

棒叶落地生根对干旱与复水的生理响应

罗银玲^{1,2*}, 毕廷菊¹, 苏志龙¹, 崔现亮¹, 兰芹英²

(1. 普洱学院生命科学系, 云南 普洱 665000; 2. 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303)

摘要: 为探讨棒叶落地生根(*Kalanchoe tubiflora*)耐旱的机制, 在干旱与复水条件下, 对其叶片的一些生理生化指标进行了测定。结果表明, 随干旱时间延长, 棒叶落地生根叶片中 O_2^- 生成速率增大, H_2O_2 含量升高, 导致脂质过氧化产物 MDA 含量增高; 同时 SOD 活性升高, CAT 活性降低; 可溶性糖与脯氨酸含量增加, 但复水后这些指标均恢复到干旱前的水平。这说明棒叶落地生根能够耐受干旱环境是通过积累渗透调节物质, 提高活性氧的清除能力, 从而减少氧化胁迫造成的伤害。

关键词: 棒叶落地生根; 干旱; 抗氧化酶; 渗透调节

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.04.010

Physiological Response of *Kalanchoe tubiflora* Leaves to Drought Stress and Rewatering

LUO Yin-ling^{1,2*}, BI Ting-jü¹, SU Zhi-long¹, CUI Xian-liang¹, LAN Qin-ying²

(1. College of Life Science, Pu'er University, Pu'er 665000, China; 2. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, China)

Abstract: In order to understand the mechanism of drought tolerance in *Kalanchoe tubiflora*, some physiological and biochemical indexes in *K. tubiflora* leaves were determined under drought and rewatering conditions. The results showed that O_2^- production rate, and H_2O_2 and malonaldehyde (MDA) content increased with prolonged droughts, and the contents of soluble sugar and proline, as well as SOD activity enhanced, while CAT activity reduced. All of these could restore to the level before drought under rewatering treatment. In conclusion, it was suggested that *K. tubiflora* tolerate drought stress by accumulation of osmoregulators, improving capacity of active oxygen scavenging, thus reducing the damage caused by oxidative stress.

Key words: *Kalanchoe tubiflora*; Drought; Antioxidant enzyme; Osmoregulation

植物在整个生活史中,常遭遇很多不利于生长的因素,如冷害、重金属、干旱、病虫害等,其中,干旱胁迫是非常普遍的现象^[1]。当土壤水分不足或蒸腾旺盛时,植株容易失去水分变得萎蔫,如果持续时间较长,导致植株枯萎。为了能够生存与繁殖,植株发展了很多策略应对干旱胁迫,如气孔关闭、渗透调节物质积累、ABA 含量升高和抗氧化能力增强等^[2-3]。

植株遭遇干旱胁迫时,光合作用与呼吸作用均发生改变,导致活性氧(Reactive oxygen species, ROS)的产生增加^[4]。活性氧能破坏脂类、蛋白质与核酸的结构^[5],及时清除活性氧是植株减少干旱伤害的有效途径。超氧阴离子(O_2^-)与过氧化氢(H_2O_2)是植物体内普遍存在的两种活性氧成分,它们可分别被超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)与过氧化氢酶(Catalase, CAT)清除。此外,植株遭

收稿日期: 2013-08-23 接受日期: 2013-11-18

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2010Y216)资助

作者简介: 罗银玲(1978~),女,博士,副教授,主要从事植物运动与植物逆境生理相关的研究。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: luoyl1978@foxmail.com

遇干旱时,植物体内会积累一些保护性或防御性物质,如脯氨酸(Proline)和可溶性糖(Soluble sugar)等,它们能调节细胞内的渗透压,降低渗透势,从而降低水势,以便从外界继续吸水,维持膨压等生理过程^[6-7]。

棒叶落地生根 [*Kalanchoe tubiflora* (Harv.) Raym.-Hamet] 是景天酸代谢(Crassulacean acid metabolism, CAM)植物^[8],具有很强的抗旱能力,俗称“打不死”。对 C₃ 植物与 C₄ 植物在干旱胁迫时抗氧化反应的研究比较多,但有关 CAM 植物在遭遇干旱时的响应机制研究较少。本文通过测定棒叶落地生根在梯度干旱与复水后叶片中的 SOD、CAT 活性与脯氨酸、可溶性糖含量,探讨其耐旱性与抗氧化能力和渗透调节能力的关系,为揭示棒叶落地生根的耐旱机制提供科学参考。

1 材料和方法

1.1 植物材料

棒叶落地生根 [*Kalanchoe tubiflora* (Harv.) Raym.-Hamet] 的小苗采自普洱学院居民楼楼顶(北纬 22°46'46", 东经 100°59'41"), 撒在盛满土的黑色的营养袋内(直径为 20 cm), 于 2011 年 8 月-2012 年 1 月在普洱学院生命科学系的温室内种植。当植株长至约 15 cm 高时,开始进行干旱处理,处理方式为止浇水。对照每 2~3 d 浇水 1 次,干旱处理共设置两个梯度:干旱 20 d (D20)和干旱 70 d (D70)。干旱 70 d 后进行复水处理,每隔 2 d 浇水 1 次,共浇 3 次,最后一次浇水后隔 2 d 采样保存。

