

外源物质对红松多酚合成和防御酶活性的影响

刘冉,李燕,王雷,郭兴峰

(聊城大学 农学院,山东 聊城 252000)

摘要:研究3种外源物质(壳聚糖 CTS、茉莉酸甲酯 MeJA、硝酸镧 La)对松多酚合成的诱导作用。以组织培养诱导生成的红松不定芽为试验材料,CTS、MeJA、La 处理 8 d 过程中对不定芽生长、松多酚积累量、多酚合成关键酶(苯丙氨酸转移酶 PAL、肉桂酸 4-羟化酶 C4H)、防御酶(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化物酶 POD、过氧化氢酶 CAT)影响。结果表明,CTS、MeJA、La 均能促进松多酚的合成,其诱导效果存在差异,以 La 诱导效果最显著。在试验条件浓度下,La 不仅可以促进红松不定芽的生长,且能显著提高总酚和原花青素的积累量。经 La 处理的红松不定芽中的 SOD、POD、CAT、PAL、C4H 能够迅速响应,并且活性均呈现先升高后降低的趋势,各酶活峰值分别是对照组的 1.79、1.51、1.33、3.98 倍和 3.61 倍。CTS、MeJA、La 3 种外源物质能激活红松防御反应,促进次生代谢产物松多酚的合成。

关键词:松多酚;壳聚糖;茉莉酸甲酯;硝酸镧;防御酶

中图分类号:S791.247 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2019)02-0042-06

Effects of Exogenous Substances on Polyphenols Synthesis and Defence Enzymes Activites in Adventitious Buds of *Pinus koraiensis*

LIU Ran, LI Yan, WANG Lei, GUO Xing-feng

(Agricultural College, Liaocheng University, Liaocheng 252000, Shandong, China)

Abstract: The objectives of this study were to investigate the induction of pine polyphenols biosynthesis by three exogenous substances including chitosan (CTS), methyl jasmonate (MeJA) and lanthanum nitrate (La). Adventitious bud of *Pinus koraiensis* was used as the material, the effects of three exogenous substances were examined on the growth, the pine polyphenols accumulation, the key biosynthesis enzymes and the defense enzymes. The results showed that CTS, MeJA and La had the abilities to facilitate the syntheses of pine polyphenol with different efficiencies, in which La presented the most significant effects. In the condition of examination concentration, La was able not only to facilitate a growth of adventitious bud, but also to increase the accumulations of total polyphenol and proanthocyanidin. SOD, POD, CAT, PAL, C4H in the adventitious bud responded the La treatment rapidly. The activities of SOD, POD, CAT, PAL, C4H increased first, and then decreased. The peak values of the corresponding enzymes were 1.79, 1.51, 1.33, 3.98, and 3.61 times more than the control. CTS, MeJA and La could act as potent elicitors to induce the defense responses to stimulate secondary metabolite production in *P. koraiensis*.

Key words: *Pinus* polyphenol; chitosan; methyl jasmonate; lanthanum nitrate; defence enzyme

松多酚是松科植物树皮中提取的一种的次生代谢产物,具有清除自由基、与其他抗氧化剂协同作用、保护生物大分子(蛋白质、核酸)免受氧化损伤、增强细胞防御系统及抵抗氧化应激等多种生理功能^[1-3]。松多酚因具有强大的抗氧化活性,作为膳食补充剂已得到广泛的应用,其主要成分是原花青素、

儿茶素、花旗松素、苯甲酸、肉桂酸和阿魏酸^[4]。此外临床研究证实,松多酚对于治疗或辅助治疗心血管疾病、神经退行性疾病、肿瘤等疾病都有一定的疗效,且无毒副作用,被认定为 GRAS(公认安全)^[5-6]。松多酚主要来源于 25 a 树龄以上松科植物的树皮,天然生产周期长,产量较低,不能满足社会需求,松多酚资源短缺问题亟待解决,因此寻找能够有效提高松多酚产量的措施具有重要的研究价值。

