

低温胁迫对高山离子芥试管苗膜脂过氧化及AsA-GSH循环系统的影响

杨宁, 丁芳霞, 李宜坤, 王程亮

(西北师范大学 生命科学学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 通过研究高山离子芥细胞在不同低温胁迫中活性氧代谢及 AsA-GSH 循环中生理指标的动态变化, 揭示其响应低温胁迫的部分生理机制。以天然抗寒性植物高山离子芥试管苗为材料, 研究了脂质过氧化产物, 活性氧和抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环系统对其冷冻低温胁迫(4℃、0℃和-4℃)的反应。结果显示低温胁迫下, 高山离子芥细胞中相对电导率、丙二醛(MDA)、H₂O₂ 含量和 GSH 不同程度的提高; 抗坏血酸过氧化物酶(APX)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)及谷胱甘肽还原酶(GR)活性在 4℃和 0℃胁迫下呈波动性变化, 在-4℃胁迫下, APX 和 MDHAR 活性处于抑制状态, 显著低于对照($P < 0.05$), 而 GR 活性则呈现出先升高后降低的变化趋势。结果表明低温胁迫下, 高山离子芥试管苗发生不同程度的膜脂过氧化, 并可能通过增加细胞内 H₂O₂ 含量来促进其抗氧化保护能力; 同时 AsA-GSH 循环代谢中抗氧化酶(APX, MDHAR, GR)与抗氧化剂(GSH)共同协调作用, 以减轻低温所造成的伤害。

关键词: 低温胁迫; 高山离子芥试管苗; 活性氧; AsA-GSH 循环

中图分类号: Q 945.78

文献标志码: A

文章编号: 1001-988X(2014)05-0079-06

Effects of low temperature stress on membrane peroxidation and ascorbate-glutathione cycle in *Chorispora bungeana* plantlets in vitro

YANG Ning, DING Fang-xia, LI Yi-shen, WANG Cheng-liang

(College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, Gansu, China)

Abstract: Using a natural cold resistance species, *Chorispora bungeana* plantlets in vitro as material, this study investigated the effects of products of lipid peroxidation, active oxygen and ascorbate-glutathione cycle response to the different low temperature stresses aiming to reveal the partial physiological mechanism. The results show that the relative electrolytic leakage, malonaldehyde(MDA), hydrogen peroxide(H₂O₂) and glutathione(GSH) contents are increased under different low temperature stresses(4℃, 0℃, -4℃). Ascorbate peroxidase (APX), monodehydroascorbate reductase (MDHAR) and glutathione reductase glutathione reductase(GR) activities are fluctuated around the comparison when *C. bungeana* is exposure to 4℃ and 0℃. When *C. bungeana* is exposure to -4℃, the APX and MDHAR activities are inhibited than control ($P < 0.05$), as well as the GR activity increased firstly, then decreased. Our research reveal that under different low temperature stresses, *C. bungeana* plantlets in vitro performed the membrane lipid peroxidation in some degrees, and may increase its oxidation resistance protection ability by increasing the H₂O₂ content. Antioxidant enzymes (APX, MDHAR, GR) and antioxidant(GSH) in ascorbate-glutathione cycle worked together and coordinated to reduce the low

收稿日期: 2014-03-07; **修改稿收到日期:** 2014-03-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31160087, 31360061); 甘肃省财政厅高校基本科研业务费项目; 甘肃省教育厅科学基金项目(1101-06)

作者简介: 杨宁(1973—), 女, 山东青州人, 教授, 博士。主要研究方向为植物分子细胞生物学。

E-mail: xbsd-yn@163.com

temperature damage.

Key words: low temperature stress; *Chorispora bungeana* plantlets in vitro; ROS; ascorbate-glutathione cycle

高山离子芥是高山冰缘植物的典型代表,属于十字花科离子芥属多年生草本植物。它生长于天山雪线附近的高山流石堆,苏联、巴基斯坦、阿富汗也有分布,生长期在每年的 6 月至 9 月,具有先锋植物的特点,能适应低氧分压、高山冻融过程中剧烈的气温波动和强紫外线辐射的环境,是改良十字花科作物抗冷冻性的宝贵野生种质资源,也是研究植物抗逆机理最为理想的材料^[1]。

