

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.53044

外源褪黑素通过协调光反应与暗反应增强玉米苗期的耐热性

李新浩¹ 邢梦柯¹ 周梓惠¹ 李思烨² 任昊² 王洪章² 赖华江^{2,*}

¹ 山东农业大学未来技术学院, 山东泰安 271018; ² 山东农业大学农学院, 山东泰安 271018

摘要: 近年来, 频发的极端高温天气严重制约了我国玉米生产。外源褪黑素(Met)通过提高抗氧化能力来增强作物的抗逆性, 但其对热胁迫下玉米叶片碳同化能力及原初光化学效率的影响机制鲜有报道。本研究以热敏感型玉米品种先玉 335 (XY)和耐热型玉米品种登海 605 (DH)为材料, 于玉米 6 叶期进行热胁迫(38℃/28℃)处理, 探究外源 Met 对光合响应特征和荧光动力学曲线的影响。结果显示, 与清水处理相比, 外源 Met 促进了热胁迫下玉米叶片中可溶性糖和脯氨酸的积累, 提高了植株含水量。Met 还提高了超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性, 减少了氧化胁迫和丙二醛(MDA)含量。这些改善效应降低了 K 相(300 μs)和 L 相(200 μs)的相对荧光, 缓解了热胁迫对放氧复合体的损伤和电子传递阻碍, 并提高了单位面积 PSII 反应中心数量。XY 和 DH 的最大光化学效率(ϕ_{P_0})在 Met 处理下分别提高 29.1%和 17.2%。此外, 与清水处理相比, 外源 Met 改善了热胁迫下玉米叶片核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)的活性, 尤其是在敏感品种 XY 中。光合响应参数显示, Met 处理下, XY 和 DH 的最大光合效率(P_{nmax})分别提高了 38.6%和 30.8%, 光合能力(P_o)分别提高了 30.2%和 19.2%, 并降低了光呼吸速率(R_p), 提高了光饱和点(I_{sat})、CO₂ 饱和点(C_{isat})和最大羧化效率(V_{cmax})。研究表明, 外源 Met 增强了叶片的渗透调节能力和抗氧化能力, 协同改善了光反应和暗反应, 缓解了热胁迫对玉米苗期净光合速率(P_n)的影响和对植株生长的损伤。

关键词: 玉米; 高温胁迫; 褪黑素; 叶绿素 *a* 荧光动力学; 光响应曲线; CO₂ 响应曲线

Exogenous melatonin enhances heat tolerance of maize at the seedling stage by coordinating light and dark reactions

Li Xin-Hao¹, Xing Meng-Ke¹, Zhou Zi-Hui¹, Li Si-Ye², Ren Hao², Wang Hong-Zhang², and Lai Hua-Jiang^{2,*}

¹ College of Future Technology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong, China; ² College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong, China

Abstract: In recent years, frequent extreme high-temperature events have severely limited maize production in China. Exogenous melatonin (Met) has been shown to enhance crop stress tolerance by improving antioxidant capacity; however, its role in regulating carbon assimilation and primary photochemical efficiency in maize leaves under heat stress remains poorly understood. In this study, the heat-sensitive maize cultivar Xianyu 335 (XY) and heat-tolerant cultivar Denghai 605 (DH) were used to investigate the effects of exogenous Met on photosynthetic responses and chlorophyll fluorescence kinetic curves under heat stress conditions (38℃/28℃) at the six-leaf stage. Compared with water treatment, exogenous Met significantly promoted the accumulation of soluble sugars and proline in maize leaves under heat stress, enhanced plant water content, and increased the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT), thereby reducing oxidative damage and lowering malondialdehyde (MDA) levels. These improvements alleviated the rise in relative fluorescence at the K phase (300 μs) and L phase (200 μs), mitigated heat-induced damage to the oxygen-evolving complex, relieved electron transport blockages, and increased the number of PSII reaction centers per unit area. Under Met treatment, the maximum photochemical efficiency (ϕ_{P_0}) increased by

本研究由山东省重点研发计划项目(2022CXPT014-02)和优良品种产效协同提升关键技术研究课题项目资助。

This study was supported by the Key Research and Development Program of Shandong Province (2022CXPT014-02) and the Project of Key Technologies for Synergistic Improvement of Yield and Efficiency of Elite Varieties.

* 通信作者(Corresponding author): 赖华江, E-mail: lhj955297@126.com

第一作者联系方式: E-mail: 2369034411@qq.com

Received (收稿日期): 2025-07-01; Accepted (接受日期): 2025-11-18; Published online (网络出版日期): 2025-12-01.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20251201.1132.002>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

29.1% in XY and 17.2% in DH. Furthermore, Met enhanced the activities of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) and phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC), especially in the heat-sensitive XY. Photosynthetic response analysis showed that under Met treatment, the maximum net photosynthetic rate (P_{nmax}) increased by 38.6% in XY and 30.8% in DH, while photosynthetic capacity (P_c) increased by 30.2% and 19.2%, respectively. In addition, Met reduced the photorespiration rate (R_p) and increased the light saturation point (I_{sat}), CO_2 saturation point (C_{isat}), and maximum carboxylation efficiency (V_{cmax}). Overall, these findings indicate that exogenous Met enhances osmotic adjustment and antioxidant defense in maize leaves, synergistically improves both light and dark reactions of photosynthesis, and effectively mitigates heat stress-induced damage to net photosynthesis (P_n) and early-stage plant growth.

Keywords: maize; heat stress; melatonin; chlorophyll *a* fluorescence kinetics; light response curve; CO_2 response curve

玉米作为我国第一大粮食作物,是重要的饲料和工业原料^[1-2],对保障我国粮食安全具有至关重要的作用。黄淮海夏玉米区是我国重要的玉米产地,种植面积占我国玉米种植总面积的 30%^[3]。然而,近年来全球气候变暖导致黄淮海地区 7—8 月份频繁出现连续高温天气,此时正值玉米的关键生育期,高温热害严重影响其产量形成^[4-5]。因此,亟需研发缓解热胁迫导致玉米减产的栽培措施以保障我国玉米生产的高产稳产。

尽管玉米是喜温作物,但是当气温超过 38℃时,玉米叶片净光合速率(net photosynthetic rate, P_n)明显受到抑制,并阻碍光合产物向雌穗的转运和再动员^[6-7]。玉米拔节期遭遇热胁迫会显著降低 P_n 和相对叶绿素含量(soil and plant analyzer development, SPAD),导致后期干物质积累和粒重的下降^[8]。造成玉米叶片光合速率下降的原因主要包括气孔限制和非气孔限制 2 个方面^[9]。长时间高温胁迫会导致叶片蒸腾速率下降,气孔阻力增大,胞间 CO_2 浓度(intercellular CO_2 concentration, C_i)减少以及细胞膜受损导致电解质外渗, CO_2 传递受阻等,进而导致光合速率下降^[10]。同时,高温胁迫会导致叶绿体结构被破坏,光合色素降解,光系统 II (PSII)光能转换率降低,电子传递受阻,降低光合作用^[11-12]。此外,玉米苗期遭遇热胁迫会导致氧化胁迫,加剧过氧化损伤,增加丙二醛(malondialdehyde, MDA)积累,同时造成内源激素紊乱,降低核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)和柠檬酸合酶活性^[13],导致玉米幼苗发育不良、外形瘦弱、枯黄早衰^[14]。

褪黑素(N-乙酰-5-甲氧基色胺, melatonin, Met)最初被认为是一种只存在于人和动物中的信号物质,后来证明也广泛存在于植物中^[15]。外源 Met 在非生物胁迫下对植物生长具有积极的影响^[15-16],可以通过诱导胁迫下抗氧化酶活性和非酶抗氧化物质的积累,清除细胞中的活性氧(reactive oxygen species, ROS),减缓细胞的膜脂过氧化程度^[17]。研究表明,

Met 可以显著提高高羊茅幼苗的耐热性,增加其在热胁迫下的鲜重、株高、叶绿素含量、可溶性蛋白质含量和抗氧化能力,同时上调 *FaAWPM*、*FaCYTC-2*、*FaHSA3*、*FaHSP18.2* 和 *FaCML38* 等热胁迫反应相关基因的表达^[18]。Met 处理可以显著增加热胁迫下玉米叶片的氮素含量,提高 P_n ,促进生物量积累和光合产物向籽粒转运^[19]。然而,目前对热胁迫下 Met 对玉米叶片光合性能影响的了解还不全面,尚不清楚热胁迫下 Met 提高玉米叶片光合碳同化能力的机制如何,以及 Met 是否会影响玉米叶片原初光化学活性。为了回答上述问题,本研究采用不同耐热型的玉米品种,结合叶绿素荧光动力学、光合响应特征和叶片生理检测,探讨外源 Met 对玉米热胁迫下叶片光合碳同化能力和原初光化学活性下降的缓解机制,为夏玉米抗逆高产高效栽培技术的研发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本试验于 2024—2025 年在山东农业大学黄淮海区域玉米技术创新中心(36°10'N, 117°09'E)进行,试验地属于半湿润暖温带大陆性季风气候。试验采用盆栽栽培方式,种植基质由附近农田 0~20 cm 土层的土壤和河沙按照 2:1 的比例充分混合而成,填入高 20 cm、直径 25 cm 的塑料花盆中。通过灌溉压实土壤。盆栽基质中使用的耕层 0~20 cm 土壤的养分含量为有机质 11.2 g kg⁻¹、全氮 1.1 g kg⁻¹、碱解氮 60.4 mg kg⁻¹、速效磷 41.0 mg kg⁻¹ 和速效钾 75.6 mg kg⁻¹。每盆施用 5 g 复合肥(N:P₂O₅:K₂O = 25:12:5)。

2024 年选用热敏感型玉米品种先玉 335 (Xianyu 335, XY)为试验材料,在 2025 年为检验外源 Met 对不同耐热型品种的适用性,增加耐热型玉米品种登海 605 (Denghai 605, DH)进行试验。播种前,挑选饱满一致的玉米种子,用超纯水浸泡 30 min,

再用 0.5% NaClO 消毒 10 min, 随后用超纯水多次冲洗。2024 年于 8 月 10 日播种, 2025 年于 4 月 16 日播种。每个品种种植 70 盆, 每盆均匀播种 3 粒种子, 发芽后 10 d 间苗至每盆 1 株。在植株生长期, 视土壤情况进行适当灌溉, 并从加热前一天开始直至处理结束, 每天 18:00 每盆灌溉 300 mL 以维持适宜的土壤湿度。试验采用随机区组设计, 包括 2 个处理, 高温胁迫下喷施清水 (HT-W) 和喷施 Met (HT-Met), 每个处理重复 30 盆。当幼苗成长至 6 叶期, 将需要高温胁迫处理的盆栽转移至高透光率树脂薄膜(薄膜厚度 0.1 mm, 透光率 90%以上)和钢架结构制作的可控温控温室^[20]内进行加热, 各品种保留 10 株不进行加热处理用于叶绿素荧光动力学参数的测定。依据黄淮海夏玉米区近 10 年气象资料分析, 将胁迫处理的温度设置为昼(08:00—18:00) / 夜(18:00—次日 08:00)平均温度为 38℃/28℃。高温处理连续进行 5 d, 在处理结束后拆除薄膜和钢架, 使玉米继续在自然条件下生长直至收获。高温处理期间, 使用 GSP-6 型(Elitech, 中国)温度计每隔 30 min 自动记录环境温、湿度, 同时用红外测温计(TM-65E)测定叶片表面温度。于处理第 1 天和第 3 天上午 08:00 喷施 Met 和清水。依据前人研究结果^[21-22], 将 Met 的施用浓度设定为 20 mg L⁻¹ (86 μmol L⁻¹), 用量为 10 mL 株⁻¹, 均匀喷施在所有叶片表面和背面, 所有溶液包含 0.002% 的吐温-80。

1.2 项目测定

1.2.1 玉米植株生长状况 在高温胁迫结束后收集玉米幼苗地上部测量鲜重, 之后将植株置于烘箱中 105℃杀青 30 min 后, 80℃烘干至恒重, 测量地上部干重和植株含水量。由于幼苗较小, 为了减少误差, 将每 3 株合为 1 组生物学重复进行测量, 2024 年各处理重复测量 6 次, 2025 年重复测量 5 次。

