

褪黑素对干旱胁迫下花椒影响的生理和转录组分析

谢芳¹,任利明¹,丁飞²,张硕新^{1*}

(1. 西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100;2. 聊城大学 生命学院,山东 聊城 252000)

摘要:为了探究褪黑素(MT)对干旱胁迫下花椒的影响和调控机制,以花椒幼苗为试验材料,叶面喷施 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的褪黑素后进行干旱处理,在胁迫第1天和第7天测定光系统II最大光化学效率(Fv/Fm)、光合电子传递速率(ETR)、活性氧(ROS)含量、丙二醛(MDA)含量、抗氧化酶活性和可溶性糖(SS)含量,并进行转录组分析。结果表明,MT处理的叶片表现出比未处理叶片更高的Fv/Fm、ETR、抗氧化酶活性、SS以及更低的ROS和MDA含量。京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集的重要通路是淀粉与蔗糖代谢和植物激素信号转导。MT上调了淀粉与蔗糖代谢途径中与蔗糖磷酸合酶相关基因的表达,催化蔗糖合成,从而使可溶性糖含量增加,这与生理水平上可溶性糖含量升高趋势一致。MT也促进了植物激素信号转导途径中生长素亚途径与AUX1、AUX/IAA、ARF及GH3相关的基因表达上调。综上所述,干旱胁迫抑制花椒幼苗的生长,而施用MT可以缓解干旱胁迫对花椒的伤害,提高其抗旱能力。

关键词:花椒;干旱胁迫;褪黑素;生理响应;转录组分析

中图分类号:Q945.79

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2023)04-0001-10

Physiological and Transcriptomic Analyses of the Effects of Melatonin on *Zanthoxylum bungeanum* Under Drought Stress

XIE Fang¹, REN Li-ming¹, DING Fei², ZHANG Shuo-xin^{1*}

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China;

2. College of Life Sciences, Liaocheng University, Liaocheng 252000, Shandong, China)

Abstract: In order to explore the effects and regulation mechanisms of melatonin (MT) on *Zanthoxylum bungeanum* under drought stress, the PSII maximum photochemical efficiency (Fv/Fm), electron transfer rate (ETR), reactive oxygen species (ROS) content, malondialdehyde (MDA) content, antioxidant enzyme activity and soluble sugar (SS) content in the seedlings of *Z. bungeanum* with $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ melatonin application were analyzed after drought stress, and transcriptome analysis was carried out. The results indicated that MT-treated plants showed higher Fv/Fm, ETR, antioxidant enzyme activity and SS content, as well as lower ROS and MDA contents than those untreated plants. The important pathway of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment were starch and sucrose metabolism and plant hormone signal transduction. MT up-regulated the expression of genes related to sucrose phosphate synthase in the starch and sucrose metabolic pathway of *Z. bungeanum* under drought stress, induced the sucrose synthesis and increased soluble sugar content, which was consistent with the increasing trend of soluble sugar content at the physiological level. Meanwhile, MT also promoted the up-regulation of AUX1, AUX/IAA, ARF and GH3 related genes in plant hormone signal transduction pathway. In conclusion, drought

收稿日期:2022-05-19 修回日期:2022-07-29

基金项目:教育部“245 陕西秦岭森林生态系统国家野外科学观测研究站运行费”。

第一作者:谢芳。研究方向:植物生理生态。E-mail: xiefang@nwfufu.edu.cn

* 通信作者:张硕新,博士,教授,博士生导师。研究方向:森林生态、植物生理生态和景观生态。E-mail: sxzhang@nwfufu.edu.cn

stress inhibits the growth of *Z. bungeanum* seedlings. The application of MT can ameliorate drought-induced damages and improve the drought resistance of *Z. bungeanum*.

Key words: *Zanthoxylum bungeanum*; drought stress; melatonin; physiological response; transcriptome analysis

花椒 (*Zanthoxylum bungeanum*) 是芸香科 (Rutaceae) 最重要的经济树种之一, 在中国有悠久的栽培历史^[1], 具有很高的经济价值和生态价值。花椒根系发达, 固土能力强, 耐旱性强, 广泛种植于缺水地区^[2]。干旱导致花椒生长不良、花期推迟和落花落果, 最终花椒的产量和品质降低。因此, 干旱已成为花椒产业发展的阻碍^[3-4]。干旱影响植物的生理响应和基因表达。干旱胁迫导致植物气孔关闭、光系统受到损伤, 从而抑制了光合作用^[5]。同时, 植物受到干旱胁迫会产生过量活性氧 (ROS), 造成膜脂质过氧化, 最终细胞膜系统受损^[6]。植物也进化出不同的策略来抵御干旱胁迫的有害影响, 其通过提高抗氧化酶的活性和积累渗透调节物质来缓解干旱造成的氧化伤害^[7]。此外, 植物可以调节分子水平基因的表达来响应干旱胁迫^[8]。例如, 关思静等^[9] 研究结果表明干旱条件下甘草叶片通过诱导保护酶基因的表达来调节抗氧化酶活性, 从而减轻植株损伤。然而植物的内部防御机制不足以应对严重和长期的干旱胁迫^[10]。因此寻找一种能够有效提高花椒植株抗旱性的方法对保障花椒生产有重要意义, 而植物生长调节剂的应用被认为是解决这一问题的高效的和生态友好的方法^[11]。

