低,第 14 天升高,可能是因为第 7 天由于气孔限制因素  $P_n$  降低,第 14 天干旱胁迫加重,损伤了光合系统此时非气孔限制为主要限制因素,从而  $C_i$  升高。第 14 天褪黑素降低了干旱胁迫条件下  $C_i$ ,说明褪黑素可能对光合系统有保护作用。

2.3 干旱胁迫下褪黑素对大豆叶绿素荧光的影响

干旱胁迫较 CK 显著降低了光系统 II 反应中心光能转换效率 ( $F_v/F_m$ )、光系统 II 的潜在光化学效率 ( $F_v/F_o$ ),光系统 II 实际光化学效率 ( $\Phi PS II$ ) 和表观电子传递速率 ( $ETR$ ),干旱至第 7 和第 14 天较干旱胁迫  $F_v/F_m$  分别降低 28.62% 和 38.89%、 $F_v/F_o$  降低 26.14% 和 48.75%、 $\Phi PS II$  降低 22.45% 和 51.81%、 $ETR$  降低 18.53% 和 42.92%。干旱胁迫条件下褪黑素能提高叶绿素荧光参数,较干旱胁迫第 7 天 M + 100 和 M200 + D 较干旱胁迫  $F_v/F_m$  提高 27.04% 和 21.59%,  $F_v/F_o$  提高 14.45% 和 19.34%,  $\Phi PS II$  提高 15.40% 和 11.72%,  $ETR$  提高 15.26% 和 10.17%,第 14 天  $F_v/F_m$  提高 8.31% 和 15.20%,  $F_v/F_o$  提高 8.20% 和 6.07%,  $\Phi PS II$  提高 13.97% 和 8.24%,  $ETR$  提高 8.94% 和 4.47%, $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$ 、 $\Phi PS II$  和  $ETR$  复水后褪黑素恢复的更快且 100 μmol · L<sup>-1</sup> 处理效果更好。

2.4 干旱胁迫下褪黑素对大豆抗氧化酶的影响

如图 4 所示,干旱胁迫至第 7 天,干旱胁迫较 CK 显著提高 SOD、POD、CAT 和 APX 活性,分别提高 28.83%、16.19%、29.68% 和 23.76%,干旱胁迫至第 14 天干旱胁迫 SOD 和 POD 活性较 CK,分别提高 3.63% 和 2.09%,CAT 和 APX 活性降低,分别降低 7.91% 和 2.47%,干旱胁迫至第 14 天抗氧化酶活性较第 7 天显著降低,可能是干旱胁迫持续过长 ROS 过度积累对酶和蛋白的损伤导致。褪黑素处理能提高干旱胁迫下 SOD、POD、CAT 和 APX 酶活性,较干旱胁迫第 7 天 M100 + D 和 M200 + D 分别提高 41.73% 和 23.51%、14.92% 和 10.32%、

21.08% 和 15.96%、29.33% 和 21.33%,第 14 天分别提高 19.77% 和 15.18%、9.89% 和 6.07%、25.48% 和 17.96%、19.68% 和 11.74%。说明外源褪黑素能够提高干旱胁迫下大豆幼苗叶片抗氧化酶活性,从而提高植株体内清除活性氧的能力,缓解膜脂过氧化伤害,且 M100 + D 效果更好。复水

后,干旱胁迫与对照相比,均无显著差异,M100 + D 和 M200 + D 处理 SOD 活性显著高于干旱胁迫,POD、CAT 和 APX 酶活性较干旱胁迫无显著差异,说明复水后褪黑素处理能继续维持较高的活性氧清除效率。

