

黄荣, 段明明, 文珂, 等. 外源褪黑素对铜胁迫下大豆幼苗生长及生理特性的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(5): 780-786.  
HUANG Rong, DUAN Mingming, WEN Ke, et al. Effects of exogenous melatonin on seedling growth and physiological characteristics of soybean under copper stress[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(5): 780-786.

# 外源褪黑素对铜胁迫下大豆幼苗生长及生理特性的影响

黄 荣✉, 段明明, 文 珂, 蒋慧乾, 梁晓恩, 米 鸢, 年 海✉

(华南农业大学 农学院/国家大豆改良中心 广东分中心, 广东 广州 510642)

**摘要:**【目的】研究在铜 (Cu) 胁迫下, 褪黑素对大豆 *Glycine max* (Linn.) Merr. 生理特性的影响, 为缓解重金属胁迫提供一定的参考。【方法】采用盆栽试验, 选用 Cu 敏感品种 ‘桂早 1 号’ 和耐 Cu 品种 ‘巴西 13’, 在  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cu 胁迫下, 施用  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  褪黑素, 探究褪黑素对大豆生理指标 (根长、株高、鲜质量、叶绿素相对含量和 Cu 含量), 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 活性, 丙二醛 (MDA)、可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响。【结果】Cu 胁迫下喷施  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  褪黑素显著提高了 2 个大豆品种的根长、株高、鲜质量和叶绿素相对含量。Cu 胁迫下施用褪黑素显著降低 2 个品种地上部、地下部 Cu 含量, ‘桂早 1 号’ 降低 25.01%、18.40%, ‘巴西 13’ 降低 26.84%、20.28%。Cu 胁迫下施用褪黑素, ‘桂早 1 号’ 的地上部 POD 活性和 ‘巴西 13’ 的地下部 CAT 活性显著提高, 分别为 56.84% 和 48.35%; ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 地上部 SOD 活性分别显著提高 19.07% 和 7.30%; 地上部 MDA 含量分别显著减少 8.05% 和 26.56%。单施褪黑素和 Cu 胁迫下施用褪黑素对 2 个品种可溶性蛋白含量无显著影响; 而 Cu 胁迫下施用褪黑素, ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 地上部可溶性糖含量分别显著提高 149.70% 和 58.75%。【结论】适宜浓度的褪黑素可以通过提高植株抗氧化酶活性, 抑制膜脂氧化, 减少对 Cu 的吸收和增加渗透调节物质等方式缓解 Cu 胁迫对大豆生长发育的影响。

**关键词:** 大豆; 铜胁迫; 褪黑素; 生理特性; 幼苗生长

中图分类号: S565.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)05-0780-07

## Effects of exogenous melatonin on seedling growth and physiological characteristics of soybean under copper stress

HUANG Rong✉, DUAN Mingming, WEN Ke, JIANG Huiqian, LIANG Xiaoen, MI Yuan, NIAN Hai✉

(College of Agriculture, South China Agricultural University/Guangdong Subcenter of National Center for Soybean Improvement, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** 【Objective】The effects of melatonin on the physiological properties of soybean (*Glycine max* (Linn.) Merr.) under copper (Cu) stress were investigated to provide some reference for the mitigation of heavy metal stress. 【Method】In a pot experiment, the Cu-sensitive variety ‘GuiZao 1’ and the Cu-tolerant variety ‘Brazil 13’ were selected and applied with  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  melatonin under  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cu stress to explore the effects of melatonin on soybean physiological indicators (root length, plant height, fresh weight, relative chlorophyll content and Cu content), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) activities,

收稿日期: 2023-03-27 网络首发时间: 2023-06-05 08:47:36

首发网址: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/44.1110.S.20230602.1527.002.html>

作者简介: 黄 荣, 硕士研究生, 主要从事大豆遗传育种研究, E-mail: [1419028717@qq.com](mailto:1419028717@qq.com); 通信作者: 年 海, 教授, 博士, 主要从事大豆、玉米遗传育种和营养生理研究, E-mail: [hnian@scau.edu.cn](mailto:hnian@scau.edu.cn)

基金项目: 国家大豆产业技术体系建设专项经费 (CARS-04-PS11)

malondialdehyde (MDA), soluble sugar and soluble protein contents. 【Result】 Application of 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  melatonin under Cu stress increased the root length, plant height, fresh weight and relative chlorophyll content of both soybean varieties. The Cu contents in shoots and roots of both varieties were significantly reduced by melatonin treatment under Cu stress by 25.01% and 18.40% ('GuiZao 1'), 26.84% and 20.28% ('Brazil 13'), respectively. By applying melatonin under Cu stress, 'GuiZao 1' had a significant increase of POD activity in shoots by 48.35%, and 'Brazil 13' had a significant increase of CAT activity in roots by 56.84%; 'GuiZao 1' and 'Brazil 13' had significantly higher SOD activities in shoots by 19.07% and 7.30%, respectively; MDA content in shoots was significantly reduced by 8.05% and 26.56%. In the single application or mixed application under Cu stress, melatonin had no significant effect on the soluble protein contents of the two varieties. The amounts of soluble sugar in shoots of 'GuiZao 1' and 'Brazil 13' increased by 149.70% and 58.75% in the mixed application treatment under Cu stress. 【Conclusion】 The appropriate concentrations of melatonin can mitigate the effects with Cu stress on soybean growth and development by improving antioxidant enzyme activity, inhibiting membrane lipid oxidation, reducing Cu uptake and increasing osmoregulatory substances.

