

## 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄内源褪黑素及叶绿素荧光特性的影响

卞凤娥<sup>1,2</sup>, 唐翠花<sup>1</sup>, 邢浩<sup>1</sup>, 徐玉涵<sup>1</sup>, 黄丽鹏<sup>1</sup>, 张雪<sup>1</sup>, 陆文利<sup>1</sup>, 杜远鹏<sup>1</sup>, 翟衡<sup>1,\*</sup>, 孙永江<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>山东农业大学园艺科学与工程学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

<sup>2</sup>君顶酒庄有限公司, 山东蓬莱265600

**摘要:**以‘赤霞珠’葡萄一年生植株为试材, 通过测定植株各器官的内源褪黑素(MT)、MT合成前体物质5-羟色胺(5-HT)和MT的主要代谢产物2-羟基褪黑素(2-OHMeI)含量、叶片快速叶绿素荧光动力学曲线, 结合叶绿素荧光淬灭分析, 探讨了外源MT对干旱胁迫下葡萄内源MT及其关键代谢物的响应以及叶片光抑制的缓解作用。结果表明: 干旱胁迫后, 植株不同器官的内源MT、5-HT及2-OHMeI含量有明显的时空变化, 诱导了嫩梢和成叶中MT的积累。与干旱胁迫相比, 干旱+喷施MT和干旱+浇灌MT处理均显著提高了植株地上部MT的含量及部分器官中5-HT和2-OHMeI的含量。干旱胁迫后, 快速叶绿素荧光曲线(OJIP)形状发生明显改变, 最大荧光( $F_m$ )、叶片最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、光系统线性电子传递速率ETR(I)和ETR(II)均显著下降, 非光化学淬灭(NPQ)显著升高, 喷施和浇灌MT处理均使叶片 $F_m$ 值升高, 增强了叶片对光能的利用效率, 线性电子传递速率明显提高。综上, 干旱胁迫导致‘赤霞珠’葡萄叶片光系统活性发生较严重的抑制, 但促进了植株中褪黑素的合成。外源MT缓解了光系统活性的抑制程度, 促进MT在植株各器官中的代谢和分配, 缓解干旱胁迫对葡萄叶片光合作用的伤害程度。

**关键词:** 干旱胁迫; 葡萄; 叶绿素荧光; 褪黑素; 5-羟色胺; 2-羟基褪黑素

干旱胁迫是植物经常遭受的逆境形式, 当土壤中可利用的水分减少、环境条件导致蒸腾或蒸发水分过度丧失时, 就会引起植物干旱胁迫的产生(Jaleel等2009)。近年来, 随着全球气候变化的影响, 一些地区降水格局发生变化, 土壤旱灾持续的时间、频率及严重程度不断增加(Li等2011; Anderegg等2012)。干旱胁迫对植物造成的伤害已超过其他逆境因子的总和(张建新等2015)。研究发现干旱会导致叶绿体膜系统的紊乱或叶绿体结构整体性的破坏, 迫使叶片中吸收光能转换光能的色素复合体数目减少, 抑制光系统II活性, 降低Rubisco酶活性并减弱RuBP的再生速率, 导致植物光合能力下降(高杰等2015), 严重制约植物的生长发育(Wellstein和Cianfaglione 2014)。

褪黑素(melatonin, MT)作为一种新发现的强抗氧化剂, 在抵御高温、臭氧和盐等多种非生物胁迫方面有积极作用(王丽英等2014; 耿庆伟等2016; 卞凤娥等2017)。前人研究表明外源MT可以减缓紫外辐射引起的烟草的氧化胁迫损伤(Zhang等2012), 并通过提高植株抗氧化酶活性及含量等来降低质膜过氧化水平, 保持细胞膜的完整性和功能, 提高干旱胁迫下苜蓿的叶绿素荧光水平和气孔导度(Antoniou等2017)。外源MT增强了黄瓜幼苗对低温、弱光的适应性(高青海等2014), 也增

强了高温胁迫下黄瓜叶片碳氮代谢相关酶活性, 从而可有效提高黄瓜果实碳水化合物及氮素的含量(赵娜等2012)。目前人们对外源MT的研究多集中在提高植物抗性表现上, 而对内源MT的响应及代谢产物的变化知之甚少。

本试验以一年生‘赤霞珠’葡萄盆栽为试材, 研究干旱胁迫下施加外源MT对葡萄叶片叶绿素荧光特性的影响, 以及在应对胁迫反应过程中内源MT及其关键代谢物的含量变化, 以期探讨MT在缓解干旱胁迫方面的作用和机制, 为MT在未来农业方面的应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材及取样

试验于2016年在山东农业大学核心葡萄示范园(东经117.06°, 北纬36.11°)进行。试材为欧亚种酿酒葡萄品种‘赤霞珠’(*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon), 采用一年生自根苗, 种植于直径25

收稿 2018-05-30 修定 2018-10-18

资助 国家自然科学基金(31572084)、现代农业产业技术体系(CARS-29-zp-02)、长江学者创新团队(IRT15R42)和山东省“双一流”建设奖补资金(SYL2017YSTD10)。

\* 共同通讯作者: 翟衡(zhaih@sdau.edu.cn)、孙永江(sunyongjiang12@163.com)。

cm、高35 cm的花盆中, 培养基质为壤土:沙:草炭=1:2:1, 待长至8~10片完全展开叶时, 在避雨棚内进行以下处理。

实验设置4个处理, 分别为对照(CK): 浇清水, 维持相对含水量(75±5)%; 处理1(干旱): 干旱胁迫, 维持相对含水量在(35±5)%; 处理2(干旱+喷施MT): 干旱胁迫+喷施MT溶液(100 nmol·L<sup>-1</sup>); 处理3(干旱+浇灌MT): 干旱胁迫+浇灌MT溶液(100 nmol·L<sup>-1</sup>)。

