果 树 学 报 2026,43(10):2746-2760
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20260422

外源褪黑素对盐碱胁迫下野生四倍体草莓生理特性的影响及耐盐碱候选基因初步筛选

黄 奕[1],宋艳红[1,2],刘丽锋[1,2],李 刚[1,2],赵 霞[1],周厚成[1,2*]

([1]中国农业科学院郑州果树研究所,郑州 450009;[2]中国农业科学院中原研究中心,河南新乡 453003)

摘 要:【目的】探究外源褪黑素对盐碱胁迫下野生四倍体草莓的生理影响和相关基因的转录表达变化,初步筛选耐盐碱候选基因。**【方法】**以5个四倍体草莓种的36份种质材料为试材,通过外源褪黑素处理,探究盐碱胁迫下不同资源的生理特性;在此基础上,将筛选到的盐碱耐受和高度敏感材料在处理7 d后取样进行转录组测序,并结合生物信息学分析,筛选与盐碱胁迫响应密切相关的候选基因并对其进行启动子顺式元件和亚细胞定位分析。**【结果】**外源褪黑素处理显著提高了盐碱胁迫下草莓材料的株高、根长和鲜质量,同时,增强了抗氧化酶活性、降低了丙二醛含量,有效缓解盐碱胁迫对草莓生长的抑制作用。从36份野生四倍体草莓材料中筛选出盐碱耐受材料和高度盐碱敏感材料各2份。经转录组测序和生物信息学分析后,筛选到3个耐盐碱候选基因*FmMPK7*、*FmMKK9-A*和*FmMKK9-B*。其中,在盐碱处理后,*FmMPK7*显著上调表达;而在外源褪黑素处理后,*FmMKK9-A*和*FmMKK9-B*均显著上调表达。**【结论】**外源褪黑素处理能够缓解盐碱胁迫对草莓生长的抑制作用。

关键词:草莓;盐碱胁迫;褪黑素;耐盐碱基因

中图分类号:S668.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2026)10-2746-15

Effect of exogenous melatonin on physiological characteristics of wild tetraploid strawberry under salt-alkali stress and preliminary screening of salt-alkali tolerant candidate genes

Huang Yi[1], Song Yanhong[1,2], Liu Lifeng[1,2], Li Gang[1,2], Zhao Xia[1], Zhou Houcheng[1,2*]

([1]Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, Henan, China; [2]Zhongyuan Research Center, Xinxiang 453003, Henan, China)

Abstract:【Objective】The soil and substrate salinization problem in China's strawberry cultivation is becoming increasingly severe, hindering the sustainable development of the strawberry industry; meanwhile, China possesses abundant wild strawberry resources whose resistance genes, evolved over millions of years, remain worthy of further exploration and utilization. This study aimed to investigate the physiological effects of exogenous melatonin on wild tetraploid strawberries under saline–alkali stress conditions, as well as the changes in transcriptional expression of related genes, and to preliminarily screen candidate genes associated with salt–alkali tolerance.【Methods】Thirty-six wild tetraploid strawberry accessions were systematically evaluated for salt-alkali tolerance. Plants were assigned to three treatments: water control (CK), salt-alkali treatment (SA), and salt-alkali treatment supplemented with melatonin (SA+MT). After treatment, we measured growth-related traits and calculated the salt injury index to comprehensively assess the salt-alkali tolerance of each accession. Based on the screening results, salt-alkali tolerant and highly salt-alkali sensitive accessions were selected for further physiologi-

收稿日期:2026-06-10 **接受日期:**2026-07-19

基金项目:河南省重点研发专项(261111110800);中国农业科学院科技创新工程项目(CAAS-ASTIP-ZFRI-04);河南省大宗水果产业技术体系(HARS-22-09-G2);中国农业科学院中原研究中心科研团队(CAAS-ZRC-ZYZX20230210)

作者简介:黄奕,女,在读硕士研究生,研究方向为草莓育种与栽培。E-mail:2054147375@qq.com

***通信作者** Author for correspondence. E-mail:zhouhoucheng@caas.cn

cal and molecular analysis. We then determined plant phenotypes and antioxidant enzyme activities, and performed transcriptome sequencing to identify differentially expressed genes (DEGs). These DEGs were further analyzed *via* GO functional enrichment, KEGG pathway enrichment, weighted gene co-expression network analysis (WGCNA), and protein-protein interaction (PPI) network analysis to screen for candidate genes closely associated with plant responses to salt-alkali stress and melatonin-mediated regulation. The 2-kb upstream promoter regions of the candidate genes were further analyzed to identify cis-acting regulatory elements, and their encoded proteins were subjected to predicted subcellular localization. Finally, the expression patterns of the candidate genes were validated *via* qRT-PCR. 【Results】Phenotypic evaluation after salt-alkali stress identified two salt-alkali tolerant accessions and two highly salt-alkali sensitive accessions. Exogenous melatonin significantly alleviated salt-alkali-induced growth inhibition in the sensitive accessions, leading to a clear recovery in plant height, root length, and fresh weight. Compared with treatment with salt-alkali stress alone, melatonin application significantly increased the activities of SOD, POD, and CAT, while reducing MDA accumulation. This indicates that exogenous melatonin alleviates oxidative damage by enhancing ROS scavenging under salt-alkali stress. KEGG enrichment analysis revealed that the MAPK signaling pathway was significantly enriched after exogenous melatonin treatment under salt-alkali stress, indicating that MAPK-mediated signal transduction may be involved in the melatonin-regulated response to salt-alkali stress. WGCNA identified multiple gene modules significantly associated with salt-alkali stress and melatonin treatment. By integrating WGCNA with GO enrichment analysis, we identified 78 salt stress-related genes in total, which include multiple members from the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway and the calcineurin B-like protein (CBL)-CBL-interacting protein kinase (CBL-CIPK) signaling pathway. Furthermore, protein-protein interaction (PPI) network analysis revealed potential crosstalk between the MAPK and CBL-CIPK signaling pathways mediated by the reactive oxygen species (ROS)-associated protein RBOHF and the calcium-binding protein CP1. In addition, multiple CIPK proteins were predicted to interact with the Stelar K^+ Outward Rectifier (SKOR) potassium channel, suggesting that coordinated regulation of ROS homeostasis and potassium transport by the MAPK and CBL-CIPK signaling networks may contribute to the adaptation of wild tetraploid strawberry to salt-alkali stress. Based on the integrated results, we identified three candidate genes associated with salt-alkali tolerance: the *FmMPK7*, *FmMKK9-A*, and *FmMKK9-B*. Promoter analysis showed that the 2-kb upstream regions of all three genes contain abundant cis-acting elements associated with transcriptional regulation, hormone signaling, and abiotic stress responses. Among them, the *FmMPK7* was significantly upregulated under salt-alkali stress, while the *FmMKK9-A* and *FmMKK9-B* were markedly induced after melatonin treatment. 【Conclusion】Exogenous melatonin treatment can alleviate the growth inhibition of strawberry caused by salt-alkali stress.

Key words: Strawberry; Salt-alkali stress; Melatonin; Salt-alkali tolerance gene

草莓植株根系较浅，生产上长期采用大肥大水的管理模式，肥水不合理利用直接导致土壤盐碱化程度逐渐加重。盐碱胁迫会引发草莓植株的渗透压和离子压负荷加重引起氧化应激，导致多种生理和分子层面的紊乱，显著抑制光合作用并阻碍植株生长[1-2]，进而严重影响草莓品质和产量，对草莓产业的健康发展构成了严峻挑战。

前人研究表明，草莓可通过维持Na^+/K^+离子稳态、增强抗氧化酶系统活性、促进脯氨酸等渗透调节物质积累、调节植物激素信号以及维持细胞壁结构稳定等多个方面应对盐碱胁迫[3-4]。SOS、NHX、ABC转运蛋白等离子运输相关基因以及NAC、MYB、

AP2/ERF等转录因子在耐盐响应过程中发挥重要作用；同时，Ca^{2+}信号、活性氧信号及ABA信号共同参与盐胁迫信号转导，形成复杂的调控网络[5]。盐胁迫导致活性氧（ROS）大量积累，细胞膜脂过氧化加剧，光合能力降低，从而抑制草莓植株生长，影响果实品质。因此，增强抗氧化防御能力是提高草莓耐盐性的关键途径[6]。Mimouni等[7]比较了耐盐草莓品种Korona与盐敏感草莓品种Elsanta，发现耐盐品种具有更高的抗氧化酶活性、更强的渗透调节能力和更稳定的离子平衡，能够有效降低膜脂过氧化程度，表现出更强的耐盐能力，表明遗传背景是决定草莓耐盐性的重要因素。

褪黑素（melatonin，MT）是一种含吲哚环的含氮化合物，通过G蛋白调控的ROS-Ca^{2+}信号通路可调节生长（如根系扩展、叶片生长）与胁迫（如干旱、盐碱）等生理过程，叶面喷施MT可缓解盐碱胁迫对植物造成的损伤[8]。MT通过提高抗氧化酶活性有效抑制ROS过量积累，减轻盐碱胁迫诱导的氧化损伤[9-10]。已有研究表明，外源喷施褪黑素能够缓解盐胁迫对草莓幼苗生长的抑制作用[11-12]。现代栽培草莓（*Fragaria* × *ananassa* Duch.）起源于两个八倍体野生种智利草莓（*F. chiloensis*）与弗州草莓（*F. virginiana*）的自然杂交[13]，属于异源八倍体，遗传背景复杂。在长期育种过程中，受限于育种目标相对单一化而导致遗传多样性逐渐降低，耐盐碱资源匮乏。前人研究发现，野生草莓，尤其是四倍体野生草莓群体中存在大量具有潜在优良性状的基因资源[14]，目前尚未被有效引入现代栽培草莓的育种体系中，限制了栽培品种在抗性方面的改良潜力。

本研究以不同耐盐碱类型的野生四倍体草莓资源为试材，结合生理指标测定与盐碱胁迫转录组分析，初步筛选耐盐碱候选基因；解析外源褪黑素处理对盐碱胁迫下野生四倍体草莓的响应机制，为耐盐碱草莓分子育种及野生资源高效利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

