

低温胁迫下脱落酸及合成抑制剂对 甘蔗幼苗抗氧化系统的影响

黄杏^{1,2}, 梁勇生^{1,3}, 杨丽涛^{1,2}, 陈荣发², 李杨瑞^{1,2}

(1 中国农业科学院甘蔗研究中心, 广西农业科学院甘蔗研究所, 农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室, 广西甘蔗遗传改良重点实验室, 广西 南宁 530007; 2 广西大学农学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西 南宁 530004; 3 南宁市蔬菜研究所, 广西 南宁 530021)

摘要:以甘蔗品种桂糖28号为材料,在低温胁迫前12 h用脱落酸(ABA)及合成抑制剂钨酸钠处理甘蔗幼苗,然后于不同时间采集叶片及幼嫩根系样品,测定低温胁迫下丙二醛(MDA)含量、活性氧(ROS)水平、抗氧化酶活性的变化。结果表明:低温胁迫提高了甘蔗幼苗抗氧化酶的活性。ABA处理的甘蔗幼苗ABA含量提高;抗氧化保护酶过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)的活性提高;超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)及膜脂过氧化产物MDA含量下降;而ABA合成抑制剂钨酸钠处理的结果则与之相反。说明ABA及合成抑制剂钨酸钠处理对低温胁迫下甘蔗幼苗抗氧化保护系统具有重要的调节作用。ABA对低温胁迫下甘蔗抗寒性的增强可能与ABA对抗氧化保护系统的诱导密切相关。

关键词:低温胁迫;脱落酸;钨酸钠;甘蔗;抗氧化酶活性

中图分类号:S566.1

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2013)03-0356-06

Effects of Absciscic Acid and Its Biosynthesis Inhibitor on the Activities of Antioxidant System of Sugarcanes Treated by Cold Stress

HUANG Xing^{1,2}, LIANG Yongsheng^{1,3}, YANG Litao^{1,2}, CHEN Rongfa², LI Yangrui^{1,2}

(1 Sugarcane Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Sugarcane Research Center, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement (Guangxi), Ministry of Agriculture, China/Guangxi Key Lab of Sugarcane Genetic Improvement, Nanning 530007, China; 2 State Key Laboratory of Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, Agricultural College of Guangxi University, Nanning 530004, China; 3 Nanning Institute of Vegetable Science, Nanning 530021, China)

Abstract: The sugarcane variety GT28 was employed as materials in this experiment. The young seedlings were sprayed with absciscic acid (ABA) and its biosynthesis inhibitor, sodium tungstate, before 12 h of cold treatment. Leaf +1 and tender root samples were taken at different stages of cold treatment. Malondialdehyde (MDA) contents, active oxygen species (ROS) levels and the activities of antioxidant enzymes were determined during cold stress. The results showed that the activities of antioxidant enzymes increased under cold stress. After ABA application, the content of ABA and the activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbic peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase (POD) and glutathione

收稿日期:2012-07-06 网络出版时间:2013-06-13

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20130613.1423.019.html>

作者简介:黄杏(1984—),女,助理研究员,博士;通信作者:杨丽涛(1961—),女,教授,博士,E-mail: liyr@gxu.edu.cn; 李杨瑞(1957—),男,教授,博士,E-mail: liyr@gxaas.net

基金项目:科技部国际合作项目(2009DFA30820);广西自然科学基金创新团队项目(2011GXNSFF018002);广西科学研究与技术开发计划项目(桂科产1123008-1);广西农科院团队项目(桂农科2011YT01)

reductase (GR) increased, while the contents of superoxide anion ($O_2^- \cdot$), H_2O_2 and MDA decreased in sugarcane seedlings. But when treated by sodium tungstate application, the results were quite the contrary. It can be concluded that ABA and its biosynthesis inhibitor have an important regulatory role in the antioxidant protection system in sugarcane seedlings under cold stress. The cold resistance in sugarcane enhanced by ABA application under cold stress may be associated with the induction of antioxidant protection system.

