

野牛草叶片活性氧及其清除系统对水分胁迫的响应

钱永强¹, 孙振元^{1,*}, 韩 蕾¹, 巨关升¹, 刘俊祥¹, 曹 丽²

(1. 中国林业科学研究院林业研究所/国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091;

2. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193)

摘要:逆境条件下活性氧产生及其清除效率是衡量植物抗性的重要指标,而活性氧对植物组织的氧化伤害和抗氧化酶活性常因材料的遗传或生理差异性而发生变化。以同一基因型的野牛草(*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm 'texoka')克隆分株叶片为材料,采用 Hoagland 营养液培养,研究了 10%、20% 和 30% PEG-6000 模拟干旱胁迫下,野牛草叶片活性氧的产生、脂质过氧化和抗氧化酶活性变化规律。结果表明:随着 PEG-6000 浓度的增加及胁迫时间的延长,超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)的产生速率、过氧化氢(H_2O_2)和丙二醛(MDA)含量均显著增加;超氧化物歧化酶(SOD EC 1.15.1.1)、愈创木酚过氧化物酶(G-POD EC 1.11.1.7)和过氧化氢酶(CAT EC 1.11.1.6)活性呈先上升后下降的变化趋势;SOD、G-POD 与 CAT 活性达到峰值的时间随 PEG-6000 浓度的增加而提前。认为水分胁迫下,抗氧化酶可有效清除活性氧自由基,但随胁迫时间的延长,抗氧化酶活性受到抑制。

关键词:野牛草;水分胁迫;活性氧;脂质过氧化;抗氧化酶

Response of reactive oxygen and its scavenging system in leaves of *Buchloe dactyloides* (Nutt.) engelm to water stress

QIAN Yongqiang¹, SUN Zhenyuan^{1,*}, HAN Lei¹, JU Guansheng¹, LIU Junxiang¹, CAO Li²

1 Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry/Key Laboratory of Forest Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China

2 College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: The time course of reactive oxygen generation in plants under stress and the corresponding mechanisms of alleviation in plants are often used as an important indicator for evaluating stress tolerance. However, the quantification of the reactive agents and enzymes is complicated by genetic variations in experimental materials. Clones of 'texoka' buffalograss (*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm) were cultured in a hydroponic system to investigate the effects of reactive oxygen, lipid peroxidation, and antioxidase activities in leaves under physiological drought stress induced by high PEG-6000 concentration in the cultural solution. Superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2), and malondialdehyde (MDA) in the leaves were quantitatively regressive to the concentration of PEG-6000 over the time course. On the other hand, the activities of superoxide dismutase (SOD EC 1.15.1.1), guaiacol peroxidase (G-POD EC 1.11.1.7), and catalase (CAT EC 1.11.1.6) in the leaves showed pulses, increasing at the early stage and then decreasing gradually to the level of the control. The occurrence of peak activities of SOD, G-POD and CAT in the leaves was earlier with increased stress intensity. These results indicated that both the time course and quantities of the antioxidase in buffalograss are important for evaluating the defense response against oxidation damage induced by water stress. Therefore, sampling time as well as the quantification of the antioxidase has to be considered for better understanding the stress response system in buffalograss.

Key Words: *Buchloe dactyloides* 'texoka'; water stress; reactive oxygen species; lipid peroxidation; antioxidase

基金项目:国家高技术研究发展计划(863)资助项目(2007AA100105, 2006AA100109)

收稿日期:2009-05-28; 修订日期:2009-11-09

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sunzy@caf.ac.cn

植物体通过非酶反应与酶反应不断地产生活性氧(Reactive oxygen species, ROS),主要包括超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)以及氢氧自由基($\cdot OH$)等^[1-2],但在抗氧化酶及外源性和内源性抗氧化剂的协同作用下又不断地被清除,因而在正常生理情况下细胞内活性氧的产生与清除处于动态平衡状态。在干旱、高温等逆境胁迫条件下,植物体内活性氧大量积累,植物体内抗氧化酶系统,如超氧化物歧化酶(SOD)、愈创木酚-过氧化物酶(G-POD)、过氧化氢酶(CAT)等活性提高,非酶类抗氧化物质,如甘氨酸、抗坏血酸等^[2-3]含量也增加,从而使植物细胞内过多 ROS 被及时清除,避免或减缓了细胞膜脂质过氧化^[4],以及蛋白质^[5-6]、色素^[7-8]和核酸等的氧化损伤^[2]。

