

# SA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-BA 预处理对沟叶结缕草耐寒性的影响

王艳<sup>1</sup>, 李建龙<sup>1\*</sup>, 姜涛<sup>2</sup>, 邓蕾<sup>1</sup>

(1. 南京大学生命科学院, 江苏 南京 210093; 2. 连云港曲情生物科学技术有限公司, 江苏 连云港 222000)

**摘要:**通过对沟叶结缕草进行叶面喷施信号化合物 SA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-BA, 研究了预处理对沟叶结缕草耐寒性的影响。结果表明, SA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-BA 预处理可以有效控制或者防止结缕草叶片中活性氧的积累和氧化伤害的发生, 从而提高其抗寒性; 预处理植株中 POD、CAT 和 APX 活性在胁迫过程中显著高于对照, 冷胁迫本身可以诱导 SOD 的活性避免 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的积累, GR 在抗寒胁迫过程中可能起到负反馈的作用, 抗氧化酶活性升高与沟叶结缕草耐寒性的获得密切相关; 在这 3 种信号化合物中, SA 预处理植株中 SOD, CAT 和 GR 活性高于对照和其他化合物预处理植株, 并且具有最小的 MDA 浓度, 因此, SA 对于提高沟叶结缕草的耐寒性最有效。

**关键词:**暖季型草坪草; 低温胁迫; 信号化合物; 氧化伤害; 抗氧化酶

**中图分类号:** Q945.78; S668.4; S543+.903.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5759(2010)02-0076-06

\* 沟叶结缕草 (*Zoysia matrella*) 是一种典型的暖季型草坪草, 具有耐热、耐干旱、耐贫瘠等多种优良的坪用性状, 被广泛地用于庭院、公园、广场以及运动场所的绿化。它的最佳生长温度是 26~32℃, 在亚热带季风型气候区冬季温度在 10℃ 以下, 最低气温达到 -7℃, 因此沟叶结缕草耐寒性较差成为它在这一地区使用的限制因子<sup>[1]</sup>。胁迫能引起活性氧的过量产生, 另一方面, 植物体内的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 等抗氧化酶可以有效清除活性氧, 只有当活性氧的积累超出植物的清除能力时, 氧化伤害才会形成<sup>[2]</sup>。

现有研究表明使用一些植物激素可以提高草坪草的抗逆性。水杨酸 (SA) 是一种重要的广普抗性内源信号分子, 能够使植物获得系统性抗性。SA 预处理能上调香蕉 (*Musa sapientum*) 苗、玉米 (*Zea mays*)、黄瓜 (*Cucumis sativus*)、水稻 (*Oryza sativa*) 和冬小麦 (*Triticum aestivum*) 中的抗氧化酶活性, 增强他们对低温胁迫的抵抗能力<sup>[3-5]</sup>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在环境胁迫防御反应中的信号作用也得到证实, 过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 预处理可以提高玉米幼苗的耐寒性<sup>[6]</sup>; 大麦 (*Triticum aestivum* cv. MH-97) 种子经过 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理后提高了其幼苗的耐盐性<sup>[7]</sup>, 并且抗性的获得都与抗氧化酶活性的提高以及谷胱甘肽 (GSH) 含量的变化相关。细胞分裂素 (cytokinin) 水平直接与植物的抗性相关, 2005 年 Hu 等<sup>[8]</sup> 将 ipt (细胞分裂素合成途径中的关键酶调节) 基因导入高羊茅 (*Festuca arundinacea*), 发现转基因植株体内的细胞分裂素含量增加, 同时耐寒性提高。然而, 低浓度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 或者细胞分裂素对暖季型草坪草抗寒性的影响还未见报道, SA 预处理对抗氧化酶的影响研究不够全面。因此, 本试验以沟叶结缕草为对象, 采用盆栽试验, 分别外源喷施 SA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-苄基腺嘌呤 (6-BA), 研究这些信号化合物预处理对沟叶结缕草抗寒性的影响, 及其与抗氧化酶系统的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

