盐胁迫下己唑醇铜配合物对小麦幼苗脯氨酸合成的影响

毕彦博,李 婕,赵 佳,张晓庆,潘红艳,步怀宇
(西北大学西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室,陕西省生物技术重点实验室,陕西 西安 710069)

摘 要:以己唑醇为配体与醋酸铜配合获得元素组成异化的己唑醇铜配合物。配合物对小麦种子浸种处理,待萌发生长至幼苗阶段将其进行 NaCl 胁迫处理,通过对幼苗脯氨酸含量以及脯氨酸合成酶基因 *P5CS*、*P5CR* 表达变化的测定,评价己唑醇铜配合物对植物抗盐能力的影响。结果表明:小麦幼苗脯氨酸含量随着盐浓度的增大及胁迫时间的延长而增加,200 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫下,配合物处理后脯氨酸含量最高,达 55.44 μg·g^{-1},相比己唑醇和醋酸铜处理分别增加 13.68%和 58.45%;而 100 mmol·L^{-1} NaCl 处理 6 h,己唑醇铜配合物处理小麦幼苗的脯氨酸合成增幅最大,*P5CS*、*P5CR* 表达量明显增加,在一定程度上缓解了小麦幼苗的渗透胁迫伤害。

关键词:己唑醇铜配合物;脯氨酸;半定量 PCR;盐胁迫
中图分类号:S482.8;S512 **文献标志码**:A **文章编号**:1000-7601(2013)04-0104-04

The effect of hexaconazole – Cu complex on proline accumulation in wheat seedlings under NaCl stress

BI Yan-bo, LI Jie, ZHAO Jia, ZHANG Xiao-qing, PAN Hong-yan, BU Huai-yu
(*Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China* (*Northwest University*), *Ministry of Education*, *Shaanxi Provincial Key Laboratory of Biotechnology*, *Xi'an*, *Shaanxi* 710069, *China*)

Abstract: The hexaconazole – Cu complex, synthesized by hexaconazole and copper acetate, was used to soak the seed of wheat to ameliorate the wheat seedlings salinity stress induced by sodium chloride (NaCl). The effect of hexaconazole – Cu complex on the anti-salinity stress of wheat seedlings was evaluated by proline accumulation level and the gene expression level of Δ1 – pyrroline – 5 – carboxylate synthetase (*P5CS*) and Δ1 – pyrroline – 5 – carboxylate reductase (*PC5R*) of wheat seedlings. The results showed that in the presence of 200 mmol·L^{-1} NaCl, the proline content of the 0.03 mmol·L^{-1} complex treated wheat seedlings was 55.44 μg·g^{-1}, which was 13.68% higher than that in hexaconazole treatment, and 58.45% higher than that in copper acetate treatment. The gene expression levels of *P5CS* and *P5CR* were quantitated by semiquantitative RT – PCR analysis. The results showed that the hexaconazole – Cu complex enhanced the transcript levels of *P5CR* and *P5CS*. After 6 h treatment of the complex in the presence of 100 mM NaCl, the *P5CS* express level reached the maximum, and was significantly higher than in hexaconazole treatment. It was obvious that the hexaconazole – Cu complex enhanced the proline contents, thereby played a protective role in the salinity stress of wheat seedlings.

Keywords: hexaconazole – Cu complex; proline; semiquantitative RT – PCR; salt stress

土壤盐碱化是威胁农业经济持续健康发展的重要生态胁迫类型之一,应用植物生长调节剂等外源非营养性化学物质提高植物的耐盐能力,可有效克服盐碱化土地对农业生产的危害[1]。研究表明,三唑类杀菌剂可以有效提升植物的抗盐胁迫能力,对缓解植物所受逆境胁迫伤害具有显著效果[2-3]。

