

吉国强,周 磊,刘志冰.丛枝菌根真菌和褪黑素对多年生黑麦草抗旱性的影响[J].江苏农业科学,2024,52(14):161-168.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.14.023

丛枝菌根真菌和褪黑素对多年生黑麦草抗旱性的影响

吉国强¹,周 磊²,刘志冰³

(1.山西林业职业技术学院,山西太原 030009;2.华裕农业科技有限公司,河北邯郸 057153;3.山西农业大学林学院,山西太谷 030801)

摘要:以多年生黑麦草(*Lolium perenne*)卡特为供试对象,采用盆栽方式,研究叶面喷施褪黑素并接种丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi,AMF)对于干旱胁迫下黑麦草光合及 AsA-GSH 循环的影响。结果表明,与正常水分处理相比,干旱胁迫下多年生黑麦草生物量减少,光合作用不断降低,AsA-GSH 循环中相关酶活性、抗氧化物质和渗透调节相关物质含量呈下降趋势,而膜脂过氧化水平则不断升高。褪黑素处理能够促进 AMF 侵染发育,增加泡囊数和侵入点位数,菌根侵染率达 50.1%~66.5%。接种 AMF 和/或褪黑素处理能够提高干旱胁迫下多年生黑麦草地上部和地下部生物量,提高光合作用,增加多年生黑麦草 AsA-GSH 循环中相关酶(APX、DHAR、MDHAR 和 GR)活性和抗氧化物质(AsA 和 GSH)含量,接种 AMF 和/或褪黑素处理提高了干旱胁迫下多年生黑麦草叶片 P_n 、 T_r 、 G_s 和 WUE,分别提高 23.7%~58.4%、97.8%~346.8%、26.4%~80.6%、26.5%~96.5%,渗透调节物质可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量分别提高 16.4%~39.5%、12.3%~44.1%、13.4%~43.8%,丙二醛含量下降 12.8%~26.7%。综上所述,接种 AMF 和/或褪黑素处理能减少细胞氧化胁迫损伤,降低 MDA 含量并提高渗透调节物质含量,增强植物光合作用能力,显著增加植株生物量,维持 AsA-GSH 循环过程中的相关酶活性以及抗氧化物质含量,来提高黑麦草的抗旱性。

关键词:多年生黑麦草;丛枝菌根真菌;褪黑素;干旱;光合;AsA;GSH

中图分类号:S543⁺.601 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)14-0161-08

缺水干旱是植物经常面临的逆境条件之一,在干旱环境下,植物光合作用、物质循环以及营养代谢等过程受阻,生长状况受到较大影响^[1-2]。褪黑素(melatonin)是一种吲哚杂环类化合物,多分布在动植物及各类微生物中。研究发现,褪黑素可以促进植物生长发育,参与种子萌发、光能合成、营养吸收等活动的调节,同时有利于提高植物对生物和非生物胁迫的抗性^[3-5]。刘领等发现干旱胁迫下外源褪黑素能够提高烟草(*Nicotiana tabacum*)幼苗对光能的捕获与转换,减轻干旱胁迫对烟草幼苗光合作用的气孔限制和非气孔限制,提高过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性来增强烟草幼苗的抗氧化能力,减少丙二醛(MDA)和超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)的产生,提高烟草幼苗对干旱环境的抵抗能力^[6]。另有研究发现,外源褪黑素可以显著提高滁菊(*Chrysanthemum morifolium*)幼苗叶片中脯氨酸、可

溶性蛋白质和可溶性糖等含量,增加渗透调节物质的积累量,维持正常的细胞膜功能,同时保持滁菊幼苗较高的光合速率和水分利用效率^[7]。杨新元等也发现,外源施用褪黑素可显著提升干旱胁迫下向日葵(*Helianthus annuus*)幼苗叶片抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)等抗氧化酶活性,增加抗坏血酸(AsA)和谷胱甘肽(GSH)等抗氧化剂的含量,显著降低 $O_2^- \cdot$ 、MDA、过氧化氢(H_2O_2)含量^[8]。以上研究表明一定含量褪黑素能够提高植物的抗旱性。

丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhiza fungi,AMF)是分布最为广泛的一类球菌门类真菌^[9-10]。AMF 侵染植物根系后,可通过寄主植物来获取营养物质,保证真菌自身生长发育,同时帮助植物增强对外界营养物质的吸收和营养物质的积累,从而达到互惠共生的目的^[11-13]。AMF 作为连接地上和地下生态系统的纽带,对植物的生长发育起到重要作用,AMF 能有效改善土壤的理化性质,增强植物抵抗干旱胁迫的能力,促进植物生长^[14-15]。研究发现,干旱环境下紫花苜蓿(*Medicago sativa*)的生长量和菌根侵染状况受到显著抑制,接种 AMF 增加了土壤中水稳性团聚体(粒径 > 2 mm)数量,有利于土壤

收稿日期:2023-07-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:31971644)。

通信作者:吉国强(1981—)男,山西原平人,硕士,高级工程师,主要从事林学和园林方向研究。E-mail:guoqiang2263@126.com。

中大团聚体(粒径 $>0.25\text{ mm}$)的形成,同时有助于植物体磷含量的积累,提高植物生物量^[16]。李少朋等研究发现,干旱胁迫下接种 AMF 后显著提高了玉米(*Zea mays*)根系侵染率和生物量,接种处理组的玉米植株磷、氮、钙、钾等养分含量显著增加,缓解干旱胁迫对玉米的抑制效应^[17]。孟静静等研究发现,接种 AMF 处理下丹参(*Salvia miltiorrhiza*)叶片可溶性糖、叶绿素、地下部全磷、地下部全氮含量均显著增加,AMF 可通过改善宿主植物根系对土壤水分及营养物质的吸收和利用植物各种生理功能的发挥来抵抗干旱环境,改善丹参生长条件^[18]。

