

# 钙-钙调素对水杨酸诱导葡萄幼苗耐热性的影响及与抗氧化的关系

刘悦萍 黄卫东\* 张俊环

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘要:** 研究了钙-钙调素 ( $\text{Ca}^{2+}$ -CaM) 对水杨酸 (SA) 诱导葡萄幼苗耐热性的影响, 以及抗氧化酶、MDA、CaM 和 Pro 在这一过程中的变化。结果表明: (1) 外源 SA 可提高葡萄幼苗的耐热性, 而  $\text{Ca}^{2+}$  可促进 SA 对耐热性的诱导。但是,  $\text{Ca}^{2+}$  螯合剂 EGTA、 $\text{Ca}^{2+}$  通道抑制剂  $\text{La}^{3+}$  以及 CaM 拮抗剂 W7 对 SA 诱导的耐热性产生抑制作用。高温热激后, SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理促进叶片内 CaM 的积累, EGTA、 $\text{La}^{3+}$  或 W7 则抑制 CaM 的积累。(2) 高温下, SA 通过维持高水平的 SOD 和 CAT 的活性, 降低 MDA 含量来抵抗高温造成的氧化胁迫; 外源  $\text{Ca}^{2+}$  可促进 SA 对 SOD 和 CAT 的诱导, 而 EGTA、 $\text{La}^{3+}$  或 W7 则产生相反的作用。高温前后, 各处理叶片内的 POD 和 APX 的活性并没有明显的变化。(3) SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理可增加叶片中的 Pro 含量, 并在高温下维持较高的水平。高温后, 各抑制剂处理叶片中的 Pro 含量与对照无明显差异。结果表明,  $\text{Ca}^{2+}$  可调控 SA 诱导的耐热性, 而且在此过程中, 要求细胞外的  $\text{Ca}^{2+}$  穿过质膜进入胞内, 并有抗氧化酶和 Pro 的参与。

**关键词:** 葡萄; 幼苗; 钙; 钙调素; 水杨酸; 耐热性; 抗氧化系统

**中图分类号:** S 663.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 03-0381-06

## Effect of Calcium-Camodulin on the Thermotolerance Induced by Salicylic Acid in Young Grape Seedlings and Associated with Antioxidant System

Liu Yueping, Huang Weidong\*, and Zhang Junhuan

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Effect of  $\text{Ca}^{2+}$ -CaM on the thermotolerance induced by SA in young grape seedlings was studied. The levels of antioxidant enzymes, MDA, CaM, proline were measured after the treatments. The results showed that SA could induce the thermotolerance of grape seedlings and  $\text{Ca}^{2+}$  enhanced the SA-induced thermotolerance. In contrast, pretreatment with the  $\text{Ca}^{2+}$  chelator EGTA, the plasmalemma  $\text{Ca}^{2+}$  channel blocker  $\text{La}^{3+}$ , which was expected to inhibit the influx of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  into cells, and the CaM antagonist W7 weakened the SA-induced thermotolerance. Under heat shock, pretreatment with SA or  $\text{Ca}^{2+}$  (SA +  $\text{Ca}^{2+}$ ) increased the level of CaM in leaves, but EGTA (SA + EGTA),  $\text{La}^{3+}$  (SA +  $\text{La}^{3+}$ ) or W7 (SA + W7) decreased the levels of CaM. SA pretreatment enabled seedlings to maintain higher activities of SOD and CAT, and a lower level of MDA to weaken oxidative stress induced by heat shock.  $\text{Ca}^{2+}$  pretreatment further enhanced the SA-induced increase of SOD or CAT activity, but EGTA,  $\text{La}^{3+}$  and W7 had a contrary effect. POD or APX activity of each treatment had little change before and after heat shock. In addition, pretreatment with SA or  $\text{Ca}^{2+}$  (SA +  $\text{Ca}^{2+}$ ) enhanced the content of proline and kept higher level under heat shock, the level of proline in each seedling pretreated with antagonists had no obvious difference to the control. These results showed that SA-induced thermotolerance was mediated by  $\text{Ca}^{2+}$  and required the entry of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  into cells through plasmalemma, and was related with antioxidant enzymes and proline.

