浙江农林大学学报,2018,35(2):291-297

Journal of Zhejiang A&F University

doi:10.11833/j.issn.2095-0756.2018.02.013

外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味猕猴桃实生苗抗氧化物酶 和渗透调节物质的影响

高 帆 1 ,谢 玥 2 ,沈妍秋 1 ,雷 芝 1 ,王 秀 1 ,夏 惠 3 ,梁 东 3

- (1. 四川农业大学 园艺学院,四川 成都 611130; 2. 四川省自然资源科学研究院,四川 成都 610015;
- 3. 四川农业大学 果蔬研究所,四川 成都 611130)

摘要: 盐胁迫是果树生长发育所面临的主要危机之一。为探讨外源褪黑素对缓解美味猕猴桃 Actinidia deliciosa 盐胁迫的生理机制,对根灌褪黑素后的美味猕猴桃实生苗进行盐胁迫处理。通过测定对照(ck),氯化钠胁迫(S1),褪黑素预处理和氯化钠胁迫(S2)下的美味猕猴桃实生苗叶片保护酶(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶)活性、抗坏血酸及渗透调节物质的变化,分析外源褪黑素提高植物耐盐性的生理机理。结果表明:与对照(ck)相比,氯化钠胁迫处理后,美味猕猴桃实生苗叶片中丙二醛、脯氨酸、保护酶活性先升高再下降,抗坏血酸和可溶性蛋白质先下降再升高,过氧化氢和可溶性糖显著上升;而根灌褪黑素可有效缓解美味猕猴桃实生苗膜脂过氧化程度,降低丙二醛和过氧化氢,最多时分别降低 102.45%和 44.35%。同时,可显著增加脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白质和抗坏血酸,并提高保护酶活性。外源褪黑素可以通过提高抗氧化物酶活性和渗透调节物质含量有效减缓氯化钠盐胁迫的危害,提高美味猕猴桃的耐盐性。图 4 参 31

关键词: 植物生理学; 美味猕猴桃; 外源褪黑素; 氯化钠胁迫; 抗氧化物酶; 渗透调节

中图分类号: Q945; S663.4

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2018)02-0291-07

Exogenous melatonin for NaCl stress with antioxidant enzymes and osmotic substances of *Aclinidia deliciosa* seedlings

GAO Fan¹, XIE Yue², SHEN Yanqiu¹, LEI Zhi¹, WANG Xiu¹, XIA Hui³, LIANG Dong³

(1. College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China; 2. Sichuan Province Natural Resources Science Academy, Chengdu 610015, Sichuan, China; 3. Institute of Pomology and Olericulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China)

Abstract: Salt stress is a major crisis for growth and development of fruit seedlings. To improve salt tolerance of *Actinidia deliciosa* (kiwifruit), wild *A. deliciosa* seedlings were used as material to determine the effect of exogenous melatonin (MEL) on physiological mechanisms. The experiment was conducted in 2016 and 2017 at Sichuan Agricultural University in Chengdu, Sichuan Province. Kiwifruit seedlings were irrigated with a MEL solution and treated with 100 mmol·L⁻¹ NaCl stress. Kiwifruit leaves were sampled at foundation up to 3 to 5 euphyllas at 0, 3, 6, 9, 12 d after treatment. Protective enzyme activity [superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT)], ascorbic acid (AsA) content, and osmotic substances content were determined with treatments of a control (ck), NaCl stress (S1), and melatonin treated along with NaCl stress (S2). Results showed that compared to the control (ck), malondialdehyde (MDA) content, proline content, SOD activity, POD activity, and CAT activity of kiwifruit with NaCl stress significantly increased first and then de-

收稿日期: 2017-03-31; 修回日期: 2017-06-18

基金项目:四川农业大学大学生创新训练计划项目(201610626057);四川省科技计划项目(2017JY0054);四川省科技支撑计划项目(2016NZ0105)

