

纳米铁和褪黑素对驯化栽培条件下甘肃贝母产量和品质的影响

杨涛¹, 赵疆¹, 闫鹏勋², 吴志国², 李鑫¹, 杨晖¹, 王治业^{1*}

(1. 甘肃省科学院生物研究所, 甘肃省微生物资源开发利用重点实验室, 特色微生物与植物资源创新甘肃省国际科技合作基地, 兰州 730000; 2. 甘肃省科学院纳米应用技术研究室, 兰州 730000)

[摘要] 目的:研究纳米铁和褪黑素对栽培甘肃贝母产量和品质的影响,为驯化栽培提供技术支撑。方法:常规方法称量百粒重;2020年版《中华人民共和国药典》方法检测生物碱含量;分光光度法检测叶绿素、过氧化氢、丙二醛含量及超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD),过氧化氢酶(CAT)活性;超高效液相色谱串联质谱法检测生长素、细胞分裂素、赤霉素、水杨酸、茉莉酸、脱落酸含量。结果:在不影响品质的前提下,纳米铁和褪黑素处理显著提高了百粒重,对不同时期生理生化指标的影响显著,对内源激素含量的影响基本一致。相关性分析表明百粒重与SOD活性、丙二醛、茉莉酸含量成负相关,与POD活性、水杨酸、赤霉素、生长素、脱落酸含量成正相关;主成分分析能够将两种处理有效分开,表明其促生机制存在一定差异,纳米铁处理主要影响生长素、水杨酸、脱落酸;褪黑素处理主要影响SOD,丙二醛,赤霉素。结论:纳米铁和褪黑素可以作为一种简单的实用技术提高栽培甘肃贝母抗逆性和产量。

[关键词] 甘肃贝母; 纳米铁; 褪黑素; 氧化胁迫; 激素

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)07-0144-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210412

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210128.1146.002.html>

[网络出版日期] 2021-1-28 16:14

Effect of Zero-valent Iron Nanoparticles and Melatonin on Yield and Quality of *Fritillaria przewalskii* in Domesticated Cultivation Conditions

YANG Tao¹, ZHAO Jiang¹, YAN Peng-xun², WU Zhi-guo², LI Xin¹, YANG Hui¹, WANG Zhi-ye^{1*}

(1. Institute of Biology, Key Laboratory of Microbial Resources Exploitation and Application, International Scientific and Technological Cooperation Base for Characteristic Microorganism and Plant Resource of Gansu Province, Gansu Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

2. Laboratory of Nanometer Applied Technology, Gansu Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of iron nanoparticles and melatonin on yield and quality of *Fritillaria przewalskii* and provide technical support for its domesticated cultivation. **Method:** Hundred grain weight was measured by conventional method; alkaloid content was detected according to protocols of the edition of 2020 *Chinese Pharmacopoeia*, chlorophyll, hydrogen peroxide, malondialdehyde, superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) were detected by spectrophotometric analysis, auxins, cytokinins, gibberellins, salicylic acid, jasmonic acid and abscisic acid were detected by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis. **Result:** Zero-valent iron nanoparticles and melatonin

[收稿日期] 20201017(006)

[基金项目] 甘肃省科学院应用研究与开发项目(2018JK-17, 2019JK-04); 甘肃省科学院创新团队建设项目(2019CX004-01); 甘肃省科学院“科院英才”项目(2019YC-02)

[第一作者] 杨涛, 硕士, 副研究员, 从事中药材微生态及生物技术研究, Tel: 0931-4563768, E-mail: 410523572@qq.com

[通信作者] * 王治业, 硕士, 研究员, 从事微生物研究, Tel: 0931-4563768, E-mail: zhiye_wang@sina.com

significantly increased the hundred grain weight without affecting the quality. The effect of the two treatments on physiological and biochemical indexes in different stages were quite different, but the effects on content of endogenous hormones were basically the same. Correlation analysis showed that hundred grain weight was negatively correlated with malondialdehyde content, SOD activity and jasmonic acid content, but positively correlated with POD activity, salicylic acid content, gibberellins content, auxin content and abscisic acid content. The two treatments were separated effectively by principal component analysis, indicating that there were some differences in the mechanisms of growth promoting. The treatment of zero-valent iron nanoparticles mainly affected auxins, salicylic acid and abscisic acid. The treatment of melatonin mainly affected SOD, malondialdehyde and gibberellins. **Conclusion:** Zero-valent iron nanoparticles and melatonin can be used as a simple and practical technology to improve the stress resistance and yields of *F. przewalskii* in domesticated cultivation conditions.

