



## 不同海拔微孔草抗氧化系统的比较研究

包苏科<sup>1,2</sup>, 冉飞<sup>1,2</sup>, 李和平<sup>1,2</sup>, 韩发<sup>1\*</sup>, 李以康<sup>1</sup>

(1 中国科学院 西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2 中国科学院 研究生院, 北京 100049)

**摘要:** 对生长在 3 个不同海拔自然生境下微孔草 (*Microula sikkimensis*) 叶中的抗氧化系统进行了比较研究。结果表明, 生长在高海拔的微孔草叶中抗氧化酶类 SOD、POD 和 CAT 活性比生长在低海拔的活性高, 其中大通牛场的微孔草叶中 3 种酶活性最高; APX 的活性随海拔的升高而升高, 且低海拔地区西宁的 APX 活性极显著低于高海拔地区大通和海北站 ( $P < 0.01$ ); 作为非酶抗氧化系统物质之一的抗坏血酸 (ASA) 含量随海拔的升高而降低。高海拔地区微孔草叶中可溶性糖含量极高 ( $P < 0.01$ ); 可溶性蛋白含量随海拔升高呈 V 字形变化。光合色素 Chl a、Chl b 和 Car 的含量均随着海拔升高而增加, Chl a/b 比值随海拔升高而降低。MDA 的含量随海拔升高有增加的趋势, 西宁和大通的相比较, MDA 含量差异显著 ( $P < 0.05$ ), 说明微孔草叶细胞膜脂过氧化程度随海拔升高加剧。生长在不同海拔高度的微孔草对不同海拔高度环境变化具有相应的生理适应性和抗氧化策略。

**关键词:** 微孔草; 不同海拔; 抗氧化系统

**中图分类号:** Q945.79      **文献标识码:** A

### Comparison of Antioxidative System in *Microula sikkimensis* at Different Altitudes

BAO Su-ke<sup>1,2</sup>, RAN Fei<sup>1,2</sup>, LI He-ping<sup>1,2</sup>, HAN Fa<sup>1\*</sup>, LI Yi-kang<sup>1</sup>

(1 Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; 2 Graduate University of Chinese Academic of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** The comparative research of antioxidative system in the leaves of *Microula sikkimensis* growing at the different altitude outdoors was carried out. Our results revealed that the enzymes activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) at high altitude regions were higher than that of Xining region, and the activities of SOD, POD and CAT at Datong was the highest among the there regions. With the increase of altitude, the activity of ascorbate peroxidase (APX) also increased, and the activities of APX at Xining was significantly lower than that at Haibeizhan and Datong ( $P < 0.01$ ); As one of the most important antioxidative matters, ascorbic acid (AsA) decreased from Xining region to Haibeizhan region. Contrarily, the content of Chl a, Chl b and Car increased along the elevational gradient from 2 200 m to 3 200 m. Soluble sugar content was increased remarkably at higer altitude region ( $P < 0.01$ ). Malondialdehyde (MDA) increased along the elevational gradient and the content of MDA at Datong region was obviously higher than that at Xining region ( $P < 0.05$ ), which resulted in the membrane lipid peroxidation in the cell of *Microula sikkimensis* leaves. The figure of the soluble protein content in the cell of *Microula sikkimensis* leaves at Xining region, Datong region and Haibeizhan region showed a "V" shape in there re-

\* 收稿日期: 2008-02-27; 修改稿收到日期: 2008-08-17

基金项目: 国家科技攻关计划项目 (2005BA901A20) 资助

作者简介: 包苏科 (1983 - ), 男 (汉族), 在读硕士研究生, 主要从事植物生理生态学方面的研究. E-mail: skbao1983@163.com

\* 通讯作者: 韩发, 研究员. E-mail: hanfa@nwipb.ac.cn

gions. The results of our research indicated that the plant *Microula sikkimensis* grown at the three regions in Qinghai Plateau could accordingly apply the environment changes in different altitude and had some physiological adaptability and antioxidative and defensive strategy.

**Key words:** *Microula sikkimensis*; different altitudes; antioxidative system

微孔草 (*Microula sikkimensis*) 是生长在青藏高原及邻近高海拔地区特有的野生珍贵优质油料植物资源,系紫草科微孔草属两年生草本植物.其种子内含丰富的  $\gamma$ -亚麻酸 (GLA)、 $\alpha$ -亚麻酸 (ALA) 以及其它特有的有效成分,是国际上公认的功能性医疗保健产品的重要原料<sup>[1]</sup>.微孔草种子中含 18 种氨基酸,总量为 15.30%,其中人体必需氨基酸含量为 6.08%,占总量的 39.74%<sup>[2]</sup>.目前对微孔草的植物学特性,生物学特征都有比较详尽的研究<sup>[1,3]</sup>,然而对微孔草的生理学研究,特别是抗氧化系统方面的研究还未见报道.微孔草广泛分布于青藏高原及邻近地区 2 200~4 100 m 范围内,因此本研究以不同海拔微孔草为研究对象,旨在阐明不同海拔微孔草抗氧化系统特性及生理适应性.