试验用台湾沟叶结缕草 (*Zoysia matrella* cj. Taiwan) 由浙江省丽水市青青草业有限责任公司提供, 2006 年 6 月在北京大学浦口校区草坪实验田建植。2007 年 5 月将生长良好的沟叶结缕草连根系一并移栽到直径为 13 cm, 高 24 cm 的塑料花盆中, 盆土基质为细沙和壤土均匀混合 (体积比为 2:1)。所有盆钵在室外自然光照下进

\* 收稿日期: 2009-03-23; 改回日期: 2009-05-06

基金项目: 国家高科技研究发展计划 (863 计划) 项目 (2007 AA10Z231) 和中国博士后科学基金面上资助项目 (200904501077) 资助。

作者简介: 王艳 (1978-), 女, 山西襄汾人, 博士。E-mail: wangyan7826@163.com

\* 通讯作者。E-mail: jlli2008@nju.edu.cn

行培养。每天用自来水浇灌至盆钵底有水从小孔渗出,每周用 Hoagland 营养液浇灌 1 次。30 d 后将所有盆钵再移到人工气候箱培养 14 d,管理方式同上,人工气候箱被设置为 14 h 的光周期,光照强度为  $400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,相对湿度为  $(65 \pm 10)\%$ ,温度为  $32/26^\circ\text{C}$  (昼/夜,对照温度)。盆钵在人工气候箱内随机摆放并定期交换以保证每盆所受内部环境影响一致。

## 1.2 处理方法

将预实验筛选出的最佳浓度的各种化合物溶液分别喷于待处理的结缕草叶片上,完全喷湿但不至于滴流。各种预处理的最佳浓度分别为:  $0.5 \text{ mmol/L SA}$ ,  $10 \text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$  和  $30 \mu\text{mol/L 6-BA}$ ,对照为蒸馏水。然后将其小心地放入培养箱中,注意不要使不同预处理植株相互接触。先在正常生长温度 ( $32/26^\circ\text{C}$ ,昼/夜) 下培养 12 h 使各种化合物得以充分吸收,然后转入  $7/2^\circ\text{C}$  (昼/夜) 的培养箱低温胁迫 7 d。胁迫时的光照、相对湿度以及管理方式均与常温时保持一致。在低温胁迫 0, 1, 2, 3, 5, 7 d 分别取样测定不同化合物预处理的沟叶结缕草叶片中 SOD、POD、CAT、APX 和 GR 的活性,以及叶片的氧化伤害程度,包括丙二醛 (MDA)、 $\text{H}_2\text{O}_2$  和超氧阴离子 ( $\text{O}_2^-$ ) 的含量。

## 1.3 氧化伤害指标的测定

MDA 采用硫代巴比妥酸 (TBA) 显色法测定<sup>[9]</sup>。 $\text{O}_2^-$  根据 Ke 等<sup>[10]</sup> 采用比色法测定。 $\text{H}_2\text{O}_2$  采用硫酸钛显色法测定<sup>[11]</sup>。

## 1.4 抗氧化酶的提取和活性测定

在不同的取样时间,用液氮收集约 0.2 g 叶片并贮藏在一  $80^\circ\text{C}$  冰箱中。取出样品后在液氮中保存,在 5 mL 预冷的磷酸钾缓冲液 [pH 值 7.6, 内含 2% 交联聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP)、1 mmol/L 乙二胺四乙酸 (EDTA) 和 0.5 mmol/L 抗坏血酸] 中冰浴研磨。混合液于 12 000 g,  $4^\circ\text{C}$  离心 20 min, 上清液即为酶粗提液,用于各种抗氧化酶活性的测定。根据 Larkindale 和 Huang<sup>[12]</sup> 的方法, SOD 采用氮蓝四唑法测定、POD 采用愈创木酚法显色法测定、CAT 和 APX 采用紫外分光光度法测定。GR 活性根据 Smith 等<sup>[13]</sup> 的方法采用 5-巯基-2-硝基苯甲酸 (DTNB) 显色法测定,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定<sup>[9]</sup>。