目前,关于 AMF 和褪黑素对植物抗旱性的报道多涉及单一因素的影响,而 AMF 和褪黑素二者联合对植物抗旱性的影响研究则较少。多年生黑麦草(*Lolium perenne*)原产于亚洲和北非等温带区域,是广泛分布于世界各地的禾本科植物之一。在国家大力发展畜牧业的背景下,多年生黑麦草作为一种优质牧草,在我国湖南、四川、云南、贵州等地种植面积较大。多年生黑麦草含有粗蛋白、脂肪和纤维等含量高营养物质,且草质细腻,为各类家禽、牲畜所喜爱,经济效益较高^[19]。生态习性上具有生长速度快、抗病虫害能力强、分蘖多等特性,但多年生黑麦草在干旱或土壤瘠薄时生长状态不良^[20]。本试验拟通过温室栽培,探究 AMF 与褪黑素二者联合提高多年生黑麦草抗旱性的生理机制,对促进干旱胁迫下植物生长发育具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物材料为多年生黑麦草(*Lolium perenne*)品种卡特,种子选自河北省邯郸市华裕农业科技有限公司。褪黑素购于武汉吉立德生物科技有限公司,在室温下避光保存。选用的 AMF 菌种为摩西斗管囊霉(*Funneliformis mosseae*),购自中国农业科学院,接种物主要是基质中的 AMF 孢子、菌丝和菌根根段,经检测 AMF 孢子密度 260 个/50 g。盆栽基质为山西林业职业技术学院校园内的壤土,与草炭按 1:1 体积比混合,基质均经过高压蒸汽灭菌(120 ℃,2 h)后备用。

1.2 试验方法

选取质量上乘、大小均匀的多年生黑麦草种子,先用 7% 次氯酸钠浸泡消毒 30 min,再用无菌水清洗 8 次以上。将消毒后的种子随机播在花盆中,

每盆放置 30 粒。发芽后间苗,每盆保留 20 株。

试验于 2022 年 4—6 月在山西林业职业技术学院空地进行,采用盆栽试验,研究 AMF 接种与褪黑素处理对多年生黑麦草抗旱性的改善作用。共设置 8 个处理组:(1)CK(正常水分供应:85% 土壤持水量,不接种);(2)FM(正常水分接种 AMF 摩西斗管囊霉 *Funneliformis mosseae*,FM);(3)MT(正常水分叶片喷施 75 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素);(4)FM + MT(正常水分接种 AMF 并喷施 75 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素);(5)DS(干旱胁迫,土壤相对含水量控制在 40% 左右);(6)DS + FM(干旱胁迫并接种 AMF);(7)DS + MT(干旱胁迫下喷施 75 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素);(8)DS + FM + MT(干旱胁迫下接种 AMF 并喷施 75 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素),每处理 8 个重复。接种 AMF 处理的剂量为 100 g/盆,对照(CK)则接种相同重量的灭菌 AMF 菌剂(通过高压高温下 121 ℃、101 kPa 灭菌 15 min),以保持一致的接种数量。施用褪黑素的处理用蒸馏水配成 75 $\mu\text{mol/L}$ 的溶液进行叶面喷施(浓度参照李本峰等的研究^[21]设定),以叶片表面形成水滴为准,每间隔 8 h 喷施 1 次,不喷施褪黑素处理则只喷等量清水。通过称重法控制土壤含水量(重量含水量),CK 处理土壤相对含水量(占田间持水量的百分比)控制 85% 左右,DS 处理组土壤相对含水量控制在 40% 左右,每天傍晚补充清水以维持相应的土壤含水量。植物生长期间监控好环境条件,不要出现积水情况,生长后期根据需要可补充一定量的营养液,处理后 2 周测定各项指标。

1.3 指标测定

1.3.1 AMF 侵染率的测定 采集多年生黑麦草的幼嫩根系,清理干净后放入试管中并加入 5% 的氢氧化钾溶液,以没过根系为准,水浴 5 min(80 ℃ 水温)。待样品冷却后用无菌水清洗干净,后在试管中加 2% 浓度稀盐酸浸泡 5 min,去掉稀盐酸后加 0.1% 浓度酸性品红-乳酸甘油染色液在室温下放置 12 h,制片镜检,根据刘润进等的方法^[22]计算菌根侵染率、丛枝着生率、侵入点位数以及泡囊数。

1.3.2 生长指标的测定 每个处理随机选取 10 株,清洗干净并去除水分,用分析天平记录地上部生物量以及地下部生物量。

1.3.3 叶片气体交换参数的测定 采用便携式光合仪 Yaxin-1102G(北京雅欣理仪科技有限公司)进行测定。于晴朗天气上午进行测量,每个处理随机选取 5 盆进行测量,设置便携式光合仪各参数为

光照强度 800 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 叶室温度 25 $^{\circ}\text{C}$, 湿度 60%, 依次读取净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)、水分利用效率(water use efficienc, WUE)等气体交接参数值。

1.3.4 AsA – GSH 循环关键酶和相关物质的测定

采用紫外吸收法测定抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性;脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR)、单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR) 活性、谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性、抗坏血酸 (ASA)、氧化型抗坏血酸 (DHA)、谷胱甘肽 (GSH) 和氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量采用杜听等的方法^[23]进行测定。