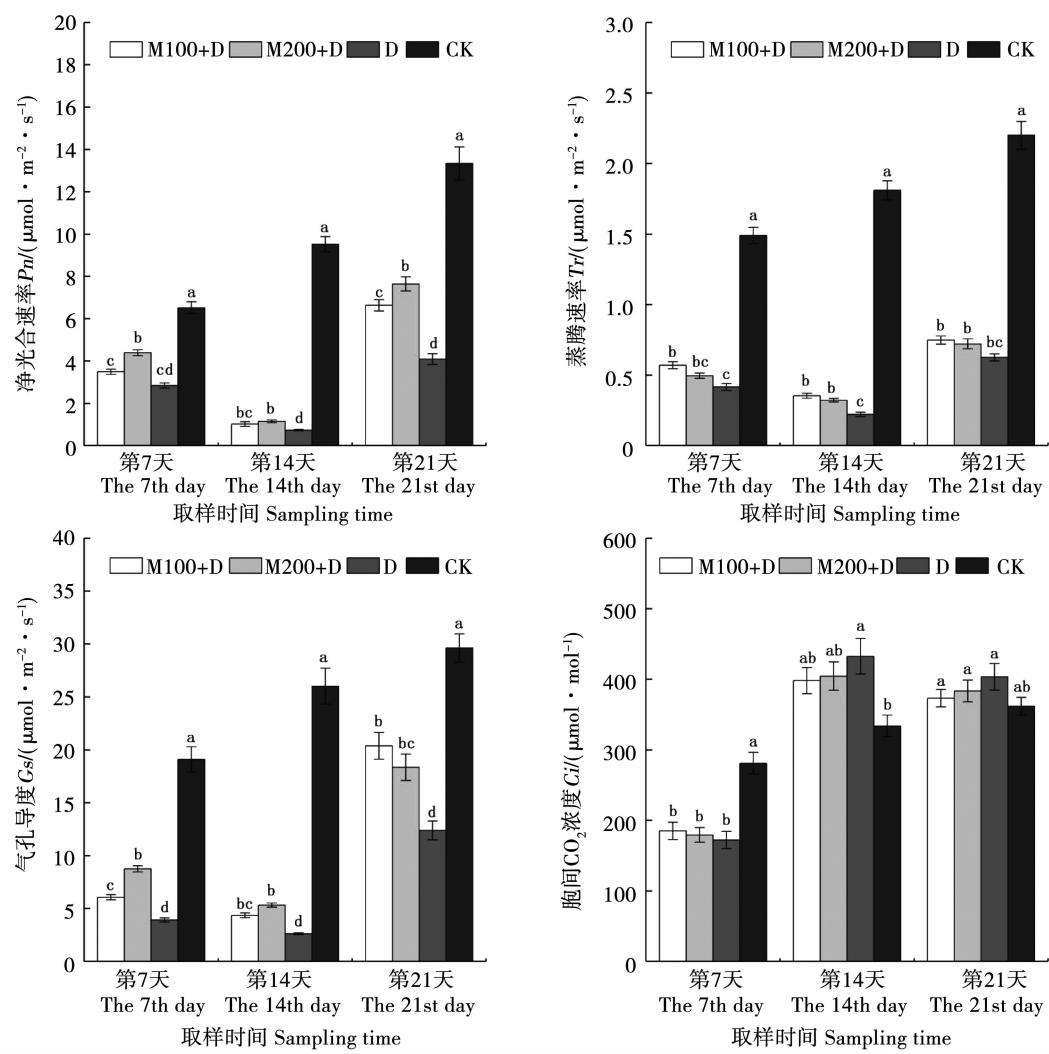
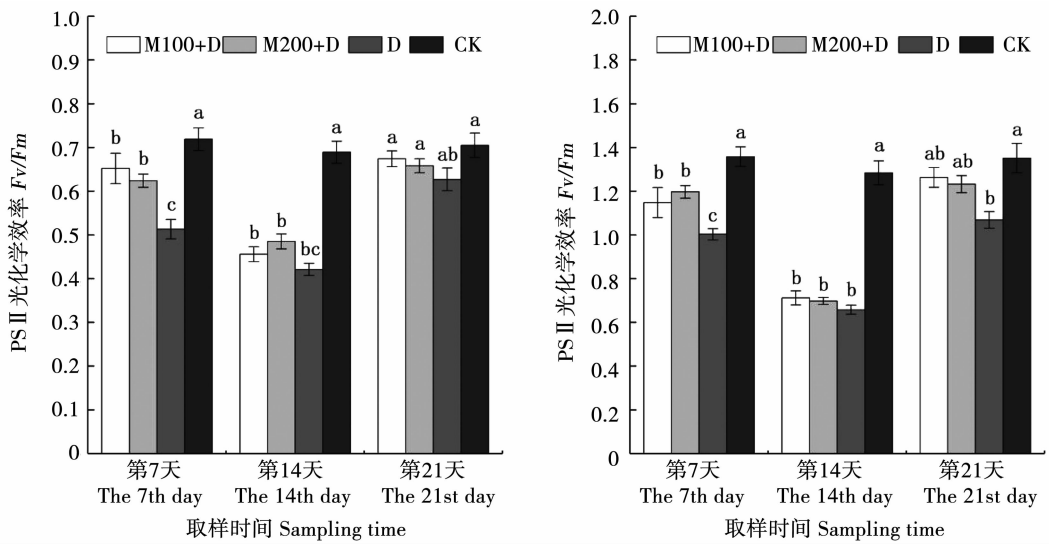


图 2 干旱胁迫条件下褪黑素对光合特性的影响

Fig. 2 Effects of melatonin on photosynthetic characteristics under drought stress



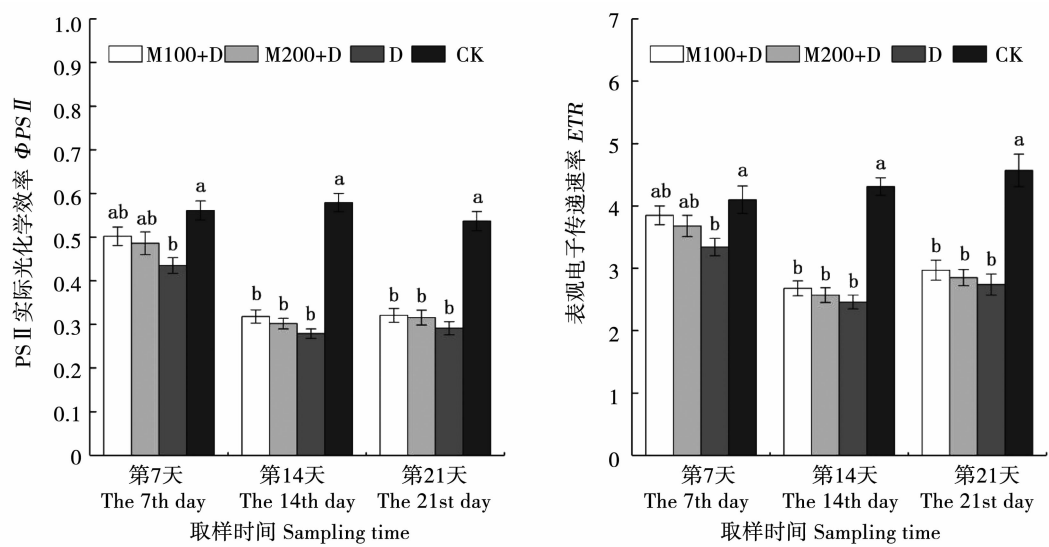


图3 干旱胁迫条件下褪黑素对叶绿素荧光参数的影响

Fig. 3 Effects of melatonin on chlorophyll fluorescence parameters under drought stress

