

根施甜菜碱对镍胁迫下小麦 幼苗生长生理的影响

巴青松¹, 张根生¹, 凌 玉¹, 李桂萍¹, 宋运贤¹, 张鹏飞², 傅兆麟¹

(1 淮北师范大学 生命科学学院, 资源植物生物学安徽省重点实验室, 安徽淮北 235000; 2 襄阳市农业科学院, 湖北襄阳 441057)

摘 要:以普通小麦品种‘轮选 988’为材料, 采用溶液培养法, 研究了根施不同浓度甜菜碱(1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、10.0、15.0、20.0 mmol · L⁻¹)对镍(100 μmol · L⁻¹ NiSO₄)胁迫下小麦根系生长的影响, 以及 4.0 mmol · L⁻¹甜菜碱处理镍胁迫幼苗根系相关抗逆生理生化指标的变化。结果表明: (1) 与不施加镍对照相比, 镍胁迫下小麦幼苗的根长、株高、鲜重和干重分别显著降低了 14.7%、11.7%、15.0% 和 16.7%。(2) 与单独镍胁迫处理相比, 小麦幼苗的根长、株高、鲜重和干重均随着根施甜菜碱的浓度逐渐增加且呈先升后降的趋势, 并以 4.0 mmol · L⁻¹外源甜菜碱处理效果较佳。(3) 与单独镍胁迫处理相比较, 在 4.0 mmol · L⁻¹外源甜菜碱处理下, 小麦幼苗根系超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性分别升高了 284.7%、40.3%、82.9% 和 20.4%, 超氧阴离子自由基(O₂⁻)含量、过氧化氢(H₂O₂)含量和丙二醛(MDA)含量分别显著降低了 50.6%、38.4% 和 40.6%, 可溶性糖含量及游离脯氨酸(Pro)含量分别显著降低了 19.2%、45.4%, 而根系活力大幅上升了 358.0%。研究认为, 根施适宜浓度外源甜菜碱可显著增强小麦幼苗根系的抗氧化能力, 恢复根系活力, 从而有效减弱镍胁迫对小麦幼苗生长的伤害。

关键词:甜菜碱; 镍胁迫; 小麦根系; 生理性状

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Physiological Effects of Root-applying Glycine Betaine on Wheat Seedlings Growth under Nickel Stress

BA Qingsong¹, ZHANG Gensheng¹, LING Yu¹, LI Guiping¹,
SONG Yunxian¹, ZHANG Pengfei², FU Zhaolin¹

(1 College of Life Science, Huaibei Normal University, Anhui Key Laboratory of Plant Resources and Biology, Huaibei, Anhui, 235000, China; 2 Xiangyang Academy of Agricultural Sciences, Xiangyang, Hubei, 441057, China)

Abstract: To explore the influence of the wheat seedling growth under nickel stress with exogenous betaine was studied the effects of root-applying glycinebetaine (GB) with 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 mmol · L⁻¹ treatments with 100 μmol · L⁻¹ NiSO₄. And the physiological and biochemical indexes of stress resistance under the stress of 100 μmol · L⁻¹ NiSO₄ by solution culture method. The results indicated that: (1) under the stress of 100 μmol · L⁻¹ of NiSO₄, the root length, seedling height, fresh weight and dry weight decreased significantly by 14.7%, 11.7%, 15.0% and 16.7%, respectively, as compared with the control. (2) With the increasing concentration of applied glycinebetaine, the root length, seedling

收稿日期: 2016-07-27; 修改稿收到日期: 2017-01-11

基金项目: 安徽省自然科学基金(1708085QC62); 安徽省高等学校省级自然科学基金项目(KJ2014B19, KJ2016A624, KJ2013A232); 淮北师范大学博士科研启动基金(15600971, 12601033)

作者简介: 巴青松(1984—), 男, 博士, 主要从事小麦雄性不育机理和逆境生物学研究。E-mail: baqs1234@163.com

height, fresh weight and dry weight increased at first and then descended, compared with the $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of NiSO_4 . And the effect of exogenous GB with $4.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ treatment was better. (3) Under the concentration of $4.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of GB, the activities of peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) in roots increased by 284.7%, 40.3%, 82.9% and 20.4%, respectively; Superoxide anion (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) and malondialdehyde (MDA) contents decreased by 50.6%, 38.4% and 40.6%, respectively; soluble sugar and free proline contents decreased by 19.2%, 45.4%, respectively; Root activity significantly increased by 358.0%, compared with the $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of NiSO_4 . Therefore, the appropriate concentration of root-applying GB could significantly enhance the antioxidant capacity in root of wheat seedlings, and restore the root activity, so as to effectively reduce the harm of nickel stress on the growth of wheat seedlings.

