



低温胁迫对极度濒危植物中华水韭 生理特性的影响

刘婷婷, 孙 昊, 关 旻, 刘保东*

(哈尔滨师范大学 黑龙江省普通高等学校植物生物学重点实验室, 哈尔滨 150025)

摘 要:以人工繁殖的极度濒危级(CR)植物中华水韭(*Isoetes sinensis* Palmer)为试验材料,研究了 0 °C 低温环境下胁迫 0~20 d,沉水叶片中保护酶系统(POD、SOD、CAT)、渗透调节物质(可溶性糖和可溶性蛋白)、叶绿素以及丙二醛(MDA)和相对电导率的变化。结果显示:随着低温(0 °C)胁迫时间的延长,中华水韭沉水叶片的相对电导率、可溶性糖含量、CAT 活性先升高后下降,SOD 活性呈逐渐上升的趋势,POD 活性、可溶性蛋白含量、叶绿素含量下降,MDA 含量一直低于 CK,且在一定范围内波动。研究表明,中华水韭沉水叶片在 0 °C 低温胁迫中受到一定程度的伤害,但能通过调节自身的膜透性、渗透调节物质含量和保护酶活性系统来减轻低温伤害,维持其正常生理代谢功能,从而表现出一定的抗寒潜力。

关键词:中华水韭;0 °C 胁迫;生理指标

中图分类号:Q945.78

文献标志码:A

Effects of Low Temperature Stress on Physiological Characters of Critically Endangered *Isoetes sinensis* Palmer

LIU Tingting, SUN Hao, GUAN Yang, LIU Baodong*

(Harbin Normal University, Key Laboratory of Plant Biology, College of Heilongjiang Province, Harbin 150025, China)

Abstract: At 0 °C low temperature stress, the dynamic process of protective enzyme system (POD, SOD and CAT), osmotic regulation substances (soluble sugar and soluble protein) and malondialdehyde (MDA) as well as relative electric conductivity were determined in *Isoetes sinensis* Palmer submerged leaves. The results showed that the relative electric conductivity, soluble sugar and activity of CAT increased at the beginning then decreased. The SOD activity gradually increased with the process of low temperature stress. The activity of POD, soluble protein and chlorophyll content decreased in the whole process of low temperature stress. MDA content were lower than the control group during the whole low temperature stress process and fluctuated within a certain range. We can concluded that the *I. sinensis* Palmer submerged leaves were negatively influenced by 0 °C low temperature stress, but the osmotic regulation substances, protective enzyme system, plasma membrane permeability could adjust themselves to avoid low temperature harms, which led to some tolerant ability of *I. sinensis* Palmer to the low temperature condition.

Key words: *Isoetes sinensis* Palmer; 0 °C low temperature stress; physiological indicators

中华水韭 (*Isoetes sinensis* Palmer) 属水韭科 (Isoetaceae), 为异孢型多年生湿生拟蕨类植物, 主

收稿日期: 2013-05-17; 修改稿收到日期: 2013-08-20

基金项目: 国家自然科学基金(31170294)

作者简介: 刘婷婷(1987—), 女, 硕士, 主要从事蕨类植物生理生态方向的工作。E-mail: 920738630@qq.com

* 通信作者: 刘保东, 教授, 主要从事孢子植物学科科研及教学工作。E-mail: 99bd@163.com

要分布于中国长江中下游地区^[1],是一种敏感的环境指示植物,在 20 世纪七八十年代,在野外还大量存在^[2],由于人为干扰等因素,野生种群现已基本绝迹^[3],被列为中国一级重点保护且极度濒危(CR)的野生植物^[4]。

迄今为止,国内外对水韭属植物的研究主要集中在孢子形态^[5]、形态解剖^[6]、生殖发育^[7]、生理生态^[8]、遗传^[9]等领域,研究表明,影响限制其种群生长发育的因素有很多,如 Tripath 等研究发现水韭对高温的敏感性跟生境条件有关^[10],Martina 等报道过铝毒和低 pH 胁迫对 *I. echinospora* 早期发育的影响^[11],朱文杰等对东方水韭(*I. orientalis*)2 个自然居群地的研究表明土壤中速效钾极度缺乏和水体中性化很可能是限制其种群发展的重要环境因素^[12]。随着全球气候变暖,极端恶劣天气频繁出现^[13],中华水韭栖息地时常发生寒害。低温作为限制植物生长的因子之一,受到学者普遍关注^[14-16]。但对于中华水韭低温胁迫下的生理研究还未见报道。本研究在成功繁殖中华水韭、获得充足供试材料的基础上^[17],测定了 0℃低温胁迫环境下中华水韭沉水叶片质膜透性、叶绿素含量、渗透调节物质、保护酶系统的变化,旨在观察中华水韭沉水叶片对 0℃低温环境的适应能力,以期对中华水韭的保护及复壮提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

