

抗氧化系统参与循环干旱锻炼提高烟草植株抗旱性的形成

荣智媛^{1,*}, 张晓海^{2,*}, 杨双龙¹, 徐照丽², 李军营², 黄国宾¹, 赵静¹, 龚明^{1,**}

¹云南师范大学生命科学学院, 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心, 云南省生物质能与环境生物技术重点实验室, 昆明650500; ²云南省烟草农业科学研究院, 云南玉溪653100

摘要: 对漂浮育苗的烟草幼苗进行控水-半萎焉-复水-恢复的循环干旱锻炼。结果表明, 这种干旱锻炼能显著提高烟草叶片抗氧化剂谷胱甘肽(GSH)、抗坏血酸(AsA)的含量、还原型抗氧化剂在总抗氧化剂中的比例和抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化氢酶(CAT)、愈创木酚过氧化物酶(GPX)、谷胱甘肽还原酶(GR)的活性, 降低丙二醛(MDA)的含量。当烟草植株遭受后续的干旱胁迫时, 与未锻炼的对照相比, 干旱锻炼过的烟草植株能保持较高的GSH和AsA含量、还原型抗氧化剂在总抗氧化剂中的比例和抗氧化酶(SOD、APX、CAT、GPX和GR)活性, 以及较低的MDA含量, 表明这种循环干旱锻炼提高了细胞抗氧化能力, 有助于缓解烟草植株由干旱引起的氧化胁迫及其所导致的伤害, 最终提高其抗旱性。这些结果表明, 抗氧化系统参与了循环干旱锻炼提高烟草植株抗旱性的形成过程。

关键词: 烟草; 循环干旱锻炼; 抗氧化系统; 干旱胁迫; 抗旱性

Involvement of Antioxidant Defense System in Enhancement of Drought Resistance in Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Plants through Circular Drought-Hardening

RONG Zhi-Yuan^{1,*}, ZHANG Xiao-Hai^{2,*}, YANG Shuang-Long¹, XU Zhao-Li², LI Jun-Ying², HUANG Guo-Bin¹, ZHAO Jing¹, GONG Ming^{1,**}

¹Key Laboratory of Biomass Energy and Environmental Biotechnology of Yunnan Province, Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy, Ministry of Education, School of Life Sciences, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China; ²Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Sciences, Yuxi, Yunnan 653100, China

Abstract: Circular drought-hardening was applied on tobacco seedlings raised on floating trays by the circle of water control-half wilting-rehydration-recovery. The results showed that the circular drought-hardening can significantly increased contents of the antioxidant glutathione (GSH) and ascorbic acid (AsA), the ratio of reduced to total antioxidants and activities of the antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), and decreased the content of malondialdehyde (MDA). When the circular drought-hardened seedlings were subjected to following drought stress, as compared with control without the drought-hardening, they could retain higher contents of GSH and AsA, ratio of reduced to total antioxidants and activities of the antioxidant enzymes (SOD, APX, CAT, GPX, GR), and lower content of MDA. All these results indicated that the circular drought-hardening enhanced intracellular anti-oxidative capacity in tobacco plants, which will be helpful to alleviate drought-induced oxidative stress and subsequent damage, and finally to increase drought resistance, and antioxidant defense system took part in the drought hardening-induced enhancement of drought resistance in tobacco plants.

Key words: tobacco; circular drought-hardening; antioxidant defense system; drought stress; drought resistance

干旱是影响农业生产与生态环境的重要因子(Ashraf 2010; Neumann 2008)。烟草起源于雨量充沛的热带, 整个生育期对水分的要求都很高。水分参与烟草体内一切代谢过程及烟草的形态构成, 是形成优质烟叶的重要生理生化基础(农梦玲等2008)。近几年中国西南部地区频繁发生的干旱(曾少聪2010), 对烤烟的生产带来严重的影响。

在农业生产中, 干旱锻炼是一种有效提高农

收稿 2012-04-09 修定 2012-05-14

资助 国家自然科学基金(30460016)和中国烟草总公司云南省公司科技计划项目(2010YN10)。

* 共同第一作者。

** 通讯作者(E-mail: gongming63@163.com; Tel: 0871-5941370)。

作物抗旱性的方法。干旱锻炼是指将植物处于一种致死量以下的干旱条件中,让植物经受干旱磨炼,以提高其对严重干旱的适应能力(谭晓荣等2009)。干旱锻炼过的植株根系发达,保水能力强,叶绿素含量高,干物质积累多,抗逆能力强(陈润政等1998)。

在逆境胁迫下,植株体内过氧化氢和超氧阴离子自由基等活性氧类(reactive oxygen species, ROS)发生积累,导致细胞的损伤甚至死亡(丁福章等2008; Foyer和Noctor 2005; Langebartels等2002)。植物在长期的进化过程中,形成了较完善的包括抗氧化酶和非酶类抗氧化剂的抗氧化系统来清除细胞内的ROS,从而维持细胞内ROS的平衡(Gill和Tuteja 2010; Gechev等2002)。在逆境胁迫初期,为抵御ROS对细胞的毒害,植物细胞往往主动启动这些活性氧清除机制。有研究表明,在干旱胁迫早期,植物体内抗氧化剂含量和抗氧化酶活性都有所上升(Osipova等2011; Bian和Jiang 2009; Bai等2006; Luna等2004);在植物体中过表达抗氧化酶基因可明显改善植物的抗旱性(Faize等2011; Badawi等2004)。这些研究表明,抗氧化酶的表达量和抗氧化物质的积累量在植物对于干旱胁迫的响应中具有重要作用。