1.3.5 采用苯酚法测定叶片可溶性糖含量 采用考马斯亮蓝 G – 250 法测定可溶性蛋白质含量;采用酸性茚三酮比色法测定脯氨酸含量;采用比色法测定丙二醛 (MDA) 含量;以上均采用王学奎等的方法^[24]测定。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010 软件对数据进行整理和制图,所有统计分析均采用 SPSS 16.0 进行统计

分析,通过单因素方差分析 (one – way ANOVA)、双因素方差分析 (two – way ANOVA)、差异显著性检验 (LSD 法, $\alpha = 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 AMF 和褪黑素对黑麦草菌根发育情况的影响

干旱胁迫下,AMF 菌根侵染率、丛枝着生率、侵入位点数及泡囊数均有所降低,干旱胁迫显著抑制了 AMF 对黑麦草根系的侵染,而正常水分或者干旱胁迫下喷施褪黑素有助于促进菌根发育 (表 1)。正常水分下,与 FM 处理相比,FM + MT 处理下的菌根侵染率、泡囊数、丛枝着生率和侵入位点数分别提高 15.7%、6.3%、5.2% 和 14.4%。干旱胁迫下,与 DS + FM 处理相比,DS + FM + MT 处理下的菌根侵染率、泡囊数、丛枝着生率和侵入位点数分别提高 8.4%、9.2%、7.9% 和 11.9%。可见,正常水分或者干旱胁迫下,喷施褪黑素处理对 AMF 发育情况有促进作用。

表 1 AMF 和褪黑素处理下多年生黑麦草的菌根发育情况

处理	菌根侵染率 (%)	单位根长泡囊数 (个/cm)	丛枝着生率 (%)	单位根长侵入位点数 (个/cm)
CK	—	—	—	—
FM	57.5 ± 0.6b	15.8 ± 0.4ab	32.4 ± 0.9ab	9.7 ± 0.4ab
MT	—	—	—	—
FM + MT	66.5 ± 0.8a	16.8 ± 0.4a	34.1 ± 1.8a	11.1 ± 0.7a
DS	—	—	—	—
DS + FM	50.1 ± 0.1c	14.1 ± 0.7b	29.1 ± 1.2b	8.4 ± 0.8b
DS + MT	—	—	—	—
DS + FM + MT	54.3 ± 0.5bc	15.4 ± 0.4ab	31.4 ± 1.0ab	9.4 ± 1.3ab

注:数据表示 3 个重复的平均值 ± 标准差。同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。

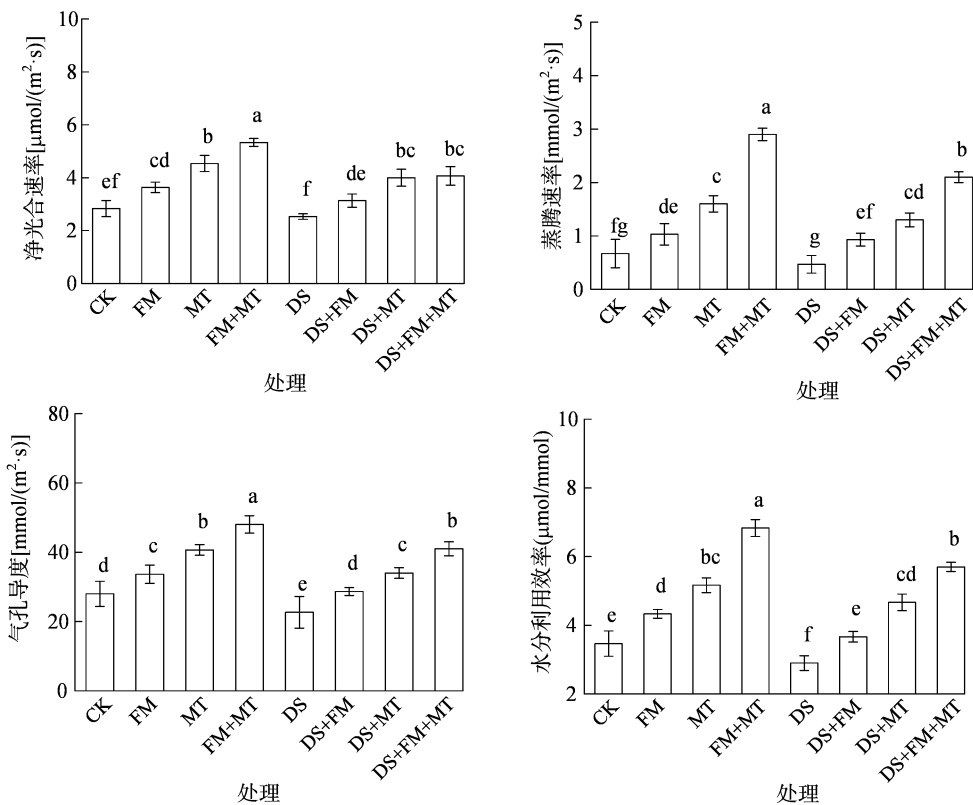
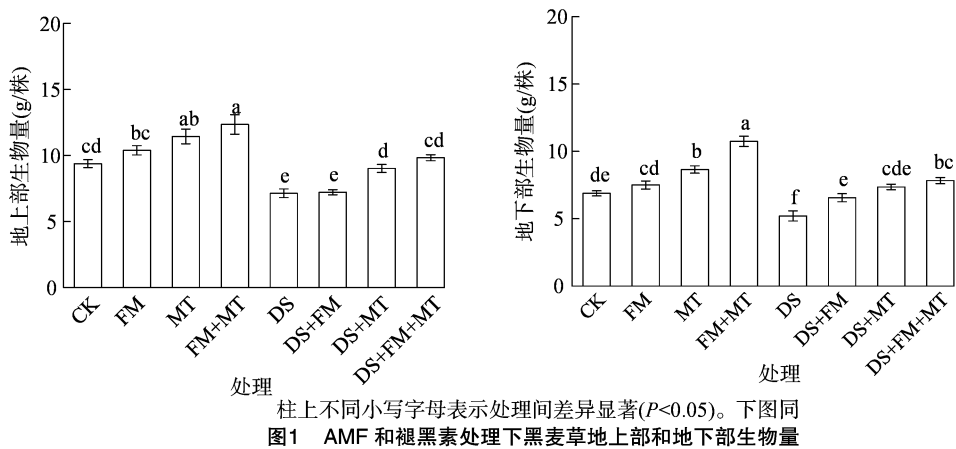
2.2 AMF 和褪黑素对黑麦草生物量的影响