中华水韭(*Isoetes sinensis* Palmer)于 2001 年由浙江大学丁炳扬教授提供,原产地为浙江省华顶山,后栽培在哈尔滨师范大学蕨类培养室(126°42'E,45°24'N),并进行人工繁殖,本实验材料为第 3 代人工繁殖成熟植株^[17]。蕨类培养室的光照强度为 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,温度全年保持在 18℃~25℃。

1.2 试验方法

从培养室选取长势良好,高度在 30~35 cm 的中华水韭 70 株,分别移栽到直径为 10 cm、高度为 15 cm 的透明 PET 瓶中,移栽土壤为采自黑龙江省亚布力山区的暗棕壤,每 10 株为一组移入透明大塑料桶中并加水至叶片完全浸没水中,分两组,一组做为对照组(CK),一组做为处理组(T),先在培养室内缓苗 15 d,再分别置于 2 个人工气候箱(RZH-288A)中适应性培养 7 d,温度控制在 15℃/5℃(昼/夜),光周期为 12 h/12 h(昼/夜),光照强度

$200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,之后再处理组的人工气候箱温度降低至 0℃,并每 12 h 向水里加 1 L 冰以保持水温 0℃进行低温胁迫,除温度外,其余条件均与适应性培养下的条件相同。分别于胁迫的 1、5、10、15 和 20 d 测定从内向外的第 4、5 层对照组和处理组沉水叶片的生理指标,每个指标重复 3 次。

1.3 生理指标测定

质膜透性采用电导法,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法,叶绿素含量采用丙酮乙醇混合液法,可溶性糖含量采用蒽酮比色法,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法,超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑法,过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚比色法,过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法^[18]。

1.4 数据处理

实验数据用 SPSS 17.0 和 Excle 软件分析并作图,各材料在不同胁迫时间后的各生理指标采用 Duncan 检验进行多重比较,数据结果以平均值±标准差来表示。

2 结果与分析

2.1 0℃低温胁迫对中华水韭沉水叶片 MDA 含量和相对电导率的影响

2.1.1 MDA 含量 如图 1,A 可以看出,整个低温胁迫过程中,中华水韭叶片的 MDA 含量一直处于显著低于 CK 的水平($P<0.05$),且在一定范围内波动。其中,胁迫第 1 天与同时期 CK 相比,MDA 含量下降了 64%($P<0.05$);胁迫第 20 天与第 1 天相比,MDA 含量下降了 53%($P<0.05$)。可见,0℃低温胁迫下,中华水韭沉水叶片并没有受到明显的氧化伤害。

2.1.2 相对电导率的变化 从图 1,B 可以看出,在胁迫的整个过程中,中华水韭沉水叶片的相对电导率总体上呈先升后降的趋势,且第 10 天达到最大值,但没有超过 25%。其中,相对电导率的值除胁迫第 1 天比 CK 低 28.5%外,其余各时间段的相对电导率分别高于同期 CK 25.6%、43.7%、14.7%和 25.5%。这表明中华水韭沉水叶片的质膜透性有所增加,但膜系统并未受到严重破坏。

2.2 0℃低温胁迫对中华水韭沉水叶片叶绿素含量的影响

图 2 显示,低温胁迫对中华水韭沉水叶片叶绿素含量产生一定影响,随着胁迫时间延长,叶绿素含量总体呈下降趋势,胁迫 1、5 d 与同期 CK 相比分

别下降了 8.14%、5.69% ($P>0.05$);胁迫 10、15 和 20 d 与同期 CK 相比,显著下降了 23.96%、29.91%和 31.06%,其中胁迫 5 d 时,叶绿素含量与胁迫 1 d 相比高 2.6%,但差异不显著 ($P>0.05$)。以上结果表明,0℃低温胁迫下,中华水韭沉水叶片的光合潜力受到一定抑制,其叶绿素含量的降低抑制了光合作用中光能的吸收和转化作用。