## 1.5 数据统计与分析

实验采用随机区组设计 (4 个重复)。所有数据采用单因素方差分析,以平均值  $\pm$  正负标准误表示。采用  $t$  检验  $P=0.05$  进行显著差异性检验,  $P<0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 信号化合物预处理对沟叶结缕草氧化伤害的影响

MDA 是一种膜质过氧化的产物,可以用来指示膜的伤害程度<sup>[9]</sup>。在实验中发现随着冷胁迫的进行,处理和对照中的 MDA 含量都不断增加。在胁迫前  $\text{H}_2\text{O}_2$  预处理有 1 个较高的 MDA 值,而 SA 和 6-BA 预处理 MDA 含量较低 (表 1)。这可能由于外源  $\text{H}_2\text{O}_2$  造成了 MDA 含量的增加,然而,在胁迫过程中所有处理植株中的 MDA 含量都低于对照,表明这些化合物预处理减轻了冷胁迫对膜的伤害。其中 SA 处理中的 MDA 含量最低,显著低于对照和其他处理。

生物和非生物胁迫都能够诱导活性氧在植物细胞中的过量产生,直接引起细胞膜,蛋白和核酸的过氧化伤害。实验结果发现在冷胁迫的前 3 d,对照和各种处理植株中的  $\text{O}_2^-$  含量都略有降低,随后几天显著升高。但是在整个胁迫过程中处理和对照中的  $\text{O}_2^-$  含量没有显著差异 ( $P>0.05$ )。这可能是与 SOD 在处理和对照叶片中都被升高有关。

然而,胁迫前 3 种预处理植株中的  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量都显著增加 ( $P<0.05$ ), 分别高于对照 116%, 112% 和 108%。然而在胁迫初期的 3 d 内这些预处理都降低了沟叶结缕草叶片中  $\text{H}_2\text{O}_2$  的含量,与 MDA 的变化趋势一致。随着胁迫的继续进行,处理和对照中的  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量都急剧升高,表明此时  $\text{H}_2\text{O}_2$  的生成量已经超出了抗氧化酶系统的清除能力。可见 SA,  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 6-BA 预处理都通过减少或者防止植株的氧化伤害。

表 1 在冷胁迫 0, 1, 3, 5 和 7 d 后 SA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-BA 预处理对沟叶结缕草叶片中的 MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的影响Table 1 Effects of pre-treatment with SA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 6-BA on contents of MDA, O<sub>2</sub><sup>-</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in manilagrass at 0, 1, 3, 5 and 7 d of chilling

项目 Item	胁迫时间 The time of chilling (d)	对照 Control (蒸馏水 Distilled water)	水杨酸 SA (0.5 mmol/L)	过氧化氢 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10 mmol/L)	一种细胞分裂素 6-BA (30 μmol/L)
MDA 浓度 MDA content (μmol/g FW)	0	4.08±0.37	2.19±0.84	5.38±0.62	3.30±0.65
	1	6.52±0.32	2.07±0.68*	5.85±0.35	4.68±0.51
	3	7.93±0.79	2.24±0.83*	5.89±0.23*	4.32±0.57*
	5	13.35±0.88	9.72±0.45	12.28±0.60	10.46±0.45
	7	20.52±0.38	13.72±0.86	15.33±0.67	14.19±0.81
超氧阴离子浓度 O <sub>2</sub> <sup>-</sup> content (μmol/g FW)	0	0.39±0.034	0.39±0.045	0.38±0.015	0.36±0.027
	1	0.24±0.041	0.28±0.019	0.22±0.014	0.19±0.016
	3	0.25±0.042	0.26±0.037	0.26±0.027	0.23±0.013
	5	0.52±0.036	0.58±0.023	0.60±0.037	0.59±0.021
	7	0.86±0.021	0.89±0.026	0.87±0.026	0.84±0.016
过氧化氢浓度 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> content (μmol/g FW)	0	1.27±0.27	2.74±0.22*	2.68±0.02*	2.64±0.05*
	1	1.22±0.14	1.98±0.39*	1.34±0.37	2.19±0.14*
	3	1.26±0.36	1.67±0.34	1.17±0.28	2.18±0.45*
	5	3.80±0.31	3.34±0.27	3.52±0.16	3.17±0.37
	7	4.85±0.18	4.71±0.26	4.55±0.34	4.60±0.28

注: \* 表示单一处理与对照相比在同一测定时间上呈现显著差异 ( $P < 0.05$ )。下同。

Note: Values marked by \* differ significantly at  $P < 0.05$  from corresponding ones measured on control plants. The same below.

