

李玉华,赵 奇,雷志华,等. 不同地黄品种叶片中活性氧和抗氧化物质的差异研究[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):377-380.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.111

不同地黄品种叶片中活性氧和抗氧化物质的差异研究

李玉华,赵 奇,雷志华,邓培渊

(郑州师范学院生命科学院/郑州市生物物种资源研究重点实验室,河南郑州 450044)

摘要:以河南省焦作市武陟县主栽的地黄品种“金九”和航天搭载诱变后选育出的“HT-102”为材料进行大田试验,研究不同地黄品种叶片中活性氧和抗氧化物质的差异性。结果表明:相同生长期中,HT-102 叶片中的活性氧(ROS)水平、抗氧化物质含量及 SOD、POD 抗氧化酶活性都显著高于金九,差异达显著水平($P < 0.05$);205 d 时 2 个品种叶片中的 ROS 水平、抗氧化物质含量及抗氧化酶活性都显著高于 155 d 的样品,差异达显著水平($P < 0.05$);同一地黄品种叶片中 ROS 水平和抗氧化物质含量及抗氧化酶活性呈显著正相关。在 205 d 时,HT-102 叶片干枯现象较金九严重。研究表明 ROS 水平、抗氧化物质含量及抗氧化酶活性高低可作为地黄栽培品种的特征之一,能作为地黄种质资源评价的一个指标,对于地黄品种的鉴定具有一定的应用价值。

关键词:地黄;活性氧;抗氧化物质;抗氧化酶;脯氨酸

中图分类号: S567.23*9.01

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2016)06-0377-04

地黄[*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch.], 玄参科地黄属多年生草本植物,可全草入药,但主要以块根入药,是我国一种大宗常用中药材。地黄的主要化学成分有环烯醚萜及其苷类、有机酸类、糖类和氨基酸等,地黄及其提取物具有调节免疫系统、降血糖、抗衰老、抗肿瘤功效,而且对造血系统、心血管系统、内分泌系统、中枢神经系统都具有一定的生理药理活性^[1],而上述生理、药理活性均与地黄的抗氧化物质密切相关,所以抗氧化物质活性的测定对中药材地黄的质量评价有一定的指导意义。

许多研究表明,植物在生长过程中,细胞会通过多种途径产生超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)、单线态氧($\cdot O_2$)和过氧化氢(H_2O_2)等活性氧(reactive oxygen species, ROS),影响细胞的正常代谢。当植物生长受到干旱、盐渍、农药、病原菌等胁迫或衰老时,会诱导体内产生过量的 ROS,在细胞内造成严重的氧化胁迫^[2]。而且,研究还发现 ROS 及其诱导的氧化反应是导致生物衰老和人体多种疾病的主要起因之一^[3]。ROS 具有很高的化学反应活性,能氧化 DNA、损伤蛋白质,且使脂质过氧化从而破坏细胞^[4]。为了保护机体免受 ROS 的损害,植物在长期的进化过程中,细胞内形成了一套非常高效的非酶促/酶促抗氧化系统来清除 ROS,从而减轻氧化胁迫对细胞的伤害和氧化还原状态的紊乱程度。非酶促抗氧化系统即抗氧化剂,包括谷胱甘肽(glutathione, GSH)和抗坏血酸(ascorbate, AsA)等^[5-6]。酶促抗氧化系统即抗氧化酶,主要包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)和谷胱甘肽还

原酶(glutathione reductase, GR)^[7]。至今,很多学者对地黄中主要的酚类、糖类、苷类等抗氧化物质进行了大量的研究工作^[8-9],而关于不同品种地黄叶片中的 ROS 和酶促及非酶促抗氧化物质的研究较少。