[Key words] *Fritillaria przewalskii*; zero-valent iron nanoparticles; melatonin; oxidative stress; hormones

甘肃贝母是百合科贝母属多年生草本植物,为国家三级保护濒危药用植物和国家重点保护野生药材物种。作为名贵药材“川贝”基原植物之一,其鳞茎具有清热润肺、化痰止咳之功效^[1]。甘肃贝母野生资源主要分布于甘肃武都、舟曲、玛曲、岷县、榆中等地海拔2 800~4 400 m的灌丛或草丛中,喜寒凉、湿润和肥沃土壤,忌高温、强光直射,对环境的要求苛刻。市场需求较大,野生资源遭到掠夺式採挖,开展人工种植,解决资源危机势在必行。

株高矮化和倒苗时间提前是影响产量的主要因素之一,表油菜素内酯虽然显著提高了百粒重,但总生物碱含量显著降低^[2-3],筛选出不影响品质,且能显著增产的技术对甘肃贝母栽培具有重要意义。褪黑素是一种动物激素,参与脊椎动物的生理调节,其在植物中也具有调节生长的作用,能够促进侧根和不定根再生、清除自由基、提高抗胁迫能力、保护细胞膜的完整性、提高产量等^[4-11]。纳米材料指在三维空间中至少有一维处于纳米尺寸(0.1~100 nm)或由其作为基本单元构成的材料,具有独特的力、磁、光、电和化学性质,如强氧化和还原性、增加光吸收性等^[12]。金属纳米材料对作物具有双重作用,低浓度促进种子萌发、根系伸长、氮代谢,提高愈伤组织生长速度、叶绿素含量、产量;高浓度则表现为组织损伤、生长抑制、活性氧产生等负效应^[13]。研究表明纳米铁促进小麦生长,增加产量^[14],促进拟南芥根伸长、提高光合作用和生物化学适应性^[15-16]。然而,对水生植物浮萍产生毒性,增加活性氧水平,降低叶绿素含量^[17],这可能是由于纳米铁剂量过高所致。

本实验拟明确其对驯化栽培贝母产量和品质

的作用,研究其对内源激素水平、生理生化、抗氧化系统的影响,为技术合理利用及改进提供理论依据。

1 材料

实验用种苗为三年和四年生实生苗,经甘肃省科学院生物研究所杨晖研究员鉴定为百合科植物甘肃贝母 *Fritillaria przewalskii*,种植于华亭市马峡镇蒋庄,海拔1 900 m,搭设50%遮光度遮阳网。

丙二醛(批号20200521),叶绿素(批号20200623),过氧化氢(批号20200526)含量检测试剂盒,超氧化物歧化酶(SOD,批号20200619),过氧化物酶(POD,批号20200603),过氧化氢酶(CAT,批号20200628)活性检测试剂盒,购自苏州科铭生物技术有限公司。

乙腈、甲醇、甲酸、三氯甲烷为色谱纯试剂,水为超纯水;激素类标准物质水杨酸(批号B20191128),茉莉酸(批号B0013K0503113),脱落酸(批号B3499D0532),赤霉素3(批号B928142305),赤霉素4(批号B927342306),赤霉素7(批号B94192335),反玉米素(批号B29173542),反玉米素核苷(批号B29178942),玉米素(批号B29152142),6-糠氨基嘌呤(批号B4718364),N6-异戊烯基腺嘌呤(批号B35890K35),利波腺苷(批号B4689K2438),吲哚乙酸(批号B0012M0924),4-氯-吲哚乙酸(批号B0019M0672),吲哚丙酸(批号B0056M0805),吲哚丁酸(批号B0023M0698)及西贝母碱(批号17092908)对照品购自中国标准物质网。

CPA225型分析天平(上海赞维衡器有限公司),TD5B型低温离心机(湖南凯达科学仪器有限

公司), KQ-700DB型超声波清洗器(杭州宝珀超声波科技有限公司), MX-E型震荡混匀器(上海达姆实业有限公司), Waters固相萃取小柱(华谱生物科技有限公司), TU-1950型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), QTrap6500型超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪(美国应用生物系统公司)。

2 方法

2.1 不同处理喷施 分别以三年生和四年生甘肃贝母实生苗为研究对象,在前期研究基础上,选取 $90\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 纳米铁和 $0.86\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 褪黑素开展试验。2019年3月下旬出苗后,叶面按照如下3种处理方式喷施试剂,①纳米铁组($90\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 纳米铁和 $0.6\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 羟丙基甲基纤维素);②褪黑素组($0.86\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 褪黑素和 $0.6\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 羟丙基甲基纤维素);③空白组($0.6\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 羟丙基甲基纤维素)。每2周喷施1次,共4次。采用完全随机田间设计,小区 $5\ \text{m}^2$,重复3次,株行距 $10\ \text{cm}\times 10\ \text{cm}$ 。

2.2 产量和品质测定 2019年6月下旬地上部分枯萎后,採挖贝母鳞茎,除去根和表面的泥土,阴干后称质量,计算百粒重;品质检测按照2020年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)通则0401所述方法进行^[1]。运用SPSS 22.0软件统计分析。