植物次生代谢产物的合成是植物抵抗病原体和食草动物的关键防御反应,具有广泛的生态功能^[7]。在植物防御机制中,多酚类物质通过清除活性氧,从而防止植物受到微生物、昆虫和食草动物的分子伤害;而且多酚对于病原体是有毒的,通过在感染部位的积累限制病原体的生长,同时通过增加宿主细胞壁的机械强度来抑制病原体的感染^[8-9]。利用外源物质触发植物防御反应是诱导植物次生代谢产物合成的有效调控方式。研究表明,SOD、POD、CAT、PAL 和 C4H 等防御酶在植物防御反应中起着非常重要的作用,其活性的升高通常被认为是诱导植物发生防御反应的标志之一^[10]。以红松不定芽为试验材料,比较 3 种外源物质(CTS、MeJA、La)对不定芽生长、松多酚物质(总酚、原花青素)积累量、多酚合成关键酶(PAL、C4H)、防御酶(SOD、POD、CAT)活性的影响,探讨外源物质对松多酚合成和红松防御系统的诱导作用,为研究外源物质促进红松多酚合成机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

红松(*Pinus koraiensis*)种子采集于伊春红松林。

1.2 试验方法

1.2.1 红松不定芽的培养 无菌条件下在消毒后的红松种子中取出成熟胚,接种在 DCR 固体培养基上进行诱导培养(黑暗,25℃),培养 7 d 后形成稳定的红松不定芽作为试验原材料。

1.2.2 红松不定芽的处理 DCR 培养基中分别加入浓度为 10 μmol/L MeJA、100 mg/L CTS 和 100 μmol/L La,进行诱导培养(黑暗,25℃,8 d),设置空白对照组。所有的处理设 3 次重复,每个培养瓶中接种 6 株红松不定芽。

关于 MeJA、CTS、La 3 者浓度的选择依据:在进行该试验之前,对 MeJA、CTS、La 的使用浓度进行了筛选试验,MeJA、CTS、La 筛选浓度范围分别为 1~40 μmol/L、25~1 000 mg/L、25~600 μmol/L。结果显示,在促进松多酚合成的效果方面,MeJA、CTS、La 的最适添加浓度分别为 10 μmol/L、

100 mg/L、100 μmol/L。

1.2.3 红松不定芽鲜重增长率的测定

鲜重增长率/%=[(收获重量-初始重量)/初始重量]×100

1.2.4 松多酚提取和含量测定 松多酚提取:采用超声波提取法,每个培养瓶中 6 株红松不定芽为一个样本,收集新鲜样本进行液氮研磨,加入 20 mL 60%乙醇,在超声功率 150 J/s、温度 30℃、提取 2 h 后,5 000 r/min 离心 10 min,移取上清液到 25 mL 容量瓶中,用 60%乙醇定容,得到多酚提取液。

总酚含量测定:取蒸馏水和样品各 1.0 mL,于 10 mL 棕色容量瓶中,加入 5.0 mL 10%福林酚试剂,混匀。反应 3~8 min 内,加入 4 mL 7.5% Na₂CO₃,加蒸馏水定容至 10 mL,摇匀。室温下放置 60 min,765 nm 测定吸光度。以没食子酸作为标准品。

标准曲线: $y=0.0111x$ $R^2=0.9992$

x :没食子酸质量浓度(μg/mL)。

总酚积累量(mg)=总酚浓度(μg/mL)×稀释倍数×提取液体积(mL)

原花青素含量测定:将 6 mL 正丁醇盐酸溶液(体积比为 95:5)置于具塞试管中,加入 0.2 mL 2% NH₄Fe(SO₄)₂ 和 1 mL 样品,混匀,置于沸水浴回流,加热 40 min,冷却 15 min,546 nm 测定吸光度。以葡萄原花青素为标准品。

标准曲线: $y=0.005x$ $R^2=0.9992$ x :葡萄籽原花青素浓度(μg/mL)。

原花青素积累量(mg)=原花青素浓度(μg/mL)×稀释倍数×提取液体积(mL)