Key words: glycinebetaine; nickel stress; wheat roots; physiological characteristics

土壤重金属污染是国内外普遍关注的环境问题,2014 年 4 月 17 日国家环境保护部和国土资源部发布的《全国土壤污染状况调查公报》显示,全国土壤总的超标率为 16.1%,其中,镉、镍、铜、砷、汞、铅 6 种无机污染物点位超标率分别为 7.0%、4.8%、2.1%、2.7%、1.6%、1.5%。土壤中的镍(Ni)主要来源于岩石风化、大气降尘、灌溉用水,农田施肥,植物和动物残体的腐烂等。Ni 是植物的必需微量营养元素之一,但当土壤中 Ni 浓度过高时,易被植物根系吸收,过量的镍将干扰植物矿质营养元素、水份吸收以及光合作用,降低生物量,影响植株根长与株高,严重影响农作物产量^[1]。同时,Ni 还可以通过各种途径污染食物链,对人体产生危害^[2-4]。研究表明,外源施用腐胺显著降低了 Ni 对油菜(*Brassica napus* L.)根生长的毒性作用^[5];水杨酸可以提高 Ni 污染下印度芥菜(*Brassica juncea*)的生长和光合作用,提高植物抗氧化能力和脯氨酸的水平,从而降低 Ni 对植物引起的毒性作用^[6];叶面喷洒油菜素内酯液可以极大增加 60 d 龄芥菜 Ni 胁迫缓解酶类的活性,降低芥菜对 Ni 的吸收^[7]。因此,应用合适的外源植物生长调节物质可以缓解植物遭受的 Ni 毒性伤害,增强植物对 Ni 的抗性,改善 Ni 污染环境植物根系的发育。

甜菜碱(Glycine betaine, GB)是高等植物重要的渗透调节物质,在调节植物对环境胁迫的适应性,提高植物对各种胁迫因子抗性等方面具有重要的生理作用。外施 GB 能够缓解冷藏对桃子果实和甜椒的伤害^[8-9],提高干旱环境中小麦的光合能力^[10-11],降低盐胁迫对生菜的影响^[12],增加铅胁迫下棉花的抗氧化能力并抑制铅吸收^[13]。然而,关于外源甜菜碱对镍胁迫下小麦幼苗根生长的影响还少见报道。因此,本试验研究了镍胁迫下,外源脯氨酸对小麦幼苗理化指标的影响,以探明甜菜碱对提高小麦耐重

金属的作用,为甜菜碱应用于提高植物耐重金属性提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料和试验设计

供试材料为普通小麦品种‘轮选 988’。取均匀、饱满种子,0.1% HgCl_2 消毒后,清水浸泡 24 h,平铺在放有滤纸的培养皿上。培养皿置于 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度、昼夜交替时间 12 h/12 h 的培养箱中,每天加入适量去离子水进行培养,每天 3 次。

培养 7 d 后进行第一轮试验,用 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NiSO_4 (在预试验中,此处理浓度是与清水对照相比幼苗根系长度减少一半的浓度)分别与不同浓度(0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、10.0、15.0、20.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)GB 混合液共 20 mL 处理相同长势的小麦植株,分别记作 T_0 、 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 、 T_5 、 T_{10} 、 T_{15} 、 T_{20} ,以清水处理作为对照(CK)。处理 5 d 后取小麦植株测定各项形态指标。据试验结果筛选出 $4.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为最适的甜菜碱浓度,对镍胁迫下小麦的生长修复情况最好。在第二轮试验中,分别以 CK、 Ni^{2+} 和 $\text{Ni}^{2+} + \text{GB}$ 代表清水处理、 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NiSO_4 处理和 $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{NiSO}_4 + 4.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ GB 前期用相同条件培养小麦幼苗,培养 7 d 后设置 CK、 Ni^{2+} 、 $\text{Ni}^{2+} + \text{GB}$ 处理,每处理 3 次重复,处理 9 d 后取小麦植株测定各项形态与生理指标。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 生长指标 随机取 30 株小麦幼苗,测定其株高、根长、根鲜重和根干重,3 次重复。