## 1 材料和方法

### 1.1 样品采集地情况

微孔草 (*Microula sikkimensis*) 样品分别采集于西宁中国科学院西北高原生物研究所内实验地、青海大通县牛场和中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站(海北站).西宁地区海拔 2 200 m,年均温 5.8℃,年总辐射 612.5 MJ·m<sup>-2</sup>;大通县牛场地区海拔 2 950 m,年均温 5.6℃,年总辐射 586.2 MJ·m<sup>-2</sup>;海北站海拔 3 200 m,年均温 -1.7℃,年总辐射 650 MJ·m<sup>-2</sup>.

### 1.2 样品处理

2007 年 9 月初,分别在大通县牛场、中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站(海北站)、西宁 3 个地方采集盛花期的新鲜绿色叶片,用装冰的冰壶带回实验室用蒸馏水洗净,用滤纸擦干,剪成小片称重分装,放入 -20℃ 冰箱冰存储用.

### 1.3 方法

**1.3.1 叶绿素含量的测定** 参照李合生等方法<sup>[4]</sup>,称取 0.1 g 左右去叶脉的叶片,浸入 10 mL 80% 丙酮溶液中,密封避光浸至叶片变白时,UV-1601 紫外分光光度计(岛津)测定波长在 663、646、470 nm 处的吸光度值,按照下列公式计算:

$$\text{叶绿素 a (Chl a)} = (12.21A_{663} - 2.81A_{646}) \times V / 1\,000W$$

$$\text{叶绿素 b (Chl b)} = (20.13A_{646} - 5.03A_{663}) \times V / 1\,000W$$

$$\text{类胡萝卜素 (Car)} = (4.4A_{470} - 0.01 \times \text{Chl a} - 0.45 \times \text{Chl b}) \times V / 1\,000W$$

式中, A 为吸光值, V 为提取液总体积 (mL), W 为叶片鲜重 (g), 单位: mg/g FW.

**1.3.2 酶液提取** 称取的 0.5 g 微孔草叶片,置于研钵中,加入少量的石英沙和 62.5 mmol/L pH 7.8 (含 0.3% PVP),于冰浴中充分研磨成匀浆后,总体积 9 mL 于 15 000 r/min 离心 10 min.取上清液用于 SOD、POD、CAT、MDA 和可溶性蛋白含量的测定.

**1.3.3 超氧化物歧化酶 (SOD) 的测定** 参照 Giannopoulitis<sup>[5]</sup> 等方法,依据 SOD 抑制 NB T 在光下的还原作用来确定酶活性的大小.以抑制 NB T 光还原 50 作为一个酶单位 (U);酶活性以 U·mg<sup>-1</sup> 蛋白表示.

**1.3.4 过氧化物酶 (POD) 的测定** 参照 Orman<sup>[6]</sup> 方法,依据有 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 存在时,POD 能使愈创木酚氧化生成茶褐色物质,用比色法测定.以每分钟 A<sub>470</sub> 增加 0.01 为一个酶活单位 (U),酶活性以 U·mg<sup>-1</sup> 蛋白表示.

**1.3.5 过氧化氢酶 (CAT) 的测定** 参照 Chance 和 Maehly<sup>[7]</sup> 方法,测定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 减少时 A<sub>240</sub> 的变化,以每分钟酶转变 1 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 为一个酶活单位 (U),酶活性以 U·mg<sup>-1</sup> 蛋白表示.

**1.3.6 可溶性蛋白含量的测定** 参照张治安等方法<sup>[8]</sup>.以牛血清蛋白为标准制作标准曲线.吸取 1 mL 酶液,放入试管中,加入 5 mL 考马斯亮蓝试剂,摇匀,放置 2 min 后在 595 nm 下比色,测定吸光值.