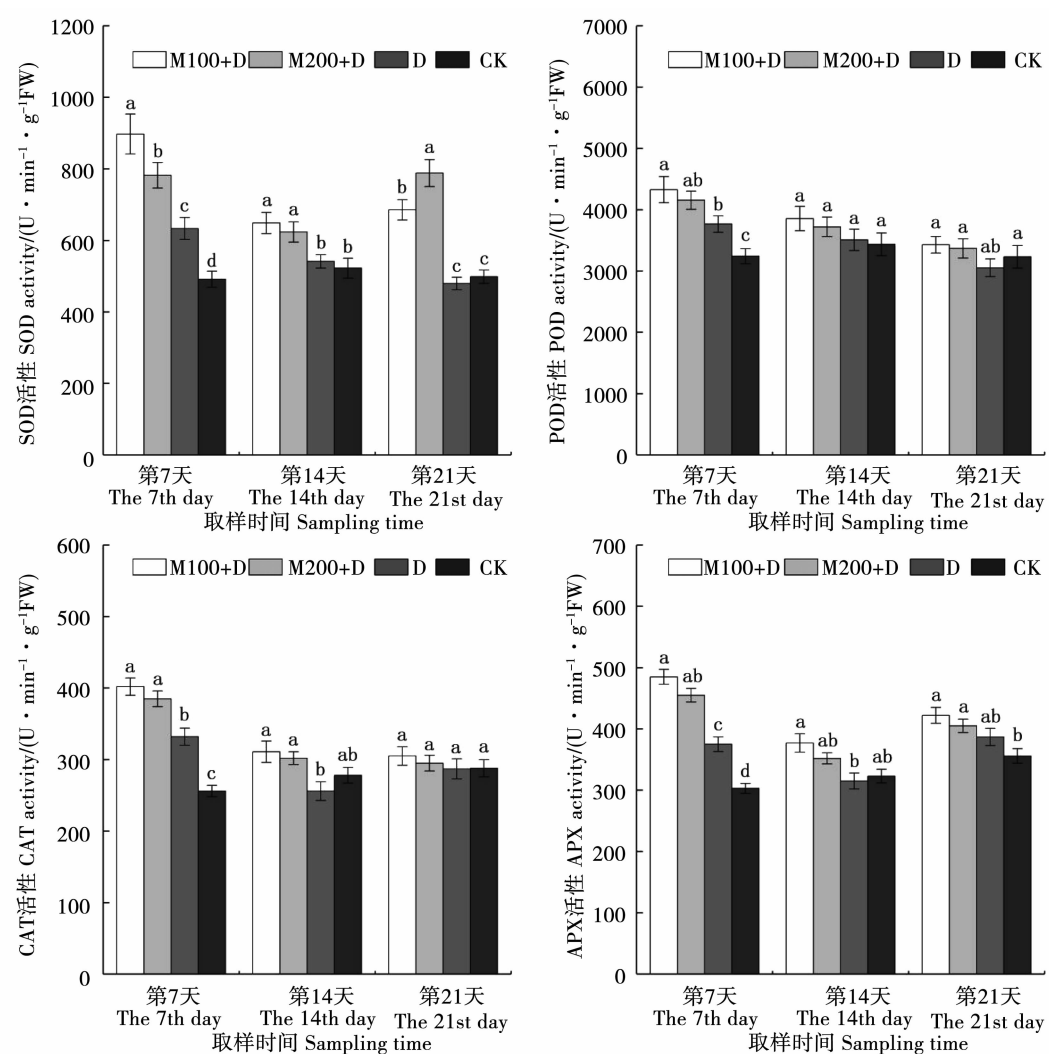


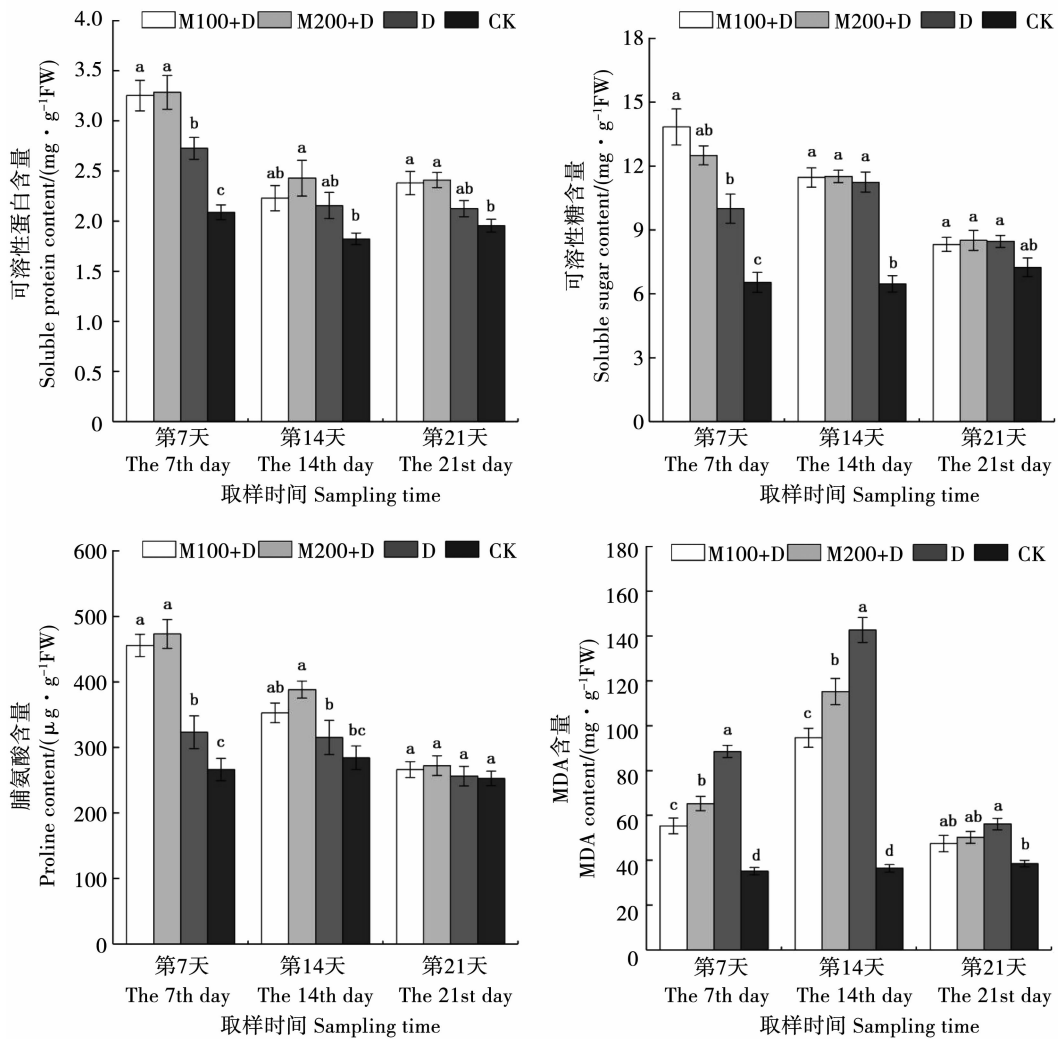
图4 干旱胁迫条件下褪黑素对抗氧化酶活性的影响

Fig. 4 Effect of melatonin on antioxidant enzyme activities under drought stress

2.5 干旱胁迫下褪黑素对大豆叶片渗透调节物质含量和膜脂过氧化的影响

如图 5 所示,干旱胁迫较 CK 提高了渗透调节物质可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸的含量,干旱至第 7 天分别较 CK 提高了 30.56%、52.8% 和 21.34%,干旱至第 14 天分别提高了 18.14%、73.61% 和 10.82%。第 14 天可溶性蛋白和脯氨酸升高比例低于第 7 天,可能是由于膜脂过氧化水平的提高,ROS 的过度积累损伤了蛋白的结果,而可溶性糖的比例仍继续上升可能与蛋白构成结构不同有关。干旱胁迫条件下喷施褪黑素较干旱胁迫均提高了可溶性蛋白,可溶性糖和脯氨酸的含量,第 7 天 M100 + D 和 M200 + D 分别提高 19.31% 和 20.48%、35.46% 和 24.97%、40.91% 和 46.42%,第 14 天分别提高 3.47% 和 12.88%、1.95% 和 2.40%、11.88% 和 23.17%,可以看出 M200 + D 褪黑素效果对渗透调节物质的积累更好,褪黑素有提高渗透调节物质含量,减少氧化损伤,减少水分流失的作用,复水后干旱胁迫处理因水分得到充分补给,叶片相对含水量增高,渗透调节物质含量下降,