36份四倍体野生草莓分属于5个野生四倍体草莓种，包括东方草莓（*F. orientalis*）9份、西南草莓（*F. moupinensis*）8份、高原草莓（*F. tibetica*）12份、纤细草莓（*F. gracilis*）4份、伞房草莓（*F. corymbosa*）3份，均取自国家园艺种质资源库郑州草莓分库。

1.2 方法

1.2.1 耐盐碱性鉴定 2025年5月，采集具有3~5枚叶片的匍匐茎子苗，使用武汉广朗科技有限公司的育苗基质进行育苗。缓苗后充分培养，选取长势一致的幼苗进行盐碱处理。对照组（CK）使用清水进行浇灌，盐碱处理组（SA）使用20 mmol·L^{-1}盐碱混合溶液（NaCl、$NaHCO_3$体积比1∶1）每天适量浇灌一次，持续17 d，3株为1次生物学重复，设置3次重复。

盐碱处理7 d后，根据植株株高、根长、地上部鲜质量及地下部鲜质量相比对照组的下降程度计算盐害指数，综合评价不同材料的盐碱耐受能力[15]。

盐害指数（salt-alkali injury index，SI）/%=（1－SA指标值/CK指标值）×100。

综合盐害指数（综合SI）/%=（株高SI+根长SI+地上鲜质量SI+地下鲜质量SI）/4。

盐害分级标准参照文献[15]方法进行统计分级：

（1）0＜综合SI≤5为高度耐盐碱，植株无明显受害症状，叶片绿色；

（2）5＜综合SI≤10为耐盐碱，叶片边缘轻微黄化，新叶生长正常；

（3）10＜综合SI≤15为中等耐盐碱，叶片黄化较明显，植株生长速度减缓；

（4）15＜综合SI≤20为盐碱敏感，植株明显萎蔫；

（5）综合SI＞20为高度盐碱敏感，植株死亡。

1.2.2 盐碱胁迫处理后外源褪黑素处理 将初步筛选的2份耐盐碱材料和2份高度盐碱敏感材料进行盐碱胁迫和外源褪黑素处理。清水对照组（CK）、盐碱处理组（SA）、盐碱处理＋外源褪黑素处理组（SA＋MT）。根据前期预试验结果，SA以20 mmol·L^{-1}盐碱混合溶液（NaCl、$NaHCO_3$体积比1∶1）进行浇灌；SA+MT采用与SA组相同浓度、水量和浇灌频次的盐碱混合溶液进行浇灌，并在此基础上每3 d叶面喷施一次100 μmol·L^{-1}褪黑素溶液[11-12]，固定时间点喷施，持续7 d。3株为1次生物学重复，设置3次重复。

处理结束后，将植株完整取出，使用直尺测量根颈至植株最高生长点的垂直高度记为株高（cm）；使用直尺测定根颈至最长根尖的长度记为根长（cm）；沿根颈处分离地上部和地下部，使用电子天平称量鲜质量（g）。生长指标均重复测量3次，取其平均值。

采用WST-8法测定超氧化物歧化酶（SOD）活性；采用微板法测定过氧化物酶（POD）活性；采用可

见显色法测定过氧化氢酶（CAT）活性和丙二醛（MDA）含量。抗氧化酶活性和MDA含量均采用苏州格锐思生物科技有限公司试剂盒进行测定[16]。

1.3　转录组测序与生物信息学分析

1.3.1　*转录组测序*　盐碱胁迫转录组测序委托武汉迈特维尔生物科技有限公司完成。使用Trizol方法提取基因组总RNA，使用Illumina TruSeq RNA Sample Preparation Kit构建转录组文库，使用Illumina HiSeq 2500平台进行高通量测序。

1.3.2　*差异表达基因鉴定*　以西南草莓基因组作为参考基因组[14]（https://www.rosaceae.org/Analysis/18317114），使用TopHat2软件[13]进行比对。使用Cufflinks软件进行转录组组装和基因表达量计算，每个基因或转录本的表达水平用FPKM（Fragments Per Kilobase per Million bases）值表示[17-18]。使用差异表达分析软件DESeq2筛选差异表达基因（DEGs），根据|$\log_2$（Fold Change）|＞1、FDR＜0.05为筛选阈值获得差异表达基因。

1.3.3　*富集分析*　使用Goatools软件[19]进行GO富集分析。基于Fisher精确检验统计方法，以校正后*P*值（FDR）＜0.05作为显著性阈值判断GO条目的富集程度。KEGG通路富集分析，统计学原理与GO分析一致，同样采用FDR＜0.05作为显著性标准。

1.3.4　*加权基因共表达网络分析（WGCNA）*　基于基因表达模式相似性构建层次聚类树，利用动态剪切算法对聚类树进行模块划分，从而识别具有高度共表达关系的基因模块。在模块划分基础上，计算各模块特征基因。构建模块-材料和模块-表型关联热图，评估各共表达模块与盐碱耐受性、褪黑素处理及相关生理指标之间的相关性。

1.3.5　*蛋白质-蛋白质互作*　使用在线软件STRING（https://string-db.org/）进行蛋白质-蛋白质相互作用网络分析。

1.3.6　*理化性质分析*　使用Tbtools软件[20]的Protein Parameter Calc插件进行蛋白质理化性质的预测，使用在线软件BUSCA[21]（https://busca.biocomp.unibo.it/）进行蛋白质亚细胞定位的预测。

1.3.7　*启动子顺式作用元件鉴定*　使用PLACE[22]进行顺式作用元件的鉴定（http://www.dna.affrc.go.jp/htdocs/PLACE/）。

1.4　耐盐碱候选基因定量PCR分析

使用Primer3Plus设计引物（表1），引物合成委托浙江尚亚生物技术公司完成。

以*GAPDH*作为内参基因[23-24]，qRT-PCR反应体系为：10 μL 2×*Taq* Pro Universal SYBR qPCR Master Mix、1 μL引物、7 μLddH_2O、2 μL稀释cDNA，cDNA（ρ，后同）浓度为200 ng·μL^{-1}。反应条件：95 ℃ 30 s；95 ℃ 10 s，60 ℃ 30 s，40个循环，72 ℃退火。每个反应设置3次技术重复，候选基因的相对表达量采用$2^{-\Delta\Delta CT}$方法进行计算[25]。

表1　定量PCR引物

Table 1　Primer sequences used for RT-qPCR

基因名称 Gene name	上游引物（5'-3'） Forward primer (5'-3')	下游引物（5'-3'） Reverse primer (5'-3')
FmMPK7	TGTCACTCGCTGGTATCGTG	AGGGTTGGAAGAAGCAGCTT
FmMKK9-A	CGCCATAATCGAGAAGCCCA	GTGTCAAAAGCTGAGTCGCC
FmMKK9-B	CAATGGCTCTCATCCGGGAA	AAGTCGGCGATCTTGACCTC
GAPDH	CCCAAGTAAGGATGCCCCCATGTTCG	TTGGCAAGGGGAGCAAGACAGTTGGTAG

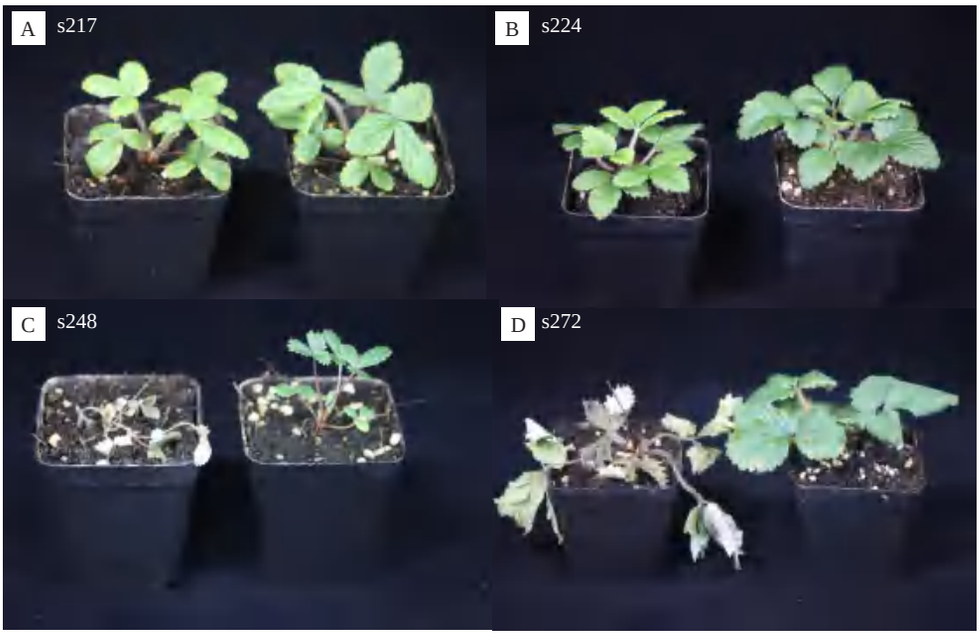
2　结果与分析

2.1　耐盐碱性的鉴定

如图1所示，以清水作为对照组，使用20 mmol·L^{-1}盐碱混合溶液（NaCl、$NaHCO_3$体积比1∶1）对36份四倍体资源进行盐碱胁迫处理，以评价不同种质资源的耐盐碱性。处理17 d后，s217（东方草莓）和s224（西南草莓）在盐碱胁迫下仅表现叶片边缘轻微发黄等轻度症状，而整株仍保持健壮生长。相同处理条件下，s248（高原草莓）和s272（高原草莓）则表现出明显的胁迫反应，植株显著萎蔫、叶片失水严重，最终死亡。综合盐害指数（综合SI）表明，s217和s224的综合SI分别达到9.43和8.28，为耐盐碱级别；而s248和s272的综合SI则分别为24.96和21.55，为高度盐碱敏感级别。