1.2.2 根系生理指标 采用氮蓝四唑(NBT)测定 SOD 活性^[14],采用愈创木酚比色法测定 POD 活性^[15],采用紫外分光光度法测定 CAT 活性^[16] 和

APX 活性^[17];采用羟胺氧化法测定 O₂⁻ 含量^[18];采用氯化钛法测定 H₂O₂ 含量^[19];采用硫代巴比妥酸反应法测定 MDA 含量^[20];采用氯化三苯基四氮唑 (TTC)法测定根系活力^[21];采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量^[22];采用酸性茚三酮法测定游离脯氨酸含量^[23]。所有指标测定为 3 次重复。

1.3 数据分析

数据采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)和差异显著性检验,采用 Sig-maplot 10.0 作图。

2 结果与分析

2.1 各浓度 GB 处理对镍胁迫下小麦幼苗形态指标的影响

在试验 1 中,与单独 Ni²⁺ 处理(T₀)比较,外源甜菜碱对 Ni²⁺ 胁迫下小麦幼苗生长均有明显的影响;随着甜菜碱浓度的增加,小麦幼苗的形态指标均呈现先增后减的变化趋势,大部分 GB 处理的根长、株高、鲜重、干重均不同程度高于 T₀ 处理,且鲜重和干重两指标表现得更明显(表 1)。其中,T₄ 处理在根长、株高、鲜重和干重方面具有较大值和最大值,且多与 T₀ 差异显著,其分别比 T₀ 增高了 50.8%、28.7%、46.8%和 18.2%。说明 4.0 mmol · L⁻¹ 外源甜菜碱处理(T₄)对 Ni²⁺ 胁迫下的小麦幼苗生长有明显的修复作用,可有效缓解镍对小麦幼苗生长的胁迫毒害。

在试验 2 中,单独 Ni²⁺ (T₀)胁迫下,小麦幼苗的根长、株高、鲜重和干重均显著低于对照(CK),降幅分别为 14.7%、11.7%、15%和 16.7% (P<0.05);而在 T₄ 处理下,各幼苗生长指标相对于 T₀ 分别显著提高了 10.8%、5.6%、15%和 8%,其中的根长与鲜重基本恢复到对照水平,而株高与干重虽有明显恢复,但仍显著低于对照水平(表 1)。

2.2 GB 对镍胁迫下小麦幼苗根系抗氧化酶活性的影响

由表 2 可知,Ni²⁺ 胁迫下小麦幼苗根系 4 种抗氧化酶的活性均显著低于对照水平(P<0.05),而 4.0 mmol · L⁻¹ 的外源 GB 处理使这 4 种酶的活性均较单独 Ni²⁺ 处理不同程度升高,SOD、POD、CAT 和 APX 增幅分别为 284.7%、40.3%、82.9%和 20.4%,其中的 SOD、POD、CAT 的活性与 T₀ 差异显著(P<0.05),几乎恢复到对照水平,而 APX 的活性与 T₀ 差异不显著。说明施加外源甜菜碱可以明显提高 Ni²⁺ 胁迫下小麦幼苗根系 SOD、POD、CAT 和 APX 的活性,从而缓解 Ni²⁺ 对小麦幼苗的毒害。

2.3 GB 对镍胁迫下小麦根系可溶性糖、游离 Pro 含量的影响

由图 1 可以看出,单独 Ni²⁺ 胁迫下,小麦幼苗根系可溶性糖和游离脯氨酸的含量相较对照(CK)分别显著增加了 34.2%和 200.6% (P<0.05);在 4.0 mmol · L⁻¹ 外源甜菜碱处理后,小麦幼苗根系可