1.2 叶片相对含水量与土壤含水量的测定

叶片相对含水量测定 参照 Turner^[9]的方法进行。先称取叶片鲜重(FW),再把叶片放在蒸馏水中 36 h 充分水合,称水合后的叶片重量(TW);然后把叶片放在 100℃烘箱中烘 48 h,称取叶片干重(DW)。含水量 = [(FW - DW)/(TW - DW)] × 100%。

土壤含水量 采用称重法进行。先称取瓶重(W₁),把土放入瓶中称取重量(W₂),再把土放在 107℃烘箱中烘 24 h,称取重量(W₃)。土壤含水量 = [(W₂ - W₃)/(W₂ - W₁)] × 100%。

1.3 O₂⁻生成速率与 H₂O₂、MDA 含量的测定

O₂⁻生成速率的测定 按照李忠光等^[10]的

方法进行。准确称取 0.5 g 新鲜叶片,在 3 mL 50 mmol L⁻¹ 磷酸钾缓冲液(pH 7.8)中匀浆,以 10000 ×g 离心 15 min,上清液用磷酸钾缓冲液(pH 7.8)定容至 3 mL。样品提取液 0.5 mL,加入 50 mmol L⁻¹ 磷酸缓冲液 0.5 mL, 10 mmol L⁻¹ 盐酸羟胺 100 μL,混匀,置于 25℃下 1 h 后,各管再加入 17 mmol L⁻¹ 对氨基苯磺酸 1 mL 和 7 mmol L⁻¹ α-萘胺 1 mL,混匀,置于 25℃显色 20 min。在 530 nm 波长处测定吸光度。

MDA 含量的测定 按照路信等^[11]的方法进行。准确称取 0.4 g 的棒叶落地生根叶片,冰浴研磨,4℃下用 4 mL 5% 的三氯乙酸抽提 30 min,以 10000 ×g 离心 15 min。取上清液 0.5 mL 加入 1.5 mL 含有 0.5% 硫代巴比妥酸的 15% 三氯乙酸溶液中,在 95℃水浴 30 min 后迅速冷却。经 10000 ×g 离心 10 min 后,取上清液在波长 600 nm、532 nm 和 450 nm 处测定光吸收值。

H₂O₂ 含量的测定 参照 Patterson 等^[12]的方法进行。准确称取 0.3 g 的叶片,于 3 mL 5% 三氯乙酸中研磨成匀浆,匀浆液经 10000 ×g 离心 10 min 后,上清液用 5% 三氯乙酸定容至 5 mL。取上清液 1 mL 加入 0.1 mL 5% (V/V) 硫酸钛的浓盐酸溶液,再加入 0.2 mL 浓氨水,混匀后以 5000 ×g 离心 10 min。沉淀用 2 mL 的 1 mol L⁻¹ 硫酸充分溶解后,用紫外-可见分光光度计测定波长 410 nm 处的光吸收值。

1.4 SOD 与 CAT 活性测定

SOD 与 CAT 的提取与活性测定按照 Jiang 等^[13]的方法进行。准确称取 0.7 g 叶片,加预冷的酶提取液 5 mL,冰浴研磨成匀浆,于 4℃下 13000 ×g 离心 10 min,上清液用来测 SOD 与 CAT 活性。SOD 反应液为磷酸缓冲液(pH 7.8),含 13 mmol L⁻¹ 甲硫氨酸, 75 μmol L⁻¹ NBT, 16.7 μmol L⁻¹ 核黄素, 0.1 mmol L⁻¹ EDTA。在波长 560 nm 处测定吸光值。SOD 活性以 1 mg 蛋白抑制 NBT 光化还原的 50% 作为 1 个酶活性单位。CAT 的反应体系为含有 30 mmol L⁻¹ H₂O₂ 的 50 mmol L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0),测定反应体系在 240 nm 处光吸收值的变化。

1.5 可溶性糖与脯氨酸含量测定

可溶性糖含量的测定 参照 Yemm 等^[14]的方法进行。准确称取 0.5 g 叶片,置于研钵中匀浆

并移入具塞试管,加入 5 mL 70% 的乙醇在沸水浴中浸提, 10 min 后取出冷却,以 $1000 \times g$ 离心 5 min。吸取上清液 0.5 mL 于试管中,加入 3 mL 蒽酮试剂混合均匀,沸水浴中煮 10 min,取出后放入冷水中冷却,在 620 nm 波长处测定其吸光度。

脯氨酸含量的测定 参照 Bates 等^[15]的方法进行。准确称取 0.3 g 叶片,置于 20 mL 具塞试管中,加入 5 mL 3% 磺基水杨酸溶液,管口加盖玻璃塞,于沸水浴中浸提 15 min。取出试管冷却至室温后以 $1000 \times g$ 离心 5 min。吸取 1 mL 上清液于具塞试管中,加入 1 mL 冰醋酸与 1 mL 5% 酸性茚三酮显色液,在沸水浴中加热 30 min 后冷却。在 520 nm 波长处测定比色度。