1.2.2 相对叶绿素含量 (SPAD 值) 2025 年试验中补充了对 SPAD 值的测定。在高温胁迫结束时, 使用 SPAD-502 型手持叶绿素仪测定玉米植株最后一叶展开叶中部的 SPAD 值。测定时避开主叶脉, 各处理重复测定 20 株。

1.2.3 气体交换参数 在加热处理的第 5 天上午 10:00, 使用 Li-6800 便携式光合仪 (Li-Cor, Lincoln, 美国) 测定主茎倒数第 2 片完全展开叶的 P_n 、 C_i 、气孔导度 (stomatal conductance, G_s) 和蒸腾速率 (transpiration rate, T_r)。测定条件为: 内置 LED 光源, PAR_i 为 1600 μmol m⁻² s⁻¹, CO_2 浓度为 360 μmol mol⁻¹,

气体流速控制在 500 μmol s⁻¹。每个处理测量 6 株, 以进行可靠的统计分析。

1.2.4 光合-光响应曲线 在 400 μmol mol⁻¹ CO_2 浓度下测定光合-光响应曲线。光合有效辐射梯度设为 1800、1500、1200、900、600、300、200、150、100、50 和 0 μmol m⁻² s⁻¹, 各处理测量 3 株。

采用光合计算软件(<https://photosynthetic.sinaapp.com/index.html>)中的直角双曲线修正模型^[23]拟合光合-光响应曲线:

$$P_n = \alpha ((1 - \beta C_i) / (1 + \gamma C_i)) / I - R_d \quad (1)$$

式中, I 表示光量子通量密度 (μmol m⁻² s⁻¹); α 表示光响应曲线在 $I = 0$ 时的斜率, 即为初始的量子效率 (μmol μmol⁻¹); β 表示光抑制项系数; γ 表示光饱和项系数; R_d (dark respiration rate) 为暗呼吸速率 (μmol m⁻² s⁻¹)。直线方程拟合弱光 (≤ 200 μmol m⁻² s⁻¹) 下的光响应, 获取光响应曲线的初始斜率, 即为表观量子效率 (apparent quantum efficiency, AQY)。直线方程与 x 轴的交点即为光饱和点 (light saturation point, I_{sat}), 与直线 $y = P_{nmax}$ 交点所对应的 x 轴数值即光补偿点 (light compensation point, I_c)^[24]。

1.2.5 光合- CO_2 响应曲线 在稳定的 1600 μmol m⁻² s⁻¹ 光合有效辐射条件下进行光合- CO_2 响应曲线的测定。 CO_2 梯度设为 20、50、100、200、300、400、600、800、1000 和 1200 μmol mol⁻¹, 各处理测量 3 株。

采用光合计算软件中的“叶子飘光合- CO_2 响应机理模型”^[25]拟合光合- CO_2 响应曲线:

$$P_n = a ((1 - b C_i) / (1 + c C_i)) / C_i - R_p \quad (2)$$

式中, P_n 为净光合速率, C_i 为胞间 CO_2 浓度, a 是 CO_2 响应曲线的初始羧化效率, b 和 c 为系数, R_p (photorespiration rate) 为光呼吸速率。用于后续分析的模型参数包括 R_p 、 CO_2 饱和点 (CO_2 saturation point, C_{isat})、 CO_2 补偿点 (CO_2 compensation point, Γ)、光合能力 (达到饱和 C_i 时的 P_n , photosynthetic capacity, P_c) 和最大羧化速率 (maximum carboxylation rate, V_{cmax})。

1.2.6 叶绿素 a 荧光瞬态 在 2025 年, 为探究喷施 Met 对热胁迫下玉米叶片原初光化学活性的影响, 增加了对叶绿素荧光动力学 (chlorophyll a fluorescence kinetics curve, OJIP) 曲线的检测。为了便于计算相关参数, 设置了 10 盆自然温度下生长并喷施清水的植株, 用于测定正常条件下的 OJIP 曲线。热胁迫第 5 天上午 10:00, 利用多功能植物效率分析仪 (M-PEA, Hansatech Instruments Ltd., 英国) 测定各处理最后一叶完全展开叶的叶绿素 a 荧光瞬态。每个

处理重复测定 10 株, 在测量之前, 所有选择的叶片都使用与 M-PEA 匹配的叶片夹子进行 30 min 的暗适应, 测量区域位于叶片中部, 避开主叶脉。然后用 3000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 连续红光脉冲诱导叶片, 并采集 10 μs 至 2 s 的叶绿素荧光信号。JIP-test 及其他参数的说明和计算公式见表 1 [26]。

表 1 荧光瞬态 OJIP 曲线的 JIP-test 相关术语的说明和计算公式
Table 1 Formulae and explanation of terms used in the JIP-test for analyzing chlorophyll fluorescence OJIP transients

参数和计算公式 Parameter and formulae	参数说明 Parameter illustration
$V_i = (F_t - F_o) / (F_m - F_o)$	O 相到 P 相之间的相对可变荧光。 F_t 为脉冲光诱导 t 时刻的荧光强度; F_o 为最小荧光(所有 PSII 反应中心(RC)开放时, $t = 0$ 时刻); F_m 为最大荧光(所有 PSII 反应中心关闭时)。 V_j 和 V_i 分别表示在 J 相(2 ms)和 I 相(30 ms)的相对可变荧光 Relative variable fluorescence between phase O and phase P. F_t , fluorescence at time t after onset of actinic illumination; F_o , minimal fluorescence, when all PSII reaction centers (RC) are open (at $t = 0$); F_m , maximal fluorescence, when all PSII RCs are closed. V_j and V_i represent the relatively variable fluorescence in the J phase (2 ms) and I phase (30 ms), respectively
$W_k = (F_t - F_o) / (F_j - F_o)$	O 相到 J 相之间的相对可变荧光。 F_j 为 2 ms 时的荧光强度 Relative variable fluorescence between phase O and phase J. F_j , fluorescence at 2 ms after onset of actinic illumination
$L_{\text{band}} = (F_t - F_o) / (F_k - F_o)$	O 相和 K 相之间的相对可变荧光。 F_k 为 300 μs 时的荧光强度 Relative variable fluorescence between phase O and phase K. F_k , fluorescence at 300 μs after onset of actinic illumination
$PI_{\text{abs}} = (\varphi_{\text{Po}} / (1 - \varphi_{\text{Po}})) (\psi_o / (1 - \psi_o))$ (1-ABS/RC)	基于吸收光能为基础的性能指数 Performance index on absorption basis
$\varphi_{\text{Po}} = TR_o / ABS = [1 - (F_o / F_m)]$	原初光化学的最大量子产额(在 $t = 0$ 时) Maximum quantum yield of primary photochemistry (at $t = 0$)
$\psi_o = ET_o / TR_o = 1 - V_j$	将电子传递至 Q_A^- 之后的电子传递链的概率(在 $t = 0$ 时) Probability that a trapped exciton moves an electron into the electron transport chain beyond Q_A^- (at $t = 0$)
$\varphi_{\text{Eo}} = ET_o / ABS = (1 - F_o / F_m) \psi_o$	用于电子传递的量子产额(在 $t = 0$ 时) Quantum yield for electron transport (at $t = 0$)
$\varphi_{\text{Ro}} = RE_o / ABS = TR_o / ABS (1 - V_i)$	光系统 I (PSI) 末端电子受体还原的量子产额 The quantum yield of reduction of end electron acceptors of PSI
$ABS/RC = M_o (1/V_j) (1/\varphi_{\text{Po}})$	单位反应中心吸收的光能。 M_o , OJIP 荧光诱导曲线的初始斜率 Absorption flux per RC. M_o , the initial slope of the OJIP fluorescence induction curve
$TR_o/RC = M_o (1/V_j)$	单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量(在 $t = 0$ 时) Energy trapped per RC for Q_A reduction (at $t = 0$)
$ET_o/RC = M_o (1/V_j) \psi_o$	单位反应中心捕获的用于电子传递的能量(在 $t = 0$ 时) Energy trapped per RC for electron transport (at $t = 0$)
$DI_o/RC = ABS/RC - TR_o/RC$	单位反应中心耗散掉的能量(在 $t = 0$ 时) Energy dissipated per RC (at $t = 0$)
$RE_o/RC = \varphi_{\text{Ro}} (ET_o/RC)$	RC 为基础的电子传递到 PSI 受体侧末端电子受体的能量(在 $t = 0$ 时) RC-based energy for electron transport to the terminal electron acceptors at the PSI acceptor side (at $t = 0$)
$RC/CS_o = \varphi_{\text{Po}} (V_j/M_o) (ABS/CS_o)$	单位面积有活性反应中心的数量 Density of active reaction centers

1.2.7 抗氧化酶活性和丙二醛(MDA)含量 热胁迫处理结束时, 剪取 9 株(3 株为 1 个生物学重复)玉米最后一叶完全展开叶中间部位, 去除主脉, 在液氮冷冻条件下, 用球磨仪充分粉碎后-80℃保存, 用于抗氧化酶活性、MDA 含量、渗透调节物质以及碳代谢相关酶活性的测定。

称取 0.5 g 冷冻样品, 加入 5 mL 预冷的磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.8)充分震荡后 10,000×g 离心 20 min, 上清液用于测定抗氧化酶活性及 MDA 含量。
超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的测定参照 Giannopolitis 和 Ries [27]的方法。取 20 μL 酶液, 加入 3 mL SOD 反应液(pH 7.8,

PBS: Met: NBT: EDTA- Na_2 : FD: H_2O = 15: 3: 3: 3: 3: 2.5), 并设置对照组和空白组(不加酶液, 以缓冲液代替), 空白置于暗处, 对照与酶液同置于 $80\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ 条件下光照 30 min 后遮光保存, 以空白组调零, 在 560 nm 波长下测定吸光度。

过氧化物酶(peroxidase, POD)活性采用愈创木酚法测定^[28]。POD 反应液为 50 mL pH 6.0 的 PBS 加入 20 μL 愈创木酚和 19 μL 30%的 H_2O_2 配制。20 μL 酶液加上 3 mL 反应液后, 在 470 nm 波长下读取每分钟吸光度的变化值以表示酶活力的大小。

过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的测定参考 Aebi^[29] 描述的方法。取 50 μL 酶液加入 2.5 mL CAT 反应液($0.1\ \text{mol L}^{-1}\ \text{H}_2\text{O}_2$: pH 7.0 磷酸缓冲液 = 1: 4), 以 240 nm 波长下每分钟吸光度变化值表示酶活力的大小。

MDA 含量的测定参考赵世杰和苍晶^[30]描述的方法。取 1 mL 酶液, 加 0.6%硫代巴比妥酸(0.6 g TBA、20 mL $1\ \text{mol L}^{-1}\ \text{NaOH}$ 、10%三氯乙酸), 封口沸水浴 15 min, 迅速冷却后在 $8000\times g$ 下离心 15 min, 取上清液, 在 600、532 和 450 nm 波长下测定吸光度。

1.2.8 渗透调节物质含量 脯氨酸(proline, Pro)含量采用茚三酮比色法测定^[31]。取 0.3 g 鲜样, 加入 5 mL 酸性磺基水杨酸, 沸水浴 10 min 后过滤, 取 2 mL 提取液加入 2 mL 冰醋酸和 3 mL 酸性茚三酮, 沸水浴 40 min, 冷却后加入 5 mL 甲苯, 充分振荡, 静置分层, 取上层甲苯溶液于 520 nm 波长下测定吸光度。

可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量采用考马斯亮蓝法测定^[31]。取 20 μL 提取液(提取方法如抗氧化酶测定方法), 加入 3 mL 考马斯亮蓝溶液(100 mg 考马斯亮蓝、50 mL 90%乙醇、100 mL 85%磷酸定容至 1000 mL)静置 2 min 后于 595 nm 波长下测定吸光度。

可溶性糖(soluble sugar, SS)含量采用蒽酮比色法测定^[31]。称取 0.5 g 样品, 加 80%乙醇 4 mL, 80°C 水浴提取 20 min, 冷却后离心, 重复提取 3 次, 合并上清液至 50 mL 容量瓶中, 定容。100 μL 提取液中加入 3 mL 蒽酮试剂, 沸水浴 10 min, 冷却后在 620 nm 波长下测定吸光度。

1.2.9 碳代谢关键酶活性检测 称取 0.5 g 样品, 加入 6 mL 酶提取液($0.1\ \text{mol L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液(pH 8.4)、 $10\ \text{mmol L}^{-1}\ \text{MgCl}_2$ 、 $1\ \text{mmol L}^{-1}$ EDTA、 $7\ \text{mmol L}^{-1}\ \beta$ -巯基乙醇、5%甘油、1% PVP), 4°C 下离心 10 min, 上清液即酶液。核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶

(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPC)活性的测定参照魏爱丽等^[32]的方法。

Rubisco: 将反应体系($50\ \text{mmol L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液(pH 8.0)、 $20\ \text{mmol L}^{-1}\ \text{MgCl}_2$ 、 $5\ \text{mmol L}^{-1}$ DDT、 $2\ \text{mmol L}^{-1}$ NADH、 $30\ \text{mmol L}^{-1}$ ATP、 $1\ \text{mmol L}^{-1}$ EDTA、 $10\ \text{mmol L}^{-1}\ \text{KCl}$ 、 $10\ \text{mmol L}^{-1}\ \text{NaHCO}_3$ 、3-磷酸甘油酸激酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶)在 30°C 恒温水浴 10 min, 加入 0.1 mL $9\ \text{mmol L}^{-1}$ 核酮糖-1,5-二磷酸溶液和 0.1 mL 酶液启动反应, 立刻在 340 nm 波长下测定吸光度的减少, 每隔 30 s 记录 1 次, 连续测 2 min。

PEPC: 将 0.5 mL 酶液加入到反应体系($100\ \text{mmol L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液(pH 9.2)、 $10\ \text{mmol L}^{-1}\ \text{MgCl}_2$ 、 $10\ \text{mmol L}^{-1}\ \text{NaHCO}_3$ 、 $1.5\ \text{mmol L}^{-1}$ NADH 和 $50\ \text{U mL}^{-1}$ 苹果酸脱氢酶)中, 28°C 水浴 10 min, 加入 0.2 mL $40\ \text{mmol L}^{-1}$ PEP 启动液, 摇匀, 立刻在 340 nm 波长下测定吸光度的减少, 每隔 30 s 记录 1 次, 连续测 2 min。

1.3 数据分析

使用 Excel 2021 (Microsoft Corp., Redmond, 美国)收集和整理初步试验数据。采用 SPSS 26.0 (SPSS Inc., 美国)通用线性模型(general linear model, GLM)进行方差分析(ANOVA), 将品种和是否喷施 Met 作为固定因子, 重复区组作为随机因子, 程序设定为全因子模型。事后检验采用 Tukey's (honest significant difference, HSD)检验, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。使用 SPSS 中的双变量相关分析(bivariate correlate)程序计算 Person 相关系数。为探究各指标对热胁迫下玉米幼苗生长的贡献, 使用 R 软件(<https://www.r-project.org>)的“randomForest”包进行随机森林分析, 以增量均方误差(IncMSE)表征性状对干物质积累的重要性。使用 Origin 2021 (Origin Lab Corp., 美国)对数据分析结果进行可视化。

2 结果与分析

2.1 温度控制和植株生长状况

在高温胁迫期间, 温室中 2 年的平均温度为 37.6°C , 相比于外界环境升高了 6.2°C , 温度处理达到了试验设计要求(图 1-A)。与清水相比, 喷施 Met 降低了热胁迫下玉米幼苗叶片的表面温度(图 1-B), 其中, 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素(XYM)两年平均降低 0.8°C , 而登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素(DHM)降低了 1.9°C 。此外, 与 XY 相比, DH 在热胁迫

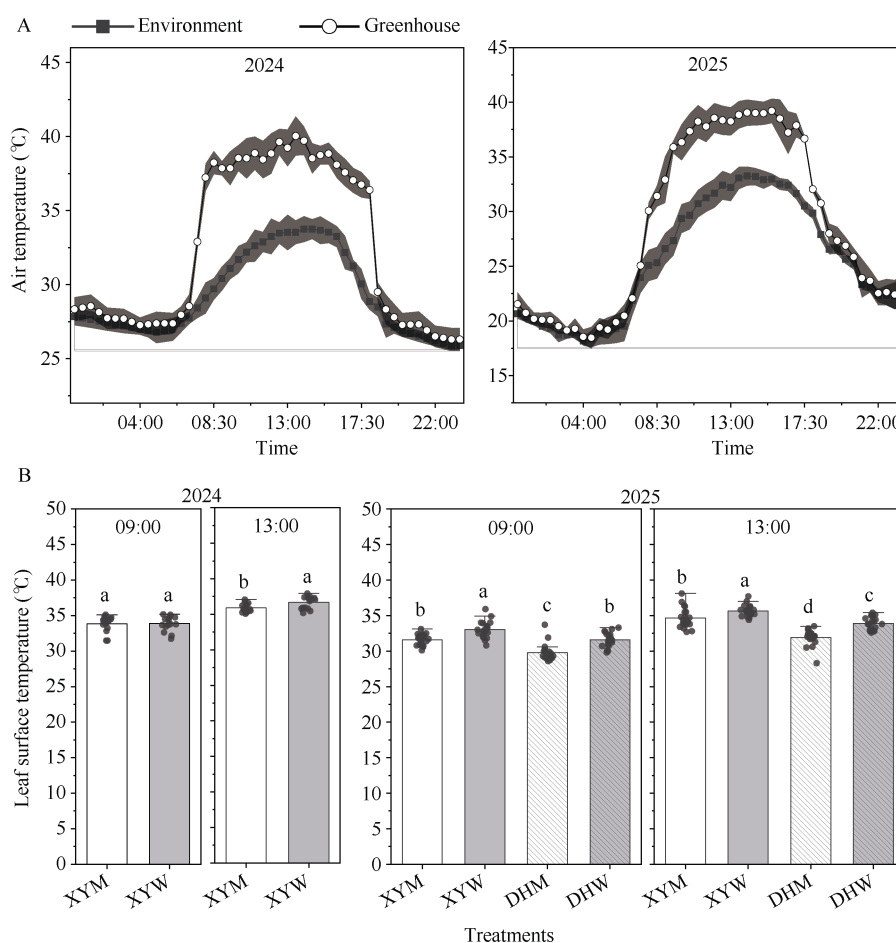


图 1 高温胁迫期间的环境温度 and 叶片表面温度

Fig. 1 Environmental temperature and leaf surface temperature during heat stress

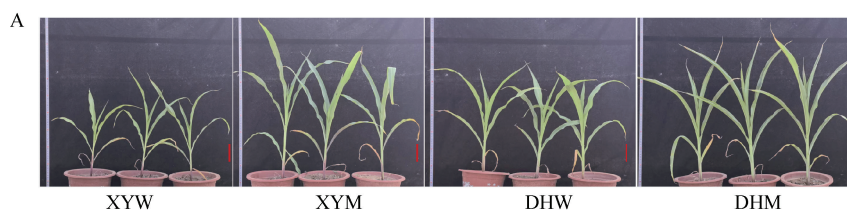
XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水。图 A 中阴影部分代表标准差(SD); 图 B 中柱状图显示的是平均值 $\pm$ SD。不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$), $n = 15$ (2024)或 $n = 20$ (2025)。

XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying. The shaded area in panel A indicates standard deviation (SD); bar charts in panel B represent means $\pm$ SD. Different letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$), $n = 15$ (2024) or $n = 20$ (2025).

胁迫下的叶片表面温度平均低 1.6°C, 这可能是 DH 更耐热的一个重要原因。由于 XY 两年数据的趋势基本一致, 在无特别说明的情况下, 描述变化幅度时采用了 2 年的平均值。

喷施 Met 有效缓解热胁迫对玉米幼苗生长的抑制作用(图 2)。与喷施清水相比, 2024 年 XYM 处理的地上部鲜重和地上部干重分别提高了 21.0%和

12.6%。在 2025 年试验中, XYM 和 DHM 处理的地上部鲜重相比于清水处理分别提高了 57.5%和 55.4%, 地上部干重分别提高了 48.7%和 57.5%。对于热敏感品种 XY 而言, Met 还显著降低了植株的细胞失水, 但是对 DH 的影响不显著。此外, Met 处理显著提高了热胁迫下玉米幼叶的 SPAD 值, 与喷施清水相比, XYM 和 DHM 处理分别提高了 37.8%和 9.5%。



(图 2)

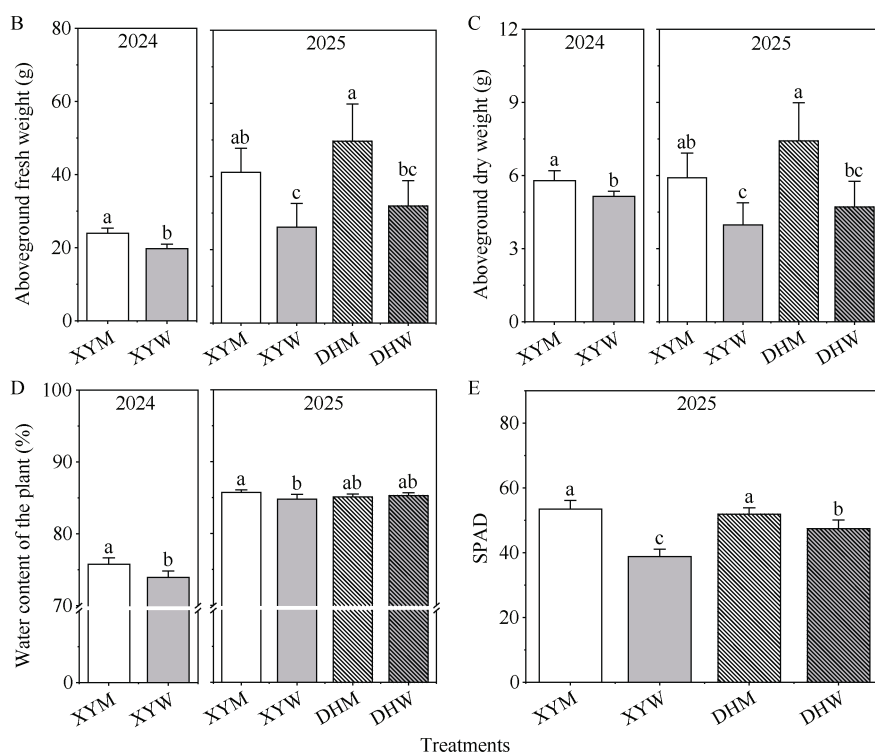


图 2 外源 Met 对热胁迫下玉米幼苗生长状况的影响

Fig. 2 Effects of melatonin spraying on the growth of maize seedlings under heat stress

XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水; SPAD: 相对叶绿素含量。展示的玉米幼苗形态为 2025 年试验中热胁迫处理结束时所拍摄; 标尺为 10 cm。柱状图显示的是平均值 $\pm$ SD。不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

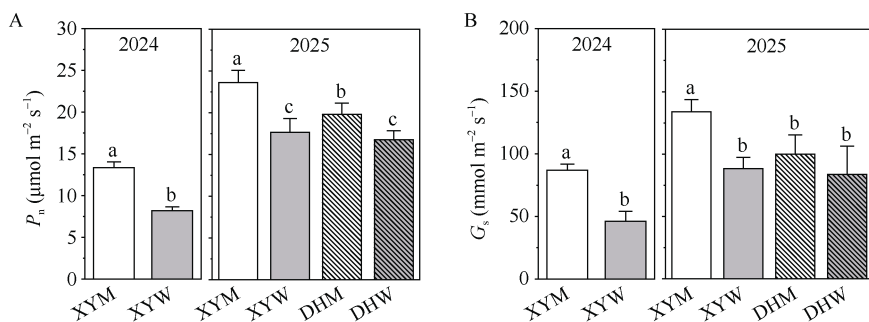
XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying; SPAD: relative chlorophyll content. Images show seedling morphology at the end of heat treatment (2025 trial); scale bar = 10 cm. Bar graphs represent means $\pm$ SD. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

2.2 外源 Met 改善了热胁迫下玉米幼苗的气体交换参数

在热胁迫下, Met 处理提高了 2 个品种叶片的 G_s , 并显著降低了 C_i (图 3)。XYM 和 DHM 处理的 P_n 分别较喷施清水提高了 48.2% 和 18.2%。此外, Met 处理下 2 个品种叶片的 T_r 分别提升 117.4% 和 134.0%, 这有利于降低热胁迫下玉米叶片表面温度, 从而减少叶片的生理损伤。