**Key words:** *Glycine max* (Linn.) Merr.; Copper stress; Melatonin; Physiological characteristic; Seedling growth

大豆 *Glycine max* (Linn.) Merr. 是一种重要的经济作物, 在重金属污染的土壤上, 其产油量和产量显著下降<sup>[1]</sup>。铜 (Cu) 作为植物生长的必需元素, 同时也是重金属元素, 适量的 Cu 在氧化磷酸化、铁代谢、蛋白质运输和转录等方面起关键作用<sup>[2]</sup>; 过量的 Cu 会抑制植物对水分和营养物质的吸收, 降低同化能力, 同时加剧有毒 ROS、羟基和自由基的产生, 这些自由氧和自由基会破坏基本的生物分子, 如 DNA、RNA、膜结构和蛋白质等<sup>[3]</sup>。有研究发现, 过量的 Cu 会破坏大豆的抗氧化系统和根系对营养的吸收<sup>[4]</sup>; 因此如何在 Cu 胁迫下保护光合作用系统和维持较高的 ROS、羟基和自由基的清除能力, 对于促进大豆幼苗的正常生长具有重要意义。

褪黑素 (Melatonin) 具有吲哚环结构, 相对分子质量小, 是一种进化上保守的多效性分子, 普遍存在于生物体中, 是内源性的自由基清除剂和抗氧化剂, 其中间体是以亲水性和疏水性而闻名的最佳抗氧化分子之一<sup>[5]</sup>。褪黑素很容易通过细胞膜进入线粒体、叶绿体和细胞核等细胞器中<sup>[6]</sup>; 褪黑素可以直接清除自由基, 刺激抗氧化酶的产生, 促进谷胱甘肽的合成, 激活其他抗氧化剂<sup>[7]</sup>, 增加渗透调节物质的含量, 提高线粒体电子传递效率等, 从而对植物起到保护作用, 有效缓解作物逆境中的非生物胁迫<sup>[8]</sup>。其中, 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 是重要的抗氧化酶, SOD 先将自由氧歧化为过氧化氢 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 和氧气 ( $\text{O}_2$ ),  $\text{H}_2\text{O}_2$  具有强氧化性, CAT 和 POD 进一步将  $\text{H}_2\text{O}_2$  歧化为  $\text{O}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ , 从而避免自由氧对生物体

造成损害。褪黑素可以提高作物对重金属<sup>[9]</sup>、干旱<sup>[10]</sup>、高温<sup>[11]</sup>、冷胁迫<sup>[12]</sup> 和盐度<sup>[13]</sup> 条件的耐受性。有研究指出, 施用 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  褪黑素可以通过提高抗氧化酶活性和保护同化系统等方式来有效缓解干旱胁迫对大豆生长的抑制<sup>[14]</sup>。Wei 等<sup>[15]</sup> 也发现, 在 60  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NaCl 胁迫下施用 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  褪黑素增加了香蕉植株可溶性蛋白含量, 同时有效减缓叶绿素的降解, 维持香蕉植株的健康生长。这些研究说明施用外源褪黑素有利于作物应对非生物胁迫。

关于外源褪黑素在作物应对非生物胁迫过程中功能的研究日益深入, 而鲜有学者围绕外源褪黑素能否缓解大豆 Cu 胁迫进而促进大豆的生长发育展开深入研究。因此本试验采用对 Cu 敏感度不同的 2 个大豆品种进行 Cu 胁迫和褪黑素处理, 研究褪黑素对不同基因型大豆幼苗生长、Cu 含量、抗氧化系统和渗透调节物质含量等的影响, 探讨外源褪黑素应对大豆 Cu 胁迫的生理机制, 为外源褪黑素应用于缓解大豆 Cu 胁迫提供有力的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试种子: Cu 敏感品种 ‘桂早 1 号’、耐 Cu 品种 ‘巴西 13’, 由华南农业大学农学院/国家大豆改良中心广东分中心提供。w(褪黑素) > 99.99%, 使用五水硫酸铜 ( $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 模拟 Cu 胁迫。

