

薛兴华, 司庆永, 龚宁. 外源  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰抗氧化酶活性及其同工酶的影响[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(4): 229-232.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.064

# 外源 $\text{Ca}^{2+}$ 对金线兰抗氧化酶活性及其同工酶的影响

薛兴华, 司庆永, 龚宁

(贵州师范大学生命科学学院/贵州省植物生理发育调控重点实验室, 贵阳 550001)

**摘要:**以金线兰组培苗为材料,采用分光光度法和同工酶电泳技术研究了外源  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰抗氧化酶活性及其同工酶的影响。结果表明:不同浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理能够使金线兰 SOD、CAT、POD、APX 活性呈现一定的升降变化,其中 SOD 酶活呈“M”形的变化趋势,CAT 酶活呈先升后降的趋势,APX 酶活在较高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理下较其他酶慢,POD 变化范围较大;同工酶分析发现,不同浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理,在一定时间范围内可诱导产生新的 POD 和 APX 酶带表达,而不诱导新的 SOD 和 CAT 酶带的表达。

**关键词:**金线兰;  $\text{Ca}^{2+}$ ; 抗氧化酶; 同工酶

**中图分类号:** S682.310.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0229-04

金线兰(*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.), 兰科开唇兰属的一种多年生草本植物,具有极高的药用价值,且株型小巧,叶型优美,叶脉金黄色,呈网状排列,是一种观赏价值极高珍品,具有广阔的开发利用前景。但由于金线兰的自身抗性较差,对环境要求极高,以至于其资源的开发利用受到限制。 $\text{Ca}^{2+}$  不仅是植物必需的营养元素,同时也是细胞信号转导过程中重要的第二信使,与植物的抗氧化酶系统密切相关,通过调节相关抗氧化酶活性提高植物对逆境的适应能力<sup>[1-2]</sup>。关于金线兰的报道多集中在组培和胁迫相关的生理响应机制研究<sup>[3-7]</sup>,而作为重要的信号转导物质, $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰抗氧化酶活性及同工酶影响的研究未见报道。因此本试验对金线兰组培苗进行不同浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理,测定 SOD、POD、APX、CAT 的活性,同时对同工酶进行研究,探讨信号物质  $\text{Ca}^{2+}$  对抗氧化酶的活性及同工酶的影响,为  $\text{Ca}^{2+}$  与抗氧化酶系统关系研究提供一定基础,为金线兰抗逆机理研究提供参考。

## 1 材料与与方法

### 1.1 材料的培养

试验材料金线兰组培苗由贵州师范大学金线兰课题组提供。将处于增殖期且生长时间一致的金线兰组培苗转接到生根培养基中,培养 60 d 后,选取长势一致的生根组培苗,备用。培养条件:光照 12 h/d,光照度 2 000 lx,温度  $(21 \pm 2)$  °C。

### 1.2 材料的处理

取已经生根的金线兰组培苗,分别在添加 0.5、1.5、

2.5 mmol/L  $\text{CaCl}_2$  的 MS 培养液中处理 6、12、24、48、72 h,对照(CK)为 MS 培养液处理。

### 1.3 测定方法

1.3.1 粗酶液的制备 参照王爱国等的方法<sup>[8]</sup>制备粗酶液:金线兰成熟鲜叶去掉主脉,准确称取 1 g,加入 5 mL 预冷的酶提取缓冲液,冰浴充分研磨,于低温离心机 12 000 r/min 离心 20 min,上清液即粗酶液,冷藏备用。

1.3.2 酶活测定 SOD 活性测定:参考王爱国等的方法<sup>[8]</sup>稍作修改,先加入 150  $\mu\text{L}$  粗酶液,然后依次加入 2.7 mL 14.5 mmol/L 的 L-甲硫氨酸,0.1 mL 3 mmol/L EDTA,0.1 mL 2.25 mmol/L NBT 和 0.1 mL 60  $\mu\text{mol/L}$  核黄素。混匀后倒入比色杯,在 3 000 lx 下光照 10 min,反应后立即避光,将反应液颠倒几次混匀后立即测  $D_{560\text{ nm}}$  值,以不加粗酶液而加酶提取液为最大光还原管,以 PBS 液代替 NBT 作为空白,以能抑制 NBT 光化还原 50% 为 1 个酶活力单位 U,酶活力按下式计算,单位为:U/g。