高等植物通过渗透调节提高细胞液浓度,降低渗透势,适应胁迫环境[4]。脯氨酸是细胞质中重要

收稿日期:2012-09-06
基金项目:国家自然科学基金项目(21073142, 31201534);陕西省教育厅基金(重点实验室基金 11JS083,科研专项 11JK0630)
作者简介:毕彦博(1987—),男,黑龙江安达人,硕士研究生,研究方向为植物逆境生物技术。E-mail:yanbo318@163.com。
通信作者:步怀宇(1972—),女,河北保定人,副教授,研究方向为植物逆境生物技术。E-mail: buhy@nwu.edu.cn。

的渗透剂,能很好地缓解植物渗透胁迫压力[5]。多数研究表明,植物在受到盐胁迫后,体内游离脯氨酸含量增加,通常作为衡量植物抗盐能力的重要生理指标[6-8]。多种三唑类杀菌剂都可以诱导植物脯氨酸含量的增加,如三唑酮可提高大豆幼苗体内脯氨酸含量[9]。高等植物脯氨酸合成途径中,吡咯琳-5-羧酸合成酶(Δ1-pyrroline-5-carboxylate synthetase,P5CS)作为整个合成途径的限速酶并受脯氨酸的反馈抑制[10]。吡咯琳-5-羧酸还原酶(Δ1-pyrroline-5-carboxylate reductase,P5CR)催化从吡咯琳-5-羧酸形成脯氨酸的最后一步中起到关键的作用[11]。

对原药进行不同形式的修饰与改造以开发新型农药[12]。己唑醇是三唑类杀菌剂的代表品种之一,利用己唑醇与醋酸铜配合得到己唑醇铜配合物,抑菌试验以及植物生长调节活性试验结果表明,配合物具有比配体更强的抑制真菌生长活力,具有与配体相近的植物生长调节性能[13]。本试验基于己唑醇铜配合物显著的植物生长调节作用,在盐胁迫条件下通过对脯氨酸含量以及脯氨酸合成酶 P5CS 和 P5CR 基因表达的测定,从生理及分子水平上探究己唑醇铜配合物对植物抗盐能力的影响,完善配合物的功能评价。

1　材料与方法

1.1　试验材料与处理

以小麦陕农 138 为试验材料,0.1% $HgCl_2$ 灭菌 10 min,无菌水冲洗干净,经 0.03 mmol·L^{-1}己唑醇铜配合物溶液中浸种 24 h,冲洗,播种于底部铺有脱脂纱布的塑料黑盒(10 cm × 10 cm)中,黑暗处催芽 24 h 后置于 25 ± 2℃,光照时间 12 h·d^{-1},光照强度 30 ~ 40 μmol·m^{-2}·s^{-1}的环境中生长,Hoagland 营养液培养 7 d 后,以下两种方式进行盐胁迫处理:① 以 0、50、100、200 mmol·L^{-1}的 NaCl 溶液浸泡处理小麦幼苗 24 h,取材。② 以 100 mmol·L^{-1} NaCl 溶液处理小麦幼苗 0、6、24 h 和 48 h,取材。液氮速冻后放置于 -80℃冰箱备用。

试验中以 0.06 mmol·L^{-1}己唑醇、0.03 mmol·L^{-1}醋酸铜及无菌水作为对照,处理方法同上,每组处理设 3 次重复。

1.2　脯氨酸含量测定

取小麦幼苗叶片为试验材料,酸性茚三酮显色法测定脯氨酸含量[14]。测定设 3 次重复试验,同组之间使用 SPSS16.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA),并以 $P < 0.05$ 为标准,利用最小显著极差法(LSD)分析显著性差异,不同处理组之间进行 $P < 0.05$ 水平的 t 检验,分析显著性差异,所得数据采用 Origin8.0 软件作图。

1.3　脯氨酸合成酶基因半定量 PCR 反应

1.3.1　脯氨酸合成酶基因 RT-PCR 引物　选取管家基因 *tubulin* 作为内参基因,所需引物依据 NCBI 小麦(*T. aestivum*)序列设计:(*P5CS* GenBank: AB 193551; *P5CR* GenBank: AAW82908; *tubulin* 3A GenBank: DQ435663),上海生物工程有限公司合成,引物序列如下:

P5CS	F1	5'TTTGAGTCCCGACCTGAT3'
	R1	5'CTGCTGCCTTGAGTGCTA3'
P5CR	F1	5'AACGAACCCTTCTCGAGCTCATG3'
	R1	5'AGCAGCATCAGTGATGTGTCTAG3'
Tubulin	F1	5'TGAGGACTGGCACTTACCG3'
	R1	5'CTGAGAAACGAGCCTATTGA3'

1.3.2　小麦幼苗总 RNA 提取、反转录 cDNA　小麦幼苗叶片为试验材料,总 RNA 提取方法依据宝生物(大连) RNAiso^{TM} plus 试剂总 RNA 提取方法,DNase Ⅰ(RNase free)去除基因组 DNA,紫外可见分光光度计(岛津 BioSpecnano)测定总 RNA 纯度,浓度。参照反转录试剂盒(RevertAidTM First Stand cDNA Synthesis Kit # 1621, Fermentas 公司)操作说明反转录成单链 cDNA,作为半定量 PCR 模板。

1.3.3　半定量 PCR 反应　① 扩增内参基因确定单链 cDNA 加入量:以反转录 cDNA 为模板,小麦管家基因 *tubilin* 作为内参进行 PCR 扩增,确定所需单链 cDNA 模板量。

PCR 反应程序:94℃预变性 5 min,94℃变性 1 min,64℃退火 45 s,72℃延伸 45 s;循环 26 次;72℃延伸 10 min,所得扩增产物进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。

② *P5CS*、*P5CR* 循环圈数确定:确定 cDNA 加入量后,以特异性引物分别对 *P5CS*、*P5CR* 和 *tubulin* 基因进行扩增,设置 25、26、27、28 共 4 组循环圈数,PCR 反应体系与程序参照步骤①,确定 RT-PCR 最佳循环圈数。

③ 选择 *P5CS*、*P5CR* 条带亮度存在明显差别的循环圈数,分析 *P5CS*、*P5CR* 表达量差异。

2　结果与分析

2.1　不同盐胁迫浓度下配合物对小麦幼苗脯氨酸含量的影响

如图 1 所示,不同浓度 NaCl 胁迫处理小麦幼

苗,随着 NaCl 浓度的增加,所有处理组的脯氨酸含量都明显增加,NaCl 浓度越高,增加幅度越大。在试验设定的 4 个 NaCl 浓度下,己唑醇铜配合物和配体己唑醇浸种处理都明显增加了小麦幼苗内的脯氨酸含量,与相同浓度 NaCl 胁迫下的蒸馏水对照组及醋酸铜处理组差异显著($P < 0.05$);而蒸馏水对照组与醋酸铜处理组脯氨酸含量无明显差异,在 $P < 0.05$ 水平上差异不显著。NaCl 胁迫下,己唑醇铜配合物处理小麦幼苗,植物体内脯氨酸含量的增加明显高于己唑醇处理,其中 200 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫下,配合物处理后脯氨酸含量最高达 55.44 μg·g^{-1},相比己唑醇处理和醋酸铜处理增加 13.68% 和 58.45%。结果表明,己唑醇铜配合物对小麦植株体内脯氨酸的积累起到十分明显的促进作用,可能是小麦幼苗应对盐胁迫的方式之一。

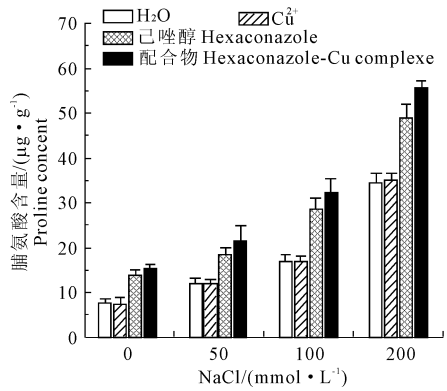


图 1 不同 NaCl 浓度下己唑醇铜配合物对小麦幼苗体内脯氨酸含量的影响

Fig.1 The effect of hexaconazole – Cu complexe on proline content of wheat seeding under different levels of NaCl stress