2.3 光合响应曲线特征

P_n 随 PAR_i 的增加呈曲线递增, 达到 P_{nmax} 后趋于平稳并开始逐渐降低, 采用直角双曲线修正模型对光合-光响应曲线进行拟合, 平均决定系数(R^2)均达到 0.994 以上, 拟合效果良好(图 4-A, B)。对模型参数分析表明, 与喷施清水相比, XYM 处理下 P_{nmax} 和 I_{sat} 分别提高了 34.0% 和 17.3%, DHM 处理下分别提高了 30.8% 和 34.3%, 但是 Met 对 2 个品种的 R_d 、 I_c



(图 3)

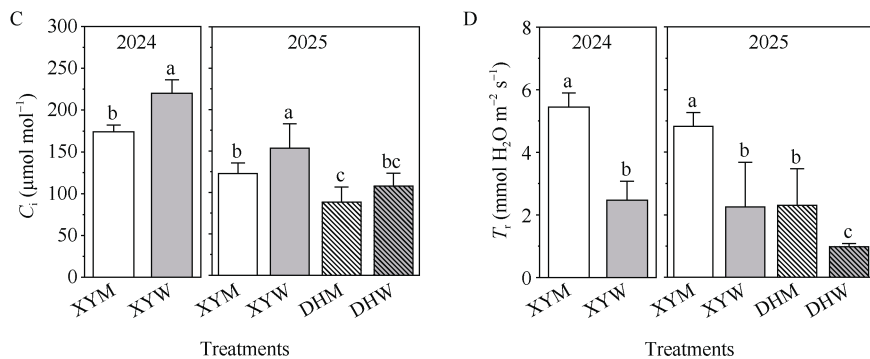


图 3 热胁迫下喷施褪黑素对玉米幼苗气体交换参数的影响

Fig. 3 Effects of melatonin spraying on gas exchange parameters of maize seedlings under heat stress

XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水; P_n : 净光合速率; G_s : 气孔导度; C_i : 胞间 CO_2 浓度; T_r : 蒸腾速率。柱状图显示的是平均值 $\pm$ SD。不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$), $n = 6$ 。

XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying; P_n : net photosynthetic rate; G_s : stomatal conductance; C_i : intercellular CO_2 concentration; T_r : transpiration rate. Bar graphs show means $\pm$ SD. Different letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$), $n = 6$.

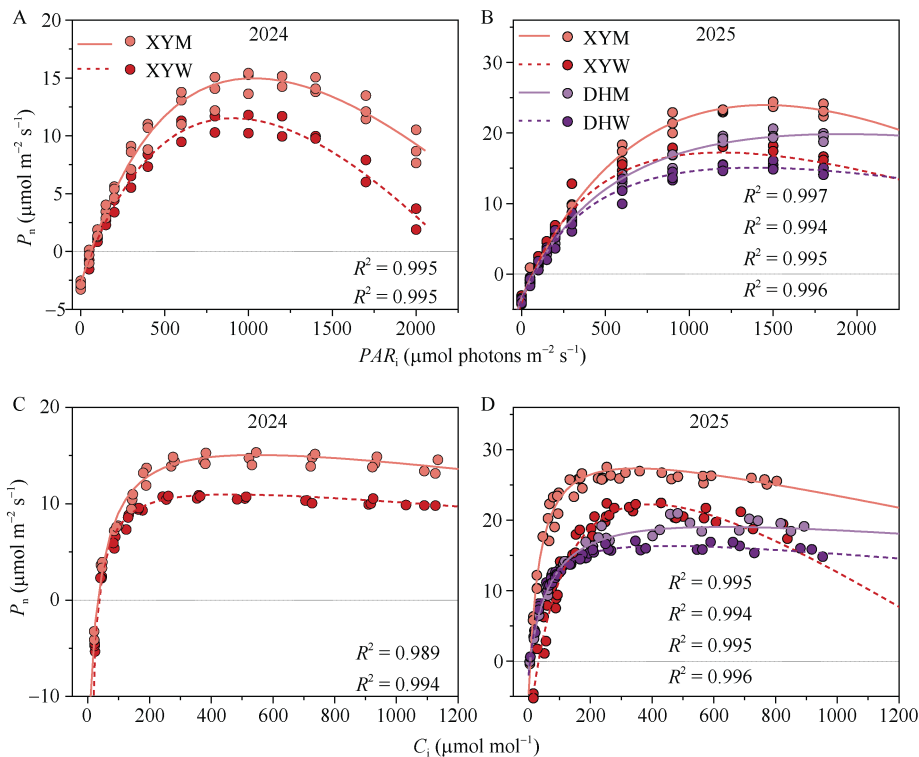


图 4 热胁迫下喷施褪黑素对玉米幼苗光合响应曲线的影响

Fig. 4 Effects of melatonin spraying on photosynthetic response curves of maize seedlings under heat stress

XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水; P_n : 净光合速率; PAR_i : 光合有效辐射; C_i : 胞间 CO_2 浓度。

XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying; P_n : net photosynthetic rate; PAR_i : photosynthetically active radiation; C_i : intercellular CO_2 concentration.

和 AQY 均无显著影响(表 2)。结果表明, 高温胁迫下 Met 主要提高玉米强光阶段的光合速率。

在光合- CO_2 响应曲线中, P_n 随 C_i 的增加而快速增加, C_i 超过 $200 \mu\text{mol mol}^{-1}$ 后曲线逐渐趋于平稳

(图 4-C, D)。在 XY 中, 与喷施清水相比, 外源 Met 处理导致热胁迫下叶片的 R_p 显著降低 55.9%, P_c 和 V_{cmax} 分别提高 30.2% 和 33.8%, 而对 Γ 和 C_{isat} 两年的影响存在差异(表 3)。在 DH 中, 外源 Met 处理下

P_c 和 C_{isat} 显著提高了 19.2% 和 57.9%, 其他参数有与 XY 相同的变化趋势, 但是没有达到显著水平。结果表明, 喷施 Met 可以显著改善玉米幼苗叶片高温胁迫下 Rubisco 活性, 提高对胞间 CO_2 的羧化能力, 降低光呼吸, 从而提高光合能力。

2.4 外源 Met 缓解了热胁迫对玉米幼苗 PSII 性能的损伤

与喷施清水相比, Met 处理改善了热胁迫下叶

绿素 a 荧光诱导动力学(OJIP)曲线的形态, 降低了 F_o , 提高了 F_m , 敏感型品种 XY 较耐热型品种 DH 变化幅度更大(图 5-A)。结果表明, Met 缓解了热胁迫对 PSII 反应中心活性和捕光天线功能的热损伤。OJIP 曲线的 O-P 点标准化后, 2 个品种均观察到热胁迫下显著增加的 K 相(relative fluorescence intensity at K-phase, V_k)的相对荧光, 以及 Met 处理对 V_k 影响的缓解, 而 J 相荧光(relative fluorescence intensity

表 2 热胁迫下喷施褪黑素对光合-光响应曲线拟合参数的影响
Table 2 Effects of melatonin on parameters of the P_n -PAR_i response curve under heat stress

年份 Year	品种 Cultivar	处理 Treatment	暗呼吸速率 R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	最大净光合速率 P_{nmax} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	饱和光强 I_{sat} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	光补偿点 I_c ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	表观量子效率 AQY ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
2024	XY	Met	2.77±0.60 a	14.96±0.60 a	1044.03±45.50 a	59.69±5.56 a	0.038±0.005 a
		Water	2.58±0.41 a	11.56±0.64 b	910.61±27.79 b	68.40±12.45 a	0.032±0.006 a
2025	XY	Met	3.36±0.73 a	24.00±0.47 a	1460.49±8.75 b	65.67±12.15 a	0.040±0.003 a
		Water	4.04±0.50 a	17.31±1.52 c	1219.31±107.46 c	68.15±7.49 a	0.050±0.008 a
	DH	Met	3.53±0.42 a	19.85±0.48 b	1917.19±64.26 a	72.36±3.84 a	0.040±0.005 a
		Water	3.66±0.15 a	15.18±0.43 d	1428.02±165.9 bc	73.20±12.65 a	0.040±0.003 a
方差分析 ANOVA	品种 Cultivar (C)	品种	ns	**	**	ns	ns
		处理 Treatment (T)	ns	**	**	ns	ns
	C × T	品种	ns	ns	ns	ns	ns
		处理	ns	ns	ns	ns	ns

XY: 先玉 335; DH: 登海 605; Met: 在热胁迫下喷施褪黑素; Water: 在热胁迫下喷施清水。不同字母表示同一年处理间差异显著($P < 0.05$)。ns: $P > 0.05$; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。
XY: Xianyu 335; DH: Denghai 605; Met: spraying melatonin under heat stress; Water: spraying water under heat stress; R_d : dark respiration rate; P_{nmax} : maximum net photosynthetic rate; I_{sat} : saturating light intensity; I_c : light compensation point; AQY : apparent quantum yield. Different letters indicate significant differences within the same year ($P < 0.05$). ns: no significant difference ($P > 0.05$); *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

表 3 热胁迫下喷施褪黑素对光合- CO_2 响应曲线拟合参数的影响
Table 3 Effects of melatonin on parameters of the P_n - CO_2 response curve under heat stress

年份 Year	品种 Cultivar	处理 Treatment	光呼吸速率 R_p ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	光合能力 P_c ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	饱和胞间 CO_2 浓度 C_{isat} ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	CO_2 补偿点 Γ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	最大羧化速率 V_{cmax} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
2024	XY	Met	14.73±2.15 b	14.86±0.54 a	558.11±37.48 a	32.73±0.48 a	17.63±0.45 a
		Water	35.48±2.31 a	10.71±0.05 b	470.25±12.26 b	35.73±2.06 a	13.30±0.37 b
2025	XY	Met	4.57±1.28 b	27.10±0.54 a	355.88±50.92 b	4.81±0.49 b	47.55±2.63 a
		Water	9.80±0.56 a	22.27±0.45 b	404.69±53.29 b	33.13±5.14 a	35.21±0.83 b
	DH	Met	1.18±0.37 c	19.61±0.86 c	760.57±174.45 a	3.51±0.55 b	26.29±4.17 c
		Water	1.88±0.55 c	16.45±0.45 d	481.59±62.78 b	4.11±0.38 b	21.67±1.55 c
方差分析 ANOVA	品种 Cultivar (C)	品种	**	**	**	**	**
		处理 Treatment (T)	**	**	ns	**	**
	C × T	品种	**	ns	*	**	ns
		处理	**	ns	*	**	ns

XY: 先玉 335; DH: 登海 605; Met: 在热胁迫下喷施褪黑素; Water: 在热胁迫下喷施清水。不同字母表示同一年处理间差异显著($P < 0.05$)。ns: $P > 0.05$; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。
XY: Xianyu 335; DH: Denghai 605; Met: spraying melatonin under heat stress; Water: spraying water under heat stress; R_p : photorespiration rate; P_c : photosynthetic capacity; C_{isat} : saturating intercellular CO_2 concentration; Γ : CO_2 compensation point; V_{cmax} : maximum carboxylation rate. Different letters indicate significant differences within the same year ($P < 0.05$). ns: no significant difference ($P > 0.05$); *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

J-phase, V_j)的变化较小(图 5-B, C)。胁迫下 I 相(relative fluorescence intensity at I-phase, V_i)的相对荧光降低, 表明 Q_B 下游电子流较为通畅, 受高温影响较小。

为了进一步揭示 PSII 各单元能量的连通性, 将 OJIP 曲线以 O-J 相进行标准化后观察 K 波段的变化(图 5-D)。2 个品种的 K 波段在热胁迫下显著升高, 且

波峰均出现在了 300 μs 附近, 表明放氧复合体(oxygen-evolving complex, OEC)受到了显著的损伤。Met 处理下热胁迫对 OEC 的损伤缓解, ΔW_k 显著降低。OJIP 曲线的 O-K 相标准化后可以观察 L 波段曲线变化。热胁迫下 2 个品种都观察到显著的正 ΔL_{band} , 表明 PSII 的能量受阻(图 5-E)。外源 Met 可以提高热胁迫下 PSII 的能量流通性, 特别是在热敏感型品种 XY 中。

