



低温胁迫下褪黑素对大豆种子萌发的影响

于奇, 曹亮, 金喜军, 邹京南, 王孟雪, 张明聪, 任春元, 张玉先

(黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要:为研究低温胁迫下褪黑素对大豆萌发的影响,促进褪黑素在实际生产中的应用,以绥农26为供试品种,大豆种子分别在常温(25°C)下萌发24 h(T_{24})和48 h(T_{48})后转移至 4°C 低温胁迫处理24 h,而后转移至常温继续发芽至7 d结束,研究不同浓度褪黑素浸种处理($0, 50, 100, 200, 400 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对大豆种子萌发的影响。结果表明:与未用褪黑素浸种相比,200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 褪黑素浸种处理可显著提高 T_{24} 条件下第3天和第4天大豆发芽率,提高幅度分别为42%和29%,而在 T_{48} 条件下则表现为100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理显著提高了第4天和第5天大豆发芽率,提高幅度分别为20%和39%;100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理可显著提高 T_{24} 和 T_{48} 条件下发芽指数和芽鲜重,提高幅度分别为24.6%和29.6%,24.7%和37%;200和400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理可显著提高 T_{24} 和 T_{48} 条件下大豆芽SOD活性,提高幅度分别为281%和304%,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理可显著提高 T_{24} 和 T_{48} 条件下CAT、POD、APX活性、脯氨酸和可溶性蛋白含量,提高幅度分别为86%和700%,138%和96%,500%和200%,184%和230%,70%和32%;可溶性糖含量在 T_{24} 和 T_{48} 条件下表现为200和400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理最高,而MDA含量则表现为100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低幅度最大。综合发芽率、芽形态和生理相关指标分析认为,褪黑素浓度 $100\sim200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 效果最显著。

关键词:低温;大豆;褪黑素;浸种;萌发

Effects of Melatonin on Seed Germination of Soybean under Low temperature Stress

YU Qi, CAO Liang, JIN Xi-jun, ZOU Jing-nan, WANG Meng-xue, ZHANG Ming-cong, REN Chun-yuan, ZHANG Yu-xian

(Agronomy College of Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: To study the effect of melatonin on soybean germination under low temperature stress, and promoted the application of melatonin in actual production, in this study, Suinong 26 was used as the test variety. Soybean seeds were germinated at room temperature (25°C) for 24 h (T_{24}) and 48 h (T_{48}), then transferred to 4°C for 24 h, then transferred to room temperature to continued germination. At the end of 7 d, the effects of different concentrations of melatonin soaked treatment ($0, 50, 100, 200, 400 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on the germination of soybean seeds were studied. The results showed that 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ melatonin soaked treatment significantly increased soybean germination rate compared with melatonin soaking on the third and fourth days under T_{24} conditions, with an increase of 42% and 29%, respectively. While under the condition of T_{48} , the performance of 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ significantly increased the germination rate of soybeans on the 4th and 5th day, respectively, with an increase of 20% and 39%. 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ treatment significantly increased the germination index and bud fresh weight under the conditions of T_{24} and T_{48} , the increase rate was 24.6% and 29.6%, 24.7% and 37% respectively. The treatment of 200 and 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ could significantly improve soybean bud SOD activity under T_{24} and T_{48} conditions increased by 281% and 304%, respectively. Treatment with 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ significantly increased CAT, POD, APX activity, proline and soluble protein content under T_{24} and T_{48} conditions, increased by 86% and 700%, 138% and 96%, 500% and 200%, 184% and 230%, 70% and 32%, respectively. Soluble sugars content showed the highest treatment at 200 and 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ under T_{24} and T_{48} conditions, while the MDA content showed the largest decrease at 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. According to the analysis of comprehensive germination rate, bud morphology and physiological correlation index, the melatonin concentration of $100\sim200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ was the most significant.

Keywords: Low temperature; Soybean; Melatonin; Soaking seeds; Germination

收稿日期:2018-09-20

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0201000);国家现代农业产业技术体系(CARS-04-01A);黑龙江省自然科学基金(C2017049);黑龙江省农垦总局重点科研计划(HNK135-02-06)。