1.6 统计分析

数据分析采用非参检验的 Kruskal-Wallis 检验,用 R 软件(Version 2.15.1)进行分析^[16]。以 $P < 0.05$ 表示处理间差异显著。处理之间的多重比较分析

采用‘pgirmess’包的 kruskalmc 功能进行^[17]。

2 实验结果

2.1 叶片的相对含水量与土壤水分含量

棒叶落地生根对照的叶片相对含水量为 95.68% (图 1: A),生长 20 d 与 70 d 的叶片相对含水量分别为 95.62% 与 95.65%,正常生长的植株叶片相对含水量间无差异。植株干旱胁迫 20 d 后,叶片的相对含水量下降到 92.09%;干旱胁迫 70 d 后,下降至 86.19%,干旱 70 d 的叶片相对含水量与干旱处理前有显著差异($P < 0.05$)。干旱 70 d 后进行复水处理,叶片的相对含水量上升至 93.51%。对照土壤的含水量为 31.85% (图 1: B);干旱处理 20 d 时,土壤含水量下降到 1.03%;干旱处理 70 d 时,土壤含水量下降至 0.42%,均与干旱处理前差异显著($P < 0.05$);干旱处理 70 d 后进行复水处理,含水量又升至 33.18%。

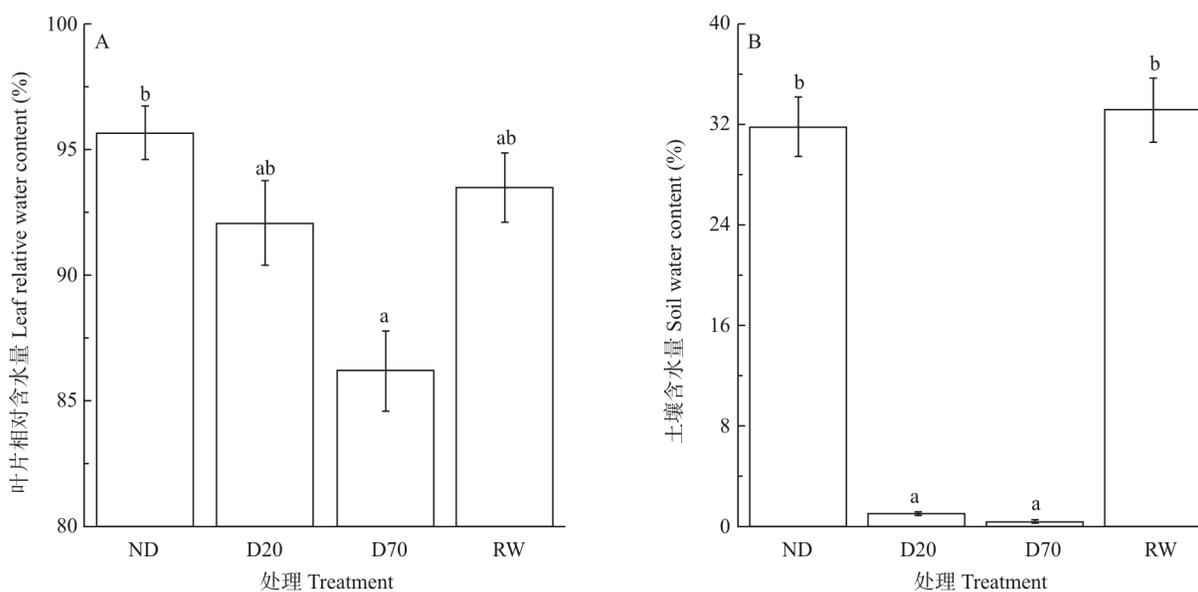


图 1 干旱与复水后土壤含水量与棒叶落地生根叶片相对含水量的变化。ND: 对照; D20: 干旱 20 d; D70: 干旱 70 d; RW: 干旱 70 d 后复水。柱上不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下图同。

Fig. 1 Changes in soil water content and relative water content (RWC) of *Kalanchoe tubiflora* leaves after drought and rewatering. ND: Control; D20: Drought for 20 days; D70: Drought for 70 days; RW: Rewater after 70-day-drought. The different letters above columns indicated significant difference at 0.05 level. The same is following Figures.