干旱胁迫下,黑麦草地上部生物量和地下部生物量显著降低,而接种 AMF 处理和/或褪黑素处理均能够增加黑麦草的地上部生物量和地下部生物量 (图 1)。正常水分下,与 CK 处理相比,FM 处理下黑麦草的地上部生物量和地下部生物量分别增加 10.7% 和 8.8%;MT 处理下分别增加 22.0% 和 25.5%;FM + MT 处理下分别增加 31.7% 和 56.0%。干旱胁迫下,与 DS 处理相比,DS + FM 处理下黑麦草的地上部生物量差异不显著,地下部生物量增加 25.9%;DS + MT 处理下分别增加 26.3% 和 41.3%;DS + FM + MT 处理下分别增加 37.7% 和

50.3%。可见,正常水分或者干旱胁迫下,接种 AMF 并喷施褪黑素处理对黑麦草地上部和地下部生物量的增加效果优于单一处理。

2.3 AMF 和褪黑素对黑麦草光合作用的影响

由图 2 可见,干旱胁迫下,黑麦草净光合速率 (P_n)、蒸腾速率 (T_r)、气孔导度 (G_s) 和水分利用效率 (WUE) 显著下降,而接种 AMF 处理和/或褪黑素处理均能够提高黑麦草的光合作用。正常水分下,与 CK 处理相比,FM 处理下黑麦草的 P_n 、 T_r 、 G_s 和 WUE 分别提高 28.2%、53.7%、20.3% 和 22.8%;MT 处理下分别增加 60.0%、138.8%、45.3% 和 47.7%;FM + MT 处理下分别增加 88.3%、332.8%、



71.4% 和 95.1%。干旱胁迫下,与 DS 处理相比,DS + FM 处理下黑麦草的 P_n 、 T_r 、 G_s 和 WUE 分别提高 23.7%、97.8%、26.4% 和 26.5%;DS + MT 处理下分别增加 58.1%、176.4%、49.7% 和 61.0%;DS + FM + MT 处理下分别增加 58.4%、346.8%、80.6% 和 96.5%。可见,正常水分或者干旱胁迫下,接种 AMF 并喷施褪黑素处理对光合作用的提升效果优于单一处理。

2.4 AMF 和褪黑素对黑麦草 AsA - GSH 循环关键酶活性的影响

由表 2 可见,干旱胁迫下,黑麦草叶片中抗坏血

酸过氧化物酶 (APX)、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR)、单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性显著下降,而接种 AMF 处理和/或褪黑素处理均能够提高黑麦草叶片中 AsA - GSH 循环关键酶活性。正常水分下,与 CK 处理相比,FM 处理下黑麦草的 APX、DHAR、MDHAR 和 GR 活性分别提高 41.2%、21.8%、15.2% 和 47.8%;MT 处理下分别增加 56.6%、29.3%、43.6% 和 51.7%;FM + MT 处理下分别增加 86.5%、55.9%、77.9% 和 93.7%。干旱胁迫下,与 DS 处理相比,DS + FM 处理下黑麦草的 APX、

DHAR、MDHAR 和 GR 活性分别提高 50.3%、21.3%、27.9% 和 64.2%；DS + MT 处理下分别增加 87.2%、41.1%、67.9% 和 96.3%；DS + FM + MT 处理下分别增加 145.1%、87.4%、140.9% 和

170.6%。可见,正常水分或者干旱胁迫下,接种 AMF 并喷施褪黑素处理对黑麦草 AsA - GSH 循环关键酶活性的提升效果优于单一处理。

表 2 AMF 和褪黑素对黑麦草 AsA - GSH 循环关键酶活性的影响

处理	抗坏血酸过氧化物酶活性 ($\mu\text{mol/g}$)	脱氢抗坏血酸还原酶 活性($\mu\text{mol/g}$)	单脱氢抗坏血酸还原酶活性 ($\mu\text{mol/g}$)	谷胱甘肽还原酶活性 ($\mu\text{mol/g}$)
CK	11.63 \pm 0.45e	40.27 \pm 1.44d	9.80 \pm 0.46de	45.18 \pm 1.15e
FM	16.43 \pm 0.64c	49.06 \pm 1.87bc	11.29 \pm 0.12cd	66.78 \pm 0.75b
MT	18.22 \pm 0.45b	52.06 \pm 0.56b	14.07 \pm 0.55b	68.56 \pm 1.76b
FM + MT	21.69 \pm 0.63a	62.79 \pm 1.54a	17.44 \pm 0.21a	87.52 \pm 2.10a
DS	8.78 \pm 0.57f	33.03 \pm 0.98e	7.05 \pm 0.31f	31.36 \pm 1.37f
DS + FM	13.20 \pm 0.72d	40.07 \pm 0.98d	9.02 \pm 0.20e	51.50 \pm 1.20d
DS + MT	16.44 \pm 0.37c	46.59 \pm 2.42c	11.84 \pm 0.76c	61.55 \pm 1.69c
DS + FM + MT	21.53 \pm 0.70a	61.90 \pm 2.25a	16.98 \pm 0.84a	84.87 \pm 1.80a