2.2　盐碱胁迫和外源褪黑素处理对野生四倍体草莓植株生长的影响

如图2所示，在盐碱胁迫下，与CK相比，耐盐碱

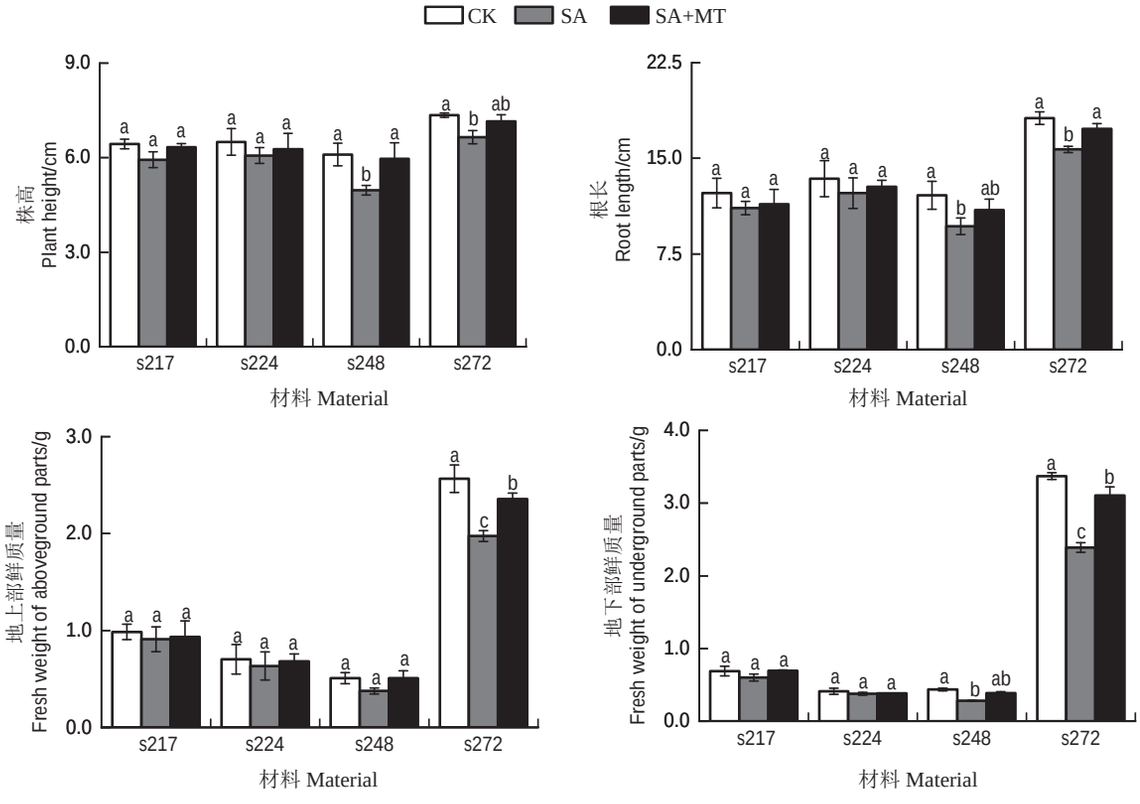


A. 耐盐碱材料 s217；B. 耐盐碱材料 s224；C. 高度盐碱敏感材料 s248；D. 高度盐碱敏感材料 s272。

A. Salt-alkali tolerant material s217; B. Salt-alkali tolerant material s224; C. Highly salt-alkali sensitive material s248; D. Highly salt-alkali sensitive material s272.

图 1 不同材料盐碱处理（左）和对照处理（右）的表型

Fig. 1 Phenotypes of different materials under salt-alkali stress (left) and control treatment (right) conditions



不同小写字母代表存在显著差异（$P<0.05$）。

Different small letters indicates a significant difference ($P<0.05$).

图 2 盐碱和褪黑素处理对四倍体草莓表型的影响

Fig. 2 The effects of salt-alkali and melatonin treatment on the phenotype of tetraploid materials

材料s217和s224在株高、根长及地上部和地下部鲜质量方面均未发生显著变化；而高度盐碱敏感材料s248和s272则受到明显抑制，其中s248的株高和根长分别减少了18.58%和20.11%，地上部和地下部鲜质量分别下降25.94%和35.19%；s272的株高和根长分别缩短9.52%和13.50%，地上部和地下部鲜质量分别减少23.03%和29.11%。

与SA相比，盐碱处理后施加褪黑素处理，耐盐碱材料s217和s224的株高、根长及地上部和地下部鲜质量仍未出现显著变化，表明褪黑素对耐盐碱材料的促进作用有限；而褪黑素处理显著缓解了盐碱胁迫对高度盐碱敏感材料的不利影响。s248的株高提高了20.13%，地上部和地下部鲜质量分别增加了34.96%和36.43%，但根长无显著变化；s272的株高无显著变化，但根长增加了10.19%，地上部和地下部鲜质量分别增加了19.33%和29.90%。因此，本试验表明外源褪黑素处理能够有效缓解盐碱胁迫对高度盐碱敏感材料生长的抑制作用。

2.3　盐碱胁迫和外源褪黑素处理对野生四倍体草莓抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响

如表2所示，对野生四倍体草莓抗氧化酶活性和丙二醛含量进行差异显著性分析。其中，SOD活性变化相对较小。POD活性更为敏感，s217、s224和s248中根系POD活性均显著升高。CAT活性变化最显著，叶片和根系在所有材料中均表现为SA处理较CK显著升高，SA+MT较SA进一步显著升高。MDA含量则与抗氧化酶活性变化趋势相反，在盐碱胁迫下显著积累，而褪黑素处理后则显著下降。

与CK相比，盐碱胁迫显著诱导了不同材料抗氧化酶系统的响应，并导致MDA含量增加。在盐碱处理后，耐盐碱材料s217叶片中SOD活性、POD活性、CAT活性及MDA含量分别提高15.52%、99.13%、47.39%和38.76%；根系中分别提高4.04%、33.96%、38.23%和66.95%；s224叶片中SOD、POD和CAT活性及MDA含量分别提高8.15%、34.86%、57.76%和41.51%，根系中分别提高5.98%、61.36%、45.19%及92.62%。

在高度盐碱敏感材料中，抗氧化酶活性提升幅度较小。s248叶片中SOD活性、POD活性、CAT活性及MDA含量分别提高2.62%、71.76%、19.53%和37.74%，根系中分别提高2.32%、48.39%、11.36%和89.68%；s272叶片中SOD活性、POD活性、CAT活性

表2　不同处理下抗氧化酶活性和丙二醛含量

Table 2　Antioxidant enzyme activity and malondialdehyde content under different treatments

材料 Material	处理 Treatment	叶片SOD活性 SOD activity in leaf/(U·g^{-1})	根SOD活性 SOD activity in root/(U·g^{-1})	叶片POD活性 POD activity in leaf/(U·g^{-1})	根POD活性 POD activity in root/(U·g^{-1})	叶片CAT活性 CAT activity in leaf/(U·g^{-1})	根CAT活性 CAT activity in root/(U·g^{-1})	*b*(叶片MDA) MDA content in leaf/(mmol·g^{-1})	*b*(根MDA) MDA content in root/(mmol·g^{-1})
s217	CK	112.43±7.64 bc	220.28±5.56 cd	81.33±10.17 fg	326.52±9.31 de	373.28±31.06 g	448.01±21.78 h	21.98±0.92 i	4.53±1.24 e
	SA	129.88±7.03 b	229.19±6.08 bc	161.94±2.55 cd	437.39±48.28 bc	550.16±33.29 e	619.28±13.86 f	30.49±0.40 cde	7.57±0.25 bc
	SA+MT	131.14±16.00 b	249.15±19.88 abc	186.74±16.00 bc	527.17±61.68 a	770.75±8.09 c	835.01±5.10 b	25.02±1.41 ghi	5.07±0.30 de
s224	CK	198.12±14.65 a	243.11±17.12 abc	81.99±12.45 fg	289.09±27.66 e	454.70±45.79 f	507.46±24.68 g	23.10±1.50 hi	5.00±0.53 de
	SA	214.27±8.04 a	257.66±29.71 ab	110.57±11.61 ef	466.47±48.17 ab	717.31±10.60 b	736.81±5.57 de	32.68±3.33 bc	9.64±0.71 a
	SA+MT	218.90±22.17 a	269.18±27.57 a	116.17±17.48 ef	501.76±21.62 ab	831.24±16.42 a	820.23±27.71 bc	25.12±1.50 ghi	7.80±0.65 b
s248	CK	116.38±20.15 bc	185.80±8.69 e	128.76±25.68 de	197.17±14.78 f	528.04±6.51 e	703.35±36.81 e	26.30±0.31 fgh	5.26±0.36 de
	SA	119.43±6.77 b	190.12±14.62 de	221.16±50.10 b	292.58±33.88 e	631.19±12.27 d	783.26±5.10 cd	36.22±1.07 a	9.97±1.56 a
	SA+MT	132.12±14.71 b	231.00±16.62 bc	309.42±37.58 a	381.00±46.67 cd	842.32±3.38 a	981.57±50.98 a	32.48±1.27 bcd	6.12±0.49 d
s272	CK	86.03±20.04 d	108.58±13.36 g	34.77±12.83 h	78.00±20.33 g	512.30±23.80 e	522.89±39.60 g	27.78±0.70 efg	6.32±0.35 cd
	SA	91.89±9.62 cd	112.91±23.24 g	37.83±10.20 h	112.16±54.69 g	601.15±36.19 d	604.28±35.48 f	35.31±4.12 ab	9.94±0.77 a
	SA+MT	115.66±16.39 bc	152.08±20.73 f	65.28±27.12 gh	139.44±36.56 fg	846.03±12.28 a	754.32±7.38 d	29.07±2.45 def	8.80±0.46 ab

注：不同小写字母表示存在显著差异（$P<0.05$）。

Note: Different small letters indicates significant difference ($P<0.05$).

