

代其林,王金玲,马明莉,等. NaCl 胁迫处理对豇豆幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):193-196.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.061

NaCl 胁迫处理对豇豆幼苗抗氧化酶活性的影响

代其林¹,王金玲²,马明莉¹,吕旭才¹,郭翠¹,王劲³,杜世章²

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院,四川绵阳 621000; 2. 绵阳师范学院,四川绵阳 621000;

3. 中国农业科学研究院生物技术研究所,北京 100081)

摘要:主要研究 150 mmol/L NaCl 胁迫处理对豇豆(*Vigna unguiculata* Linn.) 幼苗叶片抗氧化酶活性的影响。结果表明,豇豆幼苗在受到 NaCl 胁迫后,其叶片内可溶性蛋白含量、脯氨酸含量、丙二醛含量随胁迫时间的延长均逐渐升高,胁迫 12 h 后,它们的含量都达到峰值;在 150 mmol/L NaCl 胁迫过程中,豇豆幼苗叶片的抗氧化酶如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等活性在 0~12 h 期间逐渐上升,12 h 后其活性也均达到最高值;在 12~48 h 胁迫期间,3 种抗氧化酶活性逐渐下降,但仍强于非盐胁迫下的抗氧化酶活性。同时,对 NaCl 胁迫下这 3 种抗氧化酶基因的相对表达水平进行荧光定量分析,结果表明,SOD 和 CAT 等 2 种抗氧化酶基因相对转录表达水平与胁迫期间内相应酶的活性变化一致,而 POD 基因表达在胁迫 6 h 后就已经达到最大值,与其酶活性在 12 h 后达最大值是不一致的。分析结果表明,在盐胁迫下 NaCl 诱导了 SOD、POD、CAT 等 3 种酶基因的表达,抗氧化酶活性相应增强,从而增强了豇豆幼苗应对 NaCl 胁迫的能力,为盐碱地培育豇豆作物具有一定指导意义。

关键词:NaCl 胁迫;豇豆幼苗;抗氧化酶;可溶性蛋白;脯氨酸;丙二醛;实时定量 PCR

中图分类号:S643.401 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)10-0193-04

土壤盐渍化是一个世界性的资源问题和生态问题,是影响农业生产的主要环境因素。盐渍土壤能通过水分胁迫、盐分离子的生理毒害等作用对作物产生危害,因此能限制作物的生长、发育,甚至造成农作物的减产或绝收。当前,全球盐碱地面积已达 9.5 亿 hm^2 , 中国有 1 亿 hm^2 ^[1]。中国的盐渍化土地主要分布在西北和华北地区,并有逐年扩大的趋势,而这些地区是我国主要的产粮地区,植物耐盐研究已经成为当今研究的热点。

在正常状态下,植物的光合作用和呼吸作用等代谢途径

都会产生电子,电子在质膜上进行传递时会不断产生活性氧,这些活性氧包括超氧自由基(O_2^-)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)、过氧化氢(H_2O_2)^[2-7]。NaCl 等盐非生物胁迫过程中所产生的低浓度活性氧可作为信号分子在植物的氧化还原反应中进行信号转导^[8],引起一系列的生理生化反应,并产生一定的生理抗性。而中度和重度非生物胁迫都会使植物体内产生过多的活性氧,使植物体内产生氧化胁迫^[9-12],甚至会严重破坏细胞的稳定性和正常的代谢,通常使脂质、蛋白质和核酸受到氧化损伤,从而造成细胞损伤,最终导致细胞死亡^[5,13-15]。同时,NaCl 等盐胁迫还会启动膜脂过氧化或膜脂脱脂作用,从而破坏膜结构,使质膜流动性增大,电解质渗出率增加,细胞内代谢毒物(如丙二醛、MDA 等)积累增多^[8,16-18]。因此,活性氧参与了植物光合作用的调节、胁迫应答、病原反应、程序性细胞死亡、激素调节以及植物的生长发育等生理生化反应^[5,19]。植物为了应对活性氧所引起的氧化胁迫,在进化过程中产生了一个有效的抗氧化防御系统^[20],这个防御系统主要由超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等组成,其中 SOD 能清除超氧离子,POD 能清除过

收稿日期:2014-09-28

基金项目:国家“973”计划(编号:2013CB733903);国家“863”计划(编号:2012AA063503);国家转基因专项(编号:2014ZX0801201B);公益性行业(农业)科研专项(编号:201103007);西南科技大学博士研究基金(编号:11zx7104)。