## 2.2 信号化合物预处理对沟叶结缕草抗氧化酶 POD、CAT、APX、SOD 和 GR 活性的影响

植物获得抗寒性与其体内抗氧化酶活性的升高密切相关。对照植株中的 POD, CAT 和 APX 活性在冷胁迫过程中变化很小,说明冷胁迫本身不能诱导这些抗氧化酶活性的增加。但是化学预处理在胁迫开始前就已经显著增加了结缕草叶片中的 POD、CAT 和 APX 的活性,POD、CAT 活性是对照的 0.5~1.5 倍,APX 活性是对照的 2~5 倍(表 2)。表明化学预处理起到一个中等胁迫的作用,可以代替耐寒锻炼提高植株抗性从而抵抗随后发生的冷胁迫<sup>[14]</sup>。在冷胁迫的前 3 d 所有的预处理植株叶片中的 POD、CAT 和 APX 活性显著高于对照 1 倍以上 ( $P < 0.05$ ),随着胁迫的继续他们都开始下降,但其活性仍然高于对照。可见,这 3 种抗氧化酶对于化学预处理提高结缕草的抗寒性起到了关键作用。

在本实验中处理和对照叶片中的 SOD 活性都呈上升趋势,冷胁迫 3 d 后,SA 预处理植株中的 SOD 活性增加了 3 倍,而对照只增加了 80%。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-BA 预处理和对照相比没有显著增加沟叶结缕草中的 SOD ( $P > 0.05$ ),可见冷胁迫本身可以诱导沟叶结缕草体内的 SOD 活性,抵御低温胁迫对植株的伤害。

GR 具有调节细胞中氧化还原状态的作用。在对照植株中,GR 活性在胁迫 1 d 后降低到一个稳定水平。SA 预处理植株中的 GR 活性在冷胁迫 24 h 后被显著升高,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-BA 预处理植株中的 GR 活性在冷胁迫的前 24 h 与对照没有明显区别,但是 1 d 后大幅增加,并在胁迫的第 2 天处表现为最高值。因此 GR 对低温的响应迟于 POD、CAT 和 APX,可能起到负反馈的作用。

## 3 讨论

冷害作为环境胁迫的一个重要因子,直接影响植物的生长和发育。冷害首先改变膜特性,随后引起各种生理生化伤害,这些伤害与活性氧的过量积累密切相关。在长期的进化过程中植株也形成了完善的自我防御体系,众所周知,抗氧化酶活性的高低可以直接影响植株的耐寒性<sup>[15]</sup>。MDA 作为膜质过氧化的主要产物,近年来已经广泛的被用于指示膜系统的伤害程度。本实验结果表明这些化合物预处理显著地降低了沟叶结缕草叶片中的

表 2 在冷胁迫 0,1,2,3,5 和 7 d 后 SA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-BA 预处理对沟叶结缕草  
叶片中 POD, CAT, APX, SOD 和 GR 活性的影响

Table 2 Effects of pre-treatment with SA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 6-BA on activities of SOD, POD, CAT,  
APX and GR in manilagrass at 0, 1, 2, 3, 5 and 7 d of chilling