第一作者简介:于奇(1994-),女,硕士,主要从事大豆逆境栽培生理研究。E-mail:1107139112@qq.com。

通讯作者:张玉先(1968-),男,教授,博导,主要从事大豆逆境栽培生理和轮作体系研究。E-mail:zyx_lxy@126.com。

黑龙江省春季温度波动较大,农作物易遭受低温胁迫的伤害^[1]。而大豆属喜温作物,低温胁迫严重限制其生长发育与产量形成^[2]。种子萌发作为植物生命周期的起始,对植物生长发育起着至关重要的作用^[3]。在特定的环境条件下种子萌发是确定植物能否成活的关键,萌发过程不仅与种子自身萌发特性有关,也受温度、水分等外界环境条件的影响^[4-5]。大豆种子萌发过程伴随旺盛的新陈代谢活动,在这一系列物质和能量转化过程中会有 ROS 的产生,低浓度的 ROS 可作为信号分子调控种子的萌发^[6]。低温胁迫会打破萌发作物种子中 ROS 平衡,导致其大量积累,使正常的生理代谢遭到破坏,引起膜脂过氧化,MDA 积累,最终导致细胞损伤甚至死亡^[7-8]。继而造成发芽率显著降低,影响苗期及以后各时期大豆的生长发育。为应对低温胁迫对种子萌发造成的不利影响,萌发种子中抗氧化酶活性和渗透调节物质的含量均会提高,但随着时间的延长,抗氧化和渗透调节能力会逐渐下降^[9-10]。目前有关植物生长调节剂在提高植物低温条件下耐受性的研究较多。褪黑激素(N-乙酰-5-甲氧基色胺)是一类重要的吲哚类化合物,广泛存在于动植物体内,与 IAA 有着相同的合成前体,能够调节植物生长^[11]。研究表明褪黑素能够使植物冷适应相关的基因表达量上升,提高低温胁迫下抗氧化酶的活性,使活性氧自由基能够被迅速清除,增强植物对于低温的忍耐能力^[12-13]。适宜的褪黑素浓度能够提高低温胁迫下种子的发芽率和渗透调节物质的含量,并能降低 MDA 含量以缓解对膜系统的损伤。

目前为止有关褪黑素对低温大豆种子萌发的影响还鲜有报道,本试验以绥农 26 为研究材料,设置 5 个褪黑素浓度在常温培养 24 和 48 h 后进行低温处理,观察大豆种子不同萌发时间遭遇低温胁迫其萌发活力以及相关抗氧化酶活性,MDA 和渗透调节物质含量的变化。旨在研究低温胁迫条件下褪黑素对大豆种子萌发的影响,为提高大豆耐低温能力提供科学的方法和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种为绥农 26,由黑龙江省农业科学院提供;褪黑素(分析纯),购自 Sigma 公司(美国)。

1.2 试验设计

试验于 2017 年 10 月在国家杂粮技术研究中心试验基地进行。首先选取健康饱满,均匀一致的大豆种子在 5% 的次氯酸钠溶液中消毒 10 min,用蒸馏水反复冲洗 5 次,放置阴凉通风处阴干至种子原

始含水量,再用 0, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的褪黑素溶液浸种 8 h 后放置阴凉通风处阴干至种子原始含水量。在直径为 9 cm 的玻璃培养皿中垫 2 层无菌滤纸并加 5 mL 的蒸馏水后放入 9 粒种子。每个处理 3 次重复。在培养箱中常温 25°C 下分别发芽 24 h(T_{24})和 48 h(T_{48})后进行低温 4°C 处理 24 h,之后转回常温 25°C 培养至第 7 天试验结束,培养箱光照强度为 56 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 相对湿度控制在 70% ~ 80%。 T_{24} 条件下用不同浓度的褪黑素溶液进行浸种,处理分别为 $T_{24}-0$ 、 $T_{24}-50$ 、 $T_{24}-100$ 、 $T_{24}-200$ 、 $T_{24}-400$, T_{48} 条件下的各处理分别为 $T_{48}-0$ 、 $T_{48}-50$ 、 $T_{48}-100$ 、 $T_{48}-200$ 、 $T_{48}-400$ 。发芽标准为种皮裂开,胚根突破种皮 1 ~ 2 mm。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 种子发芽率、发芽指数、芽长和种子鲜重发芽后第 3,4,5 天测定发芽率,第 7 天测芽长和芽鲜重。

发芽率(%) = (第 t 天正常发芽的种子数/供试种子总数) × 100;

发芽指数: $GI = \Sigma(Gt/Dt)$ 。其中, Dt 为发芽日数, Gt 是在 t 日内的发芽数^[14]。

1.3.2 抗氧化酶活性测定指标 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(CAT)、过氧化氢酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)参照李合生^[15]方法测定,每个处理 3 次重复。