2.2 O_2^- 生成速率、 H_2O_2 和 MDA 含量

棒叶落地生根叶片的 O_2^- 生成速率随干旱时间的延长而显著升高(图 2: A, Kruskal-Wallis 检验, $\chi^2 = 10.38$, $P < 0.05$)。对照叶片的 O_2^- 生成速率

为 $2.32 \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$; 干旱处理 20 d 后,升至 $6.89 \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$; 干旱处理 70 d 后,升至 $12.30 \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ 。复水处理后,叶片的 O_2^- 生成速率比干旱处理的低,为 $5.16 \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ 。

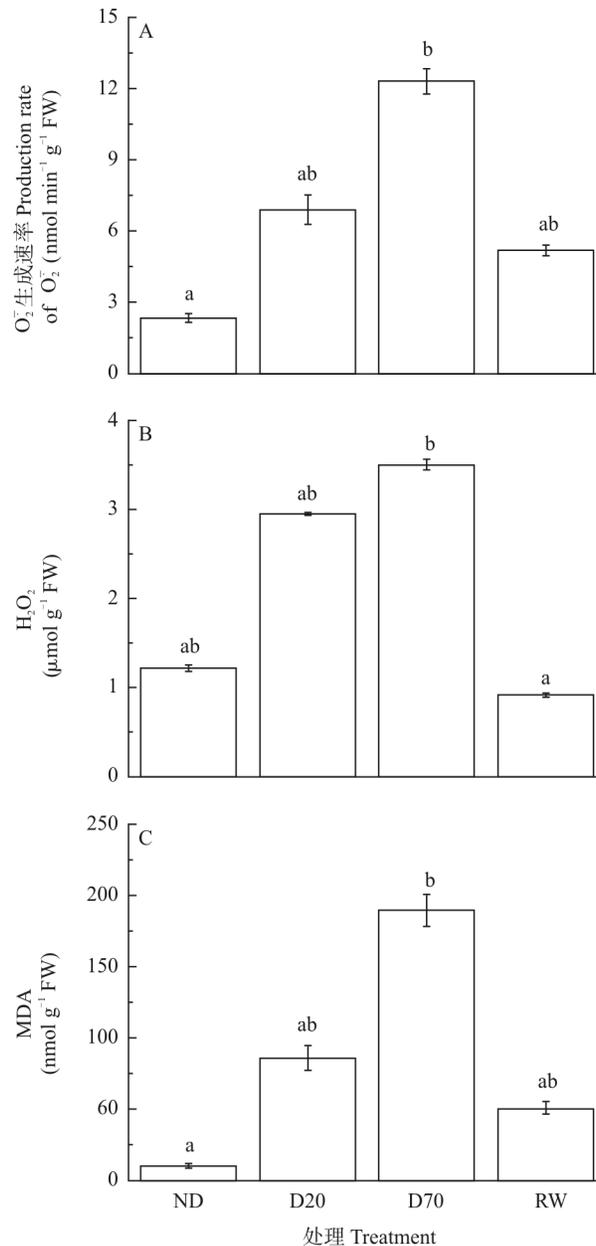


图2 干旱与复水对棒叶落地生根叶片中 O₂⁻ 生成速率、H₂O₂ 和 MDA 含量的影响

Fig. 2 Effects of drought and rewatering on production rate of O₂⁻, H₂O₂ and MDA contents in *Kalanchoe tubiflora* leaves

对照叶片中的 H₂O₂ 含量为 1.22 μmol g⁻¹ FW, 干旱处理 20 d 和 70 d 分别为 2.94 和 3.51 μmol g⁻¹ FW, 复水处理后叶片中的 H₂O₂ 含量为 0.91 μmol g⁻¹ FW (图 2: B), 处理与对照间的差异显著(Kruskal-Wallis 检验, $\chi^2=10.38$, $P<0.05$)。对照叶片中的 MDA 含量为 10.03 nmol g⁻¹ FW, 干旱处理 20 d 和 70 d 后分别为 85.69 和 189.55 nmol g⁻¹ FW, 复水处理后叶片中的 MDA 含量为 50.47 nmol g⁻¹ FW (图 2: C), 处理与对照间的差异显著(Kruskal-Wallis 检验, $\chi^2=10.38$, $P<0.05$)。

2.3 SOD和CAT活性

棒叶落地生根叶片中 SOD 活性随干旱时间的延长而显著增强(图 3: A, Kruskal-Wallis 检验, $\chi^2=10.38$, $P<0.05$)。对照叶片中 SOD 活性为 11.94 U mg⁻¹ protein, 干旱处理 20 d 和 70 d 后分别提高至 37.75 和 75.40 U mg⁻¹ protein, 复水后又降低至 28.02 U mg⁻¹ protein。CAT 活性随干旱时间的延长而显著降低(图 3: B, Kruskal-Wallis 检验, $\chi^2=9.67$, $P<0.05$)。对照叶片中 CAT 活性为 0.49 μmol H₂O₂ mg⁻¹ protein min⁻¹, 干旱 20 d 和 70 d 后