作者简介:高帆,从事果树生物技术研究。E-mail: 18227551150@163.com。通信作者:梁东,副教授,博士, 从事果实品质调控研究。E-mail: liangeast@sina.com

creased (P < 0.05). In addition, AsA content first decreased and then increased (P < 0.05). The content of hydrogen peroxide (H_2O_2) and soluble sugar significantly increasing (P < 0.05). For the degree of membrane lipid peroxidation, MDA concentration reduced 102.45% at 6 d and H_2O_2 concentration decreased 44.35% at 12 d in S2 compared to S1. At the same time, the seedlings with melatonin have the higher level of proline, soluble sugar, soluble protein, AsA content, and the antioxidant enzymes activity (S0D, P0D, and CAT) than without melatonin (P < 0.05). Thus, exogenous melatonin could alleviate damage to kiwifruit seedlings and improve salt tolerance. [Ch, 4 fig. 31 ref.]

Key words: plant physiology; Actinidia deliciosa; exogenous melatonin; NaCl stress; antioxidant enzyme; osmotic regulation

土壤盐渍化是一个全球性的热点问题,是农业发展所面临的主要危机之一[1]。目前,全世界约有20%的灌溉土地受到盐胁迫影响,中国约有3460万 hm² 盐渍土地[2]。果树盐碱地栽培的研究也是国内外关注的重点[3]。盐胁迫下,植物细胞内自由基的产生与清除的动态平衡被打破,造成氧化胁迫,加速膜脂过氧化,有害物质积累,引起代谢紊乱[4]。褪黑素(melatonin, MEL)又称松果素,1958 年被 LERNER[7]从牛松果体中首次提取出来,其化学成分为 N-乙酰基-5-甲氧基色胺。大量研究表明,褪黑素是一种吲哚类激素,具有植物生长调节物质的功能,同时还具有抵抗胁迫的生物刺激物质的功能,对高温、低温、紫外及电离辐射、重金属和化学污染、生物氧化等生物和非生物胁迫都有一定的抵抗作用[8]。目前,有关猕猴桃 A ctinidia 耐盐性的研究已有一些报道 [9-10],但关于外源褪黑素对盐胁迫下猕猴桃生长及抗逆生理特性的研究还比较少。猕猴桃为猕猴桃科 A ctinidiaceae 猕猴桃属多年生藤本植物。猕猴桃果实为典型的浆果,主要是以含维生素 C 高,适口和特异的风味见著。猕猴桃在全球都具有极好的经济发展前景,是一种重要的果树资源[5]。前人研究表明,猕猴桃一般既不耐离子胁迫也不耐渗透胁迫[6]。因此,提高猕猴桃对盐碱地的耐性,保证猕猴桃在盐胁迫下能够维持正常的生理水平,对获得理想的产量和品质有重要意义。本研究以野生美味猕猴桃 A ctinidia deliciosa 实生苗为材料,研究了外源褪黑素对氯化钠胁迫下其实生苗体内的活性氧代谢和渗透调节物质的影响,为合理利用褪黑素缓解美味猕猴桃栽培中的盐害问题提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料培养与处理

于 2016 年 1 月将采于陕西秦岭的美味猕猴桃种子 4 ℃层积 2 个月,然后在培养箱中变温处理 2 周,光暗周期为 8 h/16 h,昼夜温度为 25 ℃/4 ℃。之后 25 ℃恒温培养至种子萌芽。将发芽的种子播种到育苗盘中,上面覆盖 2 mm 的营养土,于人工气候室中培养,光暗周期为 12 h/12 h,昼夜温度为 25 ℃/20 ℃。当实生苗长到 2~3 片真叶时,选取长势一致的实生苗移到装有珍珠岩的花盆中,3 株・盆¹。移苗后注意保湿遮阴,浇营养液。

