

外源施加褪黑素对 NaCl 胁迫下狼尾草种子萌发及 相关生理指标的影响

张娜¹ 蒋庆¹ 李殿波¹ 蔡林桐¹ 张海军¹ 司文君² 范希峰³ 郭仰东^{1*}

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院/国家能源非粮生物质原料研发中心,北京 100193;

2. 北京市昌平区马池口镇农业服务中心,北京 102200;

3. 北京市农林科学院 草业与环境研究中心,北京 100097)

摘要 在狼尾草种子萌发过程中外源施加褪黑素,观察测定 NaCl 胁迫下狼尾草种子的萌发特性和萌动种子体内的抗逆酶活性与相关生理生化指标。结果表明:褪黑素处理显著提高了 NaCl 胁迫下狼尾草种子的发芽势和发芽率,其中 300 和 500 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素处理效果比较明显。褪黑素处理显著提高了狼尾草胚根的直径,起到了壮根的作用。NaCl 胁迫下褪黑素处理组的平均干重显著高于非褪黑素处理的组别,表明褪黑素处理促进了干物质积累。另外褪黑素提高了种子体内的游离脯氨酸和可溶性蛋白含量,有助于抵抗盐胁迫逆境造成的渗透伤害;提高了抗氧化系统酶的活性(SOD、POD 和 CAT),降低了丙二醛的含量,有效防止了胁迫产生的多余活性氧所造成的过氧化伤害。综合以上数据,褪黑素具有提高狼尾草抵抗 NaCl 胁迫逆境的作用。

关键词 狼尾草;褪黑素;NaCl 胁迫;发芽率;抗氧化

中图分类号 Q 57

文章编号 1007-4333(2014)03-0054-07

文献标志码 A

Effect of exogenous melatonin on germination of *Pennisetum alopecuroides* under NaCl stress

ZHANG Na¹, JIANG Qing¹, LI Dian-bo¹, CAI Lin-tong¹, ZHANG Hai-jun¹,
SI Wen-jun², FAN Xi-feng³, GUO Yang-dong^{1*}

(1. College of Agromomy and Biotechnology /National Energy R & D Center for Non-food Biomass,
China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Ma Chi Kou Agricultural Service Center, Changping District, Beijing 102200, China;

3. Beijing Research and Development Center for Grass and Environment,

Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract In this study, we measrued the germination characteristics, anzyme activities and related physiological characteristics of pennisetum treated with exogenous melatonin under NaCl stress. Melatonin treatment improved the germination rate at 48 h and the final germination rate. The M300 and M500 treatments had high effect. Melatonin enhanced the root system of pennisetum by increasing the radical diameter. The melatonin treated group had larger dry weight than that of control group, indicating that melatonin facilitated the dry matter accumulation. In addition, both free proline accumulation and soluble protein content were also increased by exogenous melatonin. Both proline and soluble protein are assumed to resist the permeability damage caused by salt stress. Exogenous melatonin may keep the pennisetum from oxidative damage caused by reactive oxygen species, as improving the activities of antioxidate system enzymes (SOD, POD and CAT) and maitaining the MDA content at a low level. In summary, melatonin may be the reason for the pennisetum to resist NaCl stress.

Key words *Pennisetum alopecuroides*; melatonin; NaCl stress; germination; antioxidation

收稿日期: 2013-12-25

基金项目: 国家“863”计划项目(2012AA101801); “十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAD17B01)

