



外源褪黑素对干旱胁迫下鼓粒期大豆籽粒发育的影响

贝世俊¹, 褚霈宇¹, 梁昌志¹, 吴天一¹, 贾景瑞¹, 裴福月¹, 张玉先^{1,2}, 曹亮^{1,2}

(1. 黑龙江八一农垦大学 农业农村部大豆机械化生产重点实验室, 黑龙江 大庆 163319; 2. 国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319)

摘要:为探究外源褪黑素对干旱胁迫下鼓粒期大豆籽粒发育的影响,本试验以干旱敏感型大豆品种绥农 26 和耐旱品种抗线 9 号为试验材料,采用盆栽土壤称重控水法设置干旱胁迫,于 R5 期进行褪黑素叶面喷施处理,褪黑素浓度为 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,处理后 5,10,15 d 进行取样,针对外源褪黑素对干旱胁迫下大豆籽粒发育的影响进行研究。结果表明:在干旱胁迫下喷施外源褪黑素处理可以显著提高干旱胁迫下大豆糖类物质含量,碳代谢关键酶活性,有利于碳代谢水平的提高;同时,外源褪黑素处理显著增加了干旱胁迫下大豆的氮代谢关键酶(NR、GS、GOGAT 和 GDH)的活性,促进植株氮素积累量提高,有利于氮素同化和转运。综上所述,外源褪黑素处理通过调节干旱胁迫下大豆碳氮代谢关键酶活性、糖类物质含量、氮素积累量促进鼓粒期大豆籽粒发育,最终提升干旱胁迫下大豆的产量。

关键词:大豆;干旱;褪黑素;籽粒;碳氮代谢;产量

Effects of Melatonin on Soybean Seeds Development at Seed Filling Stage Under Drought Stress

BEI Shijun¹, CHU Peiyu¹, LIANG Changzhi¹, WU Tianyi¹, JIA Jingrui¹, PEI Fuyue¹, ZHANG Yuxian^{1,2}, CAO Liang^{1,2}

(1. Key Laboratory of Soybean Mechanized Production, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. National Engineering Technology Research Center of Coarse Grains, Daqing 163319, China)

Abstract: In order to explore the effect of exogenous melatonin on soybean seeds development under drought stress, the drought-sensitive soybean variety Suinong 26 and the drought-tolerant variety Kangxian 9 were used as test materials, by potting method, under drought stress, melatonin foliar spraying was carried out at R5 stage, and the melatonin concentration was $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, samples were taken after 5, 10 and 15 days of treatment to study the effect of exogenous melatonin on soybean grain development under drought stress was studied. The results showed that exogenous melatonin treatment could improve the activities of soybean sugars, starches, and key enzymes for carbon metabolism under drought stress, and was beneficial to improve the level of carbon metabolism. At the same time, exogenous melatonin treatment significantly increased the activities of key enzymes (NR, GS, GOGAT and GDH) of soybean under drought stress, promoted the accumulation of nitrogen in plants, and was conducive to nitrogen assimilation and transportation. In conclusion, exogenous melatonin treatment improved soybean drought tolerance by regulating the activities of key enzymes in soybean carbon and nitrogen metabolism under drought stress, and ultimately increased soybean yield under drought stress.

Keywords: soybean; drought; melatonin; seed; carbon and nitrogen metabolism; yield

大豆是我国重要的经济和粮油作物,其籽粒中含有大量的蛋白质和油脂,并被人们广泛应用于食品、动物饲料、生物燃料和许多其他产品的生产,是我国食用油脂和植物蛋白的重要来源。随着居民消费水平的提升,以及对大豆需求的不断增加,对大豆品质要求不断提高,国内产需缺口不断扩大,中央一号文件重点提出“大力实施大豆和油料产能提升工程”^[1]。干旱是影响黑龙江大豆生产最主要的环境胁迫,在全球气候变化的大环境背景下,降雨时空的不均衡对黑龙江大豆高产和稳产的不利

影响可能会进一步加剧。

鼓粒期是大豆的水分临界期,同样也是大豆籽粒发育和产量形成的关键时期^[2],此时东北大豆主产区阶段性干旱时常发生,干旱胁迫在一定程度上限制了鼓粒期大豆籽粒碳氮同化、分配和转移,从而导致碳氮代谢失衡,最终影响产量的形成。相较于其它时期遭受干旱胁迫,鼓粒期遭受干旱胁迫对大豆的产量影响最大^[3]。江英泽等^[4]研究认为鼓粒期因遭受干旱胁迫从而降低了大豆的蛋白质含量和百粒重是导致大豆减产的主要原因。Carrera

收稿日期:2023-08-15

基金项目:黑龙江省自然科学基金(LH2022C063);中国博士后科学基金(2022M720695);财政部和农业农村部;国家现代农业产业技术体系资助(CARS-04-PS18)。

第一作者:贝世俊(1999—),男,硕士研究生,主要从事作物逆境生理生态研究。E-mail:362564263@qq.com。

通讯作者:张玉先(1968—),男,博士,教授,主要从事大豆高产栽培技术研究。E-mail:zyx-lxy@126.com;

曹亮(1990—),男,博士,讲师,主要从事大豆高产栽培与激素调控研究。E-mail:caoliang66@163.com。

等^[5]研究表明,大豆在鼓粒期遭受干旱胁迫会导致异黄酮积累减少,影响品质。Du等^[6]认为鼓粒期大豆遭受干旱胁迫导致产量降低的原因,一方面干旱胁迫期间大豆氮代谢相关酶活性降低导致其氮素转运能力降低,另一方面干旱胁迫虽然增加了大豆籽粒对蔗糖的卸载能力,但叶片的蔗糖供给能力降低,从而降低了叶片向生殖器官同化物分配的生物量,导致大豆籽粒发育受阻。因此,通过合理的栽培措施,提高大豆同化物运输效率是确保大豆鼓粒期籽粒正常发育及大豆在干旱胁迫下能够保产稳产并提升品质的重要途径。

褪黑素(melatonin)又名N-乙酰基-5-甲氧基色胺(N-acetyl-5-methoxytryptamine),属吲哚类激素,是必需氨基酸-色氨酸的衍生物,广泛地存在于植物体中^[7]。褪黑素作为植物激素和生长刺激物质不仅可以直接或间接清除植物体内的活性氧,还可以调控其它激素水平,进而参与大豆遭受逆境胁迫的一系列代谢过程,具有提升逆境胁迫下大豆产量和品质的潜力。