项目 Item	胁迫时间 The time of chilling (d)	对照 Control (蒸馏水 Distilled water)	水杨酸 SA (0.5 mmol/L)	过氧化氢 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10 mmol/L)	一种细胞分裂素 6-BA (30 μmol/L)
POD 活性 POD activity (U/mg 蛋白 Protein · min)	0	155.38±24.23	176.78±19.59	177.49±29.76	256.18±22.52*
	1	182.04±28.47	252.63±20.30*	324.03±32.09*	299.86±29.61*
	2	150.43±26.17	458.98±38.49*	384.27±21.41*	259.42±33.42*
	3	153.59±17.02	447.78±28.17*	316.81±32.87*	332.26±19.72*
	5	164.50±7.85	206.46±18.25	185.36±35.11	160.74±28.37
	7	133.96±29.04	161.38±20.68	161.40±28.30	149.50±14.35
CAT 活性 CAT activity (U/mg 蛋白 Protein · min)	0	6.74±2.17	13.45±1.24*	10.27±2.14*	13.53±2.39*
	1	7.25±1.93	33.36±1.72*	17.89±1.40*	11.85±0.31*
	2	5.80±1.02	50.63±2.17*	18.66±1.26*	11.86±1.43*
	3	7.25±1.60	41.32±2.49*	13.72±1.61*	13.09±2.70*
	5	7.82±0.51	11.15±0.10	8.83±0.73	7.58±0.44
	7	5.60±0.93	8.89±0.78	6.45±0.31	6.31±0.16
APX 活性 APX activity (mmol AsA/mg 蛋白 Protein · min)	0	2.98±0.87	8.76±0.48*	4.23±0.84*	13.34±0.89*
	1	4.45±0.70	7.60±0.36*	5.77±1.28*	8.43±0.66*
	2	3.27±1.14	8.85±0.89*	8.07±1.23*	8.54±0.53*
	3	3.62±0.89	8.74±1.15*	5.78±0.99*	9.61±0.76*
	5	3.22±0.29	4.29±0.13	3.26±0.13	2.84±0.08
	7	2.44±0.38	2.66±0.06	2.58±0.09	4.01±0.71
SOD 活性 SOD activity (U/mg 蛋白 Protein · min)	0	0.38±0.083	1.73±0.031	0.51±0.024	0.55±0.064
	1	0.75±0.032	1.93±0.037	0.99±0.033	0.89±0.013
	2	1.73±0.046	3.87±0.015	1.23±0.037	0.80±0.031
	3	2.39±0.038	3.92±0.029	1.28±0.029	0.63±0.023
	5	2.06±0.031	2.84±0.016	2.06±0.013	2.74±0.020
	7	3.50±0.079	3.85±0.015	3.97±0.087	4.37±0.036
GR 活性 GR activity (U/mg 蛋白 Protein · min)	0	4.82±0.52	3.37±0.45	2.82±0.37	5.07±0.35
	1	4.98±0.51	5.69±0.46	4.83±0.32	5.24±0.38
	2	3.60±0.41	8.10±0.50*	5.71±0.15*	4.92±0.44*
	3	3.39±0.36	7.28±0.32*	4.41±0.37	4.98±0.34*
	5	3.27±0.33	3.54±0.36	4.78±0.16	4.21±0.33
	7	4.04±0.07	4.70±0.06	4.49±0.06	5.69±0.04

MDA 含量,可见预处理降低了冷胁迫对膜系统的伤害,这与化学预处理增强了植株中抗氧化酶活性密切相关。当植物受到逆境胁迫时 O<sub>2</sub><sup>-</sup>首先在叶绿体和线粒体中产生,通过 SOD 的催化,被歧化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 则在抗氧化酶 POD 和 CAT 以及 AsA-GSH 循环的作用下被还原为 H<sub>2</sub>O,APX 和 GR 都属于这一循环。在研究中对对照和各处理植株中的 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的含量呈现逐渐升高的趋势,并且处理和对照之间无显著差异,同时 SOD 活性表现出相似的变化规律。冷胁迫可以诱导 SOD 活性的增加在很多物种中都被证明<sup>[16, 17]</sup>,沟叶结缕草叶片中的 SOD 本身的活性可能已经足够将 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 转化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。另一方面,胁迫初期由于 APX、CAT 和 POD 活性较高,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 很快被还原,也促进了 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的转化。随着胁迫的发展,APX、CAT 和 POD 活性降低,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 被积累,相应的