**Key words:** Grape; Seedling; Calcium; Camodulin; Salicylic acid; Thermotolerance; Antioxidant system

收稿日期: 2004 - 09 - 20; 修回日期: 2004 - 12 - 13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30070531; 30270918)

\*通讯作者 Author for correspondence (E-mail: huanggd@263.net)

$\text{Ca}^{2+}$ 作为生长发育的第二信使已得到广泛认可<sup>[1]</sup>,在钙信使参与植物对逆境的应答反应方面也有诸多报道。Gong等<sup>[2]</sup>研究报告,用外源 $\text{Ca}^{2+}$ 处理玉米苗,可提高其抗热性,而用 $\text{Mg}^{2+}$ 则不能。进一步研究表明,玉米苗抗热性的提高要求胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 穿过质膜进入胞内<sup>[3]</sup>。Biyaseheva等<sup>[4]</sup>用荧光染料的方法研究表明,热激使豌豆叶原生质体胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度增加4倍;Gong等<sup>[5]</sup>用能表达水母发光蛋白的转基因烟草为材料研究发现,热激时胞质中 $\text{Ca}^{2+}$ 水平短暂而迅速地升高。热激使植物胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度升高的同时,也使胞质中钙调素(Calmodulin, CaM)的水平升高<sup>[3]</sup>。Trofimova等<sup>[6]</sup>在甜菜上观察到 $\text{Ca}^{2+}$ 预处理可促进热激蛋白的合成。这些直接或间接的证据表明, $\text{Ca}^{2+}$ 和CaM可能是热激信号转导途径中的主要组分。

水杨酸(Salicylic acid, SA)是植物抗病反应中的重要信号分子。Raz等<sup>[7]</sup>报告,在CaM缺失的烟草叶片中,SA诱导几丁质酶的形成需外源 $\text{Ca}^{2+}$ 的加入;对烟草悬浮细胞外施SA,立即诱导 $\text{O}_2^-$ 的迅速产生,并伴随着胞质 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的短暂升高<sup>[8]</sup>。这些结果说明,SA对抗病信号的传导可能通过钙信使系统。Lopez-Delgado等<sup>[9]</sup>报告了SA能提高马铃薯组织的耐热性。此后,相继对芥子苗<sup>[10]</sup>、烟草<sup>[11]</sup>、番茄<sup>[12]</sup>和葡萄<sup>[13,14]</sup>等植物的研究也表明,SA可诱导这些植物产生耐热性,并且在高温下植物叶片中的SA含量升高。

上述研究揭示了 $\text{Ca}^{2+}$ 、SA以及植物耐热性三者之间可能具有密切的关系,但目前并没有直接的证据表明 $\text{Ca}^{2+}$ 与SA诱导的耐热性有关。作者以葡萄幼苗为试材,研究 $\text{Ca}^{2+}$ 和CaM是否参与了SA诱导的耐热性,以及它们与植物抗氧化系统之间的关系。

## 1 材料与方法

供试材料为‘京秀’葡萄(*Vitis vinifera* L. ‘Jingxiu’),于2002年1月上旬将无性繁殖的穴盘小苗移栽于塑料钵,盆栽用土为园土:草炭:蛭石=1:1:1。缓苗后培养1个营养枝。温室昼夜温度为25~27/18~20,相对湿度为40%~50%,常规管理。