课题组前期研究已经明确了褪黑素可显著提高大豆叶片抗旱能力,但褪黑素调控干旱胁迫下大豆籽粒发育碳氮代谢的生理调控机制尚不明确,因此本试验采用干旱敏感型大豆品种绥农26与抗旱型大豆品种抗线9号,于R5期进行干旱胁迫,同时结合褪黑素喷施处理,研究褪黑素对干旱胁迫下大豆籽粒形态和碳氮代谢的生理调控效应,旨在研究褪黑素如何缓解鼓粒期干旱胁迫对籽粒发育造成的不良影响,并为进一步挖掘重要相关代谢物质和利用基因工程进行遗传改良奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验以干旱敏感型大豆品种绥农26和耐旱型大豆品种抗线9号为供试材料。褪黑素购自Sigma试剂公司。褪黑素浓度为前期浓度筛选试验确定的最佳施用浓度($100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

1.2 试验设计

试验于2022年5月在国家杂粮工程技术研究中心(大庆)盆栽场进行,采用盆栽称重法进行控水。盆栽用桶直径30.0 cm,高33.0 cm,为避免雨水淋浇,所有盆栽均放置于遮雨棚中。大豆种子播种前采用75%的酒精处理2 min,再用5%的次氯酸钠消毒5 min,再用无菌水洗净后进行播种。每盆均匀播种8粒种子,于大豆子叶期(VC期)保留长势

一致的幼苗并定苗3株。在播种前准备土壤过程中,称取每盆土壤的质量和含水量,同时计算出土壤干重。并通过环刀法测量田间持水量,从而为后期控水过程中准确掌握土壤含水量提供依据。盆栽分为2个品种,共计8个处理,每个处理36盆,每个处理留12盆测产,总计288盆。于大豆鼓粒初期(R5期)选取长势均匀一致的大豆植株平均分成4组,其中一组为保持土壤含水量为田间持水量80%的同时叶面喷施褪黑素,即为正常供水喷施褪黑素处理(CK+M);另一组仍保持土壤含水量为田间持水量的80%同时喷施等量的清水,即为正常供水对照处理(CK);另外两组开始控水至土壤含水量为田间持水量的50%,而后其中一组叶面喷施褪黑素,即为干旱胁迫条件下喷施褪黑素处理(D+M);另一组喷施等量蒸馏水,即为干旱处理(D)。褪黑素浓度均为 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

用于碳氮代谢关键生理指标测定的样品于褪黑素处理5、10和15 d后取样,每次选取长势一致的5株植株带回实验室内,测量籽粒和荚皮形态,取大豆倒四节位大豆荚皮和籽粒迅速冻于液氮中,再于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中贮藏,待样品全部取样完成后,进行指标测定;用于测定硝酸还原酶活性的样品在取样后现场进行测定。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 碳代谢关键生理指标 可溶性糖、果糖、蔗糖和淀粉含量参照杜艳丽^[8]的方法测定;酸性转化酶和中性转化酶活性参照Tsai等^[9]的方法测定;蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶活性参照Chopra等^[10]的方法测定;可溶性蛋白质含量参照Bradford等^[11]的方法测定。

1.3.2 氮代谢关键生理指标 硝酸还原酶(NR)测定参照徐龙光^[12]的方法测定;谷氨酰胺合成酶(Gs)参照王小纯等^[13]的方法测定。谷氨酸合成酶(GOGAT)参照陈继康等^[14]的方法测定。谷氨酸脱氢酶(GDH)参照《现代植物生理学实验指南》^[15]测定。氮素积累量计算公式为:氮素积累量=干物质积累量 \times 氮素含量^[16]。

1.3.3 产量及其构成因素 于成熟期(R8)进行测产,选取长势一致的18株大豆植株进行单株荚数、单株粒数、单株粒重、百粒重的测定,盆栽试验以单株粒重代表产量。

1.4 数据分析

本试验使用Microsoft Excel 2021进行数据的录入及整理,使用SPSS 20.0对数据进行方差分析,使用GraphPad Prism 8软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 外源褪黑素对鼓粒期大豆荚和籽粒形态的影响

由图 1 和表 1 可知,与 CK 相比,绥农 26 品种和抗线 9 号品种喷施外源褪黑素处理(CK + M)的荚重和粒重都没有显著差异;而与 CK 相比,干旱处理显著降低了两个品种大豆的荚重和粒重,分别下降了 51.29%、46.36% 和 52.84%、30.58%;与干旱处理相比,在干旱胁迫下喷施外源褪黑素处理(D + M)则显著增加了大豆的荚重和粒重,分别增加了 22.4%、20.93% 和 52.84%、30.58%。说明鼓粒期干旱胁迫下喷施外源褪黑素可以提升大豆荚皮和籽粒重量。

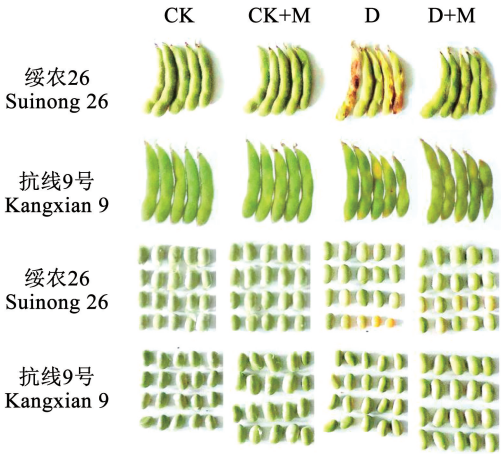


图 1 外源褪黑素对大豆形态荚皮和籽粒的影响
Fig. 1 Effects of exogenous melatonin on pod skin and seeds in soybean morphology

表 1 外源褪黑素对大豆荚重和粒重的影响
Table 1 Effects of exogenous melatonin on pods weight and seeds weight of soybean