1.2.5 酶液提取和活性测定 SOD、POD、CAT 提取液:含 2 mmol/L 巯基乙醇、2% w/v 聚乙烯吡咯烷酮、2 mmol/L EDTA·Na₂ 的 0.05 mol/L pH 7.8 磷酸缓冲溶液。

PAL、C4H 提取液:含 2 mmol/L 巯基乙醇、2% w/v 聚乙烯吡咯烷酮的 0.2 mol/L pH 8.8 硼酸缓冲溶液。

SOD、POD、CAT、PAL、C4H 酶液提取:取 5.0 g 红松不定芽,加入 4 mL 酶提取液,冰浴研磨至匀浆,12 000 r/min 冷冻离心 20 min,收集上清液作为粗酶液进行酶活检测。

SOD、POD、CAT 活性均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。

PAL 活性的测定:取粗酶液 0.2 mL,加入 3.6 mL pH 8.8 硼酸缓冲溶液和 0.2 mL 0.2 mol/L 苯丙氨酸溶液,于 30℃反应 30 min 后,加入 0.2 mL 6 mol/L HCL 终止反应,立即测定 290 nm 处的吸光

度,空白对照组用硼酸缓冲溶液代替苯丙氨酸。此试验条件下以每小时吸光度变化 0.01 为 1 个酶活力单位。

C4H 活性的测定:取粗酶液 0.2 mL,加入 3.6 mL 反应液(2 mmol/L 反式肉桂酸,50 mmol/L pH 8.9 Tris-HCL、2 mmol/L NADPN_{a2}),于 25℃ 反应 30 min 后,加入 0.2 mL 6 mol/L HCL 终止反应,立即测定 340 nm 处的吸光度,空白对照组用 Tris-HCL 缓冲溶液代替反应液。此试验条件下以每小时吸光度变化 0.01 为 1 个酶活力单位。

1.2.6 数据处理 试验数据采用 SPSS17.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 外源物质对红松不定芽生长的影响

外源物质处理 8 d 过程中红松不定芽生长变化如图 1 所示。红松不定芽的生长曲线分 2 个时期:快速生长期(0~4 d)和稳定期(5~8 d)。幼苗在处理初期由于营养物质和生长空间都比较充足,不定芽生长比较迅速。随着时间的延长,物质营养不断被消耗,个体所占空间不断缩小,不定芽生长缓慢。与对照组相比,3 种外源物质对红松不定芽生长的影响具有显著的差异性:La 显著促进了不定芽的生长,鲜重增长较快;CTS 对红松不定芽的生长无显著影响;MeJA 处理组鲜重增长率显著低于对照组,说明 MeJA 对红松细胞产生了毒害作用,抑制了红松不定芽的生长。

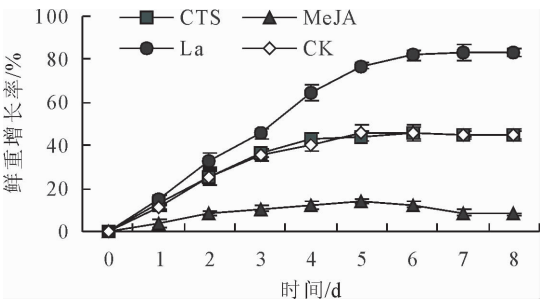
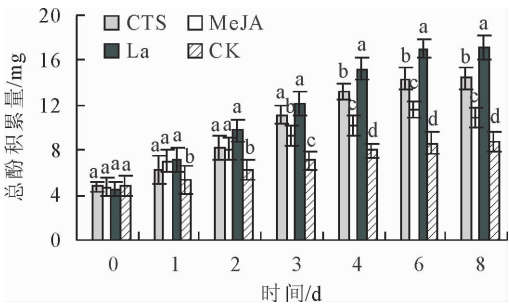


图 1 外源物质对红松不定芽生长的影响

Fig. 1 Effects of three exogenous substances on the growth of adventitious bud of *P. koraiensis*

