

外源海藻糖对高温胁迫下肺形侧耳氧化损伤的缓解效应

刘秀明, 黄晨阳, 陈 强, 邬向丽, 张金霞*

(中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 农业部农业微生物资源收集与保藏重点实验室, 北京 100081)

摘 要: 高温胁迫影响食用菌的品质和产量, 由高温引起的氧化胁迫是导致损伤的主要原因。以肺形侧耳 (*Pleurotus pulmonarius*) 热敏感菌株 CCMSSC 00494 和耐热菌株 CCMSSC 00499 为试验材料, 研究了外源海藻糖对其菌丝体高温胁迫下氧化损伤的缓解效应。结果表明, 高温 (40 °C) 胁迫 48 h, 热敏感菌株中硫代巴比妥酸反应物 (TBARS) 含量 (代表氧化损伤程度) 高于耐热菌株。外源海藻糖处理可以显著降低高温胁迫下菌丝体内 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 含量、脂氧合酶 (LOX) 活性和 TBARS 含量水平, 缓解高温胁迫所引发的氧化损伤。另外, 外源海藻糖对超氧化物歧化酶 (SOD) 活性有保护和提高的作用, 对过氧化氢酶 (CAT) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性有抑制作用, 对过氧化物酶 (POD) 活性影响不明显。外源海藻糖对热敏感菌株的保护效应高于耐热菌株。

关键词: 肺形侧耳; 海藻糖; 高温胁迫; 耐热性; 抗氧化酶

中图分类号: S 646.1⁺43

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 08-1501-08

Alleviative Effects of Exogenous Trehalose on Oxidative Damage Metabolism in *Pleurotus pulmonarius* Under Heat Stress

LIU Xiu-ming, HUANG Chen-yang, CHEN Qiang, WU Xiang-li, and ZHANG Jin-xia*

(Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Microbial Resources Collection and Preservation, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China)

Abstract: Heat stress affects the quality and productivity of mushroom. Oxidative stress triggered by heat stress is the main reasons that lead to damage. We investigated the alleviative effects of exogenous trehalose on heat-induced oxidative stress in two *Pleurotus pulmonarius* strains, heat sensitive strain CCMSSC 00494 and heat tolerant strain CCMSSC 00499. The results showed that the TBARS level in heat sensitive strain was significantly higher than that in heat tolerant strain when heat stress (40 °C) lasted 48 h, and the tolerance of heat-induced oxidative damage of heat tolerant strain was better than heat sensitive strain. Exogenous trehalose could alleviate the oxidative damage induced by heat stress by reducing the generation rate of O_2^- and H_2O_2 and the activity of LOX and the content of TBARS. Additionally, exogenous trehalose had a positive effect on the activity of antioxidants SOD, and a negative effect on enzymatic antioxidants including CAT and APX, but had no effect on enzymatic antioxidants

收稿日期: 2013-05-03; 修回日期: 2013-06-18

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-24)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhangjinxia@caas.cn; Tel: 010-82108761)

POD under the heat stress. Besides, the effect of exogenous trehalose on heat sensitive strain was more obvious than that of heat tolerant strain.

Key words: *Pleurotus pulmonarius*; trehalose; heat stress; heat resistance; enzymetic antioxidants

在微生物中,海藻糖既可作为碳水化合物储备,也可以在多种胁迫情况下(如温度、渗透、干旱、营养缺乏、氧胁迫和有毒物质)稳定蛋白和膜的天然结构,尤其是在高温胁迫和干旱胁迫下,海藻糖作为应激保护性物质积累(Hottiger et al., 1987; Wiemken, 1990)。在水稻、小麦和拟南芥等植物的抗逆研究中,发现外源添加海藻糖可以提高植物的抗逆性(Fernandez et al., 2010)。Kong等(2012a)和Herdeiro等(2006)分别证实了通过外源海藻糖处理,可以显著缓解高温胁迫对白灵侧耳(*Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的氧化胁迫损伤。虽然已有大量的研究证实了逆境下海藻糖的保护性作用,但是海藻糖对逆境胁迫所引起氧化伤害的缓解作用研究尚有不足。