细胞膜在植物抗逆性方面起着重要作用,膜系统的稳定性与植物的抗逆性密切相关^[2-4]。在低温胁迫下,细胞内活性氧代谢的平衡被破坏,产生过多的活性氧,引发或加剧膜质过氧化作用,造成细胞膜系统的损害^[5]。因此,活性氧的清除是细胞膜保持良好稳定性的关键。抗坏血酸-谷胱甘肽(Ascorbate-glutathione, AsA-GSH)循环在清除活性氧过程中发挥着极其重要的作用^[6],其抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, APX)以抗坏血酸(AsA)为底物将 H_2O_2 还原成 H_2O ,同时生成单脱氢抗坏血酸(Monodehydroascorbate, MDHA),由于 MDHA 不稳定,一部分可被单脱氢抗坏血酸还原酶(Monodehydroascorbate reductase, MDHAR)还原为 AsA,另一部分可进一步氧化生成脱氢抗坏血酸(Dehydroascorbate, DHA)。DHA 又可以还原型谷胱甘肽(Glutathione, GSH)为底物,在脱氢抗坏血酸还原酶(Dehydroascorbate reductase, DHAR)的作用下生成 AsA,同时产生氧化型谷胱甘肽(Oxidized glutathione, GSSG),GSSG 又可在谷胱甘肽还原酶(Glutathione reductase, GR)的催化下被还原成 GSH^[7]。Rao^[8]等认为适度的逆境条件能够刺激植物 AsA-GSH 循环中酶活性升高,增强对活性氧的清除能力。刘正鲁等^[9]的研究结果也表明维持 AsA-GSH 循环的快速有效运行是嫁接苗耐盐性优于自根苗的一个重要方面。因此本试验以高山离子芥试管苗为研究材料,探讨低温胁迫下其膜脂过氧化以及 AsA-GSH 循环中相关酶等生理指标的动态变化,旨在揭示高山离子芥细胞响应低温胁迫的部分生理机制,为进一步探讨高山冰缘植物高山离子芥的低温适应性机制,并为农作物的抗低温育种、改善作物抗冻性提

供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料处理

1.1.1 高山离子芥试管苗的培养 本研究采用的高山离子芥取材于新疆天山乌鲁木齐河源区。将高山离子芥(*Chorispora bungeana*)去皮种子用 70%乙醇浸泡 30 s,然后用 0.1%升汞浸泡 6~8 min,无菌水冲洗 3 次,子叶直接接种于含有 3%蔗糖的 MS 培养基中(不含任何激素),在光照培养架上(25 °C, 2 000 lx, 12 h 光照)培养。待种子萌发,长至 4 cm 左右时,试管苗转移至含蔗糖 3%, 1 mg·L⁻¹ 6-BA 的 MS 培养基中,在光照培养架上(25 °C、2 000 lx、12 h 光照)继代培养 3~4 次后,用于试验。

1.1.2 试验材料处理 将在 25 °C 培养的高山离子芥试管苗放置到 4 °C、0 °C 和 -4 °C 进行低温胁迫,胁迫时间分别为 6 h, 12 h, 24 h, 48 h 和 72 h,收集不同胁迫时段的叶片用于指标的测定,每次试验 3 个重复。以 25 °C 条件下培养的未胁迫处理的高山离子芥试管苗为对照。

1.2 测定方法

相对电导率(REC)的测定参照龚富生和张嘉宝^[10]的方法;硫代巴比妥酸(TBA)法测定丙二醛(MDA)含量^[11],单位以 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 表示;过氧化氢(H_2O_2)含量的测定参照张治安和陈展宇^[12]的方法,单位以 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示;抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参照李忠光等^[13]的方法,以每消耗 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的抗坏血酸为 1 个酶活单位;单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)活性测定参照孙园园等^[14]的方法,以 1 min 内 OD₃₄₀ 值变化 0.01 为 1 个酶活力单位、谷胱甘肽还原酶(GR)活性测定参照刘正鲁等^[9]的方法,以 1 min 内 OD₃₄₀ 值变化 0.1 为 1 个酶活单位,单位均以 Ug^{-1} fresh weight (FW)表示。谷胱甘肽(GSH)含量的测定参照陈沁和刘友良^[15]的方法,单位以 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