当美味猕猴桃实生苗长至 9~10 片叶时,进行试验处理。选择整齐一致的壮苗分成 5 组,其中 3 组分别连续 5 d 根灌 $0.1~\mu mol \cdot L^{-1}$ 褪黑素溶液,其余 2 组根灌相同体积的清水。在最后一次根灌褪黑素溶液的第 2 天开始进行盐胁迫处理。任选 1 组根灌清水的猕猴桃实生苗作为空白对照(ck),即继续根灌清水,其余 2 组猕猴桃实生苗均根灌 $100~m mol \cdot L^{-1}$ 的氯化钠溶液,连续根灌 12~d,处理期间适当补充 1/2 Hoagland 营养液。各处理分别表示为:①ck。清水处理。②S1。氯化钠($100~m mol \cdot L^{-1}$)。③S2。褪黑素($0.1~\mu mol \cdot L^{-1}$)+氯化钠($100~m mol \cdot L^{-1}$)。10 盆·处理⁻¹,重复 3 次。氯化钠胁迫处理浓度和试验处理天数均根据预备试验确定。在氯化钠浇灌处理后的第 0, 3, 6, 9, 12~ 天分别采取根基向上第 3~5~ 片真叶,将叶片在液氮速冻后,置于-80~ ℃超低温冰箱中保存,用于测定生理指标。

1.2 测定项目及方法

脯氨酸采用酸性茚三酮法测定^[11]。丙二醛(malondialdehyde, MDA)参照硫代巴比妥酸法^[12]。过氧化 氢参照郝建军等^[13]的方法。可溶性糖、可溶性蛋白质参照李合生等^[11]的方法。超氧化物歧化酶(SOD)的 活性采用 GIANNOPOLITIS 等^[14]的方法。过氧化氢酶(CAT)活性采用改良后的 KATO 等^[15]的方法。过氧

化物酶(POD)活性采用 SCEBBA 等^[16]的方法。抗坏血酸(AsA)参考 KAMPFENKEL 等^[17]的铁离子(Fe³⁺)还原法。

1.3 数据处理

所有数据输入 Excel 表格, 计算平均数和标准差, 并利用 SPSS 22.0 对所有数据进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味猕猴桃叶片膜脂过氧化程度的影响

逆境条件下,植物体内丙二醛质量摩尔浓度的高低能够反映出细胞膜的损伤程度,是膜脂过氧化的主要产物。图 1 显示:在未经氯化钠处理前,各个处理间的丙二醛没有显著的差异。氯化钠胁迫至 6 d 时,S1 处理和 S2 处理的丙二醛质量摩尔浓度达最高值,较对照植株上升 490.32%和 262.81%。氯化钠胁迫 6 d 后,丙二醛开始下降,但仍高于 ck。此外,随着氯化钠胁迫时间的增加,S1 处理和 S2 处理的过氧化氢质量摩尔浓度逐渐上升,在 12 d 时达最大值。胁迫 12 d,S1 处理较 ck 处理增加了 83.90%,而 S2 处理仅增加了 27.40%。由此推测,外源褪黑素可显著缓解盐碱逆境条件下丙二醛和过氧化氢的积累,保护细胞膜的完整性,降低膜脂过氧化程度,从而提高美味猕猴桃的耐性,减轻盐胁迫对植物的伤害程度。

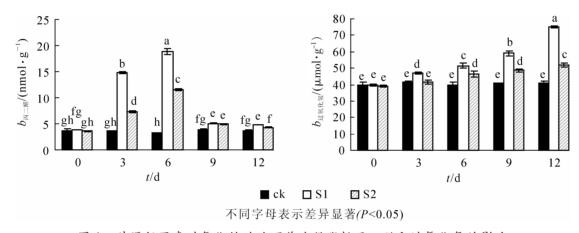


图 1 外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味猕猴桃丙二醛和过氧化氢的影响 Figure 1 Effects of exogenous melatonin on MDA content and H₂O₂ content in kiwifruit under NaCl stress