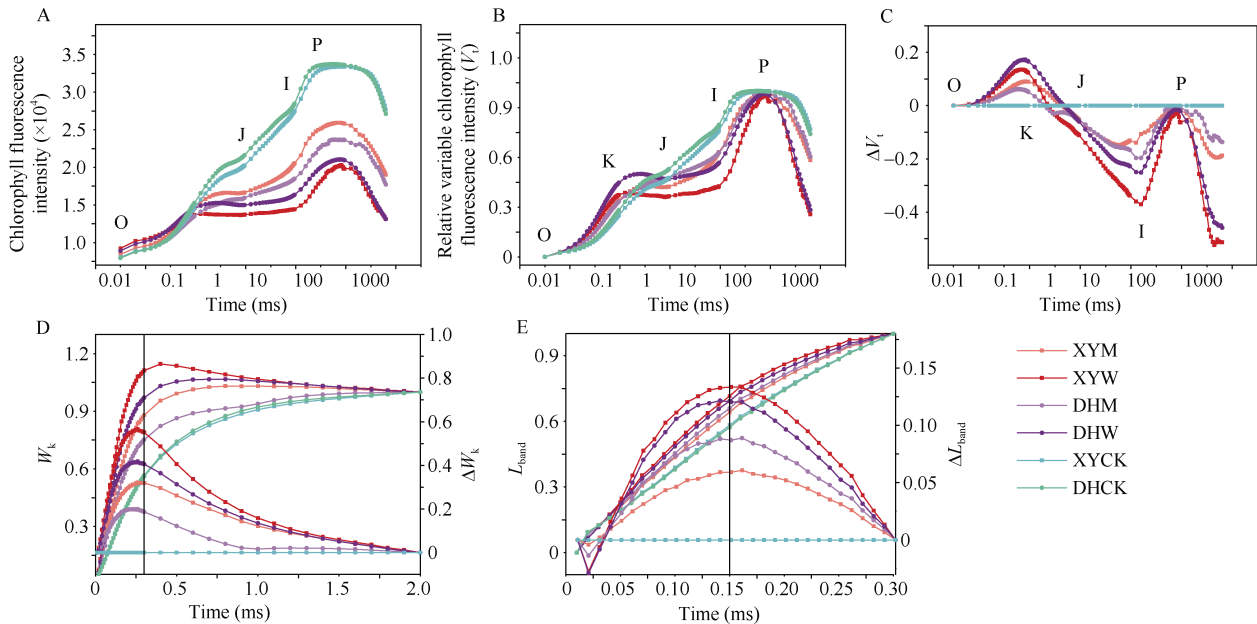


图 5 热胁迫下喷施褪黑素对玉米幼苗叶绿素 a 荧光瞬态、O-P 相的相对可变荧光(V_t)、处理 V_t 与对照 V_t 的差值(ΔV_t)、O-J 相的相对可变荧光(W_k)和 O-K 相的相对可变荧光(L_{band})的影响

Fig. 5 Effects of melatonin spraying on chlorophyll a fluorescence transients and relative variable fluorescence (V_t , W_k , ΔV_t , L_{band}) in maize seedlings

XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水; XYCK: 在正常环境下生长的先玉 335; DHCK: 在正常环境下生长的登海 605; V_t : O-P 相的相对可变荧光强度; ΔV_t : O-P 相的相对可变荧光强度与对照的差值; W_k : O 相到 J 相的相对可变荧光; ΔW_k : O 相到 J 相之间的相对可变荧光与对照的差值; L_{band} : O 相和 K 相的相对可变荧光; ΔL_{band} : O 相和 K 相之间的相对可变荧光与对照的差值。

XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying; XYCK: Xianyu 335 grown under normal conditions; DHCK: Denghai 605 grown under normal conditions; V_t : relative variable fluorescence of O-P phase; ΔV_t : the difference in relative variable fluorescence from the O-phase to P-phase between the treatment group and the control group; W_k : relative variable fluorescence between O-phase and J-phase; ΔW_k : the difference in relative variable fluorescence from the O-phase to J-phase between the treatment group and the control group; L_{band} : relative variable fluorescence between O-phase and K-phase; ΔL_{band} : the difference in relative variable fluorescence from the O-phase to the K-phase between the treatment group and the control group.

在热胁迫下, 基于单位反应中心(reaction center, RC)的比活性参数: 吸收的光能(light energy absorbed per RC, ABS/RC)、捕获的光能(energy trapped per reaction center for Q_A reduction, TR_0/RC)、热能耗散(energy dissipated per RC, DI_0/RC)、用于电子传递的能量(energy trapped for electron transport per RC, ET_0/RC)和传递到 PSI 受体侧末端电子受体的能量(energy transferred to terminal electron acceptors at the PSI acceptor side per RC, RE_0/RC)均显著提高, 而初级光化学的量子产额(maximum quantum yield

of primary photochemistry, ϕ_{P_0})和电子传递的能量产额(maximum quantum yield of primary photochemistry, ϕ_{E_0})却显著下降(图 6)。这表明热胁迫下, 活性反应中心的数量(number of active reaction centers per unit area, RC/CS_0)显著减少, 植株通过提高单位活性反应中心的性能, 耗散过多的激发能和保持较高的电子传递比率来维持 PSII 的功能。喷施 Met 促使 XY 和 DH 的 RC/CS_0 分别提高了 88.9% 和 61.9%, 减少了单位反应中心的负担。与喷施清水相比, XYM 和 DHM 的 ϕ_{P_0} 分别提高了 29.1% 和 17.2%, 综合性

能指标(performance index based on absorbed light energy, PI_{abs})分别提高了 71.0%和 106.1%。

2.5 抗氧化能力和渗透调节物质的含量

外源 Met 提高了热胁迫下玉米叶片的抗氧化酶活性(图 7)。与喷施清水相比, Met 处理下, XY 的 SOD、POD 和 CAT 活性 2 年平均分别提高了 13.8%、17.7%和 27.5%, DH 的 SOD、POD 和 CAT 活性分别提高了 18.6%、12.1%和 8.2%。抗氧化酶活性的增

加促进了热胁迫下活性氧的清除, 进而缓解了细胞的膜脂过氧化程度。与喷施清水相比, Met 处理下 XY 和 DH 的 MDA 含量分别降低 25.5%和 9.5%。

此外, 外源 Met 显著促进了热胁迫下玉米叶片中渗透调节物质的合成(图 8)。与喷施清水相比, XYM 和 DHM 下的 Pro 含量分别提高了 31.3%和 41.2%, SS 含量分别提高了 61.7%和 13.1%。SP 含量的增加幅度较小, 2025 年处理间差异不显著。

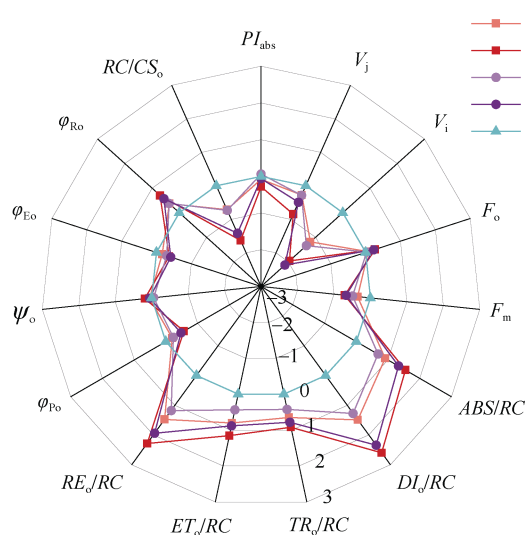
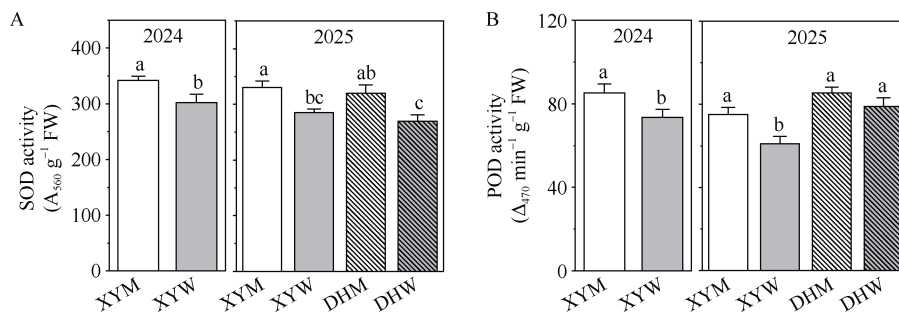


图 6 热胁迫下喷施褪黑素对玉米幼苗叶绿素 *a* 荧光瞬态 JIP-test 相关参数的影响

Fig. 6 Effects of melatonin spraying under heat stress on JIP-test parameters of chlorophyll *a* fluorescence transients

XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水; CK: 在正常环境下生长的先玉 335 或登海 605; PI_{abs} : 基于吸收光能为基础的性能指数; V_j : J 相(2 ms)的相对可变荧光强度; V_i : I 相(30 ms)的相对可变荧光强度; F_o : 所有 PSII 反应中心开放时的荧光强度; F_m : 最大荧光强度; ABS/RC : 单位反应中心吸收的光能; DI_o/RC : 单位反应中心耗散掉的能量; TR_o/RC : 单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量; ET_o/RC : 单位反应中心捕获的用于电子传递的能量; RE_o/RC : RC 为基础的电子传递到 PSI 受体侧末端电子受体的能量; ϕ_{Po} : 原初光化学的最大量子产额; ψ_o : 将电子传递至 Q_A^- 之后的电子传递链的概率; ϕ_{Eo} : 用于电子传递的量子产额; ϕ_{Ro} : PSI 末端电子受体还原的量子产额; RC/CS_o : 单位面积有活性反应中心的数量。

XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying; CK: Xianyu 335 or Denghai 605 grown under normal conditions; PI_{abs} : performance index based on absorbed light energy; V_j : relative variable fluorescence intensity at J-phase (2 ms); V_i : relative variable fluorescence intensity at I-phase (30 ms); F_o : fluorescence intensity when all PSII reaction centers are open; F_m : maximum fluorescence intensity; ABS/RC : light energy absorbed per reaction center; DI_o/RC : energy dissipated per reaction center; TR_o/RC : energy trapped per reaction center for Q_A reduction; ET_o/RC : energy trapped per reaction center for electron transport; RE_o/RC : energy transferred to terminal electron acceptors at the PSI acceptor side per reaction center; ϕ_{Po} : maximum quantum yield of primary photochemistry; ψ_o : probability of electron transport beyond Q_A^- ; ϕ_{Eo} : quantum yield for electron transport; ϕ_{Ro} : quantum yield for reduction of terminal electron acceptors at PSI; RC/CS_o : number of active reaction centers per unit area.



(图 7)

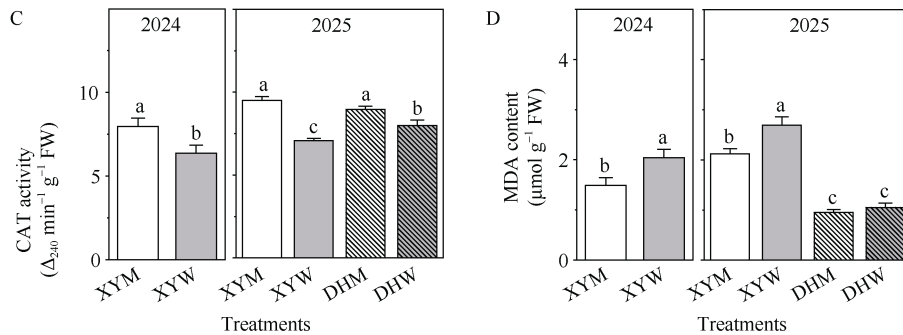


图 7 热胁迫下喷施褪黑素对玉米叶片抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响

Fig. 7 Effects of melatonin spraying on antioxidant enzyme activities and MDA content under heat stress

XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水; SOD: 超氧化物歧化酶; POD: 过氧化物酶; CAT: 过氧化氢酶; MDA: 丙二醛。单位中的 A_{560} 表示 560 nm 波长下的吸光度, Δ_{240} 和 Δ_{470} 分别表示单位时间内 240 nm 和 470 nm 波长下吸光度的变化值。柱状图显示的是平均值 $\pm$ 标准差。不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$), $n = 3$ 。

XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying; SOD: superoxide dismutase; POD: peroxidase; CAT: catalase; MDA: malondialdehyde. In the unit, A_{560} represents the absorbance at 560 nm, while Δ_{240} and Δ_{470} denote the changes in absorbance at 240 nm and 470 nm per unit time, respectively. Bar graphs represent means $\pm$ SD. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$), $n = 3$.

