

活性氧参与氨基三唑诱导的香蕉果皮耐冷性研究

王海波^{1,2}, 庞学群³, 徐兰英², 黄椿颖², 张昭其²

(1 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520; 2 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642; 3 华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:采用过氧化氢酶 (CAT) 专一性抑制剂氨基三唑 (Aminotriazole, AT) 处理采后香蕉果皮, 以探讨 AT 对香蕉果实耐冷诱导效果及其对活性氧代谢的影响. 结果表明: 与对照香蕉果皮相比, AT 处理果皮的冷害指数较低、细胞膜透性增加缓慢; AT 处理诱导了果皮 H_2O_2 含量和 $O_2^- \cdot$ 产生速率的提高, 并维持了前 7 d 的高水平; AT 处理降低了 CAT 活性, 却增加了 APX 的活性, 导致后期活性氧含量迅速下降; 研究还发现, AT 处理还诱导了 NADPH 氧化酶的升高. 推测 AT 诱导的早期活性氧猝发可能作为信号分子参与了香蕉果皮的耐冷诱导.

关键词:氨基三唑; 冷害; 活性氧; 香蕉果皮

中图分类号: S668.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2011)03-0022-05

Reactive Oxygen Species Involved in the Induced Cold Resistance in Postharvest Banana Peels by Aminotriazole

WANG Hai-bo^{1,2}, PANG Xue-qun³, XU Lan-ying², HUANG Chun-ying², ZHANG Zhao-qi²

(1 Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China; 2 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 3 College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The effects of aminotriazole (AT) on cold resistance and reactive oxygen species (ROS) metabolism of postharvest banana fruit were investigated. The results showed that, compared to control peels, the chilling injury index of AT treated peels was lower and the increase of cell membrane permeability was slower. Moreover, AT treatment induced the increase of H_2O_2 content and $O_2^- \cdot$ production and maintained their high levels before 7 days. AT treatment reduced the activities of CAT while increased the activity of APX and NADPH oxidase in banana peels. It was suggested that the reactive oxygen species induced by AT might be involved in chilling resistance of banana peels as signal molecular.

Key words: aminotriazole; chilling injury; reactive oxygen species; banana peels

低温贮藏是延缓园艺产品采后成熟, 抑制采后病害发生的常用手段, 但香蕉果实属冷敏性水果, 贮藏温度低于 12 °C 时即发生冷害, 从而难于采用较低的温度以延长贮运期^[1]. 探讨采后果蔬冷害的生理机制及减轻果蔬贮运冷害的措施, 长期以来是果蔬采后生理学中的一个重要领域. 冷害低温引起采后果蔬自由基产生与清除系统平衡破坏, 导致细胞活

性氧的累积^[2]. 活性氧过去一直被认为是植物代谢过程中的毒副产品, 但近年来的研究表明, 植物在生物或非生物胁迫中, 活性氧是细胞信号转导和调控的重要组成部分^[3]. Prasad 等^[4]报道低浓度 H_2O_2 在常温下能诱导玉米幼苗中保护酶基因的表达, 模拟冷驯化, 提高了玉米幼苗的抗冷力. 茉莉酸甲酯 (Me-JA) 可诱导红豆杉 *Taxus chinensis* 悬浮细胞 H_2O_2 的产生, 同时诱导了抗逆相关酶脂氧合酶 (LOX) 和苯

收稿日期: 2010-11-16

作者简介: 王海波 (1981—), 男, 博士; 通信作者: 张昭其 (1965—), 男, 教授, 博士, E-mail: zqzhang@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (30471219); 广东省联合基金重点项目 (U0631004); 广东省自然科学基金团队项目 (06200670)