第一作者: 张娜, 博士研究生, E-mail: zhangna_cau@163.com

通讯作者: 郭仰东, 教授, 主要从事蔬菜、草坪草等园艺作物逆境生理相关生物技术研究, E-mail: yaguo@cau.edu.cn

目前,生物质能源作为化石能源的可替代能源,已日渐为世界各国所重视,其相关研究已经成为热点。生物质能源是一种可再生的清洁能源,植物通过光合作用固定的太阳能高达 $3 \times 10^{21} \text{ J}^{[1]}$ 。充分利用生物质能源可缓解化石能源日渐枯竭所带来的经济社会压力。目前世界范围内的生物质能转化原料主要是玉米、甜高粱、马铃薯和大豆等粮食作物或经济作物^[2-3]。这将会加剧近年来发生的粮食价格急剧上涨现象。采用非粮植物生产乙醇是世界公认的生物质能源发展方向。1984年,美国能源部(DOE)以多年生禾草为主要研究对象,从35种草本植物中筛选出了18种最具潜力的禾草,其中包括属于狼尾草属的象草(*Pennisetum purpureum* Schum)^[4]。狼尾草(*Pennisetum alopecuroides* (L.) Spreng.)是C4型植物,具有高效的光合作用能力和干物质积累能力。根深密、扩展范围广和须根发达,生物产量高,纤维素含量高。狼尾草是一种优良的草本能源植物,生物质品质与玉米秸秆相当,虽不及相同环境条件下的柳枝稷、荻和芦竹,但狼尾草具有显著的产量优势,且其适宜的碳氮比非常适合于沼气发酵^[5]。

盐胁迫造成植物叶面积扩展速率降低,直至停止增加,叶、茎和根的鲜重及干重随之降低。盐胁迫会导致活性氧(Reactive oxygen species, ROS)积累而导致ROS代谢失衡,遗传上抗氧化酶表达水平高的品种或农艺上增强抗氧化酶活性的技术措施,均表现出植物提高的耐盐性^[6-8]。种子能否在盐胁迫下萌发成苗,是植物在盐碱条件下生长发育的前提,因此在盐胁迫下研究种子萌发状况具有重要的意义。

褪黑素是一种经典的动物激素,化学名称为N-乙酰-5-甲氧基色胺,英文简写MT,其在植物中普遍存在已经得到了广泛证实^[9-11]。褪黑素具有很强的抗氧化性,能够迅速清除活性氧自由基^[12-14],稳定细胞氧化还原状态。试验表明褪黑素能够维持生物膜的稳定性,保护细胞不受氧化伤害^[14]。对离体叶片外源施加褪黑素能够有效的防止叶绿素的流失^[15],褪黑素溶液处理的植物幼苗也表现出了较高的叶绿素含量和显著提高的叶片光合作用能力^[16-18]。褪黑素具有提高抗氧化系统酶活性的能力,从而进一步提高植物抵抗逆境下氧化伤害的能力^[19]。褪黑素处理能够提高植物对逆境胁迫的耐受性,如能够提高甘蓝种子对重金属铜胁迫的耐受力^[17,20-21],缓解低温

导致的胡萝卜细胞悬浮系的细胞凋亡^[22]。褪黑素在农业生产上有极大的应用前景^[23-24]。富含褪黑素的转基因水稻具有抗除草剂的能力^[25]。褪黑素前处理的红景天胚性愈伤在超低温保存后的存活率^[26],在种质资源保存方面能够得到有效利用。

本研究以狼尾草为材料,研究外源褪黑素对NaCl胁迫下狼尾草种子萌发、干物质积累、根系发育和抗氧化系统酶活性的影响,探讨褪黑素缓解狼尾草盐胁迫的生理生化机制,为褪黑素应用于狼尾草在盐胁迫土地上的生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

狼尾草种子由江苏农科院提供,品种为杂交狼尾草,种子在试验前先用60% (体积分数) H_2SO_4 完全浸泡并在室温下搅拌15 min 去掉包被种子颖壳,防止在试验过程中种子颖壳携带的细菌真菌污染试验材料。

1.2 发芽试验

选取饱满优质的狼尾草种子用10%次氯酸钠消毒10 min,无菌水冲洗后风干到初始含水量。试验时将种子放在直径9 cm的培养皿中,内铺2层无菌滤纸。每处理重复3次,每重复50粒大小均匀饱满一致的种子。每个培养皿中加入5 mL处理液,发芽温度20℃,黑暗条件。称重法补水,每天定时称重并向培养皿内加入蒸馏水到初始重量,以保持处理液浓度不变。露白后每5 h记录1次发芽数,直至发芽的数目不再变化。发芽势采用萌发48 h的种子萌发百分比,发芽率采用发芽数目恒定后的发芽百分比。盐浓度筛选预试验所用盐浓度梯度为(0、50、100、150和200 mmol/L),褪黑素处理试验所用处理液为(150 mmol/L NaCl+100、300、500和1 000 $\mu\text{mol/L}$ MT)。