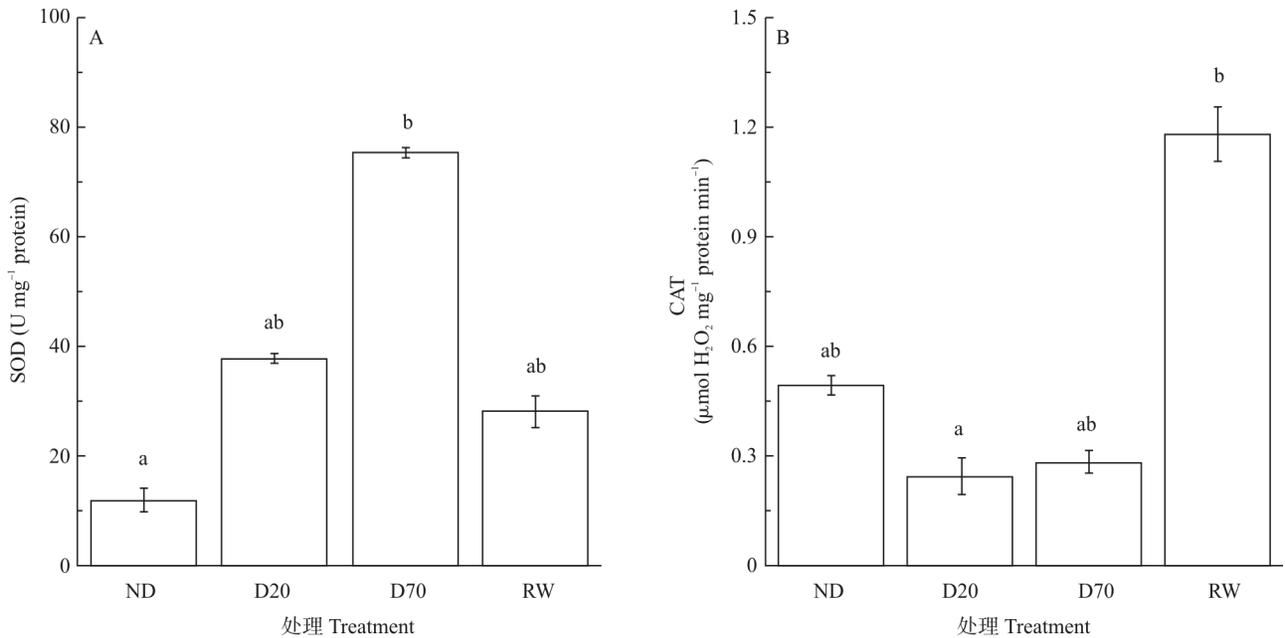


图3 干旱与复水对棒叶落地生根叶片中 SOD 和 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effects of drought and rewatering on SOD and CAT activities in *Kalanchoe tubiflora* leaves

分别降低至 0.24 和 0.28 μmol H₂O₂ mg⁻¹ protein min⁻¹, 复水后又升高至 1.18 μmol H₂O₂ mg⁻¹ protein min⁻¹。

2.4 可溶性糖和脯氨酸含量

棒叶落地生根叶片中可溶性糖含量随干旱时间的延长而上升(图 4: A, Kruskal-Wallis 检验, $\chi^2=9.97$, $P<0.05$), 对照叶片中的可溶性糖含

量为 2.44 mg g⁻¹ FW, 干旱处理 20 d 和 70 d 后分别升高至 6.25 和 8.98 mg g⁻¹ FW, 复水后又降低至 2.78 mg g⁻¹ FW。脯氨酸含量同样随干旱时间的延长而不断升高(图 4: B, Kruskal-Wallis 检验, $\chi^2=9.97$, $P<0.05$)。对照叶片中的脯氨酸含量为 0.11 mg g⁻¹ FW, 干旱处理 20 d 与 70 d 后分别升高至 0.15 和 0.95 mg g⁻¹ FW, 复水后又降低至 0.35 mg g⁻¹ FW。