2.5 AMF 和褪黑素对黑麦草 AsA - GSH 循环中抗氧化物质含量的影响

由表 3 可见,干旱胁迫下,黑麦草叶片中抗坏血酸(ASA)、谷胱甘肽(GSH)含量以及 ASA/DHA 和 GSH/GSSG 均呈现降低的趋势,接种 AMF 处理和/或褪黑素处理则能够提高黑麦草叶片中 ASA 和 GSH 的含量,同时提高 ASA/DHA 和 GSH/GSSG。正常水分下,与 CK 处理相比,FM 处理下黑麦草的 ASA 含量、GSH 含量、ASA/DHA 和 GSH/GSSG 分别增加 46.8%、27.7%、75.9% 和 40.0%；MT 处理下分别增加 64.8%、49.0%、126.1% 和 73.3%；FM + MT 处理下分别增加 103.7%、81.9%、155.4% 和 193.3%。干旱胁迫下,与 DS 处理相比,DS + FM 处理下黑麦草的 ASA 含量、GSH 含量、ASA/DHA 和 GSH/GSSG 分别增加 45.5%、38.6%、24.8% 和 47.8%；DS + MT 处理下分别增加 57.8%、61.4%、59.4% 和 82.6%；DS + FM + MT 处理下分别增加

103.9%、99.2%、130.8% 和 191.3%。可见,正常水分或者干旱胁迫下,接种 AMF 并喷施褪黑素处理对黑麦草 AsA - GSH 循环中抗氧化物质含量的提升效果优于单一处理。

2.6 AMF 和褪黑素对黑麦草渗透调节物质含量的影响

由图 3 可见,干旱胁迫下,黑麦草叶片中可溶性蛋白、可溶性糖含量下降,脯氨酸以及丙二醛(MDA)含量上升,接种 AMF 处理和/或褪黑素处理能够提高黑麦草叶片中可溶性糖、可溶性蛋白以及脯氨酸含量,而降低 MDA 含量。正常水分下,与 CK 处理相比,FM 处理下黑麦草的可溶性糖含量无显著差异,可溶性蛋白以及脯氨酸含量分别增加 22.9% 和 14.8%,MDA 含量下降 13.3%；MT 处理下可溶性糖、可溶性蛋白以及脯氨酸含量分别增加 11.5%、35.7% 和 25.9%,MDA 含量下降 24.7%；FM + MT 处理下可溶性糖、可溶性蛋白以及脯氨酸

表 3 AMF 和褪黑素对黑麦草 AsA - GSH 循环中抗氧化物质含量的影响

处理	抗坏血酸含量 ($\mu\text{mol/g DW}$)	谷胱甘肽含量 ($\mu\text{mol/g DW}$)	AsA/DHA	GSH/GSSG
CK	8.55 \pm 0.21f	1.55 \pm 0.06e	5.56 \pm 0.15f	0.30 \pm 0.16f
FM	12.55 \pm 0.35d	1.98 \pm 0.04cd	9.78 \pm 0.48c	0.42 \pm 0.06d
MT	14.09 \pm 0.11c	2.31 \pm 0.03b	12.57 \pm 0.28b	0.52 \pm 0.09c
FM + MT	17.42 \pm 0.52a	2.82 \pm 0.11a	14.20 \pm 0.54a	0.88 \pm 0.15a
DS	7.78 \pm 0.35f	1.27 \pm 0.05f	5.35 \pm 0.18f	0.23 \pm 0.07g
DS + FM	11.32 \pm 0.14e	1.76 \pm 0.11de	6.68 \pm 0.28e	0.34 \pm 0.14e
DS + MT	12.28 \pm 0.52de	2.05 \pm 0.08c	8.53 \pm 0.24d	0.42 \pm 0.12d
DS + FM + MT	15.86 \pm 0.40b	2.53 \pm 0.149b	12.35 \pm 0.31b	0.67 \pm 0.08b

含量分别增加、24.0%、46.1%和/36.3%,MDA 含量下降 48.6%。干旱胁迫下,与 DS 处理相比,DS + FM 处理下黑麦草叶片中的可溶性糖、可溶性蛋白以及脯氨酸含量分别增加 16.4%、12.3% 和 13.4%,MDA 含量下降 12.8%;DS + MT 处理下分别增加 31.0%、27.0% 和 27.8%,MDA 含量下降

21.4%;DS + FM + MT 处理下分别增加 39.5%、44.1%和 43.8%,MDA 含量下降 26.7%。可见,正常水分或者干旱胁迫下,接种 AMF 并喷施褪黑素处理对黑麦草可溶性糖、可溶性蛋白以及脯氨酸等渗透调节物质含量的提升效果优于单一处理,对 MDA 含量的减低效应也优于单一处理。