1.3 根系分析及生理指标测定

消毒的种子于清水和不同浓度的褪黑素溶液中萌发1周,对每个处理的芽苗扫描根系,并用根系形态学和结构分析应用系统WinRHIZO分析根的形态指标。每个处理混合取样,并于一80℃保存样品,准备测定样品的酶活性和其他生理指标。膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)采用硫代巴比妥酸法测定^[27];游离脯氨酸含量测定采用酸性茚三酮显色法^[28];可溶性蛋白采用考马斯亮蓝法测定^[29];过氧化物酶活性(POD; EC 1.11.1.7)采用愈创木酚法

测定^[30];超氧化物歧化酶(SOD;EC 1.15.1.1)采用氮蓝四唑法测定^[31];过氧化氢酶(CAT;EC 1.11.1.6)采用紫外分光光度计法测定^[32]。

1.4 数据处理

采用 Excel 2010 进行数据处理和图表绘制,采用 SAS 8.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA)进行差异显著性分析($P=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对狼尾草种子发芽率的影响

盐胁迫大大降低了狼尾草种子的发芽势,且抑制程度随 NaCl 溶液的浓度增加而增加。150 和 200 mmol/L NaCl 处理下的种子培养 48 h 后的发芽势均降到了 50%左右,这 2 个浓度对狼尾草种子萌发的抑制程度相近,没有显著差异(图 1)。因此选择了 150 mmol/L 为试验所用盐浓度。图 2 直观地表明了 NaCl 溶液对萌发了的狼尾草种子胚根胚轴伸长的影响,盐胁迫明显的抑制了幼苗的生长。

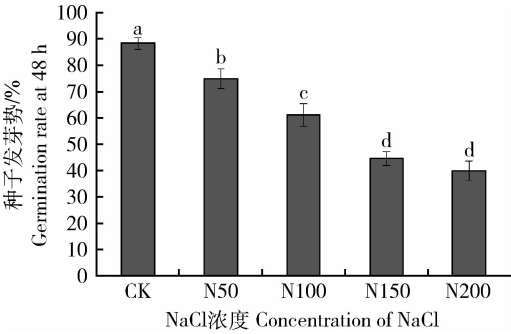
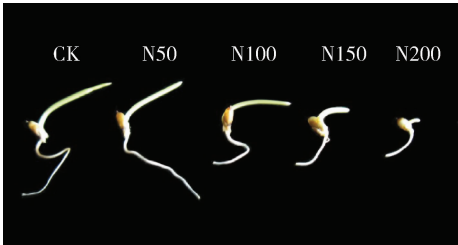


图 1 NaCl 浓度对狼尾草种子发芽势的影响
Fig. 1 Effect of NaCl solutions on germination rate in pennisetum at 48 h



N50、N100、N150 和 N200 分别代表了处理所用的 NaCl 浓度,mmol/L
N50, N100, N150, N200 represent the concentration of NaCl solution, mmol/L

图 2 NaCl 浓度对萌发的狼尾草胚根胚轴伸长的影响
Fig. 2 Effect of NaCl solutions on radicle hypocotyl elongation in pennisetum

2.2 褪黑素处理对盐胁迫下狼尾草种子萌发的影响

以预试验筛选出的 150 mmol/L 浓度为发芽溶液(其中 CK1 的发芽溶液为蒸馏水),观察狼尾草种子在培养 48 h 时的发芽势。如图 3 所示,CK1 即清水条件下狼尾草种子 48 h 时发芽率已接近 90%,发芽迅速且整齐,而 CK2 即以 150 mmol/L NaCl 为发芽溶液的组,48 h 时的发芽率不足 70%,说明盐胁迫显著抑制了狼尾草种子的萌发。M100、M300、M500 和 M1000 的发芽溶液为在 150 mmol/L NaCl 的基础上分别添加了对应浓度的褪黑素,在相同的发芽环境和发芽时间里 M100、M300 和 M500 分别表现出了高于 CK2 的发芽势,并且差异显著。说明褪黑素缓解了 NaCl 溶液对种子萌发的抑制作用,并且这种缓解作用随浓度的增加略有提高。但在 M1000 这一较高浓度褪黑素溶液处理下,狼尾草种子的发芽势较低,甚至低于处理下的对照 CK2,说明过高浓度的褪黑素溶液反而加剧了 NaCl 溶液对狼尾草种子发芽的抑制作用。相同的规律在图 4 即狼尾草种子的萌发动态中也得到了体现。