高温胁迫下,生物体内脂氧合酶(LOX)将催化导致细胞膜上的不饱和脂肪酸氧化为氢过氧化物和多种活性氧(ROS)产生速率增加(Thompson, 1988; Paliyath & Droillard, 1992),启动膜脂过氧化,引起氧化胁迫(Scandalios, 1993)。硫代巴比妥酸反应物(TBARS)含量通常用以衡量胁迫条件下质膜受氧化损伤的程度(Borsani et al., 2001; Saharan & Sharma, 2010)。生物体内的抗氧化酶,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX),在生物体抵抗氧化胁迫、清除ROS方面具有重要作用(Srivastava et al., 2005; Morsy et al., 2007)。在抗性不同的物种或品种中,氧化损伤程度的降低与抗氧化酶系统相关酶类表达量增加有关(Pinheiro et al., 1997)。提高生物体内抗氧化酶活性和增强抗氧化代谢水平是提高生物体抗逆性的有效途径(Mittler & Zilinskas, 1991, 1994)。

目前,中国食用菌生产仍以传统农业式栽培生产为主,易受到季节性天气变化的影响,持续高温将抑制菌丝阶段生长,影响子实体形成,导致减产、品质下降和病虫害发生等(Chang & Miles, 2004)。肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*)是中国的主栽品种之一,分布范围较广。本研究中探讨了外源海藻糖对肺形侧耳热敏感性菌株CCMSSC 00494和耐热性菌株CCMSSC 00499菌丝体高温胁迫下的抗氧化酶应激响应的影响,以及缓解氧化胁迫损伤的机理,为提高食用菌耐热性提供基础理论研究。

1 材料与方法

1.1 材料

肺形侧耳热敏感菌株CCMSSC 00494和耐热菌株CCMSSC 00499(本研究室通过出菇和致死温度试验证实分别为热敏感和耐热菌株,未发表),由中国国家食用菌标准菌株库提供(China Center for Mushroom Spawn Standards and Control, CCMSSC)。

1.2 方法

高温胁迫处理:在最适温度28℃下培养5 d的菌落边缘取1个接种块(直径5 mm),接种于已加铺玻璃纸的Difco™ Potato Dextrose Agar培养基平板(直径90 mm)中央,28℃培养3 d后分别置于40℃进行不同时间(0、6、12、24、36和48 h)的高温胁迫处理。另外,在Difco™ Potato Dextrose Agar培养基中添加不同浓度海藻糖(0、50、100、200 g·L⁻¹),以28℃培养时无外源海藻糖处理材

料作为对照, 进行上述高温胁迫处理 48 h。刮取各处理菌丝, 分别称重后分装入 1.5 mL 离心管中, 置于 -80°C 超低温冰箱保存, 进行 TBARS 含量的测定。

粗酶液制备: 取各处理菌丝, 液氮研磨成粉末。每 1 g 菌丝液氮研磨后, 加入 5 mL $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液 (pH 7.0)。经 $12\,000\text{ g}$ 低温 (4°C) 离心 15 min 后, 上清液即为粗酶液, 用于酶活性测定。

测定项目与方法: 硫代巴比妥酸反应物质 (TBARS) 含量的测定参照 Kong 等 (2012b) 的方法。超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 相对含量测定参照万继峰等 (2012) 的方法。过氧化氢 (H_2O_2) 含量测定参照 Velikova 等 (2000) 的方法。脂氧合酶 (LOX) 活力测定参照 Borthakur 等 (1987) 的方法。超氧化物歧化酶 (SOD) 活力测定采用氮蓝四唑 (NBT) 法 (Beauchamp & Fridovich, 1971)。过氧化氢酶 (CAT) 活力测定参照 Aebi (1984) 的方法。过氧化物酶 (POD) 活力测定参照 Velikova 等 (2000) 的方法。抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活力测定参照 Nakano 和 Asada (1980) 的方法。

统计分析: 用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析, 不同小写字母表示差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。试验重复 3 次, 每次 3 个重复。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫下不同耐热性菌丝体内 TBARS 含量的变化

未经高温处理, 热敏感菌株 CCMSSC 00494 与耐热菌株 CCMSSC 00499 的 TBARS 含量本底值间差异不显著。随着 40°C 高温胁迫处理时间的延长, 热敏感菌株的 TBARS 增加幅度明显大于耐热菌株。当胁迫处理 48 h 时膜脂过氧化加剧, 热敏感菌株的 TBARS 含量为其对照 (0 h) 的 3.41 倍, 而耐热菌株的只为其对照的 2.06 倍 (图 1)。表明在高温胁迫下, 耐热菌株与热敏感菌株相比有较强的抵御高温的氧化损伤能力。