**1.3.7 可溶性糖含量的测定** 按照张治安等蒽酮比色法<sup>[8]</sup>,以葡萄糖为标准制作标准曲线,测定波长在 A<sub>620</sub> 处的吸光值.单位 μg/g FW.

**1.3.8 丙二醛 (MDA) 含量的测定** 参照张治安等方法<sup>[8]</sup>.顺序取 1 mL 50 mM pH 7.0 PBS, 1 mL 酶液和 2 mL 10% TCA (含 0.5% TBA),混合振荡,于沸水中加热 15 min,迅速冷却并于 4℃ 下 5 000 r/min 离心 15 min,测定上清液在 530、600 和 450 nm 处的吸光值并计算 MDA 含量.单位

μmol/g FW.

**1.3.9 抗坏血酸(ASA)含量的测定** 参照李合生等方法<sup>[4]</sup>.称取 1.0 g 叶片,3 mL 2%草酸研磨成匀浆,并转移至 100 mL 容量瓶中,残渣用 1%草酸冲洗一并倒入容量瓶中,然后加入 1 mL 30%硫酸锌,摇动容量瓶,在加入 1 mL 15%亚铁氰化钾,以 1%草酸定容并过滤.取滤液 4 mL,依次加入 2 mL 2,6-二氯酚靛酚染液,5 mL 二甲苯,摇匀,测定 500 nm 处的吸光值.单位 mg/g FW.

**1.3.10 抗坏血酸过氧化物酶(APX)测定** 参照 Nakano 等<sup>[9]</sup>方法,测定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 减少 A<sub>290</sub>的变化,以每分钟酶转变 1 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 为一个酶活性单位(U),酶活性以 U·mg<sup>-1</sup>蛋白表示.

以上实验指标的测定均重复 3 次,实验数据采用 SPSS 13.0 作方差分析,Excel 2003 绘图.

## 2 结果和分析

### 2.1 不同海拔微孔草叶中 SOD、POD 和 CAT 活性差异

微孔草叶中的 SOD、POD、CAT 的活性都有随海拔的增高而变化趋势一致(图 1).其中大通牛场的微孔草叶中 SOD、POD 和 CAT 的活性最高.海北站和大通地区微孔草叶中的 SOD 活性比西宁的分别高 10.55%和 44.99%;且西宁和大通之间、大通和海北站之间变化明显(P<0.05),但西宁和海北站的差异不显著(P>0.05).高海拔地区海北站和大通的微孔草叶中 POD 活性分别比西宁高 2.84 倍和 2.89 倍,差异均显著(P<0.05).高海拔地区海北站和大通微孔草叶中 CAT 活性分别比西宁地区高 7.33%和 40.67%,经方差分析表明,西宁和大通之间、大通和海北站之间差异显著(P<0.05).高海拔地区的高寒胁迫如低温、强 UV-B 和低压等加剧时,植物体内的活性氧增加,当超过正常水平时,加速抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 的合成和非酶促物质含量的增加,阻止膜脂过氧化,解除活性氧对植物体的损伤.

### 2.2 不同海拔微孔草叶中抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性差异

微孔草叶片中抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性随海拔的升高而升高(图 2),高海拔地区海北站的微孔草叶片中 APX 的活性比低海拔地区大通和西宁分别高 12.29%和 104.04%,大通地区微孔草叶片中 APX 活性比西宁地区高 81.71%.经方差分析表明,西宁和大通,西宁和海北站的差异均极显著

(P<0.01),而大通和海北站两地区的 APX 活性差异不显著(P>0.05).

### 2.3 不同海拔微孔草叶中抗坏血酸(ASA)含量的差异

ASA 是重要的非酶促抗氧化物质<sup>[10]</sup>.如图 3 所示,在微孔草叶中,抗坏血酸含量随海拔的升高而降低.西宁地区微孔草叶中的 ASA 含量分别比大通和海北站地区的 ASA 含量高 7.56%和 11.04%,但三地之间差异均不显著(P>0.05).ASA 是抗氧化系统中最重要的非酶活性物质之一,在自由基的清除方面有重要的作用<sup>[11]</sup>.

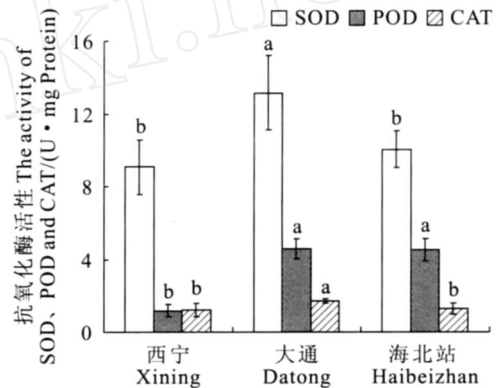


图 1 不同海拔微孔草叶中 SOD、POD 和 CAT 活性差异比较

西宁、大通和海北站的海拔分别为 2 200、2 950 和 3 200 m;不同大写字母表示不同海拔地区差异达 0.01 显著水平;不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平.下同