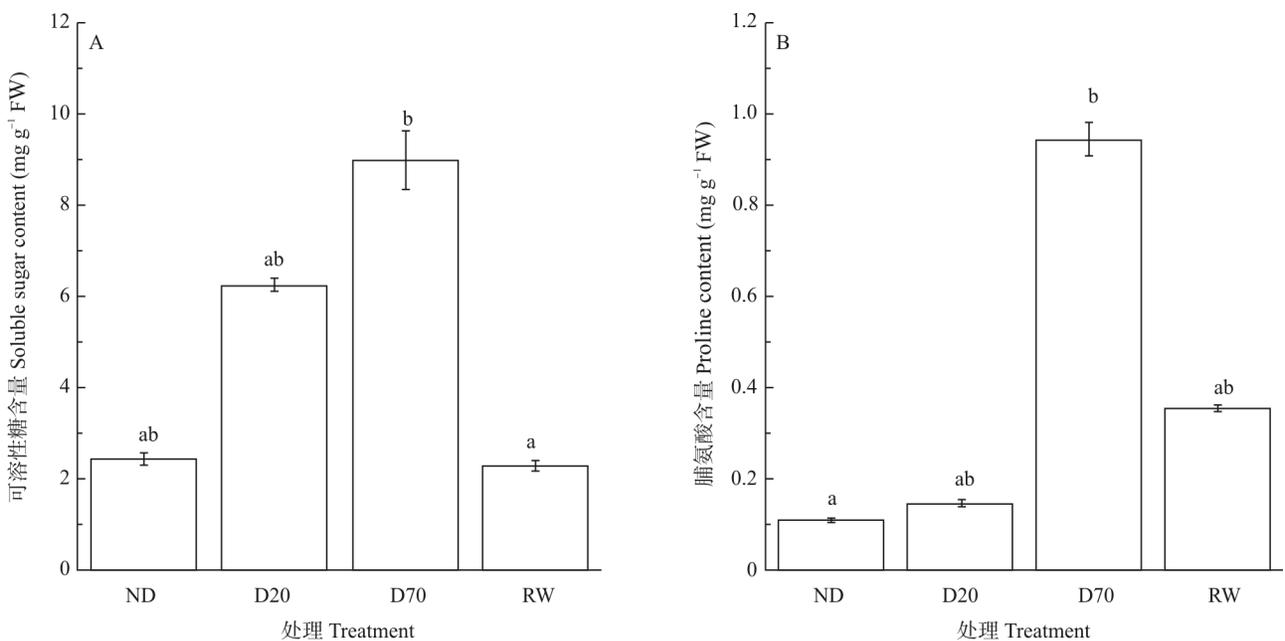


图4 干旱与复水对棒叶落地生根叶片中可溶性糖和脯氨酸含量的影响

Fig. 4 Effects of drought and rewatering on soluble sugar and proline contents in *Kalanchoe tubiflora* leaves

3 讨论

棒叶落地生根叶片在干旱处理 20 d 后的相对含水量降低了 3.59%，干旱处理 70 d 后降低了 6.49%，叶片仍然保持较高的含水量，这说明棒叶落地生根具有很强的抗旱能力，能在长期干旱条件下保持水分。这与它的代谢类型有关，棒叶落地生根是典型的景天酸代谢植物^[8]，气孔白天关闭，晚上打开。白天蒸腾旺盛时叶片气孔关闭，有利于减少由于蒸腾导致的水分丧失。其他几种景天酸代谢植物也同样具有这种现象，如佛甲草(*Sedum lineare*)、凹叶景天(*S. emarginatum*)和垂盆草(*S. sarmentosum*)在干旱处理 28 d 后，叶片的相对含水量仍高于 90%^[33]。而白三叶(*Trifolium repens*, C₃植物)干旱处理 12 d 的叶片相对含水量已降到 60% 以下^[22]。

随着干旱时间的延长，水分丧失增多，棒叶落地生根叶片中的 MDA 含量显著增加，说明干旱过程中叶片的细胞脂质过氧化程度增加。MDA 的变化与活性氧的积累相关，叶片中超氧阴离子生成速率以及 H₂O₂ 含量都随干旱时间的延长而升高也说明了这一点。作为典型的 CAM 植物，由于气孔开放时间的限制，CO₂ 常是光合作用的限制因素；当光呼吸较弱时，水的光解产生的氧气易导致更多的活性氧积累^[36]。因为活性氧能引起生物大分子的氧化伤害，所以活性氧的清除系统对保护细胞结构起着重要的作用。SOD 是活性氧清除系统中的第一道防线，可以把超氧阴离子转变成 H₂O₂，而 H₂O₂ 可以被 CAT 水解生成水。棒叶落地生根中 SOD 活性随干旱时间的延长而升高，这与很多研究的结果一致^[18-22]，但也有一些研究结果表明，在干旱时植株 SOD 活性会降低^[23-24]；此外也有报道，SOD 活性在干旱过程中先升高后降低^[6,25]。SOD 活性的升高，可减少超氧阴离子的同时，H₂O₂ 含量上升，且叶片中的 CAT 活性随干旱的延长而降低，这导致 H₂O₂ 水平进一步升高，从而引起脂质过氧化加剧。不过 CAT 的活性在干旱时表现出多样性，可以出现增加、降低或保持不变^[21,25-27]，这可能与植物的种类有关。CAM 植物佛甲草、凹叶景天和垂盆草的 SOD 活性在干旱后先升高而后降低^[33]；而在 CAM 植物朵丽蝶兰(*Doritaenopsis* sp.)中，干旱导致 SOD 活性降低^[34]。C₃-CAM 中间类型植物玉米石(*Sedum album*)、*S. stoloniferum* 与 *Rosularia elymaitica*

在干旱 20 d 后，SOD 与 CAT 活性均下降^[35]。这表明无论代谢类型相同的植物或者共享 CAM 的不同类型植物，对干旱胁迫的响应方式是不同的。复水后 MDA 含量降低，表明棒叶落地生根在干旱以后若获得水分补充，可以很快修复损伤。超氧阴离子生成速率以及 H₂O₂ 含量在复水后都降低，说明水分充足以后，活性氧的生成减少，同时 SOD 和 CAT 活性又恢复到干旱以前，表明活性氧的生成与清除在复水以后又回到平衡状态。