云南由于其特定的生态环境,拥有独特和优质的烟叶风格(柯学等2011),成为中国主产优质烟区,在全国占重要地位。但云南烟草在移栽期及田间生长早期经常面临着春末夏初的干旱,对烟叶生产有严重影响。在前期的工作中,我们证实了渗透调节参与了循环干旱锻炼提高的烟草植株抗旱性的形成(黄国宾等2012)。在本研究中,拟通过测定循环干旱锻炼及后续干旱胁迫下烟草叶片中主要抗氧化剂含量、抗氧化酶活性及丙二醛含量的变化,为探索抗氧化系统在循环干旱锻炼提高的烟草植株抗旱性中的作用提供相应的理论依据。

材料与方法

1 材料

试验材料为烟草(*Nicotiana tabacum* L.)品种‘K326’,按GB/T 25241.1-2010的方法培育和管理烟苗。

2 方法

2.1 循环干旱锻炼及干旱胁迫处理

按我们前文(黄国宾等2012)的方法进行:在烟草幼苗移栽前10~14 d对幼苗进行循环干旱锻炼,使其适当遭受水分胁迫至半萎焉塌架时再加水以使其恢复,完成一个循环锻炼周期。经不同循环干旱锻炼次数的烟苗移栽至钵钵,还苗后转移至干旱棚内,进行干旱胁迫处理。在循环干旱锻炼烟苗1、3、5、7次及后续干旱胁迫10 d和20 d时,取叶片,液氮速冻保存在-86 °C的超低温冰箱中。

2.2 抗坏血酸和谷胱甘肽含量的测定

还原型抗坏血酸(AsA)、氧化型抗坏血酸(DHA)、还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)的提取按照我们实验室以前的方法(李忠光等2002)。AsA和DHA含量的测定按照Jiang和Zhang (2001)的方法, GSH和GSSG含量的测定按照Nagalakshmi和Prasad (2001)的方法。

2.3 抗氧化酶活性的测定

5种抗氧化酶的提取按照我们实验室以前的方法(李忠光等2003);超氧化物歧化酶(SOD)的测定用氮蓝四唑(NBT)还原法(Giannopolitis和Ries 1977);抗坏血酸过氧化物酶(APX)的测定按照Nakano和Asada (1981)的方法;过氧化氢酶(CAT)的测定参照Aebi (1984)的方法;愈创木酚过氧化物酶(GPX)的测定按照Britton和Maehly (1955)的方法;谷胱甘肽还原酶(GR)的测定参照Halliwell和Foyer (1978)的方法。

2.4 MDA含量的测定

丙二醛(MDA)的测定参照陈建勋和王小峰(2002)的方法。

2.5 数据处理

每组试验重复3次,每次试验2个测定重复。试验原始数据用SPSS 11.5统计软件分析和 t 检验,图中*或**分别表示与对照的差异显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)。统计结果用SigmaPlot 10.0作图。

实验结果

1 干旱锻炼及其移栽后的干旱胁迫对烟草植株叶片中抗氧化剂AsA和GSH含量的影响

1.1 AsA含量变化

还原型抗坏血酸(AsA)是一种普遍存在于植

物组织的高丰度小分子抗氧化物质, 它可以直接与ROS反应, 在植物抵抗氧化胁迫中具有重要作用(Navrot等2007)。如图1所示, 循环干旱锻炼期间, 随着干旱锻炼循环次数的增加, 锻炼过的烟草幼苗AsA的含量显著增加, 如5个循环锻炼的幼苗AsA含量比对照高出93.3% (图1-A)。相反经过5~7个循环锻炼的烟草幼苗氧化型抗坏血酸(DHA)含量显著下降(图1-C)。此外, 总抗坏血酸(AsA+DHA)含量和还原型抗坏血酸在总含量中的比值[AsA/(AsA+DHA)]都随着干旱锻炼循环次数的增加而增加(图1-B、D)。

当对照和经过干旱锻炼的烟草植株移栽还苗后继续进行干旱胁迫10 d和20 d, 经过干旱锻炼的烟草植株AsA含量显著高于未锻炼的对照, 如经过3个循环干旱锻炼的幼苗AsA含量在干旱胁迫第10天时比对照高出26.6% (图2-A); 而经过干旱锻炼的幼苗DHA含量明显低于未经锻炼的烟草植株(图2-C); 但总抗坏血酸(AsA+DHA)含量无显著变化(图2-B)。经过干旱锻炼的烟草幼苗在遭遇后续的干旱胁迫时AsA/(AsA+DHA)比例显著高于对照(图2-D), 表明干旱锻炼提高了烟草植株在锻炼期

间和随后的干旱胁迫下的AsA含量及其在总含量中的比值。

1.2 GSH含量变化

还原型谷胱甘肽(GSH)广泛分布于哺乳动物、植物和微生物细胞内, 是最主要的、含量最丰富的含巯基的低分子肽, 它可以直接或间接与ROS反应(Szalai等2009; Miller等2008)。如图3所示, 烟草幼苗GSH含量从3个循环开始随着锻炼次数的增加GSH含量逐渐升高, 经过7个循环锻炼的幼苗GSH含量比对照高出84.1% (图3-A)。氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量也随锻炼次数增加而上升, 经历3个循环锻炼的烟草幼苗GSSG含量最高, 比对照高出25% (图3-C)。此外, 总谷胱甘肽(GSH+GSSG)含量和GSH/(GSH+GSSG)比值从3个循环锻炼开始随干旱锻炼次数的增加而逐渐升高, 在7个循环结束时均显著高于未经锻炼的烟草幼苗(图3-B、D)。