第一次按不同处理要求浇透至流出, 然后开始自然干旱。待相对含水量达到(35±5)%后, 每2 d测定一次土壤相对含水量, 并按不同处理的要求在盆中打孔灌施或喷施相应量的溶液补充损失的水分, 使相对含水量维持在(35±5)%, 共处理5次, 每个处理重复10盆。处理7 d后(叶片无萎蔫), 于17:00~18:00取其中5株的嫩梢(顶端3~4 cm)、成叶和新根测定MT、MT的关键合成前体物质5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)和MT的代谢产物2-羟基褪黑素(2-hydroxymelatonin, 2-OHMeI)的含量。继续处理到14 d后(叶片出现萎蔫), 取另外5株测定各项生理指标, 然后于当天的17:00~18:00取嫩梢、成叶和新根测定MT、5-HT和2-OHMeI的含量。

## 1.2 测定项目与方法

### 1.2.1 褪黑素、5-羟色胺和2-羟基褪黑素的测定

提取和检测参照卞凤娥等(2018)的方法。MT、5-HT和2-OHMeI标准品购自美国SIGMA公司, 用色谱级甲醇准确配制各标准品溶液后上样检测。

### 1.2.2 叶绿素荧光诱导动力学OJIP曲线的测定及JIP-test分析

用连续激发式荧光仪(Handy PEA, Hansatech, 英国)测定叶片充分暗适应30min后的叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP曲线), 测定时间为上午9:00~10:00, 自然光强在800~1 200 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 温度不高于35°C。从OJIP曲线上可直接获得如下参数(Haldimann和Strasser 1999; Strasser等2010),  $F_0$ : O点为最小荧光(20 μs);  $F_k$ : K点(300 μs)的荧光;  $F_j$ : J点(2 ms)的荧光;  $F_i$ : I点(30 ms)的荧光;  $F_m$ : 最大荧光, P点的荧光。参考Strasser等(2010)的方法, 将OJIP曲线进行O-P段标准化, 得到相对可变荧光( $V_t$ )=( $F_t-F_0$ )/( $F_m-F_0$ ),  $\Delta V_t=(V_t)_{处理}-(V_t)_{CK}$ ; PSII最大光化学效率( $F_v/F_m$ )=( $F_m-F_0$ )/ $F_m$ , 其中 $F_t$ 为任意时刻的

荧光数值,  $V_t$ 为任意时刻的可变荧光数值; 捕获的激子将电子传递到 $Q_A$ 以后的其他电子受体的概率( $\Psi_0$ )= $ET_0/TR_0=(1-V_j)$ , 其中 $\phi_{P_0}$ 为PSII最大量子效率,  $M_0$ 为相对荧光曲线的初始斜率。

### 1.2.3 叶绿素荧光参数的测定

采用英国Hansatech公司的FMS-2型便携脉冲调制式荧光仪测定荧光参数, 首先对处理前叶片进行30 min暗适应, 打饱和脉冲光(12 000 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>), 测定起始暗适应下的最大荧光( $F_m$ ), 利用仪器内置光源, 对光下充分光启动的叶片照射60 s活化光(800 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>), 测定光下稳态荧光 $F_s$ , 再打饱和脉冲光(12 000 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>), 测定光适应下的最大荧光值 $F_m'$ , 关闭作用光, 打开远红光得光下叶片最小荧光( $F_0'$ )。

光化学淬灭系数( $q_p$ )=( $F_m'-F_s$ )/( $F_m'-F_0'$ ); 非光化学淬灭(NPQ)= $F_m/F_m'-1$ 。

参照Sun等(2017)的方法, 使用Dual-PAM 100叶绿素荧光作用分析仪(Heinz Walz, Effeltrich, Germany)进行PSII电子传递速率ETR(II)及PSI电子传递速率ETR(I)以及荧光光响应曲线的测定, 测定光强梯度为10、23、41、113、212、287、565、780和1 215, 每个梯度稳定90 s。

## 1.3 数据处理

用Microsoft Excel软件处理数据和制图, DPS软件进行单因素方差分析, 并进行LSD多重比较, 差异显著性为 $P<0.05$ 。

## 2 实验结果

### 2.1 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄各器官内源褪黑素及关键代谢物含量变化的影响

将MT、5-HT和2-OHMeI标准样品溶液上样检测, 结果如图1所示, MT标准样品保留时间为4.11 min, 5-HT标准样品保留时间为1.03 min, 2-OHMeI标准样品保留时间为3.85 min; 葡萄器官提取物色谱图结果见图2, 目标峰保留时间与标准样品基本一致。表1显示, 对照正常植株中, 仅新根中可检测到MT。处理7 d后, 除干旱处理的成叶外, 其余各处理各器官中均检测到了MT。干旱配合喷施或浇灌MT的处理提高了干旱胁迫下嫩梢中MT的含量, 且干旱+浇灌MT处理的高于干旱+喷施MT处理; 添加外源MT的成叶和新根中的MT

含量也高于干旱处理, 以干旱+喷施MT处理的高于干旱+浇灌MT处理。干旱处理14 d, 与对照相比, 嫩梢和成叶中的MT含量升高, 干旱+喷施MT处理和干旱+浇灌MT处理的嫩梢、成叶中的含量高于干旱处理。与处理7 d相比, 干旱处理14 d的干旱处理各器官的MT含量均有所上升; 干旱+喷施MT处理的嫩梢中的MT含量升高, 成叶和新根中的下降; 干旱+浇灌MT处理的与喷施MT的相反, 嫩梢中的MT含量下降, 成叶和新根中的上升。干旱处理各器官中MT含量分布为新根>嫩梢>成叶, 干旱+

喷施MT处理的分布为嫩梢>成叶>新根, 干旱+浇灌MT处理的为嫩梢>新根>成叶。

干旱处理7 d, 各器官中的5-HT含量均下降。与干旱处理相比, 干旱+喷施MT处理使嫩梢和成叶中的5-HT含量升高且高于对照, 新根中的下降且低于对照; 干旱+浇灌MT处理使各器官中的5-HT含量增加。干旱处理14 d, 嫩梢和成叶中的5-HT含量升高。与干旱处理相比, 干旱+喷施MT处理的成叶、新根和干旱+浇灌MT处理的成叶中的5-HT含量均显著提高。与处理7 d相比, 处理14