1.3.3 渗透调节物质含量和丙二醛含量测定 可溶性蛋白的测定参照考马斯亮蓝法^[16];可溶性糖含量的测定参照蒽酮比色法^[17];丙二醛含量的测定参照硫代巴比妥酸(TBA)法^[18];脯氨酸含量的测定参照碘基水杨酸浸提法^[19]。

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 17.0 进行制图和数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 对大豆种子发芽率的影响

由表 1 可知,各处理中褪黑素浸种处理的发芽率均高于未用褪黑素浸泡的处理,且均随褪黑素浓度升高呈现先上升后下降趋势。 T_{24} 条件下第 3 天和第 4 天种子发芽率增幅最大的处理是 $T_{24}-200$, 增幅分别为 42% 和 29%; 第 5 天种子发芽率增幅最大的处理是 $T_{24}-100$, 增幅为 20%。 T_{48} 条件下发芽第 3 天,发芽率增幅最大处理为 $T_{48}-200$, 增幅为 46%; 第 4 天和第 5 天发芽率增幅最大的处理为 $T_{48}-100$, 增幅分别为 20% 和 39%。同等褪黑素浓度处理 T_{48} 条件下的发芽率均高于 T_{24} , 可能由于大豆种子发芽 48 h 后对低温的抵抗能力增强。

表 1 低温胁迫下褪黑素对大豆种子发芽率的影响

Table 1 Effect of melatonin on the germination rate of soybean seeds under low temperature stress

处理 Treatment	发芽率 Germination rate /%		
	第3天 Third day	第4天 Fourth day	第5天 Fifth day
T ₂₄ -0	19.32 ± 1.2 cd	42.55 ± 0.29 b	64.58 ± 5.9 b
T ₂₄ -50	21.06 ± 1.97 c	48.61 ± 0.35 ab	66.67 ± 0.32 b
T ₂₄ -100	27.06 ± 1.15 a	52.42 ± 0.34 a	77.69 ± 0.41 a
T ₂₄ -200	27.38 ± 1.64 a	54.68 ± 0.31 a	73.32 ± 0.46 a
T ₂₄ -400	23.38 ± 1.63 b	48.86 ± 0.29 ab	65.35 ± 0.38 b
T ₄₈ -0	41.67 ± 2.53 c	62.67 ± 5.61 b	69.98 ± 0.50 b
T ₄₈ -50	50.34 ± 2.13 b	64.58 ± 3.55 b	90.65 ± 0.62 a
T ₄₈ -100	56.73 ± 2.84 ab	75.48 ± 0.49 a	96.98 ± 0.56 a
T ₄₈ -200	60.88 ± 4.26 a	73.60 ± 0.43 a	90.44 ± 0.48 a
T ₄₈ -400	50.87 ± 2.54 b	69.49 ± 0.39 ab	79.93 ± 0.42 b

同列不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

Different lowercase in the same column indicate there is significant difference between treatments ($P < 0.05$). The same below.

2.2 对大豆种子芽长、发芽指数和芽鲜重的影响

由表2可知,同浓度褪黑素T₄₈条件下的芽长、发芽指数和芽鲜重均高于T₂₄。T₂₄和T₄₈条件下的芽长分别与对照相比无明显差异,而发芽指数和芽鲜重随褪黑素浓度的增加呈现先上升后下降的趋势,分别在T₂₄-100和T₄₈-100处理下效果最好,增幅

分别为24.6%和29.6%,24.7%和37%。T₂₄-400处理的芽长,发芽指数和芽鲜重均低于T₂₄-0处理,而T₄₈中褪黑素处理均高于T₄₈-0处理。说明褪黑素浸种对常温48 h后低温的发芽指数,芽长和芽鲜重调控效果更好。

表 2 低温胁迫下褪黑素对大豆种子发芽指数、芽长和芽鲜重的影响

Table 2 Effects of melatonin on germination index, bud length and bud fresh weight of soybean seeds under low temperature stress

处理 Treatment	芽长 Bud length /cm	发芽指数 GI	鲜重 Fresh weight /g
T ₂₄ -0	10.02 ± 0.65 b	5.35 ± 0.33 b	1.92 ± 0.11 c
T ₂₄ -50	10.30 ± 0.63 b	5.54 ± 0.35 b	2.48 ± 0.12 b
T ₂₄ -100	11.20 ± 0.72 a	6.67 ± 0.41 a	2.73 ± 0.13 a
T ₂₄ -200	10.45 ± 0.53 ab	6.40 ± 0.48 a	2.07 ± 0.87 c
T ₂₄ -400	10.02 ± 0.57 b	5.35 ± 0.40 b	1.82 ± 0.10 cd
T ₄₈ -0	10.17 ± 0.53 ab	7.00 ± 0.46 b	2.04 ± 0.14 c
T ₄₈ -50	10.46 ± 0.58 a	7.81 ± 0.33 ab	2.86 ± 0.17 b
T ₄₈ -100	10.72 ± 0.69 a	8.73 ± 0.45 a	3.24 ± 0.23 a
T ₄₈ -200	10.67 ± 0.77 a	8.31 ± 0.40 ab	3.22 ± 0.18 a
T ₄₈ -400	10.33 ± 0.66 a	7.90 ± 0.38 ab	2.16 ± 0.13 c

