

亚精胺浸种对渗透胁迫下白三叶种子萌发及淀粉代谢的影响

潘明洪, 李州, 彭丹丹, 彭燕*

四川农业大学动物科技学院, 四川雅安625014

摘要: 以‘拉丁诺’白三叶为材料, 用0%、10%、15%、20% (W/V)的聚乙二醇(PEG-6000)溶液模拟干旱条件, 研究亚精胺(Spd)浸种对渗透胁迫下白三叶种子萌发和淀粉代谢的影响。结果表明, 在PEG渗透胁迫下, 白三叶种子的发芽率、发芽势、发芽指数、胚芽及胚根鲜重和胚根长度均显著($P<0.05$)降低, 淀粉水解为糖类的速率减慢; 与蒸馏水浸种相比, 0.05 mmol·L⁻¹ Spd浸种处理显著($P<0.05$)提高了在渗透胁迫条件下种子的发芽率、发芽势、发芽指数、胚芽及胚根鲜重、干重和胚根长度, 同时大幅提高了 α -淀粉酶、 β -淀粉酶及 $(\alpha+\beta)$ -淀粉酶总活性, 降低了淀粉含量, 增加了还原糖和葡萄糖含量。说明Spd浸种提高了白三叶种子在渗透胁迫下的萌发能力和幼苗生长的环境适应性, 这可能与增强种子体内淀粉酶活性, 加速淀粉水解为还原糖和葡萄糖, 为种子萌发和幼苗早期生长及时提供充足能量有关。

关键词: 渗透胁迫; 白三叶; 亚精胺; 浸种; 萌发; 淀粉酶

Effects of Seed-Soaking with Spermidine on Seed Germination and Starch Metabolism of White Clover (*Trifolium repens* L.) under Osmotic Stress

PAN Ming-Hong, LI Zhou, PENG Dan-Dan, PENG Yan*

College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625104, China

Abstract: The effects of seed-soaking with spermidine (Spd) on seed germination and starch metabolism were investigated under osmotic stress induced by 0, 10%, 15% and 20% aqueous solutions of polyethylene glycol 6000 (PEG-6000) in white clover (*Trifolium repens* cv. ‘Ladino’). The results showed that germination rate, germination vigor, germination index, fresh weight of plumule and radicle, and radicle length of white clover seeds were significantly ($P<0.05$) reduced, as well as the transformation rate of starch into reducing sugar and glucose were suppressed in the process of seed germination under osmotic stress. Compared with seed-soaking with distilled water, seed-soaking with 0.05 mmol·L⁻¹ Spd significantly ($P<0.05$) improved seed germination rate, germination vigor, germination index, fresh and dry weight of radicle and plumule, and radicle length under the same osmotic stress. At the same time, seed-soaking with Spd showed significantly higher activities of α -amylase, β -amylase and $(\alpha+\beta)$ -total amylase, and higher contents of reducing sugar and glucose, but lower content of starch than those in seed-soaking with distilled water. In conclusion, the above results indicated that the ability of seed germination and environmental adaptability of white clover seedlings was improved by seed-soaking with Spd under osmotic stress, which could be related to timely supply of sufficient energy resulted from accelerating transformation starch into sugars by Spd activating amylase activities during seed germination and early growth of seedlings.

Key words: osmotic stress; white clover (*Trifolium repens*); spermidine; seed-soaking; germination; amylase

白三叶别名白车轴草、荷兰翘摇, 原产于欧洲、北非和亚洲西部, 在温带及亚热带地区和年降水量超过600 mm的地方都有自然分布, 是世界上分布最广和最重要的豆科牧草之一。因具有茎叶柔软细嫩, 叶量多, 营养丰富, 尤富含蛋白质, 适口性好, 刈牧兼用, 耐践踏, 再生性好等特点, 是我国南方的当家豆科牧草(董宽虎和沈益新2003; 张贤等2006)。但其生态幅较窄, 性喜温暖湿润的气候, 尤其是耐热、耐干旱性较差(赵桂琴等2004),

在海拔500 m以下的低山丘陵地区, 因夏季炎热, 干旱频繁, 极大地限制了它的推广应用范围(鲍健寅等1997)。目前对白三叶抗旱性的研究主要集中在植株阶段, 而对种子和幼苗的相关研究报道较少(Lin等2011; Vasava等2012)。白三叶在种子萌发

收稿 2013-11-08 修定 2014-03-26

资助 “十二五”国家计划支撑项目(2011BAD17B03)和四川省育种攻关项目(2011NZ0098-11)。

* 通讯作者(E-mail: pengyanlee@163.com; Tel: 0835-2885831)。

和幼苗生长阶段对水分胁迫尤其敏感, 此时如遇干旱胁迫, 不仅威胁幼苗的萌发和生存, 且对后期的生长、产量等将造成不良的影响(云岚等2004; 殷秀杰等2008)。