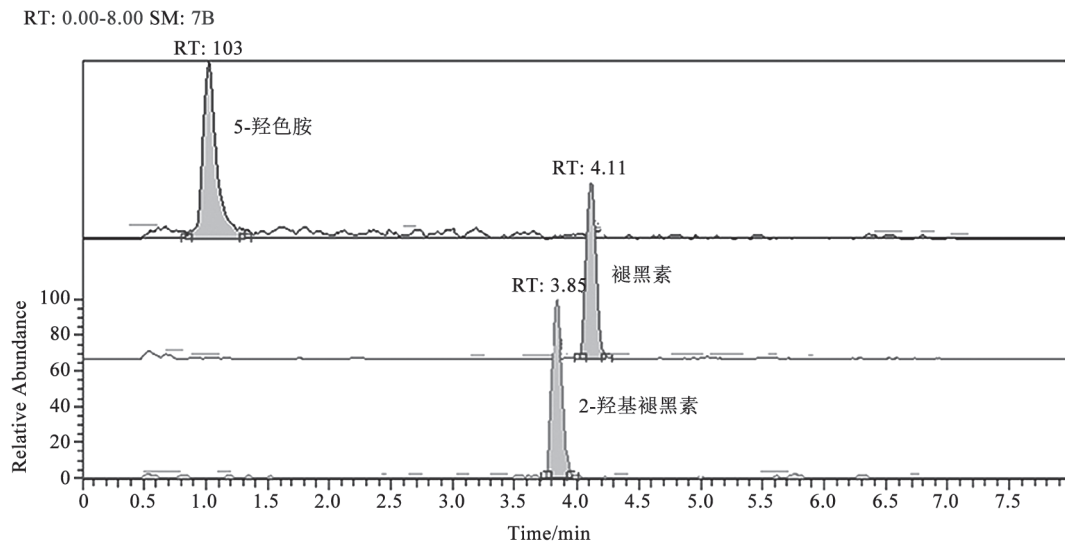


图1 褪黑素、5-羟色胺和2-羟基褪黑素标准样品色谱图

Fig.1 Chromatogram of MT, 5-HT and 2-OHMT standard samples

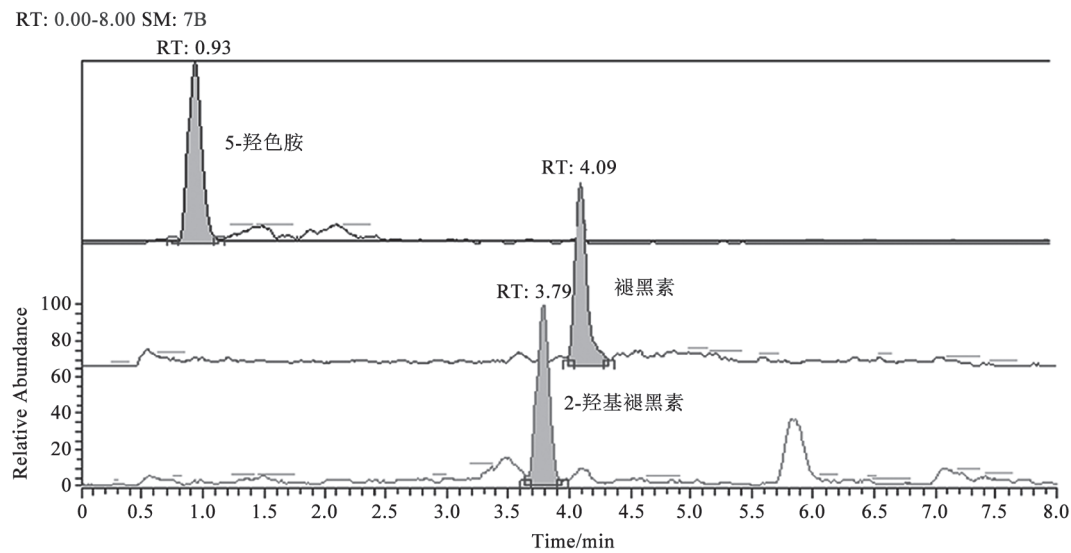


图2 葡萄器官提取物色谱图

Fig.2 Chromatogram of grape organ samples



表1 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄各器官褪黑素、5-羟色胺和2-羟基褪黑素含量的影响

Table 1 Effect of exogenous MT on MT, 5-HT and 2-OHMeI contents in different organs of grapevine under drought stress