地黄的品种很多,但由于自然环境和生产措施的影响,经有性杂交和块根变异,形成了很多地黄栽培品种及其变种,不同品种间质量也是参差不齐。金九(03-2)是河南省温县农业科学研究所采用杂交法经多年选育而成的产量高、品质好、综合抗性突出的地黄品种^[10],现已成为当地的适优主栽品种。航天一号(HT-102)是地黄种子在 2006 年 9 月 9 日 15:00 随“实践八号”育种卫星进入太空进行诱变,再经系统筛选、扩繁获得的高产品种^[11]。本试验选用金九和 HT-102 这 2 个地黄品种,比较其叶片中 ROS 水平和抗氧化物质的差异,从抗氧化角度分析不同品种地黄对相同生长环境的适应性,为其抗性机理的研究提供参考,进而为地黄的栽培种植和品种选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用的金九和 HT-102 地黄品种购自河南省焦作市温县农业科学研究所,挑选长度为 3~4 cm、直径相近、部位一致的地黄“种栽”(繁殖材料),于 2014 年 4 月 20 日种植于武陟农科种业公司地黄试验田中,株距约 10 cm,行距约 30 cm。在同样环境的地块,采用同样栽培管理技术,用随机区组试验方法,重复 3 次。在地黄栽种后 75 d(苗期)、155 d(膨大期)、205 d(收获期)分别选 10 株长势均匀的植株,采摘同一位置的功能叶片进行指标测试。

1.2 测定项目和方法

$O_2^{\cdot-}$ 含量采用羟胺氧化法^[12]测定; H_2O_2 含量用 H_2O_2 -Ti(SO_4)₂ 反应溶液比色法^[13]测定;脯氨酸(Pro)含量采用茚三酮显色法^[13]测定;还原型抗坏血酸(AsA)含量采用钼酸铵溶液比色法^[12]测定;还原型谷胱甘肽(GSH)含量采用

收稿日期:2016-01-07

基金项目:河南省科技发展计划(编号:132300410355)。

作者简介:李玉华(1980—),女,河南濮阳人,博士,讲师,主要从事植物生理生态和分子生物学方面的研究。E-mail:2010liyuhua@163.com。

5,5′-二硫代-(2-硝基苯甲酸)溶液比色法^[14]测定。SOD 活性测定参照 Stewart 的方法^[15],以 SOD 抑制氮蓝四唑光还原 50% 酶量作为 1 个酶活力单位(U);CAT 活性测定参照 Abassi 等的方法^[16];POD 活性测定用愈创木酚比色法^[17],以 1 min 内 $D_{470\text{ nm}}$ 变化 0.01 为 1 个 POD 活性单位(U);APX 活性测定参照 Nakano 等的方法^[18];GR 活性测定参照 Foyer 等的方法^[19]。酶提取液中总蛋白浓度用 Bradford 的方法^[20]测得。

1.3 数据分析

试验 3 次重复,所有的数据用 SPSS 20.0 进行统计分析和显著性检验。

2 结果与分析

2.1 金九和 HT-102 叶片中 ROS 含量的差异

植物在线粒体中进行有氧呼吸和叶绿体中进行光合电子传递过程中,都会产生 $\text{O}_2^- \cdot$ 。 $\text{O}_2^- \cdot$ 是活性氧的一种,是生物体内生理生化反应的中间产物,能促进脂肪氧化,促使生物体衰老。由表 1 可知:2 种地黄叶片中 $\text{O}_2^- \cdot$ 的含量都随着生长发育期的推进而升高,且在相同生长期内,HT-102 叶片中的 $\text{O}_2^- \cdot$ 含量都较金九高。金九叶片中 $\text{O}_2^- \cdot$ 的含量,在生长期 155 d 和 75 d 时差异不显著;但 $\text{O}_2^- \cdot$ 的含量在 205 d 时比 155 d 时升高了 2.33 倍,差异达到极显著。HT-102 叶片中 $\text{O}_2^- \cdot$ 的含量,在 155 d 时比 75 d 时升高了 24.4%,在 205 d 时比在 155 d 时升高了 2.31 倍,差异达到极显著。而且,在

