

葉用蘿蔔耐熱生理及型態探討

陳葦玲

摘要

葉用蘿蔔(*Raphanus sativus L. var. oleiformis Pers.*)為溫帶作物，高溫顯著造成其產量、植株生長、營養成分含量及品質表現降低。本試驗為利用耐熱品系F-11-09、其母本S-07-01及不耐熱品種'Taichung No. 1'為材料，比較在40/35°C高溫下反應差異並探導耐熱機制，以助於日後育種工作進行。高溫下經過28天栽培，耐熱品系F-11-09可維持其淨光合作用速率(Pn)及葉綠素螢光值(Fv/Fm)，並伴隨著氣孔導度(gs)和蒸散速率(E)的增加，顯示耐熱品系可藉由生理調適有效的除去累積熱。型態上，高溫下F-11-09發育出較多的木質部導管組織、氣孔開張度提升了5倍、氣孔張開率增加至93%，且提升了6倍單位面積氣孔開張率，但在氣孔密度上並無顯著變化。此外，單位面積氣孔開張率和gs和E之間呈現高度正相關($R^2=0.87$ 和0.98)，確認了氣孔因子在葉用蘿蔔耐熱性中扮演著重要的角色。在短時間熱刺激處理中，F-11-09可維持9天的植株表現，熱刺激下前24小時之 H_2O_2 含量增加高峰扮演著逆境訊息的角色，而耐熱品F-11-09可藉由超氧歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和過氧化氫酶(catalase, CAT)的活性增加去清除 H_2O_2 以穩定其膜體結構，而後誘導隨後較高的活性氧(activated oxygen species, AOS)清除酵素活性，維持較低的氧化逆境程度，此結果亦說明F-11-09可降低高溫下非氣孔限制因子對光合作用之影響。

前言

全球暖化日趨嚴重，聯合國政府間氣候變遷小組(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC)指出，近百年來地球平均溫度增加0.74°C，而未來20年的暖化率為每10年約0.2°C⁽³⁾，高溫顯然成為限制作物栽培之重要因子，其導致植株形態發育異常、營養元素吸收受阻、呼吸作用提高、淨光合作用能力降低等變化，進而影響作物產量與品質^(12,39)，Mitter(2006)亦指出高溫地區蔬菜生產量為只有溫帶地區的50%甚至更少。

蘿蔔(*Raphanus sativus L.*)為十字花科蘿蔔屬一年生蔬菜，原產自地中海沿岸至黑海地區，依地理性可區分為五個變種(variety)⁽¹⁷⁾；葉用蘿蔔(*R. sativus L. var.*



oleiformis Pers.)因生育期短且營養成分豐富，成為日本及臺灣地區新興葉用蔬菜⁽²⁾，雖可終年生產，但仍以低溫環境下有較佳的產量及品質，且目前的品種耐熱性均不佳。為了提供臺灣夏季蔬菜生產多樣化及穩定性，選育適合耐高溫之品種(系)有其必要性。