Fig. 1 Comparison of SOD,POD and CAT activities in *M. sikkimensis* at different elevational gradients

The elevational gradients of Xining, Datong and Haibeizhan are 2 200, 2 950 and 3 200 m, respectively; Different normal letters indicate significant difference within different elevation at 0.05 level, while the different capital letters at 0.01 level. The same below

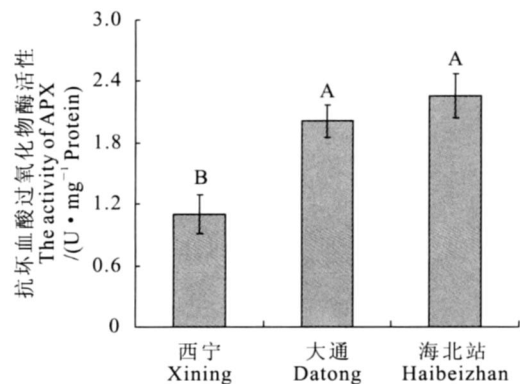


图 2 不同海拔微孔草叶中 APX 活性差异比较

Fig. 2 Comparison of APX activity in *M. sikkimensis* at different elevational gradients

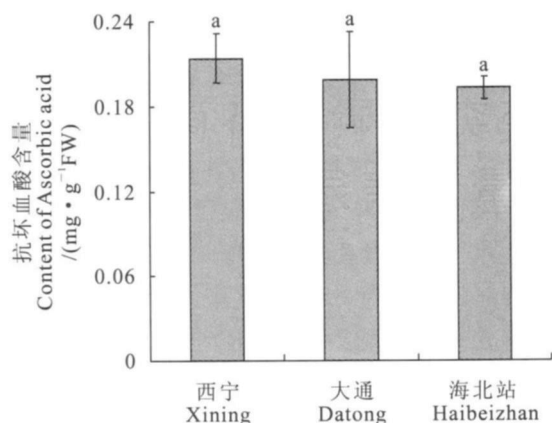


图3 不同海拔微孔草叶中抗坏血酸含量的比较

Fig. 3 Comparison of the ASA contents in *M. sikkimensis* at different elevational gradients

#### 2.4 不同海拔微孔草叶中可溶性糖含量的差异

如图4所示,海拔高度的变化对微孔草叶中的可溶性糖含量有一定影响,高海拔的海北站和大通微孔草叶细胞可溶性糖含量分别比低海拔的西宁可溶性糖含量高1.32倍和0.43倍,3个地区微孔草叶中可溶性糖含量差异均极显著( $P < 0.01$ ).可溶性糖含量的增加,能增加细胞的渗透势,对细胞起保护作用。

#### 2.5 不同海拔微孔草叶中可溶性蛋白含量的差异

低海拔地区西宁的微孔草叶中的可溶性蛋白比高海拔地区的可溶性蛋白含量较高(图5),分别比大通地区和海北站地区的含量高31.05%和3.86%,大通地区的可溶性蛋白含量最低。方差分析表明,相邻两地西宁和大通之间、大通和海北站的差异显著( $P < 0.05$ )。

#### 2.6 不同海拔微孔草叶中色素含量的差异

实验表明,叶绿素a的含量随海拔的增高而增

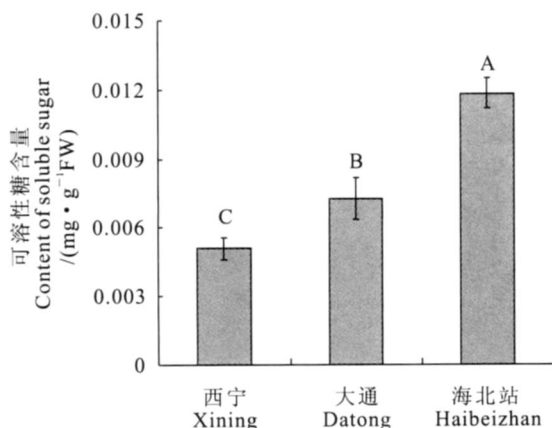


图4 不同海拔微孔草叶中可溶性糖含量的比较

Fig. 4 Comparison of the soluble sugar contents in *M. sikkimensis* at different elevational gradients