大量研究表明,不同的植物材料、水分胁迫方式及胁迫强度,植株细胞内活性氧的产生速率和抗氧化酶活性变化存在差异^[9-13]。而在以往的研究中,即使为同一植物材料及相同的胁迫条件,测定的结果也常常存在显著差异。这可能与试验材料基因型不同或生理状态不一致有关,在一定程度上影响了对逆境条件下植物活性氧产生与清除机制的揭示。因此,选择基因型完全一致且相同部位的植物组织为试验材料,对研究植物对逆境的生理代谢响应,结果更具客观性和准确性。

野牛草(*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm.)为禾本科野牛草属植物,原产北美中部温带和亚热带半干旱地区,具有极强的耐旱、耐热及抗病能力,是重要的暖季型草坪草之一,在园林绿化、边坡植被恢复等方面应用广泛。同时,野牛草也是典型的匍匐茎型克隆植物,适宜立地条件下,野牛草单株可在一个生长期通过克隆生长形成大量的匍匐茎和相对独立的同基因型克隆分株^[14],因此是研究植物抗逆生理机制的理想材料。目前有关野牛草的基础应用研究尚处于起步阶段,对野牛草耐旱适应性生理生化机制的研究报道较少^[15]。本研究拟以同一基因型的野牛草分株为材料,研究水分胁迫对野牛草叶片的脂质过氧化作用及抗氧化酶活性的影响,以期揭示野牛草响应逆境的生理代谢机制,并为探索野牛草的抗旱机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料培养与处理

试验于2006年3月—2008年6月在中国林业科学研究院科研温室及林业研究所人工气候室进行。从正常发育的野牛草幼苗中选取1株生长健壮的植株进行无性分株繁殖,以保证所用试验材料基因型完全相同。

选取具有4—5片完全展开叶且根系也基本一致的植株252株,移至人工气候室培养。洗净根系附着的基质,保留4cm长根系,将植株固定在种植板上,水培于含5L改良Hoagland营养液的水槽中,培养1周后,将植株随机均分成4组,培养在含不同PEG-6000(0(CK)、10%、20%、30%)的改良Hoagland营养液中。分别于培养至0、12、24、36、48、60、72h时,剪取完全展开的叶片,并去除叶片尖端及基部,保留叶片中间部分,用于各项生理指标测定。试验共设28个处理,每个处理重复3次,每个重复3个植株。试验期间每天更换1次营养液,pH=6.0,利用增氧气泵为根系供氧。白天/夜间温度(24—26℃/16—18℃),白天光照强度为 $400\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$,空气湿度为40%—60%。

1.2 方法

1.2.1 $O_2^{\cdot-}$ 含量的测定

根据Ke等^[16]的方法略加修改。称取0.2g新鲜叶片,提取液为50mmol/L的磷酸缓冲液(内含1%的PVP-40)(pH=7.8)。提取的上清液加入 $1\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸羟胺混匀后在25℃下保温60min,之后再加入 $17\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对氨基苯磺酸和 $7\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的1-萘胺在25℃下显色反应20min。

1.2.2 H_2O_2 含量的测定

根据Prochazkova等^[17]的方法稍加修改。称取0.2g新鲜叶片,加入5ml预冷的丙酮并加少量石英沙,在冷冻过的研钵中研磨至匀浆,匀浆液在1000g下离心10min,上清液中加入5%的硫酸钛和浓氨水,反应液在1000g下再离心10min后,弃上清液,沉淀加入 $2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫酸溶解后在415nm下比色。