2.3 对抗氧化物酶活性的影响

如图1所示,褪黑素处理下的抗氧化酶活性均高于未用褪黑素浸种处理。同浓度褪黑素处理T₂₄条件下APX活性高于T₄₈,SOD、POD、CAT活性均低于T₄₈。T₂₄条件下SOD、CAT、POD、APX活性均随褪黑素浓度的增加,呈现先增加后下降的趋势。T₄₈条件下CAT、POD、APX活性均随褪黑素浓度的增加,

呈现先增加后下降的趋势,而SOD活性呈现直线上升趋势。T₂₄-100和T₄₈-100处理CAT、POD、APX活性最高,增幅分别为86%和700%,138%和96%,500%和200%。而T₂₄条件下SOD活性在T₂₄-200处理时最高,T₄₈条件下T₄₈-400处理时最高,增幅分别为281%和304%。

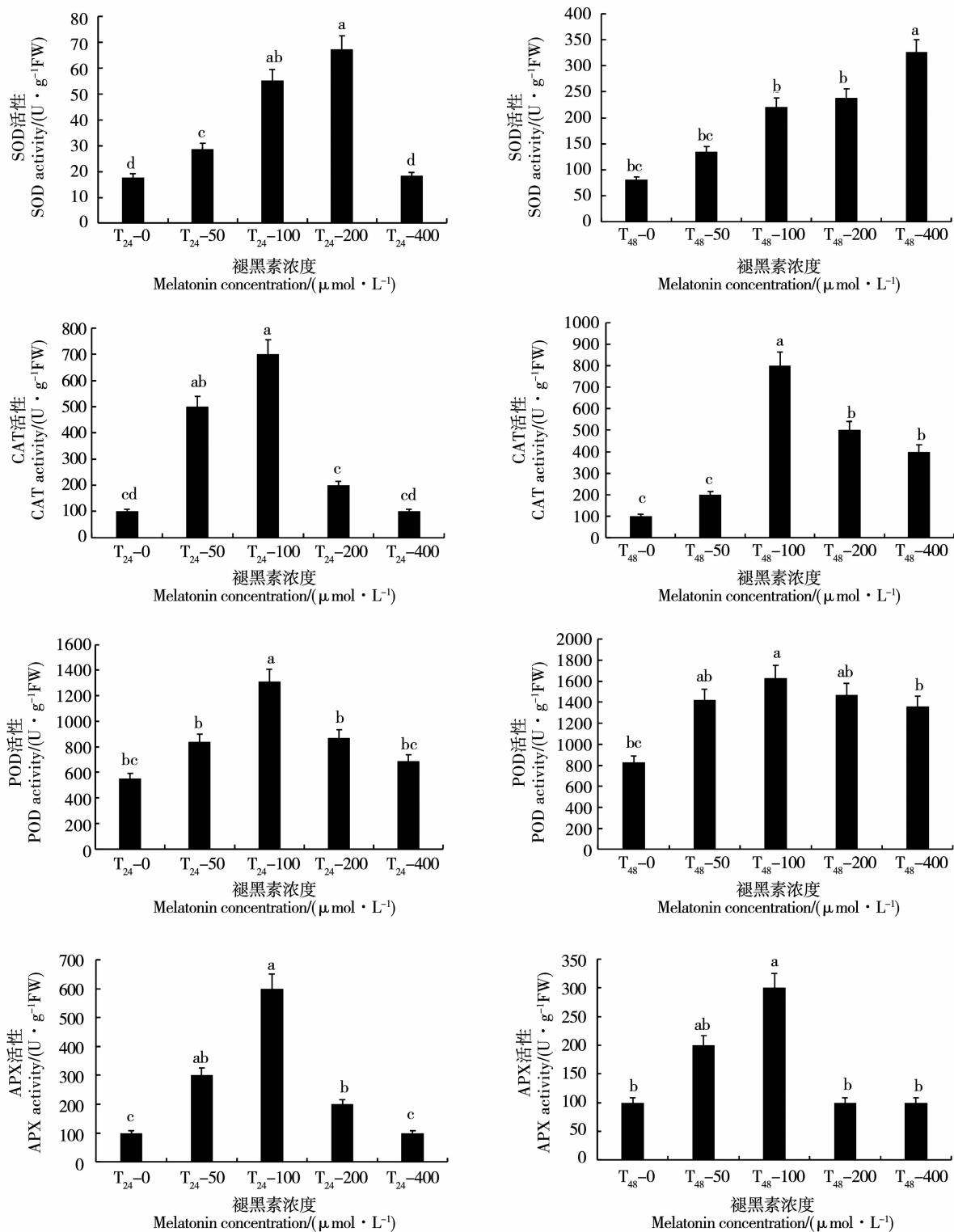


图 1 低温胁迫下褪黑素对抗氧化物酶活性的影响

Fig. 1 Effect of melatonin on superoxide dismutase under low temperature stress

2.4 对膜脂过氧化和渗透调节物质的影响

如图2所示,褪黑素处理的MDA含量均低于未用褪黑素浸种处理。同浓度褪黑素处理T₄₈条件下MDA含量均高于T₂₄,T₂₄和T₄₈处理中随褪黑素浓度升高MDA含量均呈现先下降后上升趋势,T₂₄-100和T₄₈-100降幅最大,分别降低了70%和49%。T₂₄

和T₄₈条件下脯氨酸含量随着褪黑素浓度的增加,呈现先增加后下降的趋势,T₂₄-100和T₄₈-100增幅最大,分别增加184%和230%。

同浓度褪黑素处理T₄₈条件下的可溶性糖含量均高于T₂₄,可溶性蛋白含量却均低于T₂₄。与T₂₄-0相比T₂₄-200处理下可溶性糖含量最高,提高了

137%。T₄₈-400 处理在 T₄₈ 条件下可溶性糖含量增幅最大, 提高了 116%。在 T₂₄ 和 T₄₈ 条件下可溶性蛋白的含量均呈现先增加后下降的趋势, 在 T₂₄-100