加(图6),海北站和大通牛场的叶绿素a含量分别比西宁的高17.49%和20.79%。叶绿素b的含量也随海拔的增高而增加(图6),海北站和大通的叶绿素b分别比西宁的高55.05%和42.32%,海北站的含量明显高于西宁( $P < 0.05$ )。结果表明微孔草叶片中的光合色素含量在2200到3200m间同海拔呈正相关关系,这可能是微孔草适应了高海拔地区的光辐照强度的结果。微孔草叶中的类胡萝卜素含量随海拔的增高有增高趋势(图6),在海北站和大通地区的类胡萝卜素分别比西宁地区高15.88%和9.56%。随海拔增加,类胡萝卜素(Cra)含量升高,这与卢存福<sup>[12]</sup>等对矮嵩草的研究结果相一致。3种色素相比,类胡萝卜素的含量最高,说明在高海拔地区,类胡萝卜素在微孔草叶片光合系统中起重要的作用。

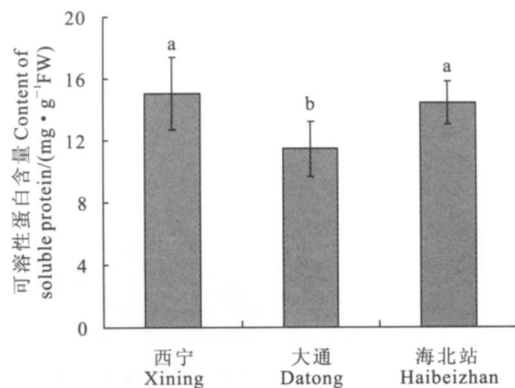


图5 不同海拔微孔草叶中可溶性蛋白含量的比较

Fig. 5 Comparison of the soluble protein contents in *M. sikkimensis* at different elevational gradients

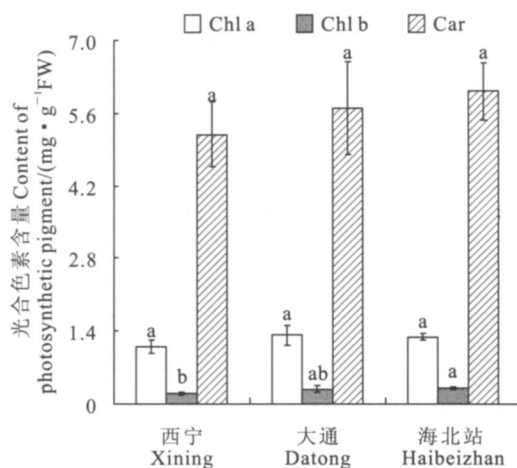


图6 不同海拔微孔草叶中光合色素含量  
Chl a、Chl b和Car的比较

Fig. 6 Comparison of the contents of Chl a, Chl b and Car in *M. sikkimensis* at different elevational gradients

## 2.7 不同海拔微孔草叶中丙二醛含量的差异

从图 7 可以看出,高海拔地区海北站和大通微孔草叶中 MDA 含量较西宁地区略高,分别高 16.95% 和 24.92%,其中大通地区的 MDA 含量最高.西宁地区和大通地区的 MDA 含量差异显著( $P < 0.05$ ).MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物,其含量反映膜脂氧化的程度<sup>[13]</sup>.高海拔地区的植物长期处于胁迫状态,在体内会积累较多的 MDA,细胞膜脂化加剧.

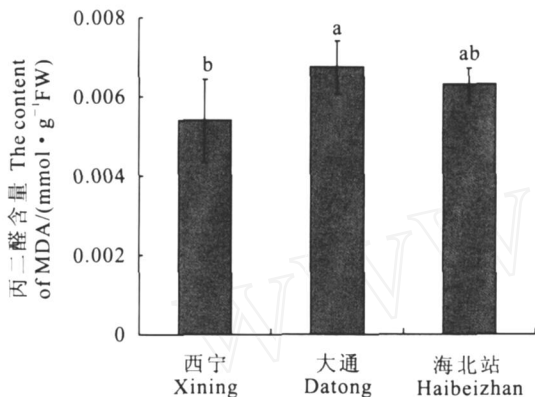


图 7 不同海拔微孔草叶中丙二醛含量的比较

Fig. 7 Comparison of the MDA content in *M. sikkimensis* at different elevational gradient

## 3 讨论

生长在青藏高原上的植物长期经受着干旱、低温、低氧、低压、高辐射、夜间霜冻、疾风<sup>[10,12,14,15]</sup>等一系列不利环境因素的影响,导致植物体内产生大量的氧自由基.水分胁迫下,植物体内会产生 $\cdot\text{OH}$ ,导致蛋白质的氧化损伤和膜脂的过氧化损伤<sup>[16,17]</sup>.低温可造成植物膜系统的破坏,陈少裕<sup>[18]</sup>的研究表明,低温胁迫下甘蔗叶片质膜透性,膜脂过氧化程度增加.青藏高原强 UV-B 辐照能导致活性氧的产生,加速膜脂过氧化<sup>[15]</sup>.正是由于植物体内存在着许多的抗氧化酶和抗氧化物质,才能保证植物在这样的逆境条件下能及时除去产生的氧自由基,保护植物细胞免受损伤.