205 d 时,HT-102 叶片中 $\text{O}_2^- \cdot$ 的含量比金九高 19.7%,差异也达到极显著。

表 1 不同地黄品种叶片中 ROS 的含量

生长时间 (d)	品种	$\text{O}_2^- \cdot$ 含量 ($\mu\text{g/g}$)	H_2O_2 含量 ($\mu\text{mol/g}$)
75	金九	4.43 ± 0.35dD	1 753.33 ± 25.17dD
75	HT-102	4.84 ± 0.23dD	1 866.67 ± 32.53dD
155	金九	5.00 ± 0.03dD	1 918.33 ± 61.71dD
155	HT-102	6.02 ± 0.65cC	2 150.00 ± 30.41cC
205	金九	16.63 ± 0.29bB	3 245.00 ± 70.89bB
205	HT-102	19.91 ± 0.65aA	3 793.33 ± 130.03aA

注:同列不同小写、大写字母分别表示样品间差异显著($P < 0.05$)、极显著($P < 0.01$),表 3 至表 5 同。

H_2O_2 并不是一种很活跃的 ROS,但有时它却可引发 $\cdot\text{OH}$ 的产生而对细胞产生毒性。由表 1 可知:金九叶片中 H_2O_2 含量在 205 d 时比 155 d 时升高了 69.2%,差异达到极显著;HT-102 叶片中 H_2O_2 含量在 205 d 时比 155 d 时升高了 76.4%,差异也达到极显著。HT-102 和金九叶片中 H_2O_2 含量在 75 d 时与 155 d 时差异不显著,但到收获期 205 d 时, H_2O_2 含量与 155 d 时相比,差异已达到极显著水平,且 HT-102 比金九叶片中 H_2O_2 含量高 16.9%。由表 2 可知,随着地黄生长发育进程的推进,逐渐升高的 ROS 含量也会激活地黄细胞内的抗氧化防御系统。

表 2 金九和 HT-102 地黄在 75 d、155 d 和 205 d 时叶片中的 ROS 和抗氧化物质及抗氧化酶活性之间的皮尔森相关系数

ROS	AsA	GSH	Pro	SOD	POD	CAT	APX	GR
$\text{O}_2^- \cdot$	0.979 **	0.803 **	0.947 **	0.967 **	0.995 **	0.965 **	0.942 **	0.858 **
H_2O_2	0.989 **	0.847 **	0.970 **	0.982 **	0.990 **	0.951 **	0.945 **	0.876 **

注: $n = 6 \times 3 = 18$,“**”表示差异极显著($P < 0.01$)。

2.2 金九和 HT-102 叶片中抗氧化物质含量的差异

AsA 和 GSH 是 2 个重要的防御氧化胁迫的非酶复合物^[21],它们能够缓和生物体内的多种氧化应激,保护组织细胞免受内源性 ROS 的损伤。由表 3 可知:AsA 和 GSH 的含量在 2 种地黄叶片中呈现相似的变化趋势,随着生长期的推进,AsA 的含量升高更显著。金九叶片中 AsA 含量在 205 d 时比 155 d 时升高了 189.0%,HT-102 叶片中 AsA 含量在 205 d 时比 155 d 时升高了 141.2%,差异达到极显著水平;且在 205 d 时,HT-102 叶片中 AsA 含量比金九高 32.8%。而对于 GSH 的水平,金九在 205 d 时比 155 d 时升高了 26.1%,在 155 d 时比 75 d 时升高了 23.9%,差异达到显著水平。但对于 HT-102 来说,其叶片中 GSH 水平在 205 d 时比 155 d 只上升了 9.6%,差异不显著;而在 155 d 时比 75 d 时升高了 37.0%,差异达到极显著水平。