褪黑素 (N-乙酰-5-甲氧基色胺, melatonin) 是一种天然的吲哚类化合物, 在动植物体内普遍存在^[12]。许多研究表明, 褪黑素是一种天然的自由基清除剂和强大的抗氧化剂, 在提高植物非生物胁迫的耐受性方面发挥重要作用, 其可以直接清除植物体内的活性氧, 维持氧化还原动态平衡, 调节抗氧化酶、脯氨酸代谢和次生代谢产物的基因水平, 以减轻干旱胁迫对植物造成的损害^[13-14]。Wang 等^[8] 对枇杷的研究表明, 褪黑素处理能有效减少干旱胁迫下幼苗活性氧的积累, 提高光合作用效率和调控淀粉与蔗糖代谢途径蔗糖合成酶基因的表达。此外, 外源褪黑素通过抑制过氧化氢的积累, 促进活性氧清除, 调控与谷胱代谢、钙信号转导和茉莉酸生物合成相关的基因来提高玉米的抗旱性^[15]。目前, 褪黑素对干旱胁迫下花椒的影响尚未见报道, 其潜在的生理和分子机制也尚不清楚。因此, 本研究以花椒幼苗为试验材料, 探讨褪黑素对花椒干旱胁迫的生理响应及可能的分子机制, 为进一步阐明褪黑素调控花椒抗旱性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2021 年 9—10 月在西北农林科技大学人工气候室内进行, 环境条件: 温度 25 ℃, 湿度 60%, 白天/夜为 14/10 h。试验材料为花椒 (*Z. bungeanum*) 幼苗, 品种为大红袍, 购于陕西省韩城市三川秦苗木公司。花椒苗龄 6 个月, 定植于内径 18 cm, 深 10 cm 的塑料盆内, 栽培基质为按比例混合的风干土和腐殖质 (4 : 1), 每桶装土 2 kg, 土壤田间持水量为 25.5%。选取长势一致的花椒幼苗随机分成 4 组, 随机选取 2 组, 每天 19:00 喷施褪黑素, 剩余 2 组喷施蒸馏水, 隔天喷 1 次, 共喷 5 次, 随后进行停止浇水胁迫处理。试验设置 4 个处理, 每个处理 30 株幼苗, 3 个生物学重复。处理如下: 1) CK: 叶面喷施蒸馏水 + 正常供水; 2) CKMT: 叶面喷施 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 褪黑素 + 正常供水; 3) DR: 叶面喷施蒸馏水 + 干旱处理; 和 4) DRMT: 叶面喷施 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 褪黑素 + 干旱处理。其中褪黑素的浓度为 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (依据预实验筛选出的浓度)。正常供水土壤含水量是土壤田间持水量的 100%, 每天 20:00 称重补充散失水分; 干旱处理为停止浇水 7 d, 第 7 天土壤含水量为田间持水量的 30%~35%, 达到重度胁迫^[16]。在干旱处理第 1 天和第 7 天采集从下往上数第 9—11 叶位的叶片, 在液氮中快速冷冻后保存在 -80℃ 的冰箱中, 用于后续测定。

1.2 测定方法

1.2.1 叶绿素荧光参数 用便携式荧光仪 (Dual-PAM-100, Walz, Germany) 测定干旱胁迫第 1 天和第 7 天花椒完全展开叶, 每个处理至少测 5 株。暗适应 30 min 后进行测定, 得到最大光化学效率 (F_v/F_m) 及电子传递速率 (ETR)。

1.2.2 生理指标测定 丙二醛 (MDA) 含量用硫代巴比妥酸法测定^[17], 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性用氮蓝四唑法测定^[18], 过氧化物酶 (POD) 活性用愈创木酚显色法测定^[19], 过氧化氢酶 (CAT) 活性用紫外吸收法测定^[20]。活性氧包括超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 和过氧化氢 (H_2O_2), 超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 含量依据 Zhang 等^[21] 的方法测定, 过氧化氢 (H_2O_2) 和可溶性糖含量分别使用过氧化氢含量检测试剂盒和植物可溶性糖含量试剂盒 (可见分光光度法) (北京索莱宝科技

有限公司)测定。

1.2.3 转录组测序和数据分析 取 CK-7d、CK-MT-7d、DR-7d 和 DRMT-7d 的花椒叶片,每个处理 2 个生物学重复,液氮速冻后用干冰保存运输,送北京诺禾致源公司进行转录组测序。用天根多糖多酚植物试剂盒(天根生化科技,北京)提取总 RNA,质量检测后在 Illumina HiSeq 平台上进行测序,将过滤原始数据获得的 clean reads 与竹叶花椒参考基因组^[22]进行比对。

用 DESeq2 软件(1.20.0)筛选不同比较间的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),筛选标准为 $\log_2(\text{fold change}) \geq 0$ 和 $\text{padj} \leq 0.05$ 。通过 clusterProfiler(3.8.1)软件实现差异表达基因的基因本体(Gene Ontology, GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析。 $\text{padj} < 0.05$ 时,表示 DEGs 在注释的 GO term 和 pathway 中显著富集。

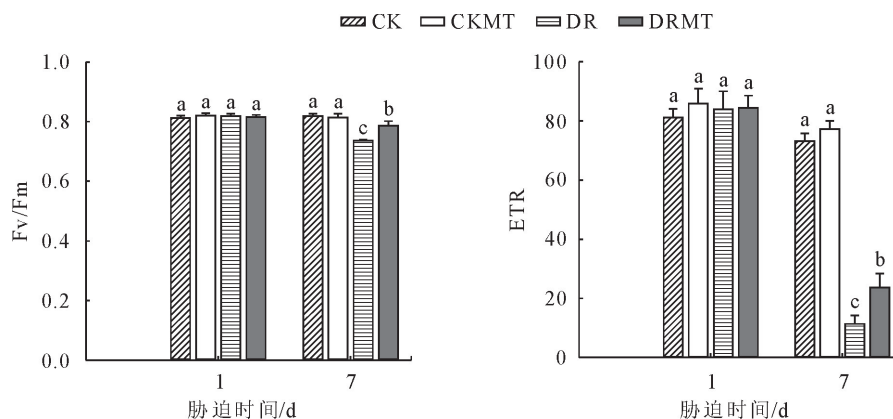
1.3 统计学分析

采用 SPSS(version 22.0; SPSS Inc, Chicago, IL, USA)进行方差分析,数据用 Duncan 多重比较法进行统计学分析, $P < 0.05$ 代表不同比较间差异显著。使用 SigmaPlot 12.5 绘制图形。所有值均以 3 个独立生物学重复的平均值 \pm SD 表示,

2 结果与分析

2.1 褪黑素对干旱胁迫下花椒叶绿素荧光参数的影响

在正常水分条件下,施用 MT 对 F_v/F_m 和 ETR 没有明显影响。干旱处理后,花椒叶片 F_v/F_m 和 ETR 显著下降,DRMT 与 CK 相比分别下降了 4% 和 68%,DR 分别下降了 10% 和 84%。MT 处理的叶片 F_v/F_m 和 ETR 显著高于单纯的干旱胁迫。DRMT 的 F_v/F_m 和 ETR 分别是 DR 的 1.1 倍和 2.1 倍(图 1)。结果表明,褪黑素处理减轻了干旱对光合的抑制作用。



CK:正常供水;CKMT:褪黑素处理+正常供水;DR:干旱处理;DRMT:褪黑素处理+干旱处理。同组间不同小写字母代表不同处理间差异性显著($P < 0.05$)。下同。

图1 褪黑素对干旱胁迫下花椒叶绿素荧光参数的影响

Fig. 1 Effect of melatonin on chlorophyll II fluorescence parameters of *Z. bungeanum* under drought stress