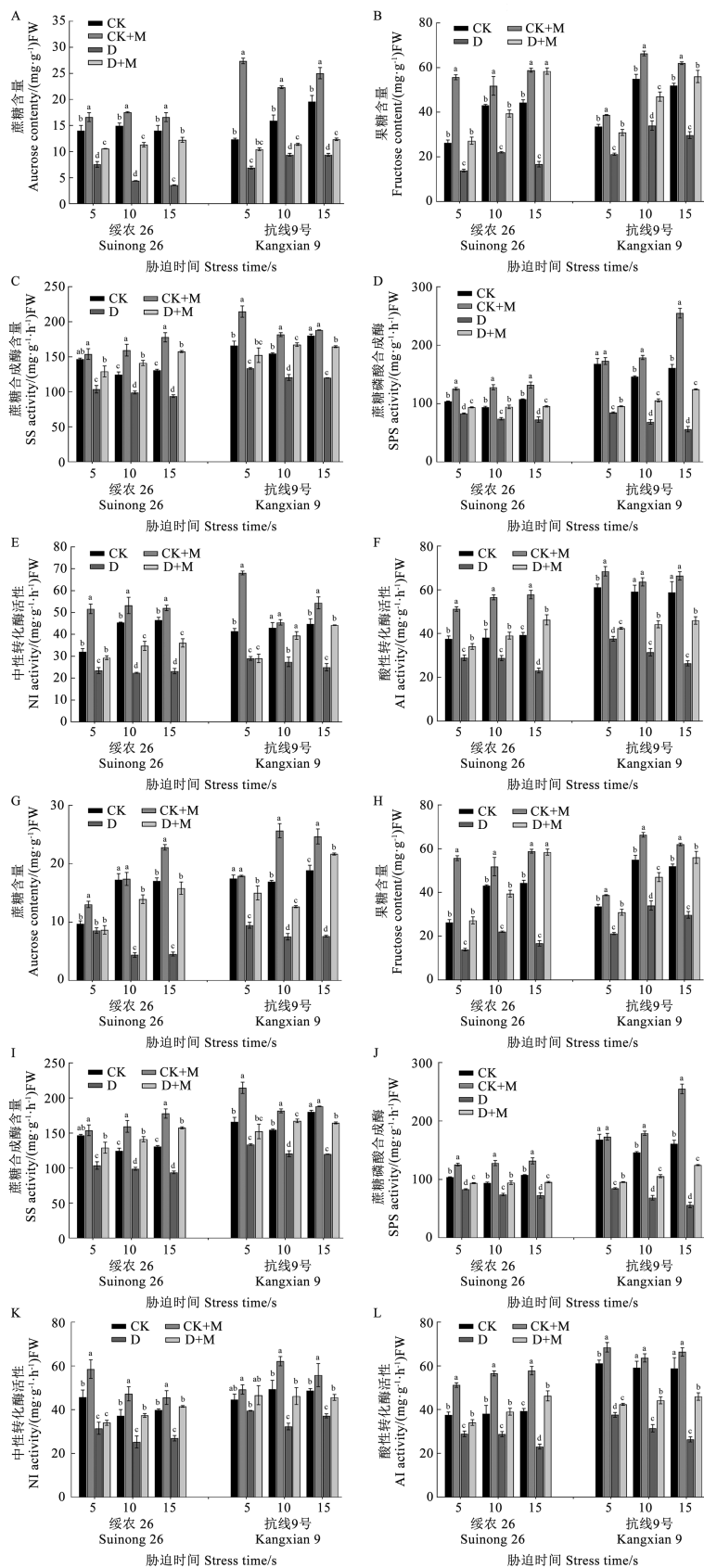
项目 Item	品种 Variety	处理 Treatment			
		CK	CK + M	D	D + M
荚重 Pods weight	绥农 26	8.23 ± 0.23 a	8.43 ± 0.21 a	5.44 ± 0.18 c	7.01 ± 0.37 b
	抗线 9 号	8.24 ± 0.23 a	8.52 ± 0.17 a	5.63 ± 0.21 c	7.12 ± 0.56 b
粒重 Seeds weight	绥农 26	4.31 ± 0.08 a	4.39 ± 0.12 a	2.82 ± 0.04 c	3.44 ± 0.25 b
	抗线 9 号	3.16 ± 0.08 a	3.23 ± 0.03 a	2.42 ± 0.03 c	2.63 ± 0.03 b

注:不同字母表示处理间达到显著差异(P<0.05)。
Note: Different letters meant significant difference among treatments at P<0.05 level.

2.2 外源褪黑素对大豆碳代谢的影响

2.2.1 荚皮和籽粒蔗糖代谢 由图 2 可知,干旱胁迫对大豆荚皮和籽粒内蔗糖和果糖含量起明显的抑制作用,在干旱胁迫下外源喷施褪黑素处理(D + M)会显著增加荚皮和籽粒内蔗糖和果糖含量。对于绥农 26 品种,与 CK 相比,干旱胁迫处理的 15 d 内,荚皮和籽粒内的蔗糖含量分别降低了 45.96% ~ 71.77% 和 17.94% ~ 100.38%,果糖含量分别降低了 60.2% ~ 66.45% 和 47.35% ~ 62.22%。与干旱处理相比,外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 厚荚皮和籽粒内蔗糖和果糖含量分别增加 39.82% ~ 241.78%、56.98% ~ 63.47% 和 217.70% ~ 248.97%、96.66% ~ 249.01%。对于抗线 9 号品种,与 CK 相比,干旱胁迫处理的 15 d 内,荚皮和籽粒内蔗糖含量分别降低了 43.84% ~ 50.12% 和 45.69% ~ 59.72%,果糖含量分别降低了 66.56% ~ 49.57% 和 36.82% ~ 42.72%。与干旱处理相比,外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 内,荚皮和籽粒上述指标分别增加 51.08% ~ 31.63%、60.68% ~ 120.07% 和 58.30% ~ 184.92%、5.74% ~ 88.25%,说明在干旱胁迫下外源喷施褪黑素会明显地提高大豆荚皮内糖类物质含量。同时干旱胁迫显著降低了大豆荚皮和籽粒内的碳代谢关键酶活性,在干旱胁迫