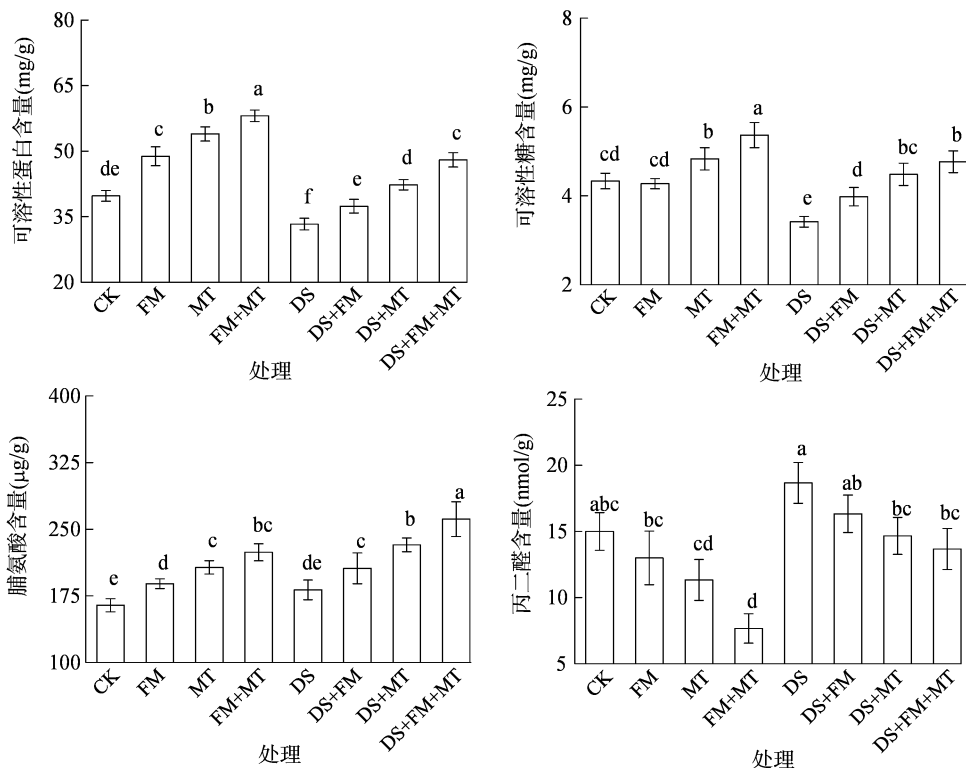


图3 AMF 和褪黑素处理下黑麦草渗透调节物质含量

3 讨论

土壤水分含量直接影响植物干物质的积累和生长发育进程,随着土壤水分含量降低,植物生长发育状况也会随之降低。有研究发现,干旱条件下,AMF 可以主动向植物运输水分和养分,并且形成菌根后根系的输水效率更高,水分运输阻力更小,进而提高植物的抗干旱能力^[25]。目前已有的研究表明,褪黑素在植物中不仅可作为一种信号分子调控植物生长发育,还能抵御各种生物和非生物胁迫,增强植物抗逆性^[26]。褪黑素具有极强的清除氧/氮自由基的功能,并通过激发自由基清除的抗氧化酶系统间接清除氧/氮自由基。此外,褪黑素对菌根共生也有积极的影响,本试验证明,干旱胁迫下,褪黑素能促进 AMF 的生长发育,帮助其侵染多年生黑麦草并形成稳定的共生关系,显著增加多年生黑麦草的生物量。

干旱环境下植物光合作用受到抑制,含水量的变化会引起植物诸多指标的变化,其中包括叶绿素和光合速率的变化。研究表明,植物在干旱胁迫下,叶绿素合成过程受到阻碍,植物的水分供应减少,容易造成气孔导度降低,进而引起叶片摄入 CO₂ 量的减少,净光合速率的值也随之下降^[27]。一般认为,植物减少水分蒸腾是植物遭受干旱初期的特征,随着干旱胁迫的加剧,为维持正常生长,气孔将长时间关闭,以减少水分蒸腾,提高水分利用率^[28]。鲁珊珊等研究发现,中度干旱显著降低了蓝莓菌根侵染率,净光合速率、蒸腾速率、气孔导度也显著下降,接种 AMF 后则显著提高了蓝莓叶片净光合速率、蒸腾速率、气孔导度,AMF 可能通过气孔因素和非气孔因素来提高蓝莓的光合效率,进而增强其抗旱能力^[29]。另有研究发现,叶面喷施褪黑素也能够增加干旱胁迫条件下植物光合作用能力和抗氧化酶活性,邹京南等发现干旱胁迫下大豆生长受到显

著抑制,光合作用和叶绿素荧光参数不断降低,抗氧化酶活性和渗透调节物质含量变化表现为先上升后下降趋势,而膜脂过氧化水平则不断升高;添加外源褪黑素后大豆地上部和地下部鲜干重等显著提高,光合作用能力回升,叶绿素荧光参数下降速率缓解,并增加了大豆叶片抗氧化酶活性和渗透调节物质含量^[30]。本试验也发现,干旱胁迫下黑麦草净光合速率、蒸腾速率、气孔导度和水分利用效率显著下降,而接种 AMF 处理和/或褪黑素处理均能够提高黑麦草的光合作用。这可能是因为 AMF 接种处理下,随着 AMF 在黑麦草根系的定殖,水分利用效率明显增加,水分利用效率的增加通常是允许植物耐受干旱胁迫的典型特征,黑麦草叶片中气孔导度的增加可能与 AMF 诱导的内源激素,包括植物细胞分裂素的变化有关,而褪黑素作为新型的激素,进一步促进了 AMF 的定殖,二者之间协同作用提高植物的光合作用,而有关激素含量的变化则需进一步试验研究。