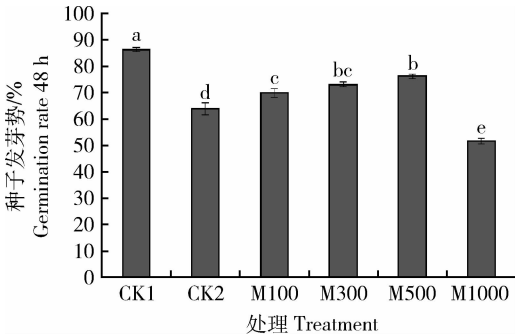


图 3 褪黑素处理对盐胁迫下狼尾草种子发芽势的影响
Fig. 3 Effect of melatonin on germination rate in pennisetum at 48 h under NaCl stress

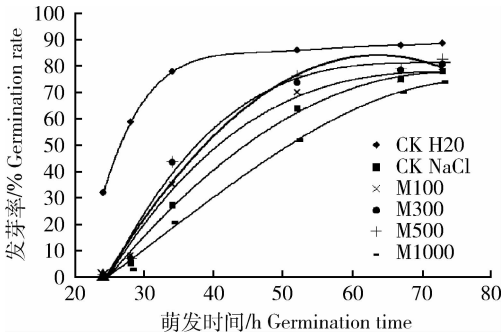


图 4 褪黑素对盐胁迫下狼尾草种子萌发动态的影响
Fig. 4 Effect of melatonin on germination in pennisetum in 72 h under NaCl stress

2.3 褪黑素处理对盐胁迫下狼尾草种子胚根的影响

根系经过扫描后的图片经过软件分析得到了每个处理的胚根直径。清水条件下萌发的狼尾草生长迅速,但平均胚根直径却显著低于 NaCl 溶液下萌发的狼尾草(图 5)。添加褪黑素显著提高了盐胁迫下狼尾草胚根的平均直径。说明褪黑素促进了狼尾草胚根的横向生长,具有壮根的作用,并且这种效应是有褪黑素浓度依赖性的,即低浓度的褪黑素具有显著促进作用,高浓度的褪黑素则作用不明显。

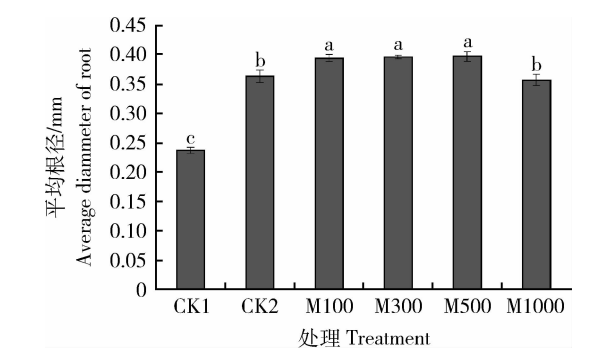


图 5 褪黑素处理对盐胁迫下狼尾草胚根直径的影响
Fig. 5 Effect of melatonin on radical diameter in pennisetum under NaCl stress

2.4 褪黑素处理对盐胁迫下狼尾草生理指标的影响

种子萌发后继续培养 2 周,待胚根胚轴生长至充分展开,测定其干鲜重。清水下萌发的种子,芽苗生长速度最快,鲜重最大,但其干物质积累较少,干重最小。对比盐胁迫下各组,发现其鲜重处在相同水平,但在干重方面,施加褪黑素的组显著高于对照(图 6)。说明施加了褪黑素有效促进了盐胁迫下狼尾草幼苗干物质的积累。