1.2.3 丙二醛(MDA)含量测定

参照Buege等^[18]的方法略加修改。称取0.2g新鲜叶片,加入5ml含量为10%的三氯乙酸溶液和少量石

英沙,研磨至匀浆,然后在 12000g 下离心 15min,取上清液 2ml (对照用 2ml 蒸馏水),加入 2ml 0.6% 的 TBA,混匀后在沸水浴中反应 15min,迅速冷却后再离心,取上清液在 532nm 和 600nm 下比色。MDA 含量用如下公式计算:MDA ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) = $[(A_{532} - A_{600})/155] \times 10^3 \times \text{稀释倍数}^{[19]}$ 。

1.2.4 酶液的提取

称取 0.2 g 叶片加入适量 50 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 (pH7.8, 含 1% PVP-40) 及少量石英砂,于冰浴中研磨,4℃ 10000 r/min 离心 20 min,取上清液并定容至 5 ml,用于 SOD、G-POD、CAT 活性测定。

1.2.5 SOD 活性测定

按 Giannopolitis 等^[20] 的方法。3 ml 反应体系中含甲硫氨酸 13 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 氯化硝基四氮唑蓝 (nitrotertrazolium blue, NBT) 63 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 50mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 (pH7.8)。加入适量酶液后于 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 日光灯下照光 10 min,测定 560nm 的吸光值,以磷酸缓冲液作为空白对照。抑制 NBT 还原 50% 所需酶的量定义为 1 个酶活力单位(U)。

1.2.6 G-POD 活性测定

按 Kraus 等^[21] 方法进行。3 ml 反应混合液中含 0.2% 愈创木酚 0.95ml, 50mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH7.0) 1 ml, 酶液 50 μl , 0.3% H_2O_2 1ml。记录 1min 内 470nm 下的光吸收值变化。

1.2.7 CAT 活性测定

按 Kraus 等^[21] 的方法略作改动。3ml 反应混合液中含 0.15% 的 H_2O_2 1ml, 50mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ (pH7.0) 磷酸缓冲液 1.95 ml, 酶液 50 μl 启动反应,记录 3min 内 240nm 下的吸收值变化, CAT 活性单位以每分钟光密度下降 0.1 为 1 个酶活性单位(U)。

1.3 数据处理及统计分析方法

采用 SPSS15.0 进行方差分析及最小差异显著性检验 (LSD, $P < 0.05$), 所有测定值均表示为均值 $\pm$ 标准误差。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率、 H_2O_2 和 MDA 含量的影响

图 1-A 结果显示,对照叶片内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率稳定地保持在最低水平;而 PEG-6000 模拟水分胁迫下,叶片内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 合成速率明显升高。30% PEG-6000 胁迫条件下,叶片内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 合成速率呈直线上升趋势,24h 后,其产生速度上升趋势,至 60h 时, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 合成速率达到峰值,为 2.70nmol $\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 。20% PEG-6000 胁迫下,培养至 12 h 后, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 合成速率开始提高,也呈直线上升趋势,至 72h 时,达到 2.60nmol $\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$ 。10% PEG-6000 胁迫下,在培养至 36h 后,叶片内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 合成速率开始明显上升,至 72 h 时,叶片内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率为对照的 6.05 倍,但明显低于 20% PEG-6000 处理及 30% PEG-6000 处理。胁迫期间 (0—60h), 30% PEG6000 条件下野牛草叶片内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生的速率均显著高于其它处理 ($P < 0.05$), 而胁迫至 24h 后, 20% PEG6000 处理的叶片 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生的速率显著高于同期 10% PEG6000 的胁迫处理 ($P < 0.05$)。

对照叶片内 H_2O_2 含量同样稳定地保持在较低水平 (图 1-B), 水分胁迫下,叶片内 H_2O_2 含量变化与 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的含量变化基本一致,即随 PEG-6000 胁迫浓度的增加而上升,随胁迫时间的延长而提高。30% PEG-6000 条件下,叶片内 H_2O_2 含量迅速上升,胁迫至 48 h, 叶片内 H_2O_2 含量达到最高值,为 4.43 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$, 之后略有下降。20% PEG-6000 胁迫下,叶片 H_2O_2 含量在培养初期的 24 h 内缓慢上升,之后呈现快速上升趋势,直到培养至 60 h 后,其含量增加幅度趋缓。而在 10% PEG-6000 胁迫下,在培养至 36 h 后,叶片内 H_2O_2 含量明显上升。