当对照和经过干旱锻炼的烟草植株进一步遭受后续的干旱胁迫时, 在干旱胁迫10 d后, 经过干旱锻炼的烟草植株GSH含量均显著高于未锻炼的烟草植株, 经过5个循环的烟草植株GSH含量最高,

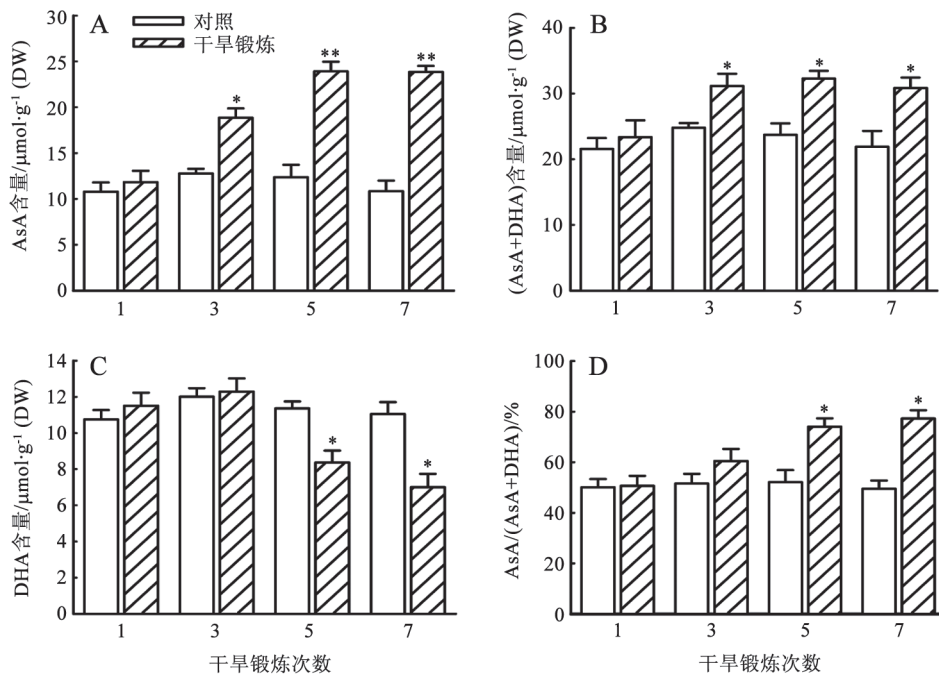


图1 循环干旱锻炼期间烟草幼苗叶片AsA (A)、AsA+DHA (B)、DHA (C)含量和AsA/(AsA+DHA)比值(D)的变化
 Fig.1 Change of AsA (A), AsA+DHA (B) and DHA (C) contents and the ratio of AsA/(AsA+DHA) (D) in tobacco leaves during the circular drought-hardening

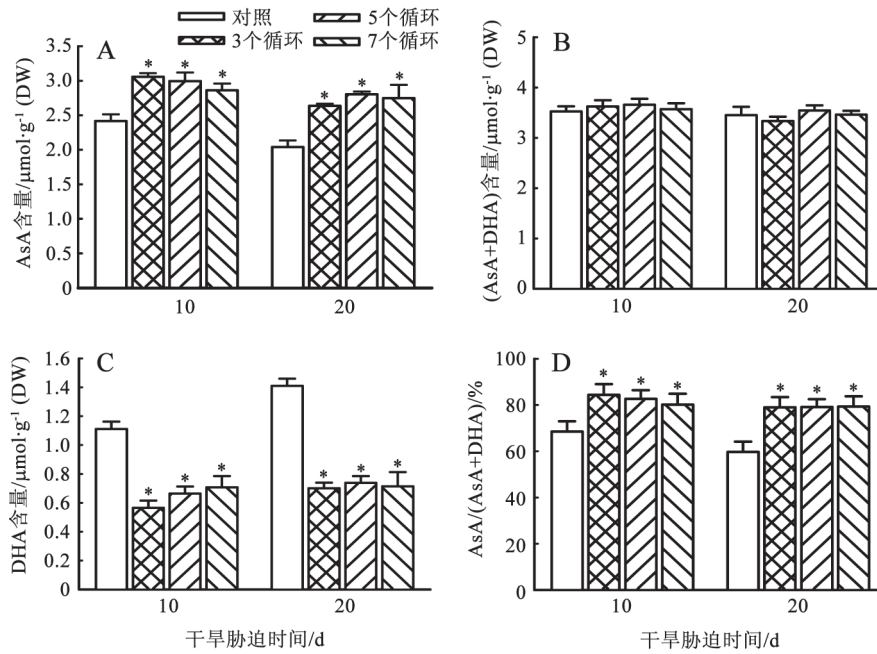


图2 干旱胁迫对干旱锻炼和未经锻炼(对照)的烟草植株叶片中AsA (A)、AsA+DHA (B)、DHA (C)含量和AsA/(AsA+DHA)比值(D)的影响

Fig.2 Effect of drought stress on the contents of AsA (A), AsA+DHA (B) and DHA (C) and the ratio of AsA/(AsA+DHA) (D) in leaves of the drought-hardening and control tobacco plants