2.2 褪黑素对干旱胁迫下花椒活性氧含量的影响

干旱胁迫显著增加了花椒叶片中 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 的含量,DR 与 CK 相比,分别提高了 2.7 倍和 1.9 倍,而 DRMT 分别为 CK 的 2.0 倍和 1.4 倍。MT 处理表现出比未经 MT 处理更低的 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 含量,DRMT 与 DR 相比,分别降低了 26% 和 27% (图 2)。由此可知,褪黑素预处理的花椒能够减少叶片中活性氧的积累。

2.3 褪黑素对干旱胁迫下花椒丙二醛含量的影响

土壤正常供水时,不同处理花椒叶片 MDA 含量没有明显的差异。胁迫处理 7 d 后,叶片 MDA 的含量显著增加,DR 和 DRMT 分别增加了 55% 和 45%。DRMT 的 MDA 含量显著低于 DR,低了

17% (图 3)。这说明,在干旱条件下,褪黑素处理能够降低花椒叶片的丙二醛含量。

2.4 褪黑素对干旱胁迫下花椒抗氧化酶活性的影响

MT 对正常条件下叶片抗氧化酶活性没有明显的作用。在干旱条件下,花椒叶片的 SOD、POD 和 CAT 活性有相同的变化趋势,即胁迫后活性均显著增加,分别是 CK 的 1.2、1.8 倍和 1.5 倍,而 MT 处理进一步增加了干旱条件下 SOD、POD 和 CAT 的活性,与未经 MT 处理的叶片相比,分别增加了 18%、18% 和 17% (图 4)。因此,褪黑素能够提高干旱胁迫下花椒叶片的抗氧化能力。

2.5 褪黑素对干旱胁迫下花椒可溶性糖含量的影响

水分充足时,施用 MT 对不同处理的可溶性糖含量没有显著的影响。干旱处理显著增加了花椒叶

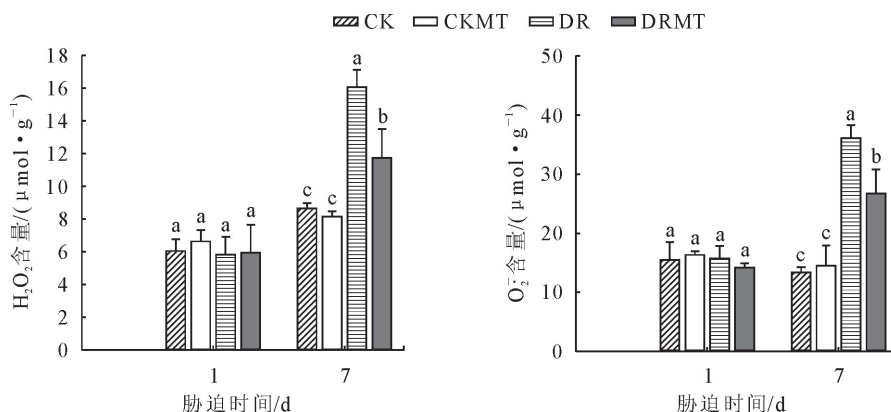


图2 褪黑素对干旱胁迫下花椒活性氧含量的影响

Fig. 2 Effect of melatonin on ROS content of *Z. bungeanum* under drought stress

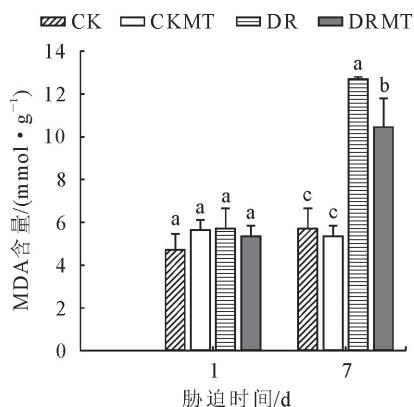


图3 褪黑素对干旱胁迫下花椒丙二醛含量的影响

Fig. 3 Effect of melatonin on MDA content of *Z. bungeanum* under drought stress

片可溶性糖的含量,比CK增加了65%,而MT处理可溶性糖含量显著高于单纯的干旱胁迫,与DR相比增加了28%(图5)。可见,褪黑素可以提高植株可溶性糖的积累。

2.6 转录组测序数据质量评估

为了揭示褪黑素对干旱胁迫下花椒影响的分子机制,对胁迫第7天的花椒叶片进行了转录组测序分析,构建了8个cDNA文库,测序文库数据见表1。测序共获得352 533 560条clean reads,总计52.87 Gb。每个文库获得的平均clean reads均超过6 Gb, Q_{20} 值均 $>97\%$, Q_{30} 值均 $>93\%$,GC含量为44.04%~45.07%,各处理clean reads与参考基因组的总体比率为62.16%~72.48%。结果表明,转录组测序获得的数据质量高,可以用于进一步的分析。

2.7 差异表达基因筛选

基于对8个文库的测序,使用 $\log_2(\text{fold change}) \geq 0$ 和 $\text{padj} < 0.05$ 来筛选差异表达基因。在DR/CK比较中,共筛选出了13 259个DEGs(5 890个基因上调,7 390个基因下调)。在DRMT/CK比较中,共筛

选出了14 228个DEGs(6 435个基因上调,7 793个基因下调)。在DRMT/DR比较中,共筛选出了

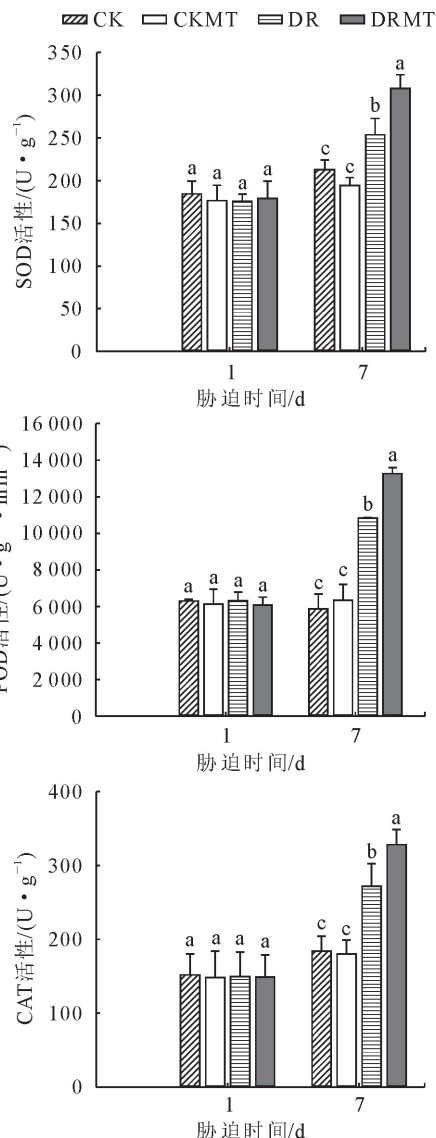


图4 褪黑素对干旱胁迫下花椒抗氧化酶活性的影响

Fig. 4 Effect of melatonin on antioxidant enzyme activity of *Z. bungeanum* under drought stress