丙氨酸解氨酶(PAL)活性的增加,提高了其抗癌次级代谢物的活性^[5].油菜素内酯(BR)能诱导黄瓜幼苗 H_2O_2 含量在3 h~3 d的积累,也增强了其对光氧化、低温和黄瓜花叶病毒等胁迫的抗性^[6].氨基三唑(Aminotriazole, AT)被认为是植物过氧化氢酶(CAT)的不可逆专一性抑制剂,专一性抑制了玉米幼苗^[4,7-8]、烟草叶片^[9]、拟南芥叶片^[10]和土豆块茎^[11]的CAT活性,Prasad等^[4]用 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的AT处理玉米幼苗,可显著抑制CAT活性,导致内源 H_2O_2 含量迅速增加.Kang等^[10]也发现 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的AT显著抑制了拟南芥叶片总的CAT活性.本文利用AT可专一性抑制CAT的特性,采用AT处理采后香蕉果皮切片,以探讨活性氧代谢在采后香蕉果实耐冷诱导的作用.

1 材料与方法

1.1 材料及处理

香蕉品种为巴西 *Musa*. AAA Group cv. Brazil, 采自广州番禺,挑选约7成绿熟的香蕉,先后用 w 为0.1%的漂白粉和 w 为0.05%的施保功各浸泡5 min后,晾干备用.采用香蕉果皮离体培养的方法,取40个香蕉,每个香蕉切出10个约 $1\text{ cm}\times 1\text{ cm}$ 的正方形果皮小块,分成相等的两份,一份放入AT的溶液中浸泡1 min,作为AT处理;另一份放入蒸馏水中浸泡1 min,作为对照(CK).AT处理浓度为10、100、500和 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,根据果皮冷害指数,发现 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 诱导耐冷效果最好,所以,本文所指的AT处理均采用该浓度.经处理的果皮放置于含琼脂的培养皿中,每个培养皿8个香蕉片,在 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温箱培养1 d(取样作第0天),然后转入 $7\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温箱中培养,定期取样用于各生理指标测定,重复3次.

1.2 测定方法

1.2.1 冷害指数和果皮细胞膜透性的测定 冷害指数参照朱世江等^[12]的方法,稍有修改.果皮冷害症状分为5级,分级标准为:0级,果皮呈亮绿色,没有冷害症状;1级,有轻微水渍状冷害斑,占果皮总面积25%以下;2级,冷害面积占果皮总面积的比例小于50%;3级,冷害面积占果皮总面积的比例小于75%;4级,冷害面积占果皮总面积的75%以上.计算公式为:冷害指数 = $(0N_0 + 1N_1 + 2N_2 + 3N_3 + 4N_4)/(4N_T)$,式中 $N_0\sim N_4$ 分别为相应级别冷害的果皮数, N_T 为观察果皮的总数.果皮细胞膜透性的测定参照张昭其等^[13]的方法.

1.2.2 超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)的产生速率和 H_2O_2 含量的测定 $O_2^{\cdot-}$ 的产生速率参照王爱国等^[14]的方

法,结果以每分钟每克样品所含 $O_2^{\cdot-}$ 的量来表示($\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$). H_2O_2 含量的测定参照Zhou等^[15]的方法,取香蕉果皮1 g,加入5 mL w 为5%的三氯乙酸(TCA)和0.2 g聚乙烯吡咯烷酮(PVP),冰浴研磨,于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下 $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min,上清液用氨水调pH至8.4,并用pH 8.4的TCA定容至6 mL.取1 mL上清液, $30\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴30 min,加入1 mL显色液,测 $D_{500\text{ nm}}$,以1 mL上清液中加入 $10\ \mu\text{g}$ 过氧化氢酶作为空白对照.根据标准曲线计算出 H_2O_2 含量,以 $b/(\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1})$ 表示.显色液:4-氨基安替吡啉0.01 g,苯酚0.01 g,溶于50 mL $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH 5.6的 CH_3COOH 缓冲液中,加入5 mg过氧化物酶(POX).