组织	处理	MT含量/ng·g <sup>-1</sup> (DW)		5-HT含量/ng·g <sup>-1</sup> (DW)		2-OHMeI含量/ng·g <sup>-1</sup> (DW)	
		处理7 d	处理14 d	处理7 d	处理14 d	处理7 d	处理14 d
嫩梢	对照	—	—	0.967±0.038 <sup>b</sup>	0.982±0.044 <sup>c</sup>	2.606±0.293 <sup>b</sup>	2.596±0.289 <sup>c</sup>
	干旱	0.073±0.003 <sup>c</sup>	0.882±0.008 <sup>c</sup>	0.338±0.004 <sup>d</sup>	2.275±0.139 <sup>a</sup>	0.681±0.035 <sup>c</sup>	6.252±0.498 <sup>a</sup>
	干旱+喷施MT	1.822±0.020 <sup>b</sup>	3.253±0.076 <sup>b</sup>	1.053±0.021 <sup>a</sup>	0.688±0.033 <sup>d</sup>	4.565±0.092 <sup>a</sup>	4.805±0.270 <sup>b</sup>
	干旱+浇灌MT	47.032±2.394 <sup>a</sup>	14.810±0.437 <sup>a</sup>	0.643±0.023 <sup>c</sup>	2.008±0.077 <sup>b</sup>	2.248±0.253 <sup>b</sup>	0.248±0.015 <sup>d</sup>
成叶	对照	—	—	1.420±0.034 <sup>b</sup>	1.431±0.045 <sup>b</sup>	6.605±0.351 <sup>b</sup>	6.560±0.340 <sup>ab</sup>
	干旱	—	0.399±0.014 <sup>c</sup>	0.474±0.030 <sup>c</sup>	1.457±0.052 <sup>b</sup>	1.302±0.074 <sup>c</sup>	6.140±0.259 <sup>bc</sup>
	干旱+喷施MT	1.897±0.038 <sup>a</sup>	0.695±0.031 <sup>a</sup>	1.916±0.091 <sup>a</sup>	2.341±0.159 <sup>a</sup>	6.579±0.481 <sup>b</sup>	7.409±0.290 <sup>a</sup>
	干旱+浇灌MT	0.474±0.040 <sup>b</sup>	0.498±0.033 <sup>b</sup>	1.843±0.060 <sup>a</sup>	2.262±0.132 <sup>a</sup>	7.512±0.158 <sup>a</sup>	5.513±0.144 <sup>c</sup>
新根	对照	4.845±0.430 <sup>a</sup>	4.475±0.392 <sup>a</sup>	0.389±0.023 <sup>c</sup>	0.390±0.023 <sup>b</sup>	2.611±0.063 <sup>a</sup>	2.521±0.056 <sup>b</sup>
	干旱	0.071±0.004 <sup>d</sup>	1.424±0.026 <sup>b</sup>	0.274±0.019 <sup>d</sup>	0.389±0.007 <sup>b</sup>	0.248±0.015 <sup>d</sup>	0.239±0.019 <sup>d</sup>
	干旱+喷施MT	2.327±0.071 <sup>b</sup>	0.482±0.010 <sup>d</sup>	0.963±0.037 <sup>a</sup>	0.444±0.006 <sup>a</sup>	1.079±0.027 <sup>b</sup>	0.429±0.003 <sup>c</sup>
	干旱+浇灌MT	0.589±0.027 <sup>c</sup>	0.854±0.013 <sup>c</sup>	0.474±0.040 <sup>b</sup>	0.165±0.002 <sup>c</sup>	0.659±0.043 <sup>c</sup>	6.753±0.194 <sup>a</sup>

同列数字后不同小写字母代表同一组织不同处理间差异在 $P<0.05$ 水平显著。下图同此。

d时干旱处理各器官中的5-HT含量均升高, 干旱+喷施MT处理的嫩梢和新根中的5-HT含量减少, 干旱+浇灌MT处理的嫩梢和成叶中的5-HT含量升高。干旱处理各器官中5-HT含量分布为嫩梢>成叶>新根, 干旱+喷施MT处理的分布为成叶>嫩梢>新根, 干旱+浇灌MT处理的为成叶>嫩梢>新根。

各器官中的2-OHMeI含量在干旱处理7 d后均显著下降。与干旱处理相比, 干旱+喷施MT处理嫩梢中的2-OHMeI含量增加, 成叶和新根中的减少; 干旱+浇灌MT处理使嫩梢和新根中的含量减少, 成叶中的增加且高于对照。干旱处理14 d, 与对照相比, 嫩梢中的2-OHMeI含量升高。干旱+喷施MT处理的成叶和新根、干旱+浇灌MT处理的嫩梢和成叶中的2-OHMeI含量高于干旱处理。干旱处理14 d, 与7 d时相比, 干旱和干旱+喷施MT处理嫩梢和成叶的2-OHMeI含量均显著升高, 干旱+喷施MT处理的嫩梢和成叶中的2-OHMeI含量减少, 干旱+浇灌MT处理的嫩梢和成叶中的2-OHMeI含量下降, 新根中的升高。

## 2.2 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄叶片快速叶绿素荧光动力学曲线的影响

正常生长的‘赤霞珠’叶片叶绿素荧光动力学曲线表现出典型的OJIP曲线形状, 而干旱胁迫导致OJIP曲线发生明显变形(图3-A)。O点荧光强度 $F_0$ 明显升高, 表明反应中心和天线色素可能发生了解离, 而O点荧光是暗适应后的光合机构全部PSII

中心全部开放时的荧光强度, 反应了PSII天线色素受激发后的电子密度; P点荧光强度即 $F_m$ 值反映了PSII的电子传递状况(Lu和Zhang 1999), 干旱胁迫使叶片的 $F_m$ 值降低, 说明PSII的电子传递受到了抑制。干旱+喷施MT处理和干旱+浇灌MT处理的 $F_0$ 值均与对照无差异,  $F_m$ 值分别比干旱胁迫升高了8%和5.7%, 表明外源MT可以缓解干旱胁迫对叶片PSII的伤害, 叶片单位面积吸收的光能增加, 电子传递效率升高, 缓解了干旱对叶片PSII的伤害程度。

对原始OJIP曲线进行标准化后得到相对荧光曲线(图3-B), 与对照相比, 干旱胁迫的K点和J点均显著升高, 表明放氧复合体(OEC)受到伤害, 天线捕获的光能进入电子传递链的比例降低; 而干旱+喷施MT处理和干旱+浇灌MT处理均使K点和J点明显下降, 表明外源MT缓解了干旱胁迫下的PSII活性的抑制。

## 2.3 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄叶片 $F_v/F_m$ 、 $\Psi_0$ 、 $q_p$ 和NPQ的影响

PSII的最大光化学效率( $F_v/F_m$ )反映了PSII反应中心原初光能的转换效率,  $\Psi_0$ 表示捕获的激子将电子传递到QA以后的其他电子受体的概率(李鹏民等2005)。从图4-A和B可以看出, 干旱处理的叶片 $F_v/F_m$ 和 $\Psi_0$ 呈显著下降趋势; 干旱+喷施MT和干旱+浇灌MT处理的 $F_v/F_m$ 与对照没有显著性差异,  $\Psi_0$ 值分别比干旱胁迫升高了26.5%和32.2%。以上结果表明干旱胁迫伤害了PSII电子供体侧和受体