脯氨酸是在外界胁迫条件下积累的调节渗透压的主要有机物质,脯氨酸累积量与植物对胁迫的耐受能力成正相关,脯氨酸在胁迫条件下调节渗透

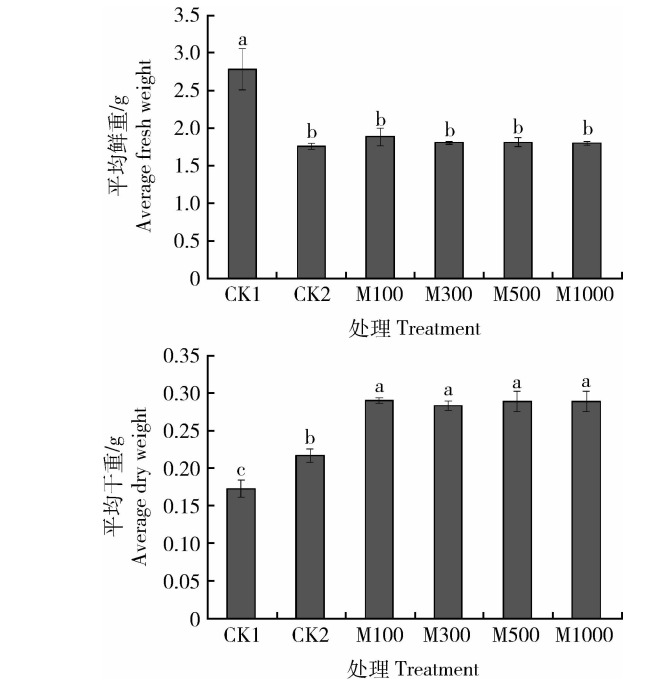
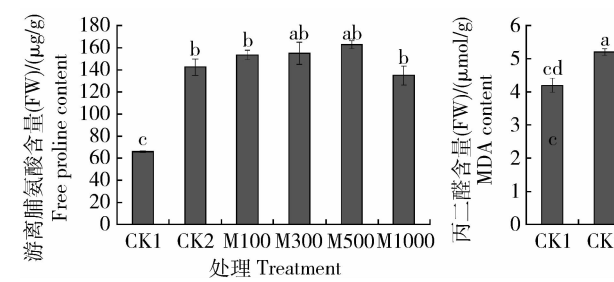


图 6 褪黑素对盐胁迫下狼尾草鲜重(a)及干重(b)的影响
Fig. 6 Effect of melatonin on fresh weight (a) and dry weight (b) in pennisetum under NaCl stress

平衡,维持水分的吸收供给。如图 7 所示,施加了盐胁迫的狼尾草(CK2)相比正常条件下的狼尾草(CK1)脯氨酸积累量急剧上升。CK2 的脯氨酸含量为 CK1 的 2.2 倍。外源施加褪黑素的处理组脯氨酸含量相比 CK2 对照有所提高,提高最多的组为 M500,提高百分比为 14%。高浓度的 M1000 相比 CK2 没有显著变化,但其脯氨酸含量依然显著高于 CK1。

MDA 是膜脂过氧化的产物,盐胁迫诱导的植物体 MDA 含量的变化可作为衡量逆境对植物造成氧化损害的指标。盐胁迫产生的多余的自由基导致了膜脂的过氧化,对正在萌发的种子产生了膜伤害,因此盐胁迫下的植株体内 MDA 水平较高。盐胁迫

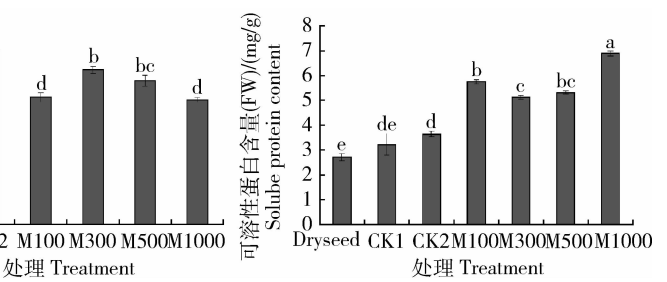


图 7 褪黑素对盐胁迫下狼尾草游离脯氨酸、MDA 和可溶性蛋白含量的影响

Fig. 7 Effect of melatonin on contents of proline,MDA,soluble protein in penniesetum under NaCl stress