1.2.3 CAT和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定 CAT活性的测定参照曾韶西等^[16]的方法.APX活性的测定参照沈文彪等^[17]的方法.

1.2.4 细胞膜微膜囊提取和NADPH氧化酶活性的测定 参照Morré等^[18]的方法提取细胞膜微膜囊.取香蕉果皮12 g,用60 mL提取液匀浆,然后用4层纱布过滤.滤出液 $9\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,上清液 $20\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心1 h,保留沉淀.沉淀用3 mL悬浮液稀释,得到粗的细胞膜微膜囊提取液.提取液含有: $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-mes(pH 7.8)、 $0.25\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $3\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA、 $9\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ PVP、 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 二硫苏糖醇(DTT)、 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯甲基磺酰氟(PMSF);悬浮液含有: $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 三羟甲基氨基甲烷-2-(N-吗啉)乙磺酸(Tris-Mes缓冲液, pH 7.8)、 $0.25\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl、 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTT、 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PMSF.

NADPH氧化酶活性的测定:按Sagi等^[19]的方法进行,采用上述细胞膜微膜囊,通过NADPH氧化酶产生的活性氧氧化XTT[2,3-Bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-Tetrazolium-5-carboxanilide inner salt]的量来表示该酶活性.反应体系1 mL包括 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl缓冲液(pH 7.4)、 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ XTT、 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NADPH和 $20\ \mu\text{L}$ 的细胞膜微膜囊,加入NADPH启动反应,XTT减少量通过 $D_{470\text{ nm}}$ 检测.本底值(Background production)在反应系统中加入50 U超氧化歧化酶(SOD)测得.酶活性可通过XTT比吸收系数 $2.16\times 10^4\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 换算成活性氧的量来表示,计量单位为: $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下AT对香蕉果皮冷害指数和细胞膜透性的影响

从图1可知,香蕉果皮在 $7\text{ }^\circ\text{C}$ 下培养时,冷害指

数从第4天开始迅速增加,表明香蕉果皮在7℃条件下放置4d后开始出现冷害症状. AT处理的冷害指数比对照低,说明适当浓度的AT处理能够减轻冷害温度下采后香蕉果皮冷害症状的发生. 从图2a可知,采后香蕉果皮在7℃条件下培养时,果皮细胞膜透性呈逐渐上升趋势,AT处理的果皮细胞膜透性在第7天才开始上升,且一直比对照低,表明AT处理能在一定程度上延缓细胞膜透性的上升.