2.3 叶片生理生化指标检测 分别于第2次处理后7 d(花期)和第4次处理后7 d(果期)採摘三年生贝母叶片,按试剂盒所述方法测定丙二醛,叶绿素,过氧化氢含量,SOD,POD,CAT活性。每小区随机选取贝母10株,採摘叶片混样测定。

2.4 叶片激素含量测定 第4次处理后7 d,採摘三年生贝母叶片,测定不同激素含量,每小区随机选取贝母10株,採摘叶片混样测定。

2.4.1 混合对照工作液配制 ①分别称水杨酸,茉莉酸,脱落酸,赤霉素,反式玉米素,反玉米素核苷,玉米素,6-糠氨基嘌呤,N6-异戊烯基腺嘌呤,利波腺苷,吡啶乙酸,4-氯-吡啶乙酸,吡啶丙酸,吡啶丁酸各 $2.5\ \text{mg}$ 于 $25\ \text{mL}$ 棕色量瓶中,用甲醇定容,配制成质量浓度为 $100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的单一对照储备液。

②分别移取各对照储备液于适量量瓶中,用甲醇定容,配制1级混合对照溶液,将该混合对照溶液逐级稀释2,4,8,20倍,得到5个混合对照工作液。

2.4.2 样品前处理 ①提取:分别取样品 $0.7\ \text{g}$ 于 $15\ \text{mL}$ 离心管中,加入甲醇提取液 $5\ \text{mL}$,浸泡过夜后震荡、离心($8\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, $10\ \text{min}$),取上清液,重复提取后合并待净化。

②净化:分别用甲醇 $5\ \text{mL}$ 和水 $5\ \text{mL}$ 活化、平衡固相萃取小柱,取上述提取液过柱,15%甲醇淋洗,甲醇 $5\ \text{mL}$ 洗脱,收集洗脱液,氮气吹至近干,20%甲醇 $1\ \text{mL}$ 复溶,离心取上清液至棕色样品瓶中,备用。

2.4.3 仪器条件^[18-19] 使用超高效液相色谱三重四极杆串联质谱法进行测定。色谱条件为BEH C_{18} 色谱柱($2.1\ \text{mm}\times 100\ \text{mm}$, $1.8\ \mu\text{m}$),流动相0.1%甲酸溶液(A)-乙腈(B),流速 $0.25\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量 $5\ \mu\text{L}$,柱温 $40\ ^\circ\text{C}$ 。流动相梯度洗脱($0\sim 3.0\ \text{min}$, 90%A; $3.0\sim 3.5\ \text{min}$, 75%A; $3.5\sim 7.5\ \text{min}$, 20%A; $7.5\sim 8.0\ \text{min}$, 20%A; $8.0\sim 10.0\ \text{min}$, 90%A)。质谱条件为电喷雾电离源,正负离子电离模式。离子源温度 $500\ ^\circ\text{C}$,电压 $5\ 500\sim 4\ 500\ \text{V}$,气帘气 $206.8\ \text{kPa}$,雾化气和辅助气压力均为 $344.7\ \text{kPa}$,多反应监测模式扫描。

2.4.4 含量计算 将混合对照品溶液逐级稀释,分别以对照品浓度($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制对照曲线。分别将检测的峰面积带入对照曲线计算相应上机液浓度,按照下列公式计算样品中不同激素含量,采用SPSS 22.0软件进行统计分析。样品激素($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)=(上机液浓度 $\times$ 定容体积)/(样品质量 $\times$ 平均回收率)。

2.5 数据分析 分别选出不同处理较对照具有显著性差异的指标,采用SPSS 22.0软件进行相关性分析;以百粒重为目标,对与百粒重有显著相关关系的指标,进行主成分分析,ORIGIN 9.0作图,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 不同处理对甘肃贝母产量和品质的影响 随着栽培年限的增加,甘肃贝母产量和品质都显著提升。三年生甘肃贝母不同处理百粒重差异达到极显著水平,纳米铁和褪黑素之间无差别,但都极显著高于对照,总生物碱含量都达到了《中国药典》规定0.05%的标准。四年生甘肃贝母,百粒重从大到小依次为纳米铁处理、褪黑素处理、对照,差异达到极显著水平,总生物碱含量高于2020年版《中国药典》标准1倍以上。综合分析三、四年生甘肃贝母产量和品质数据,纳米铁和褪黑素对不同年份贝母均具有增产作用,三年生较四年生增产率更高。因此,以三年生为研究对象,开展相关机制研究。见表1。

3.2 不同处理对甘肃贝母叶片抗氧化酶活性、过氧化氢、丙二醛、叶绿素含量的影响 分别于花期和果期检测三年生贝母叶片抗氧化酶活性、过氧化

表 1 不同处理对不同生产年限甘肃贝母百粒重和总生物碱的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 Effect of different treatments on hundred grain weights and total alkaloids contents ($\bar{x}\pm s, n=3$)