2.2 外源物质对松多酚积累量和多酚合成途径关键酶活性的影响

2.2.1 外源物质对松多酚含量和积累量的影响 原花青素是松多酚中含量最多的成分,主要是由(+)—儿茶素和(—)—表儿茶素 2 种黄烷醇单体聚合而成,是松多酚强大抗氧化能力的主要贡献者。试验采用总酚和原花青素 2 个指标作为衡量松多酚合成的指标(图 2、图 3)。



注:同一时间不同处理间不同字母代表差异显著($P<0.05$)。下同。

图 2 外源物质对总酚积累量的影响

Fig. 2 Effects of three exogenous substances on the total polyphenols accumulation

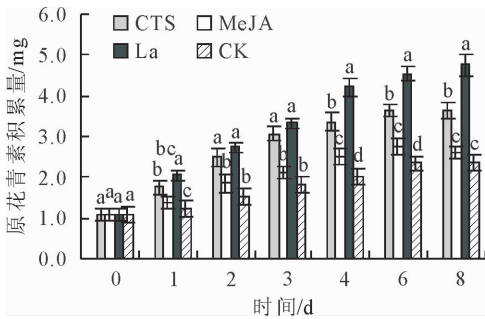


图 3 外源物质对原花青素积累量的影响

Fig. 3 Effects of three exogenous substances on the proanthocyanidin accumulation

松多酚合成曲线与不定芽生长曲线进行对比,发现外源物质诱导松多酚合成模式属于生长偶联型,在快速生长期(1~4 d)松多酚积累量不断增加,松多酚迅速合成;在稳定期(5~8 d)不定芽生长缓慢,与此同时松多酚积累速度也变缓慢。其中 La 对总酚和原花青素积累量的影响最显著,在处理第 8 d 总酚和原花青素的积累量是对照组的 1.96 倍和 2.01 倍;CTS 次之,是对照组的 1.65 倍和 1.25 倍;MeJA 效果最差,是对照组的 1.25 倍和 1.10 倍。

2.2.2 外源物质对 PAL 和 C4H 活性的影响 植物多酚的生物合成是通过苯丙烷代谢途径,PAL 和 C4H 是该途径的关键酶,催化前两步反应。L-苯丙氨酸在 PAL 的催化下发生脱氨反应生成反式肉桂酸,反式肉桂酸在 C4H 催化下与氧和 NADPH 作用生成对-香豆酸^[11-12]。本试验以 PAL、C4H 作为衡量苯丙烷代谢途径的生理指标。

由图 4、图 5 可以看出,外源物质对 PAL 和 C4H 的诱导作用随时间变化分成了 2 个时期:即诱导前期(1~3 d)和诱导后期(4~8 d)。诱导前期 PAL 和 C4H 活性迅速提高,在 2 d 或 3 d 时达到峰值,与对照组相比活性显著提高($P<0.01$);诱导后期 PAL 和 C4H 活性迅速下降,并趋于稳定,在第 8 天时与对照组相比无显著差异($P>0.05$)。红松不

定芽对3种外源物质的响应程度和响应速度均具有显著差异性。其中MeJA诱导下PAL和C4H响应最快,在第1天达到峰值;La和CTS诱导PAL和C4H响应相对MeJA较慢,在第2天达到峰值;对比可知,La对PAL和C4H活性的诱导效果最为显著($P<0.01$),在处理第2天时活性分别是对照组的3.98倍和3.61倍。CTS、MeJA和La诱导下PAL和C4H活性迅速提高,说明红松不定芽的苯丙烷代谢途径被加强。

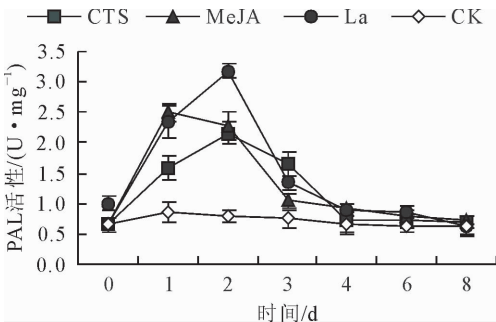


图4 外源物质对红松不定芽中PAL活性的影响
Fig. 4 Effects of three exogenous substances on the PAL activity of adventitious bud of *P. koraiensis*