2.2 不同盐胁迫时间下配合物对小麦幼苗脯氨酸含量变化的影响

基于 2.1 结果,蒸馏水处理与醋酸铜处理对小麦幼苗脯氨酸含量的影响无差异,在以下试验结果中省去蒸馏水对照组。

己唑醇铜配合物、己唑醇和醋酸铜 3 种溶液处理后,小麦幼苗体内脯氨酸含量都随着 NaCl 胁迫时间的增长而增加。以 100 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫 6 h 前后小麦幼苗体内脯氨酸含量增长幅度最大,24 ~ 48 h 之间增长幅度较缓,说明小麦在短时间内对盐胁迫做出快速应答反应来抵抗伤害。而不同胁迫时间下,己唑醇铜配合物和配体己唑醇浸种处理都明显增加了小麦幼苗内的脯氨酸含量,与醋酸铜对照组差异显著($P < 0.05$);并且配合物处理对小麦幼苗体内脯氨酸含量的增加程度均高于己唑醇,胁迫 6 h 和 24 h 下差异显著($P < 0.05$)。从图中可以看出,配合物浸种处理后,未经 100 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫时小麦幼苗中脯氨酸含量为 14.88 μg·g^{-1};胁迫 6 h 后脯氨酸含量提高了 97.11%,达到 29.33 μg·g^{-1},相比相同胁迫时间下的己唑醇处理和醋酸铜处理分别增加 15.75% 和 88.13%;24 h 时脯氨酸含量为32.23 μg·g^{-1},比同时间下的己唑醇处理和醋酸铜处理增加了 13.45% 和 92.76%,又比 6 h 胁迫增加了 9.89%。

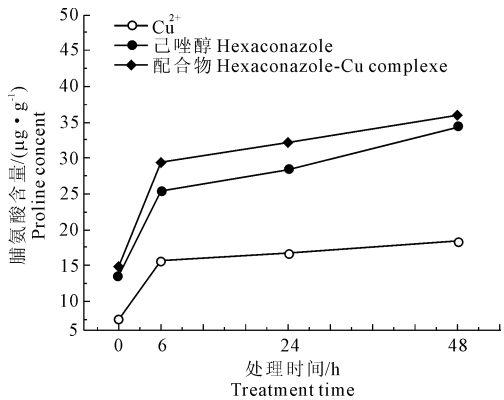


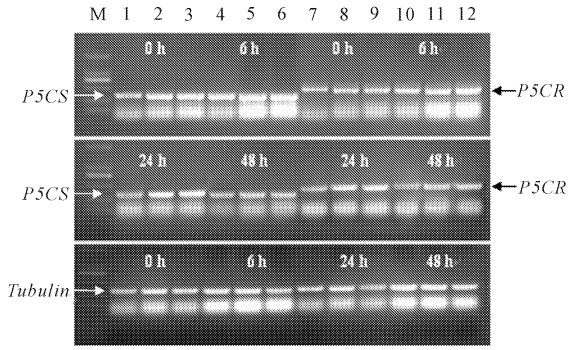
图 2 100 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫不同时间己唑醇铜配合物对小麦幼苗体内脯氨酸含量的影响

Fig.2 The effect of hexaconazole – Cu complexe on proline content of wheat seeding treated for different hours of 100 mmol·L^{-1} NaCl

2.3 配合物对不同盐胁迫时间下小麦幼苗 *P5CR*、*P5CS* 基因表达的影响

小麦总 RNA 经 BioSpec – nano 检测,所得 RNA 样品 OD260/280 介于 1.8 ~ 2.1,OD260/230 高于 2.0,凝胶电泳结果显示其完整性好。内参基因 *tubulin* PCR 扩增 26 个循环后电泳结果显示各个样品条带亮度清晰,循环 28 圈时 *P5CS* 基因表达差异已不明显,确定 26 圈为半定量 RT-PCR 循环数。