MDA 是活性氧自由基对细胞膜脂质过氧化伤害的最终产物之一。30% PEG-6000 胁迫条件下,野牛草叶片内 MDA 含量开始迅速上升,培养至 36h 时,已由胁迫前的 1.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 提高至 5.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 。之后,MDA 积累增幅趋缓,72h 时,增至 6.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 。在 10% PEG-6000 和 20% PEG-6000 条件下,叶片 MDA 含量变化规律相似,在胁迫初期的 0—48h 内,MDA 含量增加均较缓慢,48 h 后,开始迅速增加,至 72h

时,分别达 $2.8 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 和 $6.0 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ (图 1-C)。

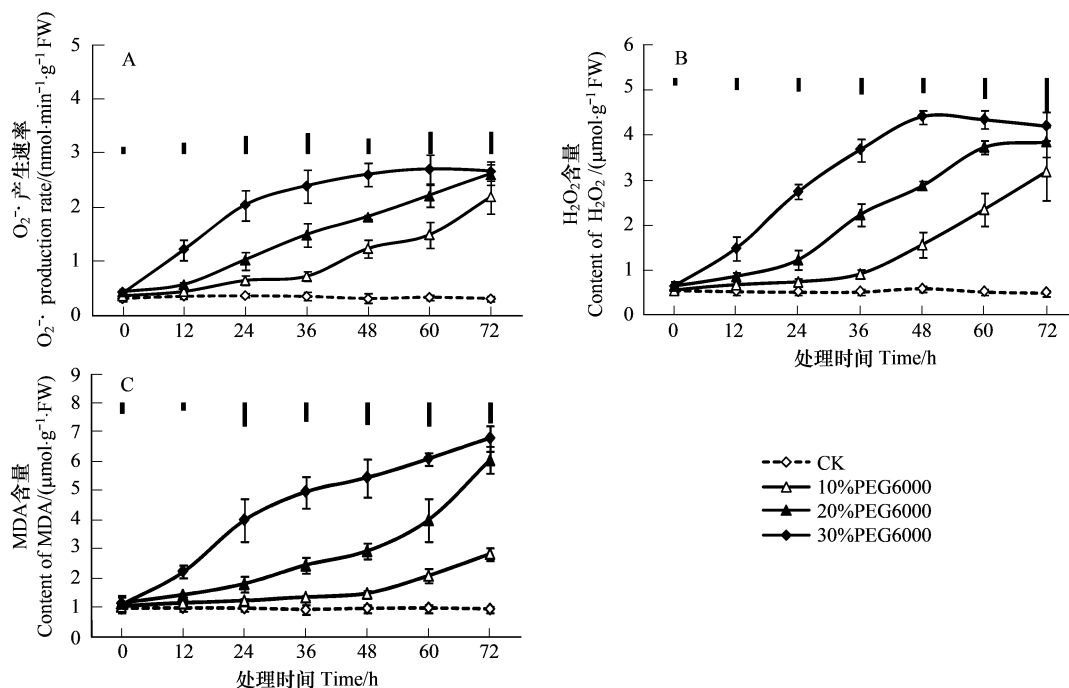


图1 水分胁迫下野牛草叶片 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率(A)、 H_2O_2 含量(B)和 MDA 含量(C)的动态变化

Fig. 1 $\text{O}_2^{\cdot -}$ production rate (A), content of H_2O_2 (B) and MDA (C) in the leaves of Buffalograss under water stress with PEG6000