多胺(polyamine, PA)是生物代谢过程中产生的一类具有强烈生理活性的低分子量脂肪族含氮碱, 常见的多胺主要包括腐胺(putrescine, Put)、亚精胺(spermidine, Spd)和精胺(spermine, Spm), 与植物的抗逆性密切相关(张木清等1994; Kasukabe等2004)。Jiang等(2000)的研究表明, 外源Spd不但能逆转玉米(*Zea mays*)在盐胁迫下带来的离子平衡失调、多胺代谢紊乱, 而且还能减轻盐胁迫导致的生长抑制和质膜伤害; 外源Spd亦能缓解盐胁迫下对黄瓜(*Cucumis sativus*)光合作用的伤害而提高对盐胁迫的耐性(陈丽芳等2011); 另外, 通过减少干旱胁迫下番茄(*Solanum lycopersicum*)幼苗体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生, 提高抗氧化酶活性、抗氧化剂含量及降低膜脂过氧化水平, 缓解干旱胁迫的伤害, 增强对干旱逆境的适应性(张春梅等2009)。

此外, 有关Spd浸种提高植物种子萌发能力及适应环境胁迫能力的报道亦较多。Spd浸种能促进莴苣(*Lactuca sativa*)、玉米种子的萌发(贺军民等1994; 杜红阳等2007)。杨安中和许俊芝(2002)的研究表明, Spd浸种能提高水稻(*Oryza sativa*)种子的呼吸强度及发芽率, 有很好的促根壮苗作用; 辛树权等(2010)的研究也发现, Spd浸种不仅可以促进水稻种子的萌发, 还可以缓解盐胁迫对水稻种子的毒害作用; 郑昀晔等(2008)发现, Spd浸种能提高玉米种子在吸胀期间的耐寒性, 提高低温胁迫下种子的发芽能力。在牧草研究方面, 李莉等(2012)研究发现Spd和Put浸种能提高多年生黑麦草(*Lolium perenne*)在PEG胁迫下的发芽能力、发芽速度及活力, 促进了胚根、胚芽及胚芽鞘的生长, 从而增强其抗旱性, 且Spd浸种的作用较Put更为显著。但多胺能否在促进干旱胁迫下白三叶种子萌发方面发挥作用, 相关研究未见报道。

本试验以‘拉丁诺’白三叶种子为试验材料, 研究Spd浸种对不同浓度梯度PEG渗透胁迫下种子萌发特性和幼苗生长的影响, 以及种子萌发过程中淀粉代谢特征, 以期为提高渗透胁迫下白三叶种

子萌发能力寻求有效解决途径, 并为理解相关机制提供实验依据。

材料与方法

1 试验材料

‘拉丁诺’白三叶(*Trifolium repens* L. cv. ‘Ladino’)种子来源于成都金种燎原种子有限公司, 以PEG-6000为渗透剂模拟干旱胁迫。试验于2013年6~8月在四川农业大学动物科技学院草业工程实验室内进行。

2 种子处理与PEG渗透胁迫

随机选取成熟、健康的白三叶种子经0.1%升汞消毒洗净后, 用蒸馏水浸泡1 h, 然后分成两组, 一组用0.05 mmol·L⁻¹ Spd溶液浸种, 另一组即对照, 用蒸馏水浸种, 浸种时间为2 h。浸种过程均在避光条件下进行。

取上述浸种后的种子, 分别置于经0、10%、15%、20% PEG溶液处理的有双层滤纸的洁净培养皿中进行发芽试验(其对应的渗透势分别为0、-1.48、-2.95、-4.90 MPa)(Michel和Kaufmann 1973)。试验共计8个处理, 每处理重复4次。每个培养皿放置50粒种子, 定期在培养皿中添加不同浓度的PEG溶液。发芽试验在智能光照培养箱中进行, 温度为白天23℃, 夜晚19℃, 时长各为12 h, 相对湿度为80%。

3 测定方法

3.1 发芽率、发芽势、发芽指数

连续培养观察7 d, 每天定时统计种子萌发数。发芽率(%)= $n/N \times 100$, 式中, n 为萌发种子总数, N 为供试种子数(李文娆等2009); 发芽势(%)=发芽3 d种子发芽数/种子总数 $\times 100$; 发芽指数 $GI = \sum Gt/Dt$, 式中, Gt 为萌发数, Dt 为相应萌发天数(焦树英等2009)。

3.2 胚芽鲜重和干重、胚根鲜重和干重、胚根长

在发芽试验结束后, 每一个处理随机抽取10株完整健全的幼苗用直尺测量胚根长, 并分离胚芽、胚根, 分别称取鲜重, 取其平均值, 然后将样品置于烘箱中105℃杀青30 min, 75℃烘干至恒重, 以测定干重。