2002年3月初,选择具有6片功能叶、生长一致的葡萄植株,在试验前1d依次用自来水和蒸馏水冲洗,以确保苗体清洁。先用毛笔分别涂抹 $\text{CaCl}_2$  15 mmol·L<sup>-1</sup>、EGTA 5 mmol·L<sup>-1</sup>、 $\text{LaCl}_3$  4 mmol·L<sup>-1</sup>、W7 0.5 mmol·L<sup>-1</sup>和蒸馏水(各加入1%的Tween-20);4h后所有上述处理植株均喷施SA 100 μmol·L<sup>-1</sup>(用KOH调pH 7.0)至叶片湿润为止。6h后将幼苗移至光照培养箱中进行45的热激处理3h,光照强度为200 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>,相对湿度为50%~60%。以全部前处理均喷施蒸馏水的幼苗为对照。单株处理,3次重复。处理完毕,一部分叶片立即测定电解质渗出率<sup>[15]</sup>,其它叶片在液氮中速冻,然后在-40的冰箱中保存,用于测定超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)的活性<sup>[16]</sup>。取叶片1g置于预冷的研钵中,加入2 mL 0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸缓冲液(pH 7.8),在冰浴中研磨成匀浆,加缓冲液使终体积为10 mL,于4℃下10 000 g离心15 min,上清液即为SOD粗提液,然后采用氮蓝四唑光化还原法测定SOD活性<sup>[16]</sup>。过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性<sup>[17]</sup>、过氧化物酶(Peroxidase, POD)和抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, APX)活性<sup>[18]</sup>;丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量<sup>[19]</sup>、脯氨酸(Proline, Pro)含量<sup>[15]</sup>和CaM含量<sup>[18]</sup>(CaM及抗血清由河北师范大学生命科学学院提供)。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\text{Ca}^{2+}$ 对SA诱导葡萄幼苗耐热性的影响

从图1看出,喷施外源SA的葡萄幼苗在热激后叶片的相对电解质外渗率显著低于对照,这说明外源SA可提高葡萄幼苗的耐热性。当采用SA和 $\text{Ca}^{2+}$ 同时处理时,热激后叶片的相对电解质外渗率进一步降低,说明 $\text{Ca}^{2+}$ 可促进外源SA对幼苗耐热性的诱导。当用SA和EGTA( $\text{Ca}^{2+}$ 螯合剂)同时处理幼苗时,在热激后叶片相对电解质外渗率与对照无明显差异。可见,EGTA抑制了SA对耐热性

的诱导。而 SA 加  $\text{La}^{3+}$  ( $\text{Ca}^{2+}$ 通道抑制剂) 处理幼苗, 可抑制细胞外的  $\text{Ca}^{2+}$  穿过质膜<sup>[20]</sup>, 结果叶片的相对电解质外渗率显著高于 SA 单独处理, 同样降低了 SA 诱导的耐热性。另外, CaM 抑制剂 W7 也抑制了 SA 诱导的耐热性, 表现为叶片的相对电解质外渗率在高温下升高。以上结果表明, 外源  $\text{Ca}^{2+}$  可促进 SA 诱导的耐热性, 而 EGTA,  $\text{La}^{3+}$  和 W7 则抑制 SA 对葡萄幼苗耐热性的诱导。

## 2.2 SA 诱导的耐热性与抗氧化系统之间的关系

植物体内的抗氧化系统包括抗氧化剂和抗氧化酶类, 如 SOD、CAT、POD、APX 和 GR 等抗氧化酶。这些抗氧化酶在植物适应各种逆境反应中具有重要的作用。本试验在热激之前用 SA 单独处理幼苗, 叶片中的 SOD 和 CAT 活性均显著提高, 而 POD 和 APX 活性无明显变化; 用 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理, SOD 和 CAT 活性的升高幅度高于 SA 单独处理, 而 POD 和 APX 活性仍无明显变化; SA 加抑制剂 EGTA、 $\text{La}^{3+}$  或 W7 同时处理, 则 SOD、CAT、POD 和 APX 的活性与对照均无明显差异 (图 2)。

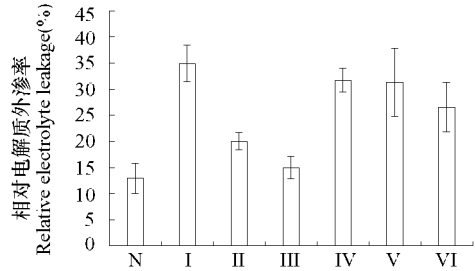


图 1 热激对各种处理葡萄幼苗叶片内相对电解质外渗率的影响

Fig 1 Effect of heat shock on the relative electrolyte leakage of leaves in young grape seedlings

N: 正常植株 Normal plants without any treatment; :  $\text{H}_2\text{O}$  (对照, Control); : SA +  $\text{H}_2\text{O}$ ; : SA +  $\text{Ca}^{2+}$ ; : SA + EGTA; : SA +  $\text{La}^{3+}$ ; : SA + W7. 下同。The same below.