下外源喷施褪黑素处理(D + M)可显著增加大豆荚皮和籽粒内上述酶活性。与 CK 相比,在干旱胁迫处理的 15 d 内,两个品种的荚皮和籽粒的 SS 活性分别下降了 16.09% ~ 53.91%、27.82% ~ 53.81% 和 29.23% ~ 28.08%、19.53% ~ 33.33%,SPS 活性分别下降了 61.67% ~ 76.36%、34.62% ~ 74.99% 和 19.92% ~ 32.32%、49.69% ~ 65.12%,NI 活性分别下降了 26.84% ~ 50.08%、29.99% ~ 44.24% 和 31.05% ~ 32.18%、11.37 ~ 23.52%,AI 活性分别下降了 36.14% ~ 45.29%、17.03% ~ 26.27% 和 22.91% ~ 41.28%、38.49% ~ 55.09%。外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 内,两个品种的荚皮和籽粒 SS 活性分别增加了 24.18% ~ 75.23%、6.18% ~ 146.55% 和 24.50% ~ 67.75%、13.98% ~ 37.13%,SPS 活性分别增加了 6.96% ~ 315.83%、37.01% ~ 231.85% 和 24.50% ~ 67.75%、13.98% ~ 37.13%,NI 活性分别增加了 25.06% ~ 55.57%、43.9% ~ 77.15% 和 8.12% ~ 53.78%、42.94% ~ 22.66%,AI 活性分别增加了 23.66% ~ 91.53%、13.50% ~ 38.34% 和 17.94% ~ 100.38%、12.71% ~ 74.31%。结果表明,干旱胁迫下喷施外源褪黑素能够明显地提高大豆荚皮和籽粒的碳代谢相关酶活性。

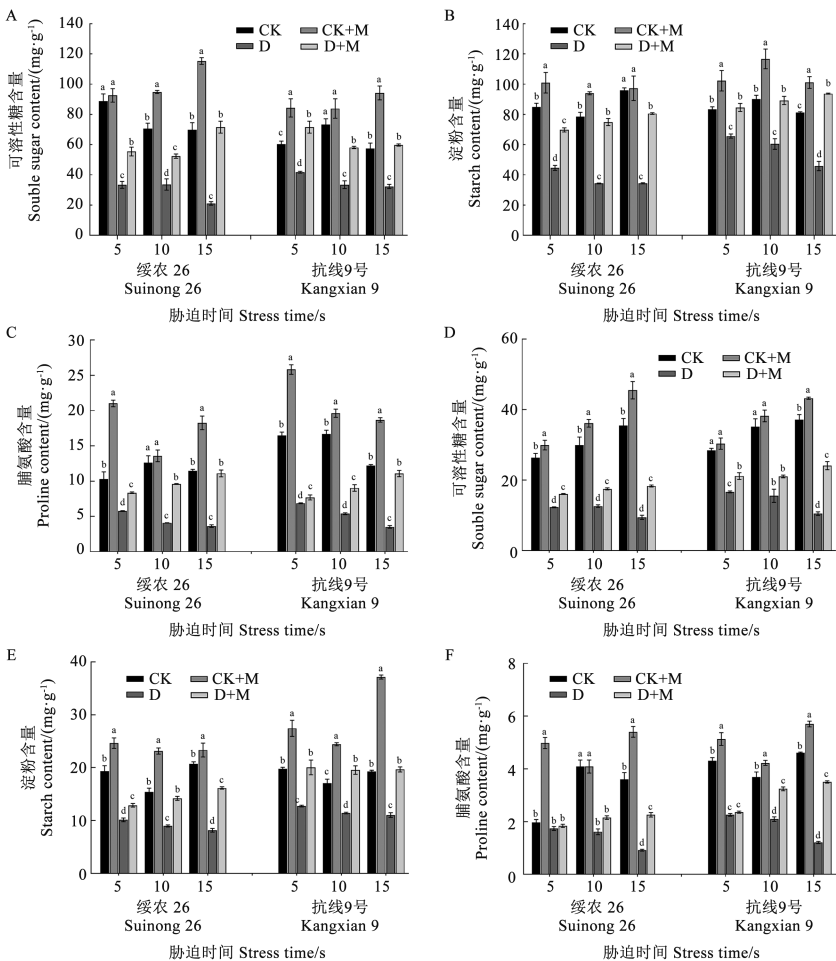


注:CK、CK + M、D 和 D + M 分别代表对照、对照 + 褪黑素、干旱和干旱 + 褪黑素处理;A ~ F 和 G ~ L 分别代表荚皮和籽粒的蔗糖含量、果糖含量、蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶、中性酶和酸性酶活性。
Note: CK, CK + M, D, and D + M represent: Control, Con + Melatonin, Drought, and Drought + Melatonin treatments, respectively; A-F and G-L represent sucrose content, fructose, sucrose synthase, sucrose phosphate synthase, neutral enzyme and acidase activities of pod seeds, respectively.

图2 外源褪黑素对大豆荚皮和籽粒蔗糖代谢的影响
Fig.2 Effects of exogenous melatonin on soybean pod skin and seed sucrose metabolism

2.2.2 荚皮淀粉代谢 由图 3 可知,干旱胁迫对大豆荚皮和籽粒内的可溶性糖、淀粉和脯氨酸含量均起到明显的抑制作用,在干旱胁迫下外源喷施褪黑素处理(D + M)会显著增加荚皮和籽粒内的可溶性糖、淀粉和脯氨酸含量。对于绥农 26 品种,与 CK 相比,干旱胁迫处理的 15 d 内,荚皮和籽粒可溶性糖含量分别降低了 62.42% ~ 69.89% 和 53.44% ~ 73.49%,淀粉含量降低了 47.51% ~ 64.21% 和 47.58% ~ 60.65%,脯氨酸含量降低了 43.99% ~ 68.41% 和 60.5% ~ 74.52%。与干旱处理相比,外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 内荚皮和籽粒的可溶性糖、淀粉和脯氨酸含量分别增加 66.19% ~ 240.38%、56.35% ~ 134.57%、44.99% ~ 206.16% 和