计算公式:

$$\text{反应抑制率} = \frac{(\text{对照 } D_{560\text{ nm}} - \text{对照空白 } D_{560\text{ nm}}) - (\text{样品 } D_{560\text{ nm}} - \text{样品空白 } D_{560\text{ nm}})}{(\text{对照 } D_{560\text{ nm}} - \text{对照空白 } D_{560\text{ nm}})} \times 100\%$$

$$\text{酶活力 (U/g)} = \frac{\text{反应抑制率}}{50\% \times 3\text{ mL 反应混合液中加入的样量}}$$

POD 活性测定采用愈创木酚法<sup>[9]</sup>。3 mL 反应混合液(500 mL 50 mmol/L PBS pH 值 7.8 + 0.28 mL 愈创木酚 + 0.19 mL 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 中加入 50  $\mu\text{L}$  酶液,迅速摇匀立即测  $D_{470\text{ nm}}$ ,每 30 s 读数 1 次,以 1 min  $D_{470\text{ nm}}$  升高 0.1 的 D 值为 1 个酶活力单位 U,单位为 U/(min · g)。

APX 活性测定参照 Dalton 等的方法<sup>[10]</sup>,略作改进。3 mL 反应混合液(50 mmol/L PBS pH 值 7.0 + 0.1 mmol/L EDTA -  $\text{Na}_2$  + 0.5 mmol/L  $\text{LAsA}$ , 10 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 加入 100  $\mu\text{L}$  粗酶液启动反应,连续记录  $D_{290\text{ nm}}$ ,10 s 读数 1 次,以 1 min  $D_{290\text{ nm}}$  降低 0.1 的 D 值为 1 个酶活力单位 U,单位为 U/(min · g)。

CAT 活性测定参照程鲁京等的钼酸铵显色法<sup>[11]</sup>,略作改进。所有药品在室温下恒温,然后在空白管(B2)加 1 mL

收稿日期:2015-09-02

基金项目:贵州省中药材现代产业技术体系建设专项(编号:GZCYTX-02);贵州省科学技术基金[编号:黔科合 J 字(2008)2097]。

作者简介:薛兴华(1991—),女,山西运城人,硕士研究生,研究方向为药用植物资源开发与利用。E-mail:798913863@qq.com。

通信作者:龚宁,教授,从事药用植物资源开发与利用方向。E-mail:gn2033@126.com。

65  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  基质液,空白管(B3)中加入 1 mL 60 mmol/L PBS 缓冲液(pH 值为 7.4),空白管(B1)中加 1 mL 65  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  基质液,样品管(U)中加 0.2 mL 粗酶液和 1 mL 65  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  基质液,37  $^\circ\text{C}$  水浴保温 1 min 后加入 1 mL 32.4 mmol/L 钼酸铵溶液,混匀后在 B2 管和 B3 管分别加入 0.2 mL 60 mmol/L 钠-钾磷酸盐缓冲液(pH 值 7.4);在 B1 管加入 0.2 mL 粗酶液。5 min 后于 405 nm 处以蒸馏水调零比色,记录吸光度(D)。酶活力以清除  $\text{H}_2\text{O}_2$  的 mg 数表示,按下式计算,单位为  $\text{mg}/(\text{min} \cdot \text{g})$ 。

$$\text{酶活力}[\text{mg}/(\text{min} \cdot \text{g})] = \frac{D_{B1} - D_U}{D_{B2} - D_{B3}} \times \frac{65 \times 1 \times 34}{0.2 \times 0.2 \times 1000}$$