渗透调节是植物适应长期干旱的一种非常重要的策略，渗透调节物质如脯氨酸、可溶性糖等可以减少细胞的水势，在干旱胁迫时起着重要的作用^[28]。在耐旱的小麦品种遭遇干旱时，脯氨酸的含量显著升高^[29]，在菜豆(*Phaseolus vulgaris*)、宽叶菜豆(*P. acutifolius*)以及草香豌豆(*Lathyrus sativus*)中，脯氨酸的含量同样随干旱的延长而升高^[30-31]。本研究结果表明，棒叶落地生根脯氨酸含量在干旱 20 d 和 70 d 后都增加，而复水后又降低，说明植株的水分状态决定体内的脯氨酸水平，缺水时脯氨酸积累。虽然也有研究表明，有的植物干旱时脯氨酸含量呈下降趋势^[25]，并对脯氨酸与抗旱性之间的关系提出了质疑；但我们认为不同植物的抗旱策略是存在差异的，某一些物种脯氨酸含量的降低或者保持不变并不能否定其他种中脯氨酸在抗旱中的作用。宋海鹏等^[33]对 5 种 CAM 代谢植物中脯氨酸的积累与它们的抗旱性之间的分析也表明，脯氨酸的积累速度与抗旱性强弱相关。可溶性糖是植物体内另外一种重要的渗透调节物质^[31-32]。在干旱胁迫时，可溶性糖在玉米根与茎中显著增加，而同时淀粉的含量降低，从而导致可溶性糖 / 淀粉比值增大^[32]，可溶性糖含量的这种变化，可以拮抗干旱导致的渗透胁迫。同样，棒叶落地生根叶片中可溶性糖在干旱时显著增加，同时复水后又降低，说明与脯氨酸一样，可溶性糖在其干旱胁迫时起重要的渗透调节作用。

总之，棒叶落地生根是耐旱性很强的植物，可以在干旱条件下保持较高的含水量。棒叶落地生根叶片中渗透调节物质可溶性糖和脯氨酸在干旱时积累，说明二者在其耐旱性形成中也起着重要的作用。此外干旱发生时，棒叶落地生根虽不能阻止活性氧积累的增加，但 SOD 活性随干旱增加可适当降低活性氧积累带来的伤害。

致谢 感谢潘耕耘老师和李加瑞、周学、白海龙、常绍贵、罗娘中同学对实验提供的帮助。

参考文献

- [1] Bray E A. Molecular response to water deficit [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103(4): 1035–1040.
- [2] Lawlor D W, Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants [J]. *Plant Cell Environ*, 2002, 25(2): 275–294.
- [3] Iqbal S, Bano A. Effect of drought and abscisic acid application on the osmotic adjustment of four wheat cultivars [J]. *J Chem Soc Pak*, 2010, 32(1): 13–19.
- [4] Impa S M, Nadaradjan S, Jagadish S V K. Drought stress induced reactive oxygen species and anti-oxidants in plants [M]// Ahmad P, Prasad M N V. *Abiotic Stress Responses in Plants*. New York: Springer, 2012: 131–147.
- [5] Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, et al. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management [J]. *Agron Sustain Dev*, 2009, 29(1): 185–212.
- [6] Sun J L, Li L L, Tao S T, et al. Effects of drought stress and rewatering on physiological characteristics of pear seedling [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2012, 18(2): 218–223.
孙继亮, 李六林, 陶书田, 等. 干旱胁迫和复水对梨幼树生理特性的影响 [J]. *应用与环境生物学报*, 2012, 18(2): 218–223.
- [7] Karatas I, Oztürk L, Demir Y, et al. Alterations of antioxidant enzyme activities and proline content in pea leaves under long-term drought stress [J/OL]. *Toxicol Ind Health*, [2012–10–09]. doi: 10.1177/0748233712462471.
- [8] Stidham M A, Moreland D E, Siedow J N. ¹³C Nuclear magnetic resonance studies of crassulacean acid metabolism in intact leaves of *Kalanchoe tubiflora* [J]. *Plant Physiol*, 1983, 73(2): 517–520.
- [9] Turner N C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status [J]. *Plant Soil*, 1981, 58(1/2/3): 339–366.
- [10] Li Z G, Gong M. Improvement of measurement method for superoxide anion radical in plant [J]. *Acta Bot Yunnan*, 2005, 27(2): 211–216.
李忠光, 龚明. 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进 [J]. *云南植物研究*, 2005, 27(2): 211–216.
- [11] Lu X, Luo Y L, Wang Y F, et al. Effect of different drying rates on the desiccation tolerance and antioxidant enzyme activities of *Baccaurea ramiflora* (Euphorbiaceae) seed [J]. *Acta Bot Yunnan*, 2010, 32(4): 361–366.
路信, 罗银玲, 王一帆, 等. 不同脱水速率对木奶果种子脱水敏感性及其抗氧化酶活性的影响 [J]. *云南植物研究*, 2010, 32(4): 361–366.
- [12] Patterson B D, MacRae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV) [J]. *Anal Biochem*, 1984, 139(2): 487–492.
- [13] Jiang M Y, Zhang J H. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings [J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42(11): 1265–1273.
- [14] Yemm E W, Willis A J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone [J]. *Biochem J*, 1954, 57(3): 508–514.
- [15] Bates L S, Waldren R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water-stress studies [J]. *Plant Soil*, 1973, 39(1): 205–207.
- [16] R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing [CP/OL]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2012. <http://www.R-project.org>.
- [17] Giraudoux P. R documentation: Package ‘pgirmess’ [EB/OL]. (2012–08–17) [2013–09–28]. <http://cran.r-project.org/web/packages/pgirmess/pgirmess.pdf>.
- [18] Hameed A, Bibi N, Akhter J, et al. Differential changes in antioxidants, proteases, and lipid peroxidation in flag leaves of wheat genotypes under different levels of water deficit conditions [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2011, 49(2): 178–185.
- [19] Masoumi H, Darvish F, Daneshian J, et al. Effects of water deficit stress on seed yield and antioxidants content in soybean (*Glycine max* L.) cultivars [J]. *Afr J Agri Res*, 2011, 6(5): 1209–1218.
- [20] Hasheminasab H, Assad M T, Aliakbari A, et al. Influence of drought stress on oxidative damage and antioxidant defense systems in tolerant and susceptible wheat genotypes [J]. *J Agri Sci*, 2012, 4(8): 20–30.
- [21] Li W, Zhao Y S, Zhou Z Q, et al. Effects of drought stress and rehydration on chlorophyll fluorescence characteristics and antioxidant enzyme activities in leaves of *Taxus cuspidata* [J]. *J Desert Res*, 2012, 32(1): 112–116.
李威, 赵雨森, 周志强, 等. 干旱和复水对东北红豆杉叶片叶绿素荧光特性和抗氧化酶活性的影响 [J]. *中国沙漠*, 2012, 32(1): 112–116.
- [22] Li Z, Peng Y, Su X Y. Physiological responses of white clover by different leaf types associated with anti-oxidative enzyme protection and osmotic adjustment under drought stress [J]. *Acta Pratac Sin*, 2013, 22(2): 257–263.
李州, 彭燕, 苏星源. 不同叶型白三叶抗氧化保护及渗透调节生理对干旱胁迫的响应 [J]. *草业学报*, 2013, 22(2): 257–263.
- [23] Pandey H C, Baig M J, Chandra A, et al. Drought stress induced changes in lipid peroxidation and antioxidant system in genus *Avena* [J]. *J Environ Biol*, 2010, 31(4): 435–440.
- [24] de Campos M K F, de Carvalho K, de Souza F S, et al. Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic ‘Swingle’ citrumelo plants over-accumulating proline [J]. *Environ Exp Bot*, 2011, 72(2): 242–250.