和 T₄₈-100 处理时可溶性蛋白的含量最高, 较 T₂₄-0 和 T₄₈-0 的增幅分别为 70% 和 32%。

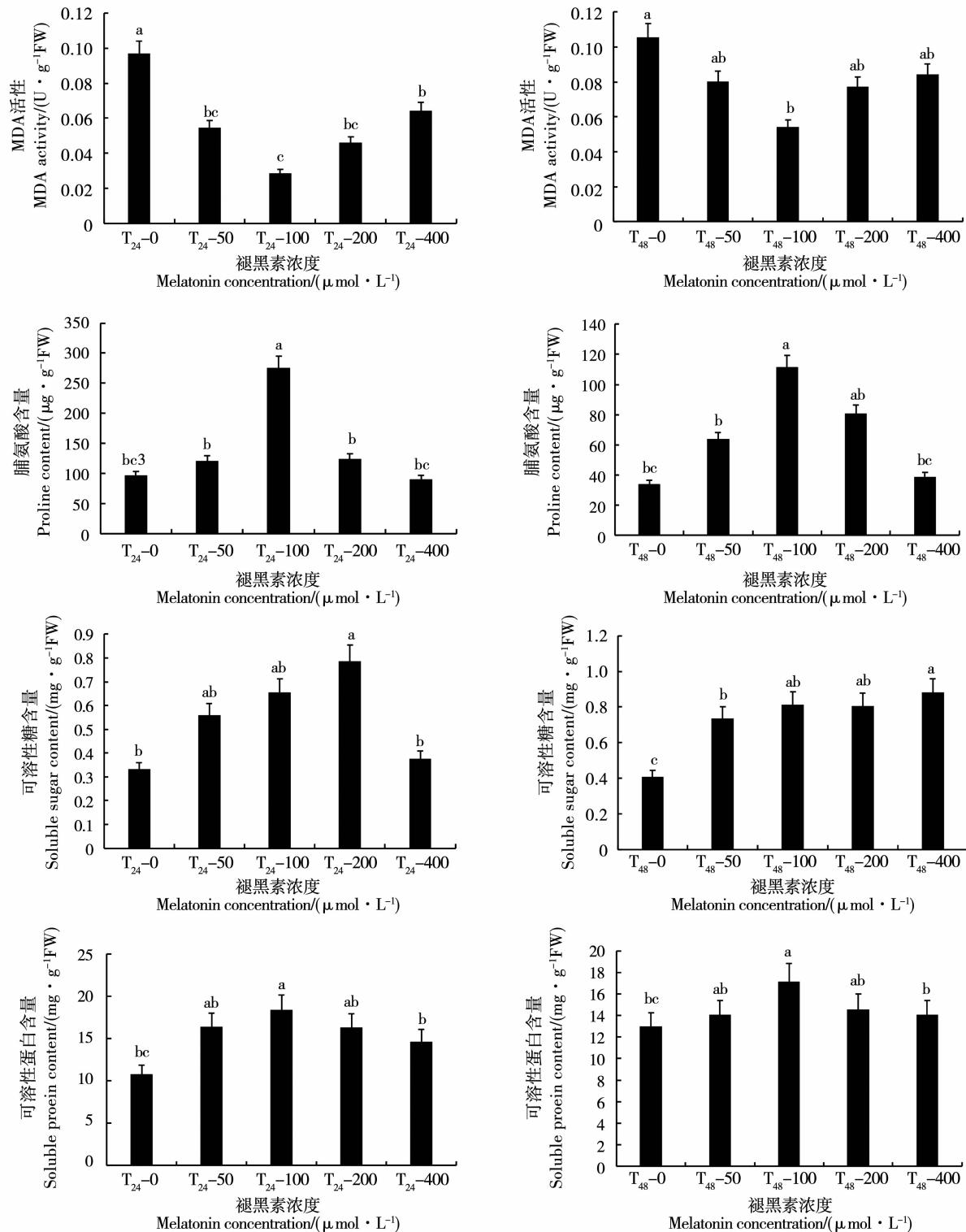


图 2 低温胁迫下褪黑素对膜脂过氧化和渗透调节物质的影响

Fig. 2 Effects of melatonin on membrane lipid peroxidation and osmotic adjustment substances under low temperature stress

3 讨论

低温胁迫会抑制种子萌发, 降低种子的发芽

势、发芽率、发芽指数、活力指数、推迟或延长种子萌发时间^[20-21]。褪黑素作为一种植物生长调节剂, 可以提高低温胁迫条件下种子的发芽率并促进种

子萌发^[22]。本研究结果表明,在低温胁迫条件下,褪黑素处理显著提高了大豆种子的发芽率、发芽指数和芽鲜重,在褪黑激素浓度为 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时提高效果最显著。

低温胁迫能够引起细胞氧化损伤,外源褪黑素通过提高抗氧化酶活性,有效缓解低温胁迫带来的氧化伤害,从而增强植物的抗逆能力^[23-24]。本研究结果表明,在低温胁迫条件下随着褪黑激素浓度的增加,SOD、POD、CAT 和 APX 活性呈现先上升后下降的趋势。综合来说在褪黑素浓度为 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时增幅效果最显著,说明褪黑素虽能缓解低温胁迫对大豆种子的伤害,但浓度过高和过低效果均不显著,浓度过高甚至会产生一定的抑制作用。 