作者简介:代其林(1970—),男,重庆人,博士,副教授,主要从事植物逆境生理与分子生物学研究。E-mail:daiqilinmj@sina.com。

通信作者:杜世章,博士,教授,主要从事分子生物学研究。E-mail:wjdsz@vip.sina.com。

参考文献:

- [1] 李日旺,黄国弟,苏美花,等. 我国芒果产业现状与发展策略[J]. 南方农业学报,2013,44(5):875-878.
- [2] 全国热带、亚热带作物生产情况[Z]. 农业部发展南亚热带作物办公室 2012:24-25.
- [3] 张贺,刘晓妹,喻群芳,等. 海南芒果露水斑病的初步鉴定[J]. 广东农业科学,2013,40(7):75-77.
- [4] 张应芝. 农药混配四原则[J]. 南方科技报,2008,45(2):5-6.
- [5] 王小艺,王跃龙,欧晓明. 农药混剂配比研究的一种实用寻优方

法初探[J]. 农药学报,2005,7(1):40-44.

- [6] 郎玉成,柏亚罗. 吡唑类农药品种的研究开发进展[J]. 现代农药,2006,5(5):6-12.
- [7] 张鹏. 氟吡菌胺与吡唑醚菌酯对马铃薯晚疫病病菌的联合毒力及混配制剂研究[D]. 保定:河北农业大学,2013.
- [8] 闫磊,王文桥,孟润杰,等. 氟吡菌胺与吡唑醚菌酯混合物对黄瓜霜霉病菌的毒力增效及其抗药性的影响[J]. 农药,2013,52(1):53-56.
- [9] 吴家全,李军民. 多抗霉素研究现状与市场前景[J]. 农药科学与管理,2010,31(11):21-23.

氧化物,二者产生的过氧化氢由 CAT 转化成氧气和水,从而解除活性氧对植物的毒害作用^[15,19,21]。因此,抗氧化酶系统是植物应对氧化胁迫的一个重要反应机制^[11,21-22]。

豇豆(*Vigna unguiculata* Linn.)属于豆科豇豆属,是中国重要的蔬菜作物,在整个生长发育期对盐胁迫都很敏感。笔者发现,在 0~250 mmol/L NaCl 胁迫 12 h 后,豇豆幼苗叶片的可溶性蛋白质、脯氨酸、丙二醛含量以及抗氧化酶活性逐渐升高,在 150 mmol/L 时达到最大值^[18]。本研究选取豇豆作为研究对象,考察 150 mmol/L NaCl 胁迫处理下豇豆幼苗叶片抗氧化酶活性的变化,测定丙二醛(MDA)、脯氨酸含量的变化,初步探索豇豆幼苗叶片 3 种抗氧化酶基因在 NaCl 胁迫下基因表达水平的变化,以期今后豇豆在盐碱地栽培生产提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

豇豆品种为翠宝 198 豇豆。该品种抗病性强,特耐高温,具有分枝多、肉质脆嫩、爽甜、纤维少、不易老化等特点。

1.2 种子预处理

将豇豆种子用 1% NaClO 溶液浸泡 10 min,流水冲洗 3~5 次后吸胀 12 h,于 25℃ 的光照培养箱中萌发 24 h,再用蒸馏水清洗萌发的种子 2~3 次。将萌发一致的种子播种在已灭菌石英砂中,浇上 MS 营养液,置于人工培养室(25±1)℃ 培养,每天补充水 2 次。待所有幼苗的第 1 对真叶全部展开时,选取长势一致的幼苗,分成 2 组:(1)对照组,(2) NaCl 等盐胁迫试验组,每组重复 3 次。其中对照组直接用 MS 培养液浇灌,盐胁迫试验组都用含 150 mmol/L NaCl 的 MS 培养液对其进行盐胁迫处理。然后分别在处理后 0、6、12、24、48 h 后取样。每次取样均取豇豆的第 1 对真叶为试验材料,每次试验重复 3 次,取其平均值。

1.3 叶片酶粗液的提取

称取约 0.5 g 豇豆叶片组织于预冷的研钵中,加少量石英砂,2 mL (0.1 mol/L pH 值 6.8) 的 Tris-HCl 缓冲液,在冰浴中研磨成匀浆,用 2 mL 缓冲液冲洗研钵,并将冲洗液也转至离心管中,在 4℃ 下,4 000 r/min 离心 20 min。将离心管的上清液分装于多个 1.5 mL 离心管中,储存于 -80℃ 冰箱中。