在 *tubulin* 表达量一致的条件下,相同处理之间进行比较,100 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫 6 h 小麦植株 *P5CR* 和 *P5CS* 电泳条带最亮,其表达量最高,而胁迫 24 h 与胁迫 0 h 条带亮度基本相当,胁迫 48 h 时两个基因的表达相对最弱;相同胁迫时间下不同处理之间比较,配合物与己唑醇浸种处理对小麦植株 *P5CR*、*P5CS* 表达增强效果显著,均高于相同胁迫时间下的醋酸铜处理,NaCl 胁迫 6 h 配合物对 *P5CS* 表达的促进效果优于己唑醇;结合 2.2 结果,配合物与己唑醇对两个基因表达的增强效果与两种处理明显增加了小麦脯氨酸含量具有高度一致性;在胁迫 6 h 条件下,配合物比己唑醇对 *P5CS* 的表达的增强效果更好,这可能是造成配合物处理在胁迫 6 h、24 h 和 48 h 植株脯氨酸含量高于配体的原因。



注:M:DL2000 分子量标记;1、4、7、10 泳道:醋酸铜处理;2、5、8、11 泳道:己唑醇处理;3、6、9、12:己唑醇铜配合物处理。

Note: M:DL2000 maker; Lines 1、4、7、10: Copper acetate treatment; Lines 2、5、8、11: hexaconazole treatment; Lines 3、6、9、12: hexaconazole – Cu complex treatment.

图 3　100 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫不同时间己唑醇铜配合物对小麦幼苗 *P5CR* 和 *P5CS* 表达变化

Fig.3　The effect of hexaconazole – Cu complexe on *P5CR* and *P5CS* expression levels of wheat seeding under different hours of NaCl stress

3　讨　论

脯氨酸在植物面对逆境胁迫时,可以维持自身渗透平衡,防止细胞质膜损伤[15],从而增强植物的抗逆境胁迫能力[16-17]。三唑类杀菌剂可以有效提高植物体内的脯氨酸含量,增强抗逆境能力[18-19]。喷施烯效唑可以大幅度提高小麦的地上部分,尤其是光合作用重要器官中的脯氨酸含量[20],但目前报导三唑类对脯氨酸含量的影响都只停留在生理水平。本试验也证实己唑醇铜配合物和己唑醇浸种处理增加了小麦幼苗的脯氨酸积累。100 mmol·L^{-1} NaCl 胁迫 6 h,小麦植株脯氨酸含量增幅最大,其中配合物处理相比己唑醇脯氨酸含量最高达到 29.33 μg·g^{-1},增加 97.11%。

P5CS 与 P5CR 是脯氨酸合成途径之一的谷氨酸途径两个关键酶。Eva Vincze 等对小麦悬浮细胞的研究结果显示,NaCl 胁迫 2 h 小麦悬浮细胞的 *P5CS* 和 *P5CR* 的表达量相比对照有所增长,脯氨酸含量增高[21]。试验中己唑醇铜配合物和己唑醇相比醋酸铜处理,显著增强了小麦幼苗叶片中 *P5CR* 和 *P5CS* 的表达量,盐胁迫 6 h,脯氨酸含量增幅最大,*P5CR* 和 *P5CS* 表达量也最高,到 24 h 趋于稳定。由此看出,三唑类杀菌剂己唑醇和复配铜离子的己唑醇铜配合物可以通过增强小麦植株 *P5CR*、*P5CS* 基因的表达,短时间快速合成脯氨酸,以应对盐胁迫压力。

脯氨酸还可以作为氧自由基清除剂以及激发抗氧化酶活性,共同削弱植物的过氧化损伤,增强植物的抗逆境胁迫能力[22]。以往实验证实己唑醇铜配合物能够提高植物 SOD 和 POD 酶活。那么,NaCl 胁迫下配合物对小麦幼苗的抗氧化特性以及和脯氨酸增加的关系还需进一步研究。

参 考 文 献:

[1] Kudret K. Alleviation of salinity stress by plant growth regulators on seed germination[J]. Journal of Plant Physiology, 1987, 128: 179-183.

[2] Cheruth A J, Muthiah G, Rajaram P, et al. Triadimefon induced salt stress tolerance in *Withania somnifera* and its relationship to antioxidant defense system[J]. South African Journal of Botany, 2008, 74: 126-132.