褪黑素处理渗透调节物质含量仍高于干旱胁迫。干旱胁迫会提高膜脂过氧化产物 MDA 含量、 $H_2O_2$  含量和相对电导率,干旱胁迫至第 7 天较 CK 分别提高 151.70%、55.07% 和 80.57%,第 14 天分别提高 291.23%、184.00% 和 123.03%;干旱胁迫下褪黑素处理较干旱胁迫能显著降低 MDA 含量、 $H_2O_2$  含量和相对电导率,干旱至第 7 天 M100 + D 和 M200 + D 较干旱胁迫分别降低 37.47% 和 26.29%、27.10% 和 23.36%、28.04% 和 25.04%,第 14 天分别降低 33.68% 和 19.25%、38.02% 和 27.69%、27.45% 和 21.28%。说明褪黑素能降低 MDA 含量,降低膜脂过氧化损伤, $H_2O_2$  含量降低与褪黑素提高干旱胁迫下抗氧化酶活性有关。主要是 POD、CAT 和 APX 能分解  $H_2O_2$ ,相对电导率表示细胞电解渗透率,表示细胞膜完整程度,褪黑素处理降低了相对电导率。进一步说明褪黑素能保护干旱胁迫下细胞膜的完整程度,且 M100 + D 效果更好,复水后膜脂过氧化水平得到充分缓解,但仍高于对照,褪黑素处理仍能表现出低于干旱处理的膜脂过氧化水平。



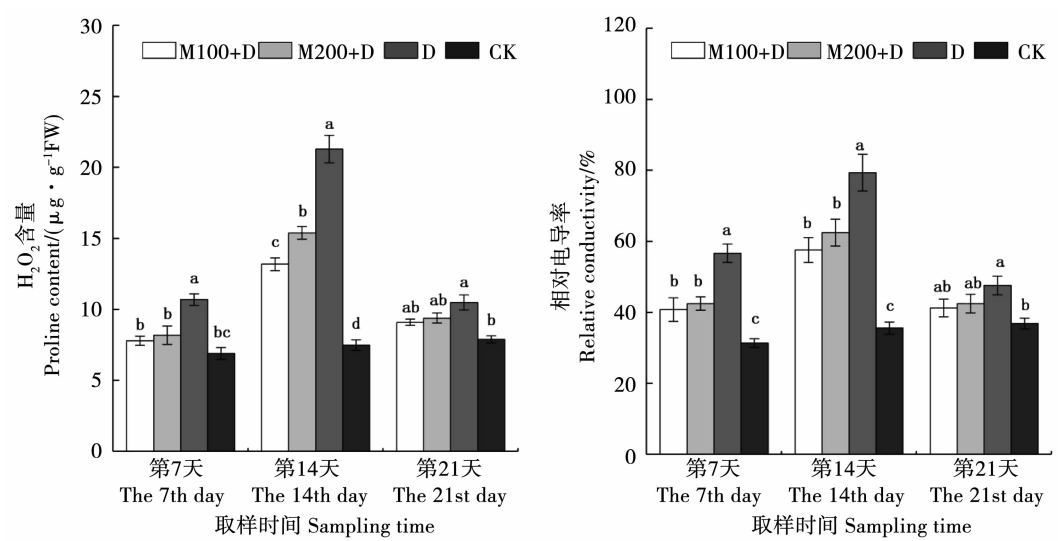


图5 干旱胁迫条件下褪黑素对大豆叶片渗透调节物质含量和膜脂过氧化影响

Fig. 5 Effect of melatonin on osmotic adjustment substance content and membrane lipid peroxidation in soybean leaves under drought stress