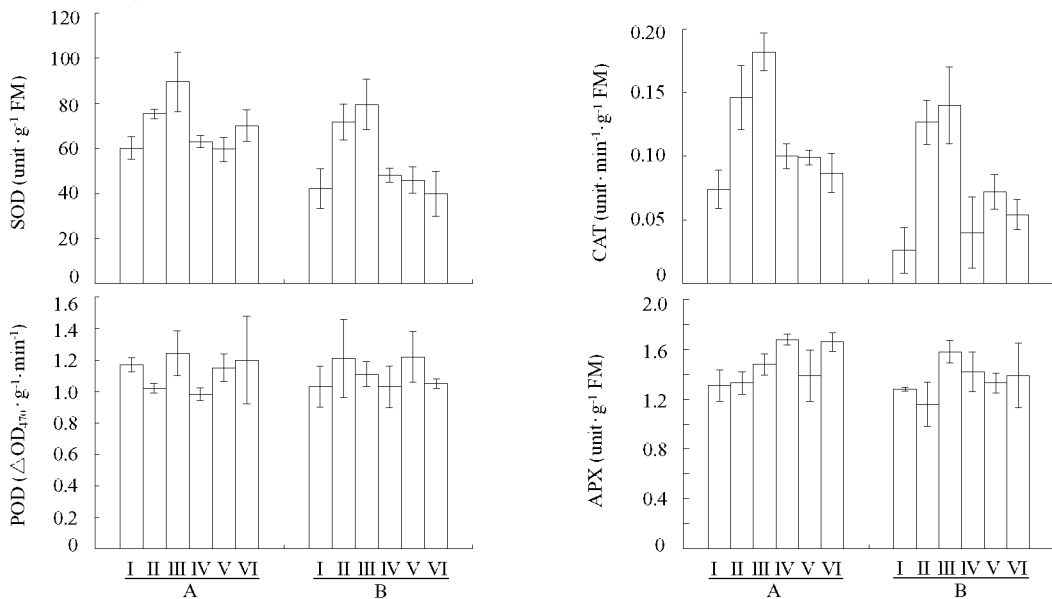


图 2 热激前 (A) 后 (B) 各处理对葡萄幼苗叶片内 SOD、CAT、POD 和 APX 活性的影响

Fig 2 Effect of SA,  $\text{Ca}^{2+}$ , EGTA,  $\text{La}^{3+}$  and W7 pretreatment on the activities of SOD, CAT, POD or APX in the leaves of young grape seedlings before (A) and after (B) heat shock

在热激之后, 对照和各种处理的 SOD 与 CAT 活性均降低, 但降低的幅度明显不同。对照, SA, SA 加  $\text{Ca}^{2+}$ , SA 加 EGTA、 $\text{LaCl}_3$  和 W7 处理的 SOD 活性分别降低了 30%、4.7%、11.2%、23.8%、23.1% 和 43.9%; 而各处理 CAT 活性分别降低了 64.9%、13.2%、23.1%、60%、27.3% 和 37.7% (图 2)。可见, SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理可维持热激下叶片的 SOD 和 CAT 活性。热激后 SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理叶片内的 SOD 和 CAT 活性仍显著高于对照和 SA 加 3 种抑制剂的处理; 而 POD 和 APX 的活性在热激前后无明显的变化, 各处理之间也无明显差异 (图 2)。

从图 3 可以看出, 在正常条件下, 各处理幼苗叶片内的 MDA 含量无明显差异。在热激后, 它们

的 MDA 含量均显著升高。具体表现是：对照升高最多，SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理的 MDA 含量稍低于 SA 加 EGTA、 $\text{La}^{3+}$ 、W7 三种抑制剂的处理，但差异并不明显。

### 2.3 SA 加 $\text{Ca}^{2+}$ 或抑制剂处理对叶片内 Pro 含量的影响

从图 4 可以看出，SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理的幼苗叶片 Pro 含量比对照高 40%，而添加 EGTA、 $\text{La}^{3+}$  或 W7 后，这种促进效应消失。热激处理促进各处理叶片的 Pro 含量升高，而 SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理 Pro 含量仍然为对照的 1.34 和 1.39 倍，SA 加各抑制剂处理的 Pro 含量也明显高于对照。