1.4 分析与测定

可溶性蛋白质含量的测定按照 Lowry 法^[23],用牛血清蛋白溶液制作标准曲线;丙二醛含量的测定采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法^[24];脯氨酸含量用茚三酮法^[24]测定;用 NBT 光还原法测定超氧化物歧化酶的活性^[25];按 Omran 的方法测定过氧化物酶的活性^[26]。而过氧化氢酶活性按 Beers 和 Sizer 的方法^[27]进行。

1.5 抗氧化酶基因的相对表达

用无 DNA 的 RNA 试剂盒(上海华舜生物技术有限公司, W6711)提取豇豆幼苗叶片总 RNA,然后把总 RNA 反转录合成第 1 链 cDNA (reverse-transcription Kit, TaKaRa, Japan)。用 IQ5 Real-time PCR 仪(Bio-Rad)和根据 Two-step QuantiTect SYBR Green PCR Kit 试验指南对 POD、SOD、CAT 基因进行定量扩增,用 iCycler 定量分析软件(iCycler real-time detection system software, version 2.0)对基因的定量

扩增数据。用 Primer 12 Express 2.0 (Applied Biosystems) 软件设计定量扩增引物(SOD、POD 和 CAT 基因的引物分别为: POD F(5'-GGCATGTATTATGTTTCGTGCGTCTC-3') 和 R(5'-GCGTCACAACCATTGACAAAGCAG-3'); SOD F(5'-GTTCAACGGCGGAGGTCA-3') 和 R(5'-AACATCAATACCCACCAGAGGA-3'); CAT F(5'-GAAGGTTTCGCGCTCCACA-3') 和 R(5'-TTGGTCACATCAAGCGGGTC-3'); 以及内参基因 β -actin F(5'-ACTGTGCCAATCTACGAGGGTT-3') 和 R(5'-TCTTACAATTTCCCGTCTGCT-3'), 其 qRT-PCR 产物长度为 100~300 bp。用豇豆的 β -actin 管家基因来作为定量扩增的内参。所有的实时定量 PCR 扩增都重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫条件下豇豆幼苗叶片中总可溶性蛋白含量的变化

在 NaCl 等盐非生物胁迫条件下,可溶性蛋白参与了植物细胞渗透势的调节,较高质量分数的可溶性蛋白质,有利于植物细胞维持较低的渗透势,减少细胞内水分和溶质的流失^[28],从而减少盐胁迫带来的损坏。在 150 mmol/L NaCl 胁迫下,随着盐胁迫时间的延长,可溶性蛋白含量逐渐增加(图 1),在胁迫 12 h 后,可溶性蛋白含量最高,为 819.812 μ g/g,随后又逐渐下降。而对照组在 0~48 h 内可溶性蛋白质含量变化不大。

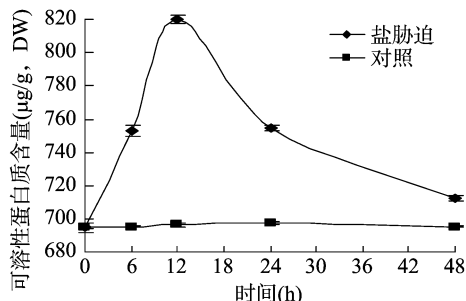


图1 NaCl 胁迫条件下豇豆幼苗叶片可溶性蛋白含量的变化

2.2 NaCl 胁迫条件下豇豆幼苗叶片中丙二醛含量的变化

在逆境条件下,往往会发生膜脂过氧化作用,丙二醛是其产物之一,通常利用它来作为脂质过氧化的指标,表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱^[29]。豇豆幼苗在经 150 mmol/L NaCl 胁迫后,豇豆叶片的丙二醛含量一直升高。在胁迫 12 h 后,豇豆幼苗叶片丙二醛含量达最高,然后逐渐下降(图 2)。表明在 NaCl 胁迫下,豇豆幼苗叶片通过提高丙二醛含量来抵御外界胁迫对膜脂流动和稳定性的影响。