Key words: cold stress; abscisic acid; sodium tungstate; sugarcane; antioxidant enzymes activity

低温是影响植物产量、生长和发育及限制植物地理分布的重要环境因子^[1]. 低温胁迫下,植物可以通过感知刺激和信号传导,启动各种防御机制来响应和适应低温^[2]. 脱落酸(ABA)是低温逆境下的重要信号因子,低温胁迫下它与 ABA 结合蛋白的结合活性增强,从而感知和传递环境信号. ABA 作为一种胁迫信号,在调节植物体内物质的平衡及诱导胁迫抗性方面发挥着重要作用. 研究表明,ABA 处理可以提高植物在低温^[3]、盐胁迫^[4]和水分胁迫^[5]条件下抵抗能力,诱导相关抗性基因转录水平的表达以及增强它们在蛋白水平上的活性^[6]. 钨酸钠(Sodium tungstate, 简称“Tungstate”)是一种 ABA 合成抑制剂,它可以抑制 ABA 合成过程中 ABA 醛氧化酶,使之不能转化为 ABA,从而抑制 ABA 的合成,导致 ABA 信号功能发生障碍^[7]. 研究证实,ABA 的合成抑制剂(磷钨酸和氟啶草酮)抑制水分胁迫及盐胁迫对植物体抗氧化系统的诱导作用^[8-9],但对于低温胁迫下 ABA 及其合成抑制剂对甘蔗抗寒性的影响鲜见报道. 本试验利用外源 ABA 及合成抑制剂钨酸钠喷施甘蔗叶片,研究了 ABA 及合成抑制剂对低温胁迫下甘蔗品种 GT28 叶片和根系膜脂过氧化产物(MDA)、超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)、过氧化氢(H_2O_2)含量以及抗氧化保护酶活性等方面的影响,从增强和抑制 ABA 在低温胁迫中的作用2个角度揭示 ABA 在甘蔗抗寒生理的作用机理,为甘蔗抗寒栽培提供更多的理论和实践依据.

1 材料与方法

1.1 材料

甘蔗品种为桂糖 28 号,由广西农业科学院甘蔗研究所提供.

1.2 甘蔗培养及取样

试验于 2011 年 6—12 月在广西大学农学院甘蔗智能温室大棚进行. 将桂糖 28 号单芽种茎脱毒处

理后放进沙盘中进行沙培. 培养 3 周后,选取长势一致植株移栽至 Hoagland 营养液中(pH6.0),水培桶规格为 25 cm × 30 cm (直径 × 高),每桶 5 株,每桶装营养液 5 L,每 3 d 换 1 次营养液,为防止根系缺氧,使用充气泵每隔 1 h 充气 1 次,每次 10 min. 在智能温室大棚中(20~30 ℃)水培 1 个月,待甘蔗苗长至 5~6 叶时分组进行低温处理. 处理如下:①低温处理(对照)组;②低温 + 100 μmol/L ABA 处理组;③低温 + 5 mmol/L 钨酸钠处理组. ABA 及钨酸钠喷施在低温胁迫前 12 h 进行,低温处理组喷清水作对照,喷施程度以叶面喷施欲滴为度. 低温胁迫时,温度为 0 ℃,光强为 250~300 μmol · m⁻² · s⁻¹,12 h 光周期,相对湿度 60%~70%. 分别于低温处理后 0、24、48、72 h 采集甘蔗幼苗叶样(+1 叶)及幼嫩根系分装速冻于液氮中,后存于 -80 ℃ 冰箱中,供测定相关生理指标用.

1.3 测定项目与方法

内源激素含量测定采用酶联免疫吸附法^[10-11]测定. 酶联免疫试剂盒由中国农业大学化学控制实验室提供,使用 ANTHOS-2010 酶标仪测定. MDA 含量测定采用赵世杰等^[12]硫代巴比妥酸法. $O_2^- \cdot$ 产生速率测定参照郝建军等^[13]的方法; H_2O_2 含量测定参照 Brennan 等^[14]方法;过氧化氢酶(CAT)活性测定参照 Chance 等^[15]方法;过氧化物酶(POD)活性测定参照陈建勋等^[16]方法,以每分钟 $D_{470\text{ nm}}$ 减少 0.01 定义为 1 个酶活力单位(U);超氧化物歧化酶(SOD)活性测定参照张以顺等^[17]方法,以抑制 NBT 光化还原 50% 所需的酶量为 1 个酶活力单位(U);抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参照 Nakana 等^[18]方法;谷胱甘肽还原酶(GR)活性测定参照 Schaedle 等^[19]方法测定.