2.2 外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味猕猴桃叶片渗透调节物质的影响

由图 2 可知: S1 处理和 S2 处理的脯氨酸的质量分数在 0~3 d 显著上升,上升幅度为 53.74%和 58.87%, 3~12 d 则开始逐渐下降,但仍维持较高水平,且 S2 处理显著高于 S1 处理。美味猕猴桃叶片的可溶性糖质量分数随氯化钠胁迫时间的延长逐渐升高,胁迫 12 d 时达最高值,且 S2 处理的可溶性糖均高于 S1 处理。由此可推测:外源褪黑素的施加有利于促进植物体内游离脯氨酸和可溶性糖的增加,增强细胞内渗透势能力,以达到提高植物抵抗逆境的能力。美味猕猴桃叶片中可溶性蛋白质质量分数变

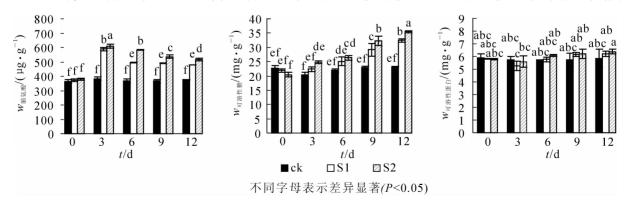


图 2 外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味猕猴桃游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质的影响 Figure 2 Effects of exogenous melatonin on proline, soluble sugar and soluble protein in kiwifruit under NaCl stress

化差异不明显。氯化钠胁迫后,ck 处理的质量分数变化不明显,而 S1 和 S2 的可溶性蛋白质呈先降低后升高的趋势,0~3 d 时降低,分别降低了 8.08%和 2.10%,随后开始逐渐上升。氯化钠胁迫 12 d 时,S1 处理和S2 处理可溶性蛋白质高于对照,分别为 6.22 mg·g⁻¹ 和 6.39 mg·g⁻¹。可见,外源褪黑素处理可以缓解盐胁迫下美味猕猴桃蛋白质的降解。

2.3 外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味猕猴桃叶片的抗氧化酶活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性的大小代表了清除细胞内活性氧能力的高低,是植物逆境条件下保护细胞的重要酶类。由图 3 可知: SOD 和 POD 活性的变化模式相似,均呈先升高再降低的趋势。氯化钠胁迫 0~6 d, S1 处理和 S2 处理的 SOD 和 POD 活性逐渐上升,S1 处理 SOD 活性上升 6.26%,S2 上升 6.88%;POD 活性则显著增加,分别增加 156.61%和 180.66%。6~12 d 时活性逐渐降低,12 d 时 SOD 活性低于 ck,POD 活性仍保持较高水平,且 S2 的 SOD 和 POD 活性均高于 S1。所以,可认为外源褪黑素激活了氯化钠胁迫下美味猕猴桃体内的 SOD 和 POD 活性,增强了植物体内活性氧的清除能力,有效稳定了膜质透性,增强了美味猕猴桃的抗盐性。

CAT 具有清除植物体内过氧化氢的作用,也是植物酶促防御系统的重要组分。在开始氯化钠浇灌处理的当天(0 d), ck, S1, S2 处理的美味猕猴桃实生苗叶片中 CAT 活性差异不显著。0~3 d, S1 处理和 S2 处理的 CAT 活性显著升高,分别增加了 92.08%和 164.36%。3~12 d, 植株体内 CAT 活性逐渐下降,且逐渐低于 0 d 的活性,分别降低 35.64%和 15.84%。由此可以推测:外源褪黑素激活了美味猕猴桃体内 CAT 活性,CAT 活性的增加提高了美味猕猴桃清除过氧化氢的能力,有效缓解了氯化钠胁迫诱导的膜脂过氧化,提高了美味猕猴桃的耐盐性。

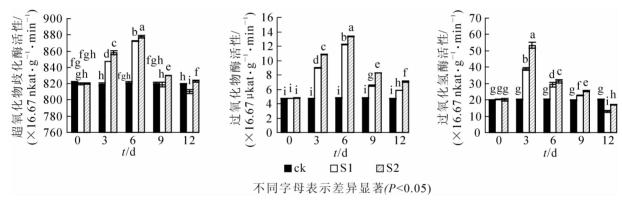


图 3 外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味猕猴桃 SOD, POD, CAT 活性的影响 Figure 3 Effects of exogenous melatonin on SOD, POD, CAT activity in kiwifruit under NaCl stress