及MDA含量分别提高6.82%、8.81%、17.34%和27.14%，根系中分别提高3.99%、43.80%、15.57%和57.31%。

在盐碱胁迫的基础上施加褪黑素后，所有材料的抗氧化酶活性进一步增强，MDA含量均明显下降。其中，耐盐碱材料s217叶片中SOD、POD和CAT活性分别提高0.97%、15.31%和40.09%，根系中分别提高8.71%、20.52%和34.84%，而叶片和根系中的MDA含量分别下降17.96%、33.05%；s224叶片中SOD、POD和CAT活性分别提高2.16%、5.07%和15.88%，根中分别提高4.47%、7.56%和11.32%，而叶片和根系中的MDA含量分别下降23.14%和19.07%。

在高度盐碱敏感材料中，s248叶片中SOD、POD和CAT活性分别提高10.62%、39.91%和33.45%，根系中分别提高21.50%、30.22%和25.32%，而叶片和根系中MDA含量分别下降10.33%和38.67%；s272叶片中SOD、POD和CAT活性分别提高25.86%、72.58%和40.74%，根系中SOD、POD和CAT活性分别提高34.69%、24.32%和24.83%，而叶片和根系中MDA含量分别下降17.69%和11.43%。

上述结果表明，盐碱胁迫显著诱导野生四倍体草莓抗氧化酶系统的激活，同时导致膜脂过氧化程度加剧，但不同材料的响应程度存在差异。除根系POD活性外，耐盐碱材料的抗氧化酶活性提升幅度高于高度盐碱敏感材料，表明耐盐碱材料对活性氧的清除能力更强，能够更好地缓解盐碱胁迫造成的氧化损伤。外源褪黑素处理进一步提高了SOD、POD和CAT活性，降低了MDA含量，表明褪黑素处理可通过增强抗氧化防御体系、减轻膜脂过氧化损伤，有效缓解盐碱胁迫对野生四倍体草莓的伤害，提高植株耐盐碱能力。

2.4 盐碱胁迫和外源褪黑素处理转录组分析

2.4.1 *差异基因筛选* 对耐盐碱材料s217、s224和高度盐碱敏感材料s248、s272的CK组、SA组和SA+MT组进行转录组测序和差异基因分析，结果（表3）显示，s224的盐碱处理与对照（s224SA *vs* s224CK）的差异基因最少，为116个；盐碱处理下，s217与s248（s217SA *vs* s248SA）的差异基因最多，为31 954个，表明遗传背景是影响基因表达差异的重要因素。此外，在盐碱胁迫结合外源褪黑素处理条件下，s272（272SA+MT *vs* s272SA）的差异基因最多，表明相比其他材料，s272在盐碱胁迫下对褪黑素调控更为敏感。

表3 不同处理下的转录组差异基因

Table 3 DEGs under different treatments

组 Group	差异基因总数 Total number of DEGs	上调 Up regulation	下调 Down regulation
s217SA *vs* s217CK	2982	1157	1825
s224SA *vs* s224CK	116	63	53
s248SA *vs* s248CK	879	529	350
s272SA *vs* s272CK	19 245	10 628	8617
s217SA+MT *vs* s217SA	1606	637	969
s224SA+MT *vs* s224SA	1789	1150	639
s248SA+MT *vs* s248SA	165	113	52
s272SA+MT *vs* s272SA	22 174	10 311	11 863
s217SA *vs* s248SA	31 954	15 550	16 404
s217SA *vs* s272SA	22 306	10 645	11 661
s224SA *vs* s248SA	33 023	16 051	16 972
s224SA *vs* s272SA	24 438	11 734	12 704

注：SA *vs* CK表示同一材料盐碱处理组（SA）与对照组（CK）之间的差异表达基因；SA+MT *vs* SA表示同一材料在盐碱胁迫条件下外源褪黑素处理组（SA+MT）与盐碱处理组（SA）之间的差异表达基因；SA *vs* SA表示盐碱处理条件下耐盐碱材料与高度盐碱敏感材料之间的差异表达基因。

Note: SA *vs* CK represents the DEGs between the salt-alkali treatment group (SA) and the control group (CK) of the same material; SA+MT *vs* SA represents the DEGs between the exogenous melatonin treatment under salt-alkali stress conditions group (SA+MT) and the salt-alkali treatment group (SA) of the same material; SA *vs* SA represents the DEGs between salt-alkali tolerant materials and highly salt-alkali sensitive materials under salt-alkali treatment conditions.

2.4.2 *GO富集分析* 为了进一步解析四倍体草莓对盐碱胁迫及褪黑素缓解盐碱胁迫的转录调控机制，对DEGs进行GO功能富集分析。结果（图3）发现，SA *vs* CK组中，富集到光合作用相关过程、氧化应激与防御反应相关过程、离子运输与离子稳态调控、氨基酸代谢、能量代谢及次生代谢途径重编程等，推测SA处理导致光合作用受到抑制、氧化损伤加剧以及离子平衡紊乱，而植株则通过激活防御和代谢调节机制应对盐碱逆境。SA+MT *vs* SA组中，富集到光合作用、氧化应激和能量代谢相关过程，推测褪黑素主要通过改善光系统功能、增强抗氧化能力和维持代谢稳态发挥缓解作用。在耐盐碱材料与高度盐碱敏感材料的比较中，主要富集到氧化胁迫应答、光系统和光捕获相关过程、能量代谢和茉莉酸

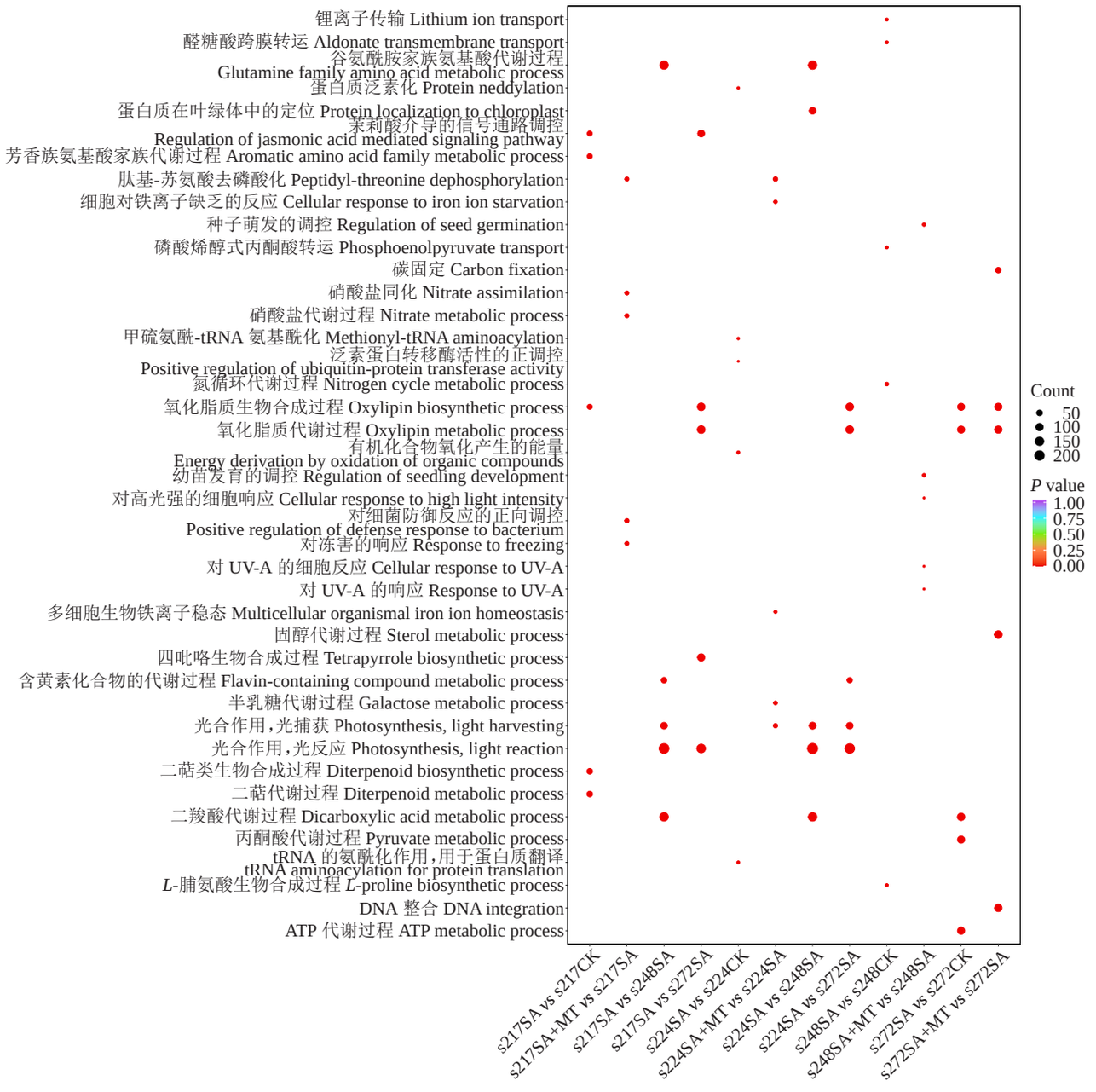


图 3　GO 富集分析

Fig. 3　GO enrichment analysis

信号调控，推测耐盐碱材料往往能够更有效地维持光合作用、增强抗氧化能力并协调能量供应，从而提高对盐碱逆境的适应能力。

2.4.3　KEGG 富集分析　为了阐明盐碱胁迫及褪黑素处理条件下草莓体内关键代谢与信号通路的变化，对 DEGs 进行了 KEGG 通路富集分析。结果（图 4）发现，SA *vs* CK 组主要富集于光合作用、碳代谢、氨基酸代谢、过氧化物酶体、谷胱甘肽代谢、植物激素信号转导，推测盐碱胁迫显著影响植物的能量代谢、光系统功能和氧化还原稳态，同时激活逆境应答和防御相关信号网络。SA+MT *vs* SA 组主要富集于谷胱甘肽代谢、过氧化物酶体、次生代谢产物生物合成、植物激素信号转导及 MAPK 信号通路等，推测褪黑素通过增强抗氧化防御能力、促进渗透调节物质积累、维持光合作用和调节激素信号网络，缓解盐碱胁迫造成的损伤。不同材料之间主要富集于植物激素信号转导次生代谢产物生物合成、脂质代谢及光合作用等通路，推测耐盐碱材料与高度盐碱敏感材料在信号感知、防御反应、膜系统稳定性及能量代谢等方面存在显著差异。