后的狼尾草(CK2)MDA 水平相比正常条件下(CK1)的MDA增加了24%(图7)。外源施加褪黑素的组MDA均保持在较低的水平上,并且相比盐胁迫下的未添加褪黑素的对照差异显著。

盐胁迫下,植物体内代谢发生变化,诱导可溶性蛋白的形成,是植物抵御干旱盐碱胁迫的保护机制之一。种子萌发过程中储存的蛋白质开始发生质变,大部分的蛋白酶被激活产生活性,因此萌发的种子(CK1)可溶性蛋白含量较未萌发的种子(Dry seed)有明显增加,盐胁迫逆境更刺激了酶的激活,数据表明褪黑素处理的种子可溶性蛋白水平产生了大幅度的提升,施加褪黑素的组比盐胁迫下未施加褪黑素的组最大提高幅度为89%(图7)。由此可证明褪黑素具有刺激酶活性的作用,使植物处于一个较活跃的生理状态。

2.5 褪黑素处理对盐胁迫下狼尾草酶促抗氧化系统的影响

SOD是植物抗氧化系统中极为重要的金属酶,是植物活性氧代谢的关键酶,是对抗氧化损伤的第

一道防线,催化超氧化物基团歧化产生O₂和H₂O。CAT能促进H₂O₂生成H₂O,清除生物体内的过氧化氢,保护细胞免受损伤,是生物防御体系的关键酶之一。POD的主要生理功能是催化过氧化氢及某些酚类的分解,抑制过氧化物对细胞膜的伤害,维持细胞膜的稳定性和完整性,提高植物抗逆性。

盐胁迫下萌发的种子体内产生了大量的活性氧,因此盐胁迫组(CK2)的酶促抗氧化系统SOD、CAT和POD的活性高于正常条件下(CK1)萌动的种子(图8)。由于褪黑素具有直接的活性氧清除作用,在相同浓度盐浓度胁迫下,外源施加褪黑素的种子表现出了较低的抗氧化系统酶活性,但仍比正常条件下(CK1)植株体内的酶活性要高。褪黑素对POD酶活性的增强作用高于SOD和CAT。褪黑素对POD酶活性的促进作用是最明显的。褪黑素处理组的POD活性均显著高于对照,且M500组的POD活性为对照组CK2酶活性的2.43倍。相比于对SOD酶与CAT酶的活性调节作用,褪黑素更直接有效的作用于POD酶。

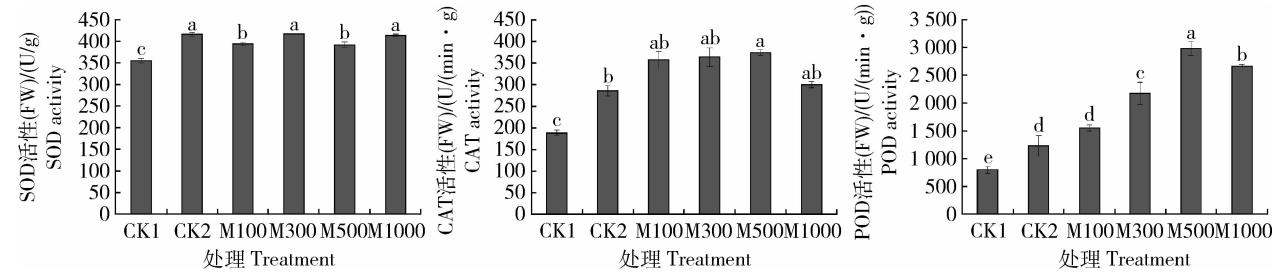


图8 褪黑素对盐胁迫下狼尾草SOD、POD、CAT酶活性的影响

Fig. 8 Effect of melatonin on SOD,POD,CAT activity in pennisetum under NaCl stress