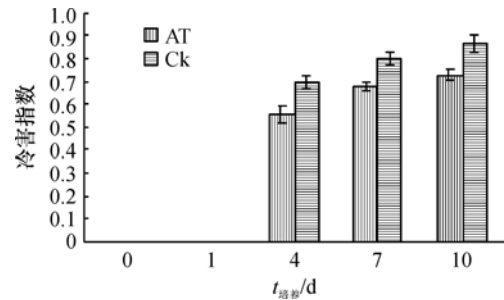


图1 AT处理对7℃条件下香蕉果皮冷害指数的影响

Fig. 1 Effect of AT treatment on chilling injury index of banana peel at 7℃

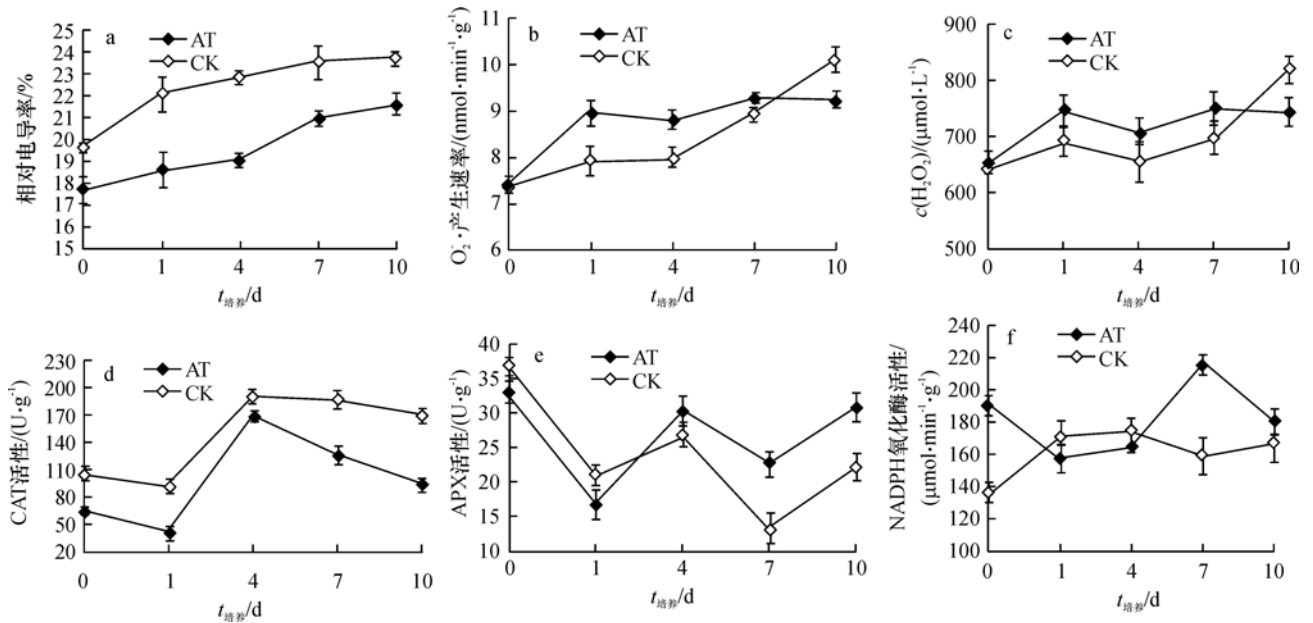


图2 AT处理对7℃条件下香蕉果皮生理指标的影响

Fig. 2 Effect of AT treatment on physiological indexes of banana peel at 7℃

2.2 低温胁迫下AT对采后香蕉果皮 $O_2\cdot^-$ 产生速率和 H_2O_2 含量的影响

从图2b可知,在7℃低温培养过程中,对照香蕉果皮的 $O_2\cdot^-$ 产生速率呈逐渐上升的趋势,与对照相比,AT处理的 $O_2\cdot^-$ 产生速率在前期(1、4d)显著高于对照,而后期(7d后)则比对照低,第7d两者差异不大.说明AT处理能显著诱导采后香蕉果皮 $O_2\cdot^-$ 的产生并维持前期的高水平.从图2c可看出,在7℃低温培养过程中, H_2O_2 含量的变化趋势与 $O_2\cdot^-$ 产生速率的变化趋势类似,AT处理的 H_2O_2 含量在前期比对照高,后期则比对照低.说明AT处理能诱导采后香蕉果皮 H_2O_2 的产生并维持贮藏前期的高水平.

2.3 低温胁迫下AT对采后香蕉果皮CAT和APX活性的影响

从图2d可知,经AT处理后的香蕉果皮在20℃条件下培养1d降低了果皮CAT活性.在7℃低温培养过程中,对照果皮CAT活性呈先下降后上升再

下降的趋势.在整个低温培养过程中,AT处理果皮的CAT活性都比对照低.说明AT处理能抑制香蕉果皮的CAT活性.从图2e可知,经AT处理后的香蕉果皮在20℃下培养1d也略微降低了果皮APX活性.在7℃低温培养过程中,对照果皮的APX活性呈波浪形变化趋势.AT处理果皮的APX活性在0和1d时比对照稍低,4~10d时都比对照高.说明AT处理在贮藏中后期可维持较高的APX活性.

2.4 低温胁迫下AT对采后香蕉果皮NADPH氧化酶的影响

从图2f可知,AT处理的香蕉果皮NADPH氧化酶活性除第1和4天比对照稍低外,其余时间均比对照高,而对照果皮在低温下NADPH氧化酶活性变化不大.说明AT处理能在一定程度上诱导低温下香蕉果皮NADPH氧化酶活性的升高.