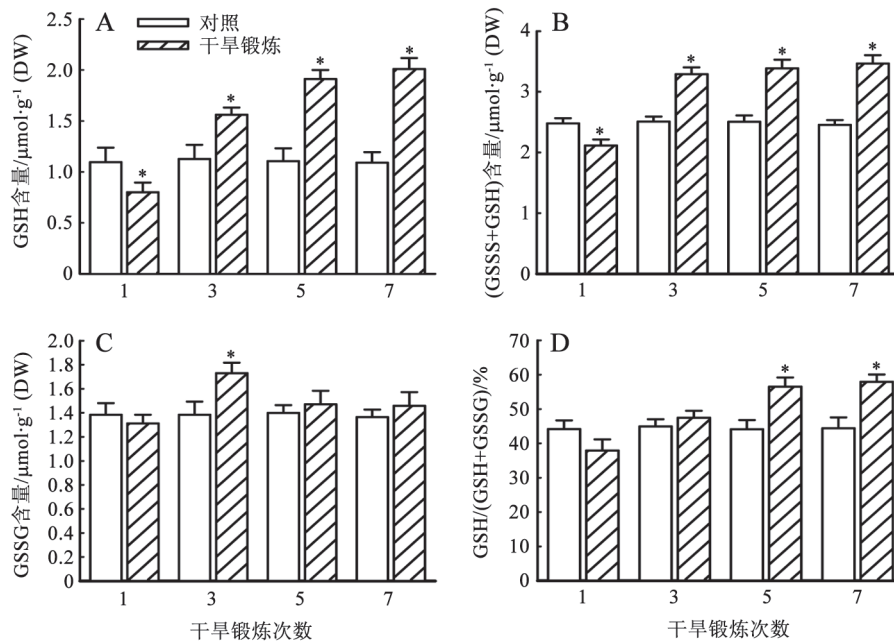


图3 循环干旱锻炼期间烟草幼苗叶片GSH (A)、GSH+GSSG (B)、GSSG (C)含量和GSH/(GSH+GSSG)比值(D)的变化

Fig.3 Change of GSH (A), GSH+GSSG (B) and GSSG (C) contents and the ratio of GSH/(GSH+GSSG) (D) in tobacco leaves during the circular drought-hardening

高出对照118.1% (图4-A)。此外, 经过干旱锻炼的烟草植株GSSG含量在干旱胁迫20 d后显著低于对

照组(图4-C)。总体而言, 干旱锻炼可提高烟草植株在锻炼过程中以及后续干旱胁迫中GSH含量和

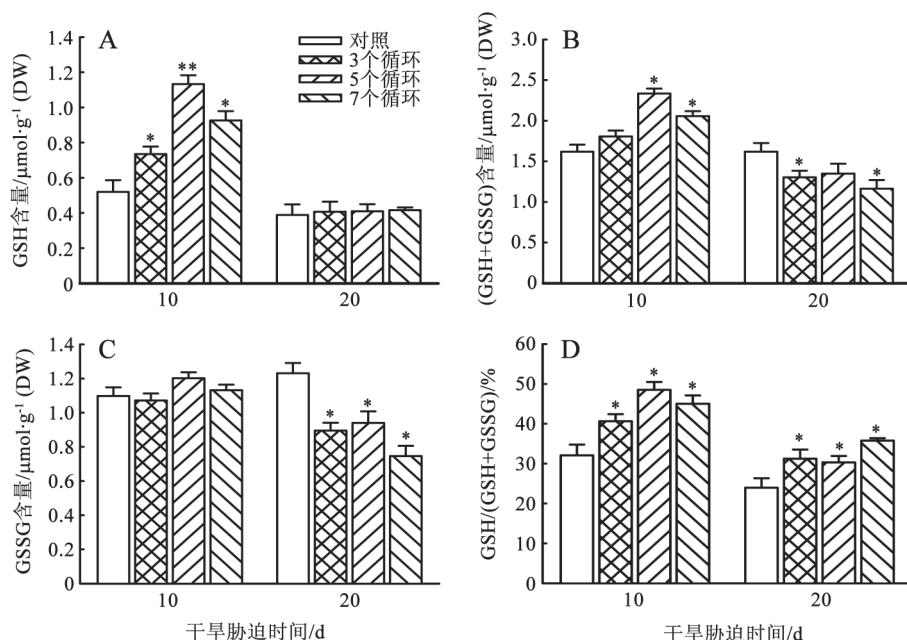


图4 干旱胁迫对干旱锻炼和未经锻炼(对照)的烟草植株叶片中GSH (A)、GSH+GSSG (B)、GSSG (C)含量和 GSH/(GSH+GSSG)比值(D)的影响

Fig.4 Effect of drought stress on the contents of GSH (A), GSH+GSSG (B) and GSSG (C) and the ratio of GSH/(GSH+GSSG) (D) in leaves of the drought-hardening and control tobacco plants

GSH/(GSH+GSSG)比值(图4-A、D)。

2 干旱锻炼及其移栽后的干旱胁迫对烟草植株叶片中抗氧化酶活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是植物抗氧化酶中的关键一员,其功能是将 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 歧化为 H_2O_2 (Gill和Tuteja 2010; Badawi等2004; Alscher等2002)。如图5所示,在干旱锻炼循环期间,经干旱锻炼的烟草幼苗随着循环次数的增加SOD活性是先上升后下降,在5个循环锻炼后达到最高值,其烟草幼苗SOD活性