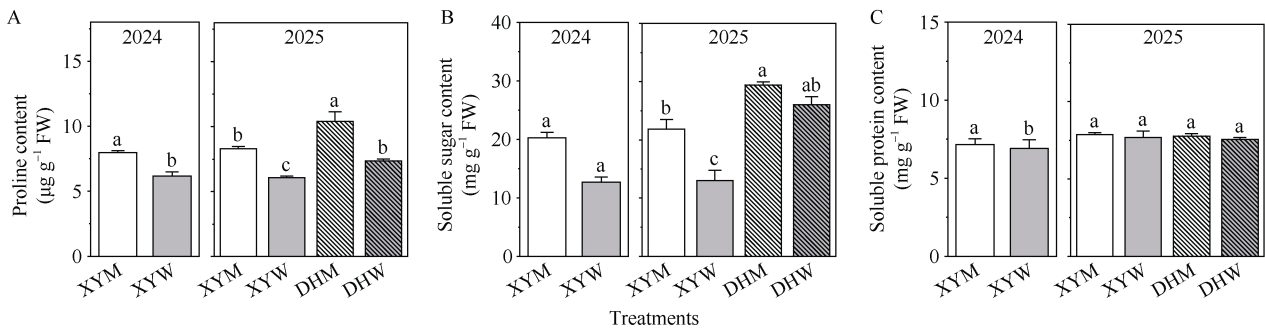


图 8 热胁迫下喷施褪黑素对玉米叶片渗透调节物质含量的影响

Fig. 8 Effects of melatonin spraying on osmolyte contents in maize leaves under heat stress

XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水。柱状图显示的是平均值 $\pm$ 标准差。不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$), $n = 3$ 。

XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying. Bar charts show means $\pm$ SD. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$), $n = 3$.

2.6 外源 Met 提高了热胁迫下 Rubisco 和 PEPC 活性

为了验证光合响应曲线的结果, 测定了碳代谢关键酶的活性(图 9)。结果表明, 与清水相比, 外源 Met 处理下 XY 的 Rubisco 和 PEPC 活性显著提高了 56.1%和 31.5%; Met 处理下 DH 的 Rubisco 和 PEPC 活性也有提高的趋势, 但未达到显著水平。

2.7 相关性分析和随机森林分析

皮尔逊相关性分析揭示了不同指标之间存在密切联系(图 10)。地上部干重与 SPAD、 G_s 、 P_n 、 T_r 、

P_{nmax} 、 I_{sat} 、 C_{isat} 、 V_i 、 PI_{abs} 、 F_m 、 ϕ_{Po} 、 RC/CS_0 、SOD、POD、CAT 和 Pro 呈显著正相关, 与 C_i 、 R_p 、 Γ 和 L_{band} 呈显著负相关。随机森林分析表明, Pro、 C_i 、SOD、POD、CAT、PEPC、 P_{nmax} 、Rubisco、 P_n 和 SPAD 对地上部干重有显著的贡献。这些结果表明, 喷施 Met 提高了渗透调节能力和抗氧化能力, 减轻了 PSII 放氧复合体的损伤及电子传递能量流动的限制, 提高了 Rubisco 和 PEPC 活性, 抑制光呼吸, 改善最大羧化效率, 从而缓解了热胁迫对玉米幼苗叶片的净光合速率和植株生长的抑制。

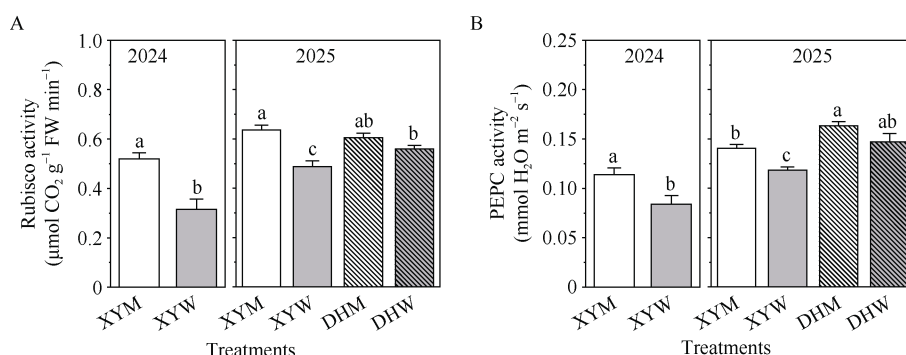


图9 热胁迫下喷施褪黑素对玉米幼苗叶片 Rubisco 和 PEPC 活性的影响

Fig. 9 Effects of melatonin spraying on Rubisco and PEPC activities in maize leaves under heat stress

XYM: 先玉 335 在热胁迫下喷施褪黑素; XYW: 先玉 335 在热胁迫下喷施清水; DHM: 登海 605 在热胁迫下喷施褪黑素; DHW: 登海 605 在热胁迫下喷施清水; Rubisco: 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶; PEPC: 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶。柱状图显示的是平均值±标准差。不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$), $n = 3$ 。

XYM: Xianyu 335 under heat stress with melatonin spraying; XYW: Xianyu 335 under heat stress with water spraying; DHM: Denghai 605 under heat stress with melatonin spraying; DHW: Denghai 605 under heat stress with water spraying; Rubisco: ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; PEPC: phosphoenolpyruvate carboxylase. Bar graphs show means $\pm$ SD. Different letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$), $n = 3$.

3 讨论

在高温环境下, 光合碳同化作为作物生长发育的基础, 极易受到影响^[33], 进而导致植株生长速率减缓、生物量积累减少及收获指数下降。这是造成玉米粒重降低、最终引发产量损失的重要原因^[11,34]。本研究发现, 外源 Met 可以有效缓解热胁迫对玉米 P_n 的损伤, 进而促进植株生长, 且该效应在热敏感品种中更为突出, 显示其在未来抗高温玉米生产中的广泛应用潜力。

为了探究 Met 改善玉米叶片光合性能的生理机制, 首先对光合响应曲线进行了分析。光合-光响应曲线可以反应叶片光化学效率, 判断在胁迫下叶片对光辐射的利用能力^[35]。 I_c 和 AQY 反映低光强下的光能捕获、转换和利用效率^[36], 非生物胁迫下叶绿素降解或 PSII 损伤会导致 AQY 降低^[12,37]。在本研究中, 相较于清水处理, Met 对热胁迫下 AQY 和 I_c 没有影响, 但是 P_{nmax} 和 I_{sat} 显著增加。这表明, Met 提升了高温环境下玉米叶片利用强光的能力, 扩大了有效光合的光照强度范围^[38], 使其在自然光强下具有更高的光合潜力和光合效率。光合- CO_2 响应曲线参数表明, 喷施 Met 显著减少了 R_p , 提高了 P_c 、 C_{isat} 和 V_{cmax} 。这些结果表明, Met 通过减轻热胁迫对光合机构的损伤, 改善了光合电子传递和磷酸化活性, 以及卡尔文循环的羧化效率^[24,39], 增加了玉米叶片在高温环境下对光和 CO_2 的利用能力。

PSII 是吸收转化光能、催化水的光解并启动光

合电子传递的关键机构。在热胁迫下, PSII 的 OEC 和受体侧电子传递效率受到严重抑制, 造成 ϕ_{Po} 显著下降^[11-12]。喷施 Met 可以缓解热胁迫下 ΔW_k 和 ΔL_{band} 的上升, 减轻了胁迫对 OEC 的损伤及能量流动阻碍^[26]。同时, Met 显著提高了单位反应活性中心的数量。这些效应改善了叶片热胁迫下 ϕ_{Po} 和 PI_{abs} , 提高了 PSII 的原初光化学活性, 增强对强光的利用能力。在暗反应中, Met 对 R_p 和 V_{cmax} 的改善源于对 Rubisco 和 PEPC 活性的积极影响^[5]。光呼吸是植物中伴随光合作用的一种“能量浪费”途径, 其生理机制为 Rubisco 误将 O_2 作为底物, 替代 CO_2 与核酮糖-1,5-二磷酸(RuBP)结合, 生成乙醇酸并释放 CO_2 ^[40]。正常生长的 C_3 植物光呼吸可损耗光合产物的 25%~30%^[41]。而玉米作为 C_4 植物, 正常条件下 PEPC 通过增强 CO_2 的捕获能力与浓缩机制, 削弱 Rubisco 的加氧活性, 因而光呼吸很低^[42]。然而, 在热胁迫环境中, 由于 C_i 的减少和 PEPC 活性降低^[5], 光呼吸将显著增加, 导致能量浪费和 P_n 降低^[43]。本研究中, 外源 Met 显著改善了热胁迫下玉米叶片 Rubisco 和 PEPC 活性, 从而减少光呼吸, 并提高 Rubisco 羧化效率。

Met 对 PSII 的原初光化学活性和暗反应的协同提升得益于细胞生理稳态的维持。热胁迫下, 植物细胞的脱水会导致代谢紊乱, 同时限制气孔开度, 减少了 C_i 的浓度, 抑制 P_n ^[44]。与佟莉蓉等^[45]发现一致, 本研究中也观察到了 Met 对热胁迫下叶片中渗透调节物质合成的促进作用, 特别是 SS 含量和 Pro 含量。渗透

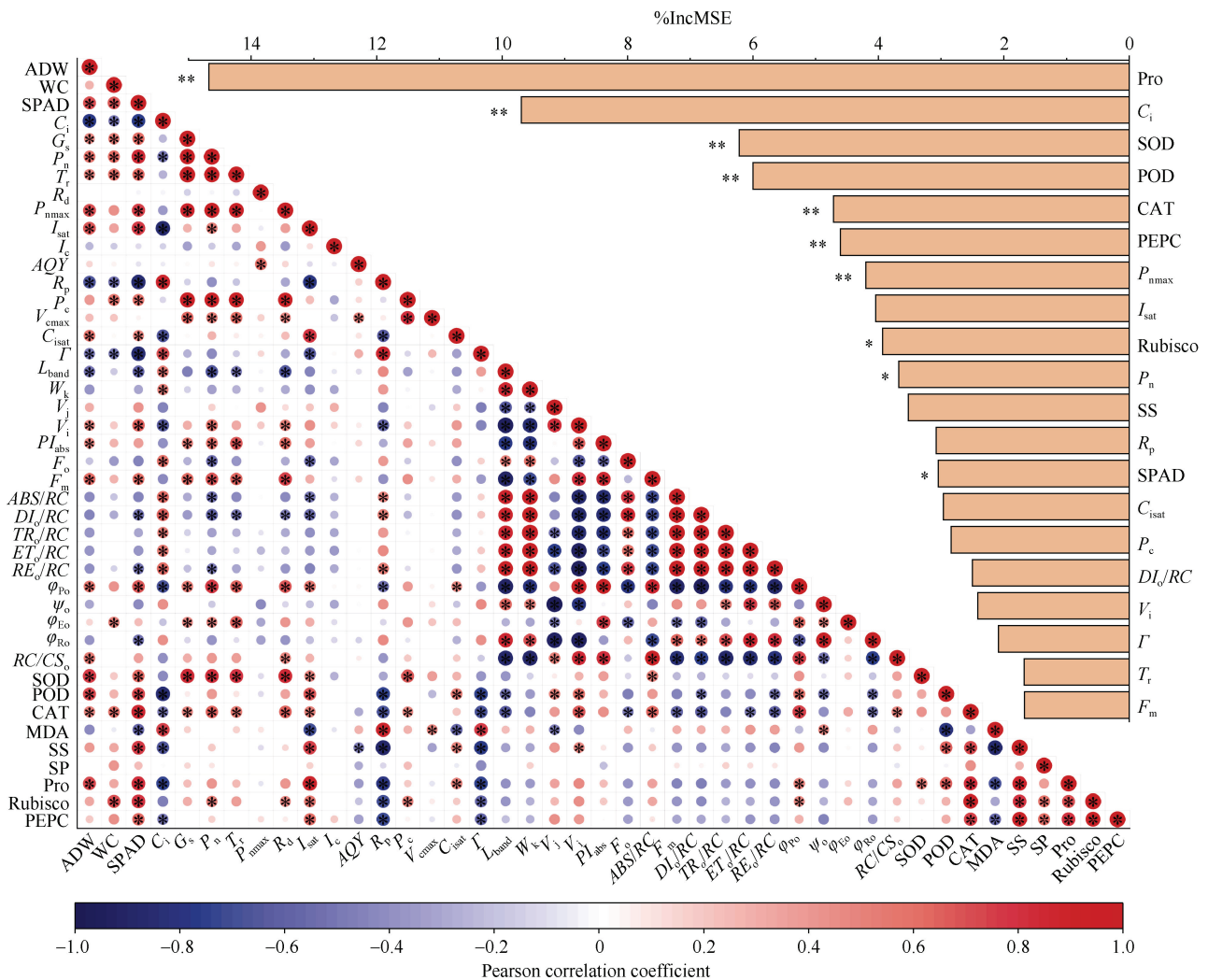


图 10 本试验条件下各指标的皮尔逊相关性分析和对地上部生物量的相对重要性分析

Fig. 10 Pearson correlation and relative importance analysis of physiological indicators with aboveground biomass under heat stress