处理	四年生贝母		三年生贝母	
	百粒重/g	总生物碱/%	百粒重/g	总生物碱/%
纳米铁	72.78±0.62 ^A	0.128±0.013 ^b	44.28±0.16 ^A	0.052±0.001 ^a
褪黑素	68.32±0.65 ^B	0.142±0.010 ^{ab}	46.32±0.26 ^A	0.050±0.003 ^{ab}
空白	53.75±1.75 ^C	0.163±0.014 ^a	29.76±0.22 ^B	0.044±0.003 ^b

注:同一列数据中,不同大写字母代表 $P<0.01$,不同小写字母代表 $P<0.05$ (表 2,3,5 同)。

氢、丙二醛、叶绿素含量,见表 2,3。褪黑素和纳米铁较对照在花期极显著提高了总叶绿素含量;在果期较对照无明显差异。花期叶绿素含量褪黑素处理高于纳米铁;果期纳米铁高于褪黑素。纳米铁较对照在花期显著提高了叶片过氧化氢含量,但绝对值并不高;果期差异无统计学意义。纳米铁和褪黑素较空白在花期和果期都显著的降低了叶片丙二醛的含量,保护了细胞膜免受氧化损伤,空白和纳米铁随着生长的延续,从花期到果期丙二醛含量显著升高,而褪黑素从花期到果期丙二醛含量显著下降。结果显示,花期丙二醛含量较低,果期含量较高,褪黑素的作用强于纳米铁。褪黑素处理较空白显著地提高了花期 SOD 和 POD 活性,果期 SOD 显著低于对照,POD 显著高于空白,从花期到果期 SOD 显著下降,POD 无显著差异,果期 SOD 降低可能与叶片中活性氧(超氧阴离子自由基等)含量很低有关。纳米铁较空白显著提高了花期和果期的 POD 活性,随着生长的延续,从花期到果期 POD 逐渐升高,到了果期 POD 活性和褪黑素处理达到相同的水平,这种独特的变化规律,及不影响 SOD 活性、却提高叶片过氧化氢含量的现象可能与纳米铁既具有氧化性又具有还原性有关,作为还原剂提供电子,在 POD 的作用下将过氧化氢还原。空白较纳米铁和褪黑素处理,花期 CAT 活性显著增高,不同时期 POD 活性都显著降低,不能有效清除活性氧,导致丙二醛含量在果期显著增高,细胞受到损伤,百粒重降低。

3.3 不同处理对甘肃贝母叶片内源激素含量的影响 采用超高效液相色谱串联质谱法进行对照品检测,色谱图见图 1;各种激素的标准曲线方程见表 4。不同处理对叶片内源激素的影响见表 5,除了细胞分裂素外,不同处理较对照对其他内源激素都产生了显著的影响,表现出相同的趋势。纳米铁和褪

表 2 不同处理对甘肃贝母叶片中叶绿素、过氧化氢、丙二醛含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Effect of different treatments on chlorophyll, hydrogen peroxide, malondialdehyde contents ($\bar{x}\pm s, n=3$)

处理	时期	叶绿素 /mg·g ⁻¹	过氧化氢 /μmol·g ⁻¹	丙二醛 /nmol·g ⁻¹
纳米铁	花期	25.973±2.011 ^B	11.511±0.960 ^A	7.568±0.394 ^D
	果期	19.490±0.866 ^D	3.941±0.368 ^C	18.490±1.300 ^B
褪黑素	花期	30.026±0.442 ^A	4.097±0.653 ^C	6.278±0.788 ^D
	果期	15.779±0.120 ^E	6.749±0.888 ^B	0.602±0.394 ^E
空白	花期	22.371±1.086 ^C	4.663±0.644 ^C	9.976±0.649 ^C
	果期	17.932±0.367 ^{DE}	5.320±0.505 ^{BC}	45.494±1.163 ^A

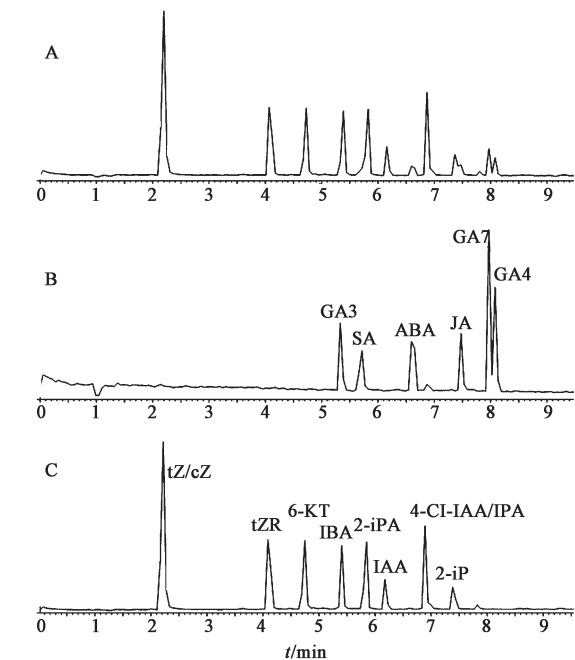
表 3 不同处理对甘肃贝母叶片中 SOD, POD, CAT 活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Effect of different treatments on SOD, POD, CAT ($\bar{x}\pm s, n=3$) U·g⁻¹