比对照高出52.7% (图5-A)。当对照和经过干旱锻炼的烟草植株移栽还苗后继续进行干旱胁迫10 d和20 d,经干旱锻炼的植株SOD活性保持在较高水平并显著高于未锻炼对照组(图5-B)。

抗坏血酸过氧化物酶(APX)被认为是解毒 H_2O_2 的关键酶,它通过催化抗坏血酸-谷胱甘肽循环来发挥这一关键作用(Gill和Tuteja 2010; Jaleel等2009; Ahmad等2008)。在干旱锻炼循环过程中,经干旱锻炼的烟草幼苗APX活性随锻炼次数的增加

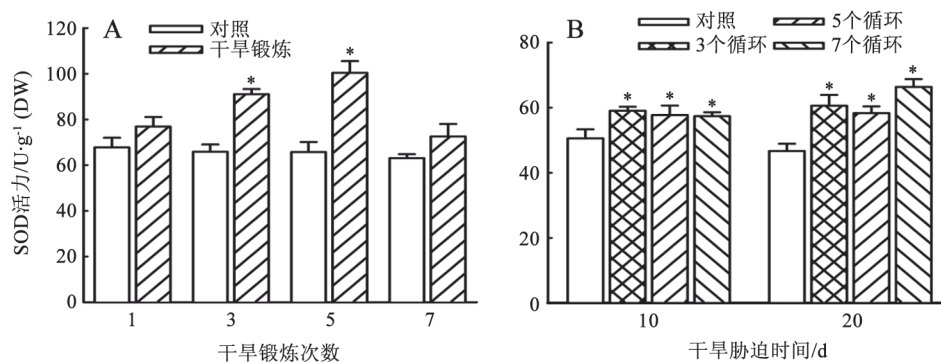


图5 循环干旱锻炼期间(A)及干旱胁迫期间(B)烟草叶片SOD活性变化

Fig.5 Changes of SOD activity in tobacco leaves during the circular drought-hardening (A) and following drought stress (B)

而升高, 经过5个循环干旱的烟草幼苗APX活性比对照高出62.0% (图6-A)。当对照和经过干旱锻炼的烟草植株移栽还苗后继续进行干旱胁迫10 d和20 d, 经过干旱锻炼的烟草植株APX活性保持在较高水平并除了3个循环的连续干旱20 d外均显著高于未锻炼对照组(图6-B)。

过氧化氢酶(CAT)的功能是将胞内的 H_2O_2 直接分解生成 H_2O (Gill和Tuteja 2010; Jaleel等2009)。在干旱锻炼循环过程中经干旱锻炼的烟草幼苗CAT活性随锻炼次数的增加先升高后降低, 经3个循环锻炼的烟草幼苗CAT活性达到最高并比对照

高出33.4% (图6-C)。当对照和经过干旱锻炼的烟草植株移栽还苗后继续进行干旱胁迫10 d和20 d, CAT活性随胁迫时间的延长而降低, 但经干旱锻炼植株的CAT活性均高于未锻炼组(图6-D)。

愈创木酚过氧化物酶(GPX)存在于细胞的多个部位, 利用愈创木酚为电子供体清除 H_2O_2 (Gill和Tuteja 2010)。由图6-E可看出, 经干旱锻炼的烟草幼苗GPX活性随锻炼次数的增加逐渐升高, 经7个循环锻炼的幼苗GPX高出对照103.2% (图6-E)。当对照和经过干旱锻炼的烟草植株移栽还苗后继续进行干旱胁迫10 d和20 d, 在干旱胁迫过程中GPX