2.3 0℃低温胁迫对中华水韭沉水叶片可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响

2.3.1 可溶性蛋白含量 从图 3,A 可以看出,随着 0℃低温胁迫时间的延长,中华水韭沉水叶片的可溶性蛋白含量整体呈下降趋势,其中,胁迫第 1 天与 CK 相比显著增加了 83.5% ($P<0.05$),且达到最大值,胁迫第 5 天时,其可溶性蛋白含量基本下降至同期 CK 水平,之后的胁迫过程中,可溶性蛋白含量在一定范围内波动,与 CK 相比差异不显著 ($P>0.05$)。可见,低温胁迫前期对中华水韭叶片的可溶性蛋白含量影响较大,可溶性蛋白在其抵御低温逆

境前期起到了重要的调节作用。

2.3.2 可溶性糖含量 如图 3,B 所示,随着低温胁迫时间的延长,中华水韭沉水叶片的可溶性糖含量总体呈先升后降的趋势,胁迫各时期比同期 CK 分别高 31.01% ($P<0.05$)、66.91% ($P<0.05$)、92.12% ($P<0.05$)、14.33% ($P>0.05$)、76.94% ($P<0.05$),与可溶性蛋白含量变化不同的是其可溶性糖含量在胁迫第 15 天时达到峰值。说明 2 种渗透调节物质通过交替升高来增强其质膜系统渗透调节能力。

2.4 0℃低温胁迫对中华水韭保护酶系统的影响

2.4.1 SOD 活性 图 4,A 显示,随着低温胁迫时间的延长,SOD 活性一直呈上升趋势,且各时间段与 CK 相比分别升高了 64.18%、83.05%、85.14%、

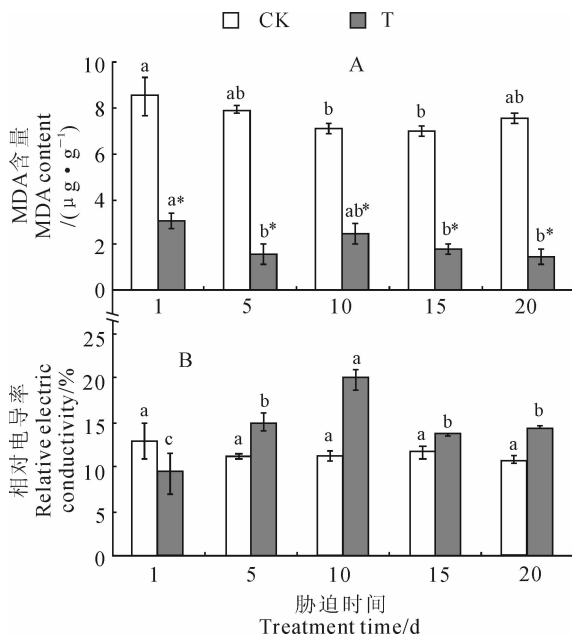


图 1 低温胁迫下中华水韭沉水叶片 MDA 含量和相对电导率的变化

CK. 对照组; T 处理组; 不同小写字母表示处理时间差异显著 ($P\leq 0.05$); * 表示同一时期处理与对照差异显著 ($P\leq 0.05$)。下同

Fig. 1 Changes of MDA content and relative electric conductivity of *I. sinensis* Palmer, submerged leaves under low temperature stress

CK. Control group; T. Treatment group; The different normal letters mean significant difference among treatments at 0.05 level; * indicates significant difference between treatment and control at 0.05 level within same time; The same as below

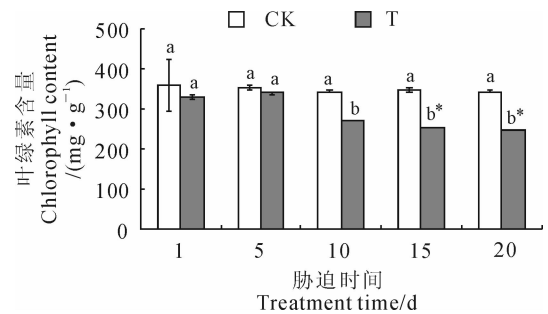


图 2 低温胁迫下中华水韭沉水叶片叶绿素含量的变化
Fig. 2 Changes of chlorophyll content in *I. sinensis* Palmer, submerged leaves under low temperature stress