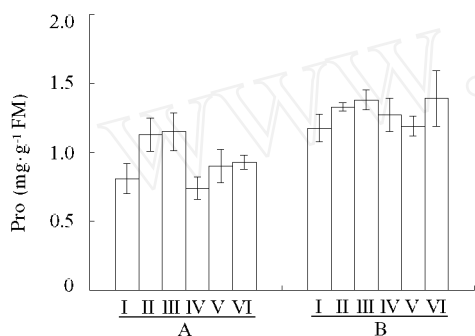


图 4 高温热激前 (A) 后 (B) 各处理对葡萄幼苗叶片内脯氨酸含量的影响

Fig. 4 Effect of SA,  $\text{Ca}^{2+}$ , EGTA,  $\text{La}^{3+}$  and W7 pretreatment on the level of proline in the leaves of young grape seedlings before (A) and after (B) heat shock

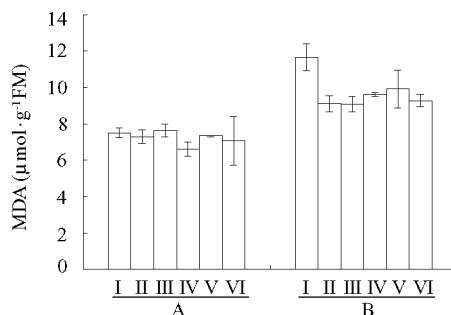


图 3 热激前 (A) 后 (B) 各处理对葡萄幼苗叶片内 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effect of SA,  $\text{Ca}^{2+}$ , EGTA,  $\text{La}^{3+}$  and W7 pretreatment on the level of MDA in the leaves of young grape seedlings before (A) and after (B) heat shock

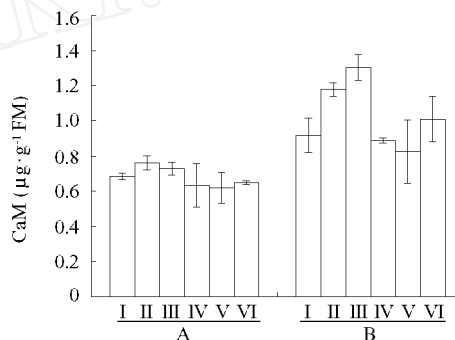


图 5 高温热激前 (A) 后 (B) 各处理对葡萄幼苗叶片内 CaM 含量的影响

Fig. 5 Effect of SA,  $\text{Ca}^{2+}$ , EGTA,  $\text{La}^{3+}$  and W7 pretreatment on the level of CaM in the leaves of young grape seedlings before (A) and after (B) heat shock

### 2.4 SA、SA 加 $\text{Ca}^{2+}$ 或抑制剂处理对叶片内 CaM 含量的影响

图 5 表明，SA、SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  或 SA 加抑制剂处理并不影响葡萄幼苗叶片 CaM 含量，但是热激后对照和各处理叶片内的 CaM 含量均明显升高，其中对照、SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理依次升高了 34.2%、54.7% 和 78.7%，而 SA 加抑制剂 EGTA、 $\text{LaCl}_3$  或 W7 分别升高了 40.3%、33.2% 和 32.3%。可见，在热激下 SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理促进了叶片内 CaM 积累，而 EGTA、 $\text{La}^{3+}$  或 W7 处理抑制了 CaM 含量增加。

## 3 讨论

外源 SA 信号到植株耐热性提高的生理效应之间应存在一个级联系统，各个级联环节只有互相紧扣，共同完成原始信号的放大，才可以表现为生理效应。本试验初步证实 SA 诱导的耐热性反应中有 Ca-CaM 系统的参与。采用增加外源  $\text{Ca}^{2+}$  浓度，或用 EGTA 螯合，或用  $\text{La}^{3+}$  阻止胞外的  $\text{Ca}^{2+}$  进入胞内，均影响 SA 诱导的耐热性 (图 1)，说明 SA 诱导的耐热性依赖于  $\text{Ca}^{2+}$ ，而且要求胞外的  $\text{Ca}^{2+}$  穿过质膜进入胞内。这与 Gong 等<sup>[2]</sup>对热激诱导玉米苗耐热性的研究结果相同。当用 CaM 拮抗剂 W7 前处理，也抑制 SA 对葡萄幼苗耐热性的提高 (图 1)，并且 SA 或 SA 加  $\text{Ca}^{2+}$  处理可促进高温下叶片内 CaM 的积累 (图 5)，说明 SA 诱导葡萄幼苗的耐热性也受到 CaM 调控，CaM 的积累可能是植物遭受环境胁迫的一个普遍反应。在 ABA 诱导玉米苗耐热性的研究中，虽然 EGTA 或  $\text{La}^{3+}$  影响了 ABA 诱导