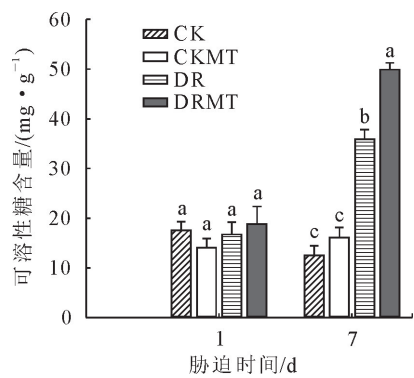


图 5 褪黑素对于干旱胁迫下花椒可溶性糖含量的影响

Fig. 5 Effect of melatonin on soluble sugars content of *Z. bungeanum* under drought stress

1 676 个 DEGs(561 个基因上调,1 115 个基因下调)。DRvsCK、DRMTvsCK 和 DRMTvsDR 特异表达基因数量分别为 1 850、3 037 个和 380 个(图 6)。由此可见,褪黑素可以调节更多的基因来响应干旱胁迫。

表 1 花椒幼苗测序数据统计

Table 1 Statistics of *Z. bungeanum* seedlings sequence data

样品	过滤后数据	数据大小/Gb	错误率(%)	Q ₂₀ 值(%)	Q ₃₀ 值(%)	GC 含量(%)	总体比对率(%)
CK1	44142110	6.62	0.03	97.91	93.82	44.75	71.78
CK2	41226158	6.18	0.02	98.06	94.12	44.62	70.99
CKMT1	42286204	6.34	0.02	98.18	94.43	45.07	72.10
CKMT2	46700162	7.01	0.03	97.99	93.90	44.56	72.48
DR1	45409296	6.81	0.03	97.95	93.94	44.58	63.78
DR2	45279164	6.79	0.03	97.67	93.39	44.04	62.16
DRMT1	45551108	6.83	0.03	97.70	93.54	44.32	66.66
DRMT2	41939358	6.29	0.03	97.99	93.99	44.38	67.40

2.9 差异表达基因 KEGG 富集分析

为了确定褪黑素参与花椒干旱胁迫的主要代谢途径,对差异表达基因进行 KEGG pathway 富集分析,重点关注 DRMTvsDR 中上调 DEGs 的 pathway。富集分析散点图结合 DEGs 数量确定了重要代谢途径(图 8)。DRMTvsDR 上调 DEGs 显著富集的 pathway 是淀粉与蔗糖代谢途径(starch and sucrose metabolism)。此外,植物激素信号转导(plant hormone signal transduction)也是关键途径。

2.10 淀粉与蔗糖代谢途径相关差异基因

在淀粉与蔗糖代谢途径中,DRMTvsDR 有 20 个差异表达基因,其中 15 个基因上调,包括 7 个编码淀粉水解酶,如 β -葡萄糖苷酶(3.2.1.21)、 α -淀粉酶(3.2.1.1)、 α -葡聚糖磷酸化酶(2.4.1.1)、异淀粉酶(3.2.1.68)和 β -淀粉酶(3.2.1.2)的基因,6 个编码淀粉合成酶,如 1,4- α -葡聚糖分支酶(2.4.1.18)、葡萄糖-6-磷酸异构酶(5.3.1.9)、颗粒结合淀粉合酶(2.4.1.242)和淀粉合成酶(2.4.1.21)等的基因,

2.8 差异表达基因 GO 富集分析

为了更深入地了解在干旱胁迫下褪黑素处理的花椒幼苗 DEGs 的生物学功能,进行了 GO 富集分析(图 7)。GO 富集分析是将 DEGs 映射到 Gene Ontology 数据库的各个 term 中进行 GO 注释。GO term 分为生物学过程(biological process,BP)、细胞组分(cellular component,CC)和分子功能(molecular function,MF)3 大类。本研究为了探究褪黑素对于干旱胁迫下花椒幼苗分子调控机制的影响,重点关注 DRMTvsDR 比较间的差异表达基因。结果表明,DRMTvsDR 比较中 DEGs 富集到了 856 个 term 中,其中在 3 个 term 显著富集($P<0.05$)。其中,生物学过程(BP)有 1 个 term,分子功能(MF)有 2 个 term。显著富集的 term($P<0.05$)主要和防御响应(defense response)、钙离子结合(calcium ion binding)和序列特异性 DNA 结合(sequence-specific DNA binding)相关。

1 个编码海藻糖磷酸酶(3.1.3.12)的基因和 1 个编码蔗糖磷酸合酶(2.4.1.14)的基因;5 个基因下调,包括 4 个编码淀粉水解酶,如 β -呋喃果糖苷酶(3.2.1.26)和 α -淀粉酶(3.2.1.1)等的基因,1 个海藻糖磷酸合酶/磷酸酶(2.4.1.15 和 3.1.3.12)的基因(图 9)。其中,海藻糖磷酸合酶/磷酸酶参与海藻糖的合成,蔗糖磷酸合酶参与蔗糖的合成。

2.11 植物激素信号转导相关差异基因

在植物激素信号转导途径中,共有 20 个被富集的 DEGs,与 6 个亚途径相关联(图 10)。这包括 7 个来自生长素(IAA)亚途径的 DEGs、4 个来自细胞分裂素(CTK)亚途径的 DEGs、1 个来自脱落酸(ABA)亚途径的 DEGs。还包括 3 个来自油菜素类固醇(BR)亚途径的 DEGs、4 个来自茉莉酸(JA)亚途径的 DEGs,以及 1 个来自水杨酸(SA)亚途径的 DEGs。在 DRMT/DR 比较中,生长素亚途径,5 个基因上调,包括编码生长素输入蛋白(AUX)、生长素反应蛋白(AUX/IAA)、生长素反应因子(ARF)、吲哚-3-乙酸酰胺合成酶(GH3)等的基因,2 个编码