1.2 试验设计

试验在华南农业大学启林北农场温室进行。设

定的培养环境为 25 ℃, 60% 相对湿度, 光周期为 16 h 光/8 h 暗, 光强 550 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup><sup>[16]</sup>。选用高 120 mm、顶部直径 150 mm、底部直径 100 mm 的栽植盆, 每盆装入 500 g 无污染的石英砂。在每个花盆中种植 9 颗外形一致、壮实饱满的种子, 每天浇灌霍格兰营养液, 生长 10 d 后定植 5 株长势较好的幼苗。待幼苗长至第一对三出复叶张开时, 用混有不同浓度褪黑素 (0、100 μmol·L<sup>-1</sup>) 和不同浓度 Cu (0、0.5 mmol·L<sup>-1</sup>) 的霍格兰营养液每隔 3 d 浇灌 1 次, 每次每盆 100 mL, 各处理分别为对照 (CK)、单施褪黑素 (MT)、铜胁迫 (Cu) 和铜胁迫下施用褪黑素 (Cu+MT)。每种处理设置 3 次重复, 待大豆生长 30 d 后, 将幼苗整株取出, 测定后续指标。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 生长指标测定 采用直尺 (单位: mm) 测量幼苗株高 (植株根颈部到顶部心叶之间的距离)、根长 (植株根颈部到主根根尖的距离); 用电子天平称量总鲜质量。

1.3.2 叶绿素相对含量测定 采用便携式 SPAD-502 叶绿素计对每个处理的顶部 3 片叶进行测定并记录, 每个处理测 10 次, 取平均值。

1.3.3 地上部、地下部 Cu 含量测量 采用浓硫酸-过氧化氢湿法消解<sup>[17]</sup>: 称取 0.5 g 样品 (样品取样烘干后磨粉过 0.150 mm 孔径的筛网), 加 1 mL 水润湿, 加入 8 mL 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 摇匀, 分 2 次各加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2 mL, 置于电炉上加热消煮, 消化, 直到管内白烟散尽, 此时溶液呈现无色澄清或者微带黄色, 预示着样品已充分消化。随即取下消化管, 静置冷却, 随后将消化管中的溶液转移到 50 mL 容量瓶中, 期间进行 3~4 次润洗, 以确保消化样品全部转移, 并用超纯水定容到 50 mL, 放于 4 ℃ 备用。为了保证试

验的准确性, 每份材料设置 2 次重复, 每次消化过程设置 2 个空白对照, 校正试剂和方法误差, 并使用原子吸收分光光度计 AA-6880 (日本岛津) 在 218.17 nm 波长下测定 Cu 含量。

1.3.4 抗氧化酶活性和丙二醛含量测定 称取各处理新鲜样品 0.1 g, 加入 9 mL 50 mmol·L<sup>-1</sup> 磷酸钠缓冲液, 在 12 000 r·min<sup>-1</sup> 下离心 5 min, 分离上清液作为酶液备用。

SOD 活性使用硝基蓝四氮唑 (NBT) 光化学还原法<sup>[18]</sup>测定, CAT 活性采用紫外吸收法<sup>[18]</sup>测定, POD 活性采用愈创木酚法<sup>[19]</sup>测定, 丙二醛 (MDA) 含量通过硫代巴比妥酸计时法<sup>[19]</sup>测定。

1.3.5 渗透调节物质含量测定 新鲜样品中可溶性蛋白含量采用考马斯蓝亮法<sup>[19]</sup>测定, 可溶性糖含量采用蒽酮显色法<sup>[20]</sup>测定。

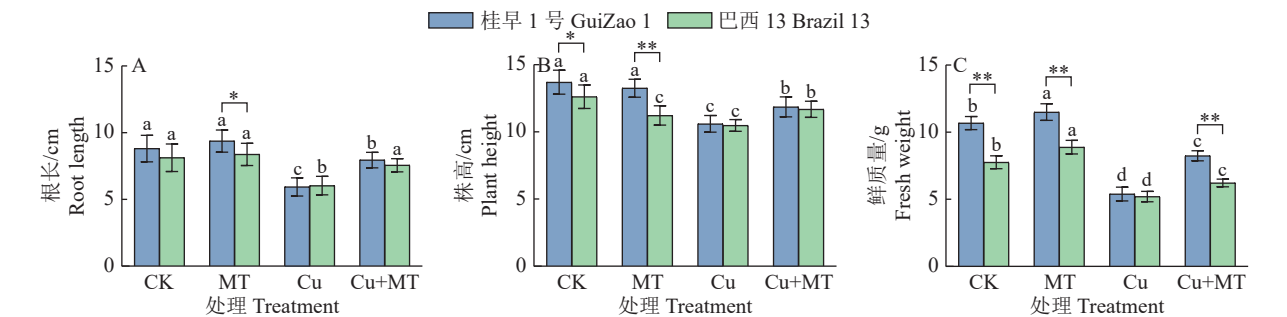
1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 20.0 数据处理系统和 Excel 2019 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 褪黑素对 Cu 胁迫下大豆生长的影响

从图 1 可知, Cu 胁迫下 ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 的根长、株高和鲜质量均显著降低 ( $P < 0.05$ ); 其中, 对鲜质量影响最大, ‘桂早 1 号’ 减少 49.53%, ‘巴西 13’ 减少 32.86%。Cu 胁迫下施用褪黑素有效缓解了 Cu 胁迫对根长、株高和鲜质量的抑制; ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 的根长分别增加 33.83% 和 25.17%, 株高分别增加 11.89% 和 11.64%, 鲜质量分别增加 52.88% 和 19.38%。结果表明, 褪黑素可以有效缓解 Cu 胁迫带来的损害, 促进幼苗的生长。