1.3.3 同工酶分析 分离胶浓度为 7.5%,浓缩胶浓度为 2.5%,pH 值为 8.3 的 Tris - Gly 电极缓冲液。上样量为 40  $\mu\text{L}$ 。电泳开始时,电流设为 10 mA,当指示剂溴酚蓝进入分离胶后,调电流至 15 mA。电泳时间视酶分子量而定,一般至指示剂距凝胶前沿 1 cm 为停止时间。

1.3.3.1 加样 浓缩胶聚合完成后,缓慢拔出样品梳,注入预冷已稀释 10 倍的电极缓冲液。用微量进样器吸取 40  $\mu\text{L}$  处理后的酶液(10  $\mu\text{L}$  酶液、20  $\mu\text{L}$  40% 的蔗糖溶液、10  $\mu\text{L}$  2% 的溴酚蓝指示剂),依次加入加样槽中。

1.3.3.2 酶活性染色 SOD 活性染色:参照文献[12]的方法,略作改进。电泳结束后,将胶浸泡于染色液 2.45 mmol/L NBT 中,避光浸泡 20 min,并不时摇动,蒸馏水漂洗,再放入 0.036 mol/L (pH 值 7.8) 磷酸缓冲液(含 0.028 mol/L TMEDA,28  $\mu\text{mol/L}$  核黄素),避光浸泡 15 min,并不时摇动,蒸馏水漂洗,放入 0.05 mol/L PBS(含 0.1 mmol/L  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ )(pH 值 7.8),4  $\times$  8 W 日光灯光照 20 ~ 30 min,直至出现无色谱带,蒸馏水漂洗 2 ~ 3 次,拍照。

POD 活性染色:参照 Rahnamal 等的方法<sup>[13]</sup>,稍作改动。染色液:0.1 g 联苯胺、5 mL 无水乙醇、10 mL 1.5 mol/L 乙酸钠、10 mL 1.5 mmol/L 乙酸、75 mL 的蒸馏水溶解并过滤待用。胶片用蒸馏水冲洗 3 次后,在染液中加入 0.14 mL 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,迅速摇匀后将胶片放入,待酶带完全出现后(约 20 min),用自来水冲洗 2 ~ 3 次,拍照。

APX 活性染色:采用抗坏血酸—联苯胺染色法。染色液成分为:AsA 70.4 mg,联苯胺溶液(2 g 联苯胺溶于 18 mL 温热冰醋酸中,再加入蒸馏水 72 mL)20 mL、1.2%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液 20 mL、蒸馏水 60 mL。蒸馏水润洗胶片 2 次,再加入 40 ~ 50 mL 的染色液,直到清晰的 APX 带显现为止,将染色液倒掉,并用自来水冲洗几次,照相。

CAT 活性染色:参照 Woodbury 等的方法<sup>[14]</sup>,电泳结束后,用蒸馏水清洗胶片,0.05%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液浸泡 20 min 后用蒸馏水冲洗几次,再加入染色液(含有 0.5% 的氯化铁,0.5% 的铁氰化钾),直到显带为止,照相,整个过程注意避光。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源 $\text{Ca}^{2+}$ 对金线兰抗氧化酶活性的影响

2.1.1  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 SOD 活性的影响 3 种浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理对金线兰 SOD 酶活性的影响见图 1,可以看出 SOD 酶活性呈现“M”形的变化趋势,即先升高后降低再升高,最后趋于稳定。其中,1.5 mmol/L 和 2.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理下 SOD 酶活

性都在 24 h 达到最大值,而 0.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理下在 48 h 时达到最高值。由此可知,外源钙处理能提高 SOD 酶活性。