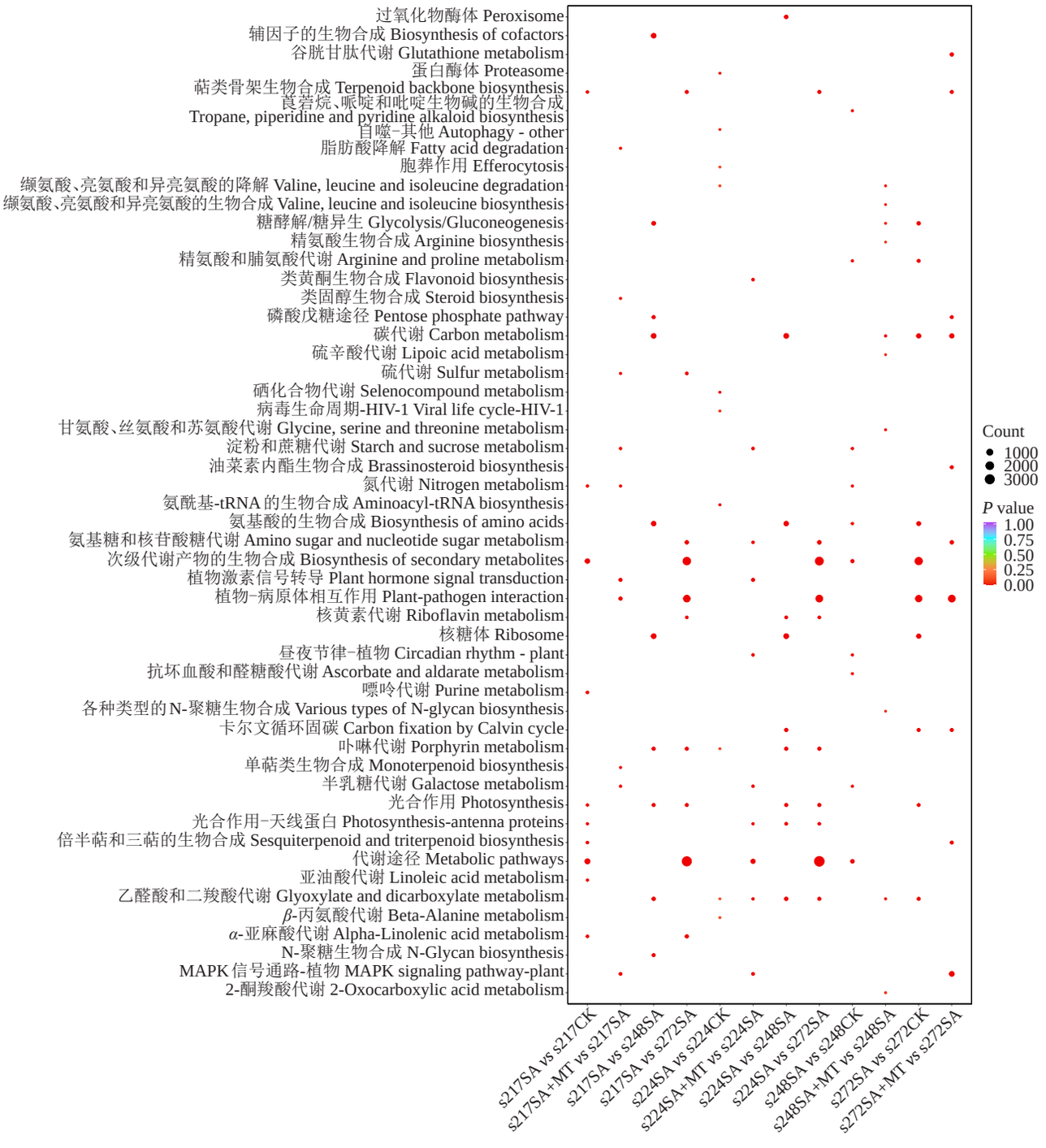


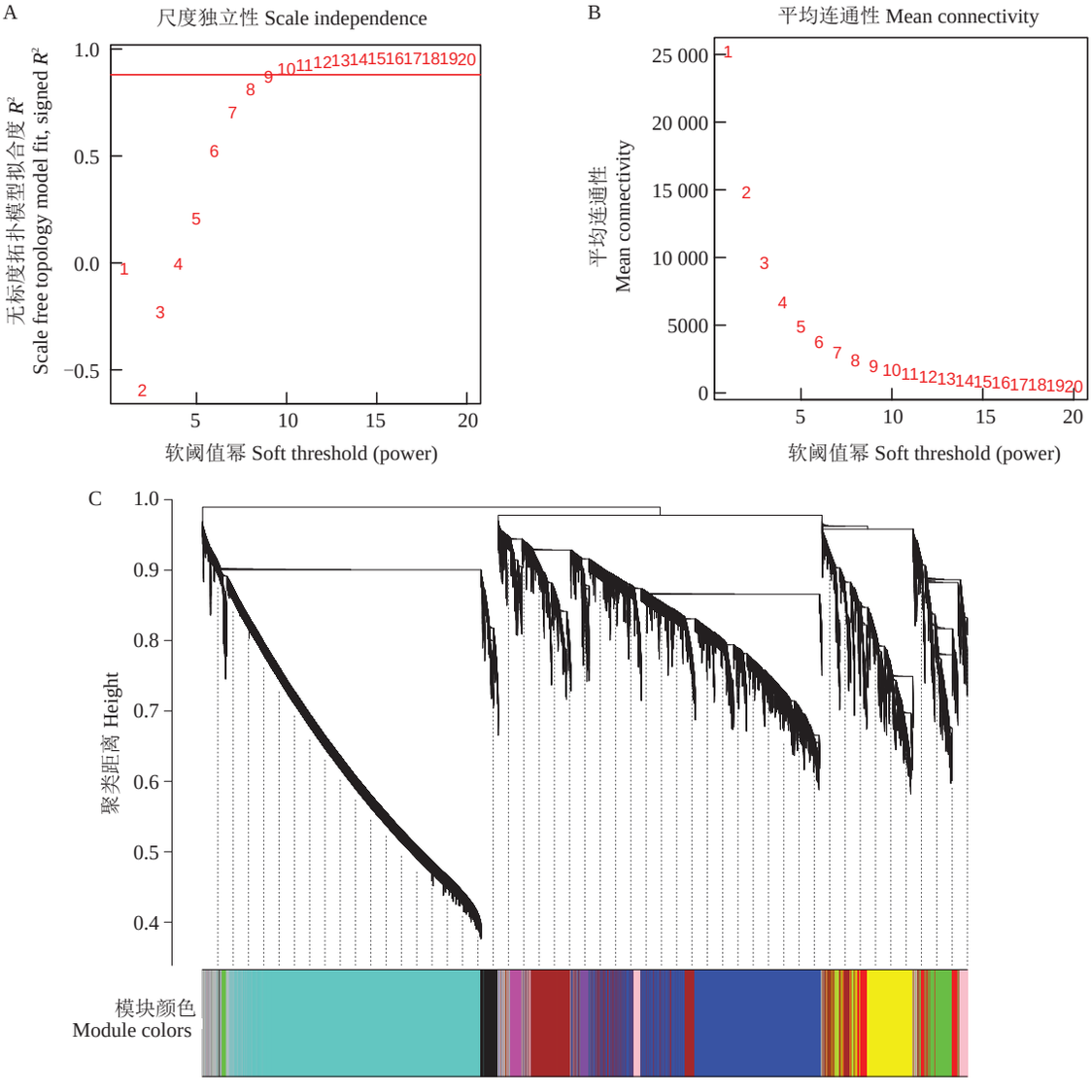
图 4 KEGG 富集分析

Fig. 4 KEGG enrichment analysis

2.4.4 WGCNA 分析 为分析盐碱和褪黑素处理与基因表达的关系，对转录组数据进行 WGCNA 分析。基于无标度拓扑模型拟合度 R^2（scale free topology model fit，signed R^2）和平均连通性（mean connectivity）确定最佳软阈值，结果显示当软阈值幂（soft threshold power）≥9 时，无标度拓扑模型拟合度达到平台并满足无标度网络要求，同时平均连通性显著降低并趋于稳定。因此，选择软阈值幂=9 用于后续 WGCNA 网络构建（图 5-A~B）。在选定软阈值构建加权共表达网络后，按照基因的表达相似性和网络拓扑特征将其分为若干共表达模块，以不同颜色表示。纵轴代表聚类距离，分支越近说明基因表达和网络连接模式越相似（图 5-C）。根据基因表达模式将 DEGs 分为 12 个模块，其中最小模块为

518 个基因，而最大模块则为 16 031 个基因。模块与种质间的相关性分析显示，purple 和 blue 模块与耐盐碱材料表现出较强的相关性；turquoise 模块主要与盐碱敏感材料 s248 显著相关；green 模块与 s272 盐碱胁迫显著相关；yellow 模块与 s272 褪黑素处理显著相关（图 5-D）。模块与表型数据的相关性分析显示 magenta 模块和 blue 模块均与抗氧化酶活性相关，red 模块、greenyellow 模块和 yellow 模块与株高、根长、地上部和地下部鲜质量等指标相关，red 模块和 green 模块与 MDA 含量相关（图 5-E）。

2.4.5　蛋白质-蛋白质互作网络分析　为筛选参与草莓盐碱胁迫响应的关键基因，对与耐盐碱材料相关的 blue 模块、purple 模块、与抗氧化酶活性相关的 magenta 模块以及与褪黑素处理相关的 yellow 模块的基因进行 GO 富集分析。富集到 78 个响应盐胁迫的基因，从中鉴定到丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）信号通路成员和多个类钙调神经磷酸酶 B 蛋白-CBL 互作蛋白激酶（CBL-CIPK）信号通路成员。蛋白质-蛋白质互作网络（PPI）分析结果（图 6）表明，MAPKKK18、MKK4、MKK9、MPK7、MPK9、MPK16、MPK19 形成 MAPK 信号通路，CBL、CIPK1、CIPK4、CIPK6、CIPK7、CIPK9、CIPK14、CIPK23、CIPK24 形