ADW: 地上部干重; WC: 植株含水量; SPAD: 相对叶绿素含量; C_i : 胞间 CO_2 浓度; G_s : 气孔导度; P_n : 净光合速率; T_r : 蒸腾速率; R_d : 暗呼吸速率; $P_{n\max}$: 最大净光合速率; I_{sat} : 饱和光强; I_c : 光补偿点; AQY : 表观量子效率; R_p : 光呼吸速率; P_c : 光合能力; V_{cmax} : 最大羧化速率; C_{isat} : 饱和胞间 CO_2 浓度; Γ : CO_2 补偿点; L_{band} : O 相和 K 相之间的相对可变荧光; W_k : O 相到 J 相之间的相对可变荧光; V_j : J 相 (2 ms) 的相对可变荧光强度; V_i : I 相 (30 ms) 的相对可变荧光强度; PI_{abs} : 基于吸收光能为基础的性能指数; F_o : 所有 PSII 反应中心开放时的荧光强度; F_m : 最大荧光强度; ABS/RC : 单位反应中心吸收的光能; DI_o/RC : 单位反应中心耗散掉的能量; TR_o/RC : 单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量; ET_o/RC : 单位反应中心捕获的用于电子传递的能量; RE_o/RC : RC 为基础的电子传递到 PSI 受体侧末端电子受体的能量; ϕ_{Po} : 原初光化学的最大量子产额; ψ_o : 将电子传递至 Q_A^- 之后的电子传递链的概率; ϕ_{Eo} : 用于电子传递的量子产额; ϕ_{Ro} : PSI 末端电子受体还原的量子产额; RC/CS_o : 单位面积有活性反应中心的数量; SOD: 超氧化物歧化酶活性; POD: 过氧化物酶活性; CAT: 过氧化氢酶活性; MDA: 丙二醛含量; SS: 可溶性糖含量; SP: 可溶性蛋白质含量; Pro: 脯氨酸含量; Rubisco: 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶; PEPC: 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶。

ADW: aboveground dry weight; WC: plant water content; SPAD: relative chlorophyll content; C_i : intercellular CO_2 concentration; G_s : stomatal conductance; P_n : net photosynthetic rate; T_r : transpiration rate; R_d : dark respiration rate; $P_{n\max}$: maximum net photosynthetic rate; I_{sat} : saturating light intensity; I_c : light compensation point; AQY : apparent quantum yield; R_p : photorespiration rate; P_c : photosynthetic capacity; V_{cmax} : maximum carboxylation rate; C_{isat} : saturating intercellular CO_2 concentration; Γ : CO_2 compensation point; L_{band} : relative variable fluorescence between O-phase and K-phase; W_k : relative variable fluorescence between O-phase and J-phase; V_j : relative variable fluorescence intensity at J-phase (2 ms); V_i : relative variable fluorescence intensity at I-phase (30 ms); PI_{abs} : performance index based on absorbed light energy; F_o : fluorescence intensity when all PSII reaction centers are open; F_m : maximum fluorescence intensity; ABS/RC : light energy absorbed per reaction center; DI_o/RC : energy dissipated per reaction center; TR_o/RC : energy trapped per reaction center for Q_A^- reduction; ET_o/RC : energy trapped per reaction center for electron transport; RE_o/RC : energy transferred to terminal electron acceptors at the PSI acceptor side per reaction center; ϕ_{Po} : maximum quantum yield of primary photochemistry; ψ_o : probability of electron transport beyond Q_A^- ; ϕ_{Eo} : quantum yield for electron transport; ϕ_{Ro} : quantum yield for reduction of terminal electron acceptors at PSI; RC/CS_o : number of active reaction centers per unit area; SOD: superoxide dismutase activity; POD: peroxidase activity; CAT: catalase activity; MDA: malondialdehyde content; SS: soluble sugar content; SP: soluble protein content; Pro: proline content; Rubisco: ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; PEPC: phosphoenolpyruvate carboxylase.

调节能力的增强提高了植株细胞的保水能力, 有利于维持气孔开度, 增加 T_L 以实现叶片降温^[46]。此外, Met 提高了热胁迫下 SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶的活性, 增强了对 ROS 的清除能力, 减少了 MDA 的积累。ROS 是光合作用的天然副产物, 主要来源于光合电子传递链^[47]。在热胁迫下, 当过剩光能无法通过光保护机制被有效利用或清除时, ROS 暴发就会发生^[48], 从而加速膜脂过氧化, 对叶绿体、线粒体、细胞核等多种细胞膜结构造成损伤^[11,49]。同时, ROS 暴发还会抑制 D1 蛋白周转, 进而影响光合器官的修复机制^[11,50-51], 而线粒体膜的氧化损伤会影响光呼吸及交替氧化酶(alternative oxidase, AOX)途径^[52-53], 加剧光抑制。在热胁迫下, 由于耐热品种 DH 的 SS 含量、Pro 含量、POD 活性和 CAT 活性原本受影响程度小, 导致外源 Met 对这些性状以及碳同化酶活性和 P_n 的改善明显小于 XY。综上所述, Met 可以通过提高渗透调节能力和抗氧化能力改善

热胁迫下玉米叶片 PSII 光合电子传递链的流通性和碳代谢关键酶活性, 提升最大光化学效率, 减少光呼吸消耗, 增加最大羧化效率, 最终提高净光合速率和促进植株生长(图 11), 特别是对热敏感品种的改变效应更明显。

4 结论

在热胁迫下, 外源 Met 可以促进玉米幼苗叶片中渗透调节物质如 SS 和 Pro 的积累, 提高 SOD、POD 和 CAT 活性, 并减少 MDA 的积累, 有利于维持细胞的生理稳态。这些改善效应一方面减轻了 PSII 放氧复合体的损伤及电子传递能量流动的限制, 增加了原初光化学活性, 另一方面提高了 Rubisco 活性和 PEPC 活性, 抑制光呼吸, 改善最大羧化效率。最终, Met 处理缓解了热胁迫对玉米幼苗叶片的 P_n 的影响和对植株生长的抑制。在本试验条件下, Met 对敏感品种先玉 335 的作用效果优于耐热品种登海 605。

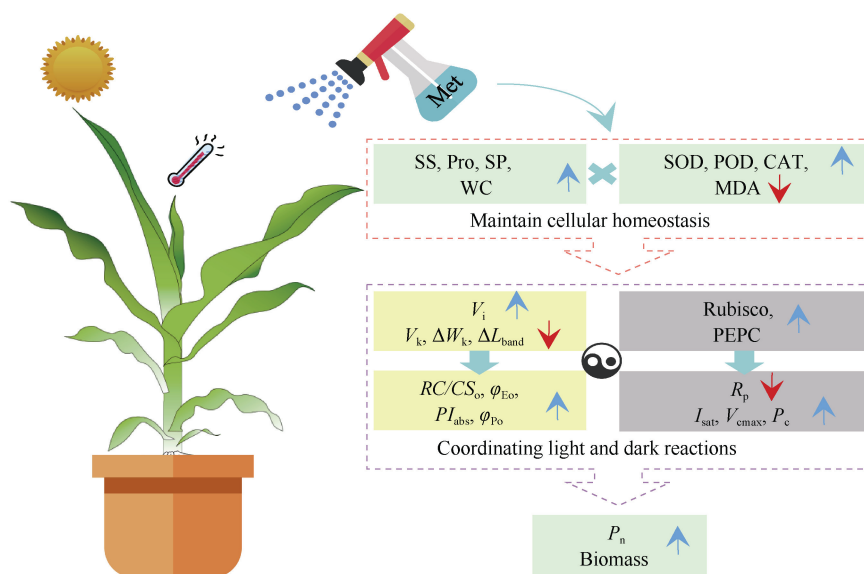


图 11 热胁迫下外源褪黑素改善玉米幼苗光合性能和植株生长的作用机制

Fig. 11 Mechanism of exogenous melatonin improves photosynthetic performance and plant growth of maize seedlings under heat stress

Met: 褪黑素; WC: 植株含水量; P_n : 净光合速率; I_{sat} : 饱和光强; I_c : 光补偿点; R_p : 光呼吸速率; P_c : 光合能力; V_{cmax} : 最大羧化速率; ΔL_{band} : O 相和 K 相之间的相对可变荧光与对照的差值; ΔW_k : O 相到 J 相之间的相对可变荧光与对照的差值; V_k : K 相(300 μs)的相对可变荧光强度; V_i : I 相(30 ms)的相对可变荧光强度; PI_{abs} : 基于吸收光能为基础的性能指数; ϕ_{Po} : 原初光化学的最大量子产额; ϕ_{Eo} : 用于电子传递的量子产额; RC/CS_o : 单位面积有活性反应中心的数量; SOD: 超氧化物歧化酶活性; POD: 过氧化物酶活性; CAT: 过氧化氢酶活性; MDA: 丙二醛含量; SS: 可溶性糖含量; SP: 可溶性蛋白质含量; Pro: 脯氨酸含量; Rubisco: 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶; PEPC: 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶。

Met: melatonin; WC: plant water content; P_n : net photosynthetic rate; I_{sat} : saturating light intensity; I_c : light compensation point; R_p : photorespiration rate; P_c : photosynthetic capacity; V_{cmax} : maximum carboxylation rate; ΔL_{band} : the difference in relative variable fluorescence from the O-phase to the K-phase between the treatment group and the control group; ΔW_k : the difference in relative variable fluorescence from the O-phase to J-phase between the treatment group and the control group; V_k : relative variable fluorescence intensity at K-phase (300 μs); V_i : relative variable fluorescence intensity at I-phase (30 ms); PI_{abs} : performance index based on absorbed light energy; ϕ_{Po} : maximum quantum yield of primary photochemistry; ϕ_{Eo} : quantum yield for electron transport; RC/CS_o : number of active reaction centers per unit area; SOD: superoxide dismutase activity; POD: peroxidase activity; CAT: catalase activity; MDA: malondialdehyde content; SS: soluble sugar content; SP: soluble protein content; Pro: proline content; Rubisco: ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; PEPC: phosphoenolpyruvate carboxylase.