1.3 数据分析

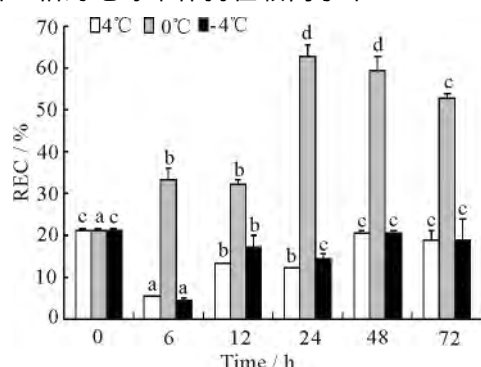
采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据统计,用 Duncan 方法进行单因素方差分析,用 Coreldraw

9.0 作图。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片相对电导率的影响

细胞膜通透性的大小可间接的用组织的相对电导率衡量, 组织相对电导率越高, 说明细胞膜完整性遭到破坏的程度就越大。如图 1 所示, 高山离子芥试管苗叶片细胞在 4℃ 和 -4℃ 胁迫初期(0~24 h), 相对电导率低于对照水平, 胁迫后期(48~72 h)相对电导率升高至与对照相当的水平; 而 0℃ 胁迫则显著高于对照水平($P<0.05$), 且在胁迫 24 h 时出现峰值, 约为对照水平的 300.00%, 之后, 相对电导率保持在较高水平。



同色柱形图中不同字母表示差异显著 $P<0.05$ (下同)
(Different letters in the same color histogram indicate significant differences $P<0.05$)

图 1 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片相对电导率的影响

Fig 1 Effects of Low temperature treatment on REC of *C. bungeana* plantlets leaves

2.2 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物, 是膜系统受害的重要标志之一。如图 2 所示, 高山离子芥试管苗在 4℃ 和 0℃ 胁迫过程中, 细胞中 MDA 含量围绕对照组上下波动, 呈现先下降后上升的趋势, 最终保持了与对照相当的水平; 并且在 4℃ 胁迫时, 24 h 出现峰值, 约为对照的 147.86%, 并维持该水平至 48 h; 在 0℃ 胁迫时, MDA 含量于 48 h 达到最大值, 为对照的 190.60%; 而 -4℃ 胁迫时, MDA 含量在 6 h 内快速升高, 为对照的 164.96%, 并维持该水平至 12 h, 随后, MDA 含量降至与对照相当的水平, 随着胁迫时间的延长, 在胁迫进行的 48 h 达到峰值, 为对照的 185.47%,

并维持该水平至 72 h。

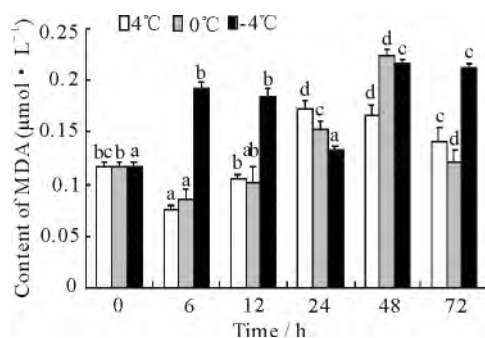


图 2 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片丙二醛含量的影响

Fig 2 Effects of Low temperature treatment on MDA content of *C. bungeana* plantlets leaves

2.3 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片 H₂O₂ 含量的影响

H₂O₂ 是细胞有氧代谢的产物, 激素等信号以及生物、非生物胁迫刺激均可诱导植物细胞内 H₂O₂ 的大量积累。由图 3 可以看出, 4℃、-4℃ 两种温度胁迫下, 较之对照组 H₂O₂ 含量都显著上升($P<0.05$), 且均在 48 h 达到最大值, 分别为对照的 175.62%, 282.31%; 0℃ 胁迫时, 0~12 h, H₂O₂ 含量保持在与对照相当的水平, 在 24 h 达到最高, 为对照的 151.05%。

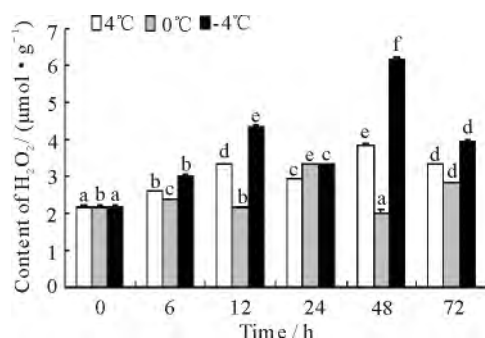


图 3 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片过氧化氢含量的影响

Fig 3 Effects of Low temperature treatment on H₂O₂ content of *C. bungeana* plantlets leaves