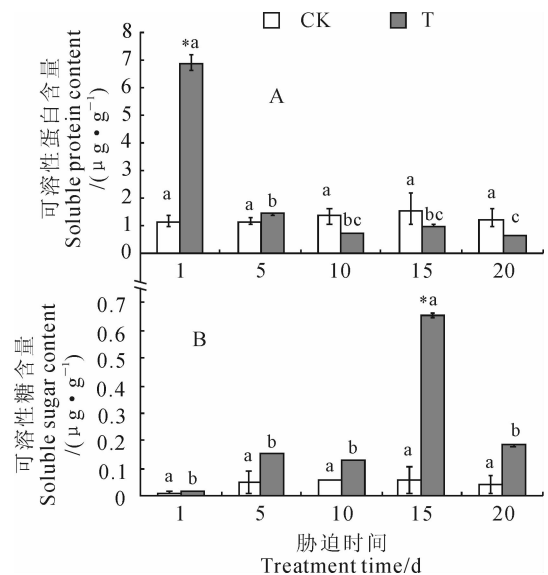


图 3 低温胁迫下中华水韭沉水叶片可溶性蛋白和可溶糖含量的变化

Fig. 3 Changes of soluble protein and soluble sugar contents in *I. sinensis* Palmer, submerged leaves under low temperature stress

88.35%、83.67%，达到显著水平($P < 0.05$)。其中，胁迫第5天与第1天相比，SOD活性上升了1.5倍，达到显著水平($P < 0.05$)，胁迫第5天后，处理组各时间段之间无显著差异($P > 0.05$)；胁迫第20天与第1天相比，升高了76.11%($P < 0.05$)。这说明中华水韭叶片主要通过持续增加SOD活性来清除活性氧自由基，从而提高自身抗氧化能力。

2.4.2 POD活性 从图4,B可以看出,在整个低温胁迫期间,中华水韭叶片的POD活性均高于各时期CK;随着胁迫时间的延长,中华水韭叶片的POD活性总体呈下降的趋势,并且在胁迫第1天时达到最大值,这说明中华水韭叶片有较强清除过氧化物的能力,但长时间胁迫也会对其造成一定伤害;同时,低温胁迫处理的后期,中华水韭叶片的POD活性虽然显著降低但仍维持在高于CK的水平,表明此时的POD仍具一定的有效性,从而将过氧化物对植株的伤害限制在一定范围内。

2.4.3 CAT活性 图4,C所示,在低温胁迫过程中,中华水韭沉水叶片的CAT活性基本呈先升后降的变化趋势,且在胁迫的第10天达到峰值。其中,胁迫第5天与第1天相比,CAT活性下降了11.3%,但差异不显著($P > 0.05$);胁迫第15天,第

20天与同期CK相比,CAT活性分别显著降低了53.6%、62.3%($P < 0.05$),说明长时间低温胁迫将使CAT活性的抗氧化能力逐渐有所衰退,从而对自身产生伤害,但CAT仍具有一定的清除效应。

3 讨论

3.1 0℃低温胁迫下相对电导率和MDA含量的变化特征

按相对电导率50%的致死温度标准来看^[19],中华水韭的叶片在经过低温胁迫后,相对电导率有所升高,但最大值没有超过25%,这表明膜结构在0℃胁迫下并未受严重损伤。胁迫1d与同期CK相比,相对电导率稍有下降,但随后升高,这可能与可溶性蛋白含量大量增加有关,有研究指出可溶性蛋白不仅可以维持细胞渗透调节能力,还是唯一可螯合单线态氧的可溶性溶质、高效清除羟自由基分子,有助于稳定膜系统^[20-21]。MDA是衡量质膜受损程度的一个重要指标,是膜质过氧化作用的主要产物之一。大多数植物在低温抗寒胁迫中MDA含量是升高的^[22-24]。而中华水韭则不同,其叶片MDA的含量在0℃胁迫的整个过程中均低于CK,且在一定范围内波动,这与李云等研究发现低温胁迫下耐寒性好的菊花MDA含量变化也明显低于CK的结果相一致^[25],这可能是由于体内一些应激蛋白的调节作用^[26],使保护酶的活性增强或者不再急剧下降,从而MDA含量降低并呈现波动状态。这也表明中华水韭质膜在低温胁迫过程中并未受到严重伤害,具有很好适应0℃低温的能力。