表 1 GB 对镍胁迫下小麦幼苗形态指标的影响
Table 1 Effects of exogenous GB on morphology index of wheat seedlings under Ni²⁺ stress

处理 Treatment		根长 Root length/cm	株高 Shoot height/cm	鲜重 Fresh weight/g	干重 Dry weight/g
试验 1 Experiment 1	T ₀	3.77±0.2728cd	7.47±0.2404bc	0.062±0.0000f	0.009±0.0007c
	T ₁	5.33±0.6009abc	7.73±0.1453abc	0.073±0.0000d	0.010±0.0003abc
	T ₂	5.30±0.7937abcd	7.77±0.2963abc	0.072±0.0012d	0.012±0.0000ab
	T ₃	4.23±0.5925bcd	8.07±0.2906ab	0.077±0.0012c	0.012±0.0009ab
	T ₄	5.20±0.7234abcd	8.30±0.2000a	0.091±0.0006a	0.013±0.0006a
	T ₅	4.97±0.7126abcd	8.03±0.0333ab	0.079±0.0000c	0.013±0.0006a
	T ₁₀	3.57±0.1333cd	7.13±0.2906c	0.063±0.0000f	0.009±0.0023c
	T ₁₅	5.80±0.4726a	7.67±0.3383abc	0.085±0.0024b	0.013±0.0007ab
	T ₂₀	3.47±0.1856d	7.37±0.0882c	0.066±0.0006e	0.010±0.0006bc
试验 2 Experiment 2	CK	11.53±0.4630a	12.96±0.1717a	0.201±0.0040a	0.030±0.0004a
	Ni ²⁺	9.84±0.3521b	11.45±0.1901c	0.171±0.0046b	0.025±0.0005c
	Ni ²⁺ +GB	10.90±0.2300a	12.09±0.1759b	0.203±0.0070a	0.027±0.0004b

注:不同字母表示处理间差异显著(P<0.05),下同
Note:Different letters mean significant difference among different treatments at 0.05 level, the same as below

表 2 GB 对镍胁迫下小麦根系 SOD、POD、CAT、APX 活性的影响

Table 2 Effects of exogenous GB on SOD, POD, CAT and APX activities of wheat seedlings under Ni²⁺ stress

处理 Treatment	SOD 活性 SOD activity /(U·g ⁻¹)	POD 活性 POD activity /(U·g ⁻¹ ·s ⁻¹)	CAT 活性 CAT activity /(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	APX 活性 APX activity /(U·g ⁻¹)
CK	163.8±14.67a	577.1±11.72a	288.0±9.93b	197.85±19.97a
Ni ²⁺	52.4±6.50b	437.4±14.80b	216.8±10.51c	105.89±10.72b
Ni ²⁺ +GB	201.6±24.25a	611.5±12.12a	396.6±21.36a	127.45±12.85b

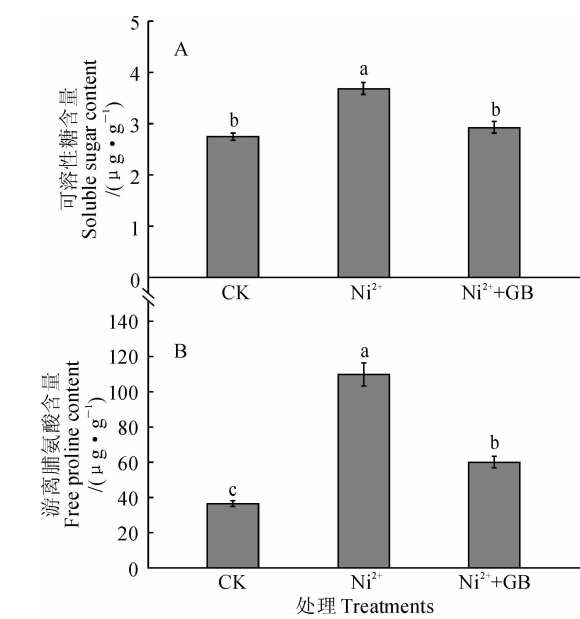


图 1 外源 GB 处理对镍胁迫下小麦幼苗根系可溶性糖和游离脯氨酸含量的影响

Fig. 1 Effects of GB on the contents of soluble sugar and proline in roots of wheat seedlings under nickel stress