的耐热性, 但 CaM拮抗剂 W7或 CPZ对 ABA诱导的耐热性并没有影响<sup>[21]</sup>。可见, 在不同植物耐热性诱导过程中, 虽然 SA、热激和 ABA的处理效应均会受到  $\text{Ca}^{2+}$  的调控, 但可能通过不同的  $\text{Ca}^{2+}$  结合蛋白来诱导耐热性。有研究证实, 在植物对逆境的响应中存在不同于 CaM的  $\text{Ca}^{2+}$  结合蛋白<sup>[22]</sup>。

多种逆境都对植物产生氧化胁迫, 增强植物的抗氧化能力 (如抗氧化酶活性提高), 可提高植物的抗逆性。有关 SA诱导的耐热性与抗氧化酶关系, 目前已有大量的报告。许多研究结果都表明, 外源 SA可提高植物体内 SOD活性<sup>[23~25]</sup>, 但 SA对 CAT活性的影响尚有争议。Dat等<sup>[12]</sup>报告, 外源 SA培养烟草植株, 降低了 CAT活性。这一结果在拟南芥<sup>[23]</sup>、马铃薯微植体<sup>[9]</sup>和葡萄<sup>[13]</sup>中得到了证实。但 Rao等<sup>[23]</sup>和李兆亮等<sup>[24]</sup>研究认为, SA对 CAT活性无显著抑制作用; 而何亚丽等<sup>[25]</sup>研究表明,  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 SA有提高高羊茅幼苗 CAT活性的作用。目前有试验证明外源 SA可提高植物体内的 POD活性以增强抗热性<sup>[13, 24]</sup>, 但有些研究认为 POD活性的变化可能与耐热性的提高无关<sup>[25]</sup>。有些研究认为 SA对 APX活性没有影响<sup>[11]</sup>, 而 Rao等<sup>[23]</sup>报告, SA处理的拟南芥叶片 APX活性下降。在本试验中, 外源 SA处理提高葡萄叶片内 SOD和 CAT活性, 但对 POD和 APX活性并没有显著影响。在随后的热激下, SOD和 CAT活性有所下降, 但仍高于对照, 而热激对 POD和 APX活性没有明显影响。可见, SA通过提高葡萄叶片 SOD和 CAT活性 (图 2) 以及降低 MDA含量 (图 3), 而非提高 POD和 APX活性, 来抵抗高温造成的氧化胁迫的损害。从上述研究结果可以得出, 不同浓度的 SA在不同植物上, 对不同的抗氧化酶会产生不同的影响。

另外, 有研究表明植物氧化胁迫的产生以及抗氧化系统与  $\text{Ca}^{2+}$  和 CaM有关。Qiu等<sup>[26]</sup>报告,  $\text{Ca}^{2+}$  和 CaM可促进分离纯化的小麦根质膜产生超氧离子,  $\text{Ca}^{2+}$  预处理也可提高玉米幼苗内 SOD和 APX的活性<sup>[3]</sup>。Gong等<sup>[27]</sup>的研究表明, SOD是一种依赖 CaM的酶, CaM可激活此酶。在本试验中, 用  $\text{Ca}^{2+}$  预处理则促进 SA诱导的葡萄幼苗 SOD和 CAT的活性的提高, 并且在随后的热激下维持了较高的 SOD和 CAT水平 (图 2)。而用 EGTA、 $\text{La}^{3+}$  或 W7预处理则抑制 SA对 SOD和 CAT活性的诱导, 降低了高温下 SOD和 CAT的活性。可见, 在葡萄幼苗上,  $\text{Ca}^{2+}$  可能通过激活 SOD和 CAT活性来调控 SA诱导的耐热性。