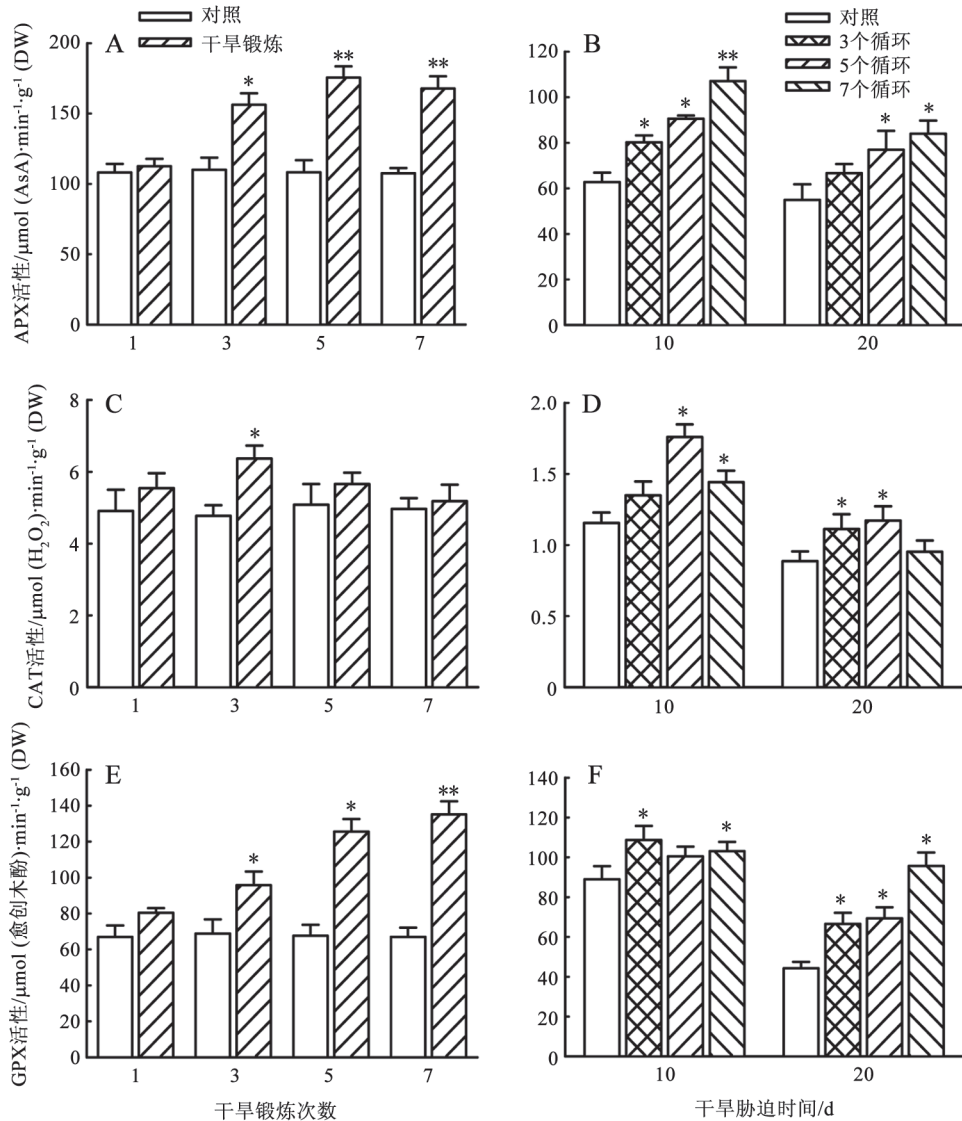


图6 循环干旱锻炼期间及干旱胁迫期间烟草叶片APX (A、B)、CAT (C、D)和GPX (E、F)活性变化

Fig.6 Changes of APX (A, B)、CAT (C, D) and GPX (E, F) activities in tobacco leaves during the circular drought-hardening and following drought stress

活性随胁迫时间的延长而逐渐降低, 但经干旱锻炼植株GPX活性均显著高于未锻炼组(图6-F)。

谷胱甘肽还原酶(GR)是植物谷胱甘肽-抗坏血酸循环中重要的酶类, 可将GSSG还原为GSH (Gill和Tuteja 2010)。GR在植物对逆境的适应中起重要作用, 逆境胁迫初期常引发GR活性及相关基因的快速上调(郭丽红等2006)。由图7可看出, 随干旱循环次数的增加, 经干旱锻炼的烟草幼苗GR活性逐渐升高, 在5个循环结束后GR活性高出对照组51.0% (图7-A)。当对照和经过干旱锻炼的烟草植株移栽还苗后继续进行干旱胁迫10 d和20 d, 经干旱锻炼的烟草植株GR活性均高于对照组(图7-B)。

3 干旱锻炼及其移栽后的干旱胁迫对烟草植株叶片中MDA含量的影响

丙二醛(MDA)常被用来作为氧化胁迫导致的

脂质过氧化的指标(Gobel和Feussner 2009)。如图8-A所示, 在干旱锻炼过程中, 经过干旱锻炼的烟草幼苗MDA含量均低于对照组。当对照和经过干旱锻炼的烟草植株移栽还苗后继续进行干旱胁迫10 d和20 d, 经干旱锻炼的烟草植株MDA含量均低于未锻炼组(图8-B)。

讨 论

干旱环境通常会引起植物活性氧(ROS)的产生, 这些ROS一方面作为第二信使, 参与植物对逆境的响应过程; 另一方面ROS在细胞内的积累会导致氧化胁迫, 对生物膜造成损伤, 破坏DNA结构等(Suzuki等2011; Møller和Sweetlove 2010)。当植物遭受到干旱胁迫时, 植物体内发生一系列的生理生化反应来抵御胁迫造成的伤害, 其中抗氧化系统是抵御胁迫的关键环节。植物体内的抗氧化

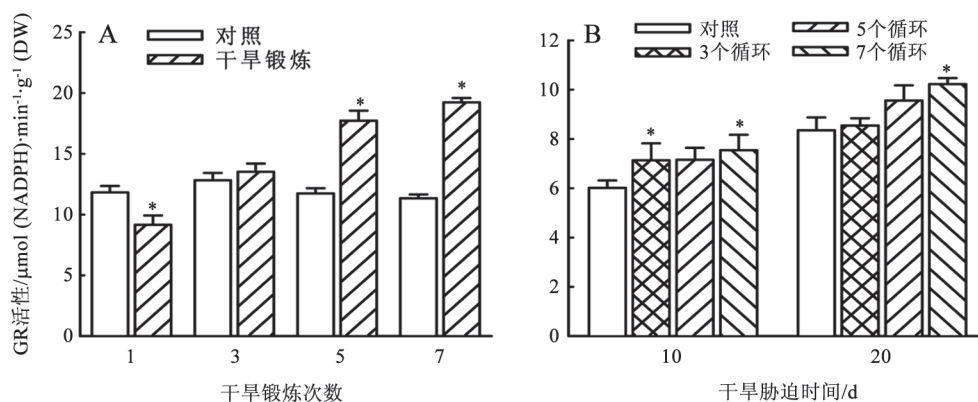


图7 循环干旱锻炼期间(A)及干旱胁迫期间(B)烟草叶片GR活性变化

Fig.7 Changes of GR activity in tobacco leaves during the circular drought-hardening (A) and following drought stress (B)