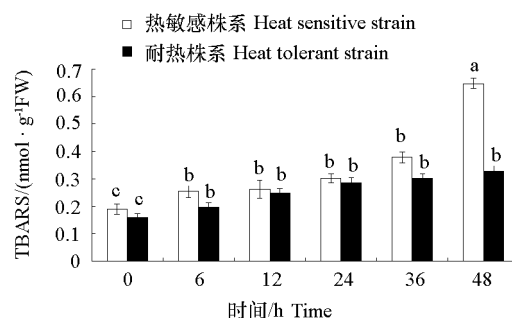


图 1 40°C 高温胁迫下肺形侧耳菌丝体内 TBARS 含量的变化

Fig. 1 Changes in the concentration of TBARS in mycelia of *Pleurotus pulmonarius* under heat stress

2.2 外源海藻糖对高温胁迫下不同热敏感性菌株菌丝体内膜脂过氧化和自由基含量的影响

图 2 显示, 未经高温胁迫, 耐热菌株 CCMSSC 00499 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率、 H_2O_2 含量、LOX 活性和 TBARS 含量与热敏感菌株 CCMSSC 00494 间无显著差异; 高温胁迫下, 均显著上升, 热敏感菌株的上升幅度大于耐热菌株, 说明高温胁迫处理诱导热敏感菌株产生更多的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 , 导致了其的氧化损伤程度高于耐热菌株。随着外源海藻糖浓度的升高, 两菌株菌丝体内膜脂过氧化和自由基含量均呈下降趋势。当外源添加 $50\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 海藻糖, 热敏感菌株中 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率、 H_2O_2 与 TBARS 含量和 LOX 活性

都显著降低,而耐热菌株中的降低未达到显著水平(除 H_2O_2 外);当外源添加 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖时,热敏感菌株和耐热菌株 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 含量、LOX 活性和 TBARS 含量水平都显著降低,且耐热菌株降至对照水平;当外源添加 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖时,热敏感菌株和耐热菌株的膜脂过氧化和自由基含量都降低至对照水平。该结果表明,外源海藻糖可以通过抑制 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量的增加,降低 LOX 活性和 TBARS 含量,以缓解肺形侧耳菌丝体由于高温胁迫所引起的氧化损伤。同等低浓度的外源海藻糖处理,对热敏感菌株的缓解氧化损伤作用程度高于耐热菌株。