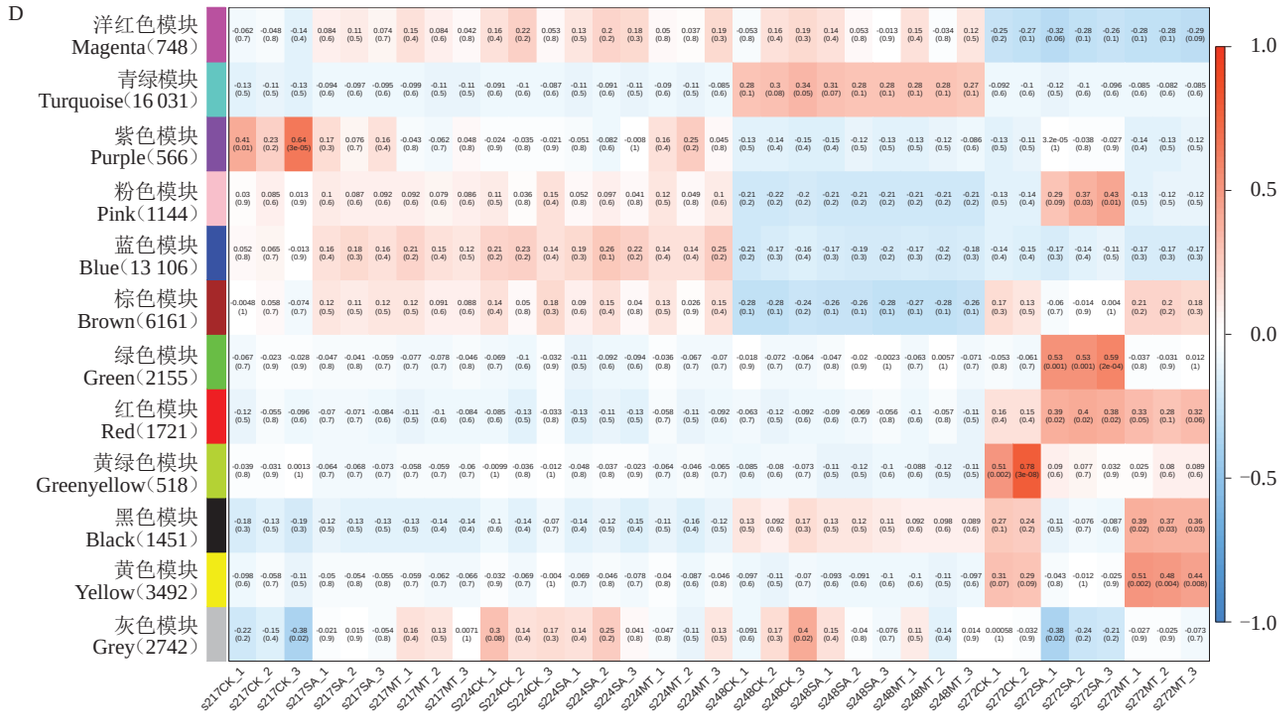


A. 无尺度容适曲线；B. 无尺度平均连通度曲线；C. 基因共表达模块聚类树；D. 模块与种质的相关性热图；E. 模块与表型的相关性热图。

A. Scale-free fitness curve; B. Scale-free average connectivity curve; C. Gene co-expression module clustering tree; D. Heatmap of the correlation between modules and germplasm; E. Heatmap of the correlation between modules and specific phenotypes.

图 5　WGCNA 共表达模块与材料及表型的相关性分析

Fig. 5　Correlation analysis of WGCNA co-expression modules with materials and phenotypic traits



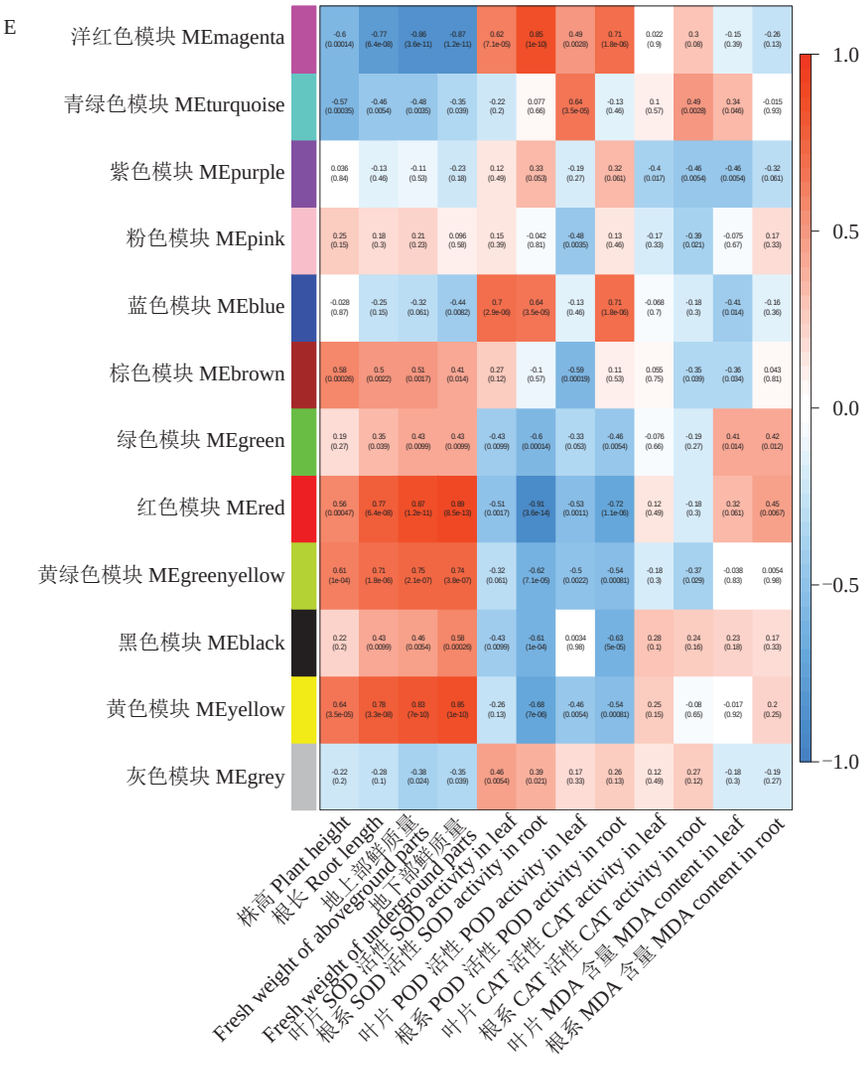


图 5 （续） Fig. 5 (Continued)

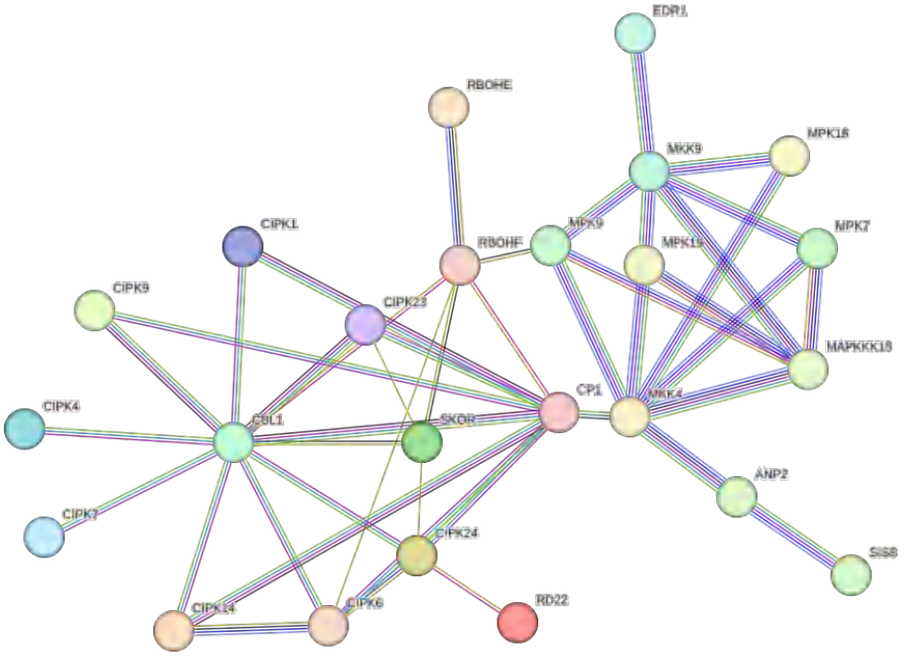


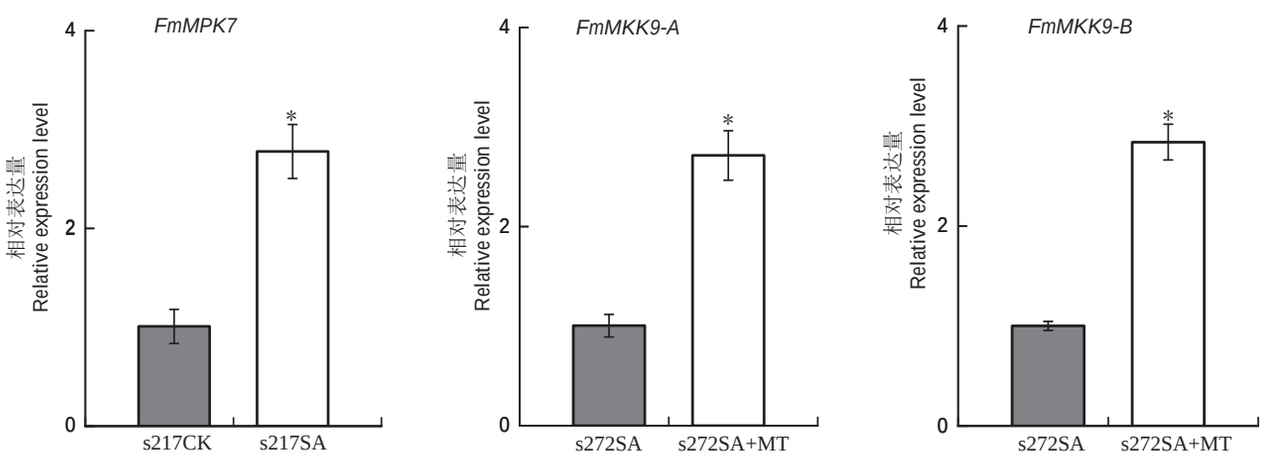
图 6　MAPK 信号通路与 CBL-CIPK 信号通路的联系

Fig. 6　Relationship between MAPK signaling pathway and CBL-CIPK signaling pathway