处理	时期	SOD 活性	POD 活性	CAT 活性
纳米铁	花期	458.03±34.04 ^{BC}	653.33±80.83 ^B	27.12±13.56 ^B
	果期	325.49±49.34 ^C	1 640.00±20.00 ^A	18.08±7.83 ^B
褪黑素	花期	1 233.57±34.71 ^A	1 593.33±83.27 ^A	22.60±10.36 ^B
	果期	174.47±82.01 ^D	1 546.67±50.33 ^A	15.82±3.91 ^B
空白	花期	554.66±38.88 ^B	180.00±40.00 ^C	228.26±23.81 ^A
	果期	402.45±32.68 ^C	186.67±46.19 ^C	9.04±3.91 ^B

黑素处理较对照显著的提高水杨酸、赤霉素、生长素、脱落酸含量,上述激素含量的提高,增强贝母生长性和抗逆性。虽然两种处理茉莉酸含量低于对照,但对品质没有造成显著影响。水杨酸、赤霉素、生长素绝对质量分数在 $1\times 10^{-8}\sim 1\times 10^{-7}\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,茉莉酸、细胞分裂素、脱落酸绝对质量分数均在 $1\times 10^{-10}\sim 1\times 10^{-8}\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,表明生长和胁迫相关的激素赤霉素、生长素、水杨酸较品质相关激素茉莉酸、脱落酸起主要作用。

3.4 不同指标的相关性及主成分分析 分别对上述两种处理较对照差异显著的指标进行相关性分析,褪黑素与纳米铁相比,SOD 活性较对照也存在显著差异,其余差异指标相同,见表 6,7。不同指标间相关性很强,丙二醛含量与 POD 活性、水杨酸、赤霉素、生长素、脱落酸含量、百粒重负相关,与茉莉酸含量正相关;POD 活性与水杨酸、赤霉素、生长素、脱落酸含量、百粒重正相关,与茉莉酸含量负相关;SOD 活性和其他指标的相关性与 POD 相反;水杨酸含量与赤霉素、生长素、脱落酸含量、百粒重正相关,与茉莉酸含量负相关;赤霉素含量与生长素、脱落酸含量、百粒重正相关,与茉莉酸含量负相关;



A.总离子流;B.负离子;C.正离子流色谱

图 1 不同内源激素对照品 LC-MS

Fig. 1 LC-MS chromatogram of hormone standard materials

生长素含量与脱落酸含量、百粒重正相关,与茉莉酸含量负相关;茉莉酸含量与脱落酸含量、百粒重负相关;脱落酸含量与百粒重正相关。茉莉酸、脱落酸、百粒重三者展现的相关关系,可能与低海拔

表 4 不同激素线性方程

Table 4 Standard curve equation of different hormone

激素	线性方程	相关系数
水杨酸(SA)	$Y=2.16\times10^4X-5.91\times10^3$	0.999 0
茉莉酸(JA)	$Y=7.33\times10^4X$	0.999 5
脱落酸(ABA)	$Y=1.68\times10^4X-3.82\times10^4$	0.999 6
赤霉素 3(GA3)	$Y=6.16\times10^3X-3.26\times10^4$	0.997 5
赤霉素 7(GA7)	$Y=1.64\times10^4X-4.93\times10^4$	0.999 8
赤霉素 4(GA4)	$Y=9.54\times10^3X-5.14\times10^4$	0.999 9
反玉米素(tZT)	$Y=6.11\times10^5X+3.1\times10^4$	0.999 8
反玉米素核苷(tZR)	$Y=3.66\times10^5X+4.48\times10^5$	0.999 4
吲哚乙酸(IAA)	$Y=6.24\times10^4X-5.85\times10^4$	0.998 6
吲哚丙酸(IPA)	$Y=7.19\times10^5X+2.5\times10^4$	0.999 6
4-氯-吲哚乙酸(4-Cl-IAA)	$Y=2.9\times10^4X-2.68\times10^4$	0.999 6
利波腺苷(2-iPA)	$Y=1.38\times10^6X-6.01\times10^4$	0.999 5
玉米素(cZ)	$Y=8.12\times10^5X+4.35\times10^5$	0.999 8
6-糠氨基嘌呤(6-KT)	$Y=5.6\times10^5X-4.33\times10^5$	0.999 8
吲哚丁酸(IBA)	$Y=7.74\times10^4X-7.5\times10^4$	0.999 9
N6-异戊烯基腺嘌呤(2-iP)	$Y=1.3\times10^6X$	0.999 0