注:图中垂直线表示 $\alpha=0.05$ 水平上最小显著差数($\text{LSD}_{0.05}$),下同

2.2 水分胁迫对 SOD、G-POD 和 CAT 活性的影响

如图 2-A 所示,水分胁迫下,SOD 活性呈先上升后下降的变化规律,在培养至 72h,SOD 活性降至对照水平;不同胁迫强度下,SOD 活性及其达到最大值的时间存在明显差别。30% PEG-6000 胁迫条件下,在培养初期的 12 h 内,叶片内 SOD 活性迅速增强,至 24h 时达到最大值,与对照活性强度的 1.27 倍($P<0.05$)。之后 SOD 活性呈缓慢下降趋势。20% PEG-6000 胁迫条件下,在培养至 36 h 时,SOD 活性达到峰值,为 $38.24 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。10% PEG-6000 胁迫条件下,SOD 活性达到最高值($35.50 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)的时间继续延迟,为培养至 48 h,之后,与其它处理一样表现出降低趋势。

水分胁迫下,叶片愈创木酚过氧化物酶(G-POD)活性呈现先上升后下降的变化规律,且随 PEG-6000 胁迫浓度的增加,G-POD 活性开始下降的时间延长(图 2-B)。30% PEG-6000 胁迫下,培养至 24 h 时,G-POD 活性达到最高值,为 $442.94 (\Delta\text{OD}_{470} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW})$,之后 G-POD 活性下降。20% PEG-6000 胁迫下,G-POD 活性最高值出现在 36 h,而 10% PEG-6000 胁迫下,G-POD 活性最高值出现在胁迫后 48 h。培养至 72 h 时,各处理的叶片 G-POD 活性均降至最低值,与对照相当。

叶片内 CAT 活性在水分胁迫下也表现出与 G-POD 活性变化规律,即胁迫初期上升,而后呈现下降趋势(图 2-C)。在胁迫至 72h,各处理植株叶片 CAT 活性已降至对照水平。由图 2-C 还可看出,随 PEG-6000 浓度的增加,叶片 CAT 活性达到峰值的时间被提前。30% PEG-6000、20% PEG-6000 以及 10% PEG-6000 条件下,叶片内 CAT 活性峰值分别出现在培养至 24、48h 和 60h。

3 讨论

水分胁迫下植物细胞内活性氧自由基代谢失衡引起自由基的积累和膜脂质过氧化,使膜系统的结构和功能受到损伤,是造成细胞伤害的重要原因之一^[22]。MDA 含量的高低表示了脂质过氧化作用的程度^[23]。本试验结果显示,随着水分胁迫强度的增加和胁迫时间的延长,野牛草叶片中 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率和 H_2O_2 的含量呈上