2.4 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片 AsA-GSH 循环中 APX 活性的影响

APX 对 H₂O₂ 的亲和力很高, 是细胞中清除 H₂O₂ 的重要酶类之一。如图 4 所示, 高山离子芥试管苗细胞在 4℃ 和 0℃ 胁迫的整个进程中, APX 活性始终围绕对照值上下波动; -4℃ 胁迫下, APX 的活性显著低于对照($P<0.05$), 酶活性处于抑制状态。

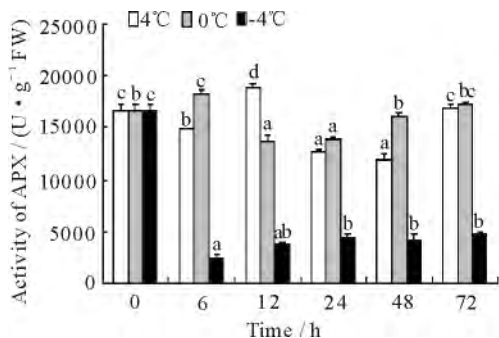


图 4 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片
抗坏血酸过氧化物酶活性的影响

Fig 4 Effects of Low temperature treatment on APX activity
of *C. bungeana* plantlets leaves

2.5 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片 AsA-GSH 循环中 MDHAR 活性的影响

由图 5 可知,不同低温处理对高山离子芥试管苗细胞中 MDHAR 的活性有显著性的影响($P < 0.05$)。4℃、0℃两种温度胁迫下,MDHAR 活性呈现出先升高后降低的变化趋势,但随着胁迫时间的增加,不同温度胁迫下的 MDHAR 活性变化有差异,4℃胁迫下在 12 h 达到了 MDHAR 活性的最大值,为对照的 136.20%,而在 0℃胁迫下,MDHAR 活性 12h 时出现峰值,为对照的 122.94%;在胁迫后期,无论是 4℃还是 0℃,MDHAR 活性均降至低于对照的水平。-4℃胁迫下,MDHAR 活性显著低于对照($P < 0.05$),酶活性处于抑制状态。

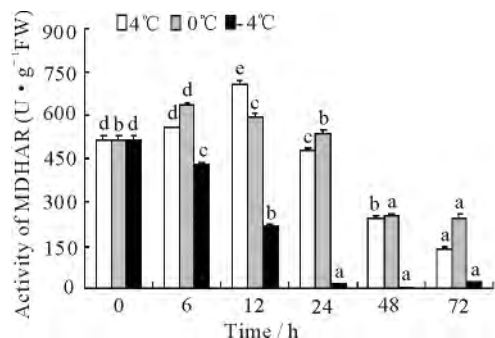


图 5 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片单脱
氢抗坏血酸还原酶活性的影响

Fig 5 Effects of Low temperature treatment on MDHAR
activity of *C. bungeana* plantlets leaves

2.6 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片 AsA-GSH 循环中 GR 活性的影响

如图 6 所示,4℃、-4℃两种温度胁迫下,GR 活性呈现出先升高后降低的变化趋势,但随着胁迫时间的增加,不同温度胁迫下的 GR 活性变化

有差异,4℃胁迫下在 24 h 达到了 GR 活性的最大值,为对照的 314.11%,而在 -4℃胁迫下,GR 活性 6 h 时出现峰值,为对照的 192.03%;0℃胁迫下,GR 活性表现为先升高后降低再升高的趋势。

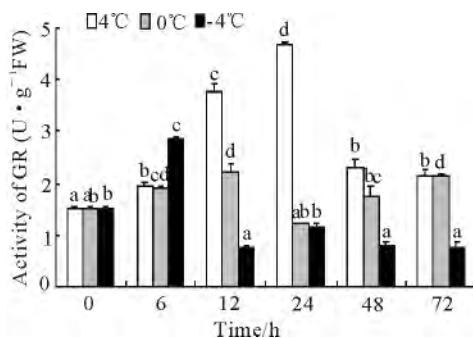


图 6 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片
谷胱甘肽还原酶活性的影响

Fig 6 Effects of Low temperature treatment on GR activity
of *C. bungeana* plantlets leaves