$O_2^-$  浓度也升高。 $H_2O_2$  目前已经被证明可能直接充当信号分子调节抗氧化基因的表达,或者在  $Ca^{2+}$ 、ABA、SA 信号分子的传导过程中起中介信号的作用<sup>[18]</sup>。研究发现 SA,  $H_2O_2$  和 6-BA 预处理植株中的  $H_2O_2$  含量在胁迫前显著高于对照,可能与它的信号调节作用有关。随着胁迫的进行, $H_2O_2$  含量在前 3 d 未积累,胁迫 5 d 后开始积累。同时各种与  $H_2O_2$  相关的抗氧化酶 APX、CAT 和 POD 活性也在胁迫第 5 天显著降低,表明此时冷胁迫造成的氧化伤害已经超出了植株的自我调节能力。但是处理植株中的活性氧含量和 MDA 含量始终低于对照,而抗氧化酶活性高于对照,可见 SA,  $H_2O_2$  和 6-BA 预处理通过升高抗氧化酶活性,降低氧化伤害提高了沟叶结缕草的抗寒性。

GR 的作用是将氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原为还原型谷胱甘肽(GSH),从而改变细胞中的 GSH/GSSG, GSH/GSSG 的改变可能比 GSH 含量的变化更能反应植物抵御各种胁迫的能力<sup>[19]</sup>。一些研究表明低温可以直接通过  $H_2O_2$  浓度和 GSH/GSSG 的改变激活下细胞中的氧化还原信号传导途径,也可以间接的先影响 ABA,  $Ca^{2+}$  或者 SA 的浓度,再通过他们改变 GSH/GSSG 来传导氧化还原信号<sup>[20]</sup>。实验结果表明 GR 对低温的响应迟于 POD、CAT 和 APX,可以推测沟叶结缕草叶片中的 GSH/GSSG 可能以负反馈的形式参与了这些预处理植物的压力信号传导。

另外,SA 预处理样品中的 CAT 和 GR 活性显著高于其他处理,并且在 2 d 时达到最高值,分别高于对照和其他预处理 3 或 2 倍。而 SA 预处理植株中的 SOD 活性在胁迫 3 d 后增加了 3 倍,显著高于其他处理和对照。因此,推测在这 3 种化合物中,SA 对于提高沟叶结缕草的耐寒性可能是最有效的。

#### 4 结论

SA、 $H_2O_2$  和 6-BA 预处理都可以提高沟叶结缕草的耐寒性,他们可能起到了传递抗寒信号的作用,从而有效控制或者防止了结缕草叶片中活性氧的积累和氧化伤害的发生。

预处理植株中 POD、CAT 和 APX 活性在胁迫发生前显著增加,并且在胁迫过程中显著高于对照,对提高沟叶结缕草的抗寒性起主要作用;冷胁迫本身可以诱导 SOD 的活性避免  $O_2^-$  的积累;GR 在抗寒胁迫过程中可能起到负反馈的作用。

在这 3 种信号化合物中,SA 对于提高沟叶结缕草的耐寒性可能是最有效的。因为 SA 诱导了被检测的所有酶活性的升高,其中 SOD, CAT 和 GR 活性高于对照和其他的化合物预处理植株,另外 SA 预处理植株也具有最小的 MDA 浓度。

#### 参考文献:

- [1] 陈莹,何八斤,周禾,等. 结缕草属种质资源评述[J]. 草业科学, 2008, 25(1): 106-112.
- [2] 曲涛,南志标. 作物和牧草对干旱胁迫的响应及机理研究进展[J]. 草业学报, 2008, 17(2): 126-135.
- [3] Kang G Z, Wang C H, Sun G C, *et al.* Salicylic acid changes activities of  $H_2O_2$ -metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings[J]. *Environment Experiment Botany*, 2003, 50(1): 9-15.
- [4] Kang H M, Saltveit M E. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid[J]. *Physiology Plantarum*, 2002, 115: 571-576.
- [5] Tasgin E, Atici O, Nalbantoglu B, *et al.* Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves[J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(7): 710-715.
- [6] Prasad T, Anderson M, Martin B, *et al.* Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide[J]. *Plant Cell*, 1994, 6: 65-74.
- [7] Wahid A, Perveen M, Gelani S, *et al.* Pretreatment of seed with  $H_2O_2$  improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(3): 283-294.
- [8] Hu Y L, Jia W L, Wang J D, *et al.* Transgenic tall fescue containing the *Agrobacterium tumefaciens* ipt gene shows enhanced cold tolerance[J]. *Plant Cell Reports*, 2005, 23:705-709.
- [9] 张远兵,刘爱荣,方蓉. 外源一氧化氮对镉胁迫下黑麦草生长和抗氧化酶活性的影响[J]. 草业学报, 2008, 17(4): 57-64.
- [10] Ke D S, Wang A G, Sun G C, *et al.* The effect of active oxygen on the activity of ACC synthase induced by exogenous