溶性糖和游离脯氨酸的含量分别比镍胁迫下显著性下降了 19.2%和 45.4%，可溶性糖的含量基本恢复至正常水平，游离脯氨酸的含量显著下降。由此说明，镍胁迫能显著诱导小麦幼苗根系可溶性糖和游离脯氨酸的含量上调，而外源甜菜碱能显著诱导镍胁迫下可溶性糖和游离脯氨酸含量的降低。

2.4 GB 对 Ni²⁺ 胁迫下小麦根系 O₂⁻、H₂O₂ 和 MDA 含量的影响

图 2 显示，与 CK 相比较，单独 Ni²⁺ 胁迫下，小麦幼苗根系中 O₂⁻、H₂O₂ 和 MDA 的含量分别显著升高了 200.1%、43.2%和 47.8% (P<0.05)；在 4.0 mmol·L⁻¹ 外源 GB 处理后，小麦根系中 O₂⁻、H₂O₂ 和 MDA 的含量分别比 T₀ 显著降低了 50.6%、38.4%和 40.6% (P<0.05)，其中的 O₂⁻ 含量仍显著高于 CK，而 H₂O₂ 和 MDA 含量基本恢复至正常水平。以上结果说明，4.0 mmol·L⁻¹ 外源甜菜碱对 Ni²⁺ 胁迫下小麦中 O₂⁻ 和 H₂O₂ 清除有较

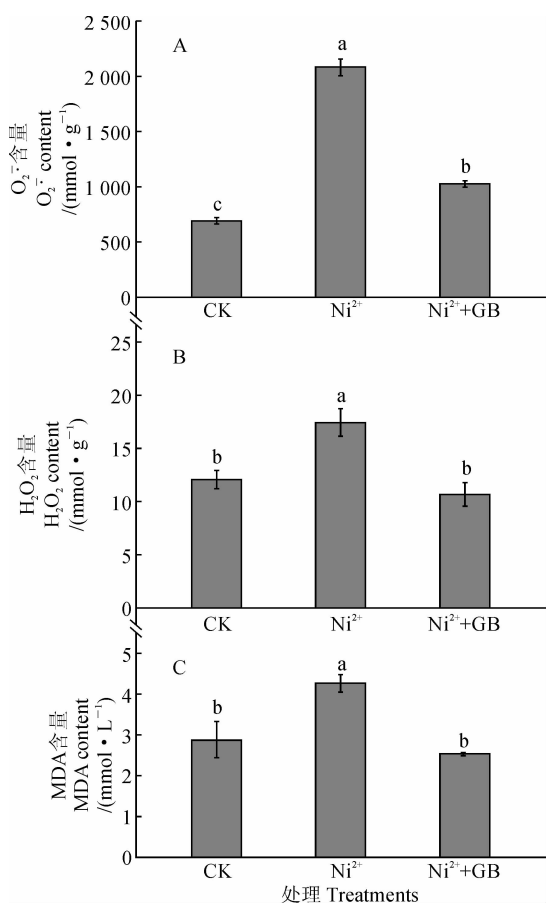


图 2 外源 GB 处理对镍胁迫下小麦幼苗根系 O₂⁻、H₂O₂ 和 MDA 含量的影响

Fig. 2 Effects of GB on the contents of O₂⁻, H₂O₂ and MDA in roots of wheat seedlings under nickel stress

好的辅助作用，显著降低小麦细胞膜脂过氧化作用，可有效缓解重金属镍的毒害。

2.5 GB 对镍胁迫下小麦根系活力的影响

由图 3 可知，100 μmol·L⁻¹ Ni²⁺ 胁迫处理下，小麦幼苗根系活力与正常对照相比大幅度显著下降了 81.0%；在 4 mmol·L⁻¹ 外源甜菜碱处理后，小麦幼苗的根系活力相较于单独镍处理大幅显著升高了 358.0%，但仍没有恢复到正常水平。可见，适宜浓度外源甜菜碱处理能有效缓解重金属镍对小麦根系的伤害。