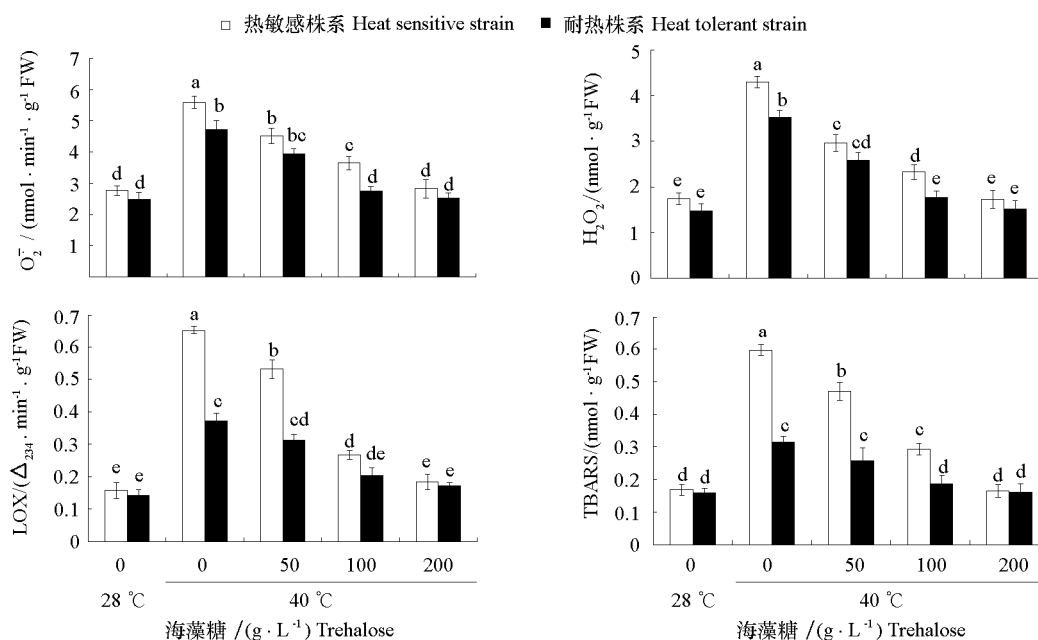


图 2 外源海藻糖对高温胁迫下抗热性的影响

Fig. 2 Effects of exogenous trehalose on heat resistant under heat stress

2.3 外源海藻糖对高温胁迫下菌丝体内抗氧化酶活力的影响

由图 3 可知,未经高温处理,热敏感菌株 CCMSSC 00494 与耐热菌株 CCMSSC 00499 的 SOD、CAT、POD 和 APX 活性本底值间差异不显著。无外源海藻糖高温胁迫处理,两菌株的 SOD、CAT、POD 和 APX 活性均显著增加。SOD 活性增加幅度最高(图 3, A),热敏感菌株和耐热菌株的 SOD 活性分别比各自对照增加了 191%和 212%。经外源海藻糖处理的菌丝体内 SOD 活性高于无外源海藻糖处理的 SOD 活性。当添加 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖时,对菌丝体内 SOD 活性的提高作用最大。 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下,尽管在添加 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖处理,耐热菌株的 SOD 活性仅提高了 10%,但是对于热敏感菌株的 SOD 活性却提高了 26%。虽然添加 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖对 SOD 活性的提高效果有一定程度的下降,但仍显著高于各自无海藻糖添加菌丝中的 SOD 活性。可见,外源海藻糖可提高高温胁迫下 SOD 活性。但是,过高浓度海藻糖对 SOD 活性的增加效应在热敏感性不同的菌株间存在差异,对热敏感菌株的影响更显著。

高温胁迫下,热敏感菌株 CCMSSC 00494 和耐热菌株 CCMSSC 00499 的 CAT 活性分别比对照提高了 136%和 170%(图 3, B)。外源海藻糖添加对 CAT 活性有抑制,海藻糖浓度越高对 CAT 活性的抑制作用越大。当添加浓度为 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖时,抑制 CAT 活性的作用最为明显,热敏感菌株和耐热菌株分别比各自未添加海藻糖高温处理降低了 37%和 34%。外源 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖处理对 CAT 活性的抑制效应相近。

高温胁迫下, 热敏感菌株 CCMSSC 00494 和耐热菌株 CCMSSC 00499 的 POD 活性分别比对照提高了 23% 和 27%, 两者 POD 活性增幅相近 (图 3, C)。3 种不同浓度海藻糖处理对高温胁迫下的 POD 活性变化无显著影响, 这与其对 SOD 活性 (图 3, A) 和 CAT 活性 (图 3, B) 的影响不同。可见, 外源海藻糖对高温胁迫下侧耳属菌丝体内不同保护酶活性的影响效果具有差异性。

高温胁迫处理对 APX 活性影响最小, 热敏感菌株 CCMSSC 00494 和耐热菌株 CCMSSC 00499 的 APX 活性与各自对照相比, 仅分别提高了 17% 和 20% (图 3, D)。外源海藻糖添加对 APX 活性有抑制作用, 当添加浓度为 $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖时, 抑制 APX 活性的作用最为明显, 热敏感菌株和耐热菌株的 APX 活性与各自未添加海藻糖时降低了 31% 和 24%。