3.3 种子、幼苗糖分和淀粉酶活性

取未经渗透胁迫(正常发芽条件)、15% PEG胁

迫及Spd浸种后再进行15% PEG胁迫下的种子(0 d)或整株幼苗植株(3和7 d),用蒸馏水将PEG洗净,分别在0、3和7 d测定淀粉、还原糖、葡萄糖含量(高俊凤2006)及淀粉酶活性(李合生2000)。

4 数据的统计分析

采用Excel 2003和SAS 8.0进行数据分析,以平均值±标准差表示每个处理各指标的大小。

实验结果

1 Spd浸种对渗透胁迫下白三叶种子萌发的影响

在渗透胁迫下,白三叶种子的发芽率、发芽势和发芽指数随PEG浓度增大而不断下降。除10% PEG胁迫下的发芽率外,其他PEG处理的发芽率、发芽势和发芽指数都显著($P<0.05$)低于未经胁迫处理的。当PEG浓度为20%时,发芽率、发芽势和发芽指数比未经胁迫的分别降低了75.4%、75.9%和83.4%。Spd浸种处理对未经胁迫白三叶种子的发芽率、发芽势和发芽指数无显著影响,但显著提高了10%和15% PEG胁迫下的发芽率、发芽势和发芽指数,分别提高了4.9%、8.4%、13.5%和8.5%、9.8%、15.8% (图1)。由此可见,白三叶种子萌发过程中对渗透胁迫较为敏感,Spd浸种处理能在一定程度上促进渗透胁迫下白三叶种子的萌发。

2 Spd浸种对渗透胁迫下白三叶幼苗生长的影响

PEG渗透胁迫显著($P<0.05$)降低了白三叶种子萌发时的胚芽鲜重,而对胚芽干重的影响较小。Spd浸种处理显著提高了10% PEG浓度下的胚芽鲜重和干重,比对照分别高18.5%和26.6%,而在15%和20% PEG胁迫下,Spd浸种与对照间无显著差异(图2)。

PEG渗透胁迫亦显著($P<0.05$)降低了白三叶的胚根鲜重,而胚根干重整体呈现先升后降,20% PEG胁迫处理的显著低于未经胁迫及10%和15% PEG处理的;Spd浸种后,在10%和15% PEG渗透胁迫下,胚根鲜重和干重比对照分别提高了17.0%、62.5%和14.8%、22.7%,差异显著,但对未经胁迫和20% PEG胁迫的胚根鲜重和干重影响均不显著(图3-A和B)。

与无胁迫相比,10%的PEG浓度对胚根长有一定的促进作用,但效果不显著,在15%和20% PEG

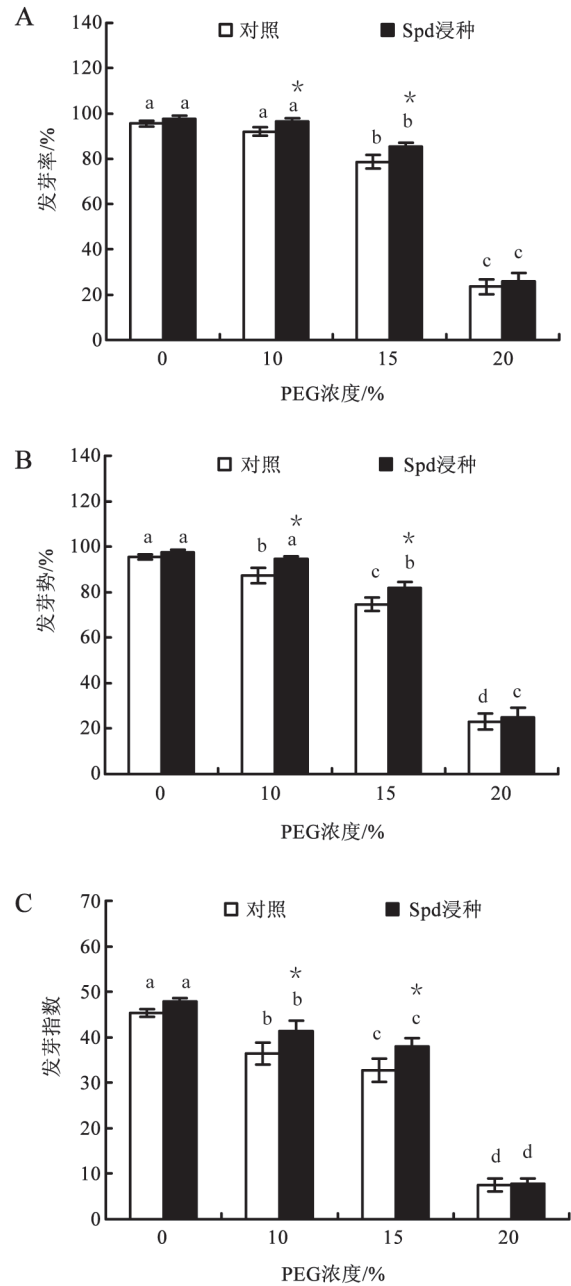


图1 Spd浸种对渗透胁迫下白三叶种子萌发的影响
Fig.1 Effects of seed-soaking with Spd on seed germination of white clover under osmotic stress