CK: 对照, MT: 单施褪黑素, Cu: Cu 胁迫, Cu+MT: Cu 胁迫下施用褪黑素; 各小图中, 相同品种种子上的不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ , Duncan's 法); “\*” 和 “\*\*” 分别表示在  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  水平差异显著 ( $t$  检验)

CK: Control, MT: Melatonin alone, Cu: Cu stress, Cu+MT: Applying melatonin under Cu stress; In each figure, different lowercase letters above the columns of the same variety indicate significant differences ( $P < 0.05$ , Duncan's method); “\*” and “\*\*” indicate significant differences at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$  respectively ( $t$  test)

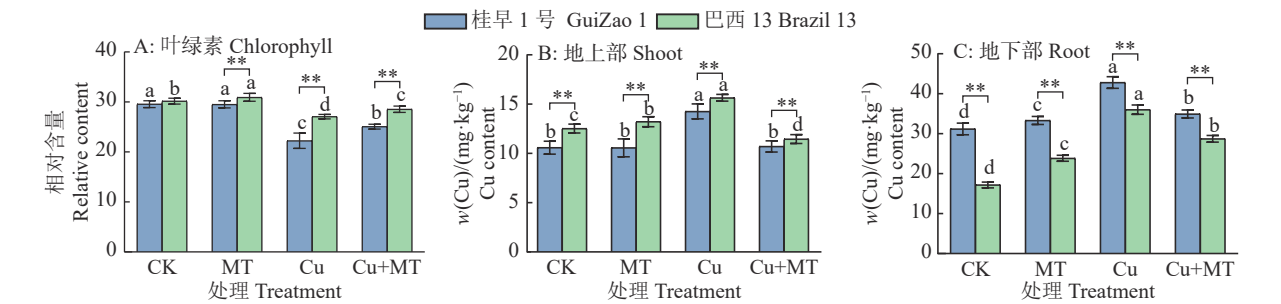
图 1 褪黑素对 Cu 胁迫下大豆生长的影响

Fig. 1 Effect of melatonin on soybean growth under Cu stress

2.2 褪黑素对 Cu 胁迫下大豆叶绿素相对含量的影响

由图 2A 可知, 与对照相比, 单施褪黑素处理 ‘桂早 1 号’ 的叶绿素相对含量无显著变化; Cu 胁迫下, ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 的叶绿素

相对含量分别显著下降 24.79% 和 10.28% ( $P < 0.05$ ), 说明过量的 Cu 对叶绿素产生了损害。Cu 胁迫下施用褪黑素, ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 的叶绿素相对含量分别增加 11.83% 和 8.6%, 有效提高了 Cu 胁迫下叶绿素相对含量。



CK: 对照, MT: 单施褪黑素, Cu: Cu 胁迫, Cu+MT: Cu 胁迫下施用褪黑素; 各小图中, 相同品种柱子上方的不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ , Duncan's 法); “\*” 和 “\*\*” 分别表示在  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  水平差异显著 ( $t$  检验)  
CK:Cu, MT: Melatonin alone, Cu: Cu stress, Cu+MT: Applying melatonin under Cu stress; In each figure, different lowercase letters above the columns of the same variety indicate significant differences ( $P < 0.05$ , Duncan's method); “\*” and “\*\*” indicate significant differences at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$  respectively ( $t$  test)

图 2 褪黑素对 Cu 胁迫下大豆叶绿素相对含量及地上部、地下部 Cu 含量的影响  
Fig. 2 Effect of melatonin on chlorophyll relative content, and Cu contents of shoot and root in soybean under Cu stress

2.3 褪黑素对 Cu 胁迫下大豆地上部、地下部 Cu 含量的影响

由图 2B、2C 可知, 所有处理中, ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 地下部 Cu 含量均高于地上部, 说明 Cu 主要积累在地下部。Cu 胁迫下施用褪黑素, 2 个品种的地上部及地下部 Cu 含量分别恢复至对照的 101.04% 和 111.99% (‘桂早 1 号’)、91.38% 和 167.17% (‘巴西 13’)。施加褪黑素显著降低了 Cu 胁迫下 2 个品种的 Cu 含量 ( $P < 0.05$ ), 表现为 ‘桂早 1 号’ 地上部和地下部 Cu 含量分别降低 25.01% 和 18.40%, ‘巴西 13’ 分别降低 26.84% 和 20.28%。与对照相比, 单施褪黑素促进 Cu 吸收, Cu 作为植物必需元素, 适量的 Cu 有助于其生长。

2.4 褪黑素对 Cu 胁迫下大豆抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响

SOD 是植物体内重要的抗氧化酶, 其活性的高低直接反映植物细胞的抗氧化能力<sup>[21]</sup>。由图 3A、3B 可知, 与对照相比, 单施褪黑素提高了 ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 体内 SOD 活性。Cu 胁迫下施用褪黑素, 桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 地上部 SOD 活性分别显著提高 19.07% 和 7.30% ( $P < 0.05$ )。地上部 SOD 活性提升较地下部明显, 这可能是因为褪黑素进一步提高了地上部的抗氧化能力, 从而减少 Cu 胁迫对地上部的氧化伤害。