30.72% ~ 94.55%、27.22% ~ 98.28%、33.20% ~ 146.01%。对于抗线 9 号,与 CK 相比,干旱胁迫处理的 15 d 内,荚皮和籽粒可溶性糖含量分别降低了 30.78% ~ 43.79% 和 41.54% ~ 71.78%,淀粉含量降低了 21.31% ~ 43.58% 和 35.56% ~ 42.7%,脯氨酸含量降低了 58.37% ~ 71.18% 和 47.52% ~ 73.68%。与干旱处理相比,外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 内荚皮和籽粒的可溶性糖、淀粉和脯氨酸含量分别增加了 71.25% ~ 85.09%、28.83% ~ 104.62%、11.89% ~ 15.58% 和 27.11% ~ 129.85%、57.24% ~ 78.24%、54.69% ~ 189.01%。结果表明,干旱条件下喷施外源褪黑素明显地提高了大豆荚皮和籽粒内糖类物质含量。



注:CK、CK + M、D 和 D + M 分别代表对照、对照 + 褪黑素、干旱和干旱 + 褪黑素处理;A ~ C 和 D ~ F 分别代表荚皮和籽粒的可溶性糖、淀粉和脯氨酸含量。

Note: CK, CK + M, D, and D + M represent: Control, Con + Melatonin, Drought, and Drought + Melatonin treatments, respectively; A-C and D-F represent the soluble sugar, starch and proline content of pod and kernel, respectively.

图 3 外源褪黑素大豆荚皮和籽粒淀粉代谢的影响

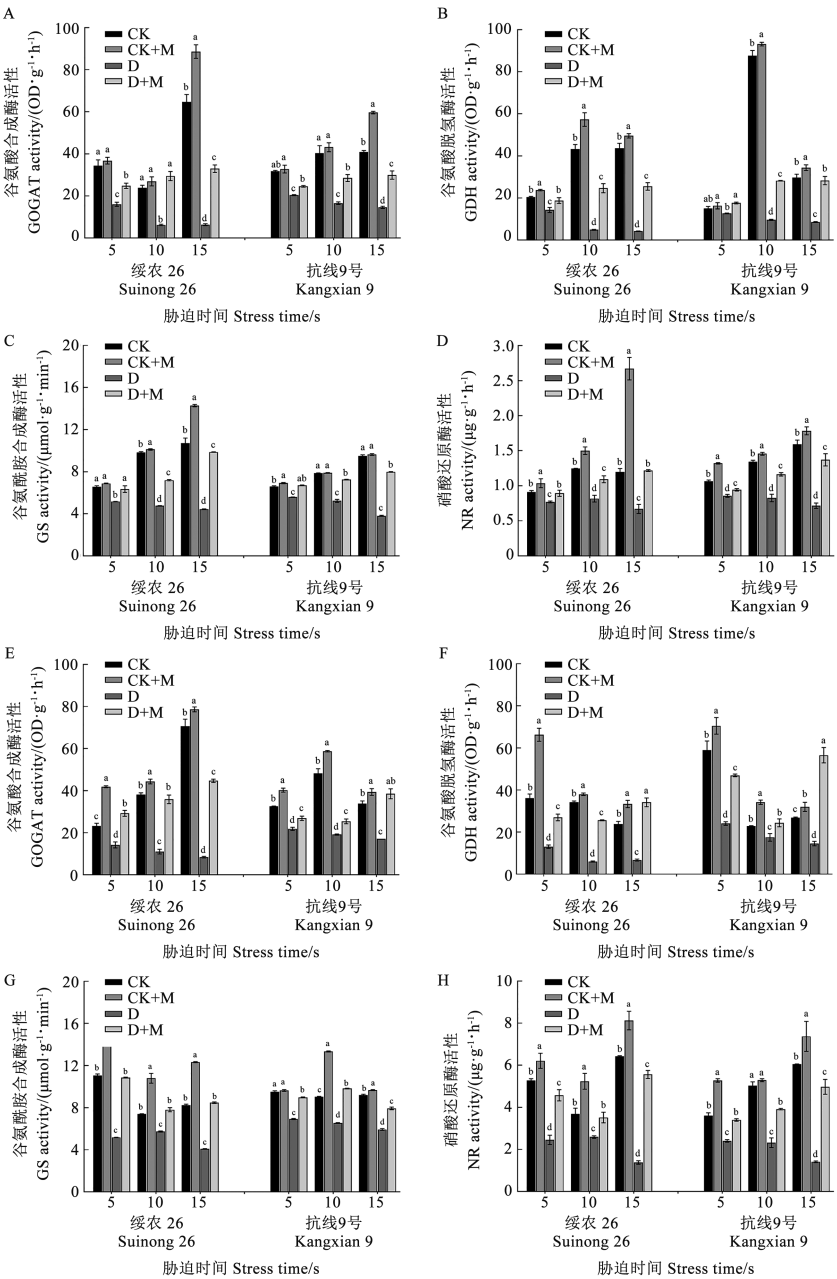
Fig.3 Effects of exogenous melatonin soybean pod skin and seed starch metabolism

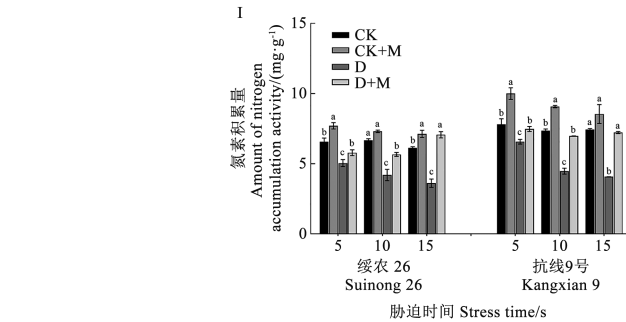
2.3 外源褪黑素对大豆荚皮和籽粒氮代谢的影响 作物体内谷氨酸合成酶(GOGAT)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、谷氨酰胺合成酶(GS)和硝酸还原酶(NR)是作物氮素吸收及利用过程中的多功能酶,

在氮素同化和转运过程中具有重要的调节作用。由图 4 可知,干旱胁迫对大豆荚皮和籽粒内氮代谢关键酶活性起明显的抑制作用,在干旱胁迫下外源喷施褪黑素处理(D + M)会显著增加荚皮和籽粒内