不同字母表示在0.05水平上PEG胁迫(或发芽时间)间差异显著; *表示试验各个处理之间差异显著($P<0.05$)。图2~5同。

胁迫下,胚根长显著($P<0.05$)低于未经胁迫和10% PEG处理。Spd浸种处理显著提高了未经胁迫、10%和15% PEG处理下的胚根长,增幅分别为16.6%、8.0%和6.9%,而对20% PEG胁迫处理的效果不显著(图3-C)。以上结果表明,Spd浸种处理可

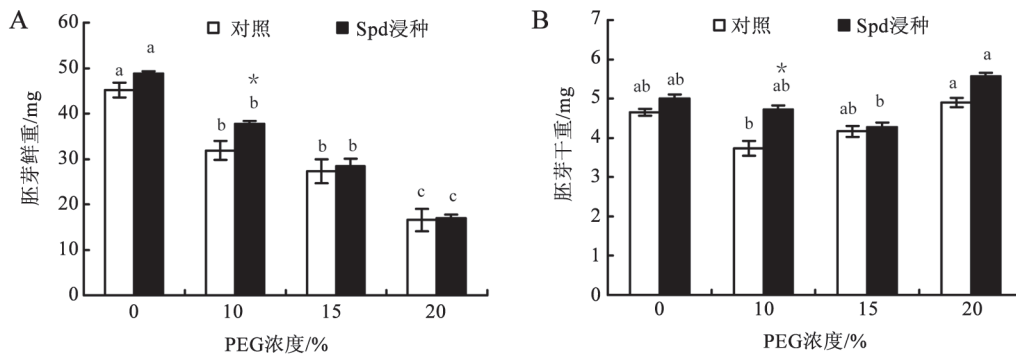


图2 Spd浸种对渗透胁迫下白三叶胚芽鲜重和干重的影响

Fig.2 Effects of seed-soaking with Spd on plumule fresh weight and dry weight of white clover under osmotic stress

明显提高未经胁迫及10%和15% PEG渗透胁迫下白三叶幼苗的胚根长。

3 Spd浸种对渗透胁迫下白三叶种子萌发进程中淀粉代谢的影响

在白三叶种子萌发过程中, 未经胁迫、PEG渗透胁迫及Spd浸种后再进行PEG渗透胁迫3个处理下的淀粉、还原糖和葡萄糖含量变化呈现相似的趋势, 在0 d时均无显著差异, 随发芽时间持续, 淀粉含量不断降低, 还原糖含量逐步增加, 而葡萄糖含量则先降低后升高(图4)。

PEG胁迫下, 种子中淀粉含量下降缓慢, 在3和7 d时均显著($P<0.05$)高于未经胁迫处理的, 而Spd浸种处理的显著低于PEG处理, 但仍显著高于未经胁迫处理的。3 d时, Spd浸种处理的还原糖和葡萄糖含量显著高于另2个处理, 且PEG胁迫和未经胁迫2个处理间差异不显著。7 d时, PEG胁迫和Spd浸种处理下, 还原糖和葡萄糖含量均显著高于未经胁迫处理的, 且Spd浸种的葡萄糖含量显著高于PEG处理, 提高了16.5%, 而两者间的还原糖含量差异不显著(图4)。

不同处理的 α -淀粉酶活性在0 d时差异不显著, 在白三叶种子萌发过程中均表现出先升高后降低的趋势。PEG处理的 α -淀粉酶活性在7 d时显著($P<0.05$)高于未经胁迫处理, 0和3 d时两处理间差异不显著, Spd浸种处理的 α -淀粉酶活性在3和7 d时都显著高于PEG处理(图5-A)。 β -淀粉酶活性在未经胁迫条件下呈先上升后下降的趋势, 而PEG和Spd浸种处理下则是不断上升。在3和7 d时Spd浸种处理的 β -淀粉酶活性显著高于PEG处理, 分别提高了19.3%和14.7% (图5-B)。不同处理下的(α + β -