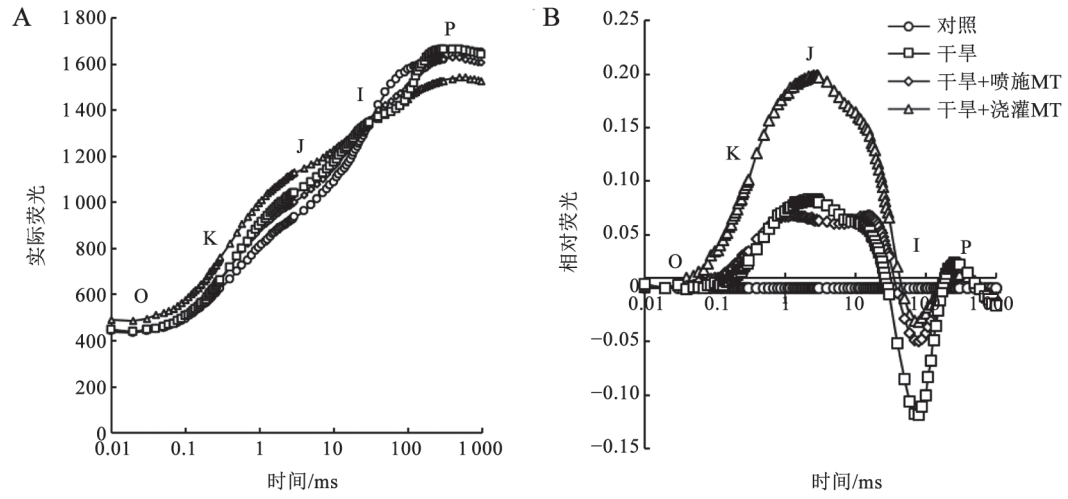


图3 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄叶片快速叶绿素荧光动力学曲线的影响  
Fig.3 Effect of exogenous MT on the OJIP curves of grapevine leaves under drought stress

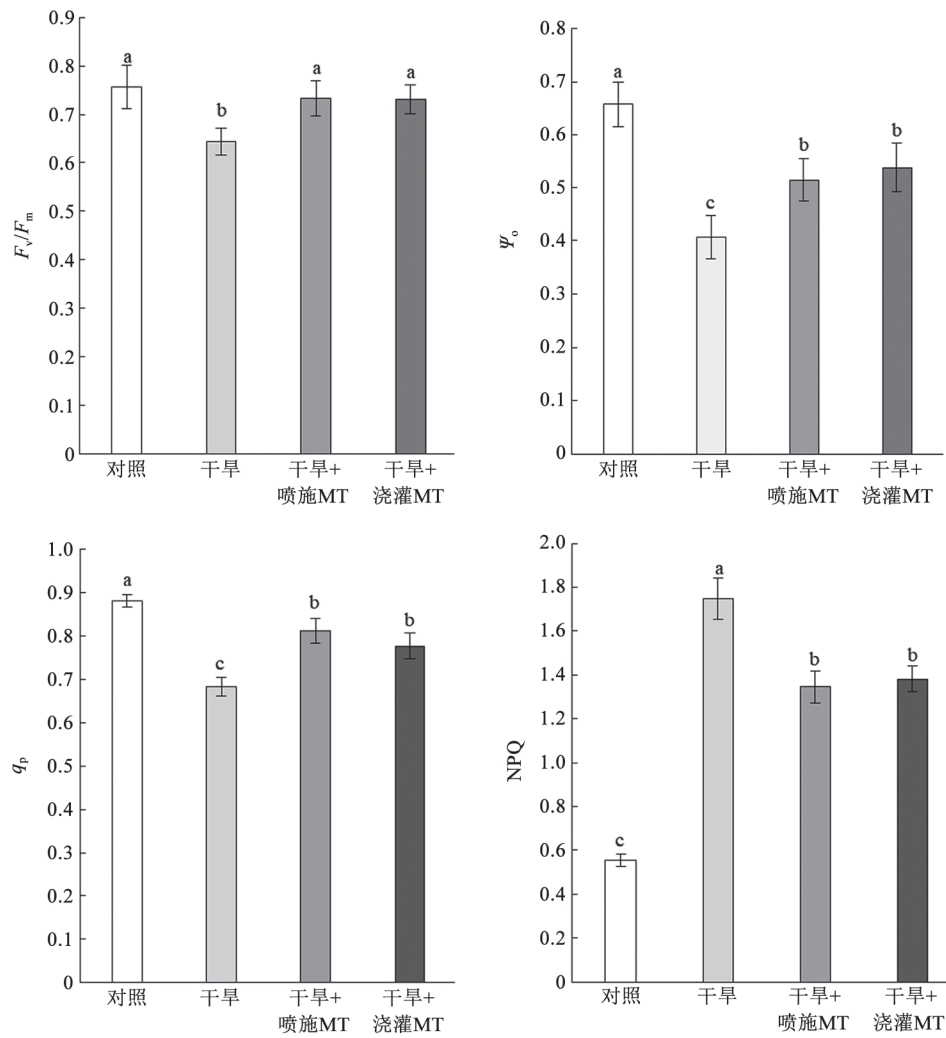


图4 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄叶片 $F_v/F_m$ 、 $\Psi_o$ 、 $q_p$ 及NPQ的影响  
Fig.4 Effects of exogenous MT on  $F_v/F_m$ ,  $\Psi_o$ ,  $q_p$  and NPQ of grapevine leaves under drought stress

侧, 外源MT通过调节PSII的能量分配, 缓解了干旱对PSII活性的影响。

图4-C和D显示, 与对照相比, 干旱处理的叶片光化学淬灭( $q_p$ )显著下降, 非光化学淬灭(NPQ)极显著升高; 而干旱+喷施MT处理和干旱+浇灌MT处理的 $q_p$ 分别显著升高了18.9%和13.8%, NPQ显著降低了22.9%和21.4%, 表明干旱胁迫下叶片吸收的光能更多地以热耗散形式消耗, 以保护光合机构免受过剩光能的破坏, 施加MT后, 叶片吸收的光能被用来进行碳固定的能量增加, 而用来热耗散的相应减少, 浇灌或喷施MT差异不显著。