驯化栽培逆境胁迫程度强有关。脱落酸和茉莉酸结构、功能类似,但脱落酸提高抗干旱、抗热性作用更强,与百粒重正相关,茉莉酸与百粒重负相关。

表 5 不同处理对甘肃贝母叶片内源激素的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 5 Effect of different treatments on endogenous hormones in leaves ($\bar{x}\pm s$, $n=3$) ng·g⁻¹

处理	水杨酸	赤霉素	生长素	茉莉酸	细胞分裂素	脱落酸
纳米铁	18.240±0.066 ^A	27.233±0.499 ^B	25.793±0.090 ^A	0.357±0.021 ^B	1.067±0.072	2.660±0.026 ^A
褪黑素	17.187±0.059 ^B	40.357±0.131 ^A	17.670±0.096 ^B	0.343±0.015 ^B	1.330±0.046	2.280±0.040 ^B
空白	15.680±0.046 ^C	19.073±0.031 ^C	17.303±0.040 ^C	0.897±0.032 ^A	1.130±0.125	1.670±0.053 ^C

表 6 纳米铁处理相关指标皮尔森相关分析

Table 6 Pearson correlation analysis of zero-valent iron nanoparticles treatment indexes

指标	丙二醛	POD	水杨酸	赤霉素	生长素	茉莉酸	脱落酸	百粒重
丙二醛	1	-0.999 ²⁾	-0.995 ²⁾	-0.993 ²⁾	-0.997 ²⁾	0.999 ²⁾	-0.992 ²⁾	-0.995 ²⁾
POD	-0.999 ²⁾	1	0.998 ²⁾	0.996 ²⁾	0.999 ²⁾	-0.999 ²⁾	0.995 ²⁾	0.993 ²⁾
水杨酸	-0.995 ²⁾	0.998 ²⁾	1	0.995 ²⁾	1.000 ²⁾	-0.995 ²⁾	0.999 ²⁾	0.993 ¹⁾
赤霉素	-0.993 ²⁾	0.996 ²⁾	0.995 ²⁾	1	0.997 ²⁾	-0.992 ²⁾	0.993 ²⁾	0.988 ²⁾
生长素	-0.997 ²⁾	0.999 ²⁾	1.000 ²⁾	0.997 ²⁾	1	-0.996 ²⁾	0.998 ²⁾	0.994 ²⁾
茉莉酸	0.999 ²⁾	-0.999 ²⁾	-0.995 ²⁾	-0.992 ²⁾	-0.996 ²⁾	1	-0.990 ²⁾	-0.990 ²⁾
脱落酸	-0.992 ²⁾	0.995 ²⁾	0.999 ²⁾	0.993 ²⁾	0.998 ²⁾	-0.990 ²⁾	1	0.991 ²⁾
百粒重	-0.995 ²⁾	0.993 ²⁾	0.993 ¹⁾	0.988 ²⁾	0.994 ²⁾	-0.990 ²⁾	0.991 ²⁾	1

注: ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ (表 7 同)。

百粒重与丙二醛, SOD, 茉莉酸负相关, 与 POD, 水杨酸, 赤霉素, 生长素, 脱落酸正相关。上

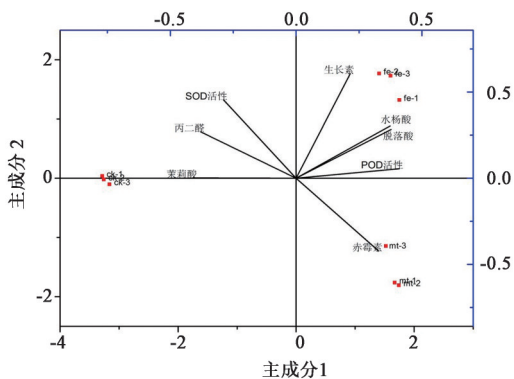
述与百粒重存在相关关系的指标进行主成分分析见图 2。主成分 1 的载荷为 73.64%, 主成分 2 的载荷