3 讨论与结论

盐胁迫是影响植物生长和产量的主要环境因子之一,植物在进化的过程中产生了一系列的适应机制。游离脯氨酸是植物体内重要的渗透调节物质,植物体平衡渗透势是通过增加渗透调节物质来调节的。脯氨酸累积量与植物对胁迫的耐受能力成正相关^[33]。本研究中,褪黑素处理显著提高了狼尾草在盐胁迫下的脯氨酸含量,维持狼尾草体内的渗透平衡,提高狼尾草对盐胁迫的耐受力。种子萌发的过程,大量的酶被激活,可溶性蛋白水平升高。本研究褪黑素处理促进了这一过程,使得种子内部生理活动活跃,有效的提高了狼尾草种子在NaCl胁迫

下的发芽率发芽势,增加了幼苗干物质的积累。在盐胁迫下植物线粒体叶绿体内会产生大量活性氧^[33]。活性氧不能被及时清除,细胞的完整性就会被破坏,造成细胞内大量MDA积累,MDA是膜脂氧化的最终分解产物,MDA水平可以反映植物遭受胁迫伤害的程度。SOD、POD和CAT是清除ROS和阻止脂质酶促氧化的重要酶类。本研究发现,盐胁迫下狼尾草积累大量的MDA,膜脂过氧化程度较高,SOD、POD和CAT酶活性均处于较低水平。褪黑素处理显著降低了膜脂过氧化程度水平。究其原因一方面是由于褪黑素的活性氧清除作用,另一方面,褪黑素处理提高了抗氧化系统酶SOD、POD和CAT的活性,进一步促进多余活性氧

的清除,保护膜脂免于过氧化伤害,因此被褪黑素处理过的种子,体内的 MDA 水平要低,受到的盐胁迫伤害较小。褪黑素处理黄瓜幼苗也表现出了相似的结果^[17]。褪黑素对 POD 有较强的诱导作用,褪黑素处理能够提高编码 POD 的基因表达及显著提高该酶的活性。并通过提高过氧化物酶的表达和活性方式间接的调控植物根系的发育^[34]。在本研究中也得到相似结论,相比于对 SOD 酶与 CAT 酶的活性调节作用,褪黑素更直接有效的作用于 POD 酶的活性调节,并且褪黑素处理组的根系也相对发达。

总之,褪黑素处理提高了盐胁迫下狼尾草种子的发芽率,促进了根系生长,增加了干物质积累。对其抗逆指标的分析也证明,褪黑素处理能够降低植株的膜脂过氧化程度,提高渗透调节物质的水平,促进种子萌发过程中酶的激活,提高活性氧清除系统酶的活性。本研究提出了一种新的用于提高狼尾草种子萌发和抵御盐胁迫伤害的物质。褪黑素作为一种经典的动物激素,第一次在狼尾草的抗盐胁迫上做出了功能探索,试验表明外源施加褪黑素能够提高狼尾草种子对盐胁迫的抵抗能力。这对提高狼尾草在盐碱地上的生产种植提供了新的思路,为褪黑素这种新型抗逆调节物质在逆境生产上的应用提供了理论依据。

参 考 文 献

- [1] 张卫明,史劲松,顾龚平,等. 生物质能的利用和能源植物的开发[J]. 南京师大学报:自然科学版,2007,30(3):68-74
- [2] 陈洪章,王岚. 生物质能源转化技术与应用(Ⅲ):生物质的生物转化技术原理与应用[J]. 生物质化学工程,2008,42(4):67-72
- [3] 朱永芳. 能源植物的开发与利用进展[J]. 生物质化学工程,2006,40(6):51-53
- [4] Lewandowski I, Scurlock J M O, Lindvall E, et al. The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe[J]. Biomass & Bioenergy,2003,25:335-361
- [5] 范希峰,侯新村,朱毅,等. 杂交狼尾草作为能源植物的产量和品质特性[J]. 中国草地学报,2012,34(1):48-52
- [6] Hernandez J A, Jimenez A, Mullineaux P, et al. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences [J]. Plant Cell and Environment,2000,23:853-862
- [7] Kim Y, Arihara J, Nakayama T, et al. Antioxidative responses and their relation to salt tolerance in *Echinochloa oryzicola* Vasing and *Setaria viridis* (L.) Beauv [J]. Plant Growth Regulation. 2004,44:87-92