2.7 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片 GSH 含量 的影响

GSH 是 AsA-GSH 循环中重要的抗氧化物质,从图 7 可以看出,在整个胁迫进程中,GSH 含量都比对照组有所提高,且在不同低温胁迫过程中呈现不同的变化趋势。4℃胁迫初期(0~6 h)GSH 含量增加迅速,随后降至与对照相当的水平,胁迫 48 h 时达到最大值,为对照的 216.07%,之后,GSH 含量下降至高于对照的水平。0℃胁迫时,GSH 含量在 6 h 内达到最大,为对照的 171.47%,之后,GSH 含量始终围绕峰值上下波动。-4℃胁迫时,GSH 的含量随胁迫时间的延长呈持续上升的趋势,在 72 h 时达到最大值,为对照的 166.32%。

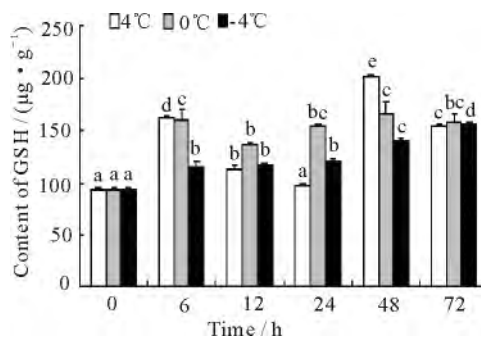


图 7 低温胁迫对高山离子芥试管苗叶片
谷胱甘肽含量的影响

Fig 7 Effects of Low temperature treatment on GSH
content of *C. bungeana* plantlets leaves

3 讨论

3.1 低温胁迫下高山离子芥试管苗细胞中膜脂过氧化程度及 H_2O_2 含量的变化

逆境胁迫下植物细胞内活性氧代谢失衡, 导致自由基的积累和膜脂过氧化, 引起植物细胞水平的氧化伤害^[16]. 相对电导率的变化可以反映植物细胞膜的伤害程度, 可作为抗寒性大小的重要指标应用^[17]. 本试验中, 高山离子芥试管苗叶片细胞在 4 °C 和 -4 °C 胁迫初期(0~24 h), 相对电导率低于对照水平, 胁迫后期(48~72 h)相对电导率均升高至与对照相当的水平, 推测可能是由于高山离子芥试管苗在初期接受冷及冻胁迫时应激产生特殊机制, 关闭部分离子通道引起的, 而在胁迫后期其对 4 °C 和 -4 °C 的低温胁迫产生了适应, 表现为相对电导率维持在与对照相当的水平. 孔淑贞^[18]在研究香蕉幼苗的低温生理时发现在 5 °C 低温下, 香蕉幼苗冷害严重, 叶片电解质渗出率明显增大; 仲强等^[19]在研究浙江天童常绿木本植物的叶片抗寒性时发现, 在 -5 °C 低温处理下, 各植物叶片相对电导率均显著增大, 这与本试验结果中相对电导率的反应不同, 说明高山离子芥细胞响应低温胁迫时在电导率的反应方面存在不同于上述植物的响应机制, 这可能与物种特异性有关. 在本试验中, 0 °C 胁迫的相对电导率的反应有别于 4 °C 和 -4 °C 的冷冻胁迫, 显著高于对照水平($P < 0.05$), 分析认为, 0 °C 作为临界温度, 相对电导率来自物理和化学方面的多种因素影响了细胞膜的完整性, 包括细胞间隙可能形成冰核造成原生质脱水, 甚至细胞结冰等, 从而导致膜完整性的破坏和选择透性的丧失, 引起质膜透性的显著升高.