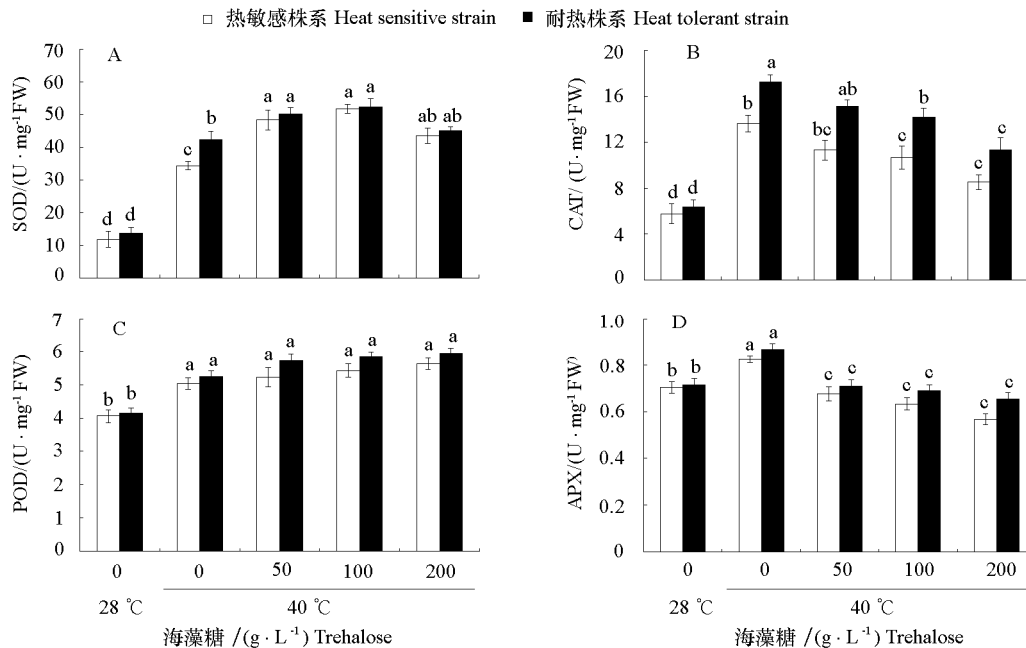


图 3 外源海藻糖对高温胁迫下抗氧化酶活性的影响

Fig. 3 Effect of exogenous trehalose on the levels of antioxidant enzyme activities under heat stress

由上述结果可知, 热敏感性不同的肺形侧耳菌株体内清除活性氧的主要酶类 (SOD、CAT、POD 和 APX) 的活性本底值 (对照) 无显著差异。高温胁迫激活 SOD、CAT、POD 和 APX 活性, 热敏感性不同菌株间酶活性增加幅度存在差异, 但耐热菌株保护酶活性高于热敏感菌株。不同浓度的外源海藻糖处理对各种保护酶活性的影响效应不同。对 CAT 活性和 APX 活性有抑制作用, 对 POD 活性的作用不显著, 对 SOD 活性有保护和提高的作用。菌丝体内清除 O_2^- 和 H_2O_2 抗氧化酶类的作用受抑制, 生成大量的 O_2^- 和 H_2O_2 可能是由海藻糖直接清除的 (图 2, A、B)。

3 讨论

自然界中生物经常会受到每日和季节变换带来的温度波动影响。在自然生长条件下, ROS 的产生与清除之间维持一个相对平衡的状态。然而, 在逆境胁迫条件下, 当 ROS 的产生超过了其自身保护系统的清除能力时, 会引发氧化胁迫 (Gong et al., 2001)。氧化胁迫是高温胁迫的一种形式, 同样会对生物的生长发育、产量及产品品质产生不良影响。而生物的生长发育、产量形成以及产品品质塑造与其体内的生理代谢密切相关。

不同抗性的生物在逆境胁迫下产生和清除 ROS 能力不同,膜脂损伤的程度自然也不同。本研究中,高温处理至 48 h,肺形侧耳热敏感菌株 CCMSSC 00494 的 TBARS 含量显著高于耐热菌株 CCMSSC 00499 (图 1)。这与李敏等 (2004) 对菠菜和张桂莲等 (2006) 对水稻的研究结果一致。表明,高温胁迫对热敏感菌株的氧化损伤较大。