De等<sup>[28]</sup>报告, 番茄幼苗及其悬浮细胞经短期的热激和低温处理后, Pro含量增加, 并且外源  $\text{Ca}^{2+}$  可增加 Pro含量, 而外源 EGTA或  $\text{La}^{3+}$  处理的 Pro含量降低。在本试验中, 在高温处理前, SA或 SA加  $\text{Ca}^{2+}$  处理提高了葡萄叶片中的 Pro含量, 但是在热激后各处理的 Pro含量均显著提高, 并没有受到 EGTA、 $\text{La}^{3+}$  或 W7的抑制 (图 4)。分析这一结果, 可能的原因是 SA促进 Pro的积累作用与抑制剂的抑制相互抵消, 或者在热激反应中存在其它的信使系统激活了与 Pro合成有关的酶, 从而促进了 Pro的合成, 这尚需进一步的研究。

## 参考文献:

- 1 Bush D S Calcium regulation in plant cell and its role in signaling Annul Review Plant Physiology and PlantMolecularBiology, 1995, 46: 122 ~ 137
- 2 Gong M, Li Y J, Dai X, Tian M, Li Z G Involvement of calcium and calmodulin in the acquired of heat shock induced the motolerance in maize seedings Plant Physiology, 1997, 150: 615 ~ 621
- 3 Gong M, Chen S N, Song Y Q, Li Z G Effect of calcium and calmodulin on intrinsic heat tolerance to antioxidant systems in maize seedings Australia Journal of Plant Physiology, 1997, 24 (3): 371 ~ 379
- 4 Biyaseheva A E, Molotkovskii Y G, Mamonov L K Increase of free  $\text{Ca}^{2+}$  in the cytosol of plant protoplasts in response to heat stress as related to  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis Russia Journal of Plant Physiology, 1993, 40: 540 ~ 544
- 5 Gong M, Luit A H, Knight M R, Trewas A J Heat-shock-induced changes in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  level in tobacco seedlings in relation to the motolerance Plant Physiology, 1998, 116: 429 ~ 437
- 6 Trofimova M S, Andreev I M, Kuznetsov V V Calcium is involved in regulation of the synthesis of HSPs in suspension-cultured sugar beet cells under hyperthermia Physiologia Plantarum, 1999, 105: 67 ~ 73
- 7 Raz V, Fluhr R Calcium requirement for ethylene-dependent responses Plant Cell, 1992, 4: 1123 ~ 1130