淀粉酶总活性在各时间点的变化趋势与 β -淀粉酶活性基本一致(图5-C)。

讨 论

1 PEG渗透胁迫对白三叶种子萌发的影响

发芽率、发芽势和发芽指数反映了植物种子的发芽速度、发芽整齐度和幼苗适应环境的能力(顾增辉等1982)。本研究显示较低浓度的PEG渗透胁迫即对白三叶种子的萌发速率和整齐度产生抑制效应, 当胁迫继续加重, 其发芽和幼苗适应环境的能力急剧下降, 表明白三叶种子在萌发期对水分敏感, 抗旱性较差。

2 Spd浸种提高白三叶种子萌发能力

众多的研究表明, 包括Spd在内的多胺对植物种子的萌发普遍具有促进作用(Farooq等2008, 2011; Mirza和Bagni 1991; Xu等2011; Wu等2012; 刘海英等2013)。本研究结果显示, $0.05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Spd浸种处理提高了不同程度渗透胁迫下白三叶种子的发芽率、发芽势、发芽指数、胚根和胚芽重、胚根长, 在适度渗透胁迫(10%和15% PEG)范围内明显缓解白三叶种子萌发的抑制效应。其中, Spd浸种处理对白三叶幼苗胚根生长的促进作用较胚芽更为明显, 说明胚根的生长在抵御渗透胁迫过程中起着至关重要的作用, 与胡晓艳等(2006)和曾彦军等(2002)的相关研究结果吻合。

3 种子体内淀粉代谢与萌发特性

淀粉酶是催化淀粉水解的一类酶, 存在于几乎所有植物中, 主要是 α -淀粉酶和 β -淀粉酶(Dunn 1974; 邹琦2000)。种子萌发时, 淀粉酶将淀粉分解成小分子糖类, 供幼苗生长(阎娥和乔有明2006)。

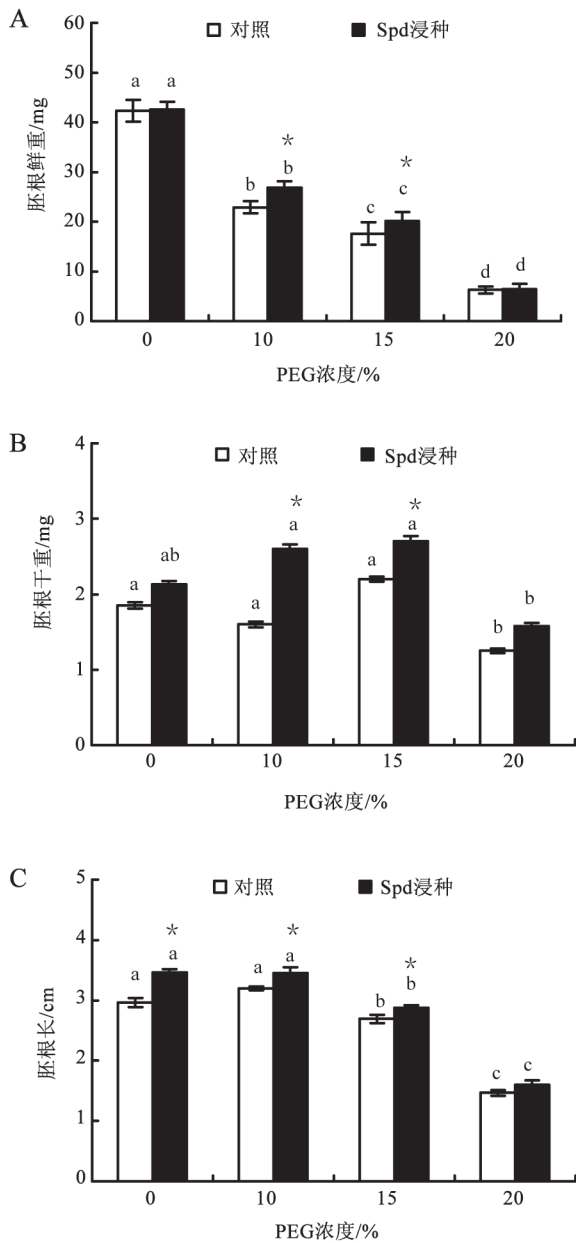


图3 Spd浸种对渗透胁迫下白三叶胚根鲜重、干重和胚根长的影响

Fig.3 Effects of seed-soaking with Spd on fresh weight, dry weight and length of radicle of white clover under osmotic stress

本研究中, 与无胁迫处理相比, PEG胁迫延缓了白三叶种子萌发时体内淀粉的水解, 而Spd浸种处理则对PEG胁迫下的淀粉水解具有明显促进作用, 并表现为还原糖和葡萄糖含量的急剧升高, 加速淀粉水解为可溶性糖类同时促进糖类物质的积累, 一方面可为种子萌发提供充足的能量供应, 同时