本研究的结果表明,外源海藻糖处理可以显著降低肺形侧耳菌丝体内由高温胁迫引起的 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 与 TBARS 含量和 LOX 活性水平,海藻糖浓度越高抑制的效果越大 (图 2),由此可推测外源海藻糖可以缓解膜脂过氧化,而且不同浓度海藻糖对氧化损伤的缓解作用存在差异,这与前人的研究结果相一致。Bae 等 (2005) 曾报道海藻糖预处理可以通过抑制 LOX 基因表达,并进一步降低 LOX 的活性以缓解氧化伤害。用外源浓度 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 海藻糖处理高温胁迫下的小麦幼苗,可以达到对 ROS 最大的清除效果 (Luo et al., 2008)。用 10% 海藻糖处理可以提高 *S. cerevisiae* 对 H_2O_2 胁迫的抗性 (da Costa et al., 2008)。Fernandez 等 (2010) 也曾指出,转海藻糖基因植物和外源海藻糖添加处理都可以减少 ROS 的产生。但是也有不同的研究结果,Ma 等 (2013) 在对小麦愈伤组织的水分胁迫下抗氧化系统的研究中发现,外源海藻糖提高抗性但并不能清除 ROS,这可能是由于外源海藻糖的保护性作用主要体现在提高抗氧化酶活力等其它方面。另外,本研究中,高温胁迫下外源海藻糖处理,热敏感菌株 CCMSSC 00494 高温胁迫下的 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 与 TBARS 含量和 LOX 活性降幅大于耐热菌株 CCMSSC 00499。表明,外源海藻糖对高温胁迫下热敏感菌株的保护效应较高,这可能是由于海藻糖代谢在糖感知和同化物的分配利用中存在差异 (Müller et al., 1999)。

SOD 是植物体内清除活性氧系统的第一道防线,在抗氧化保护酶系统中处于核心地位,其主要功能是催化 O_2^- 发生歧化反应生成 O_2 和 H_2O_2 (Giannopolitis & Ries, 1977)。在植物组织中, SOD 是目前发现的唯一能把 O_2^- 还原成 H_2O_2 , 同时还能将 O_2^- 氧化为 O_2 的抗氧化酶 (Asada, 2000)。本研究中,无外源海藻糖处理的菌丝体经高温胁迫后, SOD 活性显著增加。可能由于高温胁迫后机体产生了大量的活性氧,诱发 SOD 活性增加 (Luo et al., 2008)。另外,外源添加海藻糖对 SOD 活性起到保护和提高的作用,对热敏感菌株 CCMSSC 00494 的 SOD 活性提高作用高于耐热菌株 CCMSSC 00499。该研究结果与水稻幼苗在高渗胁迫 (Nounjan & Theerakulpisut, 2012)、小麦幼苗在高温胁迫 (Luo et al., 2008), 以及小麦愈伤组织在水分胁迫 (Ma et al., 2013) 下的研究结果相一致。

CAT 和 POD 是植物体内重要的抗氧化酶,能有效地清除 SOD 催化歧化反应生成的 H_2O_2 , 但是 CAT 清除 H_2O_2 的效率非常低 (Asada, 1999)。本研究中,无外源海藻糖处理菌丝体经高温胁迫后, CAT 和 POD 活性均显著增加。该结果与尹慧等 (2007) 在百合短暂高温处理的研究结果相一致。可能是由于细胞膜受损伤后,产生了大量的 H_2O_2 和有机过氧化物,诱发 CAT 和 POD 的活性提高。另外,本研究中,外源海藻糖对肺形侧耳中 CAT 活性有抑制作用,对 POD 活性的影响作用不明显。前人也有着一致的研究结果,在外源海藻糖提高小麦耐热性的研究中 CAT 活性受海藻糖抑制 (Luo et al., 2008)。同样地,外源海藻糖提高小麦愈伤组织水分胁迫抗性的研究中也发现 CAT 和 POD 活性都受到海藻糖抑制 (Ma et al., 2013)。

APX 是抗坏血酸—谷胱甘肽 (AsA - GSH) 循环抗氧化系统中重要的抗氧化酶, APX 利用抗坏血酸 (AsA) 将 H_2O_2 还原成 H_2O , 从而清除 H_2O_2 的毒害作用 (Alscher et al., 1997)。本研究中,无外源海藻糖处理菌丝体经高温胁迫后, APX 活性显著增加。然而,外源海藻糖对 APX 有抑制作用,而且外源海藻糖浓度越高抑制作用越大,与对 CAT 的影响相同。同样, Luo 等 (2008) 在外源海藻糖提高小麦耐热性机理研究中也发现 APX 活性受海藻糖抑制。表明,外源海藻糖抑制了肺形侧耳在高温胁迫下的 AsA - GSH 循环效率。

本研究中,在高温胁迫下用同等浓度外源海藻糖处理时发现,对热敏感菌株菌丝体内的抗氧化酶类的影响大于其对耐热菌株的影响,这可能是由于在不良的环境条件下,不耐受型的菌株较敏感