#### 2.4 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄叶片电子传递速率的影响

光合电子传递速率与光照和环境因素密切相关。如图5所示, ETR(I)和ETR(II)均随光强的增加而不断增加。干旱胁迫下, ETR(I)和ETR(II)均显著低于对照, 表明干旱胁迫抑制了光合电子的传递。干旱+喷施MT处理和干旱+浇灌MT处理均缓解下降幅度, 表明干旱胁迫下MT对光系统有一定的保护作用, 提高了电子传递速率。从图5中还可以看出, 干旱+喷施MT处理的葡萄叶片ETR(I)和ETR(II)均高于干旱+浇灌MT处理。

### 3 讨论

前人研究表明, 非生物胁迫能够诱导植物内

源MT的积累及相关酶的合成(Arno和Hernández-Ruiz 2017, 2013; Zhao等2013; Mukherjee等2014)。

本试验结果显示, 当葡萄植株遭受干旱胁迫时, 各器官中的MT及其代谢物水平发生相应改变, 胁迫前期(7 d), 植株嫩梢和成叶中MT含量升高, 新根中显著下降; 胁迫14 d后, 嫩梢和成叶中MT含量与7 d时基本一致, 新根中含量升高。Wang等(2017)的最新研究也发现, 线粒体作为褪黑素合成的主要部位, 重组线粒体内干旱诱导型的MzSNAT5蛋白在35°C下表现出高的催化5-HT对N-乙酰维生素的酶活性, 使植物线粒体内的MT合成增加, 从而作为一种有效的自由基清除剂减少植物在胁迫下产生的活性氧升高引起的氧化应激反应, 提高植株的抗逆性。

与干旱胁迫相比, 外源施加MT后直接促进了前期嫩梢和成叶中MT含量的积累, 促进了MT合成前体物质5-HT在成叶、新根和喷施MT处理的嫩梢中的增加, 以及代谢产物2-OHMeI在喷施MT的嫩梢、浇灌MT的成叶中的积累, 新根中的MT和2-OHMeI、浇灌MT处理嫩梢中的5-HT和新根中的MT则显著下降, 表明施加外源MT促进了新根中MT的代谢。随着胁迫时间延长, 除喷施MT处理嫩梢中的MT含量持续增加外, 其余各器官中的含量均持续下降; 喷施或浇灌MT的嫩梢、喷施MT的成叶以及浇灌MT的新根中的2-OHMeI大量

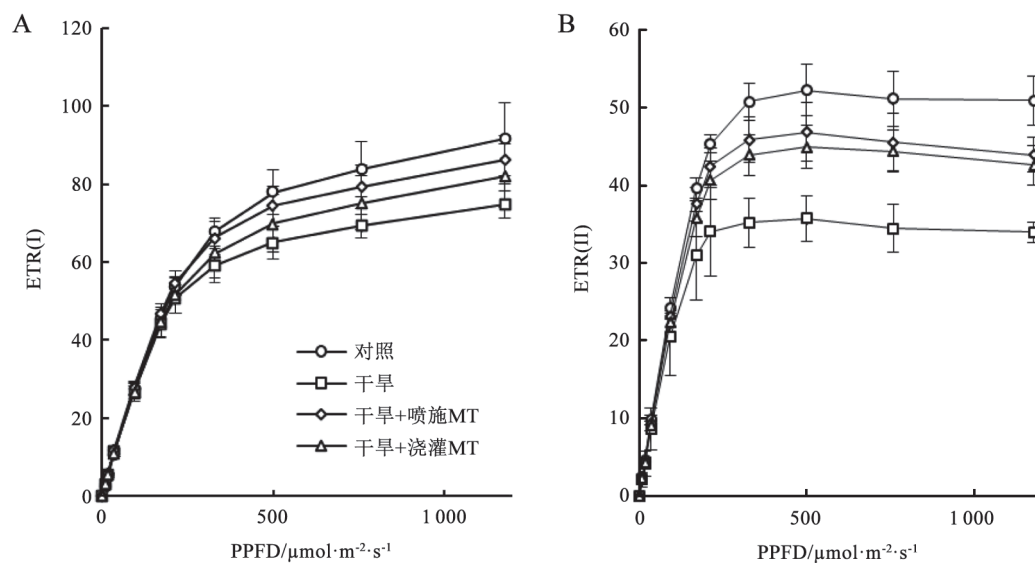


图5 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄叶片电子传递速率的影响

Fig.5 Effect of exogenous MT on ETR(I) and ETR(II) of grapevine under drought stress

积累。这说明, 施加外源MT加速了植株内源MT的代谢和运转, 提高了植株对干旱胁迫的抗性。

叶绿素荧光动力学参数是反映植物对光能的吸收、转化、传递、分配情况的灵敏探针, 当发生胁迫时, PSII反应中心会造成损伤, 使光合电子传递和PSII的光合作用活力受到抑制, 光合速率下降(Kalaji等2016)。本研究发现, 干旱胁迫下, 葡萄叶片OJIP曲线形状发生改变, J点和K点明显上升,  $\Psi_o$ 下降, 表明PSII活性降低, 光合机构出现损伤, 活性受到了抑制, 降低了PSII和PSI的电子传递速率(Huang等2016a); 而NPQ显著增加, 表明天线色素吸收的激发能用于光化学反应途径减少, 更多的激发能向非光化学热耗散转化, 这与在小麦(叶君等2015)上的研究结果一致。