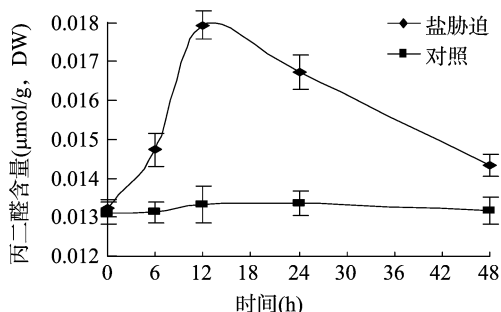


图2 NaCl 胁迫条件下豇豆幼苗叶片丙二醛含量的变化

2.3 NaCl 胁迫条件下豇豆叶片中脯氨酸含量的变化

植物中游离脯氨酸具有较强的渗透调节能力及保护细胞膜结构稳定的作用,有助于维持低渗透压提高植物对水分的吸收^[30]。在 150 mmol/L NaCl 胁迫下,豇豆幼苗叶片的脯氨酸含量逐渐上升,在胁迫 12 h 时达到最大值,然后逐渐下降(图 3)。表明豇豆幼苗受到 NaCl 胁迫时,能够通过增加脯氨酸含量来提高细胞渗透势,从而提高豇豆抗性。

2.4 NaCl 胁迫条件下豇豆叶片抗氧化酶活性的变化

在植物体内的抗氧化防御体系中,POD、SOD、CAT 等酶系是最重要的保护酶类。在 NaCl 胁迫下,清除活性氧的抗氧化酶活性发生明显的变化,豇豆叶片中 POD、SOD 和 CAT 等酶系活性都不断增强(图 4),在胁迫 12 h 后,活性均达到最大值,分别为 61.475、28.965、125.863 U/(mg·min),然后又

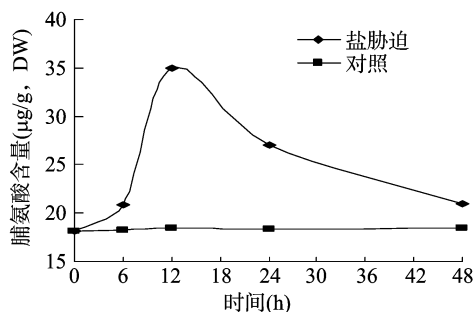


图3 NaCl 胁迫条件下豇豆幼苗叶片脯氨酸含量的变化

逐渐减弱。说明在 NaCl 等盐胁迫过程中,植物体通过增强其抗氧化酶的活性来清除活性氧,避免逆境胁迫对自身的不利影响。

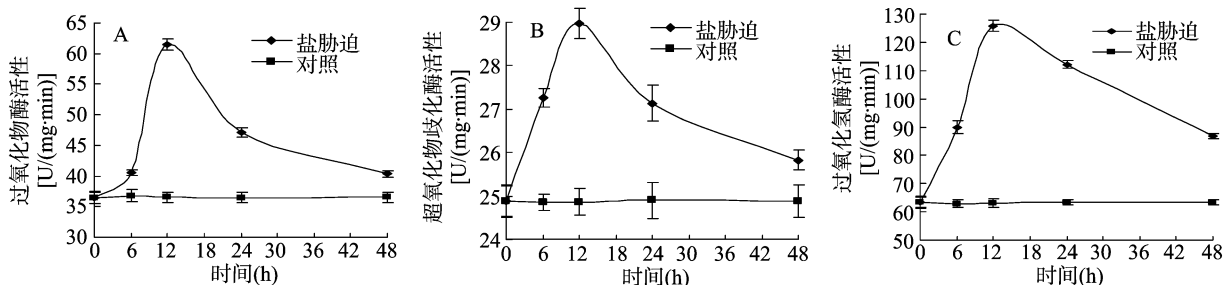


图4 NaCl 胁迫条件下豇豆幼苗叶片 POD、SOD、CAT 活性的变化

2.5 NaCl 胁迫条件下豇豆叶片中抗氧化酶基因相对表达的变化

为了研究植物盐胁迫下的耐盐机制,用实时荧光定量 PCR 的方法研究 3 个抗氧化酶基因在 NaCl 胁迫下的表达(图 5)。在 150 mmol/L NaCl 胁迫后,豇豆幼苗叶片 *POD*、*SOD*、*CAT* 基因的表达水平存在差异。其中,没有用盐处理的 3 种抗氧化酶基因有少量表达;在 NaCl 胁迫后,豇豆幼苗叶片的 *POD*、*SOD*、*CAT* 等抗氧化酶基因的相对表达水平都有不同程度的增强,3 个基因的表达水平都增加,其中 *SOD*、*CAT* 基因在 NaCl 胁迫 12 h 后达到最大水平,与其酶活性的变化趋势一致,而 *POD* 基因在 NaCl 胁迫 6 h 后就达到最大表达水平,然后三者的表达量都开始下降。