MDA 是细胞原生质膜在不适宜的生长条件下发生脂质过氧化的产物, 能够抑制细胞保护酶活性和降低抗氧化物的含量, 从而加剧膜脂过氧化^[20]. 高山离子芥试管苗在 4 °C 和 0 °C 胁迫过程中, 细胞中 MDA 含量围绕对照组上下波动, 呈现先下降后上升的趋势, 最终保持了与对照相当的水平, 这与高福元^[21]在 -10 °C 低温下研究紫叶矮樱和美国红栎丙二醛含量的变化所得出的结果一致. 胁迫初期 MDA 含量表现出略微下降的趋势, 可能是在低温胁迫初始时植物保护酶产生的一种防御反应, 酶活

力增强, 清除活性氧和自由基的能力增强, 植物体内 MDA 含量也随之下降; 随着低温胁迫时间的延长, 胁迫程度加强, 酶活力也随之下降, 清除活性氧和自由基的能力减弱, 体内 MDA 含量相对升高. 总体来看, 整个胁迫过程中, 冻害温度(-4 °C)下的 MDA 含量明显高于非冻害温度(4 °C 和 0 °C)下, 说明 MDA 对温度胁迫的反应与胁迫程度正相关.

Janda 及 Chen 等提出, 植物体内 H_2O_2 的积累会使植物产生抗逆反应, 增加的 H_2O_2 被认为是引起植物系统获得抗性的重要信号分子, 同时 H_2O_2 含量的增加可能还有助于植株诱导其他保护机制^[22-23]. 本试验中, 三种胁迫温度(4 °C, 0 °C, -4 °C)下 H_2O_2 含量均不同程度的提高, 且随胁迫程度的增加, 在冻胁迫时(-4 °C)的 H_2O_2 含量积累程度明显高于冷害胁迫(4 °C 和 0 °C), 反映出 H_2O_2 含量积累与温度胁迫程度相关, 因此推测高山离子芥试管苗在低温胁迫下通过增加细胞内 H_2O_2 含量来促进其抗氧化的保护能力.

3.2 低温胁迫下高山离子芥试管苗细胞中 AsA-GSH 循环的变化

AsA-GSH 循环各组分主要涉及 APX、DHAR 和 GR 等几种抗氧化酶及 AsA、GSH 二种非酶抗氧化剂^[24]. APX 是叶绿体中清除 H_2O_2 的重要酶, 在植物逆境胁迫中具有重要的抗氧化作用. 对 APX 响应低温胁迫的研究表明, 4 °C 和 0 °C 胁迫的整个进程中, APX 活性始终围绕对照值上下波动; -4 °C 胁迫下, APX 活性被显著抑制. 说明 APX 对低温非常敏感, 随着胁迫程度的加深 APX 活性降低, 这与本试验中 -4 °C 胁迫下 H_2O_2 含量显著积累的结果一致, 所以 APX 活性降低部分造成了细胞中 H_2O_2 的过多积累. APX 要发挥正常的催化作用, 需要依赖 MDHAR 和 DHAR 源源不断地再生 AsA^[25], 本试验中, -4 °C 胁迫下, MDHAR 活性显著低于对照($P < 0.05$), 该酶活性处于抑制状态而无法有效再生足够的 AsA, 所以我们认为这也是一 -4 °C 胁迫下, APX 活性被抑制的原因之一. 4 °C, 0 °C 两种温度胁迫下, MDHAR 活性呈现出先升高后降低的变化趋势, 在胁迫后期, MDHAR 活性均降至低于对照的水平. 说明在一定的低温范围内, 机体可以通过 MDHAR 清

除植物体内由胁迫产生的活性氧,不造成膜脂过氧化;但当温度过低或低温持续时间延长,MDHAR 活性被抑制,由此可以看出 MDHAR 活性与低温胁迫强度及胁迫时间存在相关性。

GSH 具有能直接清除 H_2O_2 以及间接减少 $O_2^{\cdot-}$ 和 $HO^{\cdot}$ 的作用,对于维持生物体内合适的氧化还原环境起着至关重要的作用^[26]。作为高山离子芥中的功能性物质和抗氧化剂,GSH 除了可以自身合成外,也可由 GR 催化 GSSG 还原成,促进生物体内 GSH 的循环再生,维持细胞内 GSH 的水平并间接参与生物体对自由基的清除^[27]。本研究中,高山离子芥试管苗细胞在三种低温胁迫下,GSH 含量均高于对照组水平,反应出高山离子芥试管苗细胞通过增加 GSH 以减少氧自由基伤害作为手段之一来积极响应了胁迫;GR 活性在 4℃, -4℃ 两种温度胁迫下,呈现出先升高后降低的变化趋势,0℃ 胁迫下,GR 活性始终围绕对照值上下波动。可见,在低温胁迫下,高山离子芥试管苗细胞内 GSH 含量的提高与 GR 活性的增加并不同步,GSH 的增幅远远大于 GR 活性增加,因此认为,低温胁迫下,GSH 的一部分来源是 GR 将 GSSG 还原为 GSH,但最主要的来源仍是高山离子芥试管苗自身合成能力的增强。这一结论也支持了朱为民等^[28]在研究 Cd^{2+} 胁迫对番茄幼苗抗坏血酸-谷胱甘肽循环代谢的影响时所得出的观点。