2.6 干旱胁迫下褪黑素对叶片叶面积和大豆生长的影响

如表1所示,干旱胁迫降低了叶面积值,干旱胁迫至第7天和第14天分别降低了12.45%和33.32%,第7天M100+D和M200+D处理较干旱胁迫分别提高了4.37%和6.65%,干旱胁迫至第14天分别提高了9.61%和11.99%。第7天株高,茎粗,根长分别降低了10.37%、3.32%、5.53%,第14天分别降低了22.07%、4.59%、5.27%。第7天M100+D和M200+D处理较干旱胁迫分别提高了3.5%和7.01%、1.37%和2.40%、1.57%和

2.00%,第14天分别提高了12.59%和11.09%、1.37%和1.71%、1.89%和0.65%。其中M100+D和M200+D处理较干旱胁迫株高和叶面积分别平均提高了8.04%和9.05%、6.76%和9.32%,说明褪黑素能缓解干旱胁迫下叶面积和株高的减少,更高的叶面积能吸收更多光能,而株高提高有利于生成更多的复叶,作物生长发育和提供更多物质和能力,但对茎粗和根长没有影响,复水后叶面积和株高各处理间均无显著差异,说明复水能直接缓解干旱胁迫对叶面积和株高的影响。

表1 干旱胁迫条件下褪黑素对叶面积和生长的影响

Table 1 Effects of melatonin on leaf area and growth of leaves under drought stress

	处理 Treatment	取样时间 Sampling time		
		第7天 The 7th day	第14天 The 14th day	第21天 The 21st day
倒2叶 Pour 2 leaves/mm <sup>2</sup>	M100 + D	872.85 ± 39.91 <sup>ab</sup>	682.21 ± 28.37 <sup>b</sup>	779.60 ± 18.93 <sup>a</sup>
	M200 + D	891.92 ± 34.58 <sup>ab</sup>	697.01 ± 18.58 <sup>b</sup>	783.21 ± 22.33 <sup>a</sup>
	D	836.29 ± 22.34 <sup>b</sup>	622.38 ± 22.27 <sup>bc</sup>	763.26 ± 17.02 <sup>a</sup>
	CK	955.29 ± 41.34 <sup>a</sup>	933.48 ± 46.49 <sup>a</sup>	793.36 ± 23.20 <sup>a</sup>
株高 Plant height/cm	M100	5.90 ± 0.15 <sup>ab</sup>	7.51 ± 1.17 <sup>b</sup>	10.69 ± 0.32 <sup>a</sup>
	M200	6.10 ± 0.31 <sup>ab</sup>	7.41 ± 1.62 <sup>b</sup>	11.21 ± 0.45 <sup>a</sup>
	D	5.70 ± 0.05 <sup>b</sup>	6.67 ± 0.81 <sup>c</sup>	9.46 ± 0.57 <sup>ab</sup>
	CK	6.36 ± 0.16 <sup>a</sup>	8.56 ± 1.04 <sup>a</sup>	11.76 ± 0.73 <sup>a</sup>
茎粗 Stem diameter/mm	M100	2.95 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.94 ± 0.36 <sup>a</sup>	2.87 ± 0.26 <sup>a</sup>
	M200	2.98 ± 0.14 <sup>a</sup>	2.96 ± 0.41 <sup>a</sup>	3.04 ± 0.42 <sup>a</sup>
	D	2.91 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.91 ± 0.16 <sup>b</sup>	2.97 ± 0.14 <sup>a</sup>
	CK	3.01 ± 0.31 <sup>a</sup>	3.05 ± 0.29 <sup>a</sup>	3.16 ± 0.37 <sup>a</sup>
根长 Root length/cm	M100	25.87 ± 1.32 <sup>a</sup>	26.35 ± 2.15 <sup>a</sup>	27.85 ± 3.44 <sup>a</sup>
	M200	25.93 ± 1.74 <sup>a</sup>	26.03 ± 3.24 <sup>a</sup>	27.48 ± 2.73 <sup>a</sup>
	D	25.47 ± 1.52 <sup>a</sup>	25.86 ± 1.84 <sup>a</sup>	26.42 ± 2.65 <sup>a</sup>
	CK	26.93 ± 1.76 <sup>a</sup>	27.30 ± 1.23 <sup>a</sup>	27.98 ± 3.83 <sup>a</sup>

同一时间中同一部位不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

Different lowercase in the same part at the same time indicate significant differences (P<0.05). The same below.