干旱胁迫条件下,植物体会产生过多的活性氧物质(ROS),过多的 ROS 会抑制抗氧化酶的合成,导致植物细胞遭到破坏。抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环对于活性氧的有效清除有重要作用;ASA 是植物体细胞内糖代谢过程中重要的活性氧清除剂,GSH 作为抗氧化剂能加快 AsA 的再生,两者能够清除逆境胁迫下积累过量的 ROS,缓解细胞氧化损伤。有研究发现,褪黑素可缓解干旱胁迫对植物膜系统的损伤,还可促进干旱胁迫下植物叶片中 AsA 和 GSH 含量的增加^[31-33]。宰学明等也发现接种 AMF 处理的滨梅叶片抗氧化酶(APX, DHAR 和 GR)活性、AsA 和 GSH 含量、氧化还原力(AsA/DHA 和 GSH/GSSG)均显著高于未接种处理^[34]。本试验发现,干旱胁迫下黑麦草 APX、DHAR、MDHAR 和 GR 活性显著下降,AsA、GSH 含量,AsA/DHA 和 GSH/GSSG 均呈现降低的趋势,而接种 AMF 处理和/或褪黑素处理能够提高黑麦草 AsA-GSH 循环中的相关酶活性以及抗氧化剂含量。褪黑素可在干旱胁迫下帮助植物稳定 AsA-GSH 循环,这是植物体内重要的抗氧化防御机制,同时增强 AsA-GSH 循环清除 ROS 的能力^[35]。植物面对非生物胁迫时,可以通过次生代谢合成一些小分子化合物作为抗氧化剂来清除大量的 ROS,这种小分子化合物包括多酚类、黄酮类、单宁类、花色苷类、酚酸类化合物等^[36],而接种 AMF 可能激活了

次生代谢产物的合成基因或者相关代谢酶活性,合成次生代谢产物可能在提高植物抗旱过程中起重要作用,但其具体的作用机制还需要进一步试验加以证明。

干旱胁迫会引起植物细胞膜脂质过氧化,丙二醛(MDA)含量的高低可以体现植物对逆境条件反应的强弱,植物可以通过调节体内可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸等渗透调节物质的高低来缓解逆境胁迫带来的危害。有研究发现,AMF 通过增加植物中可溶性糖、可溶性蛋白的含量,降低丙二醛含量,增加植物叶片含水量,缓解干旱带来的胁迫效应^[37-38]。范海霞等发现褪黑素能够提高干旱胁迫下牡丹品种凤丹(*Paeonia ostia* 'Fengdan')幼苗抗氧化和渗透调节能力,促进干旱胁迫下牡丹幼苗生长,降低 MDA 含量,促进渗透调节物质的积累^[39]。本试验结果与之一致,干旱胁迫条件下,黑麦草细胞膜遭受损伤,MDA 含量升高,可溶性蛋白、可溶性糖以及脯氨酸含量均表现为降低趋势,而接种 AMF 并配施褪黑素能够有效缓解植物过氧化损伤,增强植物抗性,使黑麦草叶片 MDA 含量下降,由于 AMF 的菌丝能够与黑麦草根系相互作用,促进根系对水分及矿物质营养元素的吸收,增加了植物脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等渗透调节物质的含量,提高抗氧化酶活性,从而增强了黑麦草的抗旱性。

4 结论

综上所述,干旱胁迫下黑麦草生长受抑制,积累过量膜脂过氧化产物,使细胞产生氧化胁迫,AsA-GSH 循环受阻,光合作用下降。而喷施 75 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素能够促进 AMF 对黑麦草的侵染,增加泡囊数和侵入点位数。褪黑素配合 AMF 接种能减少细胞氧化胁迫损伤,降低 MDA 含量并提高渗透调节物质含量,通过增加叶片水分利用效率、净光合速率、蒸腾速率和气孔导度来增强多年生黑麦草光合能力,显著增加植株的地上部和地下部生物量,维持 AsA-GSH 循环过程中的相关酶活性以及抗氧化物质 AsA 和 GSH 的含量,来提高黑麦草的抗旱性。

参考文献:

- [1] Beigi A, Ghooshechi F, Moghaddam H R T, et al. Effect of methyl jasmonate and potassium and their combined action on drought tolerance of fodder corn[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2023, 70(5): 102.