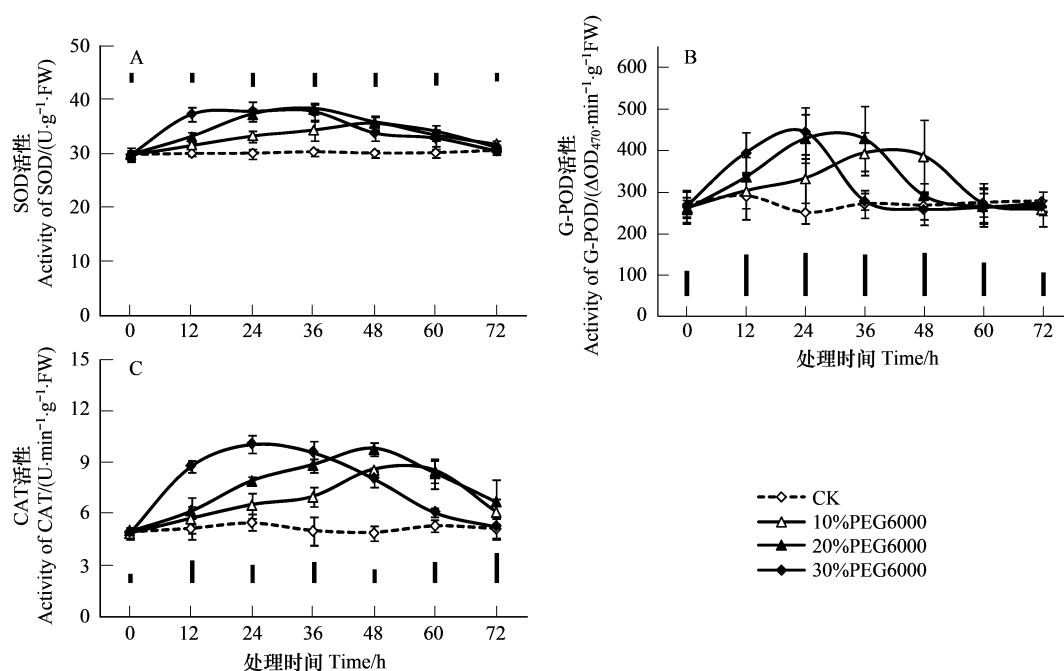


图2 水分胁迫下 SOD(A)、G-POD(B) 和 CAT(C) 活性的动态变化

Fig. 2 Activities of SOD (A), G-POD (B) and CAT (C) in the leaves of Buffalograss under water stress with PEG-6000

升趋势(图1),在重度胁迫下(30% PEG-6000), $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 积累量分别在胁迫至 60h 和 48h 达到峰值,这与水分或盐胁迫下,小麦^[24-25]、水稻^[26-27]、玉米^[28]及甘蔗^[29]等叶片 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率及 H_2O_2 含量变化趋势相似。叶片内 MDA 含量也随胁迫强度增大和胁迫时间延长呈上升趋势。说明在持续水分胁迫下,由于活性氧的产生和清除平衡被打破,水分胁迫条件下野牛草叶片内 $O_2^{\cdot-}$ 与 H_2O_2 保持较快的积累,MDA 含量持续升高,导致膜脂质过氧化程度加剧,质膜的稳定性持续降低,膜透性不断增大。

在逆境条件下植物体内活性氧的增加,除对细胞造成严重毒害外,还可作为防御化学信号分子,通过诱导体内其它信号的级联反应,启动植物体内抗氧化系统^[2,30],其中,SOD、CAT、G-POD 等是抗氧化系统中重要的活性氧清除酶。本试验结果显示,在水分胁迫初期,随着活性氧积累量的增加,SOD、CAT、G-POD 活性也随之上升。在 30% PEG-6000 模拟重度水分胁迫下,活性氧积累急剧增加(图 1-A,B),SOD、G-POD 和 CAT 活性也显著上升(图 2-A,B,C);随着胁迫时间的延长,SOD、G-POD 和 CAT 活性均先于活性氧达到峰值,之后其活性呈现下降趋势。这与在热激胁迫^[5]或水分胁迫^[31]下水稻叶片内上述抗氧化酶活性变化规律一致。但也有研究表明水分胁迫下 SOD、CAT 和 POD 活性呈持续上升趋势^[32]。这可能与材料本身特性或取材时间有关;也可能是由于水分胁迫下,尽管 SOD、CAT、G-POD 等活性氧清除酶活性迅速提高,但在胁迫后期, $O_2^{\cdot-}$ 与 H_2O_2 积累过量,而引起抗氧化酶合成下降或降解增强所致。

综上,野牛草叶片内 SOD、G-POD 以及 CAT 对 $O_2^{\cdot-}$ 与 H_2O_2 等活性氧的清除受水分胁迫强度及胁迫时间影响,在中度以下(20% PEG6000)水分胁迫下,抗氧化酶系统的这种清除作用是有效的,但当水分胁迫强度和超过一定值时,抗氧化酶活性下降,清除效率也随之降低。植物体内由此产生的过量活性氧引起膜脂过氧化,对植物造成不可逆的伤害,这可能是水分胁迫对植物造成伤害的原因之一。但活性氧积累诱发植物伤害的最低浓度以及活性氧诱导保护系统的机理等还有待深入研究。

致谢:感谢美国北达科他州立大学植物科学系 Dr. Li Deying 对本文写作的指导与帮助。

References:

- [1] Fornazier R F, Ferreira R R, Vitória A P, Molina S M G, Lea P J, Azevedo R A. Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities in sugarcane.