[3] Gholam A A, Mostafa H, Faezeh G, et al. Exogenously applied hexaconazole ameliorates salinity stress by inducing an antioxidant defense system in *Brassica napus* L. Plants[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010, 15: 1-7.

[4] Turkan I, Demiral T. Recent developments in understanding salinity tolerance[J]. Environmental and experimental botany, 2009, 67: 2-9.

[5] Verbruggen N, Hermans C. Proline accumulation in plants: a review, Amino Acids[J]. Amino acids, 2008, 35: 753-759.

[6] Tripathi S B, Gurumurthi K, Panigrahi A K, et al. Salinity induced changes in proline and betaine contents and synthesis in two aquatic macrophytes differing in salt tolerance[J]. Biologia Plantarum, 2007, 51: 110-115.

[7] Jiménez-Bremont J F, Becerra-Flora A, Hernández-Lucero E, et al. Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine[J]. Biologia Plantarum, 2006, 50: 763-766.

[8] Xue X, Liu A, Hua X. Proline accumulation and transcriptional regulation of proline biothesynthesis and degradation in *Brassica napus*[J]. BMB Rep, 2009, 42: 28-34.

[9] Panneerselvam R, Muthukumarasamy M, Rajan S N. Amelioration of NaCl stress by triadimefon in soybean seedlings[J]. Biologia Plantarum, 1998, 41: 133-137.

[10] Hong Z, Lakkineni K, Zhang Z. Removal of feedback inhibition of delta(1) – pyrroline – 5 – carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress[J]. Plant Physiol, 2000, 122: 1129-1136.

[11] Szoke A, Miao G H, Hong Z. Subcellular localization of pyrroline – 5 – carbocxylate reductase in root/nodule and leaf of soybean[J]. Plant Physiol, 1992, 99: 1642-1649.

[12] Bagihalli G B, Badami P S. Synthesis, spectral characterization and in vitro biological studies of Co(Ⅱ), Ni(Ⅱ) and Cu(Ⅱ) complexes with 1,2,4-triazole Schiff bases[J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2009, 24: 381-394.

[13] 毕彦博,宁永霞,潘红艳,等.己唑醇铜配合物抑菌活性与植物生长调节效能[J].干旱地区农业研究,2013,31(1):146-151.

[14] 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,2001:258-260.

(下转第 113 页)

参 考 文 献:

[1] Feng Q, Cheng G D, Masao M K. Trends of water resource development and utilization in arid north-west China[J]. Environment Geology, 2000,39(8):831-838.

[2] 苏培玺,杜明武,赵爱芬,等.荒漠绿洲主要作物及不同种植方式需水规律研究[J].干旱地区农业研究,2002,20(2):79-85.

[3] Marcello M, Nader K, Gianfrano R. Productivity and water use efficiency of sweet sorghum as affected by soil water deficit occurring at different vegetative growth stages[J]. European Journal of Agronomy, 1999,(11):207-215.

[4] Ennahli S, Earl H J. Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress[J]. Crop Science, 2005,45:2374-2382.

[5] Lawlor D W, Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants[J]. Plant, Cell and Environment, 2002,25:275-294.

[6] 张仁和,郑友军,马国胜,等.干旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响[J].生态学报,2011,31(5):1303-1311.

[7] 胡文海,曾建军,曹玉林,等.干旱胁迫对两种辣椒叶片气体交换和叶绿素荧光特性的影响[J].干旱地区农业研究,2008,26(5):156-160.

[8] 付秋实,李红岭,崔　健,等.水分胁迫对辣椒光合作用及相关生理特性的影响[J].中国农业科学,2009,42(5):1859-1866.

[9] 张守仁.叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J].植物学通报,1999,16(4):444-448.

[10] Elsheery N I, Cao K F. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress[J]. Acta Physiol Plant, 2008,30:769-777.

[11] 罗明华,胡进耀,吴庆贵,等.干旱胁迫对丹参叶片气体交换和叶绿素荧光参数的影响[J].应用生态学报,2010,21(3):619-623.