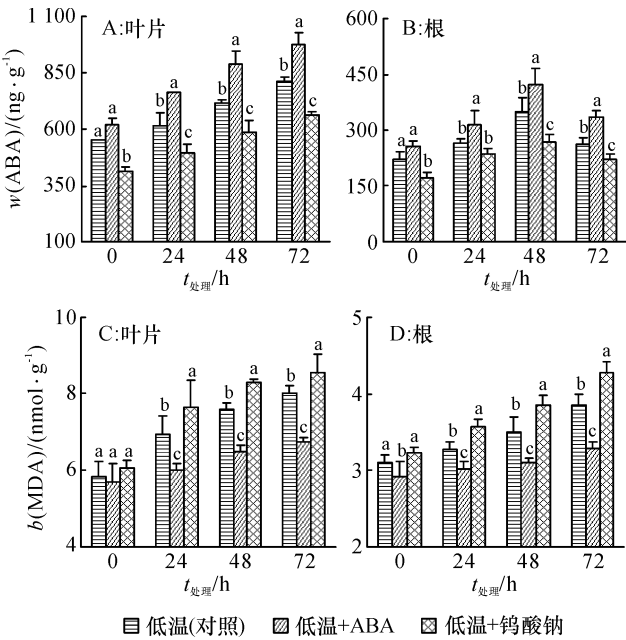
1.4 数据分析

采用 SPSS 15.0 软件进行数据方差分析,采用 LSD 法进行显著性检验,用 Excel 2007 进行数据计算和作图.

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下 ABA 及合成抑制剂对甘蔗幼苗 ABA 和 MDA 含量的影响

由图 1A 和 1B 可知,低温胁迫下,甘蔗叶片中 ABA 含量呈上升趋势,根系 ABA 含量先升高后降低,叶片 ABA 含量高于根系. 与低温处理相比,低温 + ABA 处理显著提高了甘蔗叶片和根系中 ABA 的含量,处理 0 ~ 72 h 叶片中分别提高了 11.9%、23.0%、24.4%、20.4%,根系中分别提高了 16.3%、19.3%、20.8%、28.3%;低温 + 钨酸钠处理则显著降低了甘蔗叶片和根系中 ABA 含量,在处理 72 h 后,根系和叶片中降幅分别为 18.0% 和 15.3%. 说明外喷 ABA 促进了低温胁迫下 ABA 含量的提高,而外喷钨酸钠则抑制了内源 ABA 的合成.



各图中相同时间不同处理柱子上凡是有一个相同小写字母者,示差异不显著($P>0.05$,LSD 法).

图 1 低温胁迫下 ABA 和钨酸钠对甘蔗幼苗 ABA 和 MDA 含量的影响

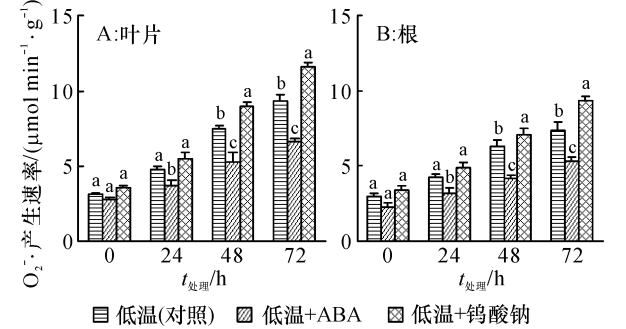
Fig. 1 Effects of ABA and sodium tungstate on ABA and MDA content in sugarcane seedlings under cold stress

MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物,能够影响细胞膜结构的稳定,干扰正常生理代谢. 从图 1C 和 1D 可以看出,低温胁迫下,甘蔗叶片和根系中 MDA 含量呈上升趋势,同一处理下叶片中 MDA 含量高于根系. 与低温处理相比,低温 + ABA 处理降低了甘蔗叶片和根系中的 MDA 含量,处理 0 ~ 72 h 叶片中降幅分别为 2.6%、13.7%、14.7%、15.8%,根系中降幅分别为 21.6%、10.4%、13.2%、16.7%;低温 + 钨酸钠处理与对照相比,则明显提高了甘蔗叶片和根

系中 MDA 含量;在处理 0 ~ 72 h,叶片中增幅分别为 10.8%、10.3%、9.5%、6.7%,根系中增幅分别为 9.2%、10.9%、11.7%、12.8%. 说明外喷 ABA 处理减少了低温胁迫下膜脂过氧化程度,外喷钨酸钠处理则加剧了膜脂过氧化程度.

2.2 低温胁迫下 ABA 及合成抑制剂对甘蔗幼苗 $O_2^- \cdot$ 产生速率的影响

在植物体内, $O_2^- \cdot$ 是其他活性氧如 H_2O_2 、羟自由基($OH \cdot$)等的来源,可代表植物体内的活性氧水平. 如图 2 所示,低温胁迫下甘蔗叶片和根系中 $O_2^- \cdot$ 产生速率均呈上升趋势,叶片中的上升幅度大于根系. 与低温(对照)处理相比,低温 + ABA 处理降低了甘蔗叶片和根系中 $O_2^- \cdot$ 产生速率,处理 72 h 时,叶片和根系分别比各自对照降低了 29.3% 和 28.2%,差异显著;低温 + 钨酸钠处理显著提高了甘蔗叶片和根系中 $O_2^- \cdot$ 产生速率,处理 24 ~ 72 h,在叶片中分别提高了 13.1%、19.4%、24.6%,在根系中分别提高了 14.6%、12.0%、26.7%.



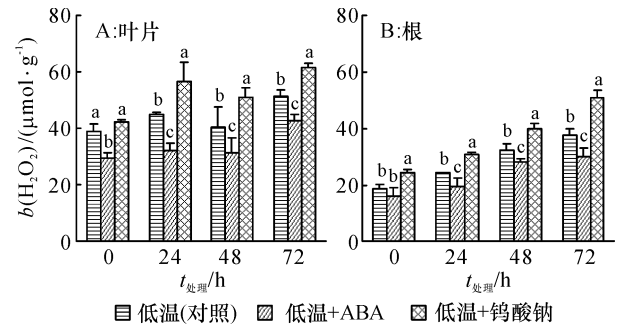
同一部位相同时间不同处理柱子上凡是有一个相同小写字母者,示差异不显著($P>0.05$,LSD 法).

图 2 低温胁迫下 ABA 和钨酸钠对甘蔗幼苗 $O_2^- \cdot$ 产生速率的影响

Fig. 2 Effects of ABA and sodium tungstate on production rate of $O_2^- \cdot$ in sugarcane seedlings under cold stress

2.3 低温胁迫下 ABA 及合成抑制剂对甘蔗幼苗 H_2O_2 含量的影响

H_2O_2 是 ROS 自由基之一,具有很强的氧化作用,它的积累会造成植物毒害. 图 3 显示,低温胁迫下,甘蔗叶片和根系中 H_2O_2 含量均呈上升趋势,但叶片的上升幅度较为平缓. 与低温(对照)相比,低温 + ABA 处理显著降低了甘蔗叶片和根系中 H_2O_2 含量,处理 72 h 时,叶片和根系中的降幅分别为 16.4% 和 19.7%;低温 + 钨酸钠处理提高了甘蔗叶片和根系中 H_2O_2 含量,处理 72 h 时,叶片和根系中的增幅分别为 20.2% 和 35.9%,差异显著. 说明随着低温胁迫时间的延长,甘蔗体内积累了大量 H_2O_2 且未能及时被清除,甘蔗受到毒害,正常生理代谢被干扰.