- Biologia Plantarum, 2002, 45(1): 91-97.
- [2] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science, 2004, 9: 490-498.
- [3] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science, 2002, 7: 405-410.
- [4] Foyer C H, Noctor G. Oxygen processing in photosynthesis: Regulation and signaling. New Phytologist, 2000, 146: 359-388.
- [5] Huang S Z, Huang X F, Lin X D, Zhan Y S, Liu J, Fu J R. Induction of chilling tolerance and heat shock protein synthesis in rice seedlings by heat shock. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2004, 30(2): 189-194.
- [6] Shah K, Kumar R G, Verma S, Dubey R S. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Science, 2001, 161: 1135-1144.
- [7] Salin M L. Toxic oxygen species and protective system of the chloroplast. Physiologia. Plantarum, 1987, 72: 681-689.
- [8] Amalo K, Chen G X, Asade K. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase implants. Plant Cell Physiology, 1994, 35(3): 497-504.
- [9] Wang B X, Sun L, Huang J C. The relationships between some free radicals and membrane damage and membrane lipid peroxidation induced by osmotic stress. Science in China (Series B), 1992, 22(4): 364-468.
- [10] Shi Z J, Du A M, Hu Z S, Xu D P. Effect of Soil Water Stress on Active Oxygen Metabolism of Chestnut Seedling Leaves. Forest Research, 2007, 20(5): 683-687.
- [11] Ge T D, Sui F G, Bai L P, Lv Y Y, Zhou G S. Effects of water stress on the protective enzyme activities and lipid peroxidation in roots and leaves of summer maize. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(5): 922-928.
- [12] Chen Y Q, Zhu J M, Ye B Y. Effects of drought stress on active oxygen damage and membrane lipid peroxidation of leaves in Mango (*Mangifera indica* L.). Life Science Research, 2000, 4(1): 60-64.
- [13] Xu S, He X Y, Chen W, Li J L, Zhang J M. Effects of heat acclimation on high-temperature stress resistance and heat-tolerance mechanism of *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne*. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(1): 162-171.
- [14] Qian Y Q, Sun Z Y, Han L, Ju G S. Physiological integration of photosynthates and changes of endogenous ABA and IAA in the connected ramets of *Buchloe dactyloides* (Nutt.) 'texoka' after supply of water-heterogeneity // Organizing committee of 2008 IGC/IRC conference eds. Multifunctional Grasslands in the Changing World (II). Hang Zhou: Committee of 2008 IGC/IRC Conference, 2008: 388.
- [15] Bushra I. Responses of *Buchloe Dactyloides* to Watering Frequency and Defoliation. Colorado State Unverity, 1995.
- [16] Ke D S, Wang A G, Sun G C, Dong L F. The effect of active oxygen on the activity of ACC synthase induced by exogenous IAA. Acta Botany Sinica, 2002, 44(5): 551-556.
- [17] Prochazkova D, Sairam R K, Srivastava G C, Singh D V. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. Plant Science, 2001, 161: 765-771.
- [18] Buege J A, Aust S D. Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology, 1978, 52: 302-310.
- [19] Zhang Y D, Bramlage W J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar rich plant tissue extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40: 1566-1570.
- [20] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology, 1997, 59: 309-314.
- [21] Kraus T E, Fletcher R A. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury. Is detoxification of active oxygen involved? Plant cell Physiology, 1994, 35(1): 45-52.
- [22] Wang A G. The oxygen metabolism of plant // Yu S W, Tang Z C eds. Plant physiology and molecular biology. Beijing: Chinese Scientific & Technological Press, 1998: 366-389.
- [23] Liu G Q, Fan W G. Physiological response of fruit tree on water stress. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2000, 13(1): 101-106.
- [24] Lv Q, Zhen R L. Membrane lipid peroxidation and degrease in wheat induced by drought and activated oxygen. Science in China (Series C), 1996, 26(1): 26-30.
- [25] Wang J G, Zhang C L. The inhibition of DNA synthesis induced by ROS and drought resistivity of wheat. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2000, 20(3): 376-381.
- [26] Jiang M Y, Yang W Y, Xu J, Chen Q Y. Osmotic stress-induced oxidative injury of rice seedlings. Acta Agronomica Sinica, 1994, 20(4): 733-738.
- [27] Jiang M Y, Guo S C. Oxidative stress and antioxidation induced by water deficiency in plants. Plant Physiology Communications, 1996, 32(2): 144-150.
- [28] Li C H, Yin F, Wang Q. Response of activated oxygen metabolism to water stress in different drought-tolerant maize hybrids and their parents. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(6): 1912-1919.
- [29] Zhang M Q, Yu S L. Mathematical analysis for the active oxygen metabolism in the Drought- stress leaves of sugarcane. Acta Agronomica Sinica,

1996, 22(6): 729-735.