在逆境(旱、热、盐碱、冷、冻等)条件下,许多植物体内 Pro 大量积累。积累的 Pro 作为细胞质内的渗透调节物质,还能稳定蛋白的结构、维持酶的活性、降低细胞酸性以及调节细胞的氧化还原势等^[22]。Pro 能作为单态氧的淬灭剂和 $\cdot\text{OH}$ 的清除剂,所以它在植物的抗衰老过程中也起着重要的作用。由表 3 可知:金九 Pro 水平在 205 d 时比 155 d 时升高了 94.4%,HT-102 的 Pro 水平在 205 d 时比 155 d 时升高了 81.0%。而且,HT-102 比金九叶片中 Pro 含量在 205 d 时和

155 d 时都高,差异达到极显著;这也说明:在地黄生长发育后期,HT-102 比金九叶片中产生了更多的 ROS。因此,HT-102 叶片中积累较多的 Pro 来提高代谢能力。在生长过程中,HT-102 和金九 2 个地黄品种出苗率之间没有明显差异,但到了生长末期,HT-102 和金九相比,叶片干枯和死苗现象严重很多。

2.3 金九和 HT-102 叶片中抗氧化酶活性的差异

由表 4 可见,SOD、POD 和 CAT 活性在 2 种地黄叶片中都随着生长发育期的推进而升高。对 SOD 活性来说,金九叶片在 205 d 时和 155 d 时相比上升了 72.3%,HT-102 叶片在 205 d 时和 155 d 时相比上升了 77.6%。而且,HT-102 叶片中 SOD 活性在 205 d、155 d 和 75 d 时都比金九高,差异达到极显著。POD 活性和 SOD 活性有相似的变化趋势,但 2 种地黄叶片中 POD 的活性增强较 SOD 剧烈。POD 活性显著增强表现在:金九叶片在 205 d 时比 155 d 时升高了 6.78 倍,HT-102 叶片在 205 d 时比 155 d 时升高了 4.67 倍,差异都达到极显著水平。然而,CAT 活性整体上与 SOD 和 POD 却表现出不同的变化特性。在 2 种地黄叶片中,CAT 活性在 205 d、155 d 和 75 d 时差异都达到极显著水平。但是在 205 d 时,金九叶片中 CAT 活性却比 HT-102 的高。这很可能是地黄在衰老过程中,HT-102 叶片中积累了更多的 ROS,从而造成了对生物大分子蛋白质、酶等更严重的损伤,损伤导致了蛋

表 3 不同地黄品种叶片中抗氧化物质的含量

生长时间 (d)	品种	AsA 含量 (mg/g)	GSH 含量 ($\mu\text{mol/g}$)	Pro 含量 ($\mu\text{g/g}$)
75	金九	115.74 \pm 7.66dD	39.58 \pm 3.15cB	22.74 \pm 1.50dD
75	HT102	131.09 \pm 2.53dD	43.19 \pm 2.71cB	27.84 \pm 1.90dD
155	金九	144.74 \pm 4.93dD	49.03 \pm 1.05bB	25.77 \pm 2.89dD
155	HT-102	230.26 \pm 24.23cC	59.17 \pm 1.44aA	36.49 \pm 3.93cC
205	金九	418.31 \pm 23.10bB	61.81 \pm 0.96aA	50.09 \pm 2.96bB
205	HT-102	555.37 \pm 18.49aA	64.86 \pm 3.78aA	66.04 \pm 3.86aA

表 4 不同地黄品种叶片中抗氧化酶的活性

生长时间 (d)	品种	SOD 活性 (U/mg)	POD 活性 [U/(g \cdot min)]	CAT 活性 [$\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$]
75	金九	2.61 \pm 0.13fF	103.44 \pm 7.00cC	0.29 \pm 0.01fF
75	HT-102	3.04 \pm 0.19eE	165 \pm 12.55cC	0.34 \pm 0.01eE
155	金九	3.65 \pm 0.10dD	130.89 \pm 15.40cC	0.38 \pm 0.01dD
155	HT-102	4.38 \pm 0.13cC	211.56 \pm 36.19cC	0.43 \pm 0.01cC
205	金九	6.29 \pm 0.14bB	1 018 \pm 68.67bB	0.88 \pm 0.01aA
205	HT-102	7.78 \pm 0.14aA	1 198.66 \pm 36.45aA	0.81 \pm 0.01bB