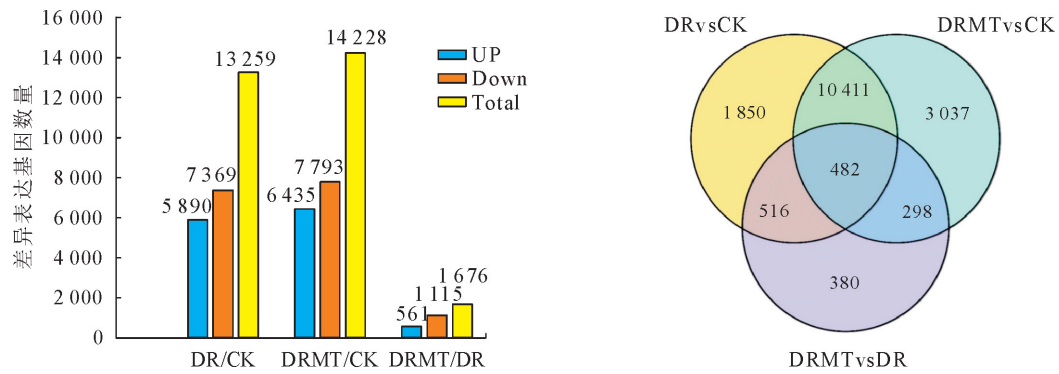
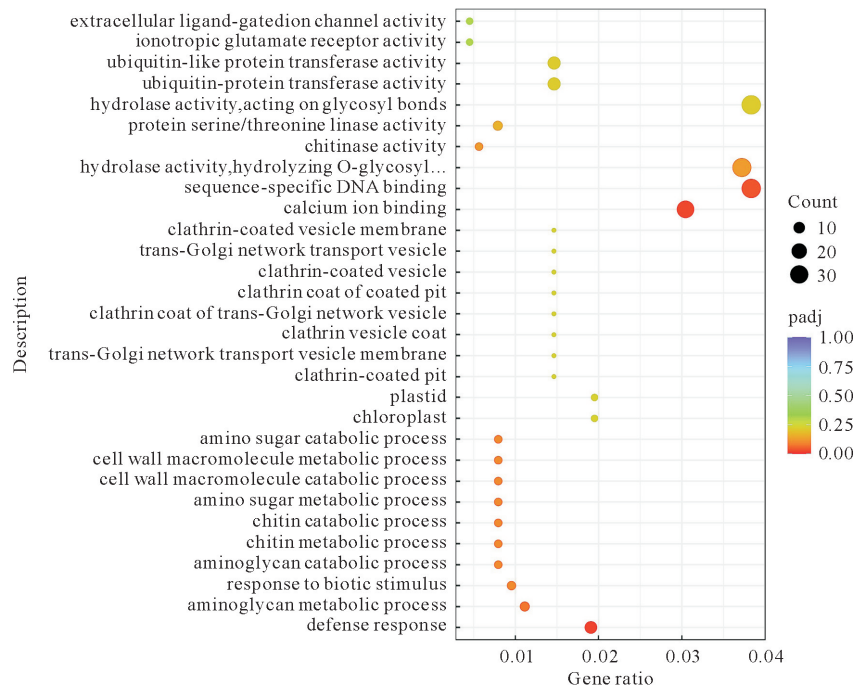


图 6 差异表达基因数量图和差异表达基因韦恩图

Fig. 6 The number of DEGs and the Venn diagram of DEGs



纵轴代表 term 名称,横轴代表丰富因子,点的大小代表 DEGs 的数量,padj 值由点的颜色反映。

图 7 DRMTvsDR 的差异表达基因 GO 富集图

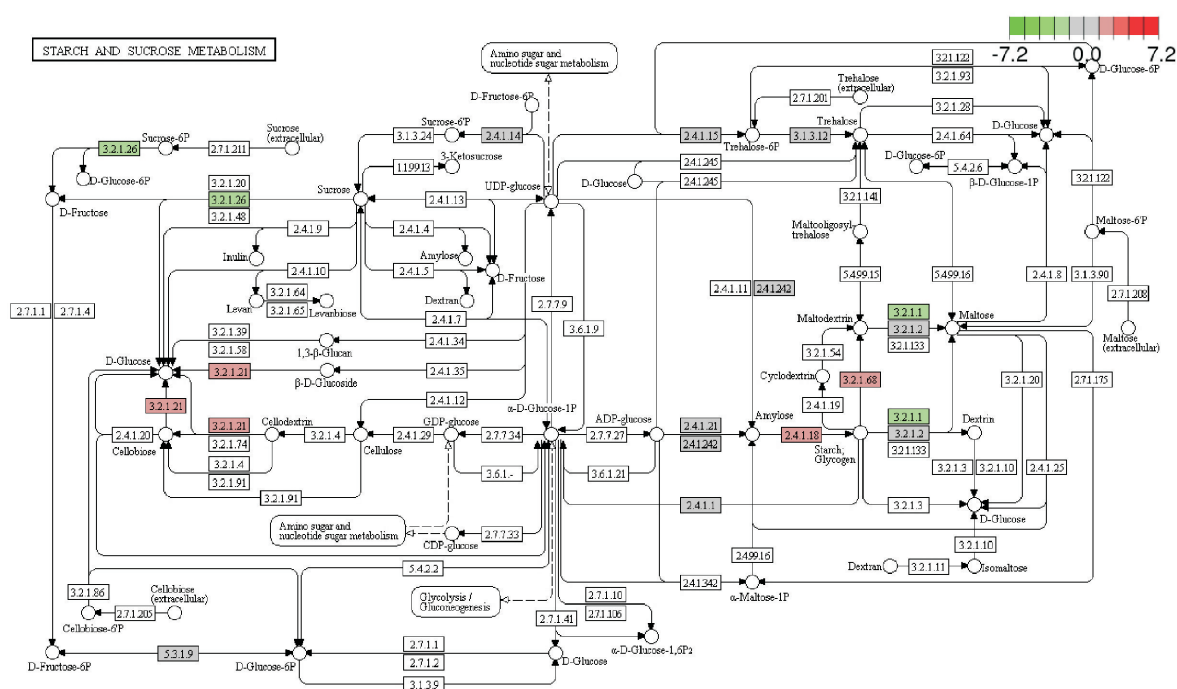
Fig. 7 GO enrichment of differentially expressed genes from DRMTvsDR



纵轴代表途径名称,横轴代表丰富因子,点的大小代表 DEGs 的数量,padj 值由点的颜色反映。

图 8 DRMTvsDR 的上调差异表达基因 KEGG 富集

Fig. 8 KEGG enrichment of up-regulated differentially expressed genes from DRMTvsDR