2.4 外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味猕猴桃叶片非酶抗氧化剂的影响

由图 4 可知:与对照(ck)植株相比,在盐胁迫前 3 d, S1 处理和 S2 处理抗坏血酸(AsA)显著降低,而随着盐胁迫时间的增长,又开始逐渐上升,并维持较高水平,12 d 时达最大值,分别上升 56.58%和 90.49%。这表明:外源褪黑素可以有效增加美味猕猴桃体内的抗坏血酸,增强植物清除活性氧的能力,从而提高美味猕猴桃的耐盐性。

3 结论与讨论

盐胁迫是限制植物生长和作物产量的重要环境因素。盐胁迫对植物组织和器官的生长发育具有显著的影响^[18]。目前,关于褪黑素和植物耐盐性关系的研究还不多。本研究表明:外源褪黑素可有效缓解美味猕猴桃体内丙二醛(MDA)和过氧化氢的积累,增加体内脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质,增强SOD,POD,CAT活性,提高抗坏血酸。

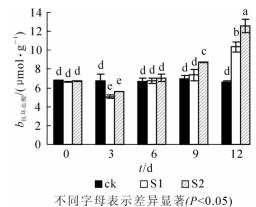


图 4 外源褪黑素对氯化钠胁迫下美味 猕猴桃抗坏血酸的影响

Figure 4 Effects of exogenous melatonin on AsA in kiwifruit under NaCl stress

游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质是植物体内的3个重要渗透调节物质,能够增加植物细胞在 高温、盐碱等逆境条件下的功能蛋白数量,保持细胞原生质体与环境之间的渗透平衡和结构完整性保护 膜系统稳定性,提高植物抵抗逆境的能力。脯氨酸能够提高细胞原生质的亲水性,具有减少可溶性蛋白 质沉淀或增加蛋白质可溶性的作用,增强植物组织细胞的持水性,防止植物细胞脱水,保护细胞质膜的 完整性[19]。植物在遭受逆境时,叶片可溶性蛋白质合成速率会发生变化,而可溶性蛋白质含量变化可以 反映蛋白质合成、变性和降解多方面信息。已有研究表明: 氯化钠胁迫会使番茄 Lycopersicon esculentum 幼苗[20]和狼尾草 Penniseturn alopecuroides[21]体内的脯氨酸显著上升,可溶性蛋白质下降,而外源褪 黑素的施加可以提高番茄幼苗和狼尾草体内的脯氨酸和可溶性糖。本研究表明: 氯化钠胁迫可导致美味 猕猴桃苗体内脯氨酸显著积累,并随着氯化钠胁迫时间延长一直保持较高水平,这是植物的自我保护机 制,而外源褪黑素预处理会进一步增加脯氨酸,说明褪黑素增强了这种保护机制。由此可以推测:外源 褪黑素预处理可有效地提高盐胁迫下美味猕猴桃的脯氨酸、维持较低的细胞渗透势、减少水分流失、从 而提高美味猕猴桃的耐盐性。氯化钠胁迫下,美味猕猴桃实生苗体内可溶性蛋白质先下降后上升,可能 是由于刚经受胁迫时,美味猕猴桃体内由于胁迫产生的活性氧破坏了蛋白质的稳定性或影响了蛋白质合 成的生理代谢途径,随后美味猕猴桃自我保护机制的启动使蛋白质发生回升,而褪黑素预处理可以减少 氯化钠胁迫下美味猕猴桃蛋白质的降解,猜测是由于褪黑素促进了美味猕猴桃实生苗体内热激蛋白质的 合成,保护了体内蛋白质免受破坏。可溶性糖也是重要的渗透调节物质,在植物遭受逆境时大量合成, 维持细胞内渗透势,保护膜系统稳定性,因此也具有重要作用。氯化钠胁迫会导致植物体内可溶性糖显 著增加[22-23]。本研究表明:美味猕猴桃实生苗体内可溶性糖在盐胁迫过程中显著增加,外源褪黑素的施 加可进一步显著提高可溶性糖。由此可推测、褪黑素通过提高可溶性糖、增强维持细胞内的渗透势、从 而达到提高美味猕猴桃抵抗逆境的能力。