3 讨论

AT又名杀草强,为杂环类灭生性内吸传导型茎叶处理除草剂^[20],大量食用对动物具有潜在的致癌

作用,对人的危害尚在研究中^[21]. AT 被认为是植物过氧化氢酶的不可逆专一性抑制剂,可专一性抑制玉米幼苗^[4,7-8]、烟草叶片^[9]、拟南芥叶片^[10]和土豆块茎^[11]的 CAT 活性. Prasad 等^[4,8]在玉米幼苗生长中的研究表明,适宜浓度的 AT 对正常的幼苗生长没有损伤,反而能显著抑制 CAT 活性,提高其抗冷性. 本文利用 AT 专一性抑制 CAT 活性的特性,探讨了 AT 处理诱导香蕉果皮抗冷性的效果及其对果皮活性氧代谢的影响.

冷害指数是反应植物冷害严重程度的一个重要指标,细胞膜透性的显著上升通常被认为是冷害发生的重要标志之一^[22]. 本文结果表明,香蕉果皮在 7 °C 低温条件下培养,随着细胞膜透性的提高,果皮冷害指数也逐渐提高,而经 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AT 处理后,香蕉果皮在 20 °C 下培养 1 d 能降低随后果皮在低温下的冷害指数,减轻冷害症状的发生,并延缓香蕉果皮细胞膜透性的升高,说明适宜浓度的 AT 处理能有效提高采后香蕉果实的耐冷性.

长期以来活性氧被认为是对植物细胞产生毒害作用的代谢产物,但近年来的研究发现,活性氧作为信号分子在植物的生物胁迫(抗病性)、非生物胁迫、气孔关闭调节、植物根系的激素信号和向重性信号等方面都起着重要作用^[23]. 例如,在拟南芥中, H_2O_2 处理能够模仿冷驯化,促进冷驯化反应相关基因的表达,从而提高了拟南芥的耐冷性^[24]. 近年来许多研究发现,植物通过 NADPH 氧化酶在短时间内大量产生活性氧信号分子以激发钙信号来应对各种逆境胁迫. 例如,当细胞受到病原菌刺激时,细胞质膜上的 NADPH 氧化酶在短时间内产生大量的 $\text{O}_2^- \cdot$, $\text{O}_2^- \cdot$ 很快歧化为 $\cdot\text{OH}$ 和 H_2O_2 等其他活性氧^[25]. 油菜素内酯(BR)能诱导黄瓜幼苗 H_2O_2 含量在 3 h ~ 3 d 的积累,也增强了其对光氧化、低温和黄瓜花叶病毒等胁迫的抗性,而抑制 H_2O_2 产生的处理(DPI 和 DM-TU)都降低了幼苗对各胁迫的抗性,认为由 NADPH 氧化酶诱导产生的 H_2O_2 在 BR 诱导的抗胁迫反应中起到了重要的作用^[6].

众多研究表明 AT 能诱导植物活性氧的积累,并能提高植物的抗逆性. 用 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AT 处理小麦叶片 24 h 时,能使内源 H_2O_2 含量比对照高 3 倍^[26]; 在山豆幼苗上用 AT 处理也诱导了 H_2O_2 的产生^[27]. 用 AT 处理水稻细胞,增加了 H_2O_2 的产生,引起了 cAPX 转录水平大幅度增加,认为 H_2O_2 作为一个信号分子参与了抗氧化胁迫反应^[28]. 对玉米幼苗用 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AT 处理,能显著抑制其 CAT 活性,导致内源 H_2O_2 含量迅速增加,从而大大增加了抗寒基因(cat3)的转录水平,显著提高了其抗寒性^[4]. 但是也有不同研究结果表明,AT 处理对活性

氧含量没有影响. 如 Yi 等^[29]用 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AT 处理萝卜子叶后,显著抑制了 CAT 活性,增强了 APX 活性,但 H_2O_2 含量却无显著变化. 类似地, Kang 等^[10]发现,0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AT 显著抑制了拟南芥叶片总 CAT 活性,提高了 APX 和谷胱甘肽还原酶(GR)的活性,但 H_2O_2 含量无显著变化. 本文结果表明,100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AT 处理诱导了低温胁迫下香蕉果皮活性氧(H_2O_2 和 $\text{O}_2^- \cdot$)在前期的积累. 原因有二,其一是 AT 处理明显抑制了 CAT 的活性,其二是 AT 处理诱导了 NADPH 氧化酶的活性升高,推测由 AT 诱导的活性氧在前期的积累参与了香蕉果皮的耐冷性.