植物体内的活性氧可以通过两种方法清除,一种是酶促抗氧化酶类,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等;另一种是非酶促抗氧化物质,包括类胡萝卜素、抗坏血酸、谷胱甘肽等<sup>[10]</sup>.抗氧化酶类在植物的生长发育过程中起着重要的作用<sup>[19]</sup>.研究结果表明<sup>[10]</sup>,随海拔的增高矮嵩草叶和根中的 POD 和 CAT 活性明显增强;汪晓峰<sup>[20]</sup>等对红景天叶的研究表明,SOD 和

POD 与海拔呈正相关关系.实验证明,一方面,高海拔海北站和大通地区的酶活性比低海拔西宁的酶活性较高,但在大通地区的抗氧化酶活性较高,这可能是当地生长的微孔草与当地生境相互作用的结果.另一方面,在各个不同海拔高度,微孔草叶中的抗氧化酶种类的含量也有很大的不同,含量差异为:SOD > POD > CAT.各种酶在植物体内的作用不同,微孔草叶中 SOD 活性最高,可以清除过多的超氧阴离子自由基,催化 2 个  $\text{O}_2^-$  发生歧化反应,生成  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2$ ,生成的  $\text{H}_2\text{O}_2$  虽然毒性较活性氧低,但是其可直接对细胞有毒害作用,还可与超氧阴离子自由基形成毒害作用更大的 $\cdot\text{OH}$ <sup>[19]</sup>.虽然  $\text{H}_2\text{O}_2$  可以跨膜扩散,其它部分产生的  $\text{H}_2\text{O}_2$  也可以扩散到过氧化物体中被 CAT 分解,且植物体不同组织中均存在 POD,也可以清除  $\text{H}_2\text{O}_2$ .因此 SOD 协同 CAT、POD 清除植物体内潜在的  $\text{O}_2^-$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,从而最大限度地减少了 $\cdot\text{OH}$  的形成,起到在逆境条件下保护植物的作用.

APX 广泛存在于植物叶绿体和胞质中,是清除  $\text{H}_2\text{O}_2$  抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环的关键酶<sup>[21]</sup>.在细胞叶绿体中为发现 CAT 的情况下,APX 对保护叶绿体避免受到  $\text{H}_2\text{O}_2$  的损伤起着重要的作用.APX 是利用抗坏血酸为电子供体的  $\text{H}_2\text{O}_2$  清除剂,APX 所催化的反应为: $2\text{AsA} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{MDA}$  (单脱氢抗坏血酸) +  $2\text{H}_2\text{O}$ <sup>[22]</sup>.AsA 是 APX 最有效的电子供体,APX 首先被 AsA 的缺失氧化成中间复合物,此复合物在氧化抗坏血酸双电子氧化物形成 2 个分子的单脱氢抗坏血酸.因此当 AsA 没有被复合物利用时,APX 失活<sup>[23]</sup>.

ASA 一方面可直接清除活性氧,维持维生素 E 的还原态而间接除去  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,同时还可以作为酶的底物在活性氧的清除过程中起作用,即是在叶绿体类囊体表面作为还原剂提供电子参与 APX 介导的  $\text{H}_2\text{O}_2$  的清除.试验表明,ASA 含量与海拔呈负相关关系.这可能是低海拔西宁地区微孔草对抗氧化酶类较低的一种生理适应性,是对抗氧化酶活性低的一种互补性适应,说明在微孔草叶中存在两种不同的抗氧化策略.

可溶性糖在植物抗生长发育过程中起着重要的作用,高浓度的可溶性糖可降低冰点,抑制细胞结冰时胞内水分流动,防止细胞因结冰引起机械伤害,预防蛋白质低温凝固<sup>[24]</sup>.而大量的研究表明<sup>[24,25]</sup>,可溶性糖含量与海拔成正相关性.黄治远等<sup>[26]</sup>的研究也证明,植物组织液中的渗透浓度越高,特别是水溶

性的糖含量越高,植物的耐冻性就越强,即是叶片可溶性糖含量的高低同植物的耐寒性成正比.这也说明在高海拔地区恶劣的环境中,可溶性糖含量随海拔的升高而升高也是微孔草植物适应环境的一种机制.