- [8] Kong L A, Wang M, Bi D L. Selenium modulates the activities of antioxidant enzymes, osmotic homeostasis and promotes the growth of sorrel seedlings under salt stress[J]. Plant Growth Regulation. 2005,45:155-163
- [9] Manchester L, Tan D X, Reiter R, et al. High levels of melatonin in the seeds of edible plants- Possible function in germ tissue protection[J]. Life Sciences,2000,67:3023-3029
- [10] Posmyk M M, Janas K M. Melatonin in plants [J]. Acta Physiologiae Plantarum,2009,31:1-11
- [11] Reiter R J, Tan D X. Melatonin- An antioxidant in edible plants [J]. Alcohol and Wine in Health and Disease,2002,957:341-344
- [12] Allegra M, Reiter R J, Tan D X, et al. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species [J]. Journal of Pineal Research,2003,34:1-10
- [13] Reiter R J, Tan D X, Osuna C, et al. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress-A review [J]. Journal of Biomedical Science,2000,7(6):444-458
- [14] Pieri C, Moroni F, Marra M, et al. Melatonin is an efficient antioxidant[J]. Archives of Gerontology and Geriatrics,1995,20:159-165
- [15] Arnao M, Hernandez-Ruiz J. Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves[J]. Journal of Pineal Research,2009,46:58-63
- [16] Wang P, Sun X, Li C, et al. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple[J]. Journal of Pineal Research,2013,54:292-302
- [17] Zhang N, Zhao B, Zhang H J, et al. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Journal of Pineal Research, 2013,54:15-23
- [18] Li C, Wang P, Wei Z, et al. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis* [J]. Journal of Pineal Research,2012,53:298-306
- [19] 张娜,张海军,郭仰东,等. 褪黑素在植物中功能研究进展[J]. 中国农学通报,2012,28(9):16-20
- [20] Posmyk M, Kuran H, Marciniak K, et al. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations [J]. Journal of Pineal Research,2008,45:24-31
- [21] Posmyk M, Balabusta M, Wiczorek M, et al. Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress [J]. Journal of Pineal Research,2009,46:214-223
- [22] Lei X, Zhu R, Zhang G, et al. Attenuation of cold-induced apoptosis by exogenous melatonin in carrot suspension cells: The possible involvement of polyamines [J]. Journal of Pineal Research,2004,36:126-131
- [23] Tan D X, Hardeland R, Manchester L C, et al. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science [J]. Journal of Experimental Botany,2012,

63:577-597

[24] Janas K M, Posmyk M M. Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, 35: 3285-3292

[25] Park S, Lee D E, Jang H, et al. Melatonin-rich transgenic rice plants exhibit resistance to herbicide-induced oxidative stress [J]. *Journal of Pineal Research*, 2013, 54: 258-263

[26] Zhao Y, Qi L, Wang W, et al. Melatonin improves the survival of cryopreserved callus of *Rhodiola crenulata* [J]. *Journal of Pineal Research*, 2011, 50: 83-88

[27] Hodges D, DeLong J, Forney C, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds[J]. *Planta*, 1999, 207: 604-611

[28] 徐同, 陈翠莲. 植物抗逆性测定(脯氨酸快速测定)法[J]. *华中农学院学报*, 1983, 2 (1): 94-95

[29] Bradford M. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254

[30] Scebba F, Sebastiani L, Vitagliano L. Activities of antioxidant enzymes during senescence of *Prunus armeniaca* leaves[J]. *Biologia Plantarum*, 2001, 44: 41-46

[31] Giannopolitis C, Ries S. Superoxide dismutases (II): Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings[J]. *Plant Physiology*, 1977, 59: 315-318

[32] Kato M, Shimizu S. Chlorophyll metabolism in higher-plants (Ⅷ): Chlorophyll degradation in senescing tobacco-leaves-phenolic-dependent peroxidative degradation [J]. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique*, 1987, 65: 729-735

[33] Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses[J]. *Plant Cell and Environment*, 2010, 33: 453-467

[34] Zhang N, Zhang H J, Guo Y D, et al. The RNA-seq approach to discriminate gene expression profiles in response to melatonin on cucumber lateral root formation [J]. *Journal of Pineal Research*, 2014, 56: 39-50

责任编辑：王燕华