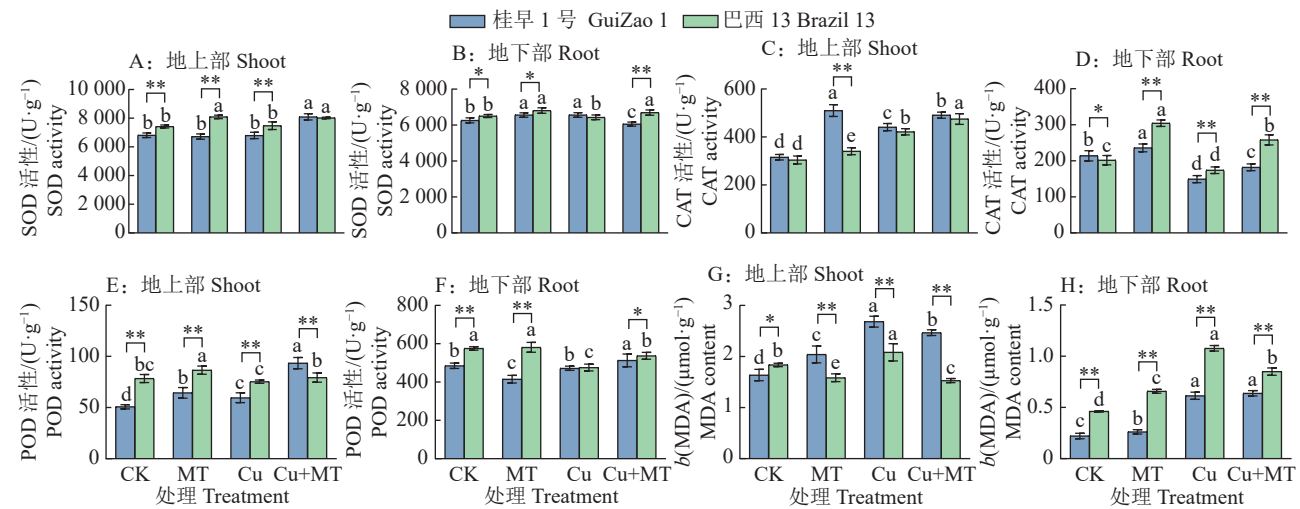
与对照相比, 单施褪黑素显著提高 2 个品种地

上和地下部 CAT 活性 (图 3C、3D) ( $P < 0.05$ ); Cu 胁迫下, ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 地上部 CAT 活性显著提高, 分别比 CK 提高 39.69% 和 38.67%, 而地下部 CAT 活性显著降低, 可能是地下部受 Cu 胁迫程度较重, 影响 CAT 的合成。Cu 胁迫下施用褪黑素, ‘桂早 1 号’ 地上部和地下部 CAT 活性显著提高 11.27% 和 21.92%, ‘巴西 13’ 显著提高 12.66% 和 48.35% ( $P < 0.05$ )。

由图 3E、3F 可知, Cu 胁迫下施用褪黑素, ‘桂早 1 号’ 地上部、地下部 POD 活性分别为 93.43、512.85  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ , ‘巴西 13’ 分别为 79.32、537.06  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ , 与 Cu 胁迫相比, ‘桂早 1 号’ 显著提升 56.84% 和 8.68% ( $P < 0.05$ ), ‘巴西 13’ 显著提升 5.39% 和 12.88% ( $P < 0.05$ )。2 个品种地下部的 POD 活性均明显高于地上部的, 可能 Cu 胁迫对地下部的损害更为严重。

MDA 是植物在逆境胁迫下膜脂过氧化的产物, 测定重金属胁迫下植物体内 MDA 的累积量, 可在一定程度上反映植物物质膜受破坏的程度<sup>[22]</sup>。由图 3G、3H 可知, 与对照相比, Cu 胁迫下 2 个品种地上部和地下部 MDA 含量均显著增加, ‘桂早 1 号’ 显著增加 44.55% 和 178.18%, ‘巴西 13’ 显著增加 13.51% 和 133.88% ( $P < 0.05$ )。Cu 胁迫下施用褪黑素降低 ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 的 MDA 含量, ‘桂早 1 号’ 地上部 MDA 含量显著减少 8.05%, ‘巴西 13’ 地上部和地下部 MDA 含量显





CK: 对照, MT: 单施褪黑素, Cu: Cu 胁迫, Cu+MT: Cu 胁迫下施用褪黑素; 各小图中, 相同品种柱子上方的不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ , Duncan's 法); “\*”和“\*\*”分别表示在  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  水平差异显著 ( $t$  检验)

CK: Control, MT: Melatonin alone, Cu: Cu stress, Cu+MT: Applying melatonin under Cu stress; In each figure, different lowercase letters above the columns of the same variety indicate significant differences ( $P < 0.05$ , Duncan's method); “\*”and “\*\*” indicate significant differences at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$  respectively ( $t$  test)