氮代谢关键酶活性。对于绥农 26 品种,与 CK 相比,干旱胁迫处理的 15 d 内,大豆荚皮和籽粒内 GOGAT 活性降低了 53.46% ~ 90.29% 和 38.85% ~ 88.17%, GDH 活性降低了 30.18% ~ 90.33% 和 63.84% ~ 71.8%, GS 活性降低了 21.34% ~ 58.63% 和 53.3% ~ 50.53%, NR 活性降低了 15.38% ~ 44.01% 和 53.57% ~ 78.63%。与干旱处理相比,外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 内荚皮和籽粒上述指标分别增加了 55.06% ~ 423.92%、31.42% ~ 502.84%、23.06% ~ 122.48%、16.02% ~ 81.59% 和 106% ~ 434.8%、106.67% ~ 407.228%、110.53% ~ 108.02%、35.82% ~ 304.85%。对于抗线 9 号品种,与 CK 相比,干旱胁迫处理的 15 d 内大豆荚皮和籽粒内 GOGAT 活性分别降低了 36.00% ~ 64.45% 和 33.12% ~ 49.63%, GDH 活性分别降低了 15.34% ~ 71.34% 和 59.17% ~ 45.77%, GS 活性分别降低了 24.4% ~ 59.84% 和 27.13% ~ 35.72%, NR 活性分别降低了

19.46% ~ 55% 和 33.33% ~ 76.77%。与干旱处理相比,外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 内荚皮和籽粒上述指标分别增加了 20.54% ~ 106.16%、38.46% ~ 232.5%、28.18% ~ 109.45%、9.96% ~ 91.51% 和 22.86% ~ 125.87%、95.11% ~ 288.75%、29.89% ~ 33.84%、41.67% ~ 263.56%。此外,对于绥农 26 品种,与 CK 相比,干旱胁迫处理的 15 d 内大豆籽粒中的氮素积累量下降了 23.17% ~ 41.16%,与干旱处理相比,外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 内籽粒内的氮素积累量增加了 14.68% ~ 95.84%。对于抗线 9 号而言,与 CK 相比,干旱胁迫处理的 15 d 内大豆籽粒中的氮素积累量下降了 15.81% ~ 45.22%,与干旱处理相比,外源喷施褪黑素处理(D + M)后 15 d 内籽粒内的氮素积累量增加了 13.86% ~ 77.31%。结果表明,干旱条件下喷施外源褪黑素可以提升大豆荚皮和籽粒氮代谢酶活性。





注:CK、CK + M、D 和 D + M 分别代表对照、对照 + 褪黑素、干旱和干旱 + 褪黑素处理;A ~ D 和 E ~ H 分别代表荚皮和籽粒的谷氨酸合成酶、谷氨酸脱氢酶、谷氨酰胺合成酶和硝酸还原酶活性;I 代表籽粒籽粒氮素积累量。

Note: CK, CK + M, D, and D + M represent: Control, Con + Melatonin, Drought, and Drought + Melatonin treatments, respectively; A-D and E-H represent the activities of glutamate synthase, glutamate dehydrogenase, glutamine synthetase and nitrate reductase in pod and grain, respectively. I represents the amount of nitrogen accumulation in seeds.

图 4 外源褪黑素大豆荚皮和籽粒氮代谢的影响

Fig. 4 Effects of exogenous melatonin soybean pod skin and seed nitrogen metabolism

2.4 外源褪黑素对干旱胁迫下产量性状的影响

如表 2 所示,大豆鼓粒期干旱胁迫会导致大豆的单株荚数、单株粒数、单株粒重和百粒重的降低,最终降低大豆产量。对于绥农 26 而言,与 CK 处理相比,干旱胁迫处理上述指标分别降低了 20.00%、29.41% 和 35.05%,并且处理间差异显著。而无论是在正常环境还是干旱胁迫下施用外源褪黑素均可以增加大豆的单株粒数、单株粒重和百粒重,最终提高大豆产量。与 CK 处理相比,CK + M 处理上述指标分别增加 3.34%、17.71% 和 8.78%。与干旱处理相比,D + M 处理的上述指标依次增加了

11.67%、31.79% 和 10.33%,D 与 D + M 处理的单株粒重、百粒重和产量间差异均达显著水平。对于抗线 9 号而言,与 CK 处理相比,干旱胁迫处理上述指标分别降低了 14.74%、29.89% 和 28.51%,并且处理间差异显著。与干旱处理相比,在干旱胁迫下喷施外源褪黑素会显著增加大豆的单株粒数、单株粒重和百粒重,分别增加了 14.26%、37.8% 和 9.19%。综合 2022 年产量数据可以看出,于大豆 R5 期干旱胁迫喷施外源褪黑素可以有效防止单株粒数、单株粒重和百粒重的减少,最终提高干旱胁迫下大豆产量。

表 2 外源褪黑素对干旱胁迫下大豆产量性状的影响

Table 2 Effects of exogenous melatonin on yield traits of soybean under drought stress

品种	处理	单株荚数	单株粒数	单株粒重	百粒重
Variety	Treatment	Pods number per plant	Number of seeds per plant	Seeds weight per plant/g	100-seed weight/g
绥农 26	SC	22.79 ± 0.91 a	50.00 ± 0.58 a	11.63 ± 1.00 ab	22.20 ± 0.04 b
Suinong 26	SC + M	24.33 ± 1.20 a	51.67 ± 2.40 a	13.69 ± 0.35 a	24.15 ± 0.37 a
	SD	19.87 ± 0.23 b	40.00 ± 0.58 c	8.21 ± 0.34 c	14.42 ± 0.21 d
	SD + M	21.52 ± 0.46 ab	44.67 ± 0.33 b	10.82 ± 0.46 b	15.91 ± 0.36 c
抗线 9 号	KC	27.69 ± 1.31 a	42.19 ± 0.28 b	6.49 ± 0.28 b	17.50 ± 0.28 a
Kangxian 9	KC + M	28.37 ± 1.78 a	43.77 ± 0.82 a	8.19 ± 0.53 a	16.84 ± 0.18 a
	KD	21.86 ± 0.47 b	35.97 ± 0.27 c	4.55 ± 0.43 c	12.51 ± 0.31 c
	KD + M	24.60 ± 1.21 ab	41.10 ± 0.90 b	6.27 ± 0.55 b	13.66 ± 0.26 b

注:不同字母表示处理间达到显著差异(P < 0.05)。

Note: Different letters meant significant difference among treatments at 0.05 level.