红色框中标记的蛋白质代表上调基因,绿色框代表下调基因,灰色框代表上下调基因均存在,白色框无显著变化。

图9 干旱胁迫下褪黑素对花椒幼苗淀粉和蔗糖途径的影响

Fig. 9 Effects of melatonin on starch and sucrose pathway in *Z. bungeanum* seedlings under drought stress

生长素反应蛋白(AUX/IAA)的基因下调;细胞分裂素亚途径,4个基因均上调,包括编码细胞分裂素受体(CRE1)和磷酸转运蛋白(AHP)等的基因;脱落酸亚途径涉及的1个DEGs下调,是编码脱落酸受的基因(PYR/PYL);油菜素内酯亚途径1个基因上调,是编码蛋白磷酸酶(BIN2)的基因,2个下调,编码木聚糖内转葡萄糖基酶/水解酶蛋白(TCH4)的基因;茉莉酸(JA)亚途径,4个编码转录抑制蛋白(JAZ)的基因下调;水杨酸(SA)亚途径,1个编码抗病因子(PR-1)的基因下调。

3 结论与讨论

干旱胁迫抑制植物的光合作用,阻碍了植物的生长和发育,降低了作物的产量和品质,而褪黑素可以调节植物的各种生理和分子过程,从而提高植物的抗旱性^[8]。

叶绿素荧光参数反映了光系统潜在光合能力,及其受到损伤的程度^[23]。本研究发现干旱胁迫显著降低了Fv/Fm和ETR。这说明,光系统II反应中心受到损伤,光合电子传递能力下降,从而抑制了植物的光合作用。褪黑素处理比未经褪黑素处理有着更高的Fv/Fm和ETR,表明褪黑素可以提高胁迫后的光能利用率,缓解胁迫对光合器官的伤害。这与叶君等^[24]对小麦幼苗光合的研究结果相似。

干旱胁迫使植物产生活性氧,过量活性氧会导

致丙二醛含量增加,对植物造成严重的氧化胁迫。Zhao等^[25]对玉米的研究中发现外源褪黑素可以通过清除H₂O₂,减少丙二醛含量来减轻细胞膜质过氧化。在本研究中,干旱胁迫下花椒叶片的活性氧积累显著升高,丙二醛含量也增加。褪黑素处理的花椒叶片活性氧水平和丙二醛含量低于单独干旱处理的叶片。这说明褪黑素可以有效清除活性氧,以此来减轻细胞膜的氧化损伤。该结果与上述褪黑素对玉米作用的研究结果一致^[25]。此外,活性氧水平的高低与抗氧化酶活性的高低关系密切^[26]。植物通过高效的抗氧化酶系统来保护自身免受氧化损伤。许多研究表明,褪黑素可以提高抗氧化酶的活性^[27]。本研究结果显示干旱处理后花椒叶片抗氧化酶活性显著增加,并在褪黑素处理后进一步增加。由此可知,褪黑素提高了花椒叶片的抗氧化能力,可以有效清除活性氧,减轻干旱胁迫对植株的伤害,相似的结果在玉米中得到验证^[28]。

植物受到干旱胁迫时,通过增加渗透调节物质来维持细胞的膨压,从而缓解胁迫对植物的伤害^[29]。可溶性糖是重要的渗透调节物质,对于逆境下植物维持渗透势具有重要的作用^[30]。本研究表明,在干旱条件下,花椒叶片可溶性糖含量显著升高,而褪黑素处理的叶片比未经褪黑素处理的叶片积累了更多的可溶性糖,这与佟莉蓉等^[31]对胡枝子幼苗的研究结果相似。因此,褪黑素可以通过增加