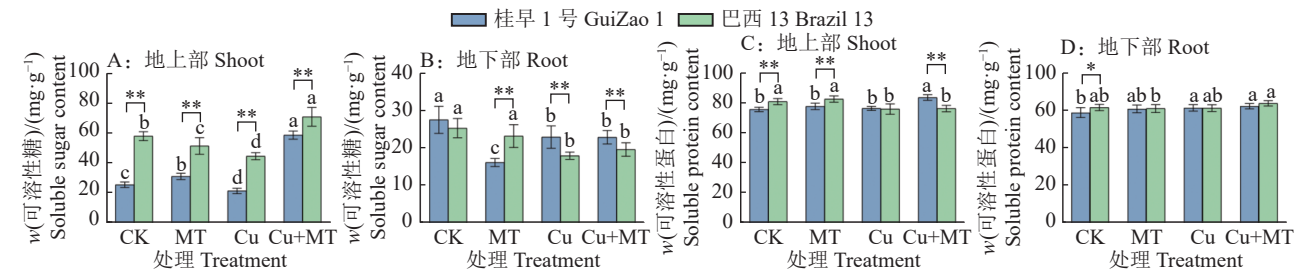
图 3 褪黑素对 Cu 胁迫下大豆抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effects of melatonin on antioxidant enzyme activity and MDA content in soybean under Cu stress

著减少 26.56% 和 21.19%。总体来看, 施用褪黑素可以缓解 Cu 胁迫对膜脂结构的损害。

**2.5 褪黑素对 Cu 胁迫下渗透调节物质含量的影响**

由图 4A、4B 可知, Cu 胁迫下, ‘桂早 1 号’地上部、地下部可溶性糖含量分别为 21.43、22.93  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , ‘巴西 13’ 分别为 44.63、17.96  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 与对照相比, ‘桂早 1 号’地上部和地下部可溶性糖含量分别显著降低 16.06% 和 16.81% ( $P < 0.05$ ), ‘巴西 13’ 分别显著降低 23.05% 和 29.04% ( $P < 0.05$ )。Cu 胁迫下施用褪黑素, ‘桂早 1 号’和 ‘巴西 13’ 地上部可溶性糖含量分别显著提高了 149.70% 和 58.75% ( $P < 0.05$ ), 地下部无显著变化 ( $P > 0.05$ )。所有处理中, 地上部可溶性糖含量普遍高于地下部。



CK: 对照, MT: 单施褪黑素, Cu: Cu 胁迫, Cu+MT: Cu 胁迫下施用褪黑素; 各小图中, 相同品种柱子上方的不同小写字母, 表示差异显著 ( $P < 0.05$ , Duncan's 法); “\*”和“\*\*”分别表示在  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  水平差异显著 ( $t$  检验)

CK: Control, MT: Melatonin alone, Cu: Cu stress, Cu+MT: Applying melatonin under Cu stress; In each figure, different lowercase letters above the columns of the same variety indicate significant differences ( $P < 0.05$ , Duncan's method); “\*”and “\*\*” indicate significant differences at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$  respectively ( $t$  test)

图 4 褪黑素对 Cu 胁迫下渗透调节物质含量的影响

Fig. 4 Effect of melatonin on osmotic adjustment substance content under Cu stress

可溶性蛋白是重要的渗透调节物质, 与对照相比, 单施褪黑素提高了 ‘桂早 1 号’ 和 ‘巴西 13’ 地上部和地下部可溶性蛋白含量, 但未达到显著水平; Cu 胁迫下施用褪黑素提高了 2 个品种地上部和地下部可溶性蛋白含量, 其中, ‘桂早 1 号’ 地上部可溶性蛋白含量提高较多, 为 9.55% ( $P < 0.05$ ) (图 4C、4D)。结果表明, 褪黑素对提高大豆可溶性蛋白含量起到一定的作用。

### 3 讨论与结论

在本研究中, 我们深入了解了褪黑素如何调节暴露于过量 Cu 水平的大豆的生长发育。Wu 等<sup>[23]</sup>研究发现褪黑素下调叶绿素分解代谢酶的活性, 并抑制参与叶绿素分解代谢基因的表达, 从而保护叶

绿体和气孔的膜完整性, 提高光合速率和糖的积累, 促进 Cu 胁迫下植物的生长和生物量的增加。Cu 胁迫下植株 ROS 和 MDA 含量增加, 直接干扰生理生化属性并抑制光合功能、营养同化和糖代谢, 施加外源褪黑素可以提高抗氧化能力, 从而降低 ROS 和 MDA 水平, 褪黑素还能保持根系的强健, 促进根系生长。

Cu 胁迫抑制了‘桂早 1 号’和‘巴西 13’根长、株高和鲜质量的增加, 植株矮小、瘦弱, 可能是 Cu 胁迫导致其生理代谢改变, 阻碍了生长。施用褪黑素可有效缓解 Cu 胁迫, 虽未达到胁迫前的水平, 但幼苗的生长得到改善, 同时 Cu 敏感品种‘桂早 1 号’根长、株高和鲜质量恢复率高于耐 Cu 品种‘巴西 13’; 表明褪黑素对耐 Cu 胁迫较差的品种也能起到较好的保护效果, 促进大豆幼苗在 Cu 胁迫下正常生长发育。