3 讨论

干旱胁迫对植物的损伤主要是由于水分供应不足导致叶片脱水,叶绿素含量下降、光合能力减弱,从而使得植物正常的生理代谢受到影响^[17],碳

代谢关键酶活性降低,最终影响植物碳代谢能力,降低产量^[18]。碳代谢关键酶主要包括酸性酶、中性酶、蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶,其酶活性的高低是作物碳代谢能力的重要体现^[19]。赵娜^[20]的研究证实喷施适宜浓度的外源褪黑素可以提高黄瓜幼

苗中蔗糖、果糖等碳水化合物含量,提高SS、SPS等碳代谢相关酶的活性,从而增强植物体协调碳代谢能力。基于此,本研究使用外源激素—褪黑素来探究其在干旱胁迫下对大豆碳代谢的作用。研究发现,干旱胁迫会导致大豆莢皮碳代谢关键酶活性下降,而干旱胁迫下喷施外源褪黑素能有效提高大豆莢皮碳代谢关键酶活性。绥农26和抗线9号大豆籽粒碳代谢关键酶(粒中性酶、粒蔗糖合成酶、粒蔗糖磷酸合成酶和粒蔗糖分解酶)活性在干旱胁迫5、10和15 d均有显著下降。李菁华等^[21]的研究结果表明:大豆苗期进行干旱胁迫,随着干旱胁迫的持续,蔗糖磷酸合成酶和蔗糖合成酶活性逐渐降低,这与本试验结果一致,说明干旱胁迫会导致碳代谢酶活性降低。与干旱处理相比,在干旱条件下喷施外源褪黑素处理,绥农26和抗线9号其大豆籽粒碳代谢关键酶的活性在5、10和15 d均呈现显著升高的趋势。这一结果说明干旱条件下喷施外源褪黑素能够显著提高大豆碳代谢相关酶活性。

可溶性糖是作物品质的重要组成成分,同时对作物的抗旱能力发挥重要作用^[22]。本研究结果表明:绥农26和抗线9号两个试验品种在干旱胁迫条件下会不同程度地降低籽粒中可溶性糖含量。与干旱胁迫处理相比,干旱胁迫条件下喷施褪黑素,大豆籽粒中糖类物质(淀粉、可溶性糖、蔗糖和果糖)含量升高,这与曹亮等^[23]的研究结果一致。综上所述,外源喷施褪黑素可以提高干旱胁迫下可溶性糖含量,提高大豆抗旱能力。

在氮代谢过程中,植物在一系列的调控和催化下,将外部环境中的无机氮转变为可被植物吸收利用的有机氮^[24],氮代谢关键酶活性可全面地反映逆境条件下的氮素转化过程^[25]。已有报道指出,长期干旱可使NO³⁻还原酶活力显著下降^[26]。本试验研究发现,在5、10和15 d,与正常供水处理相比,干旱胁迫会导致绥农26和抗线9号莢皮和籽粒中谷氨酸脱氢酶、谷氨酸合成酶、谷氨酰胺合成酶、硝酸还原酶活性显著下降;喷施褪黑素使干旱胁迫条件下大豆莢皮和籽粒中氮代谢酶活性显著上升,这与许亚会等^[27]的研究结论相吻合。

综上所述,干旱胁迫会导致大豆莢皮和籽粒中氮代谢关键酶活性下降。而在喷施外源褪黑素后氮代谢关键酶活性显著提高,这一点与张明才等^[28]的研究结果相吻合。产生这种现象的原因可能是由于干旱胁迫导致土壤耕层水分的长期亏缺,使得作物不能吸收到足以维持其正常生长发育的水分、影响其正常的生理活动,从而引起作物体内蛋白质合成下降。因此,硝酸还原酶活力下降,谷氨酸脱氢酶、谷氨酸合成酶、谷氨酰胺合成酶下降,是底物

不足的连锁反应。而外源褪黑素可能通过一系列的生理反应,使大豆的氮代谢关键酶活性保持在一个相对稳定的水平,从而有效地降低了干旱胁迫对其产生的负面影响,具体的反应机制,仍需进一步研究进行验证。

4 结论

干旱胁迫会对大豆莢皮和籽粒形态、糖类物质(蔗糖、果糖和可溶性糖)含量、碳代谢关键酶(蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶、酸性酶和中性酶)活性、氮代谢关键酶(硝酸还原酶、谷氨酸合成酶、谷氨酸脱氢酶和谷氨酰胺合成酶)、产量等造成不利影响,而喷施外源褪黑素能增强大豆莢皮和籽粒碳氮代谢关键酶活性,进而有利于碳氮同化和转运水平的提高,促进全株氮素积累量提高、促进碳水化合物的合成和积累,为植株生长提供了基础,从而缓解干旱对大豆籽粒发育的不利影响。

参考文献

[1] 张梦鹤, 宁美红, 陈子康, 等. 惠风和畅乡村兴[N]. 沧州日报, 2022-03-02(P06). (ZHANG M H, NING M H, CHEN Z K, et al. Huifeng and Chang rural rejuvenation [N]. Cangzhou Daily, 2022-03-02(P06))

[2] DU Y, ZHAO Q, CHEN L, et al. Effect of drought stress at reproductive stages on growth and nitrogen metabolism in soybean [J]. Agronomy, 2020, 10(2): 302.

[3] CAO L, QIN B, GONG Z, et al. Melatonin improves nitrogen metabolism during grain filling under drought stress [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2022, 28(7): 1477-1488.

[4] 江英泽, 董宇辰, 王文佳, 等. 鼓粒期干旱对春大豆品质和产量的影响[J]. 中国农学通报, 2019, 35(22): 14-18. (JIANG Y Z, DONG Y C, WANG W J, et al. Drought affects quality and yield of spring soybean at drum-filling stage [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(22): 14-18.)

[5] CARRERA C S, DARDANELLI J L. Changes in the relationship between temperature during the seed-filling period and soya bean seed isoflavones under water-deficit conditions [J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2016, 202(6): 421-432.

[6] DU Y, ZHAO Q, CHEN L, et al. Effect of drought stress during soybean R2-R6 growth stages on sucrose metabolism in leaf and seed[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(2): 618.

[7] IMRAN M, KHAN A L, SHAHZAD R, et al. Exogenous melatonin induces drought stress tolerance by promoting plant growth and antioxidant defence system of soybean plants[J]. AoB PLANTS, 2021, 13(4): plab026.