表7 褪黑素处理相关指标皮尔森相关分析

Table 7 Pearson correlation analysis of melatonin treatment indexes

指标	丙二醛	SOD	POD	水杨酸	赤霉素	生长素	茉莉酸	脱落酸	百粒重
丙二醛	1	0.905 ¹⁾	-0.999 ²⁾	-0.997 ²⁾	-0.999 ²⁾	-0.948 ²⁾	0.999 ²⁾	-0.989 ²⁾	-0.992 ²⁾
SOD	0.905 ¹⁾	1	-0.891 ¹⁾	-0.908 ¹⁾	-0.911 ¹⁾	-0.781	0.892 ¹⁾	-0.898 ¹⁾	-0.880 ¹⁾
POD	-0.999 ²⁾	-0.891 ¹⁾	1	0.996 ²⁾	0.998 ²⁾	0.954 ²⁾	-0.999 ²⁾	0.989 ²⁾	0.989 ²⁾
水杨酸	-0.997 ²⁾	-0.908 ¹⁾	0.996 ²⁾	1	0.999 ²⁾	0.962 ²⁾	-0.994 ²⁾	0.997 ²⁾	0.985 ²⁾
赤霉素	-0.999 ²⁾	-0.911 ¹⁾	0.998 ²⁾	0.999 ²⁾	1	0.952 ²⁾	-0.997 ²⁾	0.993 ²⁾	0.989 ²⁾
生长素	-0.948 ²⁾	-0.781	0.954 ²⁾	0.962 ²⁾	0.952 ²⁾	1	-0.946 ²⁾	0.974 ²⁾	0.940 ²⁾
茉莉酸	0.999 ²⁾	0.892 ¹⁾	-0.999 ²⁾	-0.994 ²⁾	-0.997 ²⁾	-0.946 ²⁾	1	-0.984 ²⁾	-0.987 ²⁾
脱落酸	-0.989 ²⁾	-0.898 ¹⁾	0.989 ²⁾	0.997 ²⁾	0.993 ²⁾	0.974 ²⁾	-0.984 ²⁾	1	0.979 ²⁾
百粒重	-0.992 ²⁾	-0.880 ¹⁾	0.989 ²⁾	0.985 ²⁾	0.989 ²⁾	0.940 ²⁾	-0.987 ²⁾	0.979 ²⁾	1

为24.32%;丙二醛,茉莉酸,水杨酸,脱落酸含量,POD活性对主成分1贡献更大;SOD活性、生长素、赤霉素含量对主成分2贡献更大。不同处理影响百粒重的原因可以明显区分开,纳米铁处理主要影响生长素、水杨酸、脱落酸;褪黑素处理主要影响SOD,丙二醛,赤霉素;纳米铁和褪黑素2种处理较空白共同的特征是提高了POD活性,降低了茉莉酸含量。



左-下.坐标轴代表不同样本所在的位置;右-上.坐标轴代表不同成分对主成分的贡献;ck-1,2,3.对照样本;fe-1,2,3.纳米铁样本;mt-1,2,3.褪黑素样本

图2 百粒重相关指标主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of correlation indexes of hundred grain weights

4 讨论与结论

纳米农业在国外已有十多年的发展历程,2003年,美国启动了“农业和食品系统纳米科学与工程”研究计划,而我国纳米农业的研究还处于起步阶段。本研究发现纳米铁处理显著提高了贝母叶片叶绿素、水杨酸、赤霉素、生长素、脱落酸、过氧化氢含量和POD活性;降低了丙二醛含量,CAT活性;对SOD无显著影响。表明适当浓度的纳米铁具有提

高贝母生长和胁迫抗性相关激素含量的作用;因其具有氧化性,提高了过氧化氢含量,POD活性,又可作为还原剂在POD的作用下被过氧化氢氧化为二价铁离子,提高叶绿素含量,增强光合作用;作为还原剂还可以直接与超氧阴离子自由基等发生反应,降低丙二醛含量,避免活性氧造成细胞膜损伤,对产量造成影响。总体而言,纳米铁通过调节激素水平,提高光合作用,增强逆境胁迫抗性达到增产的作用。研究表明纳米TiO₂具有与萘乙酸(NAA)相似的生长素作用,显著提高人工种子萌发生根速度,具有防腐杀菌作用^[20];氧化铁纳米颗粒促进大豆植株对矿质营养成分的吸收,促进生长^[21];提高盐胁迫下香青兰酶促和非酶促抗氧化防御系统^[22]。本研究与上述研究结果基本一致。

外源褪黑素处理显著提高了黄瓜幼苗株高、茎粗、植株干重,叶绿素、谷胱甘肽、维生素C含量,保护酶SOD,POD,CAT,抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性^[23];在干旱胁迫下,褪黑素通过增加根冠比,促进水分吸收,增强抗氧化能力,维持小麦较高的光合能力^[24];褪黑素通过影响地上部光合作用及糖信号,与生长素、乙烯等植物激素及NO等信号分子互作,调控根系生长所需的物质和能量输入,参与不同生长信号网络的调控过程,从而影响植物对养分的利用效率,促进生长^[10]。本研究发现褪黑素处理显著提高贝母叶片叶绿素、水杨酸、赤霉素、生长素、脱落酸含量,SOD,POD活性,降低丙二醛含量和CAT活性。表明褪黑素主要通过提高促生和抗逆激素水平,活性氧清除酶系活性,光合作用,达到增产的效果,与上述研究结果基本一致。