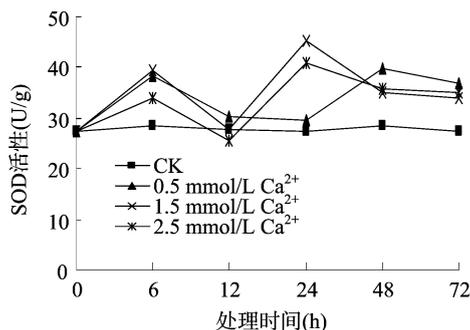


图1  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 SOD 活性的影响

2.1.2  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 POD 活性的影响 3 种浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理下金线兰 POD 酶活性的变化情况见图 2,0.5 mmol/L 和 1.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理下,POD 酶活性变化呈现先升高后下降再升高的趋势,在 2.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理下,呈现先下降后升高的趋势,可能是高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  抑制了 POD 活性,一段时间适应后出现上升的变化。可知, $\text{Ca}^{2+}$  处理对 POD 酶活性影响较为明显。

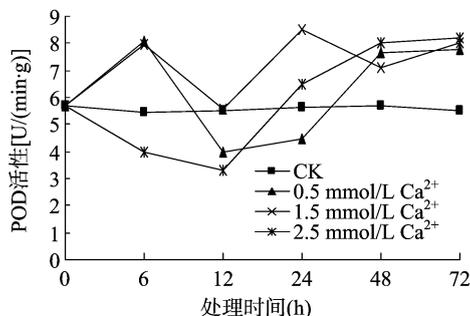


图2  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 POD 活性的影响

2.1.3  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 APX 活性的影响 3 种浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理下金线兰 APX 酶活性变化情况见图 3,可以看出 0.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理下 APX 酶活性呈现先升高后下降的变化趋势,变化不明显;1.5 mmol/L 和 2.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理下,在 12 h 内 APX 酶活性变化不明显,而处理时间在 24 ~ 72 h 时,变化较显著,呈现先下降后升高的趋势,可能是金线兰 APX 需要一定时间来适应较高浓度  $\text{Ca}^{2+}$  的变化并作出相应的生理响应。

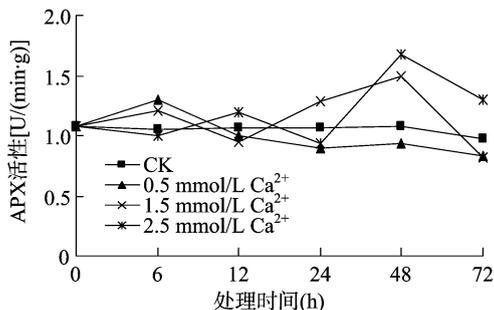


图3  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 APX 活性的影响

2.1.4  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 CAT 活性的影响 3 种浓度  $\text{Ca}^{2+}$  处理下金线兰 CAT 酶活性变化情况见图 4,0.5 mmol/L 和

1.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理下 CAT 酶活性先升高后下降最后趋于稳定,且活性不同程度高于对照,2.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理下,在 12 h 内 CAT 酶活性变化较小,12 h 以后变化较显著,呈现先上升后下降的趋势。说明在适宜的浓度范围内, $\text{Ca}^{2+}$  处理能有效提高 CAT 酶活性。

综上所述,SOD、POD 酶活性都产生了较大的升降变化,且随着处理时间的延长趋于稳定,说明植物对外界的影响有一个紊乱调整过程;APX 酶活性,在较高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理下响应较其他酶慢;CAT 活性不同程度高于对照,适当  $\text{Ca}^{2+}$  处理能够明显提高金线兰 CAT 的活性且维持较高活性。其中 1.5 mmol/L 和 2.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理对酶活的影响较大,0.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理的作用较小,其中 1.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理 24 h 时金线兰抗氧化酶活性达到最高值,2.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理 48 h 次之。

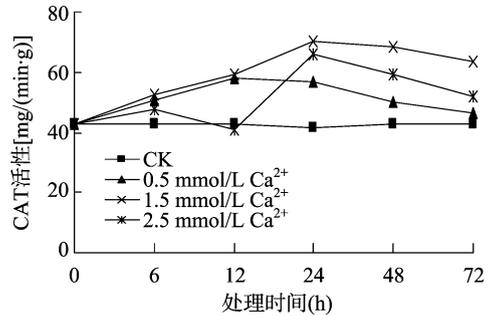


图4  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 CAT 活性的影响

## 2.2 外源 $\text{Ca}^{2+}$ 对金线兰抗氧化酶同工酶的影响

2.2.1  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 SOD 同工酶谱的影响 金线兰经过 3 种浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理后,组培苗 SOD 同工酶分析结果见图 5,随着处理浓度和时间不同,酶带呈现一定的强弱差异,但各处