活性氧(ROS)作为信号转导途径的第二信使参与植物生长和建成^[24]。正常情况下植物体内 ROS 的产生和消除处于动态平衡状态,这种平衡状态主要由抗氧化物酶和抗氧化物质调节。而当植物处于逆境条件时,体内的活性氧系统被打破,产生大量 ROS,导致负氧离子 (O_2^-) ,氢氧根 (OH^-) 等自由基的大量累积,自由基启动膜脂过氧化作用,膜透性增大,破坏膜结构的完整性,进而引起蛋白质变性,DNA损伤,碳水化合物的氧化、色素的降解以及酶活性受损,甚至细胞死亡^[25]。

本研究显示: 氯化钠胁迫条件下,美味猕猴桃实生苗叶片中丙二醛(MDA)和过氧化氢均显著上升,且随氯化钠盐胁迫时间延长,均维持较高水平。用外源褪黑素预处理可有效缓解美味猕猴桃体内丙二醛和过氧化氢的积累。这可能是由于外源褪黑素预处理有效地缓解了活性氧的产生速率,降低了活性氧对细胞膜的伤害^[26-27]。另外,褪黑素具有一定抗氧化能力和在细胞培养中被证明具有保护膜(细胞核和血浆膜)完整性的功能^[28-29]。

植物体内清除活性氧的重要保护酶是 SOD, POD 和 CAT, 能够有效地分解植物体内的活性氧自由基, 使植物免受伤害。本研究表明: SOD, POD 和 CAT 的活性随着氯化钠胁迫时间的延长呈先上升后下降的趋势, 而外源褪黑素预处理能够显著增加美味猕猴桃实生苗的 SOD, POD 和 CAT 活性, 提高美味猕猴桃实生苗清除活性氧的能力, 这与王丽英[31]研究褪黑素预处理对黄瓜 Cucumis sativus 幼苗 SOD, POD 和 CAT 活性影响的变化趋势一致。由此可以推测: 外源褪黑素可能作为抗氧化剂增强抗氧化物酶相关基因的表达来提高抗氧化酶活性, 从而增强清除细胞内活性氧的能力, 提高美味猕猴桃耐盐性。

除此以外,抗坏血酸(AsA)也是关键的非酶促抗氧化剂,除了参与抗坏血酸-谷胱甘肽循环外,也可直接清除负氧离子 (O_2^-) 和过氧化氢等活性氧 $[^{30}]$ 。本研究表明:外源褪黑素预处理显著提高了美味猕猴桃实生苗体内抗坏血酸,且随着氯化钠盐胁迫时间的延长,增长越显著。由此推测:外源褪黑素预处理可以有效提高美味猕猴桃实生苗体内抗坏血酸,增强清除活性氧能力,抑制脂质过氧化,从而提高美味猕猴桃耐盐性。综上所述,外源褪黑素预处理美味猕猴桃实生苗,能有效减弱氯化钠胁迫对其活性氧代谢和渗透调节物质的影响,提高美味猕猴桃的耐盐性。