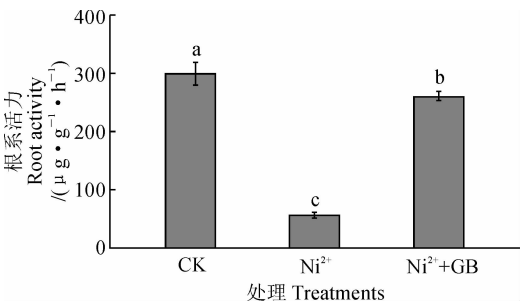


图3 外源 GB 处理对镍胁迫下小麦幼苗根系活力的影响
Fig. 3 Effects of GB on the root activity of wheat seedlings under nickel stress

3 讨 论

Ni 参与植物体内氮素循环,控制叶片衰老,是植物必需微量元素之一^[24]。超过生理浓度的 Ni 将引起植株生长发育受阻,甚至死亡^[25]。Ni²⁺ 胁迫下,植物体内代谢系统失衡,加重活性氧对植物体的损伤,膜质过氧化程度加深,其产物 MDA 积累量增大,反映植物受到胁迫损伤的程度加剧^[26-27]。SOD、CAT、POD、APX 是活性氧的有效清除剂,细胞膜脂过氧化程度与其活性水平密切相关^[28]。

GB 生理范围内不带净电荷,对植物无毒害作用,通过与蛋白质的相互作用,保护生物大分子在高电解质浓度下不致变性,当细胞中 GB 到达一定量时,会影响金属离子在细胞质中的位置,维持细胞质与液泡外环境的稳定,从而缓解金属离子的毒害^[29]。马千全等^[30]研究认为根施 GB 还能缓解水分胁迫引起的膜脂过氧化损伤。而且,根施 GB 也能缓解盐胁迫对玉米幼苗的伤害,促进根系伸长并改善其水分状况和细胞质膜透性,增强叶片的光合作用^[31]。李芸瑛等^[32]证实 GB 根施黄瓜幼苗,可缓解

低温胁迫下叶中叶绿素含量的下降,保持相对较高的净光合速率和抗氧化酶活性,削弱丙二醛(MDA)积累,保持细胞膜的相对完整性,提高幼苗存活率。本试验结果也表明,根施 4 mmol·L⁻¹ GB 能够显著促进 Ni 胁迫下小麦幼苗的根长、株高、根重和干重,可缓解 Ni²⁺ 胁迫对小麦幼苗生长的伤害;在此过程中,SOD、POD、CAT 及 APX 组成的根系保护酶活性显著提高,能够有效阻止膜质过氧化,使同期的 MDA 含量显著降低;同时,在本研究中单独 Ni²⁺ 胁迫下小麦幼苗根系 O₂⁻ 和 H₂O₂ 的含量较对照水平显著升高,4 mmol·L⁻¹ GB 处理后其含量降低至接近正常水平。由此可见,根施 GB 能够显著提高 Ni 胁迫下小麦根系的抗氧化能力。

另外,外源甜菜碱能增强植物抗性作用的生理基础,除了与抗氧化作用酶类活性的变化相关以外,也与调节体内渗透物质的积累有关。外源过氧化氢能够提高脯氨酸的积累^[33]。脯氨酸和可溶性糖在高等植物的抗逆生理中发挥着重要的作用。脯氨酸是在各种生物体内均有分布的渗透保护物质,在低胁迫条件下,高等植物通过增加细胞内的脯氨酸和可溶性糖含量来维持的渗透压,增强细胞对逆境的抵抗能力^[34]。本试验中,GB 降低了 Ni²⁺ 胁迫下小麦根系中可溶性糖和游离脯氨酸的含量。

因此,重金属镍胁迫显著抑制了小麦幼苗生长和根系活力,适宜浓度外源甜菜碱处理可以显著提高镍胁迫小麦根系抗氧化酶活性,显著降低 O₂⁻ 和 H₂O₂ 的含量及其 MDA 含量,从而增强其抗氧化能力,恢复其根系活力,进而可以增强小麦的抗镍胁迫能力,缓解了镍对小麦根系的毒害作用,促进了小麦幼苗根生长发育。

参考文献:

[1] CLEMENS S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants[J]. *Journal of Food Science*, 2006, **88**(11):27-30.