白质解离、酶变性失活,这也和表 1 的结果相吻合。

由表 5 可见,APX 和 GR 2 种酶活性在金九和 HT-102 地黄生长发育过程中,整体上表现出相同的变化趋势,而且在生长的 75 d、155 d 和 205 d 时差异都达到极显著水平。GR 活性变化具体表现在:金九叶片在 155 d 时比 75 d 时升高了 1.56 倍,在 205 d 时比 155 d 时升高了 73.91%;HT-102 叶片在 155 d 时比 75 d 时升高了 1.25 倍,205 d 时比 155 d 时升高了 37.04%,差异都达到极显著水平。对于 APX 活性来说,金九叶片在 155 d 时比 75 d 时升高了 76.19%,在 205 d 时比 155 d 时升高了 1.31 倍;HT-102 叶片在 155 d 时比 75 d 时升高了 93.71%,205 d 时比 155 d 时升高了 75.45%。而且,在 205 d 收获期时,金九叶片中 GR 和 APX 活性都比 HT-102 的高。这也很可能是地黄在衰老过程中,HT-102 叶片中积累了更多的 ROS,从而造成了 GR 和 APX 酶变性失活。这也和表 1 的结果相符合。

表 5 不同地黄品种叶片中抗氧化酶的活性

生长时间 (d)	品种	APX 活性 [$\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$]	GR 活性 [$\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{min})$]
75	金九	1.26 \pm 0.05fE	0.09 \pm 0.01fE
75	HT-102	1.43 \pm 0.09eE	0.12 \pm 0.01eE
155	金九	2.22 \pm 0.09dD	0.23 \pm 0.01dD
155	HT-102	2.77 \pm 0.09cC	0.27 \pm 0.01cC
205	金九	5.12 \pm 0.09aA	0.40 \pm 0.02aA
205	HT-102	4.86 \pm 0.09bB	0.37 \pm 0.01bB

3 讨论与结论

近年来,很多研究表明植物叶片的衰老与 ROS 引起的损伤有关。地黄在生长发育过程中,会产生一定量的 ROS,而且,随着生长发育期的推进,直到衰老期,产生过量的 ROS 远远超出了其自身抗氧化系统的清除能力。本研究中,2 个品种地黄在收获期叶片中积累了很高水平的 O_2^- 和 H_2O_2 ,且 HT-102 叶片中 O_2^- 和 H_2O_2 水平都高于金九。这些 ROS 在细胞内会引起一系列反应,如膜损伤、细胞器功能破坏、代谢

反应减缓、电解质渗漏等,最终导致细胞死亡。而且,在生长后期,HT-102 植株叶片的干枯现象较金九严重,这很可能和 HT-102 叶片中 ROS 水平较高有关。

已证实地黄叶片具有很强的抗氧化活性^[23]。SOD 的主要功能是催化 O_2^- 发生歧化反应,生成 H_2O_2 和 O_2 ,从而消除 O_2^- 对细胞的损害^[24]。正常情况下,SOD 活性稳定,植物产生和消除 O_2^- 的能力处于动态平衡。但当植物衰老或遇到逆境时,体内 O_2^- 水平升高,SOD 的活性也上升^[25],从而对植物起到保护作用。另外,SOD 活性强,也间接说明了叶片细胞内具有高水平的 O_2^- ,本研究中对 O_2^- 的直接测定也证明了这一点(表 1)。SOD 虽然可以清除 O_2^- ,但同时又有 H_2O_2 的形成。植物体中 H_2O_2 的清除需要依赖 CAT 和 POD 这 2 种保护酶的共同作用。细胞中高浓度的 H_2O_2 主要靠 CAT 清除,从而尽可能使 H_2O_2 控制在较低水平^[26]。但是,在各种逆境胁迫或者植物体衰老的条件下,过多的 H_2O_2 积累会造成 CAT 活性下降甚至变性失活已被大多数的研究所证实。本研究中 HT-102 地黄在衰老期叶片中较高的 H_2O_2 水平和较低的 CAT 活性,与沈文飏、祁春苗等人的研究结果^[27-28]一致。本研究中,POD 活性在地黄衰老期大大升高,一方面要清除细胞内的 H_2O_2 ,另一方面可能它参与了叶绿素的降解^[29]、活性氧的产生,并引发膜脂过氧化,是植物衰老到一定阶段的产物。HT-102 叶片中较高的 POD 活性也说明它较金九更早进入了衰老期,叶片膜脂过氧化更严重。