植物在长期进化过程中形成了多种机制以清除活性氧. 其中, CAT 和 APX 作为活性氧的主要清除酶,在抑制膜脂过氧化、维持膜系统的稳定性中起重要作用. 众多研究表明,AT 能明显抑制 CAT 的活性,而 AT 处理对于 APX 活性的影响则有不同的报道. 用 3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AT 处理玉米幼苗,抑制了其 CAT 的活性,而对 APX、SOD、GR 和 POX 的活性均没有影响^[8]. 但 Morita^[28]等用 CAT 抑制剂 AT 处理水稻悬浮细胞,增加了 H_2O_2 的产生,引起了 cAPX 转录水平大幅度增加. Kang 等^[30]用 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AT 处理拟南芥叶片,其 CAT 活性降低了 65%,而 APX 的活性增加了大约 1.6 ~ 2.0 倍,GR 增加了 22%,认为当 CAT 受到抑制时,由 APX 和 GR 共同激活了抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环来清除过多的 H_2O_2 . Yi 等^[29]用 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ AT 处理萝卜子叶后,显著抑制了 CAT 活性,而 APX 活性则迅速增加,在发芽后的第 7 天,APX 活性增加到对照的 1.7 倍,认为 APX 能够代替 CAT 来清除 H_2O_2 . 本文结果也表明,AT 处理明显抑制了香蕉果皮 CAT 的活性,却同时增加了 APX 的活性. 推测 CAT 和 APX 协同参与了采后香蕉的耐冷性,当 CAT 受到抑制时,APX 则表现出较高的水平来清除过多的活性氧,从而增加香蕉果皮对低温的耐性. 在低温培养过程中,AT 处理的香蕉果皮活性氧(H_2O_2 和 $\text{O}_2^- \cdot$)在前期保持较高水平,而在后期有所降低,这说明活性氧含量在植物细胞内是受到严格调控的,这对活性氧作为信号分子是必须的.

综上所述,适宜浓度的 AT 处理显著抑制了香蕉果皮 CAT 活性,诱导了前期活性氧的积累,这种活性氧积累可能作为信号分子参与了香蕉果实的耐冷诱导;但在后期 AT 处理却增强了 APX 的活性,这可能与后期活性氧含量下降有关,从而可减轻香蕉果皮的冷害症状.

参考文献:

- [1] 张昭其, 庞学群. 南方水果贮藏保鲜技术[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008.