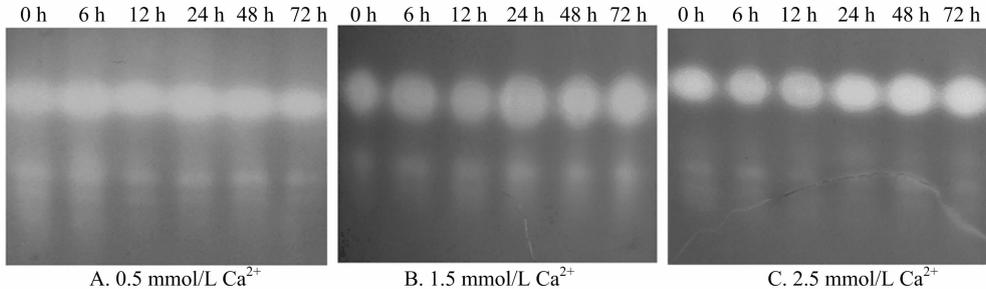


图5 不同浓度  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 SOD 同工酶的影响

理和对照相比,都是共有 5 条带,处理后并未产生新的酶带,即没有 SOD 同工酶产生。

2.2.2  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 POD 同工酶谱的影响 金线兰经过 3 种浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理后,组培苗 POD 同工酶分析结果见图 6,处理浓度和时间的不同,酶带呈现一定的强弱差异。其中,

0.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理 12 h 和 48 h 时有新的酶带产生,12 h 时出现 1 条  $R_f$  为 0.137 的酶带,48 h 时出现 2 条  $R_f$  分别为 0.137 和 0.199 的酶带;1.5 mmol/L 和 2.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理后并未产生新的酶带,没有 POD 同工酶产生。