3.2 低温胁迫下叶绿素含量的变化特征

叶绿素在光合作用中起着吸收光能的作用,其含量的多少直接影响到植株光合作用的强弱。本实验结果表明0℃胁迫使中华水韭叶片内叶绿素含量持续下降,这与多数植物在逆境胁迫下叶绿素含量下降的研究结论相一致^[27-28]。说明叶绿素合成速率在低温胁迫下受阻,分解速率大于其合成速率^[29]。然而在胁迫20d过程中,其含量下降程度较小,说明中华水韭具有比较好的抗寒性。

3.3 低温胁迫下渗透调节物质含量的变化特征

有研究指出,可溶性蛋白和可溶性糖不仅能够调节细胞渗透压,还能够在植物体内充当能量的储存、转移的介质,提高植物的抗寒性^[30]。抗寒性比较好的蕨类植物如铁线蕨(*Adiantum capillus-venereis*)在持续低温过程中其渗透调节物质一般呈先梯度升高后梯度下降的趋势^[31]。而本研究结果显

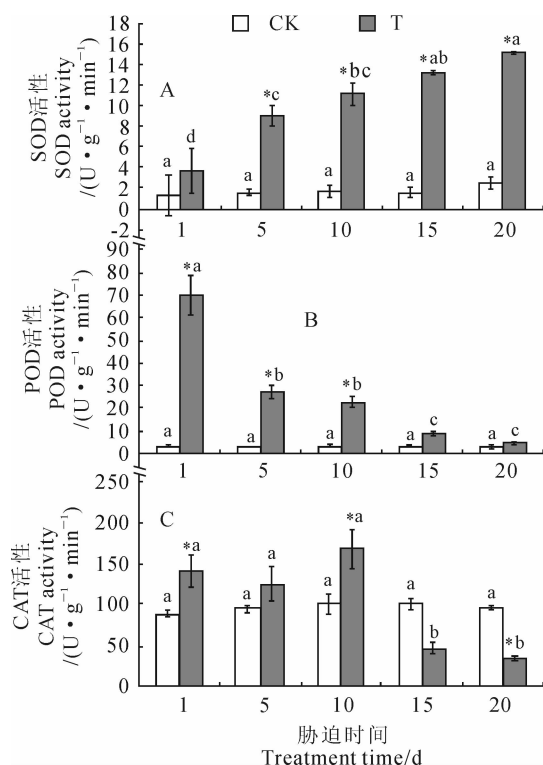


图4 低温胁迫下中华水韭沉水叶片保护酶活性的变化
Fig. 4 Changes of protective enzyme activities in *I. sinensis* Palmer, submerged leaves under low temperature stress

示,0℃胁迫1d时诱导中华水韭沉水叶片产生大量可溶性蛋白,而在后面的胁迫进程里,其可溶性蛋白含量则大幅度下降,但可溶性糖含量在胁迫15d时大量增加。笔者认为随着0℃低温胁迫时间的延长,中华水韭采取首先积累可溶性蛋白,然后积累可溶性糖来适应0℃低温的策略,通过这种较特殊的应答机制来维持其细胞正常的渗透压、提高渗透调节能力,从而增强抗寒能力。

3.4 低温胁迫下保护酶系统的变化特征

SOD、POD、CAT是植物体内清除自由基的重要保护酶,当植物受到环境胁迫时,诱导其蛋白翻译的RNA表达量增多,直接影响其对应酶活性的高低,这些酶能够将活性氧自由基和过氧化氢等转化为O₂和H₂O等对自身不产生伤害的物质^[30]。随着胁迫时间的延长,中华水韭的SOD呈持续上升的趋势,且活性一直都维持在高于对照的水平,表明中华水韭通过提高SOD酶活性来清除体内产生多过的活性氧自由基,从而增强其抵御低温的能力。POD活性总体呈下降趋势,而CAT活性总体呈先升高后下降的趋势,这两种保护酶活性在胁迫10d期间内一直维持在高于CK的水平,10d以后CAT活性才低于CK。笔者认为,胁迫前期POD和CAT

两种保护酶活性增大能够有效清除由SOD歧化反应产生的过氧化氢,降低细胞膜的膜脂过氧化水平,随着胁迫时间的延长,POD和CAT保护酶活性有所下降,但POD活性仍高于CK,这可能是中华水韭植株自身已经形成一定耐寒机制;同时,3种保护酶通过一定的协同作用使植物体内的活性氧代谢达到一个动态平衡的状态,进而增强了中华水韭对0℃低温的适应能力。