成 CBL-CIPK 信号通路，MAPK 通路与 CBL-CIPK 通路通过 ROS 调控相关的蛋白 RBOHF 和钙结合蛋白 CP1 相互联系，并且 CIPK 蛋白与 SKOR 存在互作关系，SKOR 是外向整流型钾离子通道蛋白，能将 K^+ 从根系细胞向木质部装载并进行长距离运输，从而维持植物体内钾离子稳态。

2.5　耐盐碱候选基因定量分析

基于 WGCNA 分析结果、PPI 网络和基因表达情况，共筛选获得 3 个候选基因，分别为 *FmMPK7*、*FmMKK9-A*、*FmMKK9-B*。如图 7 所示，实时定量 PCR（qRT-PCR）结果与 RNA-seq 表达趋势基本一致，表明转录组测序数据具有较高的可靠性。其中，*FmMPK7* 属于 blue 模块，主要与耐盐碱材料相关，在盐碱胁迫条件下显著上调表达；而 *FmMKK9-A* 和 *FmMKK9-B* 属于 yellow 模块，主要与高度盐碱敏感材料的褪黑素处理相关，在褪黑素处理后表达量明显增加，表明这 2 个基因可能参与草莓对盐碱胁迫的响应以及褪黑素介导的耐盐碱转录调控过



*代表差异显著（$P<0.05$）。

The * represents significant differences ($P<0.05$).

图 7　候选基因的相对表达量差异

Fig. 7　Relative expression level differences of candidate genes

程。

2.6 候选基因启动子顺式作用元件预测分析

为了进一步解析候选基因的潜在调控机制，对其启动子上游2 kb区域进行了顺式作用元件分析。如图8所示，3个候选基因*FmMPK7*、*FmMKK9-A*和*FmMKK9-B*的启动子上游均含有大量与转录调控、光响应、激素响应及逆境胁迫相关的顺式作用元件。其中，WBOX/WRKY元件是WRKY转录因子结合位点，参与活性氧（ROS）信号调控及MAPK信号转导过程；GT1元件与光诱导表达和盐胁迫响应密切相关；GATA元件参与光信号转导及叶绿体发育；DOF元件则与光合作用相关基因的表达调控有关。MYC元件参与盐胁迫、干旱胁迫和氧化胁迫响应，MYB元件与次生代谢调控、ROS清除及渗透调节过程相关。ROOT/NOD元件主要与根系形成养分吸收有关。此外，启动子区域中还检测到ARR1和ABRE/GARE元件，ARR1为细胞分裂素响应调节因子结合位点，ABRE/GARE主要参与脱落酸（ABA）和赤霉素（GA）信号通路调控。

2.7 候选蛋白的理化性质分析和亚细胞定位预测

对候选蛋白序列进行理化性质分析，FmMPK7、FmMKK9-A和FmMKK9-B蛋白分别由370、325和325个氨基酸组成，分子质量介于36.34~42.57 kDa；理论等电点（pI）均小于9，属弱碱性蛋白；平均亲水性（GRAVY）均为负值，为亲水性蛋白。亚细胞定位预测结果显示，FmMPK7蛋白主要分布在细胞质中，FmMKK9-A和FmMKK9-B蛋白主要分布在叶绿体中。

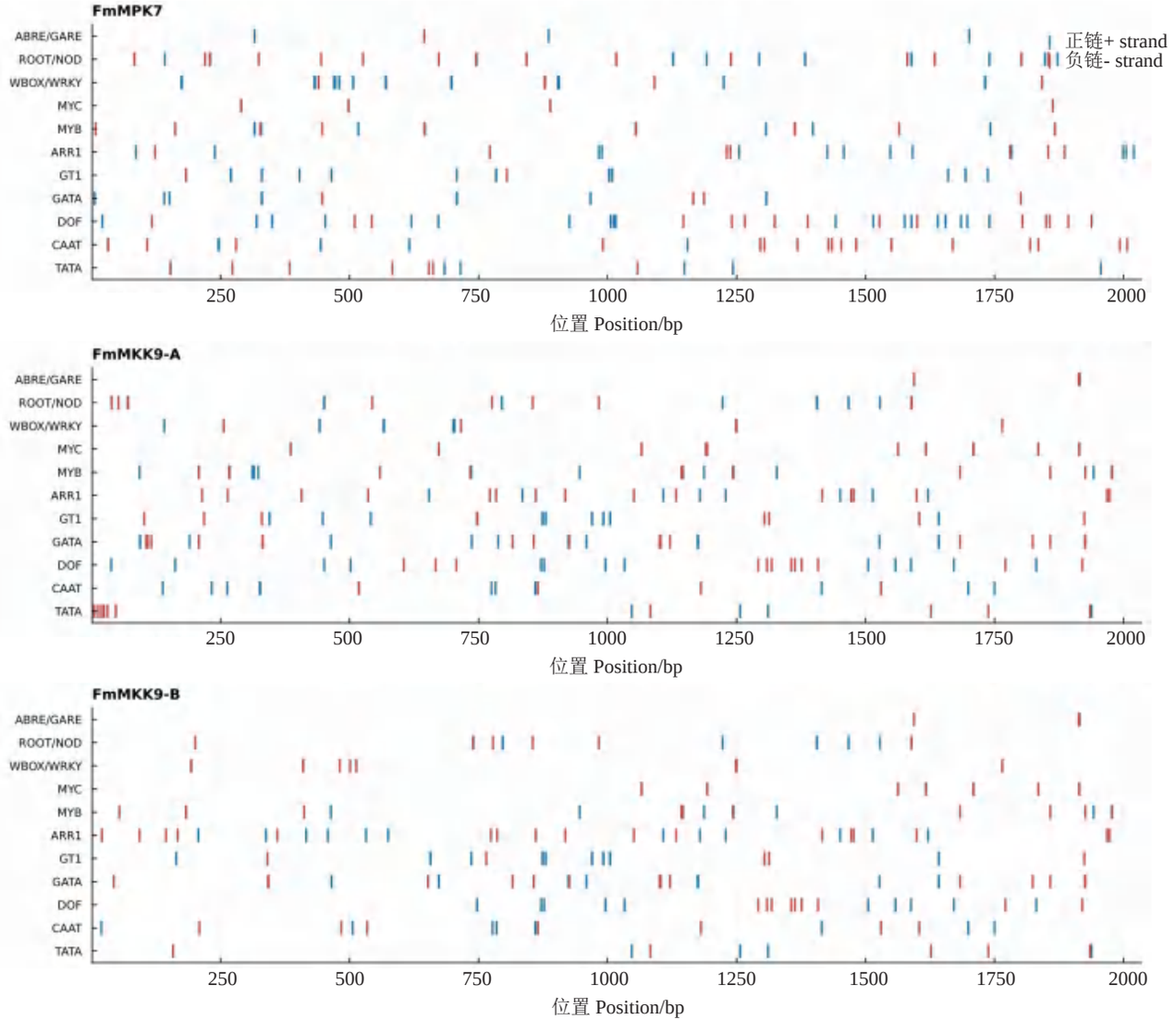


图8 候选基因上游启动子顺式作用元件

Fig. 8 Upstream promoter cis acting elements of candidate genes

3　讨　论

本研究以5个四倍体草莓种的36份种质材料为对象，选取2份耐盐碱材料s217（东方草莓）、s224（西南草莓）及2份高度盐碱敏感材料s248和s272（高原草莓），分别进行盐碱胁迫和盐碱胁迫施加外源褪黑素处理。结果显示，外源褪黑素处理能够提高敏感材料中SOD、POD和CAT活性，降低MDA含量，表明外源褪黑素处理能够通过增强抗氧化防御能力缓解盐碱胁迫造成的氧化损伤，与前人研究结果相符[26-27]。

在盐碱胁迫及盐碱胁迫施加外源褪黑素处理条件下，对4份野生四倍体草莓材料进行转录组测序分析。叶片为外源褪黑素的直接作用部位，更能反映其诱导的转录调控响应。因此，本研究采用叶面喷施褪黑素的处理方式，选择叶片作为转录组测序材料。结果表明，在盐碱胁迫施加外源褪黑素处理的条件下，耐盐碱材料与高度盐碱敏感材料之间的差异表达基因显著富集于MAPK信号通路。MAPK信号通路在细胞信号传导通路中占据关键地位，主要负责介导细胞外各类信号的胞内传递过程，同时在调控细胞应对外界应激、生长因子刺激以及其他各类环境信号刺激的生物学反应方面发挥核心作用[28-29]。研究发现，在二倍体森林草莓中*FvMAPK*基因在NaCl处理下上调表达，表明*FvMAPK*基因在草莓盐胁迫响应过程中具有重要作用潜力[30]。

蛋白质-蛋白质互作分析表明，MAPK信号通路与CBL-CIPK信号通路相互联系，且CIPK蛋白与SKOR存在互作关系。在信号转导方面，Ca^{2+}和ROS被认为是盐胁迫响应中的关键第二信使，盐刺激可诱导胞内Ca^{2+}浓度迅速升高，并激活钙依赖蛋白激酶（CDPK）、钙调神经磷酸酶B样蛋白（CBL）-CBL相互作用蛋白激酶（CIPK）及丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）等信号通路，进一步调控逆境相关基因表达，从而提高植物对盐碱胁迫的适应能力[31]。