- [2] 陆旺金, 张昭其, 季作梁. 热带亚热带果蔬低温贮藏冷害及御冷技术[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(2): 158-163.
- [3] PITZSCHKE A, HIRT H. Mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species signaling in plants [J]. Plant Physiology, 2006, 141(2): 351-356.
- [4] PRASAD T K, ANDERSON M D, MARTIN B A, et al. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide [J]. The Plant Cell, 1994, 6: 65-74.
- [5] WANG Jian-wen, WU Jian-yong. Nitric oxide is involved in methyl jasmonate-induced defense responses and secondary metabolism activities of *Taxus* cells [J]. Plant and Cell Physiology, 2005, 46(6): 923-930.
- [6] XIA Xiao-jian, WANG Yan-jie, ZHOU Yan-hong, et al. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber [J]. Plant Physiology, 2009, 150(2): 801-814.
- [7] CHANDLEE J M, TSAFTARIS A S, SCANDALIOS J G. Purification and partial characterization of three genetically defined catalases of maize [J]. Plant Sci Lett, 1983, 29: 117-131.
- [8] PRASAD T K. Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings [J]. Plant Physiology, 1997, 114(4): 1369-1376.
- [9] HAVIR E A. The *in vivo* and *in vitro* inhibition of catalase from leaves of *Nicotiana glauca* by 3-Amino-1,2,4-Triazole [J]. Plant Physiology, 1992, 99(2): 533-537.
- [10] KANG K S, LIM C J, HAN T J, et al. Changes in the isozyme composition of antioxidant enzymes in response to aminotriazole in leaves of *Arabidopsis thaliana* [J]. J Plant Biol, 1999, 42: 187-193.
- [11] BAJJI M, M' HAMDI M, GASTINY F. Catalase inhibition alters suberization and wound healing in potato (*Solanum tuberosum*) tubers [J]. Physiologia Plantarum, 2007, 129(3): 472-483.
- [12] 朱世江, 季作梁. 热处理提高芒果抗冷性与内源 ABA 的关系 [J]. 中国农业科学, 2002, 35(9): 1150-1153.
- [13] 张昭其, 段学武, 庞学群, 等. 冷激对采后香蕉几个与耐热性有关的生理指标的影响 [J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(4): 333-335.
- [14] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系 [J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 55-57.
- [15] ZHOU Bi-yan, WANG Ji-hua, GUO Zhen-fei, et al. A simple colorimetric method for determination of hydrogen peroxide in plant tissues [J]. Plant Growth Regulation, 2006, 49: 113-118.
- [16] 曾韶西, 王以柔, 刘鸿先. 低温光照下与黄瓜子叶叶绿素降低有关的酶促反应 [J]. 植物生理学报, 1991, 17(2): 177-182.
- [17] 沈文飏, 徐朗莱, 叶茂炳, 等. 抗坏血酸过氧化物酶活性测定的探讨 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(3): 203-205.
- [18] MORRÉ D J, MORRÉ D M. Applications of aqueous two-phase partition to isolation of membranes from plants: A periodic NADH oxidase activity as a marker for right side-out plasma membrane vesicles [J]. Journal of Chromatography B, 2000, 743: 369-376.
- [19] SAGI M, FLUHR R. Superoxide production by plant homologues of the gp91^{phox} NADPH oxidase: Modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection [J]. Plant Physiology, 2001, 126(3): 1281-1290.
- [20] 李立, 付建, 高洪良. 高效液相色谱-串联质谱法测定多种农产品中杀草强的残留量 [J]. 色谱, 2010, 28(3): 301-304.
- [21] 李金强, 付建, 尹大路, 等. 食品中杀草强残留量的检测方法研究 [J]. 食品科学, 2010, 31(4): 210-213.
- [22] KANG H M, PARK K W, SALTVEIT M E. Elevated growing temperatures during the day improve the postharvest chilling tolerance of greenhouse grown cucumber (*Cucumis sativus*) fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2002, 24: 49-57.
- [23] APEL K, HIRT H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signaling transduction [J]. Annual Review of Plant Biology, 2004, 55: 373-399.
- [24] KNIGHT H, TREAVAS A J, KNIGHT M R. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation [J]. The Plant Cell, 1996, 8: 489-503.
- [25] VIGNAIS P V. The superoxide-generating NADPH oxidase structural aspects and activation mechanism [J]. Cellular & Molecular Life Sciences, 2002, 59: 1428-1459.
- [26] 张文利, 沈文飏, 叶茂炳, 等. 小麦叶片顺乌头酸酶对 NO 和 H₂O₂ 的敏感性 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2002, 28(2): 99-104.
- [27] 邢更生, 周功克, 李志孝, 等. 渗透胁迫对山豆根幼苗 H₂O₂ 及毒素积累的影响 [J]. 植物生理学报, 2001, 27(1): 5-8.
- [28] MORITA S, KAMINAKA H, MASUMURA T, et al. Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress: The involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signaling [J]. Plant Cell Physiol, 1999, 40(4): 417-422.
- [29] YI K A, HONG Y N, JIN C D. Regulation of ascorbate peroxidase activity in dark-grown radish cotyledons by a catalase inhibitor, 3-amino-1, 2, 4-triazole [J]. J Plant Biol, 1997, 40(4): 279-287.
- [30] KANG K S, LIM C J, HAN T J, et al. Activation of ascorbate-glutathione cycle in *Arabidopsis* leaves in response to aminotriazole [J]. J Plant Biol, 1998, 41(3): 155-161.