纳米铁和褪黑素处理较空白组,其共同作用为:降低茉莉酸含量、降低丙二醛含量,但不影响总

生物碱含量;促进POD表达,并且从花期到果期保持高活性,暗示间断性长期处理促进POD活性持续增加和维持,区别于其他活性氧清除酶。综上所述,两种处理对贝母激素水平的影响一致,对生理生化影响存在差异,可为指导药材生产提供理论依据。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:38.
- [2] 李凯荣,李会科,王健. 天然油菜素内酯对红富士苹果抗旱增产效应的研究[J]. 园艺学报,2006(5):1059-1062.
- [3] 冯韬,谭晖,徐江林,等. 油菜素内酯在不同生育期对两品系甘蓝型油菜的生长调控[J]. 中国油料作物学报,2019,41(6):904-913.
- [4] HERNÁNDEZ R J, ARNAO M B. Melatonin stimulates the expansion of etiolated *lupin cotyledons* [J]. Plant Growth Regul, 2008, 55(1):29-34.
- [5] HERNÁNDEZ R J, CANO A, ARNAO M B. Melatonin: a growth-stimulating compound present in *lupin* tissues[J]. Planta, 2004, 220(1):140-144.
- [6] ARNAO M B, HERNÁNDEZ R J. Melatonin promotes adventitious and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus*[J]. J Pineal Res, 2007, 42(2):147-152.
- [7] REITER R J, TAN D X. Melatonin: an antioxidant in edible plants[J]. Annals New York Acad Sci, 2002, 957:341-344.
- [8] KOLAR J, JOHNSON C H, MACHACKOVA I. Exogenously applied melatonin affects flowering of the short-day plant *Chenopodium rubrum* [J]. Physiol Plantarum, 2003, 118(4):605-612.
- [9] KOLAR J, MACHACKOVA I, EDER J, et al. Melatonin: Occurrence and daily rhythm in *Chenopodium rubrum* [J]. Phytochemistry, 1997, 44(8):1407-1413.
- [10] 臧伟娜,张德闪,李海港,等. 褪黑素调控根系生长和根际互作的机制研究进展[J]. 植物营养与肥料学报,2019,25(4):671-682.
- [11] 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.
- [12] 朱世东,周根树,蔡锐,等. 纳米材料国内外研究进展 I——纳米材料的结构、特异效应与性能[J]. 热处理技术与装备,2010,31(3):1-5.
- [13] 李冬霞,陈红新,朱焕焕,等. 纳米科技如何影响农业,又将推动农业走向何方[J]. 蔬菜,2019(1):1-12.
- [14] TOUFIQ I. Potential of iron nanoparticles to increase growth and yield of wheat in *Bangladesh* [J]. Vegetos An Int J Plant Res, 2017, 30(special):93-100.
- [15] KIM J H, LEE Y, KIM E J, et al. Exposure of iron nanoparticles to *Arabidopsis thaliana* enhances root elongation by triggering cell wall loosening[J]. EST, 2014, 48(6):3477-3485.
- [16] YOON H, KANG Y G, CHANG Y S, et al. Effects of zero-valent iron nanoparticles on photosynthesis and biochemical adaptation of soil-grown *Arabidopsis thaliana* [J]. Nanomaterials, 2019, doi: 10.3390/nano9111543.
- [17] ROSA S L I, EDUARDO B L, SANTOS B M F, et al. Iron oxide nanoparticle phytotoxicity to the aquatic plant *Lemna minor*: effect on reactive oxygen species (ROS) production and chlorophyll a/chlorophyll b ratio [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2019, 26(23):24121-24131.
- [18] OULKAR D P, BANERJEE K, KULKARNI S. Multiresidue analysis of plant growth regulators in grapes by triple quadrupole and quadrupole-time of flight-based liquid chromatography/mass spectrometry [J]. J AOAC Int, 2011, 94(6):1715-1721.
- [19] 龚明霞,王日升,何龙飞,等. 超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱法同时测定植物组织中多种激素[J]. 分析科学学报,2016,32(6):789-794.
- [20] 谷睿智,吴沿友,滕博群,等. 添加纳米TiO₂制作的人工种皮对种子萌发的影响[J]. 北方园艺,2016(12):20-24.
- [21] YANG X L, DARIOUSH A, WANG C Y. Effects of iron oxide nanoparticles on the mineral composition and growth of soybean (*Glycine max* L.) plants [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2020, 42(8):1-11.
- [22] HANIEH M, RASHID J, REZA H, et al. Investigating the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense by applying iron oxide nanoparticles in *Dracocephalum moldavica* plant under salinity stress [J]. Sci Horticulturae, 2020, doi: 10.1016/j.scienta.109537.
- [23] 高青海,王亚坤,陆晓民,等. 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[J]. 西北植物学报,2014,34(8):1608-1613.
- [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.

[责任编辑 顾雪竹]