[2] KHAN M U, MALIK R N, MUHAMMAD S. Human health risk from Heavy metal via, food crops consumption with wastewater irrigation practices in Pakistan[J]. *Chemosphere*, 2013, **93**(10):2 230-2 238.

[3] VERMA P, AGRAWAL M, SAGAR R. Assessment of potential health risks due to heavy metals through vegetable consumption in a tropical area irrigated by treated wastewater[J]. *Environment Systems & Decisions*, 2015, **35**(3):375-388.

[4] KHAN S, CAO Q, ZHENG Y M, et al. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China[J]. *Environmental Pollution*, 2008, **152**(3):686-692.

[5] SHEVYAKOVA N I, IL'INA E N, STETSENKO L A, et al. Nickel accumulation in rape shoots (*Brassica napus* L.) increased by putrescine[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2011, **13**(4):345-356.

[6] YUSUF M, FARIDUDDIN Q, VARSHNEY P, et al. Salicylic acid minimizes nickel and/or salinity-induced toxicity in Indian mustard (*Brassica juncea*) through an improved antioxidant system[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2012, **19**(1):8-18.

[7] YUSUF M, FARIDUDDIN Q, AHMAD A. 28-Homobras-sinolide mitigates boron induced toxicity through enhanced an-

- tioxidant system in *Vigna radiata*, plants[J]. *Chemosphere*, 2011, **85**(10):1 574-1 584.
- [8] SHAN T, JIN P, *et al.* Exogenous glycine betaine treatment enhances chilling tolerance of peach fruit during cold storage[J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2016, **114**(1):104-110.
- [9] WANG Q, DING T, ZUO J, *et al.* Amelioration of postharvest chilling injury in sweet pepper by glycine betaine[J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2016, **112**:114-120.
- [10] GUPTA N, THIND S. Improving photosynthetic performance of bread wheat under field drought stress by foliar applied glycine betaine[J]. *Journal of Agricultural Science & Technology*, 2015, **17**(1):75-86.
- [11] GUPTA N, THIND S K, BAINS N S. Glycine betaine application modifies biochemical attributes of osmotic adjustment in drought stressed wheat[J]. *Plant Growth Regulation*, 2013, **72**(3):221-228.
- [12] YILDIRIM E, EKINCI M, *et al.* Roles of glycine betaine in mitigating deleterious effect of salt stress on lettuce[J]. *Archives of Agronomy & Soil Science*, 2015, **61**(12):1 673-1 689.
- [13] BHARWANA S A, ALI S, *et al.* Glycine betaine-induced lead toxicity tolerance related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton[J]. *Turkish Journal of Botany*, 2014, **38**(15):281-292.
- [14] DU B, HAI N, *et al.* Effects of aluminum on superoxide dismutase and peroxidase activities, and lipid peroxidation in the roots and calluses of soybeans differing in aluminum tolerance[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2010, **32**(5):883-890.
- [15] HUI F, QIANG Z, YONG H E. Detection of activity of POD in tomato leaves based on hyperspectral imaging technology[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2012, **32**(8):2 228-2 233.
- [16] LUNA C M, PASTORI G M, DRISCOLL S, *et al.* Drought controls on H_2O_2 accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, **56**(411):417-423.
- [17] KANAMOTO H, MIYAKE C. Photoinactivation of ascorbate peroxidase in isolated tobacco chloroplasts: galdieria partita, APX maintains electron flux through the water-water cycle in transplastomic tobacco plants[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2006, **47**(47):200-210.
- [18] LUKATKIN A S. Contribution of oxidative stress to the development of cold-induced damage to leaves of chilling-sensitive plants; reactive oxygen species formation during plant chilling[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2002, **49**(49):622-627.