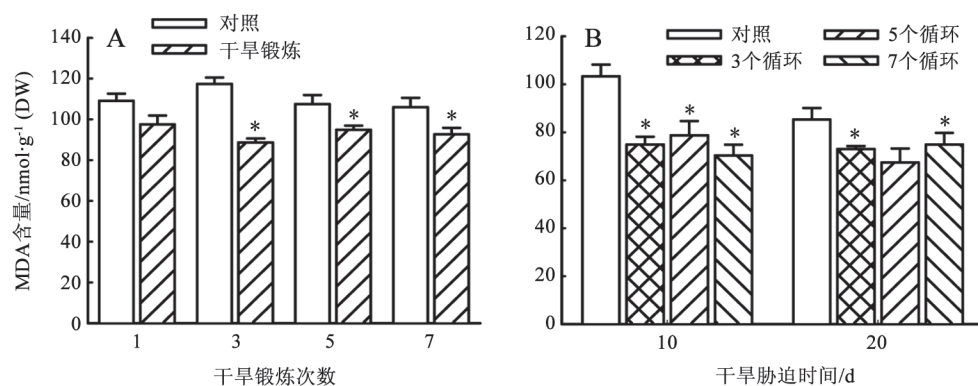


图8 循环干旱锻炼期间(A)及干旱胁迫期间(B)烟草叶片MDA含量变化

Fig.8 Changes of MDA content in tobacco leaves during the circular drought-hardening (A) and following drought stress (B)

酶和小分子物质可以清除这些活性氧自由基,对干旱胁迫作出的适应性反应(Thapa等2011)。

植物体内参与抗氧化保护反应的酶类主要有SOD、CAT、APX、GR等(Jaleel等2009; Navrot等2007; 赵丽英等2005),这些酶共同作用可将超氧阴离子自由基及 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 ,缓解ROS导致的氧化胁迫,从而减轻干旱胁迫对植物造成的伤害。植物在遭受到逆境胁迫时,往往通过主动调节抗氧化物质(AsA、GSH等)的含量和抗氧化酶类(SOD、CAT、GR等)的活性来清除ROS,抵御和减缓其对细胞的伤害(Vaseva等2012; Faize等2011; Yang等2008; 杜琳和张荃2008; Fazely等2007; Reddy 2004)。

已有一些研究表明,短期的干旱锻炼可提高植物的耐旱性(Luo等2011; 孙存华1999; 郭贤仕和山仑1994),但目前对抗氧化系统是否参与干旱锻炼提高烟草抗旱性的过程未见报道。

研究结果表明,本实验中所用的循环干旱锻炼方法能显著提高烟草幼苗叶片抗氧化剂AsA和GSH含量、还原型抗氧化剂在总抗氧化剂中的比例[AsA/(AsA+DHA)和GSH/(GSH+GSSG)](图1、3)和抗氧化酶SOD、CAT、APX、GPX、GR活性(图5~7),降低叶片MDA含量(图8)。当干旱锻炼过的烟草植株遭受后续的干旱胁迫时,与未锻炼的对照相比,其抗氧化剂含量、还原型抗氧化剂在总抗氧化剂中的比例(图2、4)和抗氧化酶活性(图5~7)普遍高于未锻炼组,而MDA含量低于对照组(图8),表明经过干旱锻炼的烟草植株具有较高的细胞抗氧化能力,这种提高的细胞抗氧化能力有助于植株在遭受后续的干旱胁迫时,能及时清除干旱胁迫诱导的ROS累积,减缓和降低由于干旱引起的氧化胁迫及其所导致的伤害,最终提高其抗旱性。这些结果表明,抗氧化系统在循环干旱锻炼提高烟草抗旱性中发挥着重要作用。

参考文献

陈建勋,王小峰(2002). 植物生理学实验指导. 广州:华南理工大学出版社,124
 陈润政,黄上志,宋松泉,傅家瑞(1998). 植物生理学. 广州:中山大学出版社,278~286
 丁福章,李继新,袁有波,雷波(2008). 烟草抗旱生理生化研究进展. 河北农业科学,12(3):10~12
 杜琳,张荃(2008). 植物谷胱甘肽与抗氧化胁迫. 山东科学,21(2):