- [30] Jiang M Y, Zhang J H. Water stress induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53 (379): 2401-2410.
- [31] Wang H Z, Ma J, Li X Y, Zhang R P, Wang R Q. Effects of Water Stress on Active Oxygen Generation and Protection System in Rice During Grain Filling Stage. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(7): 1379-1387.
- [32] Zhu H S, Huang P S. Water stress in soil and activated oxygen metabolism in rice. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1994, 17(2): 7-11.

参考文献:

- [5] 黄上志, 黄祥富, 林晓东, 张以顺, 刘军, 傅家瑞. 热激对水稻幼苗耐冷性及热激蛋白合成的诱导. *植物生理与分子生物学报*, 2004, 30(2): 189-194.
- [9] 王邦锡, 孙莉, 黄久常. 渗透胁迫引起的膜损伤与膜脂过氧化和一些自由基的关系. *中国科学(B)*, 1992, 22(4): 364-368.
- [10] 时忠杰, 杜阿朋, 胡哲森, 徐大平. 水分胁迫对板栗幼苗叶片活性氧代谢的影响. *林业科学研究*, 2007, 20(5): 683-687.
- [11] 葛体达, 隋方功, 白莉萍, 吕银燕, 周广胜. 水分胁迫下夏玉米根叶保护酶活性变化及其对膜脂过氧化作用的影响. *中国农业科学*, 2005, 38(5): 922-928.
- [12] 陈由强, 朱锦懋, 叶冰莹. 水分胁迫对芒果 (*Mangifera indica* L.) 幼苗细胞活性氧伤害的影响. *生命科学研究*, 2000, 4(1): 60-64.
- [13] 徐胜, 何兴元, 陈玮, 李建龙, 张剑岷. 热锻炼对高羊茅 (*Festuca arundinacea*) 和多年生黑麦草 (*Lolium perenne* L.) 抗高温能力的影响. *生态学报*, 2008, 28(1): 162-171.
- [22] 王爱国. 植物的氧代谢//余叔文, 汤章成主编. *植物生理与分子生物学*. 北京: 科学出版社, 1998: 366-389.
- [23] 刘国琴, 樊卫国. 果树对水分胁迫的生理响应. *西南农业学报*, 2000, 13(1): 101-106.
- [24] 吕庆, 郑荣梁. 干旱及活性氧引起小麦膜脂过氧化与脱脂化. *中国科学 C 辑*, 1996, 26(1): 26-30.
- [25] 王俊刚, 张承烈. 活性氧引起的 DNA 合成抑制与小麦的抗旱性. *西北植物学报*, 2000, 20(3): 376-381.
- [26] 蒋明义, 杨文英, 徐江, 陈巧云. 渗透胁迫诱导水稻幼苗的氧化伤害. *作物学报*, 1994, 20(4): 733-738.
- [27] 蒋明义, 郭绍川. 水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用. *植物生理学通讯*, 1996, 32(2): 144-150.
- [28] 李潮海, 尹飞, 王群. 不同耐旱性玉米杂交种及其亲本叶片活性氧代谢对水分胁迫的响应. *生态学报*, 2006, 26(6): 1912-1919.
- [29] 张木清, 余松烈. 水分胁迫下蔗叶活性氧代谢的数学分析. *作物学报*, 1996, 22(6): 729-735.
- [31] 王贺正, 马均, 李旭毅, 李艳, 张荣萍, 王仁全. 水分胁迫对水稻结实期活性氧产生和保护系统的影响. *中国农业科学* 2007, 40(7): 1379-1387.
- [32] 朱杭申, 黄丕生. 土壤水分胁迫与水稻活性氧代谢. *南京农业大学学报*, 1994, 17(2): 7-11.