- 8 Kawano T, Nobuya S, Takahashi S, Uozumi N, Muto S. Salicylic acid induces extracellular superoxide generation followed by an increase in cytosolic calcium ion in tobacco suspension culture: the earliest events in salicylic acid signal transduction. *Plant Cell Physiology*, 1999, 39 (7): 721 ~ 730
- 9 Lopez-Delgado H, Dat J F, Foyer C H, Scott I M. Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and  $H_2O_2$ . *Journal of Experimental Botany*, 1998, 49 (321): 713 ~ 720
- 10 Dat J F, Lopez-Delgado H, Foyer C H, Scott I M. Change in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard plants. *Plant Physiology*, 1998, 118: 1455 ~ 1461
- 11 Dat J F, Lopez-Delgado H, Foyer C H, Scott I M. Effects of salicylic acid on oxidative stress and thermotolerance in tobacco. *Journal of Plant Physiology*, 2000, 156: 659 ~ 665
- 12 Senaratna T, Touchell D, Bunn E, Dixon K. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*, 2000, 30: 157 ~ 161
- 13 王利军, 黄卫东, 战吉成. 葡萄幼苗高温锻炼过程中与水杨酸相关的信号传递的初步研究. *植物学通报*, 2002, 19 (6): 710 ~ 715  
Wang L J, Huang W D, Zhan J C. Preliminary study on signal transduction related with SA during heat acclimation to young grape plants. *Chinese Bulletin of Botany*, 2002, 19 (6): 710 ~ 715 (in Chinese)
- 14 刘悦萍, 黄卫东, 王利军. 葡萄叶片饲喂的  $^{14}C$ -水杨酸对高温胁迫的应激反应. *中国农业科学*, 2003, 36 (6): 685 ~ 690  
Liu Y P, Huang W D, Wang L J. Response of  $^{14}C$ -salicylic acid to heat stress after being fed to leaves of grape plants. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36 (6): 685 ~ 690 (in Chinese)
- 15 张宪政. 作物生理研究法. 北京: 农业出版社, 1992. 195 ~ 197  
Zhang X Z. The way of crop physiological study. Beijing: Agricultural Press, 1992. 195 ~ 197 (in Chinese)
- 16 Ginnopolits C N, Ries S K. Superoxide dismutases. I Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 1977, 59: 309 ~ 314
- 17 El Moshaty F I B, Pike S M, Novacky A J. Lipid peroxidation and superoxide production in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco ringspot virus or southern bean mosaic virus. *Journal of Physiology and Molecular Plant Pathology*, 1993, 43: 109 ~ 119
- 18 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 2002. 316, 251  
Experiment guidebook of modern plant physiology. Beijing: Scientific Press, 2002. 316, 251 (in Chinese)
- 19 赵世杰, 许长成, 邹琦, 孟庆伟. 植物组织中丙二醛测定方法的改进. *植物生理学通讯*, 1994, 30 (3): 207 ~ 210  
Zhao S J, Xu Z C, Zhou Q, Men Q W. Improvement of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues. *Plant Physiology Communications*, 1994, 30 (3): 207 ~ 210 (in Chinese)
- 20 Pineros M, Tester M. Calcium channels in higher plant cells: selectivity regulation and pharmacology. *Journal of Experimental Botany*, 1997, 48: 551 ~ 577
- 21 Gong M, Li Y J, Chen S Z. Abscisic acid-induced thermotolerance in maize seedlings is mediated by calcium and associated with antioxidant systems. *Journal of Plant Physiology*, 1998, 153 (4): 488 ~ 496
- 22 Braam J, Sistrunk M L, Polisensky D H, Xu M M, Pumuganan D M, Campbell P. Life in a changing world: TCH gene regulation of expression and response to environment signals. *Physiology Plant*, 1996, 98: 909 ~ 916
- 23 Rao M V, Paliyath G, Omirod P, Murr D P, Wathins C B. Influence of salicylic acid on  $H_2O_2$  production, oxidative stress, and  $H_2O_2$  metabolizing enzymes. *Plant Physiology*, 1997, 115: 137 ~ 149
- 24 李兆亮, 原永兵, 刘成连, 曹宗巽. 黄瓜细胞中水杨酸的信号传递研究. *植物学报*, 1998, 40 (5): 356 ~ 361  
Li Z L, Yuan Y B, Liu C L, Cao Z X. Regulation of antioxidant enzymes by salicylic acid in cucumber leaves. *Acta Botany Sinica*, 1998, 40 (4): 356 ~ 361 (in Chinese)
- 25 何亚丽, 刘友良, 陈权, 卞爱华. 水杨酸和热锻炼诱导的高羊茅幼苗的耐热性与抗氧化的关系. *植物生理与分子生物学报*, 2002, 28 (2): 89 ~ 95  
He Y L, Liu Y L, Chen Q, Bian A H. Thermotolerance related to antioxidation induced by salicylic acid and heat hardening in tall fescue seedlings. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2002, 28 (2): 89 ~ 95 (in Chinese)
- 26 Qiu Q S, Liang H G, Zheng H J, Chen P.  $Ca^{2+}$ -calmodulin-stimulated superoxide generation by purified plasma membrane from wheat roots. *Plant Science*, 1994, 101: 99 ~ 104
- 27 Gong M, Li G Z. Calmodulin-binding proteins from *Zea mays* germs. *Phytochemistry*, 1995, 40: 1335 ~ 1339
- 28 De B, Bhattacharjee S, Mukherjee A K. Short term heat shock and cold shock induced proline accumulation relation to calcium involvement in *Lycopersicon esculentum* (Mill) cultured cells and plant. *India Journal of Plant Physiology*, 1996, 14 (1): 32 ~ 35