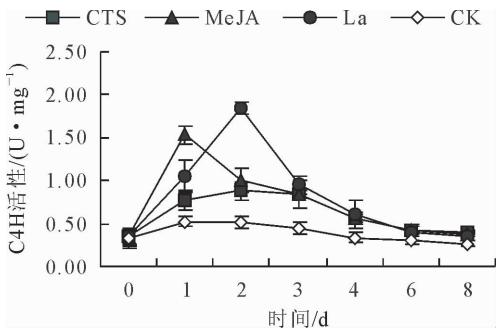


图5 外源物质对红松不定芽中C4H活性的影响
Fig. 5 Effects of three exogenous substances on the C4H activity of adventitious bud of *P. koraiensis*

2.3 外源物质对红松防御酶活性的影响

抗氧化酶如SOD、POD、CAT在抑制氧化应激中起着非常重要的作用。当活性氧增加时,SOD直接将超氧自由基转化为过氧化氢,之后CAT和POD将过氧化氢转化成水和氧气,防止过量的活性氧对细胞造成氧化损伤^[13-15]。因此以SOD、POD、CAT作为衡量植物防御反应的生理指标。前面研究表明外源物质可以通过加强苯丙烷代谢途径,从而促进了松多酚的合成与积累。为进一步揭示外源物质促进松多酚合成的作用机制,试验进一步研究外源物质对红松不定芽中防御酶(SOD、POD、CAT)的影响(图6、图7、图8)。

由图6~图8可以看出,SOD、POD、CAT的活性随诱导时间的变化具有相同的趋势,诱导前期

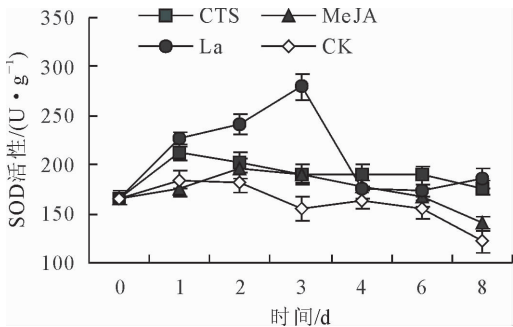


图6 外源物质对红松不定芽中SOD活性的影响
Fig. 6 Effects of three exogenous substances on the SOD activity of adventitious bud of *P. koraiensis*

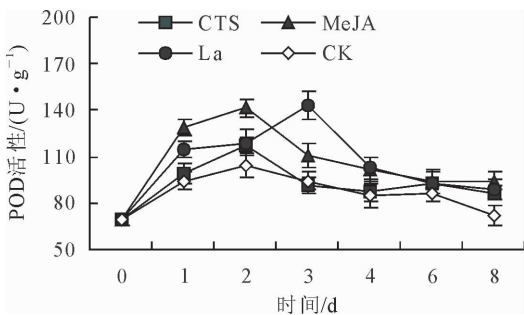


图7 外源物质对红松不定芽中POD活性的影响
Fig. 7 Effects of three exogenous substances on the POD activity of adventitious bud of *P. koraiensis*

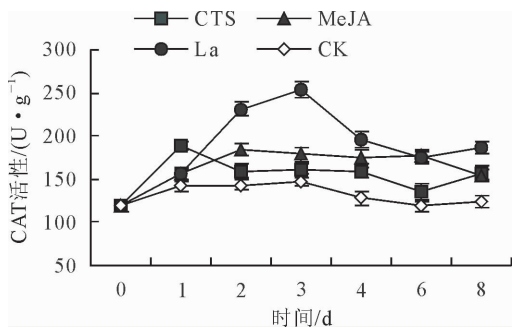


图8 外源物质对红松不定芽中CAT活性的影响
Fig. 8 Effects of three exogenous substances on the CAT activity of adventitious bud of *P. koraiensis*