2.7 干旱胁迫下褪黑素对干物质积累的影响

如表 2 所示,第 7 天干旱胁迫下叶、茎、根和根瘤的干物质积累量分别降低了 13.17%、3.26%、13.11% 和 28.57%,第 14 天分别降低 34.72%、16.79%、33.08% 和 84.21%。对比第 14 天和第 7 天干旱胁迫处理干物质积累量显示根、茎、叶和根瘤干物质积累增加幅度不大,说明在维持干旱胁迫持续时间植株几乎停止了生育进程,第 7 天 M100 + D 和 M200 + D 处理较干旱胁迫叶、茎、根和根瘤干物质积累分别提高 9.52% 和 11.01%、0.00% 和 1.08%、2.64% 和 0.75%、0.40% 和 0.40%,第 14 天分别提高 29.36% 和 18.02%、1.83% 和 6.42%、

11.80% 和 9.96%、366% 和 400%。其中 M100 + D 和 M200 + D 处理较干旱胁迫干物质积累总量在第 7 和第 14 天分别平均提高 13.89% 和 11.20%。褪黑素处理能缓解干旱胁迫下干物质积累的减少,第 14 天缓解程度就高于第 7 天,说明褪黑素对生长发育的影响是一个缓慢的过程,复水后干旱胁迫处理除了根瘤和茎与对照相对均无显著差异。进一步说明干旱胁迫下复水能很好的缓解干旱胁迫降低的干物质积累量,干旱胁迫下褪黑素处理增加了干物质积累,较干旱胁迫恢复的更快,说明复水后褪黑素有效提高干旱胁迫下干物质恢复程度。

表 2 干旱胁迫条件下褪黑素对干物质积累的影响  
Table 2 Effect of melatonin on dry matter accumulation under drought stress

	处理 Treatment	取样时间 Sampling time		
		第 7 天 The 7th day	第 14 天 The 14th day	第 21 天 The 21st day
叶重 Leaf weight/g	M100 + D	0.368 ± 0.048 a	0.445 ± 0.048 b	0.592 ± 0.091 a
	M200 + D	0.373 ± 0.075 a	0.406 ± 0.036 bc	0.609 ± 0.083 a
	D	0.336 ± 0.068 b	0.344 ± 0.083 c	0.548 ± 0.066 ab
	CK	0.387 ± 0.043 a	0.527 ± 0.045 a	0.642 ± 0.069 a
茎重 Stem weight/g	M100 + D	0.092 ± 0.0077 a	0.121 ± 0.0039 ab	0.125 ± 0.0096 a
	M200 + D	0.091 ± 0.0075 a	0.126 ± 0.0052 a	0.121 ± 0.0075 a
	D	0.089 ± 0.0034 a	0.109 ± 0.0016 b	0.111 ± 0.0091 b
	CK	0.092 ± 0.0091 a	0.131 ± 0.0073 a	0.135 ± 0.0053 a
根重 Root weight/g	M100 + D	0.272 ± 0.051 b	0.303 ± 0.050 b	0.443 ± 0.071 a
	M200 + D	0.267 ± 0.089 b	0.298 ± 0.072 b	0.432 ± 0.061 a
	D	0.265 ± 0.073 b	0.271 ± 0.047 b	0.424 ± 0.057 ab
	CK	0.305 ± 0.044 a	0.405 ± 0.032 a	0.462 ± 0.066 a
根瘤重 Root tumor weight/g	M100 + D	0.007 ± 0.0002 a	0.014 ± 0.0003 b	0.025 ± 0.0047 b
	M200 + D	0.007 ± 0.0005 a	0.015 ± 0.0006 b	0.028 ± 0.0026 b
	D	0.005 ± 0.0004 b	0.003 ± 0.0002 c	0.007 ± 0.0005 c
	CK	0.007 ± 0.0004 a	0.019 ± 0.0009 a	0.044 ± 0.0073 a
干物质积累总量 Total dry matter accumulation/g	M100 + D	0.739 ± 0.144 a	0.883 ± 0.102 b	1.185 ± 0.166 ab
	M200 + D	0.738 ± 0.172 a	0.845 ± 0.114 b	1.190 ± 0.154 ab
	D	0.695 ± 0.145 a	0.727 ± 0.132 c	1.090 ± 0.132 b
	CK	0.791 ± 0.096 a	1.082 ± 0.085 a	1.283 ± 0.147 a

3 讨 论

干旱胁迫严重抑制植物生长,且干旱胁迫持续时间越长抑制作用越明显。本研究中,干旱胁迫降低了干物质积累量和倒 2 叶叶面积,且随着干旱胁迫时间延长抑制效果更加明显。干旱胁迫表现出对叶、根和根瘤干物质积累的影响较大,而对茎影响较小。通过叶面喷施褪黑素处理显著改善了干旱胁迫下大豆幼苗干物质积累和叶面积,并且复水 7 d 后退黑素处理干物质显著高于干旱胁迫处理(表 2),说明褪黑素有缓解干旱胁迫对大豆幼苗干

物质积累和叶面积的抑制作用。通过叶面喷施褪黑素能够显著提高叶、根、根瘤干物质积累和叶面积,不仅有助于提升叶面光合能力和根系吸水能力,还能促进根瘤的增加、提高大豆根瘤的固氮能力。前人研究中证实,褪黑素可以增强干旱胁迫下番茄和玉米幼苗的植株生物量和叶面积<sup>[21-22]</sup>。本研究发现,M + 200 处理仅在提高大豆叶面积方面较 M + 100 处理显著,而在改善其它形态指标和干物质积累等方面的效果均较 M + 100 弱。光合作用是植物利用光能驱动有机化合物合成的物理化学过程,是植物生产的基础<sup>[23]</sup>。光合作