综上所述,高山离子芥试管苗在受到低温胁迫时,随胁迫强度的加深及胁迫时间的延长,高山离子芥试管苗通过统一协调机体细胞内的膜脂过氧化、活性氧和 AsA-GSH 循环系统等多因素共同作用,完成抵御低温胁迫的生理响应。值得关注的是,本研究的几种测试指标(H_2O_2 含量、APX 活性、GR 活性和 GSH 含量)在 0℃ 胁迫时没有表现出明显规律,呈波动变化,这可能与 0℃ 这种特殊的临界温度下细胞响应不同有关,而关于低温胁迫的研究报道很多,但关注 0℃ 胁迫的却少见报道,本研究中所发现的现象说明对 0℃ 胁迫下细胞响应机制尚不明确,这为我们揭示植物抵抗低温胁迫机理提出了新的深入研究的方向。

参考文献:

[1] 杨宁,强治金,陈霞,等.高山离子芥磷脂酶 D_6 编

码区基因序列克隆与表达载体构建[J].西北师范大学学报:自然科学版,2014,50(3):94-98.

- [2] 姜述君,常纓,范文艳,等.温度逆境锻炼对低温胁迫下番茄幼苗细胞膜脂过氧化产物及抗氧化酶活性的影响[J].植物生理科学,2007,23(10):444-448.
- [3] 徐跃进,李艳春,俞振华.西葫芦抗冷性生理生化指标分析[J].湖北农业科学,2006,45(2):211-213.
- [4] 郁继华,张国斌,冯致,等.低温弱光对辣椒幼苗抗氧化酶活性与质膜透性的影响[J].西北植物学报,2005,25(12):2478-2483.
- [5] 韩冰,贺超兴,闫妍,等.AMF 对低温胁迫下黄瓜幼苗生长和叶片抗氧化系统的影响[J].中国农业科学,2011,44(8):1646-1653.
- [6] MANISHA G, ANN C, JACO V, et al. Copper affects the enzymes of ascorbate-glutathione cycle and its related metabolites in the roots of *Phaseolus vulgaris* [J]. *Physiologia Plantarum*, 1999, 106(3): 262-267.
- [7] 罗娅,汤浩茹,张勇.低温胁迫对草莓叶片 SOD 和 AsA-GSH 循环酶系统的影响[J].园艺学报,2007,34(6):1405-1410.
- [8] RAO M V, HALE B A, ORMROD D P. Amelioration of ozone induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide[J]. *Plant Physiology*, 1995, 109(2): 421-432.
- [9] 刘正鲁,朱月林,魏国平,等.NaCl 胁迫对茄子嫁接幼苗叶片抗坏血酸和谷胱甘肽代谢的影响[J].西北植物学报,2007,27(9):1795-1800.
- [10] 龚富生,张嘉宝.植物生理学实验[M].北京:中国气象出版社,1995:254-256.
- [11] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:134-137.
- [12] 张治安,陈展宇.植物生理学实验技术[M].长春:吉林人民出版社,2008:182-185.
- [13] 李忠光,李江鸿,杜朝昆,等.在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶[J].云南师范大学学报:自然科学版,2002,22(6):44-48.
- [14] 孙园园,林成永,金崇伟,等.氮素形态对菠菜体内抗坏血酸含量及其代谢的影响[J].浙江大学学报:农业与生命科学版,2009,35(3):292-298.
- [15] 陈沁,刘友良.谷胱甘肽对盐胁迫大麦叶片活性氧清除系统的保护作用[J].作物学报,2000,26(3):365-372.