4 参考文献

[1] 徐慧妮,王秀峰,孙旭东,等. 黄瓜种子萌发对 NO₃ 胁迫的响应及耐盐性评价[J]. 西北植物学报,2011,31

- (2): 325 331.
- XU Huini, WANG Xiufeng, SUN Xudong, *et al.* Response and stress tolerance evaluation of cucumber cultivars under NO₃⁻ stress [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2011, **31**(2): 325 331.
- [2] 周和平,张立新,禹锋,等.我国盐碱地改良技术综述及展望[J]. 现代农业科技,2007(11): 159 161. ZHOU Heping, ZHANG Lixin, YU Feng, et al. Review and prospect of saline-alkali improvement technology in China [J]. Mod Agric Sci Technol, 2007(11): 159 161.
- [3] 罗青红, 寇云玲, 史彦江, 等. 6 种杂交榛对新疆盐碱土的生理适应性研究[J]. 西北植物学报, 2013, 33 (9): 1867 1873.
 - LUO Qinghong, KOU Yunling, SHI Yanjiang, et al. Physiological characteristics of adaptability of six hybrid hazelnuts to saline-alkali land in Xinjiang [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2013, 33(9): 1867 1873.
- [4] 杨晓慧, 蒋卫杰, 魏珉, 等. 植物对盐胁迫的反应及其抗盐机理研究进展[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2006, **37**(2): 302 305.
 - YANG Xiaohui, JIANG Weijie, WEI Min, *et al.* Review on plant response and resistance mechanism to salt stess [J]. J Shandong Agric Univ Nat Sci, 2006, 37(2): 302 – 305.
- [5] 黄宏文. 猕猴桃研究进展[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [6] 靳娟,鲁晓燕,王依.果树耐盐性研究进展[J]. 园艺学报, 2014, **41**(9): 1761 1776.

 JIN Juan, LU Xiaoyan, WANG Yi. Advances in the studies on salt tolerance of fruit trees [J]. *Acta Hortic Sin*, 2014, **41**(9): 1761 1776.
- [7] LERNER A B, CASE J D, TAKAHASHI Y, et al. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes [J]. J Am Chem Soc, 1958, 80(10): 2587 2592.
- [8] 徐芳,周海鹏,郭早霞,等.植物褪黑素及其抗逆性研究[J].基因组学与应用生物学,2013,32(2):260-266.
 - XU Fang, ZHOU Haipeng, GUO Zaoxia, et al. The melatonin and its resistance to stress in plants [J]. Genom Appl Biol, 2013, 32(2): 260 266.
- [9] 张庆霞,魏海蓉,刘庆忠,等.果树种质资源耐盐性评价及耐盐突变研究现状[J].安徽农业科学,2012,40 (35):17050-17053.
 - ZHANG Qingxia, WEI Hairong, LIU Qingzhong, et al. Status of research on salt tolerance evaluation and salt tolerant mutant of fruit resources [J]. J Anhui Agric Sci, 2012, 40(35): 17050 17053.
- [10] 周立名,王飞,王佳.EMS 诱变处理定向筛选猕猴桃耐盐突变体研究[J]. 西北农业学报,2009, **18**(5):330 -335
 - ZHOU Liming, WANG Fei, WANG Jia. Selection of salt-tolerant mutants from ethyl methane sulfonate mutagenized kiwifruit embryonic calli [J]. *Acta Agric Boreal-Occident Sin*, 2009, **18**(5): 330 335.
- [11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000.
- [12] HODGES D M, DELONG J M, FORNEY C F, 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(4): 604 611.
- [13] 郝建军,康宗利,于洋.植物生理学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [14] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide dismutases (II) purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings [J]. *Plant Physiol*, 1977, **59**(2): 315 318.
- [15] KATO M, SHIMIZU S. Chlorophyll metabolism in higher plants (Ⅶ) chlorophyll degradation in senescing tobacco leaves, phenolic-dependent peroxidative degradation [J]. Can J Bot, 1987, 65(4): 729 − 735.
- [16] SCEBBA F, SEBASTIANI L, VITAGLIANO C. Activities of antioxidant enzymes during senescence of *Prunus armeniaca* leaves [J]. *Biol Plant*, 2001, **44**(1): 41 46.
- [17] KAMPFENKEL K, van MONTAGU M, INZÈ D. Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue [J]. *Anal Biochem*, 1995, **225**(1): 165 167.
- [18] 李会珍,张志军,刘培培,等.不同基因型紫苏耐盐性比较研究[J].西北植物学报,2011,31(2):338-344
 - LI Huizhen, ZHANG Zhijun, LIU Peipei, et al. Comparative study on salt tolerance of different genotypical perilla