- [19] LIU X M, WILLIAMS C E, NEMACHECK J A, *et al.* Reactive oxygen species are involved in plant defense against a gall midge[J]. *Plant Physiology*, 2010, **152**(2):985-999.
- [20] TURÓCZY Z, KIS P, TÖRÖK K, *et al.* Overproduction of a rice aldo-keto reductase increases oxidative and heat stress tolerance by malondialdehyde and methylglyoxal detoxification[J]. *Plant Molecular Biology*, 2011, **75**(4-5):399-412.
- [21] MAMOLOS A P, VERESOGLOU D S. Depth of root activity of coexisting grassland species in relation to N and P additions, measured using nonradioactive tracers[J]. *Journal of Ecology*, 1995, **83**(4):643-652.
- [22] 王 琼, 苏智先, 张素兰, 等. 慈竹构件和分株水平的可溶性糖含量研究[J]. 应用生态学报, 2004, **15**(11):1 994-1 998.
- WANG Q, SU Z X, ZHANG S L, *et al.* Soluble sugar content of clonal plant *Neosinocalamus affinis* at module and ramet levels[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, **15**(11):1 994-1 998.
- [23] KOCSY G, LAURIE R, SZALAI G, *et al.* Genetic manipulation of proline levels affects antioxidants in soybean subjected to simultaneous drought and heat stresses[J]. *Physiologia Plantarum*, 2005, **124**(2):227-235.
- [24] ESKEW D L, WELCH R M, CARY E E. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher plants[J]. *Science*, 1983, **222**(222):621-623.
- [25] GAJEWSKA E, SKŁODOWSKA M, SŁABA M, *et al.* Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots[J]. *Biologia Plantarum*, 2006, **50**(50):653-659.
- [26] GOMES-JUNIOR R A, MOLDES C A, DELITE F S, *et al.* Nickel elicits a fast antioxidant response in *Coffea arabica*, cells[J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2005, **44**(6):420-409.
- [27] BOOMINATHAN R, DORAN P M. Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertolonii*[J]. *New Phytologist*, 2002, **156**(2):205-215.
- [28] KANAZAWA S, SANO S, KOSHIBA T, *et al.* Changes in antioxidative enzymes in cucumber cotyledons during natural senescence; comparison with those during dark-induced senescence[J]. *Physiologia Plantarum*, 2000, **109**(2):211-216.
- [29] MUNOZCLARES, ADELAIDA R, MUJICAJIMENEZ, *et al.* Substrate-induced inactivation of the chloroplastic betaine aldehyde dehydrogenase[J]. *Neurology*, 1990, **40**(6):944-948.
- [30] 马千全, 邹 琦, 李永华, 等. 根施甜菜碱对水分胁迫下小麦幼苗水分状况和抗氧化能力的改善作用[J]. 作物学报, 2004, **30**(4):321-328.
- MA Q Q, ZOU Q, LI Y H, *et al.* Amelioration of the water status and improvement of the anti-oxidant enzyme activities by exogenous glycinebetaine in water-stressed wheat seedlings[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2004, **30**(4):321-328.
- [31] 尹海龙, 田长彦. 根施甜菜碱对盐胁迫下玉米幼苗根系生长与光合特性的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2013, **27**(9):113-118.
- YIN H L, TIAN C Y. Effects of root-applied glycinebetaine on the root growth and photosynthetic characteristics under salt stress in maize seedlings[J]. *Journal of Arid Land Resources & Environment*, 2013, **27**(9):113-118.
- [32] 李芸瑛, 梁广坚, 李永华, 等. 外源甜菜碱对黄瓜幼苗抗冷性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2004, **40**(6):673-676.
- LI Y Y, LIANG G J, LI Y H, *et al.* Effects of exogenous betaine on cold resistance of cucumber seedlings[J]. *Plant Physiology Communications*, 2004, **40**(6):673-676.
- [33] YANG Y L, ZHANG Y Y, LU J, *et al.* Exogenous H_2O_2 increased catalase and peroxidase activities and proline content in *Nitraria tangutorum* callus[J]. *Biologia Plantarum*, 2012, **56**(2):330-336.
- [34] CORKERON M. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2007, **66**(2):204-209.