同一部位相同时间不同处理柱子上凡是有有一个相同小写字母者,示差异不显著($P>0.05$,LSD法).

图3 低温胁迫下 ABA 和钨酸钠对甘蔗幼苗 H_2O_2 含量的影响

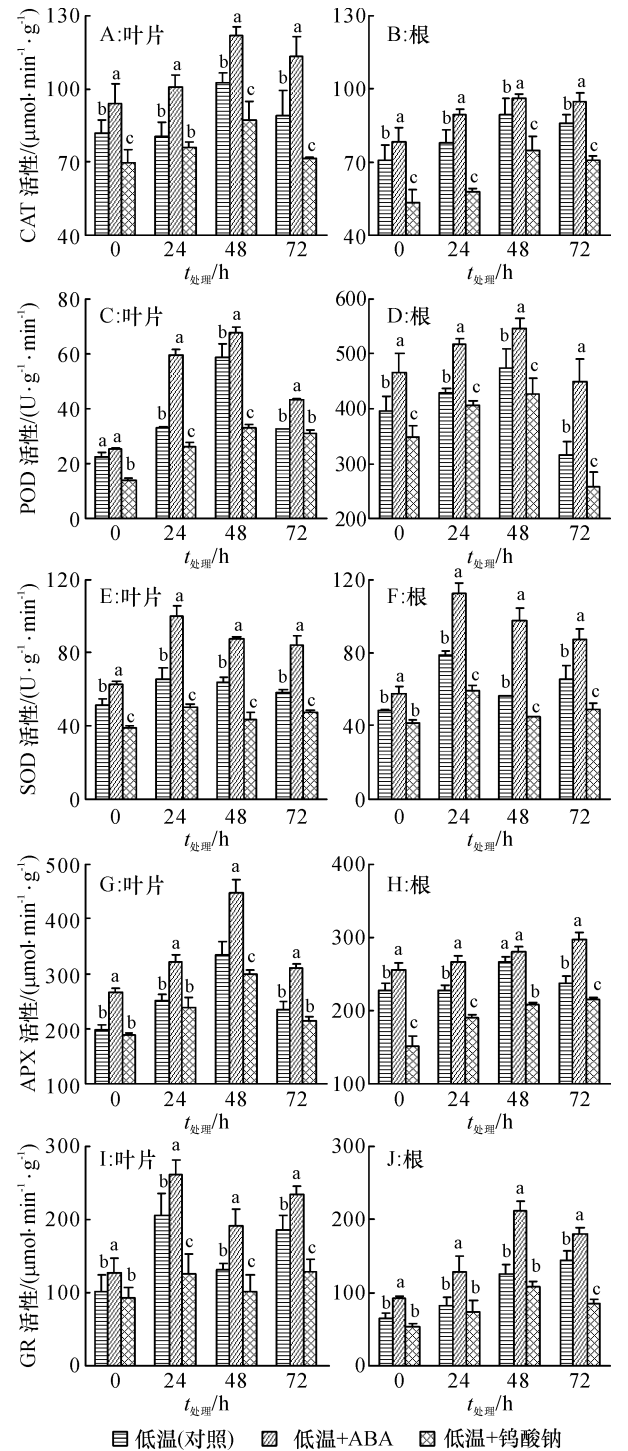
Fig.3 Effects of ABA and sodium tungstate on H_2O_2 content in sugarcane seedlings under cold stress

2.4 低温胁迫下 ABA 及合成抑制剂对甘蔗幼苗酶活性的影响

2.4.1 CAT 活性 CAT 是植物体内分解、清除 H_2O_2 的重要保护酶类. 由图 4A 和 4B 可知,低温胁迫下,甘蔗幼苗叶片中 CAT 活性呈先升高后降低的趋势,低温处理 48 h 达到最高;甘蔗根系中的 CAT 活性也呈逐渐上升趋势,同一处理下,叶片中的 CAT 活性要高于根系. 与低温处理相比,低温 + ABA 处理明显提高了甘蔗叶片和根系中的 CAT 活性,处理 48 h 时,叶片中 CAT 活性提高了 18.7%,根系中 CAT 活性提高了 7.4%. 低温 + 钨酸钠处理与对照比则显著降低了甘蔗叶片和根系中 CAT 的活性,低温胁迫 48 h 叶片和根系中 CAT 活性分别降低了 14.8% 和 16.9%.