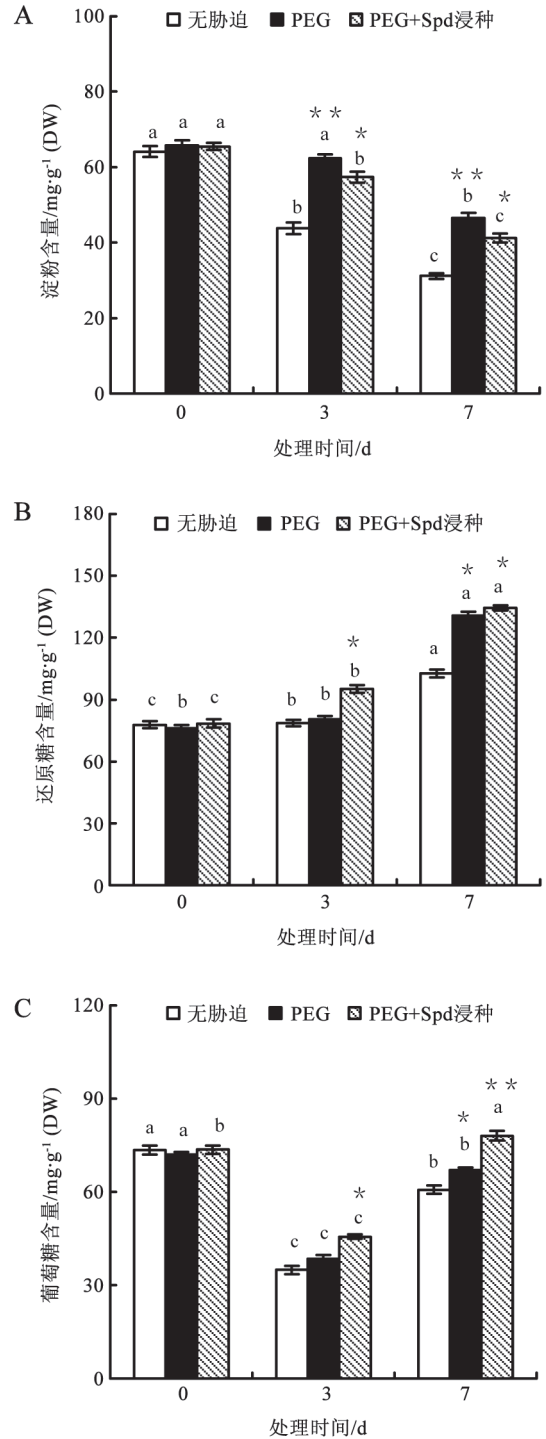


图4 Spd浸种对渗透胁迫下白三叶幼苗中淀粉、还原糖和葡萄糖含量的影响

Fig.4 Effects of seed-soaking with Spd on starch, reducing sugar and glucose contents in white clover seedlings under osmotic stress