27~32

郭丽红,陈善娜,王德斌,龚明(2006). 热激和热胁迫过程中玉米幼苗谷胱甘肽还原酶活性和同工酶的变化. 云南大学学报(自然科学版),28(3):262~266
 郭贤仕,山仑(1994). 前期干旱锻炼对谷子水分利用效率的影响. 作物学报,20(3):352~356
 黄国宾,张晓海,杨双龙,李军营,徐超华,荣智媛,杨利云,龚明(2012). 渗透调节参与循环干旱锻炼提高烟草植株抗旱性的形成. 植物生理学报,48:465~471
 柯学,李军营,李向阳,郭春芳,徐超华,晋艳,龚明(2011). 不同光质对烟草叶片生长及光合作用的影响. 植物生理学报,47(5):512~520
 李忠光,杜朝昆,龚明(2003). 在单一提取系统中同时测定植物ASA/DHA和GSH/GSSG. 云南师范大学学报,23(3):67~70
 李忠光,李江鸿,杜朝昆,黄号栋,龚明(2002). 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶. 云南师范大学学报,22(6):45~48
 农梦玲,刘永贤,李伏生(2008). 干旱胁迫对烟草生理生化特征影响的研究进展. 广西农业科学,39(2):155~159
 孙存华(1999). 模拟干旱诱导对藜抗旱力的影响. 应用生态学报,10(1):16~18
 谭晓荣,伏毅,戴媛(2009). 干旱锻炼提高小麦幼苗抗旱性的抗氧化机理研究. 作物杂志,(5):19~23
 曾少聪(2010). 生态人类学视野中的西南干旱——以云南旱灾为例. 贵州社会科学,251(11):24~28
 赵丽英,邓西平,山仑(2005). 活性氧清除系统对干旱胁迫的响应机制. 西北植物学报,25(2):413~418
 Aebi H (1984). Catalase *in vitro*. Methods Enzymol, 105: 121~126
 Ahmad P, Sarwat M, Sharma S (2008). Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. J Plant Biol, 51(3): 167~173
 Alscher RG, Erturk N, Heath L (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. J Exp Bot, 53(372): 1331~1341
 Ashraf M (2010). Inducing drought tolerance in plants: recent advances. Biotechnol Adv, 28: 169~183
 Badawi GH, Yamauchi Y, Shimada E, Sasaki R, Kawano N, Tanaka K, Tanaka K (2004). Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. Plant Sci, 166: 919~928
 Bai LP, Sui FG, Ge TD, Sun ZH, Lu YY, Zhou GS (2006). Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. Pedosphere, 16(3): 326~332
 Bian SM, Jiang YW (2009). Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. Sci Hortic, 120: 264~270
 Britton C, Maehly AC (1955). Assay of catalase and peroxidases. In: Colowick SP, Kaplan NO (eds). Methods in Enzymology, Part 2. New York: Academic Press, 764~775
 Faize M, Burgos L, Faize L, Piqueras A, Nicolas E, Espin GB, Moreno MJC, Alcobendas R, Artlip T, Hernandez JA (2011). Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress. J Exp

- Bot, 62: 2599~2613
- Fazely F, Ghorbanli M, Niknam V (2007). Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biol Plant*, 51 (1): 98~103
- Foyer CH, Noctor G (2005). Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environ*, 28: 1056~1071
- Gechev T, Gadjev I, Breusegem FV, Inzé D, Dukiandjiev S, Toneva V, Minkov I (2002). Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cell Mol Life Sci*, 59: 708~714
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 59: 309~314
- Gill SS, Tuteja N (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem*, 48: 909~930
- Gobel G, Feussner I (2009). Methods for the analysis of oxylipins in plants. *Phytochemistry*, 70: 1485~1503
- Halliwell B, Foyer CH (1978). Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from spinach leaves by affinity chromatography. *Planta*, 139: 9~17
- Jaleel CA, Riadh K, Gopi R, Manivannan P, Ines J, Al-Juburi HJ, Zhao CX, Shao HB, Panneerselvam R (2009). Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiol Plant*, 31: 427~436
- Jiang MY, Zhang JH (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defense system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiol*, 42: 1265~1273
- Langebartels C, Wohlgemuth H, Kschieschan S, Grün S, Sandermann H (2002). Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants. *Plant Physiol Biochem*, 40: 567~575
- Luna CM, Pastori GM, Driscoll S, Groten K, Bernardand S, Foyer CH (2004). Drought controls on H₂O₂ accumulation, catalase (CAT) activity and *CAT* gene expression in wheat. *J Exp Bot*, 56 (411): 417~423
- Luo YY, Zhao XY, Zhou RL, Zuo XA, Zhang JH, Li YQ (2011). Physiological acclimation of two psammophytes to repeated soil drought and rewatering. *Acta Physiol Plant*, 33: 79~91
- Miller G, Shulaev V, Mittler R (2008). Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiol Plant*, 133: 481~489
- Møller IM, Sweetlove LJ (2010). ROS signalling—specificity is required. *Trends Plant Sci*, 15 (7): 370~374
- Nagalakshmi N, Prasad MNV (2001). Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*. *Plant Sci*, 160: 291~299
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22: 867~880
- Navrot N, Rouhier N, Gelhaye E, Jacquot JP (2007). Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Physiol Plant*, 129: 185~195
- Neumann PM (2008). Coping mechanisms for crop plants in drought-prone environments. *Ann Bot*, 101: 901~907
- Osipova SV, Permyakov AV, Permyakova MD, Pshenichnikova TA, Borner A (2011). Leaf dehydroascorbate reductase and catalase activity is associated with soil drought tolerance in bread wheat. *Acta Physiol Plant*, 33: 2169~2177
- Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J Plant Physiol*, 161 (11): 1189~1202
- Suzuki N, Miller G, Morales J, Shulaev V, Torres MA, Mittler R (2011). Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 14: 691~699
- Szalai G, Kellos T, Galiba G, Kocsy G (2009). Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions. *J Plant Growth Regul*, 28: 66~80
- Thapa G, Dey M, Sahoo L, Panda SK (2011). An insight into the drought stress induced alterations in plants. *Biol Plant*, 55 (4): 603~613
- Vaseva I, Akiscan Y, Lyudmila SS, Kostadinova A, Nenkova R, Anders I, Feller U, Demirevska K (2012). Antioxidant response to drought in red and white clover. *Acta Physiol Plant*, published online: 26 Feb.2012
- Yang Y, Han C, Liu Q, Lin B, Wang JW (2008). Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiol Plant*, 30: 433~440