APX 和 GR 是 AsA-GSH 循环中清除 H_2O_2 的关键酶。APX 通过把 AsA 转变成脱氢抗坏血酸而清除 H_2O_2 ,AsA 的再生由依赖 GSH 的脱氢抗坏血酸还原酶催化^[30]。本研究中,APX 和 GR 活性在 2 种地黄叶片中都随着生长发育过程的推进而升高(表 5),这些酶活性的升高也导致了 AsA 和 GSH 的积累(表 3)。因为在地黄生长过程中,为了防治黄斑病、轮纹病、枯萎病及其他常见的病毒病而喷施多种农药后,在一定时期内对地黄叶片造成伤害。以上抗氧化酶活性升高,是为了减轻病害、农药及衰老等因素对地黄细胞的伤害。

抗氧化酶活性的升高可能是植物体内新合成或激活了编码这些抗氧化酶基因的转录和翻译^[31],进而增强了地黄的抗性。但是,在地黄生长末期,叶绿素的降解快于合成、叶片逐渐黄化、RNA 水解、蛋白质也迅速降解,ROS 水平超出防御机制所受范围,细胞处于氧化胁迫状态,进而会引发脂质过氧化、蛋白质氧化以及酶失活,最终激活程序性细胞死亡。HT-102 地黄叶片中高水平的 O_2^- 和 H_2O_2 与其叶片出现黄化现象较早以及后期叶片干枯现象更严重有直接的关系。

总之,地黄不同品种 ROS 和抗氧化物质的差别反映了地黄种质资源在抵抗外界胁迫和适应环境方面的遗传多样性。ROS 含量高无疑不利于光合产物的积累和次生代谢产物的合成^[32-33],但不同品种产量的高低除与抗氧化物质水平高低有关外,还与其他遗传因素和栽培条件有关。叶片早衰是影响地黄和其他农作物产量和品质的重要因素之一,因此 ROS 和抗氧化物质含量的高低只是地黄栽培育种的参考指标之一。本研究为今后揭示地黄衰老的分子机制,以及在生产实践中延缓地黄的衰老进程,并进一步提高地黄的产量和品质具有重要的理论价值。

参考文献:

- [1] 王太霞. 怀地黄块根的发育与有效成分的积累关系及其道地性形成机制的研究[D]. 西安:西北大学,2004:14-17.
- [2] 张怡,路铁刚. 植物中的活性氧研究概述[J]. 生物技术进展,2011,1(4):242-248.
- [3] 于震,周红艳,王军. 地黄药理作用研究进展[J]. 中医研究,2001,14(1):43-45.
- [4] Valko M, Morris H, Cronin M M. Toxicity and oxidative stress[J]. Current Medicinal Chemistry,2005,12(10):1161-1208.
- [5] 庞杰,郝丽珍,张凤兰,等. 沙芥叶片活性氧和抗坏血酸对干旱胁迫的响应[J]. 植物生理学报,2013,49(1):57-62.
- [6] Vertuani S, Angusti A, Manfredini S. The antioxidants and pro-antioxidants network; an overview[J]. Current Pharmaceutical Design,2004,10(14):1677-1694.
- [7] 王玉,孔凡英,尹波,等. 过表达单脱氢抗坏血酸还原酶基因提高番茄抗 UV-B 胁迫能力[J]. 植物生理学报,2014,50(1):95-104.
- [8] 郭丽娜,白皎,裴月湖. 生地黄化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2013,30(7):506-508,542.
- [9] 张艳丽,冯志毅,郑晓珂,等. 地黄叶的化学成分研究[J]. 中国药学杂志,2014,49(1):15-21.
- [10] 路翠红,赵正伟,王天亮,等. 地黄新品种金九(03-2)的选育及栽培要点[J]. 农业科技通讯,2012(10):164-165.
- [11] 王凤娟. 怀地黄航天诱变后生物学效应及新种质的选育[D]. 新乡:河南师范大学,2009:2-3.
- [12] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006:221-223.
- [13] 张蜀秋. 植物生理学实验技术教程[M]. 北京:科学出版社,2011:197-198.
- [14] 苍晶,赵会杰. 植物生理学实验教程[M]. 北京:高等教育出版社,2013:160-162.
- [15] Stewart C R. The mechanism of abscisic acid-induced proline accumulation in barley leaves[J]. Plant Physiology,1980,66(2):230-233.
- [16] Abassi N A, Kushad M M, Endress A G. Active oxygen scavenging enzymes activities in developing apple flowers and fruits[J]. Sci Hort,1998,74(3):183-194.
- [17] 李玲. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京:科学出版社,2009:97-98.
- [18] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant and Cell Physiology,1981,22(5):867-880.
- [19] Foyer C H, Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts; a proposed role in ascorbic acid metabolism[J]. Planta,1976,133(1):21-25.
- [20] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry,1976,72(1/2):248-254.
- [21] Shan C J, Liang Z S. Jasmonic acid regulates ascorbate and glutathione metabolism in *Agropyron cristatum* leaves under water stress[J]. Plant Science,2010,178(2):130-139.
- [22] Nanjo T, Kobayashi M, Yoshida Y, et al. Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal,1999,18(2):185-193.
- [23] 朴仁哲,赵洪颜,金玉姬,等. 百草枯胁迫对地黄和苘麻膜脂过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2008(3):271-274.
- [24] 童富淡,胡家恕,陈进红,等. 不同育秧方式对早稻叶片 SOD 活性、电解质渗透率和发根力的影响[J]. 浙江农业大学学报,1997,23(6):74-78.
- [25] Youngman R J, Dpdge A D. On the mechanism of paraquat resistance in *Conyza* sp. [C]. Photosynthesis and productivity,1981:537-544.
- [26] 潘瑞炽. 茉莉酸甲酯对水分胁迫下花生幼苗 SOD 活性和膜脂过氧化作用的影响[J]. 花生科技,1996,21(4):34.
- [27] 沈文飏,叶茂炳,徐朗莱,等. 小麦旗叶自然衰老过程中清除活性氧能力的变化[J]. 植物学报,1997,39(7):634-640.
- [28] 祁春苗,赵会杰,张秀月. 氯化胆碱对干旱胁迫下地黄抗氧化代谢及梓醇含量的影响[J]. 水土保持学报,2007,21(4):159-163.
- [29] 曾韶西,王以柔,刘鸿先. 低温光照下与叶绿素降解有关酶促反应[J]. 植物生理学报,1991,17(2):177-182.
- [30] Zhang J X, Kirkham M B. Enzymatic responses of the ascorbate-glutathione cycle to drought in sorghum and sunflower plants[J]. Plant Science,1996,113(95):139-147.
- [31] Ali B, Hasan S A, Hayat S, et al. A role for brassinosteroids in the amelioration of aluminium stress through antioxidant system in mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] [J]. Environmental and Experimental Botany,2008,62(2):153-159.
- [32] 张永福,黄鹤平,银立新,等. 冷(热)激对干旱胁迫下玉米活性氧清除及膜脂过氧化的调控机制[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):56-60.
- [33] 邓琳琼,赵菲菲,张以忠. 细野荠水提液清除活性氧的效果[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):298-300.