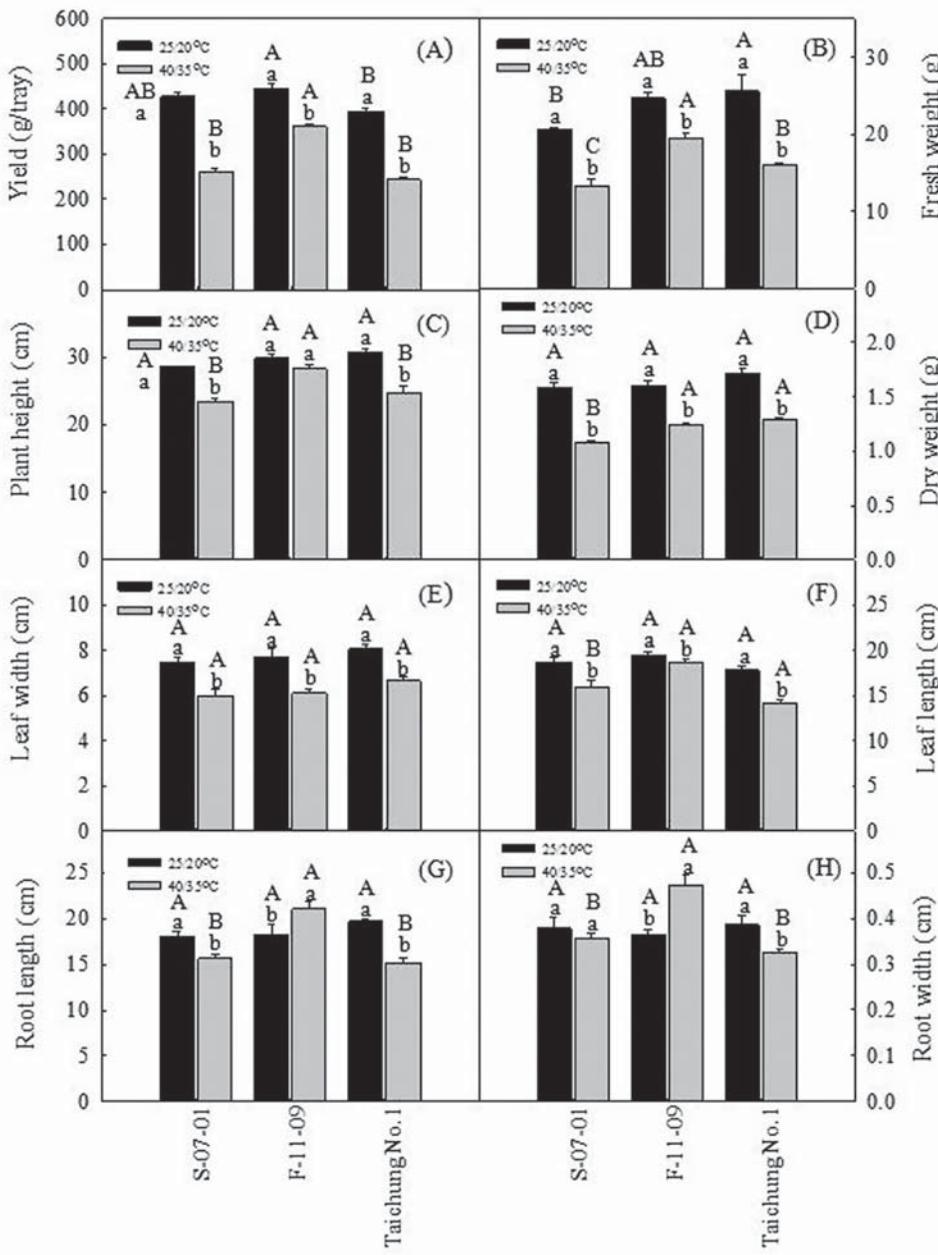
植物受到高溫逆境後隨即進入一連串熱逆境反應(heat shock response, HSR)步驟，包含氧化逆境形成、訊息接收及傳遞、轉錄調控及逆境反應機制等^(18,41)，透過氣孔形態變化、膜穩定性維護、活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)清除、促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和鈣離子蛋白激酶(calcium-dependent protein kinase, CDPK)活化、熱激轉錄因子(heat shock transcription factor, Hsf)調控、熱休克蛋白(hear shock protein, HSP)產生等形態、生理、生化及分子層次的適應和馴化，以達到耐熱性(heat tolerance)^(8,33,37,40)。植物的耐熱性是可遺傳的生理反應⁽¹⁵⁾，若能了解植物在高溫逆境下之反應及不同耐熱性種原之差異性，有助於育種工作的進行。

因此，本試驗選擇3個不同耐熱性之葉用蘿蔔品種(系)為材料，包含新選育之耐熱品系F-11-09，探討其在高溫逆境下生育、生理、生化及解剖形態上之變化，試圖解釋其耐熱性表現差異之原因，並做為日後耐熱育種工作之參考。