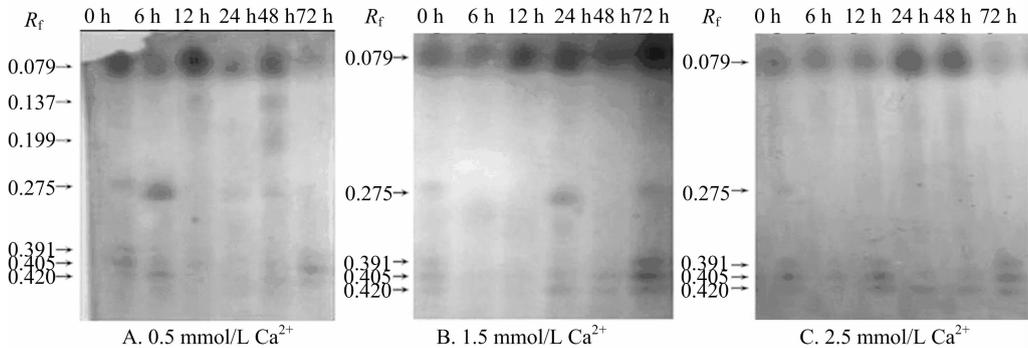


图6 不同浓度  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 POD 同工酶的影响

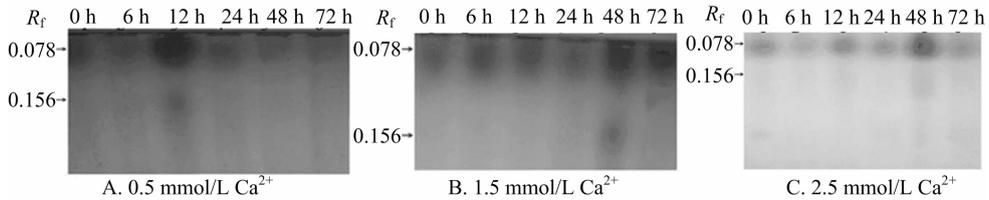
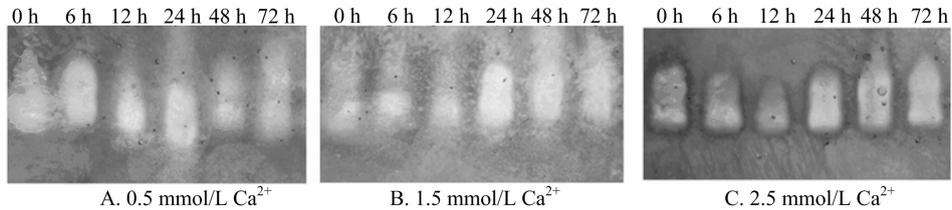
2.2.3  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 APX 同工酶谱的影响 金线兰经过 3 种浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理后,组培苗 APX 同工酶分析结果见图 7,处理浓度和时间不同,酶带呈现一定的强弱差异。其中 0.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理 12 h 时有 1 条  $R_f$  为 0.156 的酶带产生,1.5 mmol/L 和 2.5 mmol/L  $\text{Ca}^{2+}$  处理 48 h 时有 1 条  $R_f$  为 0.156 的酶带产生。

2.2.4  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 CAT 同工酶谱的影响 金线兰经过 3 种浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  处理后,组培苗 CAT 同工酶分析结果见图 8,处理浓度和时间的不同,酶带呈现一定的强弱差异,但 CAT 同工酶带始终只有 2 条,各处理与对照的条带基本一致,即  $\text{Ca}^{2+}$  处理对金线兰的 CAT 同工酶的表达没有明显影响。

## 3 讨论

关于植物抗性机理的研究已有大量报道,但由于金线兰分布范围较窄,人们多关注于金线兰的药效、组培、人工栽培等的研究<sup>[15-17]</sup>,对于其抗性研究较少。本试验就  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰抗氧化酶活性及同工酶的影响进行研究,探讨信号物质  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰抗氧化酶的活性及表达的影响。

$\text{Ca}^{2+}$  作为第二信使,在植物的信号传递中起重要作用。关于植物逆境胁迫下钙信使和抗氧化酶系统关联的研究报道有很多<sup>[18-22]</sup>,表明外源钙处理对植株 SOD、CAT、POD、APX 酶活都有一个紊乱调整过程,有助于缓解胁迫的危害,这与本

图7 不同浓度  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 APX 同工酶的影响图8 不同浓度  $\text{Ca}^{2+}$  对金线兰 CAT 同工酶的影响

试验结果类似。

低浓度  $\text{Ca}^{2+}$  处理时, POD 同工酶有新增酶带, 高浓度时没有新增酶带, 但谷俊涛等、翁笑艳等的研究表明  $\text{Ca}^{2+}$  浓度越大, POD 同工酶组分越复杂<sup>[1-2]</sup>, 本试验结果与之有差异; 同工酶电泳发现不同浓度  $\text{Ca}^{2+}$  处理下未产生新 SOD 同工酶和 CAT 同工酶, 这与王长义等的研究结果<sup>[23]</sup> 不同, 可能不同植物对  $\text{Ca}^{2+}$  的响应和调节能力存在差异, 这有待进一步探讨。

本试验结果显示, 外源  $\text{Ca}^{2+}$  可以影响金线兰抗氧化酶活性, 对 APX 和 POD 的同工酶表达有调控作用, 参与了金线兰消除体内自由基的过程, 推测  $\text{Ca}^{2+}$  能够使金线兰某些特定抗氧化酶同工酶表达, 从而能够激活相应保护机制, 减少和缓解逆境对自身的伤害。

结合抗氧化酶活性与同工酶谱的分析, 可以推测低浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  短时间(6 h) 处理对同工酶的诱导作用较为明显, 而较高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  (1.5 ~ 2.5 mmol/L) 长时间(24 ~ 48 h) 处理对酶活性变化作用较大。此外同工酶的产生与酶活性变化没有明显的相关性,  $\text{Ca}^{2+}$  不只是通过诱导新同工酶产生调节酶的活性, 同时可能存在其他调节途径。

#### 参考文献:

[1] 谷俊涛, 郭秀林, 李广敏, 等. 水分胁迫下钙、钙调素对小麦幼苗生长及过氧化物酶同工酶的影响[J]. 华北农学报, 2001, 16(3): 62-67.