- IAA[J]. *Acta Botany Sinica*, 2002, 44: 551-556.
- [11] Dagmar P, Sairam R K, Srivastava G C, *et al.* Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves[J]. *Plant Science*, 2001, 161: 765-771.
- [12] Larkindale J, Huang B R. Thermotolerance and antioxidant systems in *Agrostis stolonifera*: Involvement of salicylic acid, abscisic acid, calcium, hydrogen peroxide, and ethylene[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161: 405-413.
- [13] Smith I K, Vierheller T L, Thorne C A. Assay of glutathione reductase in crude homogenates use 5,5'-dithiol-bis (2-nitrobenzoic acid)[J]. *Analytical Biochemical*, 1988, 175: 408-413.
- [14] Horváth E, Pál M, Szalai G, *et al.* Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants[J]. *Biological Plantarum*, 2007, 51: 480-487.
- [15] 赵会颖, 赵超鹏, 周琴, 等. 抗坏血酸对高氮条件下高羊茅草坪草耐热性的影响[J]. *草业学报*, 2008, 17(6): 34-39.
- [16] Shen W, Nada K, Tachibana S. Effect of cold treatment on enzymic and nonenzymic antioxidant activities in leaves of chilling-tolerant and chilling-sensitive cucumber cultivars[J]. *Journal of the Japanese Society for Horticulture Science*, 1999, 68(5): 967-973.
- [17] Saruyama H, Tanida M. Effect of chilling on activated oxygen-scavenging enzymes in low temperature-sensitive and tolerant cultivars of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Plant Science*, 1995, 109: 105-113.
- [18] 赵风云, 王元秀. 植物体内重要的信号分子—— $H_2O_2$ [J]. *西北植物学报*, 2006, 26(2): 427-434.
- [19] Kómives T, Gullner G, Kiraly Z. Role of glutathione and glutathione-related enzymes in response of plants to environmental stress[J]. *Stress of Life*, 1998, 851: 251-258.
- [20] Kocsy G, Galiba G, Brunold C. Role of glutathione in adaptation and signalling during chilling and cold acclimation in plants[J]. *Physiology Plantarum*, 2001, 113: 58-164.

### Effect of pre-treatments with SA, $H_2O_2$ and 6-BA on chilling tolerance in *Zoysia matrella*

WANG Yan<sup>1</sup>, LI Jian-long<sup>1</sup>, JIANG Tao<sup>2</sup>, DENG Lei<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. Quqing Bio-Science and Technology Limited Company, Lianyungang 222000, China)

**Abstract:** Following leaf application of signaling compounds such as SA,  $H_2O_2$ , and 6-BA, the effect of three pretreatments on the chilling tolerance in manila grass was studied. SA,  $H_2O_2$ , and 6-BA pretreatments improved the chilling tolerance of manila grass by controlling and preventing the accumulation of reactive oxygen species and the occurrence of oxidative damage. POD, CAT, and APX activities in pretreatments were significantly higher than in controls, and SOD activities were increased by chilling itself. GR may regulate the oxidant-reduction status as feedback, indicating that these antioxidative enzymes were closely related to the improvement of cold resistance in manila grass. SA induced more SOD, CAT, and GR activities than other compounds, suggesting SA may be the most effective of the four compounds for improving the chilling tolerance of manila grass.

**Key words:** warm turfgrass; low-temperature stress; signaling compounds; oxidative damage; antioxidant enzymes