研究表明外源MT处理可以通过下调ABA合成基因, 上调ABA降解基因, 降低植物体内ABA的含量(Zhang等2014), 缓解气孔关闭状况, 使气孔重新开放, 从而提高苹果植株的耐旱性(Li等2015)。本研究结果显示, 外源MT能缓解干旱胁迫下葡萄叶片OJIP曲线中K点的上升幅度,  $\Psi_o$ 和ETR(I)显著升高, 表明MT对电子传递链具有一定的保护作用, 提高了电子传递活性(Huang等2016b), 减缓了干旱胁迫造成的光系统损伤, 增加了植株的光合性能, 这与在苜蓿、番茄上的研究一致(Antoniou等2017; 杨小龙等2017)。

干旱胁迫诱导了植物源MT的积累, 抑制葡萄叶片PSII的活性, 而外源喷施和浇施 $100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MT溶液均能促进MT在植株各器官中的代谢和运转, 缓解干旱对葡萄叶片光合作用的伤害程度, 改善干旱胁迫下葡萄叶片光系统的能量分配, 从而增强干旱胁迫下葡萄的光合性能, 且喷施效果略好于浇施。

### 参考文献(References)

- Anderegg WRL, Kane JM, Anderegg LDL (2012). Consequences of widespread tree mortality triggered by drought and temperature stress. *Nat Clime Chang*, 3 (1): 30–36
- Antoniou C, Chatzimichail G, Xenofontos R, et al (2017). Melatonin systemically ameliorates drought stress-induced damage in *Medicago sativa* plants by modulating nitro-oxidative homeostasis and proline metabolism. *J Pineal Res*, 62 (4): e12401
- Arnao MB, Hernández-Ruiz ÁJ (2007). Melatonin in plants: more studies are necessary. *Plant Signal Behav*, 2 (5): 381–382
- Arnao MB, Hernández-Ruiz ÁJ (2013). Growth conditions influence the melatonin content of tomato plants. *Food Chem*, 138 (2-3): 1212–1214
- Bian FE, Sun YJ, Niu YJ, et al (2017). Effect of root-applied melatonin on photosystem II in grape leaves under heat stress. *Plant Physiol J*, 53 (2): 257–263 (in Chinese with English abstract) [卞凤娥, 孙永江, 牛彦杰等(2017). 高温胁迫下根施褪黑素对葡萄叶片叶绿素荧光特性的影响. *植物生理学报*, 53 (2): 257–263]
- Bian FE, Xiao QH, Hao GM, et al (2018). Effect of root-applied melatonin on endogenous melatonin and chlorophyll fluorescence characteristics in grapevine under NaCl stress. *Sci Agric Sin*, 51 (5): 952–963 (in Chinese with English abstract) [卞凤娥, 肖秋红, 郝桂梅等(2018). 根施褪黑素对NaCl胁迫下葡萄内源褪黑素及叶绿素荧光特性的影响. *中国农业科学*, 51 (5): 952–963]
- Gao J, Zhang RH, Wang WB, et al (2015). Effects of drought stress on performance of photosystem II in maize seedling stage. *J Appl Ecol*, 26 (5): 1391–1396 (in Chinese with English abstract) [高杰, 张仁和, 王文斌等(2015). 干旱胁迫对玉米苗期叶片光系统II性能的影响. *应用生态学报*, 26 (5): 1391–1396]
- Gao QH, Wang YK, Lu XM, et al (2014). Effects of exogenous melatonin on growth and antioxidant system of leaves in cucumber seedlings under low temperature and weak light stress. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 34 (8): 1608–1613 (in Chinese with English abstract) [高青海, 王亚坤, 陆晓民等(2014). 低温弱光下外源褪黑素对黄瓜幼苗生长及抗氧化系统的影响. *西北植物学报*, 34 (8): 1608–1613]
- Geng QW, Xing H, Hao GM, et al (2016). Effect of exogenous melatonin on photosynthesis of ‘Cabernet Sauvignon’ grape leaves under ozone stress. *Acta Horti Sin*, 43 (8): 1463–1472 (in Chinese with English abstract) [耿庆伟, 邢浩, 郝桂梅等(2016). 外源褪黑素对臭氧胁迫下‘赤霞珠’葡萄叶片光合作用的影响. *园艺学报*, 43 (8): 1463–1472]
- Haldimann P, Strasser RJ (1999). Effects of anaerobiosis as probed by the polyphasic chlorophyll a fluorescence rise kinetic in pea (*Pisum sativum* L.). *Photosynth Res*, 62 (1): 67–83
- Huang W, Yang YJ, Hu H, et al (2016a). Moderate photoinhibition of photosystem II protects photosystem I from photo damage at chilling stress in tobacco leaves. *Front Plant Sci*, 7: 182
- Huang W, Yang YJ, Hu H, et al (2016b). Sustained diurnal stimulation of cyclic electron flow in two tropical tree species *Erythrophleum guineense* and *Khaya ivorensis*. *Front Plant Sci*, 7: 1068
- Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, et al (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteris-