[2] 翁笑艳, 张木清, 阮妙鸿, 等. 水分胁迫下钙对甘蔗幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2007, 23(7): 273-279.

[3] 李光, 龚宁, 周伟香, 等. 外源生长物质对金线兰增殖培养的影响[J]. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2006, 24(4): 9-10, 108.

[4] 周伟香, 龚宁, 李光, 等. 花叶开唇兰种子非共生萌发的研究[J]. 中草药, 2007, 38(4): 610-613.

[5] 周伟香, 龚宁, 李凯, 等. 高温胁迫对金线兰生理特性影响的研究[J]. 贵州师范大学学报: 自然科学版, 2007, 25(3): 25-28.

[6] 李亚军, 周伟香, 龚宁, 等. 低温胁迫对金线兰抗氧化酶活性的影响[J]. 贵州农业科学, 2011, 36(6): 43-45.

[7] 王定景, 司庆永, 龚宁, 等. 高温胁迫下外源水杨酸对金线兰抗氧化酶活性的影响[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(5): 39-42.

[8] 王爱国, 罗广华, 邵从本, 等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物生理学报, 1983, 9(1): 77-84.

[9] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 88-91.

[10] Dalton D A, Hanus F J, Russell S A, et al. Purification, properties, and distribution of ascorbate peroxidase in legume root nodules[J]. Plant Physiology, 1987, 83(4): 789-794.

[11] 程鲁京, 孟泽. 钼酸铵显色法测定血清过氧化氢酶[J]. 临床检验杂志, 1994, 12(1): 6-8.

[12] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels[J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1): 276-287.

[13] Rahnamal H, Ebrahmdzdeh H. antioxidant isozymes activities in potato plants (*Solanum tuberosum* L.) under salt stress[J]. Journal of Sciences, 2006, 17(3): 225-230.

[14] Woodbury W, Spencer A K, Stahman M A. An improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isozymes[J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1): 301-305.

[15] 王常青, 严成其, 王勇, 等. 台湾金线莲多糖的分离纯化及其体外抑瘤活性研究[J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(2): 93-96.

[16] 王建国, 王松良, 詹巧杰, 等. 金线莲组织培养的条件优化研究[J]. 中国现代中药, 2013, 15(1): 45-49.

[17] 邵清松, 周爱存, 黄瑜秋, 等. 不同移栽条件对金线莲组培苗成活率及生长的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(6): 955-958.

[18] 邹亚丽, 王廷璞, 呼丽萍, 等. 喷施不同钙肥对苹果贮藏期间抗氧化酶活性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2013, 31(2): 186-190.

[19] 张春平, 何平, 喻泽莉, 等. 外源  $\text{Ca}^{2+}$ 、ALA、SA 和 Spd 对盐胁迫下紫苏种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(24): 3260-3265.

[20] 李天来, 张亢亢, 余朝阁, 等. 外源钙和茉莉酸甲酯诱导番茄植株抗灰霉病研究[J]. 西北植物学报, 2012, 32(3): 505-510.

[21] 胡泽友, 邓小波, 彭喜旭, 等. 外源钙对镍胁迫下水稻幼苗抗氧化酶活性及膜脂过氧化的影响[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(4): 367-371.

[22] 丁能飞, 傅庆林, 刘琛, 等. 外源氯化钙对盐胁迫下西兰花抗氧化酶系统及离子吸收的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(6): 133-137.

[23] 王长义, 郭世荣, 刘超杰. 钙对根际低氧胁迫下黄瓜幼苗根系保护酶同工酶表达的影响[J]. 西北植物学报, 2009, 29(9): 1874-1880.