T_{48} 处理较同浓度褪黑素 T_{24} 条件下,除 APX 外,SOD、POD 和 CAT 活性更高,说明发芽 48 h 后低温处理下抗氧化酶活性较发芽 24 h 后低温处理高。

MDA 是膜脂过氧化的产物,其含量的变化可衡量细胞膜损伤程度^[25]。在低温胁迫条件下,外源施加褪黑素会显著降低 MDA 含量,缓解低温胁迫对细胞膜结构的损伤^[26]。本研究结果表明,在不同褪黑素浓度的低温胁迫处理下,MDA 含量呈现先下降后上升的趋势,在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 褪黑素浓度时 MDA 含量最低。脯氨酸和可溶性糖作为渗透调节物质,通过提高细胞液的浓度降低细胞质的冰点,提高作物对低温的抵御能力^[27]。而可溶性蛋白大多数是各种酶类,它们会参与各种代谢活动,其含量的高低能够衡量植物体对逆境适应能力^[28]。本研究表明,低温胁迫下褪黑素浸种处理脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白的含量均高于未用褪黑素浸种的处理,且各物质含量随褪黑素浓度的升高大致呈现先增加后下降的趋势,但变化幅度不同,综合来看在褪黑素浓度 $100 \sim 200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时增加幅度最显著。在同浓度褪黑素处理下可溶性蛋白和脯氨酸含量在 T_{48} 条件下均较 T_{24} 条件下高,可能褪黑素浸种更有利提高 T_{48} 条件下渗透调节物质含量。