- [25] Lu S Y, Chen S P, Chen S M, et al. Responses of proline content and activity of antioxidant enzymes in warm-season turfgrasses to soil drought stress [J]. *Acta Hort Sin*, 2003, 30(3): 303–306.
卢少云, 陈斯平, 陈斯曼, 等. 三种暖季型草坪草在干旱条件下脯氨酸含量和抗氧化酶活性的变化 [J]. *园艺学报*, 2003, 30(3): 303–306.
- [26] Tian Z G, Wang F, Zhang W E, et al. Antioxidant mechanism and lipid peroxidation patterns in leaves and petals of marigold in response to drought stress [J]. *Hort Environ Biotechn*, 2012, 53(3): 183–192.
- [27] Hossain M A, Mostofa M G, Fujita M. Heat-shock positively modulates oxidative protection of salt and drought-stressed mustard (*Brassica campestris* L.) seedlings [J]. *J Plant Sci Mol Breed*, 2013, doi: 10.7243/2050–2389–2–2.
- [28] Chaves M M, Maroco J P, Pereira J S. Understanding plant responses to drought: From genes to the whole plant [J]. *Funct Plant Biol*, 2003, 30(3): 239–264.
- [29] Nayyar H, Walia D P. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid [J]. *Biol Plant*, 2003, 46(2): 275–279.
- [30] Türkan I, Bor M, Özdemir F, et al. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress [J]. *Plant Sci*, 2005, 168(1): 223–231.
- [31] Jiang J L, Su M, Chen Y R, et al. Correlation of drought resistance in grass pea (*Lathyrus sativus*) with reactive oxygen species scavenging and osmotic adjustment [J]. *Biologia*, 2013, 68(2): 231–240.
- [32] Mohammadkhani N, Heidari R. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties [J]. *World App Sci J*, 2008, 3(3): 448–453.
- [33] Song H P, Liu J, Li X L, et al. Effect of drought stress on physiological indexes of 5 *Sedum* species [J]. *Pratac Sci*, 27(1): 11–15.
宋海鹏, 刘君, 李秀玲, 等. 干旱胁迫对5种景天属植物生理指标的影响 [J]. *草业科学*, 27(1): 11–15.
- [34] Cui Y Y, Pandey D M, Hahn E J, et al. Effect of drought on physiological aspects of crassulacean acid metabolism in *Doritaenopsis* [J]. *Plant Sci*, 2004, 167(6): 1219–1226.
- [35] Habibi G, Hajiboland R. Photosynthetic characteristics and antioxidative responses in three species of Crassulaceae following drought stress [J]. *J Sci Islam Repub Iran*, 2010, 21(3): 205–212.
- [36] Lüttge U. CO₂-concentrating: Consequences in crassulacean acid metabolism [J]. *J Exp Bot*, 2002, 53(378): 2131–2142.