造成的。外源海藻糖处理对 4 种抗氧化酶的作用效应不同(提高 SOD 活性,降低 CAT 和 APX 活性,对 POD 活性无影响),可能是由于海藻糖与这 4 种酶之间的相互作用不同,在水溶液中海藻糖分子聚集成束并向蛋白质移动,由于酶的结构不同,相互间的作用力不同,从而导致海藻糖向各种酶移动的趋势不同,并最终影响海藻糖对酶的作用效应(Lins et al., 2004; Ma et al., 2013)。尽管外源海藻糖抑制了部分抗氧化酶活性,但仍能通过海藻糖自身对 O_2^- 和 H_2O_2 的清除作用缓解氧化损伤(图 2),与 Luo 等(2008)研究结果一致。然而,海藻糖的保护作用具有浓度依赖性,过高浓度的海藻糖会严重抑制抗氧化酶活性。在植物的研究中发现,过高浓度的外源海藻糖会引起生长阻滞和根伸长受抑(Wingler et al., 2000),可能是与其干扰了碳代谢有关。可见,适当浓度水平的海藻糖处理可以提高生物体对逆境的抗性。

References

- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105: 121 - 126.
- Alscher R G, Donahue J L, Cramer C L. 1997. Reactive oxygen species and antioxidant: Relationships in green cells. *Physiol Plant*, 100: 224 - 233.
- Asada K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Biol.* 50: 601 - 639.
- Asada K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 355: 1419 - 1431.
- Bae H, Herman E, Bailey B, Bae H J, Sicher R. 2005. Exogenous trehalose alters *Arabidopsis* transcripts involved in cell wall modification, abiotic stress, nitrogen metabolism, and plant defense. *Physiol Plant*, 125: 114 - 126.
- Beauchamp C, Fridovich I. 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem.* 44: 276 - 287.
- Borsani O, Valpuesta V, Botella M A. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol.* 126: 1024 - 1030.
- Borthakur A B, Bhat B, Ramasoss C S. 1987. The positional specifications of the oxygenation of linoleic acid catalysed by two forms of lipoxygenase isolated from Bengal gram (*Cicer arietinum*). *J Biosci.* 11: 57 - 263.
- Chang S T, Miles P G. 2004. *Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. 2nd ed. New York: CRC Press.
- da Costa Morato Nery D, da Silva C, Mariani D, Fernandes P N, Pereira M D, Panek A D, Eleutherio E C A. 2008. The role of trehalose and its transporter in protection against reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta.* 1780: 1408 - 1411.
- Fernandez O, Bethencourt L, Quero A, Sangwan R S, Clement C. 2010. Trehalose and plant stress responses: Friend or foe? *Trends Plant Sci.* 15: 409 - 417.
- Giannopolitis C N, Ries S K. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59: 309 - 314.
- Gong M, Chen B, Li Z G, Guo L H. 2001. Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H_2O_2 . *J Plant Physiol.* 158: 1125 - 1130.
- Herdeiro R, Pereira M D, Panek A D, Eleutherio E C A. 2006. Trehalose protects *Saccharomyces cerevisiae* from lipid peroxidation during oxidative stress. *Biochim Biophys Acta.* 1760: 340 - 346.
- Hottiger T, Schmutz P, Wiemken A. 1987. Heat-induced accumulation and futile cycling of trehalose in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Bacteriol.* 169: 5518 - 5522.
- Kong W W, Huang C Y, Chen Q, Zou Y J, Zhao M R, Zhang J X. 2012a. Nitric oxide is involved in the regulation of trehalose accumulation under heat stress in *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*. *Biotechnol Lett.* 34: 1915 - 1919.
- Kong W W, Huang C Y, Chen Q, Zou Y J, Zhang J X. 2012b. Nitric oxide alleviates heat stress-induced oxidative in *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*. *Fungal Genet Biol.* 49: 15 - 20.
- Li Min, Wang Wei-hua, Wang Ran, Liu Run-jin. 2004. Influences of high temperature stress on activity of cell defense enzymes and membrane permeability in leaves of spinach. *Acta Horticulturae Sinica*, 31 (1): 99 - 100. (in Chinese)