4 结 论

综上所述,适宜的褪黑素浓度能促进低温胁迫下大豆种子萌发生长,提高 SOD、POD、CAT、APX 的活性;缓解氧化损伤,降低 MDA 含量,调节膜脂过氧化程度;并提高渗透调节物质(脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖)含量的积累,调控细胞渗透平衡,从而增强大豆种子耐低温的能力。在低温胁迫条件下褪黑素浸种后,萌发 48 h 条件下发芽率、芽长、抗氧化酶活性、MDA 和可溶性糖含量均较 24 h 条件下高,脯氨酸和可溶性蛋白含量则均较萌发条件下

低。综合来说,褪黑素浸种对发芽 48 h 后低温的调控效果更好。在低温条件下,褪黑素浓度在 $100 \sim 200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时效果最为显著,可显著提高大豆种子萌发能力。

参考文献

- [1] 佟玉欣, 常本超, 李玉影, 等. 低温冷害致灾机理研究进展及东北抗冷害防控策略[J]. 黑龙江农业科学, 2016(7): 138-142. (Dong Y X, Chang B C, Li Y Y, et al. Research progress on the mechanism of low temperature chilling damage and the strategy of preventing and controlling cold damage in northeast China [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2016(7): 138-142.)
- [2] 桑树鹏. 大豆不同生育期内应对低温冷害措施的研究[J]. 大豆科技, 2013(1): 53-54. (Sang S P. Study on the measures of coping with low temperature and cold damage in different growth stages of soybean [J]. Soybean Technology, 2013(1): 53-54.)
- [3] 李振华, 王建华. 种子活力与萌发的生理与分子机制研究进展[J]. 中国农业科学, 2015, 48(4): 646-660. (Li Z H, Wang J H. Advances in research of physiological and molecular mechanism in seed vigor and germination [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(4): 646-660.)
- [4] 莫金钢, 马建, 张丽辉, 等. 干旱胁迫对大豆种子萌发的影响[J]. 大豆科学, 2014, 33(5): 701-704. (Mo J G, Ma J, Zhang L H, et al. Effect of drought stress on germination of soybean [J]. Soybean Science, 2014, 33(5): 701-704.)
- [5] 宋江峰. 低温与精胺对菜用大豆贮藏品质的影响及代谢组学研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014. (Song J F. Effects of low temperature and spermine on storage quality of vegetable soybean and metabolomics study [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.)
- [6] 陈思羽, 刘鹏, 朱末, 等. 大豆植株不同冠层种子活力及其萌发中抗氧化酶活性[J]. 植物学报, 2016, 51(1): 24-30. (Chen S Y, Liu P, Zhu M, et al. Seed vigor and antioxidant enzyme activities during germination in different canopies of soybean [J]. Plant Journal, 2016, 51(1): 24-30.)
- [7] 胡俊杰, 张吉文, 胡齐赞, 等. 低温胁迫对菜用大豆生长、叶片活性氧及多胺代谢的影响[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(6): 1113-1118. (Hu J J, Zhang G W, Hu Q Z, et al. Effects of chilling stress on growth, metabolism of reactive oxygen species and polyamines in vegetable soybean seedlings [J]. Zhejiang Agricultural Journal, 2011, 23(6): 1113-1118.)
- [8] 宰学明, 吴国荣. 低温预处理对大豆萌芽活力及其活性氧代谢的影响[J]. 大豆科学, 2001, 20(3): 163-166. (Zai X M, Wu G R. The effects of prechilling on vigour index and active oxygen metabolism of soybean seeds [J]. Soybean Science, 2001, 20(3): 163-166.)
- [9] 陈立君, 郭强, 刘迎雪, 等. 不同温度对大豆种子萌发影响的研究[J]. 中国农学通报, 2009, 25(10): 140-142. (Chen L J, Guo Q, Liu Y X, et al. Study on the effect of difference temperature to soybean seed germination [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(10): 140-142.)
- [10] 张大伟, 杜翔宇, 刘春燕, 等. 低温胁迫对大豆萌发期生理指标的影响[J]. 大豆科学, 2010, 29(2): 228-232. (Zhang D