综上所述,中华水韭的沉水叶片在0℃胁迫过程中表现出较好的抗寒潜力,与其他植物在相似逆境胁迫下的变化规律相比,中华水韭的沉水叶片通过先增加可溶性蛋白含量而后再累积可溶性糖的方式来维持自身细胞正常的渗透压,保护酶系统通过彼此协同作用有效地清除植株体内过多的活性氧自由基,从膜脂过氧化程度来看MDA含量一直处于低于CK的水平。笔者认为中华水韭具有较好的抗寒能力可能与该物种拥有景天酸代谢途径有关,其叶片在胁迫条件下仍能借助自身之前积累的苹果酸来进行代谢活动,合成糖与蛋白^[32],但具体的抗寒能力与景天酸代谢机制之间建立怎样的关系还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] CHEN J K(陈家宽),WANG H Y(王海洋),HE G Q(何国庆). A survey on the habitats of *Oryza rufipogon* and *Isoetes sinensis* in Jiangxi Province[J]. *Chinese Biodiversity*(生物多样性),1998,6(4):260—266(in Chinese).
- [2] YE Q G(叶其刚),LI J Q(李建强). Distribution status and causation of endangerment of *Isoetes sinensis* Palmer in Zhejiang Province[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*(武汉植物学研究),2003,21(3):216—220(in Chinese).
- [3] HAO R M(郝日明),HUANG ZH Y(黄致远),WANG ZH L(王中磊),et al. The natural distribution and characteristics of the rare and endangered plants in Jiangsu,China[J]. *Chinese Biodiversity*(生物多样性),2000,8(2):153—162(in Chinese).
- [4] 严岳鸿,张宪春,马克平. 中国珍稀濒危蕨类植物的现状及保护[C]//中国生物多样性保护与研究进展Ⅶ——第七届全国生物多样性保护与持续利用研讨会论文集. 北京:气象出版社,2006:77—87.
- [5] LIU X(刘星),LIU H(刘虹),WANG Q F(王青锋). Spore morphology of *Isoetes* (Isoetaceae) from China[J]. *Journal of Systematics and Evolution*(植物分类学报),2008,46(4):479—489(in Chinese).
- [6] ROMEO D, TROIA A, BURGARELLA C, et al. Casparian strips in the leaf intrastelar canals of *Isoetes duriei* Bory, a mediterranean terrestrial species[J]. *Annals of Botany*, 2000, 86(5):1 051—1 054.
- [7] PRADEEP K S, GOPAL K S, SANTOSH K S. The quillworts (*Isoetes*) of India: distribution, endemism and species radiation[J]. *Biodiversity and Conservation*, 2002, 11(6):959—973.
- [8] ANTONIO M J, LUMBRERAS A, GALLARDO T, et al. Small-scale *Isoetes* distribution pattern in a mediterranean vernal pool system[J]. *Actabotanica Gallica*, 2011, 158(1):27—36.
- [9] KIM C, NA H R, SHIN H, et al. Systematic evaluation of *Isoetes asiatica* Makino (Isoetaceae) based on AFLP, nrITS, and chloroplast DNA sequences[J]. *J. Plant Biol.*, 2009, 52(6):501—510.
- [10] TRIPATHI M K, MEENA D K, PAREEK P, et al. *Isoetes* L. in Rajasthan study of effect of hyperthermia on cell membrane permeability[J]. *Indian Fern Journal*, 2005, 22(1—2):157—159.
- [11] ČTVRTLÍKOVÁ M, VRBA J, ZNACHOR P, et al. Effects of aluminium toxicity and low pH on the early development of *Isoetes echinos-*