(1~3 d)抗氧化酶活性显著提高,达到峰值;诱导后期(4~8 d)活性降低并趋于稳定。3种外源物质可以显著诱导红松不定芽防御酶活性的提高,诱导强度和诱导速度有一定差异。外源物质对SOD活性的影响结果显示:La对SOD的诱导作用最为显著,SOD活性迅速提高,在第3天达到峰值(279.44 U·g⁻¹FW),是对照组的1.79倍;CTS和MeJA的诱导效果相对较差。外源物质对POD活性的影响结果显示:红松不定芽经过MeJA处理后,POD活性迅速提高,并在第2天达到峰值(141.48 U·g⁻¹FW),是对照组的1.36倍,随后活性开始下降,并在第6天达到稳定;POD在La的诱导下活性也呈

上升趋势,在第 3 天达到峰值(143.00 U · g⁻¹ FW),是对照组的 1.51 倍,随后活性下降;CTS 处理不及 MeJA、La 对 POD 诱导效果显著。外源物质对 CAT 活性的影响结果显示:La 对 CAT 诱导效果最为显著,其活性在第 3 天达到峰值(254.63 U · g⁻¹ FW),是对照组的 1.73 倍,随后活性降低,但仍显著高于对照组($P<0.01$);MeJA 处理红松不定芽后,CAT 活性在 2 d 后达到峰值,在第 2~6 天内活性一直处于较高状态,在第 8 天时开始下降;CAT 在 CTS 诱导下,在第 1 天就达到峰值(188.60 U · g⁻¹ FW),是对照组的 1.33 倍,随后活性开始下降,但在第 8 天活性略有回升。在外源物质(MeJA、CTS、La)的诱导下抗氧化防御酶(SOD、POD、CAT)活性都显著提高,说明外源物质激活了红松防御反应。

3 结论与讨论

植物防御反应是植物在长期的进化过程中形成的免疫保护机制,包括活性氧迸发、抗氧化防御酶活性升高、细胞过敏性坏死、植保素的合成、寄主细胞壁的加强和修饰等,用于抵御各种病原微生物的侵袭和不良生存环境,从而增强系统获得性抗性(SAR)^[9]。松多酚是一类具有抗氧化能力的次生代谢产物,通过苯丙烷代谢途径进行合成,是与植物防御反应密切相关的植保素类物质。当植物体收到病虫害的侵害、机械性损伤、逆境和化学物质的胁迫时,会触发植物防御反应,最终促进了能够帮助植物克服应激状态的次生代谢产物的合成与积累^[16-17]。本试验结果表明,3 种外源物质(MeJA、CTS、La)作为诱导子处理红松不定芽可以显著提高植物防御系统相关酶(SOD、POD、CAT、PAL、C4H)活性和松多酚的积累量,表明 MeJA、CTS、La 很有可能是通过激活红松体内的防御反应和次生代谢生物合成途径,从而促进了松多酚的合成与积累。很多学者在对利用诱导子激活植物防御反应和植物次生代谢途径以提高机体抵抗力的研究中都得到相似的结果。周桂等研究发现 50~75 mg/LCTS 处理甘蔗叶 4 d 内促进多酚的积累及提高相关防御酶(POD、PPO、PAL)活性,有利于提高甘蔗的整体抗性^[18]。D. Sun^[7]等用 1.5 mM MeJA 处理香蕉植株结果显示,SOD、POD、PPO、CAT 和 PAL 的活性明显升高,过氧化氢、超氧自由基和丙二醛的含量降低,总酚含量增加,MeJA 能够激活次生代谢生物合成途径的关键酶,提高植物抗病性。姜照伟^[19]等研究稀土元素对南非马唐(*Digitaria smutsii*)生理特性的影响,