[8] 杜艳丽. 水分胁迫对大豆生长和籽粒性状的影响机制研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020: 16-17). (DU Y L. Effects of drought stress on growth and grain traits of soybeans [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020: 16-17.)

[9] TSAI C Y, SALAMINI F, NELSON O E. Enzymes of carbohydrate

metabolism in the developing endosperm of maize [J]. *Plant Physiology*, 1970, 46(2): 299-306.

[10] CHOPRA J, KAUR N, GUPTA A K. Ontogenic changes in enzymes of carbon metabolism in relation to carbohydrate status in developing mungbean reproductive structures[J]. *Phytochemistry*, 2000, 53(5): 539-548.

[11] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72 (1/2): 248-254.

[12] 徐龙光. 黄帝手植柏的组织培养和硝酸还原酶活性测定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014. (XU L G. Tissue cultue of old platucladus Orientalis and determination of nitrate reductsae activity[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2014.)

[13] 王小纯, 熊淑萍, 马新明, 等. 不同形态氮素对专用型小麦花后氮代谢关键酶活性及籽粒蛋白质含量的影响[J]. *生态学报*, 2005, 25(4): 802-807. (WANG X C, XIONG S P, MA X M, et al. Effects of different nitrogen forms on key enzyme activity involved in nitrogen metabolism and grain protein content in speciality wheat cultivars[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (4): 802-807.)

[14] 陈继康, 谭龙涛, 喻春明, 等. 不同氮素水平对饲用苕麻氮代谢关键酶的影响[J]. *草业学报*, 2017, 26 (10): 207-218. (CHEN J K, TAN L T, YU C M, et al. Effects of different nitrogen levels on key enzyme activities associated with nitrogen metabolism of feed ramie[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(10): 207-218.)

[15] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科技出版社, 1999. (Shanghai Institute of Plant Physiology Chinese Academy of Sciences. *Experimental guidelines for modern plant physiology*[M]. Beijing: Science and Technology Press.)

[16] 曹亮. 外源褪黑素对干旱胁迫下鼓粒期大豆碳氮代谢及产量品质的调控效应[D]. 黑龙江八一农垦大学, 2020. (CAO L. Regulatory effect of exogenous melatonin on carbon and nitrogen metabolism and yield and quality of soybean at grain drum stage under drought stress [D]. Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2020.)

[17] 周认, 蔡宇, 林恬逸, 等. 模拟干旱胁迫下褪黑素和表油菜素内酯对沟叶结缕草长期继代培养愈伤组织再生的影响[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2022, 48(1): 36-44. (ZHOU R, CAI Y, LIN T Y, et al. Effects of melatonin and epibrassinolide on the regeneration of long-term subcultured callus of *Zoysia matrella* (L.) Merr. under simulated drought stress[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2022, 48(1): 36-44.)

[18] 蒋倩, 汪富军, 马晓兰, 等. 外源褪黑素对干旱胁迫下苦水玫瑰生理特性的影响[J]. *草原与草坪*, 2022, 42(4): 39-46. (JIANG Q, WANG F J, MA X L, et al. Effects of exogenous melatonin on physiological characteristics of Kushui rose under drought stress[J]. *Grassland and Turf*, 2022, 42(4): 39-46.)

[19] 徐向东, 孙艳, 孙波, 等. 高温胁迫下外源褪黑素对黄瓜幼苗活性氧代谢的影响[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(5): 1295-1300. (XU X D, SUN Y, SUN B, et al. Effects of exogenous melatonin on active oxygen metabolism of cucumber seedlings under high temperature stress [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(5): 1295-1300.)

[20] 赵娜. 外源褪黑素对高温胁迫条件下黄瓜幼苗碳氮代谢的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012. (ZHAO N. Effects of exogenous melatonin on carbohydrate and nitrate metabolism in cucumber seedling leaves under high temperature stress [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2012.)

[21] 李菁华. 干旱胁迫下外源 ABA 对鼓粒期大豆抗旱生理特性及产量的影响[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2017. (LI J H. Effects of exogenous ABA on drought-resistant physiological characteristics and yield of soybean at grain filling stage under drought stress [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2017.)

[22] 任婧. 番茄果实可溶性糖含量遗传规律的研究及 QTL 定位[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018. (REN J. Tomato soluble sugar content genetic regularity analysis and QTL mapping[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.)

[23] 曹亮, 王明瑶, 邹京南, 等. 外源褪黑素对干旱胁迫下大豆鼓粒期生长特性的影响[J]. *大豆科学*, 2019, 38(5): 747-753. (CAO L, WANG M Y, ZOU J N, et al. Effects of exogenous melatonin on the growth characteristics of soybean during seed-filling period under drought stress[J]. *Soybean Science*, 2019, 38(5): 747-753.)

[24] 许振柱, 周广胜. 植物氮代谢及其环境调节研究进展[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(3): 511-516. (XU Z Z, ZHOU G S. Research advance in nitrogen metabolism of plant and its environmental regulation[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(3): 511-516.)

[25] 罗海斌, 黄诚梅, 朱慧明, 等. 干旱胁迫对甘蔗根系碳氮代谢的影响[J]. *南方农业学报*, 2020, 51(6): 1332-1338. (LUO H B, HUANG C M, ZHU H M, et al. Effects of drought stress on carbon and nitrogen metabolism of sugarcane roots[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(6): 1332-1338.)

[26] MUNJAL N, SAWHNEY S K, SAWHNEY V. Activation of nitrate reductase in extracts of water stressed wheat [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(4): 659-665.

[27] 徐亚会, 董守坤, 李雪凝, 等. 干旱胁迫对春大豆氮代谢关键酶活性的影响[J]. *核农学报*, 2016, 30(1): 164-170. (XU Y H, DONG S K, LI X N, et al. Effect of progressive drought stress on the key enzyme activities of nitrogen metabolism of spring soybean[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, 30 (1): 164-170.)

[28] 张明才, 李召虎, 田晓莉, 等. 植物生长调节剂 SHK-6 对大豆叶片氮素代谢的调控效应[J]. *大豆科学*, 2004, 23(1): 15-20. (ZHANG M C, LI Z H, TIAN X L, et al. Effect of plant growth regulator shk-6 on nitrogen metabolism of soybean leaf[J]. *Soybean Science*, 2004, 23(1): 15-20.)