也可作为渗透调节物质, 降低种子萌发时渗透势, 提高种子的吸水能力, 有利于增强其抗旱性。这

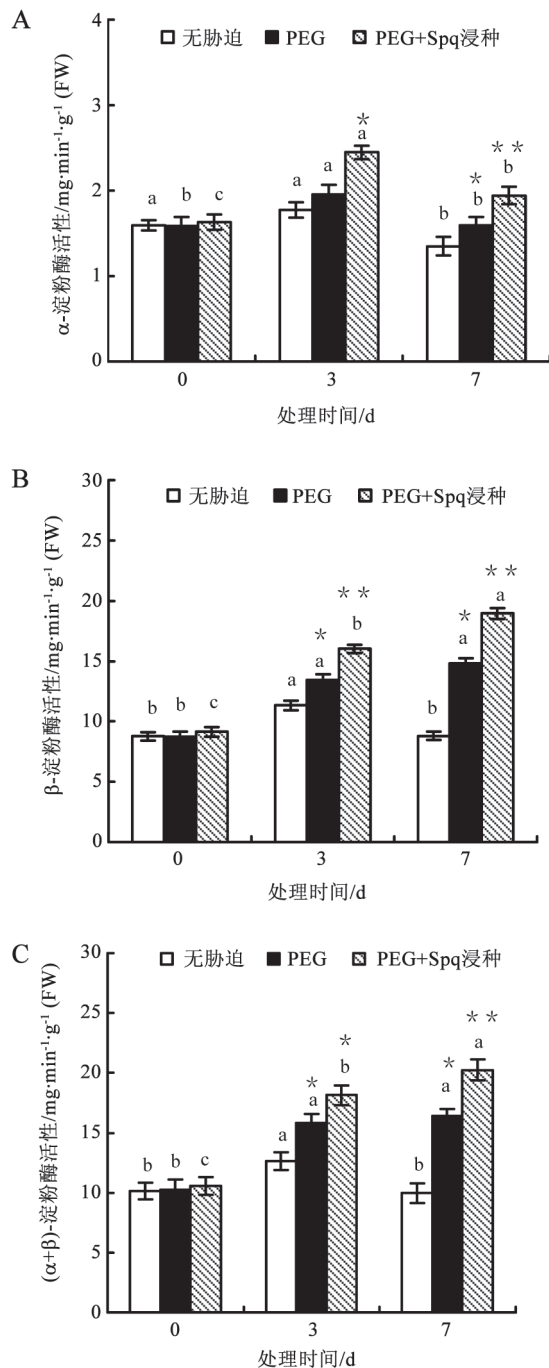


图5 Spd浸种对渗透胁迫下白三叶幼苗中淀粉酶活性的影响
Fig.5 Effects of seed-soaking with Spd on amylase activities in white clover seedlings under osmotic stress

与Khelil等(2007)、宋维贤等(2010)、杜红阳等(2010)和闫刚等(2012)等在其他植物上的研究结果有类似之处。

从淀粉酶的活性来看,在萌发初期 α -淀粉酶活性较低,随后又逐渐升高再降低,这与姜晓东等

(2013)在研究大麦发芽过程中 α -淀粉酶活性变化趋势相近。在渗透胁迫下,Spd浸种处理的 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、 $(\alpha+\beta)$ -淀粉酶总活性在3和7 d时显著高于未浸种处理,这正好与淀粉、还原糖和葡萄糖的含量变化趋势相吻合。由此可见,Spd浸种处理加速淀粉转化为糖类可能与Spd激活或促进合成淀粉代谢相关酶类有关,有利于种子萌发过程中所需能量物质——糖类的快速和持续供应,而其机制还有待进一步研究。

综上所述,白三叶种子在萌发期对渗透胁迫十分敏感,抗旱性差,适宜浓度($0.05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的Spd浸种能在一定范围内有效提高渗透胁迫下其萌发和幼苗适应环境的能力,这可能与Spd促进了淀粉酶的合成或提高了其活性,从而有利于种子萌发所需能量物质——糖类的快速和持续供应有关。

参考文献

- 鲍健寅,李维俊,冯蕊华,尹少华,李俊龙(1997).抗旱耐热白三叶新品种选育初报.草地学报,5(1):15~19
- 陈丽芳,陆巍,孙锦,郭世荣,张振兴,阳燕娟(2011).外源亚精胺对盐胁迫下黄瓜幼苗光合作用和根叶碳水化合物积累的影响.南京农业大学学报,34(3):31~36
- 董宽虎,沈益新(2003).饲草生产学.北京:中国农业出版社,78~79
- 杜红阳,侯小歌,刘怀攀(2010).亚精胺浸种对渗透胁迫下玉米种子萌发和淀粉酶活性的影响.河南农业科学,(5):8~10
- 杜红阳,王进,刘怀攀,杨青华(2007).亚精胺浸种对玉米种子萌发的影响.安徽农业科学,35(34):11009~11010
- 高俊凤(2006).植物生理学实验指导.北京:高等教育出版社,144~148
- 顾增辉,徐本美,郑光华(1982).测定种子活力方法之探讨(II)发芽的生理测定法.种子,2(3):11~17
- 贺军民,黄维玉,王晓明,余小平,王喆之(1994).多胺和赤霉素在莠荳种子萌发中的作用及其相互关系.西北植物学报,14(1):33~38
- 胡晓艳,呼天明,李红星(2006).草坪草马蹄金与结缕草种子萌发期抗旱性比较.草业科学,23(1):89~92
- 姜晓东,张京,郭刚刚(2013).中国大麦地方品种的 α -淀粉酶活性研究.植物遗传资源学报,14(2):322~328
- 焦树英,李永强,沙依拉·沙尔合提,陈秀灵(2009).干旱胁迫对3种狼尾草种子萌发和幼苗生长的影响.西北植物学报,29(2):308~313
- 李合生(2000).植物生理生化实验原理和技术.北京:高等教育出版社,169~172
- 李莉,赵丽丽,王普昶,杨丰(2012).多胺浸种对多年生黑麦草抗旱性的影响.种子,31(12):27~31
- 李文尧,张岁岐,山仑(2009).水分胁迫下紫花苜蓿和高粱种子萌发特性及幼苗耐旱性.生态学报,29(6):3066~3074
- 刘海英,喻泽莉,张春平,谢英赞,何平(2013).亚精胺对干旱胁迫下决明种子萌发及幼苗生理特性的影响.西南大学学报(自然科