用与作物生长产量相互关联<sup>[24]</sup>,非生物胁迫通常会抑制光合作用并造成减产<sup>[25]</sup>。前人研究表明,褪黑素处理可促进干旱胁迫下苹果幼苗保持更高的光合速率和气孔导度<sup>[26]</sup>。本研究中,与干旱胁迫相比,干旱胁迫下褪黑素处理表现出较高的光合速率,且气孔导度有所提高,有助于增加蒸腾速率,进而有助于降低叶面温度,防止高温对叶片组织的伤害。同时能够提高渗透调节物质含量,增强保水能力,从而提高叶片的相对含水量,褪黑素对相对含水量的缓解作用也在小麦中被发现<sup>[28]</sup>。一般渗透调节物质含量增加会降低蒸腾速率<sup>[27]</sup>,但本试验研究表明干旱胁迫下外源褪黑素会增加渗透调节物质含量,并能提高蒸腾速率,这或许与提高气孔导度增加的蒸腾量多于渗透调节物质的保水量有关。试验中干旱胁迫第7天降低了  $C_i$ ,但干旱第14天  $C_i$  会升高,这与非气孔限制因素有关。由于气孔限制因素降低了  $P_n$ ,一般情况下  $P_n$  和  $C_i$  会同时下降,而试验中  $P_n$  下降的同时  $C_i$  却升高,可能是由于光系统受损,光合酶活性和电子传递效率的非气孔限制降低了  $P_n$ 。复水后,褪黑素处理提高了光合参数的恢复速率,说明褪黑素能够加快缓解干旱对光合系统的损伤(图2)。干旱胁迫通常会引起叶片中PSII的损伤<sup>[29]</sup>,本研究中干旱胁迫降低了  $F_v/F_o$ 、 $\Phi PSII$  和  $F_v/F_m$ ,褪黑素处理提高了  $\Phi PSII$ 、 $F_v/F_m$  和  $ETR$ ,说明光系统II受到损伤,电子传递速率受到抑制,褪黑素可以保护光合系统,提高电子传递速率和光能转换效率(图3)。逆境条件下黄瓜和苹果中褪黑素对叶绿素荧光参数也有类似的作用<sup>[12,30]</sup>。本研究中与干旱胁迫处理相比,M+200处理在  $P_n$ 、 $G_s$ 、脯氨酸和可溶性蛋白含量上升幅度高于M+100处理,而  $T_r$ 、 $C_i$ 、可溶性糖和叶绿素荧光参数M+100处理效果更好。

干旱胁迫会打破PSII电子传递平衡,为了消散过多的光能,过量的电子被传递到分子氧,从而在相应的反应偶合体下产生ROS,ROS的积累会导致膜脂过氧化、叶绿素降解、破坏细胞膜完整性和降低光合作用,植物在逆境条件下会提高抗氧化酶活性,以防止ROS损伤,但严重干旱胁迫抗氧化酶活性会降低。本研究表明,干旱胁迫下相对电导率、MDA和 $H_2O_2$ 含量显著提高,说明大豆叶片内ROS大量增加,细胞膜完整性受到损伤。同时,抗氧化酶(SOD,CAT,APX和POD)活性提高,其中SOD会将 $O_2\cdot^-$ 分解为 $H_2O_2$ ,CAT,APX和POD将 $H_2O_2$ 分解为 $H_2O$ 和 $O_2$ ,以清除ROS和 $H_2O_2$ 。第14天抗氧化酶活性比第7天低,说明MDA和 $H_2O_2$ 的过度积累对抗氧化系统造成损伤。干旱胁迫下褪黑素

处理增强了大豆叶片抗氧化酶活性并降低MDA、 $H_2O_2$ 和相对电导率,表明褪黑素可通过提高抗氧化酶活性来改善细胞氧化还原平衡,从而保护细胞免受干旱胁迫下的氧化损伤。渗透调节物质如可溶性蛋白、可溶性糖与脯氨酸等的积累能有效减轻逆境对植物造成的伤害<sup>[31]</sup>。本研究第7天干旱胁迫叶片可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸提高,说明干旱胁迫条件下通过增加渗透调节物质含量来维持细胞渗透势平衡,保护细胞膜的完整性,但随干旱胁迫时间延长,叶片中可溶性蛋白和脯氨酸含量降低,这可能与ROS过度积累加快蛋白水解有关。干旱胁迫下褪黑素处理可以提高渗透调节物质含量,说明褪黑素能降低植物组织的伤害,这与前人研究一致<sup>[32]</sup>,并且干旱胁迫下M+100处理在提高抗氧化酶活性、降低相对电导率、 $H_2O_2$ 和MDA含量方面较M+200效果更好。

4 结 论

褪黑素能够增强干旱胁迫条件下大豆幼苗抗氧化酶活性,减少ROS的过度积累,提高渗透调节物质含量,进而降低膜脂过氧化程度,减轻干旱胁迫对光合系统的损伤,提高光合特性和叶绿素荧光参数、最终促进大豆幼苗的生长和干物质积累,且综合来说100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 效果更好。

参考文献

[1] 高鑫宇,刘丽君,刘博,等. PEG模拟干旱对大豆抗氧化酶活性及抗氧化能力的影响[J]. 大豆科学,2016,35(4):616-619,636. (Gao X Y, Liu L J, Liu B, et al. Effect of drought stress simulated by PEG on antioxidant enzyme activities and antioxidant capacity in soybean[J]. Soybean Science, 2016, 35(4):616-619,636.)

[2] 郭数进,杨凯敏,霍瑾,等. 干旱胁迫对大豆鼓粒期叶片光合能力和根系生长的影响[J]. 应用生态学报,2015,26(5):1419-1425. (Guo S J, Yang K M, Huo J, et al. Influence of drought on leaf photosynthetic capacity and root growth of soybeans at grain filling stage[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(5):1419-1425.)

[3] 李建英,周长军,杨柳,等. 水分胁迫对大豆苗期叶片内源激素含量与保护酶活性的影响[J]. 大豆科学,2010,29(6):959-963. (Li J Y, Zhou C J, Yang L, et al. Effects of water stress on endogenous hormone contents and protective enzyme activities in leaves of soybean seedlings[J]. Soybean Science, 2010, 29(6):959-963.)