叶绿素相对含量与叶绿素含量存在正相关关系, 可以在一定程度上反映叶绿素含量的高低<sup>[17]</sup>。在 Cu 胁迫下, 叶绿素相对含量降低, 这是因为过量的 Cu 积累使叶绿体膜的完整性和流动性变差, 下调了参与叶绿素合成的基因的表达, 使光合效率降低。相比耐 Cu 品种‘巴西 13’, Cu 胁迫下 Cu 敏感品种‘桂早 1 号’的叶绿素相对含量降低更多, 说明耐 Cu 品种能更有效地减少过量 Cu 对叶绿素的伤害。施加褪黑素后, ‘桂早 1 号’和‘巴西 13’的叶绿素相对含量显著提高, 说明褪黑素能有效缓解 Cu 胁迫带来的损害。褪黑素保护了叶绿体内部膜系统的稳定, 增强了非酶抗氧化剂和抗氧化酶清除叶绿体 ROS 的能力, 从而降低 ROS 对膜系统的毒性。Cui 等<sup>[24]</sup>研究发现, 干旱胁迫下施用褪黑素可以有效保护光反应系统, 提高叶绿素含量, 增强小麦耐旱性, 本试验结果与之相似。

土壤重金属通过地下部被植物吸收, 重金属在不同植物中迁移、转化和富集的机制不同, Cu 主要集中在地下部, 往地上部的迁移率较小<sup>[25]</sup>, 本试验结果与之相同。Cu 胁迫下‘桂早 1 号’和‘巴西 13’地下部 Cu 含量均高于地上部, Cu 在地下部富集, 且耐 Cu 品种‘巴西 13’各处理地下部 Cu 含量均低于 Cu 敏感品种‘桂早 1 号’, 地上部 Cu 含量均高于‘桂早 1 号’, ‘巴西 13’可能是通过减少 Cu 的吸收并向地上部转运来缓解 Cu 胁迫。Cu 胁迫下施加褪黑素降低了‘桂早 1 号’和‘巴西 13’地上部和地下部 Cu 含量, 这表明褪黑素能有效减少大豆对 Cu 的吸收。与对照相比, 单施褪黑素促进了对 Cu 的吸收, Cu 作为植物必需元素,

适量的 Cu 在光合作用、呼吸作用、抗氧化系统、花粉萌发和花粉管伸长中发挥重要作用。

重金属胁迫导致分子氧减少并释放出高反应性中间产物, 如 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、超氧自由基(O<sup>2-</sup>)和羟基(OH<sup>-</sup>)等, 这些自由基和 ROS 可引起质膜和蛋白质分解的连锁反应, 导致 DNA 和细胞膜损伤<sup>[26]</sup>。本结果表明耐 Cu 品种‘巴西 13’的 SOD、CAT 和 POD 活性在大部分情况下比 Cu 敏感品种‘桂早 1 号’的要高, 可能是耐 Cu 品种体内抗氧化酶活性较强, 能更好地缓解 Cu 胁迫。Cu 胁迫下施用褪黑素增强了植株 SOD、CAT 和 POD 活性, 这与 Cao 等<sup>[27]</sup>的研究结果一致。褪黑素提高了抗氧化相关酶的表达和活性, 增强了植物对胁迫的应对能力。植物体内 MDA 的积累可在一定程度上反映植物受伤害程度。Cu 胁迫下 2 个品种地上部和地下部 MDA 含量均增加, 施用褪黑素后, 除‘桂早 1 号’地下部外, 其他处理 MDA 含量均下降, 说明褪黑素能减少 Cu 胁迫下膜脂过氧化, 保护细胞膜脂结构。‘桂早 1 号’是 Cu 敏感型品种, 在 Cu 胁迫下地下部膜脂过氧化更为严重, 所以 MDA 含量维持在较高水平。

可溶性糖和可溶性蛋白是渗透调节物质, 在胁迫中, 植物体通过主动积累各种有机物或无机物来提高细胞液浓度, 降低渗透势, 提高细胞吸水或保水能力, 从而增强对胁迫的适应性。本研究结果表明, Cu 胁迫降低了 2 个品种地上部和地下部可溶性糖含量, 施用褪黑素后, 可溶性糖含量提高, 可能是褪黑素缓解了 Cu 胁迫对植物呼吸作用和光合作用的影响, 上调了糖和氮代谢相关酶的活性。施用褪黑素对地上部可溶性蛋白含量的影响无明显规律。施用褪黑素后 2 个品种地下部可溶性蛋白含量提高, 但未达到显著水平, 这与前人的研究<sup>[28]</sup>存在一定差异。

综上所述, Cu 胁迫影响大豆正常的生长发育, 施用褪黑素可有效缓解 Cu 胁迫对大豆生长的抑制作用, 同时减少植株对 Cu<sup>2+</sup>的吸收并向地上部转运。褪黑素增强大豆植株 SOD、CAT 和 POD 等抗氧化酶活性, 降低 MDA 含量, 同时促进可溶性糖和可溶性蛋白合成, 表明褪黑素能有效缓解 Cu 胁迫, 改善大豆幼苗的生长发育。

参考文献:

[1] SCHWALBERT R, STEFANELLO L O, SCHWALBERT R A, et al. Soil tillage affects soybean growth and promotes heavy metal accumulation in seeds[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 216: 112191.

- doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112191.
- [2] YRUELA I. Copper in plants: Acquisition, transport and interactions[J]. *Functional Plant Biology*, 2009, 36(5): 409-430.
- [3] REHMAN M, LIU L, WANG Q, et al. Copper environmental toxicology, recent advances, and future outlook: A review[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2019, 26(18): 18003-18016.
- [4] GOMES D G, DEBIASI T V, PELEGRINO M T, et al. Soil treatment with nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles protects the root system and promotes the growth of soybean plants under copper stress[J]. *Plants*, 2022, 11(23): 3245. doi: 10.3390/plants11233245.
- [5] 段文静, 孟妍君, 江丹, 等. 外源褪黑素对盐胁迫下棉花幼苗形态及抗氧化系统的影响[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2022, 30(1): 92-104.
- [6] ACUÑA-CASTROVIEJO D, MARTÍN M, MACÍAS M, et al. Melatonin, mitochondria, and cellular bioenergetics[J]. *Journal of Pineal Research*, 2001, 30(2): 65-74.
- [7] GAO Y, WANG Y, QIAN J, et al. Melatonin enhances the cadmium tolerance of mushrooms through antioxidant-related metabolites and enzymes[J]. *Food Chemistry*, 2020, 330: 127263. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127263.
- [8] SHARIF R, XIE C, ZHANG H, et al. Melatonin and its effects on plant systems[J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2352. doi: 10.3390/molecules23092352.
- [9] GALANO A, TAN D X, REITER R J. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK[J]. *Journal of Pineal Research*, 2013, 54(3): 245-257.
- [10] 杜昕, 李博, 毛鲁泉, 等. 褪黑素对干旱胁迫下大豆产量及 AsA-GSH 循环的影响[J]. *作物杂志*, 2022(1): 174-178.
- [11] JAHAN M S, SHU S, WANG Y, et al. Melatonin alleviates heat-induced damage of tomato seedlings by balancing redox homeostasis and modulating polyamine and nitric oxide biosynthesis[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 414. doi: 10.1186/s12870-019-1992-7.
- [12] 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.
- [13] 陈丽珊, 周红艳, 林伟伟. 外源褪黑素对盐胁迫下水稻苗期碳氮代谢的影响[J/OL]. *生态学杂志*, 2022: 1-11. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20220917.1053.004.html>.
- [14] 张明聪, 何松榆, 秦彬, 等. 外源褪黑素对干旱胁迫下春大豆品种绥农 26 形态、光合生理及产量的影响[J]. *作物学报*, 2021, 47(9): 1791-1805.
- [15] WEI J, LIANG J, LIU D, et al. Melatonin-induced physiology and transcriptome changes in banana seedlings under salt stress conditions[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 938262. doi: 10.3389/fpls.2022.938262.
- [16] ZENG Q Y, YANG C Y, MA Q B, et al. Identification of wild soybean miRNAs and their target genes responsive to aluminum stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12: 182. doi: 10.1186/1471-2229-12-182.
- [17] WEN K, LI X, HUANG R, et al. Application of exogenous glutathione decreases chromium translocation and alleviates its toxicity in soybean (*Glycine max* L.)[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 234: 113405. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113405.
- [18] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 132-181.
- [19] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 142-218.
- [20] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003: 81-83.
- [21] 蔡琪琪, 王堃, 董寅壮, 等. 不同中性盐胁迫对甜菜幼苗光合作用和抗氧化酶系统的影响[J]. *作物杂志*, 2022(1): 130-136.
- [22] ANDRADE F R, DA SILVA G N, GUIMARÃES K C, et al. Selenium protects rice plants from water deficit stress[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 164: 562-570.
- [23] WU C, CAO S, XIE K, et al. Melatonin delays yellowing of broccoli during storage by regulating chlorophyll catabolism and maintaining chloroplast ultrastructure[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2021, 172: 111378. doi: 10.1016/j.postharvbio.2020.111378.
- [24] CUI G, ZHAO X, LIU S, et al. Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 118: 138-149.
- [25] CORNEJO J, TAPIA J, GUERRA F, et al. Variation in copper accumulation at the tissue level of five hybrid poplars subjected to copper stress[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 2017, 228(6): 212. doi: 10.1007/s11270-017-3384-7.
- [26] JALMI S K, BHAGAT P K, VERMA D, et al. Traversing the links between heavy metal stress and plant signaling[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 12. doi: 10.3389/fpls.2018.00012.
- [27] CAO Y, QI C, LI S, et al. Melatonin alleviates copper toxicity via improving copper sequestration and ROS scavenging in cucumber[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2019, 60(3): 562-574.
- [28] XIA H, SHEN Y, DENG H, et al. Melatonin application improves berry coloration, sucrose synthesis, and nutrient absorption in 'Summer Black' grape[J]. *Food Chemistry*, 2021, 356: 129713. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129713.