- pura*[J]. *Preslia*, 2009, 81: 135–149.
- [12] ZHU W J(朱文杰), CHEN X(陈 欣), ZHU SH CH(朱圣潮), *et al.* Analyses on soil nutritional status and water pH value in natural habitat of endangered plant *Isoetes orientalis*[J]. *Journal of Plant Resources and Environment* (植物资源与环境学报), 2010, **19**(2): 75–78(in Chinese).
- [13] LIU J F(刘吉峰), DING Y G(丁裕国), JIANG ZH H(江志红). The influence of aggravated global warming on the probability of extreme climatic event[J]. *Plateau Meteorology* (高原气象), 2007, **26**(4): 837–842(in Chinese).
- [14] SHI P H(史鹏辉), SUN W C(孙万仓), ZHAO C X(赵彩霞). Preliminary study on the relation of antioxidant enzyme activities at low temperature and the ice formation in root cells of winter rapeseed[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2013, **33**(2): 329–335(in Chinese).
- [15] BAEK K H, SKINNER D Z. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines[J]. *Plant Science*, 2003, **165**(6): 1 221–1 227.
- [16] ZHANG W(张 玮), HUANG SH Y(黄树燕), WU J L(吴继林), *et al.* Effects of low temperature stress on resistance physiological indices of leaf and root of *Dendrocalamus latiflorus* seedlings[J]. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2012, **31**(3): 513–519(in Chinese).
- [17] LIU B D(刘保东). Artificial batch reproductive success of *Isoetes sinensis*, a critically endangered species[J]. *Biodiversity Science* (生物多样性), 2012, **20**(6): 784–784(in Chinese).
- [18] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [19] SUKUMARAN N P, WEISER C J. An excised leaflet test for evaluating potato frost tolerance[J]. *Hort Science*, 1972, **7**(5): 467–468.
- [20] ANJUM F, RISHI V, AHMAD F. Compatibility of osmolytes with gibbs energy of stabilization of proteins[J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 2000, **1 476**(1): 75–84.
- [21] MATYSIK J, BHALU B, MOHANTY P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants[J]. *Current Science*, 2002, **82**(5): 525–532.
- [22] LI J(李 晶), YAN X F(阎秀峰), ZU Y G(祖元刚). Generation of activated oxygen and change of cell defense enzyme activity in leaves of Korean pine seedling under low temperature[J]. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 2000, **42**(2): 148–152(in Chinese).
- [23] LI CH Y(李春燕), CHEN S S(陈思思), FENG CH N(封超年), *et al.* Effect of low temperature at seedling stage on an tioxidation enzymes and cytoplasmic osmoticum of leaves in wheat cultivar Yangmai 16[J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2011, **37**(12): 2 293–2 298(in Chinese).
- [24] WU H(武 辉), SHI J Y(石俊毅), ZHANG J S(张巨松), *et al.* Physiological responses of cotton seedlings under low temperature stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2013, **33**(1): 74–82(in Chinese).
- [25] LI Y(李 云), YANG J SH(杨际双), CHEN D F(陈段芬), *et al.* Effects of cold acclimation on physiological metabolism of chrysanthemum under low temperature stress[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica* (华北农学报), 2009, **24**(4): 179–182(in Chinese).
- [26] LINDQUST S, CRAIG E A. The heat-shock proteins[J]. *Annu. Rev. Genet.*, 1988, **22**(1): 631–677.
- [27] YOU J H(由继红), LU J M(陆静梅), YANG W J(杨文杰). Effects of Ca^{2+} on photosynthesis and related physiological indexes of wheat seedlings under low temperature stress[J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2002, **28**(5): 693–696(in Chinese).
- [28] ZHOU J(周 建), YANG L F(杨立峰), YOU Y(尤 扬), *et al.* Photosynthesis and chlorophyll-fluorescence of magnolia grandiflora seedlings under low temperature stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2009, **29**(1): 136–142(in Chinese).
- [29] CHANDRAI A, PATHAK P S, BHATT R K, *et al.* Variation in drought tolerance of different stylosanthes accessions[J]. *Biologia Plantarum*, 2004, **48**(3): 457–460.
- [30] MATYSIK J, BHALU B, MOHANTY P. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants[J]. *Current Science*, 2002, **82**(5): 525–532.
- [31] WANG ZH(王 姝), LIU Y J(刘延吉). Physiological changes of low temperature stress on *Adiantum capillus-veneris*[J]. *Journal of Anhui Agri. Sci.* (安徽农业科学), 2006, **34**(3): 424–425(in Chinese).
- [32] GU SH P(顾舒平), YIN L Y(尹黎燕), LI W(李 伟), *et al.* Diurnal CO_2 exchange rates of the aquatic crassulacean acid metabolism plant *Isoetes sinensis* Palmer at different alkalinities[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology* (植物生态学报), 2009, **33**(6): 1 184–1 190(in Chinese).