- 学版), 35 (5): 1~9
- 宋维贤, 杜红阳, 刘怀攀, 李潮海(2010). 亚精胺对渗透胁迫下玉米幼苗生长和有机渗透调节物质的影响. 西北农业学报, 19 (7): 66~70
- 辛树权, 高扬, 赵骥民, 刘晓敏(2010). 盐胁迫下亚精胺浸种对水稻种子萌发的影响. 北方水稻, 40 (6): 23~25
- 阎娥, 乔有明(2006). 两燕麦品种种子萌发中淀粉酶活性变化的研究. 草业科学, 23 (9): 96~98
- 闫刚, 张春梅, 邹志荣(2012). 外源亚精胺对干旱胁迫下番茄幼苗碳水化合物代谢及相关酶活性的影响. 干旱地区农业研究, 30 (1): 143~148
- 杨安中, 许俊芝(2002). 亚精胺浸种对水稻种子萌发及秧苗生长的影响. 安徽技术师范学院学报, 16 (1): 39~42
- 殷秀杰, 王明玖, 石凤翎, 崔国文(2008). 三种三叶草幼苗期抗旱性差异的研究. 中国草地学报, 30 (2): 68~73
- 云岚, 米福贵, 云锦凤, 白玉娥, 张春明(2004). 六个苜蓿品种幼苗对水分胁迫的响应及其抗旱性. 中国草地, 26 (2): 15~20
- 张春梅, 邹志荣, 张志新, 黄志(2009). 外源亚精胺对模拟干旱胁迫下番茄幼苗活性氧水平和抗氧化系统的影响. 应用与环境生物学报, 15 (3): 301~307
- 张木清, 陈如凯, 余松烈(1994). 水分胁迫下蔗叶多胺代谢变化及其同抗旱性的关系. 植物生理学报, 22 (3): 327~332
- 张贤, 张英俊, 吴维群(2006). 白三叶RAPD分析条件优化. 草地学报, 14 (3): 219~222
- 赵桂琴, 王锁民, 任继周(2004). 白三叶转基因及其生态适应性研究进展. 生态学报, 24 (3): 592~598
- 郑昫晔, 曹栋栋, 张胜, 关亚静, 胡晋(2008). 多胺对玉米种子吸胀期间耐冷性和种子发芽能力的影响. 作物学报, 34 (2): 261~267
- 曾彦军, 王彦荣, 萨仁, 田雪梅(2002). 几种旱生灌木种子萌发对干旱胁迫的响应. 应用生态学报, 13 (8): 953~956
- 邹琦(2000). 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 151~153
- Dunn G (1974). A model for starch breakdown in higher plants. *Phytochemistry*, 13 (8): 1341~1346
- Farooq M, Aziz T, ur Rehman H, ur Rehman A, Cheema SA (2011). Evaluating surface drying and re-drying for wheat seed priming with polyamines: effects on emergence, early seedling growth and starch metabolism. *Acta Physiol Plant*, 33 (5): 1707~1713
- Farooq M, Basra SMA, Rehman H, Hussain M (2008). Seed priming with polyamines improves the germination and early seedling growth in fine rice. *J New Seeds*, 9 (2): 145~155
- Jiang XY, Song J, Fan H, Zhao KF (2000). Regulations of exogenous calcium and spermidine on ion balance and polyamine levels in maize seedlings under NaCl stress. *Acta Photophysiol Sin*, 26 (6): 539~544
- Kasukabe Y, He L, Nada K, Misawa S, Ihara I, Tachibana S (2004). Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 45 (6): 712~722
- Khelil A, Menu T, Ricard B (2007). Adaptive response to salt involving carbohydrate metabolism in leaves of a salt-sensitive tomato cultivar. *Plant Physiol Bioch*, 45 (8): 551~559
- Lin WH, Hofmann RW, Stilwell SA (2011). Physiological responses of five species of *Trifolium* to drought stress. *Chin J Appl Environ Biol*, 17 (4): 580~584
- Michel BE, Kaufmann MR (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol*, 51 (5): 914~916
- Mirza JI, Bagni N (1991). Effects of exogenous polyamines and difluoromethylornithine on seed germination and root growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regul*, 10 (2): 163~168
- Vaseva I, Akiscan Y, Simova-Stoilova L, Kostadinova A, Nenkova R, Anders I, Feller U, Demirevska K (2012). Antioxidant response to drought in red and white clover. *Acta Physiol Plant*, 34 (5): 1689~1699
- Wu QS, Zou YN, Liu M, Cheng K (2012). Effects of exogenous putrescine on mycorrhiza, root system architecture, and physiological traits of *Glomus mosseae*-colonized trifoliolate orange seedlings. *Not Bot Hort Agrobot*, 40 (2): 80~85
- Xu S, Hu J, Li Y, Ma W, Zheng Y, Zhu S (2011). Chilling tolerance in *Nicotiana tabacum* induced by seed priming with putrescine. *Plant Growth Regul*, 63 (3): 279~290