2.4.2 POD 活性 从图 4C 和 4D 可看出,低温胁迫下,甘蔗叶片和根系中 POD 活性均呈先升高后降低的趋势,并在低温胁迫 48 h 达到最大;根系中的 POD 活性要高于叶片. 与低温处理相比,低温 + ABA 处理明显提高了甘蔗叶片和根系中的 POD 活性,低温胁迫 48 h 叶片和根系中 POD 活性增幅分别为 15.4% 和 15.5%,差异显著;低温 + 钨酸钠处理显著降低了甘蔗叶片和根系中 POD 活性,在低温胁迫 48 h,叶片和根系中 POD 活性降幅分别为 5.3% 和 18.6%.

2.4.3 SOD 活性 SOD 是植物体内最重要的防御活性氧伤害的酶类之一,它可以缓解逆境对植株造成的伤害. 低温胁迫下,甘蔗叶片和根系中 SOD 活性呈先升高后下降的趋势,并在低温处理 24 h 时,达到最大(图 4E 和 4F). 与低温处理相比,低温 + ABA 处理显著提高了甘蔗叶片和根系中的 SOD 活性,处理 0 ~ 72 h 叶片中 SOD 活性分别提高了 21.3%、52.3%、36.8%、44.9%,根系中 SOD 活性分别提高了 19.2%、43.2%、74.6%、33.9%. 低温 + 钨酸钠处



各图中相同时间不同处理柱子上凡是有有一个相同小写字母者,示差异不显著($P>0.05$,LSD法).

图4 低温胁迫下 ABA 和钨酸钠对甘蔗幼苗酶活性的影响

Fig.4 Effects of ABA and sodium tungstate on activity of enzymes in sugarcane seedlings under cold stress

理较对照显著降低了甘蔗叶片和根系中 SOD 活性,处理 0 ~ 72 h 叶片中分别降低了 25.3%、23.7%、32.3%、18.4%,根系中分别降低了 14.0%、24.8%、20.2%、25.6%.

2.4.4 APX 活性 APX 是植物中尤其是叶绿体中清除 H_2O_2 的关键酶. 图 4G 和 4H 表明,低温胁迫

下,甘蔗叶片中 APX 活性呈先升高后下降的趋势,在低温胁迫 48 h 达到最大;根系中 4 个处理时间的 APX 活性变化不大一致,低温 + ABA 和低温 + 钨酸钠处理表现为逐渐上升趋势,低温处理则呈降 - 升 - 降趋势. 相比之下,根系中 APX 活性要低于叶片. 与低温处理相比,低温加 ABA 处理明显提高了甘蔗叶片和根系中 APX 活性,处理 48 h 叶片和根系中的增幅分别为 33.9% 和 7.3%. 与对照组相比低温 + 钨酸钠处理降低了甘蔗根系和叶片中的 APX 活性,在低温处理 48 h 时,降幅分别为 7.8% 和 20.2%.

2.4.5 GR 活性 由图 4I 和 4J 可知,低温 + ABA 处理,甘蔗叶片中 GR 活性呈升 - 降 - 升变化;根系中的 GR 活性则是先升高后降低,在处理 48 h 时达到最高. 与低温(对照)相比,低温 + ABA 处理后显著提高了甘蔗叶片和根系中 GR 活性,在低温胁迫 48 h 时,叶片和根系中 GR 活性分别提高了 46.3% 和 69.8%. 低温 + 钨酸钠处理与对照比则降低了叶片和根系中 GR 活性,处理 0 ~ 72 h 叶片中分别降低了 13.5%、39.0%、22.4%、30.5%,根系中分别降低了 18.2%、8.7%、13.2%、40.2%.