- [2] 裴 斌,张光灿,张淑勇,等. 土壤干旱胁迫对沙棘叶片光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报,2013,33(5):1386 – 1396.
- [3] Bajwa V S, Shukla M R, Sherif S M, et al. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Pineal Research,2014,56(3):238 – 245.
- [4] Zhang J R, Zeng B J, Mao Y W, et al. Melatonin alleviates aluminium toxicity through modulating antioxidative enzymes and enhancing organic acid anion exudation in soybean [J]. Functional Plant Biology,2017,44(10):961 – 968.
- [5] Hasan M, Ahammed G J, Sun S C, et al. Melatonin inhibits cadmium translocation and enhances plant tolerance by regulating sulfur uptake and assimilation in *Solanum lycopersicum* L. [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2019,67(38):10563 – 10576.
- [6] 刘 领,李 冬,马宜林,等. 外源褪黑素对干旱胁迫下烤烟幼苗生长的缓解效应与生理机制研究[J]. 草业学报,2019,28(8):95 – 105.
- [7] 吴 燕,连洪燕,牟雪姣,等. 干旱胁迫下叶面喷施褪黑素对滁菊幼苗生理生化特性的影响[J]. 西北植物学报,2016,36(11):2241 – 2246.
- [8] 杨新元. 外源褪黑素对干旱胁迫下向日葵幼苗生长、光合及抗氧化系统的影响[J]. 华北农学报,2019,34(4):113 – 121.
- [9] Abdel – Lateif K, Bogusz D, Valérie H. The role of flavonoids in the establishment of plant roots endosymbioses with arbuscular mycorrhiza fungi, rhizobia and *Frankia bacteria* [J]. Plant Signaling & Behavior, 2012,7(6):636 – 641.
- [10] Ngosong C, Gabriel E, Ruess L. Collembola grazing on arbuscular mycorrhiza fungi modulates nutrient allocation in plants [J]. Pedobiologia,2014,2014,57(3):171 – 179.
- [11] 韦莉莉,卢昌熠,丁 晶,等. 丛枝菌根真菌参与下植物 – 土壤系统的养分交流及调控[J]. 生态学报,2016,36(14):4233 – 4243.
- [12] 何树斌,郭理想,李 菁,等. 丛枝菌根真菌与豆科植物共生体研究进展[J]. 草业学报,2017,26(1):187 – 194.
- [13] 蒲子天,张 林,张 弛,等. 丛枝菌根真菌与植物共生影响植物水分状态的研究进展[J]. 土壤,2022,54(5):882 – 889.
- [14] 徐丽娇,郝志鹏,谢 伟,等. 丛枝菌根真菌根外菌丝跨膜 H^+ 和 Ca^{2+} 流对干旱胁迫的响应[J]. 植物生态学报,2018,42(7):764 – 773.
- [15] 邢 丹,王震洪,申 刚,等. 丛枝菌根真菌对岩溶区植物水分吸收利用的促进作用探讨[J]. 世界林业研究,2019(3):24 – 29.
- [16] 叶佳舒,李 涛,胡亚军,等. 干旱条件下 AM 真菌对植物生长和土壤水稳定性团聚体的影响[J]. 生态学报,2013,33(4):1080 – 1090.
- [17] 李少朋,毕银丽,陈岫圳,等. 干旱胁迫下 AM 真菌对矿区土壤改良与玉米生长的影响[J]. 生态学报,2013,33(13):4181 – 4188.
- [18] 孟静静,贺学礼. 干旱胁迫下 AM 真菌对丹参生长和养分含量的影响[J]. 河北农业大学学报,2011,34(1):51 – 55.
- [19] 王 聪,张登辉,魏占虎,等. 金盏花籽、串叶松香草与多年生黑麦草营养成分的对比分析研究[J]. 畜牧兽医杂志,2020,39(6):4 – 6.
- [20] 石永红,万里强,刘建宁,等. 多年生黑麦草抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. 草地学报,2010,18(5):669 – 672.
- [21] 李本峰,杜红梅. 褪黑素预处理对多年生黑麦草抗旱性的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2018,36(3):21 – 26.
- [22] 刘润进,陈应龙. 菌根学[M]. 北京:科学出版社,2007.
- [23] 杜 听,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,2022,38(1):174 – 178.
- [24] 王学奎. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [25] 高文礼,陈晓楠,伊力努尔·艾力,等. 干旱及复水条件下接种 AMF 和根瘤菌对疏叶骆驼刺根系生长的影响[J]. 西北植物学报,2022,42(7):1189 – 1197.
- [26] 薛永伟,王文娟,付娟娟. 褪黑素调控植物生物与非生物胁迫应答的分子机制研究进展[J]. 农业科学,2019,9(4):323 – 330.
- [27] Grantz D A, Paudel R, Vu H B, et al. Diel trends in stomatal response to ozone and water deficit: a unique relationship of midday values to growth and allometry in Pima cotton [J]. Plant Biology, 2016,18(5):37 – 46.
- [28] 郭卫华,李 波,黄永梅,等. 不同程度的水分胁迫对中间锦鸡儿幼苗气体交换特征的影响[J]. 生态学报,2004(12):2716 – 2722.
- [29] 鲁珊珊,陈乒乓,刘 微,等. 干旱胁迫条件下 AM 真菌对蓝莓光合特性及矿质元素含量的影响[J]. 中国农学通报,2019,35(5):31 – 35.
- [30] 邹京南,曹 亮,王梦雪,等. 外源褪黑素对干旱胁迫下大豆结荚期光合及生理的影响[J]. 生态学杂志,2019,38(9):2709 – 2718.
- [31] 张融雪,孙 玥,苏京平,等. 植物褪黑素研究进展[J]. 生物技术进展,2021,11(3):297 – 303.
- [32] 梁 佳,胡朝阳,谢志明,等. 外源褪黑素缓解甜高粱幼苗干旱胁迫的生理效应[J]. 草业学报,2023,32(7):206 – 215.
- [33] 李佳佳,门海涛,高丽美. 褪黑素的生理功能及应用研究进展[J]. 江苏农业科学,2023,51(8):17 – 26.
- [34] 宰学明,郝振萍,张焕仕,等. NaCl 胁迫下 AM 真菌对滨梅叶片中抗坏血酸 – 谷胱甘肽循环的影响[J]. 植物生理学报,2013,49(1):41 – 46.
- [35] 石光达,康 鹏,潘雅清,等. 干旱复水条件下外源褪黑素对玉米幼苗生长及生理特性的影响[J]. 安徽农业科学,2021,49(24):60 – 66.
- [36] Jiang Y N, Xie Q J, Wang W X, et al. Medicago AP2 – domain transcription factor *WR15a* is a master regulator of lipid biosynthesis and transfer during mycorrhizal symbiosis [J]. Molecular Plant, 2018,11(11):1344 – 1359.
- [37] 刘润进,唐 明,陈应龙. 菌根真菌与植物抗逆性研究进展[J]. 菌物研究,2017,15(1):70 – 88.
- [38] 李月灵,金则新,罗光宇,等. 干旱胁迫下接种丛枝菌根真菌对七子花非结构性碳水化合物积累及 C、N、P 化学计量特征的影响[J]. 应用生态学报,2022,33(4):963 – 971.
- [39] 范海霞,赵 飒,辛国奇,等. 外源褪黑素对干旱胁迫下牡丹幼苗生理特性的影响[J]. 生物技术通报,2020,36(6):63 – 72.