- 李 敏, 王维华, 王 然, 刘润进. 2004. 高温胁迫对菠菜叶片保护酶活性和膜透性的影响. 园艺学报, 31 (1): 99 - 100.
- Lins R D, Pereira C S, Hünenberger P H. 2004. Trehalose-protein interaction in aqueous solution. *Proteins*, 55: 177 - 186.
- Luo Y, Li W M, Wang W. 2008. Trehalose- protector of antioxidant enzymes or reactive oxygen species scavenger under heat stress? *Environ Exp Bot*, 63: 378 - 384.
- Ma C, Wang Z Q, Kong B B, Lin T B. 2013. Exogenous trehalose differentially modulate antioxidant defense system in wheat callus during water deficit and subsequent recovery. *Plant Growth Regul*, 3: 1 - 6.
- Mittler R, Zilinskas B A. 1991. Purification and characterization of pea cytosolic ascorbate peroxidase. *Plant Physiol*, 97: 962 - 968.
- Mittler R, Zilinskas B A. 1994. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. *Plant J*, 5: 397 - 405.
- Morsy M R, Jouve L, Hausman J F, Hoffmann L. 2007. Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. *J Plant Physiol*, 164: 157 - 167.
- Müller J, Wiemken A, Aeschbacher R. 1999. Trehalose metabolism in sugar sensing and plant development. *Plant Sci*, 147 (1): 37 - 47.
- Nakano Y, Asada K. 1980. Spinach chloroplasts scavenge hydrogen peroxide on illumination. *Plant Cell Physiol*, 21: 1295 - 1307.
- Nounjan N, Theerakulpisut P. 2012. Effects of exogenous proline and trehalose on physiological responses in rice seedlings during salt-stress and after recovery. *Plant, Soil and Environment*, 58: 309 - 315.
- Paliyath G, Droillard M. 1992. The mechanism of membrane deterioration and disassembly during senescence. *Plant Physiol Biochem*, 30: 789 - 812.
- Pinhero R G, Rao M V, Paliyath G, Murr D P, Fletcher R A. 1997. Changes in activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings. *Plant Physiol*, 114: 695 - 704.
- Saharan R K, Sharma S C. 2010. Correlation studies of trehalose with oxidative stress in ethanol stressed yeast *Pachysolen tannophilus*. *Curr Res J Biol Sci*, 2: 300 - 305.
- Scandalios J G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol*, 101: 7 - 12.
- Srivastava M, Ma L Q, Singh N, Singh S. 2005. Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic. *J Exp Bot*, 56: 1335 - 1342.
- Thompson J E. 1988. The molecular basis of membrane deterioration during senescence. San Diego: Academic Press.
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci*, 151: 59 - 66.
- Wan Ji-feng, Li Juan, Chen Jie-zhong. 2012. Changes in antioxidant metabolism in the fruit pericarps of citrus during sunburn development. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (10): 2009 - 2014. (in Chinese)
- 万继峰, 李 娟, 陈杰忠. 2012. 柑橘日灼病果皮抗氧化代谢的变化. 园艺学报, 39 (10): 2009 - 2014.
- Wiemken A. 1990. Trehalose in yeast, stress protectant rather than reserve carbohydrate. *Antonie van Leeuwenhoek*, 58: 209 - 217.
- Wingler A, Fritzius T, Wiemken A, Boller T, Aeschbacher R A. 2000. Trehalose induces the ADP-glucose pyrophosphorylase gene, *ApL3*, and starch synthesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 124: 105 - 114.
- Yin Hui, Chen Qiu-ming, He Xiu-li, Yi Ming-fang. 2007. Effects of high temperature on the activities of antioxidant enzymes in lily plants. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (2): 509 - 512. (in Chinese)
- 尹 慧, 陈秋明, 何秀丽, 义鸣放. 2007. 短暂高温对百合植株抗氧化酶系统的影响. 园艺学报, 34 (2): 509 - 512.
- Zhang Gui-lian, Chen Li-yun, Zhang Shun-tang, Xiao Ying-hui, He Zhi-zhou, Lei Dong-yang. 2006. Effects of high temperature stress on protective enzyme activities and membrane permeability of flag leaf in rice. *Acta Agronomica Sinica*, 32 (9): 1306 - 1310. (in Chinese)
- 张桂莲, 陈立云, 张顺堂, 肖应辉, 贺治洲, 雷东阳. 2006. 高温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响. 作物学报, 32 (9): 1306 - 1310.