References

- [1] Ai Y F, Jane J L. Macronutrients in corn and human nutrition. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2016, 15: 581–598.
- [2] 国家统计局. 国家统计局关于 2024 年粮食产量数据的公告 (2024-12-13). https://www.stats.gov.cn/sj/zxfb/202412/t20241213_1957744.html.
National Bureau of Statistics. Announcement of the National Bureau of Statistics on the Grain Output Data for 2024 (2024-12-13). https://www.stats.gov.cn/sj/zxfb/202412/t20241213_1957744.html (in Chinese).
- [3] 刘水苗, 关小康, 赵志恒, 等. 冬麦播前耕作方式对麦玉米轮作体系中玉米季土壤水分、籽粒灌浆特征及产量的影响. *中国农业科学*, 2024, 57: 3568–3585.
Liu S M, Guan X K, Zhao Z H, et al. Residual effects of tillage regime on soil moisture dynamics, grain filling characteristics and yield of summer maize in wheat-maize double cropping system. *Sci Agric Sin*, 2024, 57: 3568–3585 (in Chinese with English abstract).
- [4] 任寒, 刘鹏, 董树亭, 等. 高温胁迫影响玉米生长发育的生理机制研究进展. *玉米科学*, 2019, 27(5): 109–115.
Ren H, Liu P, Dong S T, et al. Research advancements of effect of high temperature stress on growth and development of maize. *J Maize Sci*, 2019, 27(5): 109–115 (in Chinese with English abstract).
- [5] 张川, 刘栋, 王洪章, 等. 不同时期高温胁迫对夏玉米物质生产性能及籽粒产量的影响. *中国农业科学*, 2022, 55: 3710–3722.
Zhang C, Liu D, Wang H Z, et al. Effects of high temperature stress in different periods on dry matter production and grain yield of summer maize. *Sci Agric Sin*, 2022, 55: 3710–3722 (in Chinese with English abstract).
- [6] 陈志英, 胡健, 韩梦琳, 等. 花后高温对玉米叶片光合特性、差异表达基因及关键通路的影响. *玉米科学*, 2025, 33(4): 56–64.
Chen Z Y, Hu J, Han M L, et al. Effects of post-anthesis high temperature on photosynthetic characteristics, differentially expressed genes and key pathways in maize leaves. *J Maize Sci*, 2025, 33(4): 56–64 (in Chinese with English abstract).
- [7] Lai H J, Zhang C, Ren H, et al. The continuous damage to nitrogen metabolism caused by heat stress limited the young ear growth and yield of maize (*Zea mays* L.). *Eur J Agron*, 2025, 168: 127627.
- [8] 吕梦薇, 胡笑涛, 范晓懂, 等. 拔节期高温干旱复合胁迫对夏玉米生长发育的影响. *干旱地区农业研究*, 2022, 40(6): 82–89.
Lyu M W, Hu X T, Fan X D, et al. Effects of combined stress of high temperature and drought at jointing stage on summer maize growth and development. *Agric Res Arid Areas*, 2022, 40(6): 82–89 (in Chinese with English abstract).
- [9] Sharkey T D. Effects of moderate heat stress on photosynthesis: importance of thylakoid reactions, rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. *Plant Cell Environ*, 2005, 28: 269–277.
- [10] 高冠龙, 冯起, 张小由, 等. 植物叶片光合作用的气孔与非气孔限制研究综述. *干旱区研究*, 2018, 35: 929–937.
Gao G L, Feng Q, Zhang X Y, et al. An overview of stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis of plants. *Arid Zone Res*, 2018, 35: 929–937 (in Chinese with English abstract).
- [11] Li Y T, Xu W W, Ren B Z, et al. High temperature reduces photosynthesis in maize leaves by damaging chloroplast ultrastructure and photosystem II. *J Agron Crop Sci*, 2020, 206: 548–564.
- [12] Lai H J, Li X D, Chen Y L, et al. Mitigating heat-induced yield loss in peanut: insights into 24-epibrassinolide-mediated improvement in antioxidant capacity, photosynthesis, and kernel weight. *Field Crops Res*, 2024, 316: 109521.
- [13] 陈岩, 岳丽杰, 刘永红, 等. 营养生长期持续高温处理对玉米叶片转录组及生化指标的影响. *玉米科学*, 2022, 30(4): 48–55.
Chen Y, Yue L J, Liu Y H, et al. Effects of continuous high temperature treatment during vegetative stages on maize leaf transcriptome and biochemical indicators. *J Maize Sci*, 2022, 30(4): 48–55 (in Chinese with English abstract).
- [14] 牛丽, 刘源, 于康珂, 等. 玉米杂交种苗期耐热性评价. *玉米科学*, 2015, 23(1): 107–114.
Niu L, Liu Y, Yu K K, et al. Evaluation of heat-tolerance of maize hybrids at seedling stage. *J Maize Sci*, 2015, 23(1): 107–114 (in Chinese with English abstract).
- [15] 王蕊, 杨小龙, 须晖, 等. 高等植物褪黑素的合成和代谢研究进展. *植物生理学报*, 2016, 52: 615–627.
Wang R, Yang X L, Xu H, et al. Research progress of melatonin biosynthesis and metabolism in higher plants. *Plant Physiol J*, 2016, 52: 615–627 (in Chinese with English abstract).
- [16] Pan Y, Xu X S, Li L, et al. Melatonin-mediated development and abiotic stress tolerance in plants. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1100827.
- [17] Colombari R, Singh M B, Bhalla P L. Melatonin and abiotic stress tolerance in crop plants. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 7447.
- [18] Alam M N, Zhang L H, Yang L, et al. Transcriptomic profiling of tall fescue in response to heat stress and improved thermotolerance by melatonin and 24-epibrassinolide. *BMC Genomics*, 2018, 19: 224.
- [19] 余梦奇, 路梦莉, 张雅婷, 等. 褪黑素对高温胁迫玉米叶片光合特性与抗氧化酶活性的调控. *玉米科学*, 2024, 32(1): 90–99.
Yu M Q, Lu M L, Zhang Y T, et al. Regulation of melatonin on photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities in maize leaves under high temperature stress condition. *J Maize Sci*, 2024, 32(1): 90–99 (in Chinese with English abstract).
- [20] Wang H Q, Sun J, Ren H, et al. Inhibiting reactive oxygen species production mitigates endoplasmic reticulum damage in florets of developing maize ears under heat stress. *Plant J*, 2025, 122: e70243.
- [21] Li Z G, Xu Y, Bai L K, et al. Melatonin enhances thermotolerance of maize seedlings (*Zea mays* L.) by modulating antioxidant defense, methylglyoxal detoxification, and osmoregulation systems. *Protoplasma*, 2019, 256: 471–490.
- [22] Cao L R, Fahim A M, Liang X H, et al. Melatonin enhances heat tolerance via increasing antioxidant enzyme activities and osmotic regulatory substances by upregulating *zmen1* expression in maize (*Zea mays* L.). *Antioxidants*, 2024, 13: 1144.
- [23] Ye Z P, Suggett D J, Robakowski P, et al. A mechanistic model for the photosynthesis-light response based on the photosynthetic electron transport of photosystem II in C₃ and C₄ species. *New Phytol*, 2013, 199: 110–120.
- [24] 叶子飘. 光合作用对光和 CO₂ 响应模型的研究进展. *植物生*

- 态学报, 2010, 34: 727–740.
- Ye Z P. A review on modeling of responses of photosynthesis to light and CO₂. *Chin J Plant Ecol*, 2010, 34: 727–740 (in Chinese with English abstract).
- [25] 叶子飘, 于强. 光合作用对胞间和大气 CO₂ 响应曲线的比较. *生态学杂志*, 2009, 28: 2233–2238.
- Ye Z P, Yu Q. A comparison of response curves of winter wheat photosynthesis to flag leaf intercellular and air CO₂ concentrations. *Chin J Ecol*, 2009, 28: 2233–2238 (in Chinese with English abstract).
- [26] Strasser R J, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Papageorgiou G C, Govindjee G, eds. *Chlorophyll *a* Fluorescence: a Signature of Photosynthesis*. Dordrecht: Springer Press, 2004. pp 321–362.
- [27] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 1977, 59: 309–314.
- [28] Rao M V, Hale B A, Ormrod D P. Amelioration of ozone-induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide (role of antioxidant enzymes). *Plant Physiol*, 1995, 109: 421–432.
- [29] Aebi H. In: Bergmeyer H U, eds. *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie Press, 1974. pp 673–684.
- [30] 赵世杰, 苍晶. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2015. pp 234–236.
- Zhao S J, Cang J. *Experimental Guidance in Plant Physiology*. Beijing: China Agriculture Press, 2015. pp 234–236 (in Chinese).
- [31] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- Li H S. *Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment*. Beijing: Higher Education Press, 2000 (in Chinese).
- [32] 魏爱丽, 张英华, 黄琴, 等. 小麦不同绿色器官光合速率与碳同化酶活性及其基因型差异研究. *作物学报*, 2007, 33: 1426–1431.
- Wei A L, Zhang Y H, Huang Q, et al. Dynamic characteristics of photosynthetic rate and carbon assimilation enzyme activities of different green organs in different genotypes of wheat. *Acta Agron Sin*, 2007, 33: 1426–1431 (in Chinese with English abstract).
- [33] Fahad S, Bajwa A A, Nazir U, et al. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1147.
- [34] Moore C E, Meacham-Hensold K, Lemonnier P, et al. The effect of increasing temperature on crop photosynthesis: from enzymes to ecosystems. *J Exp Bot*, 2021, 72: 2822–2844.
- [35] 张玲玲. 5种植物光响应曲线最适拟合模型筛选. *西南林业大学学报*, 2017, 37(1): 20–25.
- Zhang L L. Light response curves of 5 plants and screening the optimal model. *J Southwest For Univ (Nat Sci)*, 2017, 37(1): 20–25 (in Chinese with English abstract).
- [36] 王欢利, 曹福亮, 刘新亮. 高温胁迫下不同叶色银杏嫁接苗光响应曲线的拟合. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2015, 39(2): 14–20.
- Wang H L, Cao F L, Liu X L. Fitting the light response curves of two *Ginkgo* variants under heating stress. *J Nanjing For Univ (Nat Sci Edn)*, 2015, 39(2): 14–20 (in Chinese with English abstract).
- [37] 蔡福, 米娜, 纪瑞鹏, 等. 关键生育阶段持续干旱对东北春玉米光合特性的影响. *生态学杂志*, 2017, 36: 1578–1589.
- Cai F, Mi N, Ji R P, et al. Effects of continuous drought stress during key growth phases on photosynthetic characteristics of spring maize in Northeast China. *Chin J Ecol*, 2017, 36: 1578–1589 (in Chinese with English abstract).
- [38] 张曦文, 刘铁东, 程国侦, 等. 不同光处理对玉米叶片光响应曲线和二氧化碳响应曲线的影响. *辽宁农业科学*, 2018(1): 13–16.
- Zhang X W, Liu T D, Cheng G Z, et al. Effects of different light treatments on light response curve and carbon dioxide response curve of maize leaves. *Liaoning Agric Sci*, 2018(1): 13–16 (in Chinese with English abstract).
- [39] 姚斌, 徐晨, 王俊鹏, 等. 不同父本血缘玉米杂交种对光、CO₂ 响应特性. *分子植物育种*, 2020, 18: 1297–1306.
- Yao B, Xu C, Wang J P, et al. Light and CO₂ response characteristics of different parental bloodline maize hybrids. *Mol Plant Breed*, 2020, 18: 1297–1306 (in Chinese with English abstract).
- [40] Betti M, Bauwe H, Busch F A, et al. Manipulating photorespiration to increase plant productivity: recent advances and perspectives for crop improvement. *J Exp Bot*, 2016, 67: 2977–2988.
- [41] 钟孝芬, 李波娣, 李敏姬, 等. 光呼吸研究进展. *热带亚热带植物学报*, 2022, 30: 782–790.
- Zhong X F, Li B D, Li M J, et al. Research advances in photorespiration. *J Trop Subtrop Bot*, 2022, 30: 782–790 (in Chinese with English abstract).
- [42] Kutschera U, Pieruschka R, Berry J A. Leaf development, gas exchange characteristics, and photorespiratory activity in maize seedlings. *Photosynthetica*, 2010, 48: 617–622.
- [43] Cavanagh A P, South P F, Bernacchi C J, et al. Alternative pathway to photorespiration protects growth and productivity at elevated temperatures in a model crop. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20: 711–721.
- [44] Hasanuzzaman M, Nahar K, Alam M M, et al. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 9643–9684.
- [45] 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. *草地学报*, 2021, 29: 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. *Acta Agrest Sin*, 2021, 29: 1682–1688 (in Chinese with English abstract).
- [46] Urban J, Ingwers M W, McGuire M A, et al. Increase in leaf temperature opens stomata and decouples net photosynthesis from stomatal conductance in *Pinus taeda* and *Populus deltoides* × *nigra*. *J Exp Bot*, 2017, 68: 1757–1767.
- [47] Liu Y N, Xu Q Z, Li W C, et al. Long-term high light stress induces leaf senescence in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Photosynthetica*, 2019, 57: 830–840.
- [48] Ma Y D, Wang B, Zhang R M, et al. Initial simulated acid rain impacts reactive oxygen species metabolism and photosynthetic abilities in *Cinnamomum Camphora* undergoing high temperature. *Ind Crops Prod*, 2019, 135: 352–361.

- [49] Fahad S, Bajwa A A, Nazir U, et al. Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1147.
- [50] Jarvis P. Targeting of nucleus-encoded proteins to chloroplasts in plants. *New Phytol*, 2008, 179: 257–285.
- [51] Kikuchi S, Bédard J, Hirano M, et al. Uncovering the protein translocon at the chloroplast inner envelope membrane. *Science*, 2013, 339: 571–574.
- [52] Zhang Z S, Liu M J, Scheibe R, et al. Contribution of the alternative respiratory pathway to PSII photoprotection in C_3 and C_4 plants. *Mol Plant*, 2017, 10: 131–142.
- [53] Nunes-Nesi A, Araújo W L, Fernie A R. Targeting mitochondrial metabolism and machinery as a means to enhance photosynthesis. *Plant Physiol*, 2011, 155: 101–107.