对3个候选基因*FmMPK7*、*FmMKK9-A*和*FmMKK9-B*进行顺式作用元件预测分析，发现在候选基因启动子上游普遍存在与转录调控、逆境胁迫、激素调控相关的顺式作用元件，推测候选基因可能响应逆境胁迫且受激素信号调控。下一步将结合遗传转化、基因编辑、亚细胞定位以及分子互作验证等技术手段，对3个耐盐碱候选基因的生物学功能及其调控网络进行系统解析，深入挖掘MAPK与CBL-CIPK信号通路在离子稳态维持、活性氧清除及逆境信号传递中的协同调控机制，从而进一步阐明其在草莓耐盐碱性调控中的分子基础。

4　结　论

在野生四倍体草莓中筛选出2份耐盐碱种质和2份高度盐碱敏感种质。外源褪黑素处理可通过增强抗氧化防御能力、减轻氧化损伤有效缓解盐碱胁迫对草莓植株生长的抑制作用。初步筛选到3个耐盐碱候选基因*FmMPK7*、*FmMKK9-A*和*FmMKK9-B*，为草莓耐盐碱分子机制解析和分子育种提供了基因资源。

参考文献 References：

[1] 张庆华，曾祥国，韩永超，向发云，过聪，陈丰滢，顾玉成 . 盐胁迫对不同品种草莓苗期生长和生理特性的影响[J]. 湖北农业科学，2017，56(23)：4555-4558.
Zhang Qinghua，Zeng Xiangguo，Han Yongchao，Xiang Fayun，Guo Cong，Chen Fengying，Gu Yucheng. Effects of salt stress on the growth and physiological characteristics of different strawberry cultivars seedlings[J]. Hubei Agricultural Sciences，2017，56(23)：4555-4558.

[2] 曾洪学 . 盐胁迫条件下草莓的生理生态表现及提高草莓耐盐性的途径[J]. 黑龙江农业科学，2015(3)：43-46.
Zeng Hongxue. Physiological and ecological performance of strawberry under salt stress and the ways to improve the salt tolerance of strawberry[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences，2015(3)：43-46.

[3] Yadav M，Sharma R，Dhamija A，Yashveer S，Kumar S. Salinity stress and adaptive responses in strawberry：Mechanisms，microbial and nano-technological interventions，breeding strategies，and future perspectives[J]. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology，2026，27(7/8)：49-69.

[4] 肖雯丽，王含瑞，王梦亮，王俊红 . 盐碱胁迫下植物响应机制的研究进展[J]. 中国农学通报，2024，40(33)：78-85.
Xiao Wenli，Wang Hanrui，Wang Mengliang，Wang Junhong. Mechanisms of plant response to saline-alkali stress：A review[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin，2024，40(33)：78-85.

[5] Passa K，Gerakari M，Goufa M，Tani E，Papasotiropoulos V. Salinity stress in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)：Biological intervention strategies and breeding approaches for salt-tolerant cultivars[J]. Plants，2026，15(3)：432.

[6] Keutgen N，Pawelzik E. Effects of NaCl stress on plant growth，fruit quality and physiological characteristics of strawberry[J]. Scientia Horticulturae，2009，119(3)：266-270.

[7] Mimouni H，Van Wuytswinkel O，Richard G. Salt tolerance associated with antioxidant defense and osmotic adjustment in strawberry[J]. Journal of Plant Nutrition，2012，35：188-202.

[8] Li J P，Liu J，Zhu T T，Zhao C，Li L Y，Chen M. The role of mel-

atonin in salt stress responses[J]. International Journal of Molecular Sciences，2019，20(7)：1735.

[9] 赵长延，柳延涛，贾秀苹，刘胜利，雷中华，王鹏，朱志锋，董红业，吕增帅，段维，万素梅 . 盐碱胁迫下褪黑素对作物生理机制影响的研究进展[J]. 生物技术通报，2025，41(2)：18-29.
Zhao Changyan，Liu Yantao，Jia Xiuping，Liu Shengli，Lei Zhonghua，Wang Peng，Zhu Zhifeng，Dong Hongye，Lü Zengshuai，Duan Wei，Wan Sumei. Research progress in the effect of melatonin on crop physiological mechanism under saline-alkali stress[J]. Biotechnology Bulletin，2025，41(2)：18-29.

[10] Chen Y L，Li R K，Ge J F，Liu J G，Wang W B，Xu M F，Zhang R，Hussain S，Wei H H，Dai Q G. Exogenous melatonin confers enhanced salinity tolerance in rice by blocking the ROS burst and improving Na^+/K^+ homeostasis[J]. Environmental and Experimental Botany，2021，189：104530.

[11] 马媛媛，李刚，何旺，赵宝龙，鲁倩君，陈丽靓，刘迎 . 外源褪黑素对 NaCl 胁迫下草莓幼苗生理特性的缓解效应[J]. 新疆农业科学，2023，60(10)：2486-2495.
Ma Yuanyuan，Li Gang，He Wang，Zhao Baolong，Lu Qianjun，Chen Liliang，Liu Ying. Alleviating effect of exogenous melatonin on strawberry seedling under NaCl stress[J]. Xinjiang Agricultural Sciences，2023，60(10)：2486-2495.

[12] Zahedi S M，Hosseini M S，Abadía J，Marjani M. Melatonin foliar sprays elicit salinity stress tolerance and enhance fruit yield and quality in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)[J]. Plant Physiology and Biochemistry，2020，149：313-323.

[13] Acosta-Motos J R，Ortuño M F，Bernal-Vicente A，Diaz-Vivancos P，Sanchez-Blanco M J，Hernandez J A. Plant responses to salt stress：Adaptive mechanisms[J]. Agronomy，2017，7(1)：18.

[14] Qiao Q，Cao Q，Zhang R G，Wu M Z，Zheng Y，Xue L，Lei J J，Sun H，Liston A，Zhang T C. Genomic analyses provide insights into sex differentiation of tetraploid strawberry (*Fragaria moupinensis*)[J]. Plant Biotechnology Journal，2024，22(6)：1552-1565.

[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 Hesheng. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing：Higher Education Press，2000.

[16] Guo S Q，Hu X G，Yu F B，Mu L. Heat waves coupled with nanoparticles induce yield and nutritional losses in rice by regulating stomatal closure[J]. ACS Nano，2024，18(22)：14276-14289.

[17] Roberts A，Trapnell C，Donaghey J，Rinn J L，Pachter L. Improving RNA-Seq expression estimates by correcting for fragment bias[J]. Genome Biology，2011，12(3)：R22.

[18] Trapnell C，Williams B A，Pertea G，Mortazavi A，Kwan G，Van Baren M J，Salzberg S L，Wold B J，Pachter L. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. Nature Biotechnology，2010，28(5)：511-515.

[19] Klopfenstein D V，Zhang L S，Pedersen B S，Ramírez F，Warwick Vesztrocy A，Naldi A，Mungall C J，Yunes J M，Botvinnik O，Weigel M，Dampier W，Dessimoz C，Flick P，Tang H B. GOATOOLS：A python library for gene ontology analyses[J]. Scientific Reports，2018，8：10872.

[20] Chen C J，Chen H，Zhang Y，Thomas H R，Frank M H，He Y H，Xia R. TBtools：An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant，2020，13(8)：1194-1202.

[21] Savojardo C，Martelli P L，Fariselli P，Profiti G，Casadio R. BUSCA：An integrative web server to predict subcellular localization of proteins[J]. Nucleic Acids Research，2018，46(W1)：W459-W466.

[22] Rombauts S，Dehais P，Van Montagu M，Rouze P. PlantCARE，a plant *cis*-acting regulatory element database[J]. Nucleic Acids Research，1999，27(1)：295-296.

[23] Ye Y T，Lu Y，Wang G Y，Liu Y Q，Zhang Y T，Tang H R. Stable reference gene selection for qRT-PCR normalization in strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) leaves under different stress and light-quality conditions[J]. Horticulturae，2021，7(11)：452.

[24] Zhang Y T，Peng X R，Liu Y，Li Y L，Luo Y，Wang X R，Tang H R. Evaluation of suitable reference genes for qRT-PCR normalization in strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) under different experimental conditions[J]. BMC Molecular Biology，2018，19(1)：8.

[25] Livak K J，Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods，2001，25(4)：402-408.

[26] 张梦媛，王思玉，徐凤，刘一周，管延安，陈二影，黎飞飞，杨延兵，秦岭 . 外源褪黑素对盐碱胁迫下谷子萌发和幼苗抗氧化生理的影响[J]. 中国农学通报，2025，41(20)：60-66.
Zhang Mengyuan，Wang Siyu，Xu Feng，Liu Yizhou，Guan Yan'an，Chen Erying，Li Feifei，Yang Yanbing，Qin Ling. Effects of melatonin on seed germination and antioxidant physiology of foxtail millet seedlings under saline-alkali stress[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin，2025，41(20)：60-66.

[27] 李璟琦，李欣蕾 . 外源褪黑素对 NaCl 胁迫下向日葵种子萌发的影响[J]. 陕西农业科学，2024，70(3)：42-47.
Li Jingqi，Li Xinlei. Effects of exogenous melatonin on *Helianthus annuus* L. under NaCl stress[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences，2024，70(3)：42-47.

[28] Wang J，Pan C T，Wang Y，Ye L，Wu J，Chen L F，Zou T，Lu G. Genome-wide identification of MAPK MAPKK and MAPKKK gene families and transcriptional profiling analysis during development and stress response in cucumber[J]. BMC Genomics，2015，16(1)：386.

[29] Zhang M M，Zhang S Q. Mitogen-activated protein kinase cascades in plant signaling[J]. Journal of Integrative Plant Biology，2022，64(2)：301-341.

[30] Wei W，Chai Z Z，Xie Y G，Gao K，Cui M Y，Jiang Y，Feng J Y. Bioinformatics identification and transcript profile analysis of the mitogen-activated protein kinase gene family in the diploid woodland strawberry *Fragaria vesca*[J]. PLoS One，2017，12(5)：e0178596.

[31] Zhao S S，Zhang Q K，Liu M Y，Zhou H P，Ma C L，Wang P P. Regulation of plant responses to salt stress[J]. International Journal of Molecular Sciences，2021，22(9)：4609.