[12] 陈　平,杜太生,王　峰,等.西北旱区温室辣椒产量和品质对不同生育期灌溉调控的响应[J].中国农业科学,2009,42(9):3203-3208.

[13] 李合生,孙　群,赵世杰,等.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.

[14] Zhao C H M, Wang G X. Effects of drought stress on photoprotection in Ammopiptanthus mongolicus leaves[J]. Acta Botanica Sinica, 2002,44(11):1309-1313.

[15] Lu C M, Zhang J H. Effects of waters stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants[J]. Journal of Experimental Botany, 1999,50(336):1199-1206.

[16] 王荣富,张云华,钱立生,等.超级杂交稻两优培九及其亲本光氧化特性[J].应用生态学报,2003,14(8):1309-1312.

[17] 何　军,许　兴,李树华,等.水分胁迫对牛心朴子叶片光合色素及叶绿素荧光的影响[J].西北植物学报,2004,24(9):1594-1598.

[18] Yin C Y, Berninger F, Li C Y. Photosynthetic responses of *Populus przewalski* subjected to drought stress[J]. Photosynthetica,2006,44:62-68.

[19] Farguhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1982,33:317-345.

[20] 陈金平,刘祖贵,段爱旺,等.土壤水分对甜椒叶片某些生理特性的影响[J].山地农业生物学报,2005,24(1):48-52.

[21] 王孝威,段艳红,曹　慧,等.水分胁迫对短枝型果树光合作用的非气孔限制[J].西北植物学报,2003,23(9):1609-1613.

[22] Heitholt J J. Water use efficiency and dry matter distribution in nitrogen and water-stressed winter wheat[J]. Agronomy Journal, 1989,81:464-469.

[23] White A J, Critchley C. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus[J]. Photosynthesis Research,1999,59(1):63-72.

[24] 卜令铎,张仁和,韩苗苗,等.苗期玉米叶片光合特性对水分胁迫的响应[J].生态学报,2010,30(5):1184-1191.

[25] 朱成刚,陈亚宁,李卫红,等.干旱胁迫对胡杨 PSII 光化学效率和激能耗散的影响[J].植物学报,2011,46(4):413-424.

[26] Cornic G, Fresneau C. Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during a mild drought[J]. Annals of Botany, 2002,89:887-894.

[27] 须　晖,高　洁,王　蕊,等.番茄幼苗叶绿素荧光参数对水分胁迫的响应[J].中国农学通报,2011,27(10):189-193.

(上接第 107 页)

[15] 焦　蓉,刘好宝,刘贯山,等.论脯氨酸累积与植物抗渗透胁迫[J].中国农学通报,2011,27(7):216-221.

[16] Hussain T M, Chandrasekhar T, Hazara M, et al. Recent advances in salt stress biology – a review[J]. Biotech Mol Biological Review, 2008,3:8-13.

[17] Smirnoff N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation[J]. New Phytol, 1993,125:27-31.

[18] Cheruth A J, Ragupathi G, Rajaram P. Alterations in lipid peroxidation, electrolyte eakage, and proline metabolism in *Catharanthus roseus* under treatment with triadimefon, a systemic fungicide[J]. Comptes Rendus Biologies, 2007,330:905-912.

[19] Manish S, Arun K, Anil D, et al. Effect of paclobutrazol and salinity on ionleakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in mango (*Mangifera indica* L.)[J]. Scientia Horticulturae, 2010,125:785-788.

[20] 张金林,王锁民,陈托兄,等.烯效唑(S3307)对大麦整株水平 Na^+、K^+ 选择性和游离脯氨酸分配的影响[J]. 麦类作物学报,2008,28(4):655-660.

[21] Dong J, Steve B, Eva V. The development and evaluation of single cell suspension from wheat and barley as a model system; a first step towards functional genomics application[J]. BMC Plant Biology, 2010,10:239.

[22] Paramasivam M, Cheruth A J, Ramamurthy S, et al. Osmoregulation and antioxidant metabolism indrought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching[J]. Comptes Rendus Biologies, 2008,331:418-425.