结果表明 La 显著提高了叶片中 SOD、CAT、POD 等酶的活性和降低丙二醛含量,从而减轻了活性氧对细胞膜、叶绿体膜的过氧化伤害。

PAL 和 C4H 是苯丙烷代谢途径前 2 步反应的酶,其活性和转录丰度直接影响植物中多酚类化合物的生物合成量^[12]。外源物质对苯丙烷代谢途径上 PAL 和 C4H 活性的影响结果发现,MeJA 对 PAL 和 C4H 诱导效果最好,但在促进总酚和原花青素积累量方面的效果是最差的。出现该结果的原因可能是,PAL 和 C4H 是苯丙烷代谢途径上游的前两步反应的酶,两者活性同时提高,仅能代表苯丙烷代谢途径被强化。苯丙烷代谢途径的下游是各种酚类物质的分支途径,包括类黄酮、原花青素、花青素、木质素等分支代谢途径,受其他酶的调节。因此 PAL 和 C4H 活性的改变不能反映苯丙烷分支代谢途径变化情况。利用外源物质激活植物防御反应,诱导植物目标次生代谢产物合成是提高植物次生代谢产物产量的有效方式。一些研究显示,不同的外源物质会产生不同的诱导效果,诱导合成的次生代谢产物在组成和含量上均有差异^[12,20]。该试验结果显示,MeJA、CTS、La 处理也产生了不同的诱导效果,PAL、C4H 活性与总酚、原花青素的积累量之间的变化不同步,说明不同外源物质对苯丙烷分支代谢途径具有不同的影响,结果会导致松多酚在组成成分和含量上的差异。以多酚和原花青素积累量为松多酚合成指标只是在整体上对松多酚总合成量进行衡量,关于松多酚主要组成单体成分(儿茶素、表儿茶素、花旗松素和原花青定 B2)的变化情况仍需进一步研究。

在利用植物生产有价值的次生代谢产物领域普遍存在一个问题,即某些诱导子(如茉莉酸甲酯/茉莉酸、水杨酸、壳聚糖等)虽能够提高次生代谢产物含量,但会在一定程度上抑制植物生长,从而影响了目标物质的总产量^[21-24]。在本试验研究结果中,3 种外源物质均能促进次生代谢产物松多酚合成,但对红松不定芽生长具有不同的影响效果,10 μmol/L MeJA 显著抑制生长;100 mg/L CTS 对生长无显著影响;而 100 μmol/L La 则表现出显著促进红松不定芽生长的作用。该试验与董诚明的研究具有相似的结论,董诚明^[25]等对冬凌草研究发现,适宜浓度的 La 能促进植株的生长及次生代谢产物(冬凌草甲素、冬凌草乙素、迷迭香酸)的合成。表明稀土元素 La 在适宜浓度范围内既可以促进植物生长又能促进次生代谢产物的合成,与其他诱导子相比,其在促进植物次生代谢产物合成领域具有显著的优势。

参考文献:

[1] MAIMOONAA A, NAEEMA I, SADDIQUEA Z, *et al.* A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 133(2): 261-277.

[2] JEREZ M, TOURINO S, SINEIRO J, *et al.* Procyanidins from pine bark. Relationship between structure, composition and anti-radical activity[J]. Food Chemistry, 2007(104): 518-527.

[3] LUO X Y. Supplementing conventional treatment with pycnogenol(R) may improve hepatitis C virus-associated type 2 diabetes; a mini review[J]. Journal of Clinical and Translational Hepatology, 2016(3): 228-233.

[4] TÜMEN İ, AKKOL E K, TAŞTAN H, *et al.* Research on the antioxidant, wound healing, and anti-inflammatory activities and the phytochemical composition of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018 (211): 235-246

[5] BELCARO G, CESARONE M R, GENVESI D, *et al.* Pycnogenol may alleviate adverse effects in oncologic treatment[J]. Panminerva Medica, 2008(50): 227-234.

[6] GUNEL C, DEMIRCI B, ERYILMAZ A, *et al.* Inhibitory effect of pycnogenol on airway inflammation in ovalbumin-Induced allergic rhinitis[J]. Balkan Medical Journal, 2016, 33(6): 620-626.

[7] SUN D, LU X, HU Y, *et al.* Methyl jasmonate induced defense responses increase resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 4 in banana [J]. Scientia Horticulturae, 2013 (164): 484-491.

[8] DOKHANIEH A Y, AGHDAM M S, FARD J, *et al.* Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit[J]. Scientia Horticulturae, 2013 (154): 31-36.