- [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2011, 31(2): 338 344.
- [19] 孙军利. 外源水杨酸对高温胁迫下葡萄幼苗生理特性的影响及诱导的蛋白激酶性质研究[D]. 石河子: 石河子 大学, 2015.
 - SUN Junli. Study of Exogenous Salicylic Acid on Physiological Characteristics and the Nature of Protein Kinase of Grape Young Plants Under High Temperature Stress [D]. Shihezi: Shihezi University, 2015.
- [20] 杜天浩. 外源褪黑素对氯化钠胁迫下番茄幼苗生理代谢和产量及品质的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
 - DU Tianhao. Effects of Exogenous Melatonin on Tomato Seeldings Physiology and Friut Yield and Quality Under Na-Cl Stress [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2016.
- [21] 张娜, 蒋庆, 李殿波, 等. 外源施加褪黑素对氯化钠胁迫下狼尾草种子萌发及相关生理指标的影响[J]. 中国农业大学学报, 2014, **19**(4): 54 60.
 - ZHANG Na, JIANG Qing, LI Dianbo, et al. Effect of exogenous melatonin on germination of *Penniseturn alopecuroides* under NaCl stress [J]. *J Chin Agric Univ*, 2014, **19**(4): 54 60.
- [22] 韩志平,郭世荣,尤秀娜,等. 盐胁迫对西瓜幼苗活性氧代谢和渗透调节物质含量的影响[J]. 西北植物学报,2010,30(11);2210-2218.
 - HAN Zhiping, GUO Shirong, YOU Xiuna, et al. Metabolism of reactive oxygen species and contents of osmotic substances in watermelon seedlings under salinity stress [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2010, 30(11): 2210 2218.
- [23] 李娜, 陈红, 裴孝伯. 外源亚精胺对盐胁迫下黄瓜幼苗耐盐性的影响[J]. 热带作物学报, 2013, **34**(7): 1359 1364.
 - LI Na, CHEN Hong, PEI Xiaobo. Effects of extraneous spermidine on the salt tolerance in cucumber seedlings under salt stress [J]. Chin J Trop Crops, 2013, **34**(7): 1359 1364.
- [24] BAXTER A, MITTLER R, SUZUKI N. ROS as key players in plant stress signalling [J]. J Exp Bot, 2014, 65(5): 1229 1240.
- [25] ZHU Jiankang. Salt and drought stress signal transduction in plants [J]. Annu Rev Plant Biol, 2002, 53: 247 273.
- [26] TAN Dunxian, MANCHESTER L C, REITER R J, et al. Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation [J]. Free Rad Biol Med, 2001, 29(11): 1177 1185.
- [27] LI Chao, WANG Ping, WEI Zhiwei, et al. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in Malus hupehensis [J]. J Pineal Res, 2012, 53(3): 298 306.
- [28] GARCIA J J, REITER R J, GUERRERO J M, et al. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation [J]. FEBS Lett, 1997, 408(3): 297 300.
- [29] LEI Xiaoyong, ZHU Ruiyu, ZHANG Guiyou, *et al.* Attenuation of cold-induced apoptosis by exogenous melatonin in carrot suspension cells: the possible involvement of polyamines [J]. *J Pineal Res*, 2004, **36**(2): 126 131.
- [30] 樊怀福,李娟,郭世荣,等. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗生长和根系谷胱甘肽抗氧化酶系统的影响[J]. 西北植物学报,2007, 27(8): 1611 1618.

 FAN Huaifu, LI Juan, GUO Shirong, et al. Effects of exogenous nitric oxide on growth and giutathione dependent antioxidative system in cucumber seedling roots under NaCl stress [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2007, 27(8):
- 1611 1618.

 [31] 王丽英. 褪黑素预处理对黄瓜幼苗耐盐性的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.

 WANG Liying. Effects of Melatonin Pretreatment on Salt Tolerances of Cucumber Seedlings [D]. Yangling: North-

west A&F University, 2014.