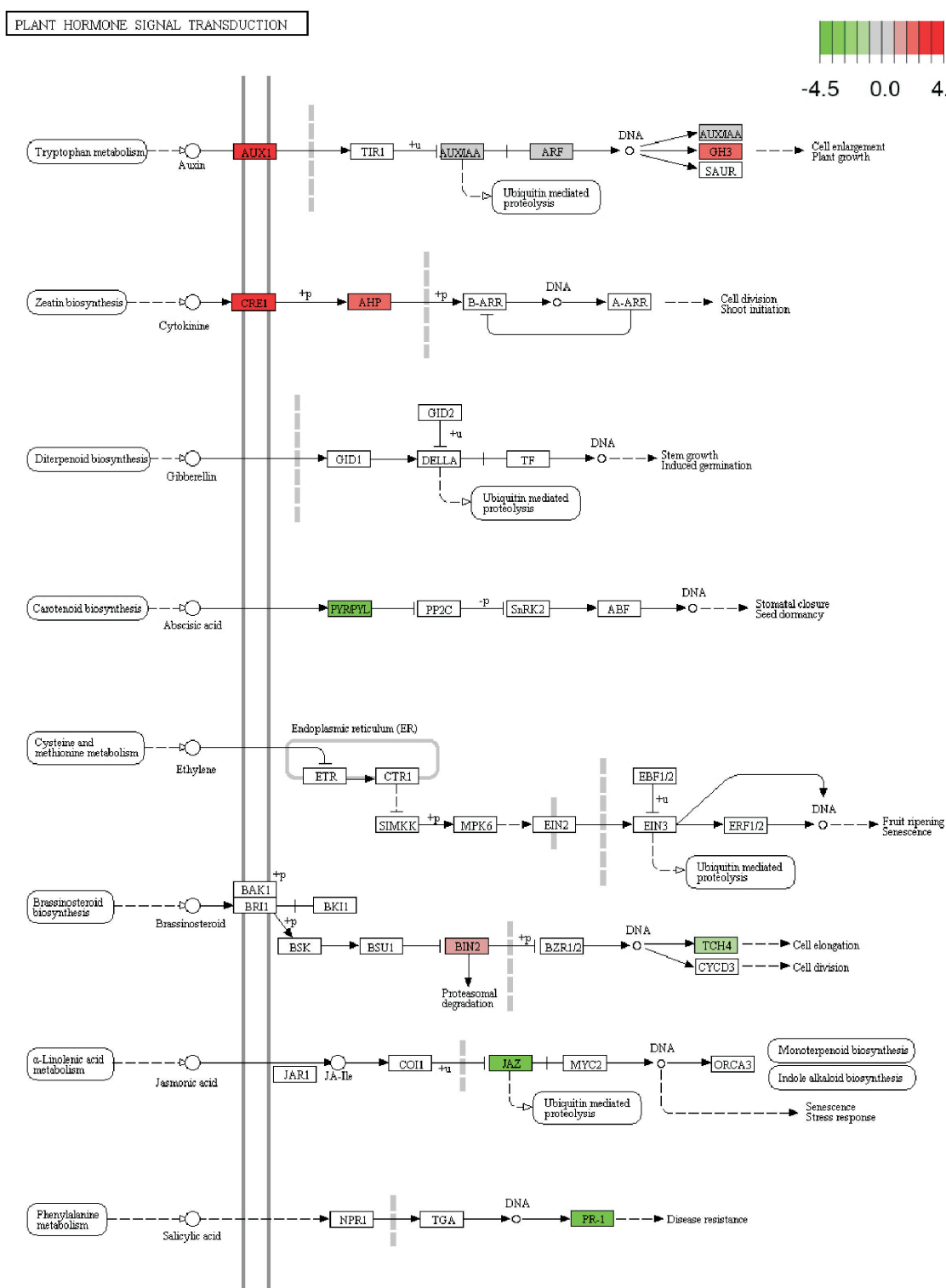


图 10 干旱胁迫下外源褪黑素对花椒幼苗植物激素信号转导途径的影响

Fig. 10 Effects of exogenous MT on α -linolenic acid metabolism and plant hormone signal transduction pathway in *Z. bungeanum* seedlings under drought stress

可溶性糖含量来减轻干旱对植物造成的损伤。可溶性糖的重要组成之一是蔗糖,其含量增加能够提高植物抗性^[32]。蔗糖磷酸合酶参与 UDP-葡萄糖与果糖-6-磷酸合成蔗糖-6-磷酸的过程,随后蔗糖-6-磷酸在蔗糖磷酸磷酸酶的作用下被水解成蔗糖^[33]。本

研究中褪黑素处理上调了蔗糖磷酸合酶相关基因的表达,这可能诱导蔗糖合成,从而使可溶性糖含量升高,差异基因的表达模式与生理变化的趋势一致。

多种植物激素协调植物不同信号通路来缓解干旱胁迫^[34]。生长素是最常见的植物激素,是生长发

育调节剂,对干旱胁迫下植物的生长有积极影响^[34-35]。为了调节植物的生长发育,生长素可以诱导3组基因的表达:生长素/吲哚乙酸蛋白(AUX/IAAs)家族、生长素响应型GH3基因家族和RNA(SAUR)家族^[36]。本研究中,植物激素信号转导中的一些重要基因的表达水平受到外源褪黑素的显著调控。其中,褪黑素调控生长素亚途径AUX1、AUX/IAA、ARF和GH3相关差异表达基因的上调,这有利于植物细胞伸长和植物生长。因此推测褪黑素处理可能通过促进生长素亚途径相关基因的表达来提高植物的抗旱性。

综上所述,在干旱条件下,褪黑素通过调控花椒幼苗的生理响应和基因表达来提高花椒的抗旱性。褪黑素通过减少过量活性氧产生,增加抗氧化酶活性和积累更多的可溶性糖来缓解干旱胁迫对植株造成的伤害。此外,在转录水平上,褪黑素上调了淀粉与蔗糖代谢途径中与蔗糖磷酸合酶相关基因及植物激素信号转导途径中生长素亚途径AUX1、AUX/IAA、ARF和GH3相关基因的表达,提高了花椒幼苗对胁迫的抗性。

参考文献:

- [1] FEI X, LI J, KONG L, *et al.* miRNAs and their target genes regulate the antioxidant system of *Zanthoxylum bungeanum* under drought stress[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 150: 196-203.
- [2] HU H, FEI X, HE B, *et al.* Integrated analysis of metabolome and transcriptome data for uncovering flavonoid components of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. leaves under drought stress[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 8: 801244.
- [3] FEI X, HOU L, SHI J, *et al.* Patterns of drought response of 38 WRKY transcription factors of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(1): 68.
- [4] 刘晓林, 赵晓娟, 李彩玉, 等. 持续干旱对韩城市花椒生长及产量的影响[J]. *陕西林业科技*, 2019, 47(6): 104-105, 110.
LIU X L, ZHAO X J, LI C Y, *et al.* Effect of sustained drought on pepper[J]. *Shaanxi Forest Science and Technology*, 2019, 47(6): 104-105, 110. (in Chinese)
- [5] 赵成凤, 杨梅, 李红杰, 等. 叶面喷施褪黑素对干旱及复水下玉米光合特性和抗氧化系统的影响[J]. *西北植物学报*, 2021, 41(9): 1526-1534.
ZHAO C F, YANG M, LI H J, *et al.* Effect of foliar spraying melatonin on photosynthesis and antioxidant system of maize leaves under drought stress and rewatering[J]. *Acta Bot. Boreo-Occident Sin.*, 2021, 41(9): 1526-1534. (in Chinese)
- [6] 刘忠霞, 刘建朝, 胡景江. 干旱胁迫对苹果树苗活性氧代谢及渗透调节的影响[J]. *西北林学院学报*, 2013, 28(2): 15-19.
LIU Z X, LIU J C, HU J J. Effects of drought stress on active oxygen metabolism and contents of osmotic adjustment substances in the leaves of apple seedling[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2013, 28(2): 15-19. (in Chinese)
- [7] 章毅, 韦孟琪, 孙欧文, 等. 不同绣球品种对干旱胁迫的生理响应及抗旱机制研究[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(1): 90-97.
ZHANG Y, WEI M Q, SUN O W, *et al.* Physiological responses and drought resistant mechanisms of different hydrangea varieties under drought stress[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2018, 33(1): 90-97. (in Chinese)
- [8] WANG D, CHEN Q, CHEN W, *et al.* Physiological and transcription analyses reveal the regulatory mechanism of melatonin in inducing drought resistance in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) seedlings[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2021, 181: 104291.
- [9] 关思静, 王楠, 徐蓉蓉, 等. 甘草幼苗响应干旱胁迫的光合、抗氧化特性及转录组分析[J]. *草业科学*, 2021, 38(11): 2176-2190.
GUAN S J, WANG N, XU R R, *et al.* Photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and transcriptome sequencing analyses of *Glycyrrhiza uralensis* seedlings in response to drought stress[J]. *Pratacultural Science*, 2021, 38(11): 2176-2190. (in Chinese)
- [10] 梁博文. 多巴胺和褪黑素对干旱和养分胁迫下苹果矿质养分吸收的调控研究[D]. 杨陵: 西北农林科技大学, 2018.
- [11] XIE T, GU W, WANG M, *et al.* Exogenous 2-(3,4-Dichlorophenoxy) triethylamine ameliorates the soil drought effect on nitrogen metabolism in maize during the pre-female inflorescence emergence stage[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 107.
- [12] REITER R J, TAN D X, ZHOU Z, *et al.* Phyto-melatonin: assisting plants to survive and thrive[J]. *Molecules*, 2015: 7396-7437.
- [13] HUANG B, CHEN Y, ZHAO Y, *et al.* Exogenous melatonin alleviates oxidative damages and protects photosystem ii in maize seedlings under drought stress[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 627.
- [14] HOSSAIN M S, LI J, SIKDAR A, *et al.* Exogenous melatonin modulates the physiological and biochemical mechanisms of drought tolerance in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn)[J]. *Molecules*, 2020, 25(12): 2828.
- [15] DING Z, WU C, TIE W, *et al.* Strand-specific RNA-seq based identification and functional prediction of lncRNAs in response to melatonin and simulated drought stresses in cassava[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 140: 96-104.
- [16] 刘杜玲, 刘淑明. 不同花椒品种抗旱性比较研究[J]. *干旱地区农业研究*, 2010, 28(6): 183-189.
LIU D L, LIU S M. Comparative study on drought resistance of different pepper varieties[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2010, 28(6): 183-189. (in Chinese)
- [17] VELIKOVA V, YORDANOV I, EDREVA A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines[J]. *Plant Science*, 2000, 151: 59-66.
- [18] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide dismutases; I. occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiol.*, 1997, 59: 309-314.
- [19] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2015: 72-73.