[4] Woo H R, Kim J H, Nam H G, et al. The delayed leaf senescence mutants of *Arabidopsis*, ore1, ore3, and ore9 are tolerant to oxidative stress[J]. Plant Cell Physiology, 2004, 45(7):923-932.

[5] Cheng H Y, Song S Q. Species and organ diversity in the effect of hydrogen peroxide on superoxide dismutase activity *in vitro*[J].

- Journal of Integrative Plant Biology, 2006, 48 (8): 672-678.
- [6] 张亚冰, 刘崇怀, 潘兴, 等. 盐胁迫下不同耐盐性葡萄砧木丙二醛和脯氨酸含量的变化[J]. 河南农业科学, 2006, 35 (4): 84-86. (Zhang Y B, Liu C H, Pan X, et al. Changes of MDA and proline contents in grape rootstocks under NaCl stress[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2006, 35 (4): 84-86. )
- [7] Hardeland R, Cardinali D P, Srinivasan V, et al. Melatonin-A pleiotropic orchestrating regulator molecule[J]. Progress in Neurobiology, 2011, 93 (3): 350-384.
- [8] Lin W, Chao F, Xiao D Z, et al. Plant mitochondria synthesize melatonin and enhance the tolerance of plants to drought stress[J]. Journal of Pineal Research, 2017, 63(3): e12429.
- [9] Zhang N, Sun Q, Zhang H, et al. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66 (3): 647-656.
- [10] Nawaz M A, Huang Y, Bie Z, et al. Melatonin: Current status and future perspectives in plant science[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 11 (6): 1230.
- [11] Tan D X, Tan R, Hardeland L C, et al. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(2): 577-597.
- [12] Zhang N, Zhao B, Zhang H J, et al. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Journal of Pineal Research, 2013, 54 (1): 15-23.
- [13] Meng J F, Xu T F, Wang Z Z, et al. The ameliorative effects of exogenous melatonin on grape cuttings under water-deficient stress: Antioxidant metabolites, leaf anatomy, and chloroplast morphology [J]. Journal of Pineal Research, 2014, 57 (2): 200-212.
- [14] Li H, Chang J, Chen H, et al. Exogenous melatonin confers salt stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8(3): 295.
- [15] Wei W, Li Q T, Chu Y N, et al. The ameliorative effects of exogenous melatonin on grape cuttings under water-deficient stress: Antioxidant metabolites, leaf anatomy, and chloroplast morphology [J]. Journal of Pineal Research, 2014, 57 (2): 200-212.
- [16] Tan W, Liu J, Dai T, et al. Alterations in photosynthesis and antioxidant enzyme activity in winter wheat subjected to post-anthesis water-logging[J]. Photosynthetica, 2008, 46(1): 21-27.
- [17] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880.
- [18] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000, 167-169. (Li H S. Principle and technology of plant physiological and biochemical experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000, 167-169. )
- [19] 苍晶, 赵会杰. 植物生理学试验教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2013, 140-163. (Cang J, Zhao H J. Experimental course of plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2013, 140-163. )
- [20] 郭欣欣, 李晓峰, 朱红芳, 等. 淹水胁迫对不结球白菜抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响[J]. 植物生理学报, 2015, 51 (12): 2181-2187. (Guo X X, Li X F, Zhu H F, et al. Effects of water-logging stress on ascorbate-glutathione cycle in *Brassica campestris* SSP. *Chinensis* [J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51 (12): 2181-2187. )
- [21] Liu J, Wang W, Wang L, et al. Exogenous melatonin improves seedling health index and drought tolerance in tomato [J]. Plant Growth Regulation, 2015, 77 (3): 317-326.
- [22] Ye J, Wang S W, Deng X P, et al. Melatonin increase dmaize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38 (2): 38-48.
- [23] Xu W Z, Deng X P, Xu B C, et al. Photosynthetic activity and efficiency of *Bothriochloa ischaemum* and *Lespedeza davurica* in mixtures across growth periods under water stress [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36 (4): 1033-1044.
- [24] Rivero R M, Mestre T C, Mittler R, et al. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants [J]. Plant Cell and Environment, 2014, 37 (5): 1059-1073.
- [25] Kocal N, Sonnewald U, Sonnewald S, et al. Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris* pv *Vesicatoria* [J]. Plant Physiology, 2008, 148 (3): 1523-1536.
- [26] Li C, Tan D X, Liang D, et al. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66 (3): 669-680.
- [27] 孙哲, 范维娟, 刘桂玲, 等. 干旱胁迫下外源 ABA 对甘薯苗期叶片光合特性及相关生理指标的影响 [J]. 植物生理学报, 2017, 53 (5): 873-880. (Sun Z, Fan W J, Liu G L, et al. Effects of exogenous ABA on leaf photosynthetic characteristics and associated physiological indexes of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) seedlings under drought stress [J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53 (5): 873-880. )
- [28] Turk H, Erdal S, Genisel M, et al. The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings [J]. Plant Growth Regulation, 2014, 74 (2): 139-152.
- [29] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide [J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51 (345): 659-668.
- [30] Wang P, Sun X, Li C, et al. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple [J]. Journal of Pineal Research, 2013, 54 (3): 292-302.
- [31] Rahdari P, Tavakoli S, Hosseini S M. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves [J]. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 2012, 8 (1): 182-193.
- [32] 刘月, 寇从贤, 付桂萍, 等. 褪黑素对大豆幼苗盐害的缓解效应及机理研究 [J]. 中国油料作物学报, 2017, 39 (6): 813-819. (Liu Y, Kou C X, Fu G P, et al. Effect of exogenous melatonin on soybean seedlings under salt stress [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2017, 39 (6): 813-819. )