研究表明<sup>[25]</sup>,可溶性蛋白的含量高低与高山植物的抗寒性有密切相关.矮嵩草叶中可溶性蛋白含量随海拔的升高而升高<sup>[10,25]</sup>.刘淑云<sup>[27]</sup>等对玉米的研究表明,随海拔的增高,蛋白质含量增加.而微孔草叶中蛋白质含量随海拔升高有下降趋势,这可能是与采样时植株正值花期,推测叶中的部分蛋白质可能参与了果实的形成.

海拔对微孔草叶片色素含量有一定的影响,结果表明,微孔草叶中光合色素含量随海拔的增高而增高(图1),这可能是微孔草适应了高海拔地区的光辐照强度的结果<sup>[28]</sup>.生长在青藏高原上及毗邻地区的微孔草经常受到强UV-B,低温等不良因素的

影响,长期的胁迫环境中,细胞中积累了大量的氧自由基,如果不及时清除,将会导致细胞损伤甚至死亡.韩发<sup>[24]</sup>等的研究也表明,类胡萝卜素含量与海拔高度成正相关关系,认为这与高海拔植物吸收强烈的紫外线辐射,使高海拔植物减少或者避免高寒地区强辐射紫外线和低温等环境胁迫的损伤,从而保证植物的正常生长发育过程、光合作用和物质生产能力.Car在光合作用过程中主要起2个作用<sup>[29]</sup>:捕获光能传递给叶绿素a和光保护作用.研究结果也证明了随海拔的升高,起保护作用的Car含量也不断增加.

MDA是膜脂过氧化的最终产物,会严重损伤生物膜.MDA含量可作为细胞受自由基伤害的重要指标<sup>[10]</sup>.研究表明,随海拔的升高微孔草叶中MDA含量有增加趋势.细胞膜膜脂过氧化作用也加剧,这是处于不同海拔高度微孔草对环境变化的一种响应.

## 参考文献:

- [1] AN F(韩发),CHENG D ZH(程大志),SHI S B(师生波),RAN F(冉飞),LI Y K(李以康),BAO S K(包苏科),REN F(任飞),SHI L N(石丽娜),HAN Q(韩琦). The research process of a high quality wild resource ——*Microula sikkimensis* in China[J]. *Chinese Wild Plant Resources* (中国野生植物资源), 2007, 5(26): 5 - 9 (in Chinese).
- [2] FU H(付华),ZHOU ZH Y(周志宇),ZHANG H R(张洪荣),ZUO X J(左秀娟),LI X Y(李雪瑞). Study on the nutrient component on seeds of *Microula sikkimensis* [J]. *Pratacultural Science*, 1999, 2: 42 - 44.
- [3] ZHANG J CH(张健琛),WANG Y F(王元富). The resource research report of *Microula sikkimensis* in A Ba region[J]. *The Journal of Sichuan Grassland*, 1995, 1: 11 - 16.
- [4] 李合生,孙群,赵世杰,章文华. 植物生理生化实验技术原理[C]. 北京:高等教育出版社,2000:248 - 250.
- [5] GIANNOPOLITIS C N,RIES S K. Superoxide dismutase. . Purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedlings[J]. *Plant Physiol.*, 1997, 59: 315 - 318.
- [6] ORMAN R G. Peroxide, levels and the activities of catalase, peroxidase and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings[J]. *Plant Physiol.*, 1980, 65: 407 - 408.
- [7] CHANCE B,MAEHL Y A G. Assay of catalase and peroxidase[M]. *Methods Enzymol*, 1955, 2: 764 - 755.
- [8] 张治安,张美善,蔚荣海. 植物生理学实验指导[C]. 北京:中国农业科学技术出版社,2004:138 - 139.
- [9] NAKANO Y,ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant Cell Physiol.*, 1981, 22: 867.
- [10] HAN F(韩发),ZHOU D W(周党卫),TENG ZH H(滕中华),ZHU W Y(朱文琰),SHI SH B(师生波). Comparison of antioxidative system in *Kobresia humilis* grown at different altitudes on Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报), 2003, 23(9): 1491 - 1496 (in Chinese).
- [11] WILDI B L. Antioxidant compositions of selected high alpine plant species from different altitudes[J]. *Plant Cell Environment*, 1996, 19: 138 - 146.
- [12] LU C F(卢存福),BEN G Y(贲桂英),HAN F(韩发),SHI SH B(师生波). A comparative study of photosynthetic response of *Kobresia humilis* to different environmental factors[J]. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 1995, 1(1): 72 - 78 (in Chinese).
- [13] LI Y K(李以康),HAN F(韩发),WU B(吴兵),WANG X Y(王学英),SHI SH B(师生波). Responses of antioxidative ingredients of *Anisodus tanguticus* Maxim. Pascher to the environmental changes[J]. *Acta Agraria Sinica* (生态学报), 2007, 1: 29 - 34 (in Chinese).