- [20] AEBI H. Catalase in Vitro[J]. Methods in Enzymology, 1984,105:121-126.
- [21] ZHANG W, YU X, LI M, *et al.* Silicon promotes growth and root yield of *Glycyrrhiza uralensis* under salt and drought stresses through enhancing osmotic adjustment and regulating antioxidant metabolism[J]. Crop Protection, 2018, 107: 1-11.
- [22] WANG M C, TONG S F, MA T, *et al.* Chromosome-level genome assembly of Sichuan pepper provides insights into apomixis, drought tolerance, and alkaloid biosynthesis[J]. Molecular Ecology Resources, 2021: 1-13.
- [23] 魏清江, 冯芳芳, 马张正, 等. 干旱复水对柑橘幼苗叶片光合、叶绿素荧光和根系构型的影响[J]. 应用生态学报, 2018, 29(8): 2485-2492.
- WEI Q J, FENG F F, MA Z Z, *et al.* Effects of drought rewatering on leaf photosynthesis, chlorophyll fluorescence and root architecture of citrus seedlings[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(8): 2485-2492. (in Chinese)
- [24] 叶君, 邓西平, 王仕稳, 等. 干旱胁迫下褪黑素对小麦幼苗生长、光合和抗氧化特性的影响[J]. 麦类作物学报, 2015, 35(9): 1275-1283.
- YE J, DENG X P, WANG S W, *et al.* Effects of melatonin on growth, photosynthetic characteristics and antioxidant system in seedling of wheat under drought stress[J]. Journal of Triticeae Crops, 2015, 35(9): 1275-1283. (in Chinese)
- [25] ZHAO C F, YANG M, WU X, *et al.* Physiological and transcriptomic analyses of the effects of exogenous melatonin on drought tolerance in maize (*Zea mays* L.)[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 168: 128-142.
- [26] 丁飞. 褪黑素缓解番茄低温与水分胁迫机理研究[D]. 杨陵: 西北农林科技大学, 2017.
- [27] TIWARI R K, LAL M K, KUMAR R, *et al.* Mechanistic insights on melatonin-mediated drought stress mitigation in plants[J]. Physiologia Plantarum, 2021, 172(2): 1212-1226.
- [28] 赵成凤, 王晨光, 李红杰, 等. 干旱及复水条件下外源褪黑素对玉米叶片光合作用的影响[J]. 生态学报, 2021, 41(4): 1431-439.
- ZHAO C F, WANG C G, LI H J, *et al.* Effects of exogenous melatonin on photosynthesis of maize leaves under drought-stress and rewatering[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(4): 1431-439. (in Chinese)
- [29] 刘红云, 梁宗锁, 刘淑明, 等. 持续干旱及复水对杜仲幼苗保护酶活性和渗透调节物质的影响[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(3): 55-59.
- LIU H Y, LIANG Z S, LIU S M, *et al.* Effect of progressive drying and rewatering on protective enzyme activities and osmoregulatory molecules in leaves of *Eucommia ulmoides* seedling[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(3): 55-59. (in Chinese)
- [30] YANG X, LU M, WANG Y, *et al.* Response mechanism of plants to drought stress[J]. Horticulturae, 2021, 7(3): 50.
- [31] 佟莉蓉, 倪顺刚, 任星远, 等. 褪黑素对干旱胁迫下达乌里胡枝子幼苗生长及叶片水分生理的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(8): 1682-1688.
- TONG L R, NI S G, REN X Y, *et al.* Effects of melatonin on seedling growth and leaf water physiology of *Lespedeza davurica* under drought stress[J]. Acta Agraria Sinica, 2021, 29(8): 1682-1688. (in Chinese)
- [32] 李智博, 董世满, 曾长英, 等. 低温贮藏条件下木薯种茎可溶性糖与干旱胁迫耐受性的相关性研究[J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(4): 58-66.
- LI Z B, DONG S M, ZENG C Y, *et al.* Correlation between soluble sugar and tolerance to drought stress of cassava stem under low temperature storage[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(4): 58-66. (in Chinese)
- [33] 和娟, 唐燕, 李晓瑞, 等. 水分亏缺对小麦芒和旗叶光合特性及蔗糖、淀粉合成的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2021, 39(6): 53-61, 78.
- HE J, TANG Y, LI X R, *et al.* Effects of water deficit on photosynthetic characteristic and sucrose-starch synthesis of wheat awns and flag leaf[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2021, 39(6): 53-61, 78.
- [34] ZHAO B, LIU Q, WANG B, *et al.* Roles of phytohormones and their signaling pathways in leaf development and stress responses[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(12): 3566-3584.
- [35] ZHANG Y, LI Y, HASSAN M J, *et al.* Indole-3-acetic acid improves drought tolerance of white clover via activating auxin, abscisic acid and jasmonic acid related genes and inhibiting senescence genes[J]. BMC Plant Biology, 2020, 20(1): 150.
- [36] WOODWARD A W. Auxin: regulation, action, and interaction[J]. Annals of Botany, 2005, 95(5): 707-735.