(下转第 105 页)

- 的三峡库区生态农业园建设研究[J]. 生态学报, 2014, **34**(9): 2431-2441.
- [23] 李月臣, 刘春霞, 闵婕, 等. 三峡库区生态系统服务功能重要性评价[J]. 生态学报, 2013, **33**(1): 168-178.
- [24] CRAMB R A, PURCELL T, HO T C S. Participatory assessment of rural livelihoods in the Central Highlands of Vietnam [J]. *Agricultural Systems*, 2004, **81**(3): 255-272.
- [25] KANGALAWA R Y, LIWENGA E T. Livelihoods in the wetlands of Kilombero Valley in Tanzania: Opportunities and challenges to integrated water resource management[J]. *Physics and Chemistry of the Earth*, 2005, **30**(11-16): 968-975.
- [26] CHAMBERS R. The origins and practice of participatory and rural appraisal [J]. *World Development*, 1994, **22**: 953-969.
- [27] 陈长华, 方晓军. 江苏农户经营行为分化实证分析[J]. 中国农村经济, 1999(4): 46-50.
- [28] 张丽萍, 张锦锂, 阎建忠, 等. 青藏高原东部山地农牧区生计与耕地利用模式[J]. 地理学报, 2008, **63**(4): 377-385.
- [29] 阎建忠, 卓仁贵, 谢德体, 等. 不同生计类型农户的土地利用——三峡库区典型村的实证研究[J]. 地理学报, 2010, **65**(11): 1401-1410.
- [30] 李广东, 邱道持, 王利平, 等. 生计资产差异对农户耕地保护补偿模式选择的影响——渝西方山丘陵不同地带样点村的实证分析[J]. 地理学报, 2012, **67**(4): 504-515.
- [31] 阎建忠, 吴莹莹, 张锦锂, 等. 青藏高原东部样带农牧民生计的多样化[J]. 地理学报, 2009, **64**(2): 221-233.
- [32] 赵雪雁. 不同生计方式农户的环境感知——以甘南高原为例[J]. 生态学报, 2012, **32**(21): 6776-6787.

(责任编辑 惠松骥)

(上接第 84 页)

- [16] WU F B, ZHANG G P, DOMIN Y P. Four barley genotypes respond differently to cadmium; lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, **50**(2): 67-78.
- [17] SCHAFF T, LEVIN L, BLAIR N, et al. Spatial heterogeneity of benthos on the Carolina continental slope: large (100 km) scale variation[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1992, **88**: 143-160.
- [18] 孙淑贞. 香蕉幼苗的低温生理及抗冷性研究[D]. 广州: 华南师范大学, 2003.
- [19] 仲强, 康蒙, 郭明, 等. 浙江天童常绿木本植物的叶片相对电导率及抗寒性[J]. 华东师范大学学报: 自然科学版, 2011(4): 45-52.
- [20] PRASAD T K. Role of calalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings[J]. *Plant Physiology*, 1997, **114**(4): 1369-1376.
- [21] 高福元, 张吉立, 刘振平, 等. 持续低温胁迫对园林树木电导率和丙二醛含量的影响[J]. 山东农业科学, 2010, **81**(2): 47-49.
- [22] JANDA T, SZALAI G, TARI I, et al. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants [J]. *Planta*, 1999, **208**(2): 175-180.
- [23] CHEN Z, SIVA H, KLESSIG D F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid[J]. *Science*, 1993, **262**: 1883-1886.
- [24] 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.
- [25] 高永生, 陈集双. 盐胁迫下镉对小麦幼苗叶片抗氧化系统活性的影响[J]. 中国稀土学报, 2005, **23**(4): 490-495.
- [26] 陈坤明, 宫海军, 王锁民. 植物谷胱甘肽代谢与环境胁迫[J]. 西北植物学报, 2004, **24**(6): 1119-1130.
- [27] SMITH I K, VIERHALLER T L, THORNE C A. Properties and functions of glutathione reductase in plants[J]. *Physiologia Plantarum*, 1989, **77**(3): 449-456.
- [28] 朱为民, 丁海东, 齐乃敏, 等. Cd²⁺胁迫对番茄幼苗抗坏血酸-谷胱甘肽循环代谢的影响[J]. 华北农学报, 2005, **20**(3): 50-53.

(责任编辑 俞诗源)