3 讨论

ABA 作为一种胁迫激素,在植物抵御低温胁迫中起着重要的作用. 逆境胁迫下植物体内的 ABA 含量增加,而外施 ABA 处理能进一步促进其在植株内的合成,使其含量处于更高水平^[20-21]. 本研究中,甘蔗幼苗经低温胁迫后,内源 ABA 含量比胁迫前明显提高,外施 ABA 后也进一步增加了甘蔗幼苗叶片和根系中的 ABA 含量. 钨酸钠是一种 ABA 合成抑制剂,它可以抑制 ABA 合成过程中的醛氧化酶(AO),使 ABA 醛不能转化为 ABA,从而抑制 ABA 的生物合成^[7]. 周碧燕等^[22]在对柱花草的抗冷性研究中发现,低温胁迫下,同时喷施 ABA 和钨酸钠处理后,柱花草体内 ABA 含量下降;只喷钨酸钠处理时,低温引起的 ABA 积累效应被消除,与本试验结果相一致. 说明外喷钨酸钠处理通过抑制 ABA 的生物合成,降低了植物体内的 ABA 水平.

活性氧自由基是植物在光合、呼吸等生理代谢过程中不可避免的产物. 正常生理情况下,植物体内的活性氧自由基的产生和清除,在酶促和非酶促 2 类抗氧化保护系统的协同作用下处于动态平衡状态,不会损伤植物. 但在逆境(如低温)条件下,这种平衡会被打破,导致细胞膜脂过氧化和植物细胞的氧化损伤. 邓化冰等^[23]研究表明,低温胁迫下,水稻剑叶中的 H_2O_2 含量、 O_2^- 产生速率上升,引发了膜

脂过氧化产物 MDA 的提高和氧化胁迫. 徐田军等^[24]的研究结果进一步证实这一现象. 本研究发现,低温胁迫增加了甘蔗叶片和根系中 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 和 MDA 含量,这也与其他作物中的报道相一致^[25-28],钨酸钠处理进一步加剧了上述现象,ABA 处理则减少了它们在低温胁迫下的含量. 说明 ABA 能够减轻甘蔗在低温胁迫下由过多的活性氧造成的膜脂过氧化程度和氧化伤害.

由于活性氧的毒害作用,植物体内形成了一套清除过量自由基的抗氧化保护机制,其中保护酶类对活性氧和过氧化产物清除有着重要作用. SOD 是植物体内清除活性氧的第一道防线,可催化 O_2^- 自由基发生歧化反应,从而生成 H_2O_2 和 O_2 ,以清除 O_2^- . 植物体内 CAT、POD、APX、GR 等保护酶也都可以清除 H_2O_2 ,在抵御活性氧伤害上发挥着重要作用. 研究表明,植物抗氧化系统受 ABA 信号系统的诱导和调控^[6],而抗氧化保护系统的增强与胁迫的耐性密切相关. 在本研究中,低温胁迫下甘蔗体内抗氧化保护酶 CAT、POD、SOD、APX、GR 活性都迅速提高,这与 ABA 的迅速积累相关,但达到峰值后它们都开始出现不同程度的下降,推测是由于活性氧大量积累后,平衡状态被打破,细胞膜受损所致. 外施 ABA 处理后,几个抗氧化保护酶活性进一步提高;而用 ABA 合成抑制剂钨酸钠处理后,它们的活性明显降低. 因此,有理由认为 ABA 处理使低温胁迫下甘蔗抗寒力增强,这与它对抗氧化保护酶系统的诱导密切相关.

参考文献:

- [1] THOMASHOW M F. Plant cold acclimation: Freezing tolerance genes and regulatory mechanisms [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50: 571-599.
- [2] 李素丽,李志刚,杨雨涛,等. 低温对不同冷敏感甘蔗品种根系一些处理指标的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2012, 33(2): 178-182.
- [3] ANDERSON M D, PRASAD T K, MARTIN B A, et al. Differential gene expression in chilling-acclimated maize seedlings and evidence for the involvement of abscisic acid in chilling tolerance [J]. *Plant Physiol*, 1994, 105: 331-339.
- [4] HU X, JIANG M, ZHANG J, et al. Calcium-calmodulin is required for abscisic acid-induced antioxidant defense and functions both upstream and downstream of H_2O_2 production in leaves of maize (*Zea mays*) plants [J]. *New phytol*, 2007, 173(1): 27-38.
- [5] JIANG M Y, ZHANG J H. Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in abscisic acid- and water stress-

- induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings [J]. *Planta*, 2002, 215(6): 1022-1030.
- [6] 许树成,丁海东,鲁锐,等. ABA 在植物细胞抗氧化防护过程中的作用[J]. *中国农业大学学报*, 2008, 13(2): 11-19.
- [7] HANSEN H, GROSSMANN K. Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition [J]. *Plant Physiol*, 2000, 124(3): 1437-1448.
- [8] JIANG Mingyi, ZHANG Jianhua. Role of abscisic acid in water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings [J]. *Free Rad Res*, 2002, 36(9): 1001-1015.
- [9] BELLAIRE B A, CARMODY J, BRAUD J, et al. Involvement of abscisic acid-dependent and independent pathways in the upregulation of antioxidant enzyme activity during NaCl stress in cotton callus tissue [J]. *Free Rad Res*, 2000, 33(5): 531-545.
- [10] 李宗霖,周燮. 植物激素及其免疫检测技术[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1996.
- [11] LI Q, LI P, SUN L, et al. Expression analysis of β -glucosidase genes that regulate abscisic acid homeostasis during watermelon (*Citrullus lanatus*) development and under stress conditions [J]. *Plant Physiol*, 2012, 169(1): 78-85.
- [12] 赵世杰,刘华山,董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,1998:120-164.
- [13] 郝建军,刘延吉. 植物生理学实验技术[M]. 2版. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2001:187-189.
- [14] BRENNAN T, FRENKEL C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear [J]. *Plant Physiol*, 1977, 59: 411-416.
- [15] CHANCE B, MAEHLY A C. Assay of catalase and peroxidase [J]. *Methods Enzymol*, 1955, 12: 764-775.
- [16] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 2版. 广州:华南理工大学出版社,2006:72-73.
- [17] 张以顺,黄霞,陈云凤. 植物生理学实验教程[M]. 北京:高等教育出版社,2009:141-142.
- [18] NAKANA Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22: 867-880.
- [19] SCHAEDEL M, BASSHAM J A. Chloroplast glutathione reductase [J]. *Plant Physiol*, 1977, 59: 1011-1012.
- [20] LIU Jun, JIANG Mingyi, ZHOU Yifeng, et al. Production of polyamines is enhanced by endogenous abscisic acid in maize seedlings subjected to salt stress [J]. *J Integr Plant Biol*, 2005, 47(11): 1326-1334.
- [21] IQBAL M, ASHRAF M, REHMAN S, et al. Does polyamine seed pretreatment modulate growth and levels of some plant growth regulators in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) plants under salt stress [J]. *Bot Studies*, 2006, 47: 239-250.
- [22] 周碧燕,郭振飞. ABA 及其合成抑制剂对柱花草抗冷性及抗氧化酶活性的影响[J]. *草业学报*, 2005, 14(6): 94-96.
- [23] 邓化冰,史建成,肖应辉,等. 开花期低温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响[J]. *湖南农业大学学报*, 2011, 37(6): 581-585.
- [24] 徐田军,董志强,兰宏亮,等. 低温胁迫下聚糖萜合剂对玉米幼苗光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. *作物学报*, 2012, 38(2): 352-359.
- [25] 张蕊,高志明,吕俊,等. 外源水杨酸对水稻幼苗耐寒性的影响[J]. *江苏农业科学*, 2012, 40(6): 62-65.
- [26] 谷会,弓德强,朱世江,等. 冷激处理对辣椒冷害及抗氧化防御体系的影响[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(12): 2523-2530.
- [27] YANG Quanhai, LU Wei, HU Maolong, et al. QTL and epistatic interaction underlying leaf chlorophyll and H_2O_2 content variation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(3): 245-250.
- [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[J]. *生态学报*, 2006, 26(6): 1912-1919.

【责任编辑 周志红】