- tics and pigments composition. *Int J Agric Biol*, 11 (1): 100–105
- Kalaji HM, Jajoo A, Oukarroum A, et al (2016). Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiol Plant*, 38 (4): 1–11
- Li C, Tan DX, Liang D, et al (2015). Melatonin mediates the regulation of aba metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two malus species under drought stress. *J Exp Bot*, 66 (3): 669
- Li PM, Gao HY, Strasser RJ (2005). Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study. *J Plant Physiol Mol Biol*, 31 (6): 559–566 (in Chinese with English abstract) [李鹏民, 高辉远, Strasser RJ (2005). 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. *植物生理与分子生物学学报*, 31 (6): 559–566]
- Li ZQ, Niu F, Fan J, et al (2011). Long-term impacts of aerosols on the vertical development of clouds and precipitation. *Nat Geosci*, 4 (12): 888–894
- Lu C, Zhang J (1999). Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermo stability in wheat plants. *J Exp Bot*, 50 (336): 1199–1206
- Mukherjee S, David A, Yadav S, et al (2014). Salt stress-induced seedling growth inhibition coincides with differential distribution of serotonin and melatonin in sunflower seedling roots and cotyledons. *Physiol Plant*, 152 (4): 714–728
- Strasser RJ, Tsimilli MM, Qiang S, et al (2010). Simultaneous *in vivo* recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *BBA-Bioenergetics*, 1797: 1313–1326
- Sun YJ, Geng QW, Du YP, et al (2017). Induction of cyclic electron flow around photosystem I during heat stress in grape leaves. *Plant Sci*, 256: 65–71
- Wang L, Feng C, Zheng XD, et al (2017). Plant mitochondria synthesize melatonin and enhance the tolerance of plants to drought stress. *J Pineal Res*, 63 (3): e12429
- Wang LY (2014). Effects of melatonin pretreatment on salt tolerances of cucumber seedlings (dissertation). Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University (in Chinese with English abstract) [王丽英(2014). 褪黑素预处理对黄瓜幼苗耐盐性的影响(学位论文). 杨凌: 西北农林科技大学]
- Wellstein C, Cianfaglione K. (2014). Impact of extreme drought and warming on survival and growth characteristics of different proveniences of juvenile *Quercus pubescens* Willd. *Folia Geobot*, 49 (1): 31–47
- Yang XL, Xu H, Li TL, et al (2017). Effects of Exogenous melatonin on photosynthesis of tomato leaves under drought stress. *Sci Agric Sin*, 50 (16): 3186–3195 (in Chinese with English abstract) [杨小龙, 须晖, 李天来等(2017). 外源褪黑素对干旱胁迫下番茄叶片光合作用的影响. *中国农业科学*, 50 (16): 3186–3195]
- Ye J, Deng XP, Wang SW, et al (2015). Effects of melatonin on growth, photosynthetic characteristics and antioxidant system in seedling of wheat under drought stress. *J Triticeae Crops*, 35 (9): 1275–1283 (in Chinese with English abstract) [叶君, 邓西平, 王仕稳等(2015). 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. *麦类作物学报*, 35 (9): 1275–1283]
- Zhang H, Zhang N, Yang R, et al (2014). Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA<sub>4</sub> interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J Pineal Res*, 57 (3): 269–279
- Zhang JX, Ge SF, Wu YH, et al (2015). Effects of drought stress on carbon and nitrogen metabolism of *Ardisia japonica* leaves. *J Soil Water Conserv*, 29 (2): 278–282 (in Chinese with English abstract) [张建新, 葛淑芳, 吴玉环等(2015). 干旱胁迫对紫金牛叶片碳氮代谢的影响. *水土保持学报*, 29 (2): 278–282]
- Zhang LJ, Jia JF, Xu Y, et al (2012). Production of transgenic *Nicotiana glauca* plants expressing melatonin synthetase genes and their effect on UV-B induced DNA damage. *In Vitro Cell Dev Biol*, 48: 275–282
- Zhao N, Sun Y, Wang DY, et al (2012). Effects of exogenous melatonin on nitrogen metabolism in cucumber seedlings under high temperature stress. *Plant Physiol J*, 48 (6): 557–564 (in Chinese with English abstract) [赵娜, 孙艳, 王德玉等(2012). 外源褪黑素对高温胁迫条件下黄瓜幼苗氮代谢的影响. *植物生理学报*, 48 (6): 557–564]
- Zhao Y, Tan DX, Lei Q, et al (2013). Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry. *J Pineal Res*, 55 (1): 79–88



## Effect of exogenous melatonin on endogenous melatonin and chlorophyll fluorescence characteristics in grapevine under drought stress

BIAN Feng-E<sup>1,2</sup>, TANG Cui-Hua<sup>1</sup>, XING Hao<sup>1</sup>, XU Yu-Han<sup>1</sup>, HUANG Li-Peng<sup>1</sup>, ZHANG Xue<sup>1</sup>, LU Wen-Li<sup>1</sup>, DU Yuan-Peng<sup>1</sup>, ZHAI Heng<sup>1,\*</sup>, SUN Yong-Jiang<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, State Key Laboratory of Crop Biology, Taian, Shandong 271018, China

<sup>2</sup>Junding Winery Co., Ltd., Penglai, Shandong 265600, China

**Abstract:** The potted ‘Cabernet Sauvignon’ grapevines were used to investigate the effect of exogenous melatonin on endogenous MT, the synthetic precursor of MT (5-hydroxytryptamine, 5-HT), the main metabolite of MT (2-hydroxymelatonin, 2-OHMe) and the alleviating effects on photoinhibition under drought stress. The contents of endogenous MT, 5-HT and 2-OHMe, OJIP fluorescence transient, and chlorophyll fluorescence quenching were determined. The results showed that there were obvious temporal and spatial changes in the contents of endogenous MT, 5-HT and 2-OHMe in different organs of plants under drought stress, which induced the accumulation of MT in shoots and leaves. Compared with drought stress, drought+spraying MT and drought+irrigating MT significantly increased the MT contents in the aboveground organs, and the 5-HT and 2-OHMe contents in some other organs. Under drought stress, the shape of OJIP curve was obviously changed,  $F_m$ , leaf maximum photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ), the linear electron transport rate of PSI [ETR(I)] and PSII [ETR(II)] were significantly decreased, and the non-photochemical quenching (NPQ) increased significantly. Both spraying and irrigating MT increased the  $F_m$  value in leaves, enhanced the leaf light use efficiency, and increased the linear electron transfer rate significantly. In summary, drought stress induced the inhibition of photosystem activity in grapevine leaves, but promoted the synthesis of MT in the plant. The exogenous MT treatment alleviated photoinhibition, promoted the metabolism and distribution of MT in various organs of plants, alleviated the damaged degree of photosynthesis of grapevine leaves by drought stress.

**Key words:** drought stress; grapevine; chlorophyll fluorescence; melatonin; 5-hydroxytryptamine; 2-hydroxymelatonin

Received 2018-05-30 Accepted 2018-10-18

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31572084), the China Agriculture Research System (CARS-29-zp-02), the Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (IRT15R42) and Funds of Shandong “Double Tops” Program (SYL2017YSTD10).

\*Co-corresponding authors: Zhai H (zhaih@sdau.edu.cn), Sun YJ (sunyongjiang12@163.com).