- [14] ZHOU D W(周党卫), ZHU W Y(朱文琰), TENG ZH H(腾中华), SHI SH B(师生波), LIU J Q(刘健全), HAN F(韩发). Antioxidative compounds of *Polygonum viviparum* L. from different altitudes[J]. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* (应用于环境生物学报), 2003, **9** (5): 489 - 492(in Chinese).
- [15] WU B(吴兵), HAN F(韩发), YUE X G(岳相国), SHI SH B(师生波), WANG X Y(王学英). Effects of long-term intensified UV-B radiation on the photosynthetic rates and antioxidative systems of three plants in alpine meadows[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报), 2005, **25**(10): 2 010 - 2 016(in Chinese).
- [16] JING M Y(蒋明义). Generation of hydroxyl radicals and its relation to cellular oxidative damage in plants subjected to water stress[J]. *Acta Botanica Sinica*(生态学报), 1999, **41**(3): 229 - 234(in Chinese).
- [17] ZHAO L Y(赵丽英), DENG X P(邓西平), SHAN L(山仑). The response mechanism of active oxygen species removing system to drought stress[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报), 2005, **25**(2): 413 - 418(in Chinese).
- [18] CHEN SH Y(陈少裕). Low temperature stress and peroxidation of membrane lipid in Sugarcane[J]. *Journal of Fujian Agricultural College*(福建农学院学报), 1992, **21**(1): 22 - 26(in Chinese).
- [19] YIN Y Q(尹永强), HU J B(胡建斌), DENG M J(邓明军). Latest development of antioxidant system and responses to stress in plant leaves[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报), 2007, **1**(23): 105 - 110(in Chinese).
- [20] WANG X F(汪晓峰), REN H X(任红旭), SUN G J(孙国钧). Altitudinal variation of antioxidative system in leaves of *Rhodiola quadrifida* and *R. gelida*[J]. *Acta Phytoecologica Sinica*(植物生态学报), 2005, **29**(2): 331 - 337(in Chinese).
- [21] ASADA K. Ascorbate peroxidase — a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants[J]. *Physiol. Plant*, 1992, **85**: 235 - 241.
- [22] LI H H(李惠华), LAI ZH X(赖钟雄). A review of progress in ascorbate peroxidase in plants[J]. *Subtropical Plant Science*(亚热带植物科学), 2006, **35**(2): 66 - 69(in Chinese).
- [23] SUN W H(孙卫红), WANG W Q(王伟青), MENG Q W(孟庆伟). Functional mechanism and enzymatic and molecular characteristic of ascorbate peroxidase in plants[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 1994, **30**(6): 452 - 458(in Chinese).
- [24] HAN F(韩发), BEN G Y(贲桂英), SHI SH B(师生波). Comparative study on the resistance of *Kobresia humilis* grown at different altitudes in Qinghai Xizang plateau[J]. *Acta Ecologica Sinica*(生态学报), 1998, **11**: 654 - 659(in Chinese).
- [25] HAN F(韩发), YUE X G(岳向国), SHI SH B(师生波), WU B(吴兵), LI Y K(李以康). Physiological characteristics in cold resistance of several alpine plants in Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报), 2005, **25**(12): 2 502 - 2 509(in Chinese).
- [26] HUANG ZH Y(黄治远), LIL H(李隆华), ZHANG Y Z(张云贵), GUO A M(郭爱民), CAI ZH Y(蔡智勇), LIJ(李骏), ZHANG Y G(张义刚). The relationship of the content of soluble sugar and cold endurance in the leaves of *Dimocarpus longan*[J]. *Southwest Horticulture*, 2004, (32): 18 - 19(in Chinese).
- [27] LIU SH Y(刘淑云), DONG SH T(董树亭), HU CH H(胡昌浩). The study of latitude and altitude affecting to Maize quality[J]. *Journal of Maize Sciences*(玉米科学), 2005, **13**(2): 68 - 71, 78(in Chinese).
- [28] WEI F M(韦福民), ZHANG X Y(张晓燕), LIU P(刘鹏), CHEN Z L(陈子林), CHEN GB(陈国标). Effects of different altitudes on pigment content, water content and specific leaf area of *Heptacodium miconioides*[J]. *Subtropical Plant Science*, 2007, **36**(1): 1 - 4(in Chinese).
- [29] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社(第二版), 2001: 188 - 197.