- W, Du X Y, Liu C Y, et al. Effect of low temperature stress on physiological indices of soybean at germination stage [J]. Soybean Science, 2010, 29(2): 228-232.)
- [11] 张贵友, 刘伟华, 戴尧仁. 植物中的褪黑激素及其功能 [J]. 中草药, 2003, 34(1): 87-89. (Zhang G Y, Liu W H, Dai Y R. Presence and possible function of melatonin in plants [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2003, 34(1): 87-89.)
- [12] 左佳琦, 谢佳恒, 薛宇轩, 等. 褪黑素对缓解植物逆境胁迫作用的研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2014(3): 709-715. (Zuo J Q, Xie J H, Xue Y X, et al. Progress research of melatonin in plant: A multifunctional response to various stress [J]. Genomics and Applied Biology, 2014(3): 709-715.)
- [13] 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, 2012, 54(1): 15-23.
- [14] 赵振宁, 赵宝勰. 不同大豆品种在萌发期对干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价 [J]. 干旱地区农业研究, 2018, 36(2): 131-136. (Zhao Z Y, Zhao B X. Physiological response and drought resistance evaluation of different soybean varieties to drought stress at germination stage [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2018, 36(2): 131-136.)
- [15] 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. (Li H S. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.)
- [16] 邹琦. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. (Zou Q. Plant physiology experiment guide [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000.)
- [17] 高俊凤. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. (Gao J F. Experimental guidance of plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.)
- [18] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999. (Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences. Modern plant physiology experiment guide [M]. Beijing: Science Press, 1999.)
- [19] 王晶英, 敖红, 张杰, 等. 植物生理生化实验技术与原理 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003. (Wang J Y, Ao H, Zhang J, et al. Plant physiology and biochemistry experiment technology and principle [M]. Harbin: Northeast Forestry University Press, 2003.)
- [20] 李育军, 常汝镇, 赵玉田, 等. 大豆抗冷性研究--Ⅱ、萌发期低温处理对生长发育的影响 [J]. 中国油料作物学报, 1989(4): 41-43. (Li Y J, Chang R Z, Zhao Y T, et al. Soybean cold resistance research--Ⅱ, effect of low temperature treatment on growth and development during germination [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 1989(4): 41-43.)
- [21] 秦文斌, 山溪, 张振超, 等. 低温胁迫对甘蓝幼苗抗逆生理指标的影响 [J]. 核农学报, 2018, 32(3): 576-581. (Qin W B, Shan X, Zhang Z C, et al. Effects of low temperature stress on stress resistant physiological indexes of cabbage seedlings [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(3): 576-581.)
- [22] Tan D X, Manchester L C, Reiter R J, et al. Significance of melatonin in antioxidative defense system: Reactions and products [J]. Biological Signals and Receptor, 2000, 9(3-4): 137-159.
- [23] 赵静, 梁建生, 吴雪玲, 等. 高盐低温胁迫下水稻叶细胞 ROS 清除系统的相关基因表达 [J]. 西北植物学报, 2015, 35(5): 872-883. (Zhao J, Liang J S, Wu X L, et al. Expression profiling of rice ROS scavenging system related genes under salt or low temperature stress [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica, 2015, 35(5): 872-883.)
- [24] Zhang N, Sun Q, Zhang H, et al. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(3): 647.
- [25] 潘红艳. 蓼蓝多倍体诱导及外源褪黑素对低温胁迫下蓼蓝抗氧化性的影响 [D]. 西安: 西北大学, 2013. (Pan H Y. Polyploid induction and effects of exogenous melatonin on antioxidation of *Isatis indigotica* fort under low temperature stress [D]. Xi'an: Northwest University, 2013.)
- [26] 姜丽娜, 张黛静, 宋飞, 等. 不同品种小麦叶片对拔节期低温的生理响应及抗寒性评价 [J]. 生态学报, 2014, 34(15): 4251-4261. (Jiang L N, Zhang D J, Song F, et al. Physiological response and cold resistance evaluation of different varieties of wheat leaves to jointing low temperature [J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(15): 4251-4261.)
- [27] 翁伯琦, 江福英, 方金梅, 等. 低温胁迫对豆科牧草圆叶决明苗期植株C、N代谢的影响 [J]. 草业学报, 2006, 15(6): 64-69. (Weng B Q, Jiang F Y, Fang J M, et al. Effect of chilling stress on carbon and nitrogen metabolism of leguminous *Cassia rotundifolia* seedlings [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2006, 15(6): 64-69.)
- [28] 程军勇, 郑京津, 窦坦祥, 等. 植物抗寒生理特性综述 [J]. 湖北林业科技, 2017, 46(5): 16-20. (Cheng J Y, Zheng J J, Dou T X, et al. Summary of physiological characteristics of plant cold resistance [J]. Hubei Forestry Science and Technology, 2017, 46(5): 16-20.)