[9] 王小菲, 高文强, 刘建锋, 等. 植物防御策略及其环境驱动机制[J]. 生态学杂志, 2015, 34(12): 3542-3552.

[10] LIU X, CHI H, YUE M, *et al.* The regulation of exogenous jasmonic acid on UV-B stress tolerance in wheat[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2012(3): 436-447.

[11] YU H, LIU X, GAO S, *et al.* Molecular cloning and functional characterization of a phenylalanine ammonia-lyase from liverwort *Plagiochasma appendiculatum* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2014, 117(2): 265-277.

[12] XING B C, YANG D, LIU F L, *et al.* Phenolic acid production is more effectively enhanced than tanshinone production by methyl jasmonate in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2018, 134(1): 119-129.

[13] ALSCHER R G, ERTURK N, HEATH L S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53 (372): 1331-1341.

[14] 刘玉莲, 左存武, 车飞, 等. 日灼后苹果果皮保护机制研究[J]. 西北林学院学报, 2017(6): 18-24.

LIU Y L, ZUO C W, CHE F, *et al.* Defense mechanism of sunburn for apple peel[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017(6): 18-24. (in Chinese)

[15] CHELIKANI P, FITA I, LOEWEN P C. Diversity of structures and properties among catalases[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2004, 61(2): 192-208.

[16] XU H Y, LI X J, WANG S M, *et al.* Oligosaccharide elicitor prepared from Salecan triggers the defense responses of *Arabidopsis thaliana* Col0 against botrytis cinerea infection[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2017, (33): 165.

[17] SUDHA G, RAVISHANKAR G A. Ravishankar Involvement and interaction of various signaling compounds on the plant metabolic events during defense response, resistance to stress factors, formation of secondary metabolites and their molecular aspects[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2002, 71 (3): 181-212.

[18] 周桂, 靳晓芸, 邓光辉, 等. 壳寡糖诱导甘蔗叶多酚与防御酶活性的变化[J]. 南方农业学报, 2011, 42(8): 874-877.

ZHOU G, JIN X Y, DENG G H, *et al.* Chitosan oligosaccharide induced changes in polyphenols and defense enzymes activities in sugarcane leaves [J]. Guangxi Agricultural Sciences, 2011, 42(8): 874-877. (in Chinese)

[19] 姜照伟, 翁伯琦, 黄元仿, 等. 施用稀土元素镧对南非马唐生长及若干生理特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14 (4): 713-720.

JIANG Z W, WENG B Q, HUANG Y F, *et al.* Effects of applied rare earth elements lanthanum on the growth and some physiological characteristics of *digitaria smutsii* [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2008, 14 (4): 713-720. (in Chinese)

[20] 高海波, 沈应柏. 水杨酸甲酯、苯腈噻唑及茉莉酸甲酯对合作杨防御物质的影响[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(6): 32-35.

GAO H B, SHEN Y B. Effects of BTH, MeSA and MeJA on Defensive Components of *Populus simonii* × *P. pyramidalis* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(6): 32-35. (in Chinese)

[21] CHENG X Y, ZHOU H Y, CUI X, *et al.* Improvement of phenylethanoid glycosides biosynthesis in *Cistanche deserticola* cell suspension cultures by chitosan elicitor[J]. Journal of Biotechnology, 2006, 121(2): 253-260.

[22] CHONG T M, ABDULLAH M A, FADZILLAH N M, *et al.* Jasmonic acid elicitation of anthraquinones with some associated enzymic and non-enzymic antioxidant responses in *Morinda elliptica* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2005, 36(4): 469-477.

[23] DONG J, WAN G, LIANG Z. Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell culture[J]. Journal of Biotechnology, 2010, 148 (2): 99-104.

[24] 杨英, 郑辉, 李赟, 等. 茉莉酸甲酯与二氢茉莉酮酸甲酯对悬浮培养的甘草细胞生长和黄酮积累的影响[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(5): 903-906.

[25] 董诚明, 曹利华, 苏秀红, 等. 稀土元素镧和铈对冬凌草再生植株生长及次生代谢产物的影响[J]. 广西植物, 2015, 35(3): 437-441.