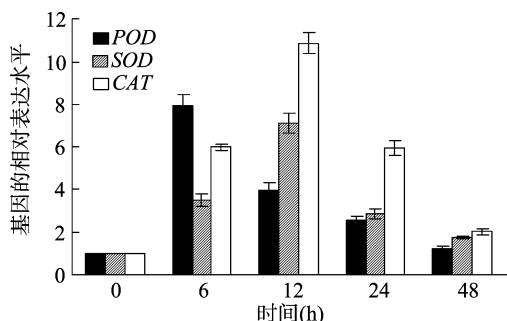


图5 NaCl 胁迫条件下豇豆幼苗叶片 *SOD*、*POD*、*CAT* 基因表达的变化

3 结论与讨论

植物遭受 NaCl 等盐胁迫时,其体内的生理生化特性发生巨大变化。植物光合作用和呼吸作用所产生的过多电子在传递过程中,产生大量的活性氧^[31-32],过量活性氧对植物产生

严重的氧化伤害,为了减轻或免于受到氧化伤害,植物启动了自身的防御系统,活性氧清除酶系统和非酶系统,其中 *SOD*、*POD*、*CAT* 是清除活性氧酶系统中最重要的种酶类。它们可以相互作用,降解活性氧种类,其中超氧化自由基被 *SOD* 催化发生歧化反应生成 O_2 和 H_2O_2 ,产生的 H_2O_2 再由 *POD*、*CAT* 分解^[29],从而减轻 NaCl 等非生物胁迫。本研究结果表明,在 NaCl 等盐胁迫下,豇豆幼苗叶片中 3 种抗氧化酶的活性与植物抗氧化胁迫能力相关,它们活性高低可作为衡量植物抗逆性强弱的重要指标。豇豆幼苗在受到 NaCl 胁迫时,其 *SOD*、*POD*、*CAT* 活性都增强,随着盐胁迫时间的延长,抗氧化酶均逐渐增加,三者酶活性 12 h 后最高,分别达到 28.965、61.475、125.863 U/(mg·min)。尽管盐胁迫使 *SOD*、*POD*、*CAT* 活性都有所增强,但盐胁迫使细胞质膜处于氧化状态而受到损害,所以随着盐胁迫的进行,脯氨酸和 MDA 含量增加,质膜受损伤程度也逐渐加重。盐胁迫下豇豆幼苗叶片抗氧化酶基因的表达都发生了变化,在没有 NaCl 处理时豇豆叶片 *POD*、*SOD*、*CAT* 基因都有微量表达,在 150 mmol/L NaCl 胁迫后,3 种抗氧化酶基因表达都增加。*POD* 基因表达量在胁迫 6 h 后就达到最高,而 *CAT* 和 *SOD* 的基因表达量在胁迫 12 h 后都达到最高,然后三者的基因表达均下降,与相应酶的活性变化基本一致,这与甘蓝型油菜在盐胁迫下基因表达与酶活性的变化情况^[17]一致。表明这 3 个抗氧化酶基因都是诱导型表达的基因,在盐等逆境胁迫下,它们均可以过量表达。

非酶活性氧清除系统也会发生巨大的作用,脯氨酸与可溶性蛋白是植物体内普遍存在的物质,在逆境条件下,二者通过参与体内的某种代谢活动对植物进行保护性的调节,以增强抗逆性^[31]。在 NaCl 等盐胁迫下,脯氨酸的积累是植物体抵御渗透胁迫的有效方式之一。脯氨酸含量的增加能够降低

叶片细胞的渗透势,防止细胞脱水;而且脯氨酸具有很高的水溶性,可以保护细胞膜系统,维持细胞内酶的结构,减少细胞内蛋白质的降解。大量研究表明,许多植物在盐胁迫下脯氨酸迅速积累,耐盐植物中的脯氨酸含量高于不耐盐植物^[29,31]。MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物,其含量的高低是膜脂过氧化程度的重要标志^[31]。

本研究结果显示,盐胁迫可诱导豇豆叶片中抗氧化酶活性的增强,这些酶有可能协同作用共同抵抗盐胁迫造成的氧化伤害,但这种诱导作用并非是有限的,重度胁迫可能对植物造成不可逆的伤害。由此推测,严重盐胁迫对豇豆造成了一种不可逆的伤害,但相关机制还有待于进一步研究证实。

参考文献:

- [1] 买买提·阿扎提,艾力克木·卡德尔,吐尔逊·哈斯木. 土壤盐渍化及其治理措施研究[J]. 环境科学与管理,2008,33(5):29-33.
- [2] Bohnert H J, Sheveleva E. Plant stress adaptations - making metabolism move[J]. Current Opinion in Plant Biology,1998,1(3):267-274.
- [3] Gómez J M, Hernández J A, Jiménez A, et al. Differential response of antioxidative enzymes of chloroplasts and mitochondria to long-term NaCl stress of pea plants [J]. Free Radical Research,1999,31(增刊):11-18.
- [4] Hernández J A, Ferrer M A, Jiménez A, et al. Antioxidant systems and O_2^- / H_2O_2 production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins[J]. Plant Physiology,2001,127(3):817-831.
- [5] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. Trends in Plant Science,2002,7(9):405-410.
- [6] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, et al. Abiotic stress series. Reactive oxygen gene network of plants[J]. Trends in Plant Science,2004,9(10):490-498.
- [7] Verma S, Mishra S N. Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea* by inducing antioxidative defense system[J]. Journal of Plant Physiology,2005,162(6):669-677.
- [8] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction plants[J]. Annu Rev Plant Biol,2002,53:247-273.
- [9] Drew M C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,1997,48:223-250.
- [10] Geigenberger P. Response of plant metabolism to too little oxygen [J]. Current Opinion in Plant Biology,2003,6(3):247-256.
- [11] Garmczarska M, Bednarski W. Effect of a short-term hypoxic treatment followed by reaeration on free radicals level and antioxidative enzymes in lupine roots [J]. Plant Physiology and Biochemistry,2004,42(3):233-240.
- [12] Narayanan S, Ruma D, Gitika B, et al. Antioxidant activities of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) during hypoxia induced oxidative stress in glial cells [J]. Molecular and Cellular Biochemistry,2005,278(1/2):9-14.
- [13] Foyer C H, Lelandais M, Kunert K J. Photooxidative stress in plants [J]. Plant Physiology,1994,92:696-717.
- [14] Blokhina O, Virolainen E, fagerstedt K V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review [J]. Annals of Botany,2003,91:179-194.
- [15] Meloni D A, Oliva M A, Martinez C A, et al. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress [J]. Environmental and Experimental Botany,2003,49(1):69-76.
- [16] Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K, et al. Plant cellular and molecular responses to high salinity [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,2000,51:463-499.
- [17] 代其林, 奉 斌, 刘婷婷, 等. 甘蓝型油菜幼苗对 NaCl 胁迫的抗氧化应答[J]. 基因组学与应用生物学,2009,28(4):725-729.
- [18] 杜世章, 代其林, 奉 斌, 等. 不同浓度 NaCl 胁迫处理下豇豆幼苗抗氧化酶活性的变化[J]. 基因组学与应用生物学,2011,30(3):351-356.
- [19] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. Annual Review of Plant Biology,2004,55:373-399.
- [20] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,1999,50:601-639.
- [21] Bowler C, Montagu M V, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. Ann Rev Plant physiol Plant Mol Biol,1992,43:83-116.
- [22] Fan J L, Cai H B, Yang S, et al. Comparison between the effects of normoxia and hypoxia on antioxidant enzymes and glutathione redox state in *ex vivo* culture of CD_3^+ cells[J]. Comparative Biochemistry and Physiology: Biochemistry & Molecular Biology,2008,151(2):153-158.
- [23] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the folin pH value enol reagent [J]. Journal of Biological Chemistry,1951,193(1):265-275.
- [24] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:258-261.
- [25] 邵从本, 罗广华, 王爱国. 超氧化歧化酶活性测定方法的比较 [J]. 植物生理学通讯,1983(5):46-49.
- [26] Omran R G. Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings[J]. Plant Physiology,1980,65(2):407-408.
- [27] Beers P F, Sizer I W. Aspectrophotometric assay for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase [J]. Biological Chemistry,1952,195:133-138.
- [28] Kavitha K, Venkataraman G, Parida A. An oxidative and salinity stress induced peroxisomal ascorbate peroxidase from *Avicennia marina*: molecular and functional characterization [J]. Plant Physiology and Biochemistry,2008,46(8/9):794-804.
- [29] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1998:739-749.
- [30] Guo B, Weng Y. Salt tolerance mechanism and molecular markers of genes associated with salt tolerance in soybean[J]. Bull Bot,2004,21:113-120.
- [31] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义[J]. 植物生理学通讯,1984(1):15-21.
- [32] Tambussi E A, Bartoli C G, Beltrano J, et al. Oxidative damage to thylakoid proteins in water stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum*) [J]. Plant Physiology,2000,108:398-404.