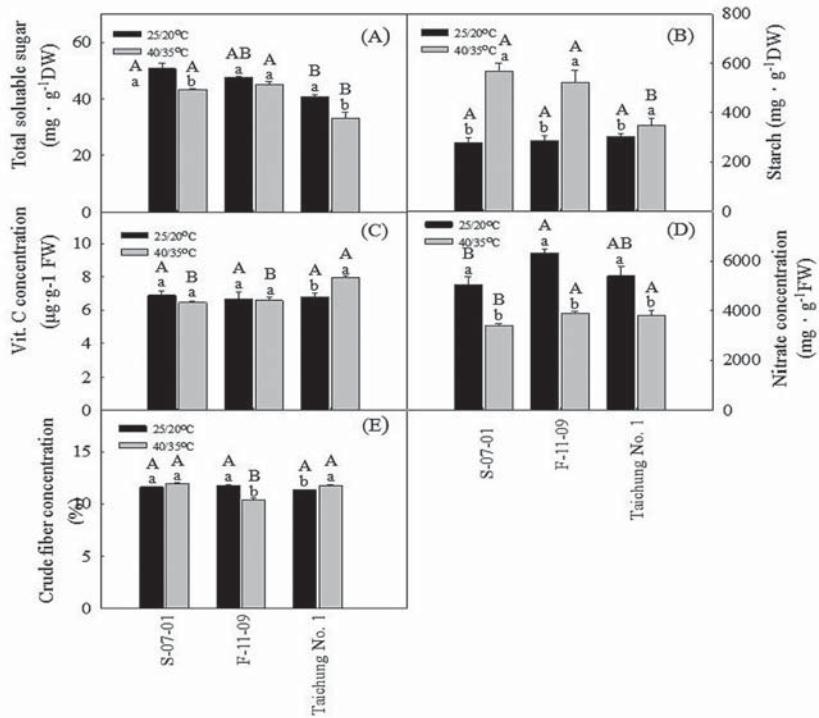
內 容

三品種(系)葉用蘿蔔相對於栽培於25/20°C環境下，40/35°C高溫、28天處理均造成其植株產量、地上部鮮乾重、株高、葉長及葉寬減少，但高溫栽培下耐熱品系F-11-09植株高度無顯著差異，地下部根長與根寬反而增加，其他兩品種(系)則呈下降趨勢(圖1)。高溫造成植體總可溶性糖(total soluable super / TSS)含量減低，但對F-11-09則無顯著影響，而高溫下植體澱粉含量增加，增加比例以不耐熱品種'Taichung No. 1'最少；高溫下'Taichung No. 1'植體維生素C含量增加，其他兩品系則無顯著差異；另三參試品種(系)於高溫下其硝酸鹽含量均減少，而在粗纖維含量方面，則呈現品種差異，高溫下S-07-01無差異，耐熱品系F-11-09含量降低而不耐熱品種'Taichung No. 1'則增加(圖二)。

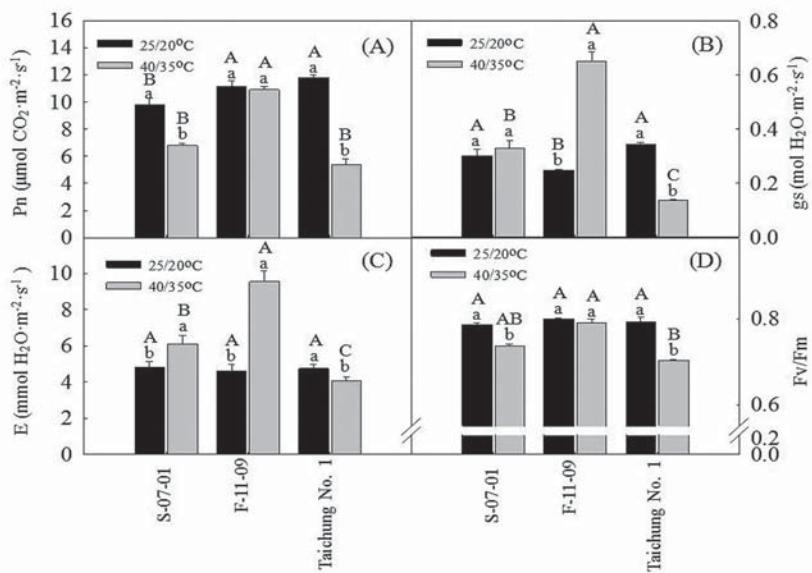
在光合作用相關生理表現方面，耐熱品系F-11-09高溫下淨光合作用(Pn)及葉綠素螢光(Fv/Fm)不受影響，S-07-01及'Taichung No. 1'高溫下Pn及Fv/Fm減少，其中又以不耐熱品種'Taichung No. 1'減少比例較多。氣孔導度(gs)和蒸散速率(E)變化因品種耐熱性而不同，F-11-09之gs和E在高溫下顯著增加，S-07-01變化不顯著或略為提高，反之'Taichung No. 1'則皆呈現下降表現(圖三)。



圖一、葉用蘿蔔三品種(系)植株栽培於25/20°C和40/35°C下28天其產量與植株性狀之表現。



圖二、葉用蘿蔔三品種(系)植株栽培於25/20°C和40/35°C下28天其總可溶性醣(A)、澱粉(B)、維生素C(C)、硝酸鹽(D)及粗纖維(E)濃度。



圖三、葉用蘿蔔三品種(系)植株栽培於25/20°C和40/35°C下28天其淨光合作用(A)、氣孔導度(B)、蒸散速率(C)及葉綠素螢光值(D)之表現。



溫度、品種(系)和其相互作用對於葉片氣孔密度、張開氣孔比例、氣孔長寬、氣孔開張度及單位葉面積氣孔開張率均有顯著影響(表一)。高溫增加耐熱品系F-11-09之開張氣孔比例但未影響其氣孔密度，而不耐熱品種'Taichung No.1'則降低其開張氣孔比例但增加氣孔密度。大致而言在25/20°C下，S-07-01之氣孔開張度約為F-11-09和'Taichung No.1'之兩倍以上，然而在40/35°C環境下，F-11-09氣孔開張度提升了5倍、氣孔張開率增加至93%，且提升了6倍單位面積氣孔開張率，但'Taichung No. 1'反而明顯減少，而S-07-01則無顯著差異(圖四)。又將三品種(系)在25/20°C及40/35°C環境栽培28天後之單位葉面積氣孔開張率與其相對應之gs和E進行相關性分析，兩者間呈現一高度正相關，決定係數R²分別為0.87和0.98(圖五)。

表一、葉用蘿蔔三品種(系)植株栽培於25/20°C和40/35°C下28天其葉片氣孔密度、張開氣孔比例、氣孔長、氣孔寬、氣孔開張面積及單位面積氣孔開張率。

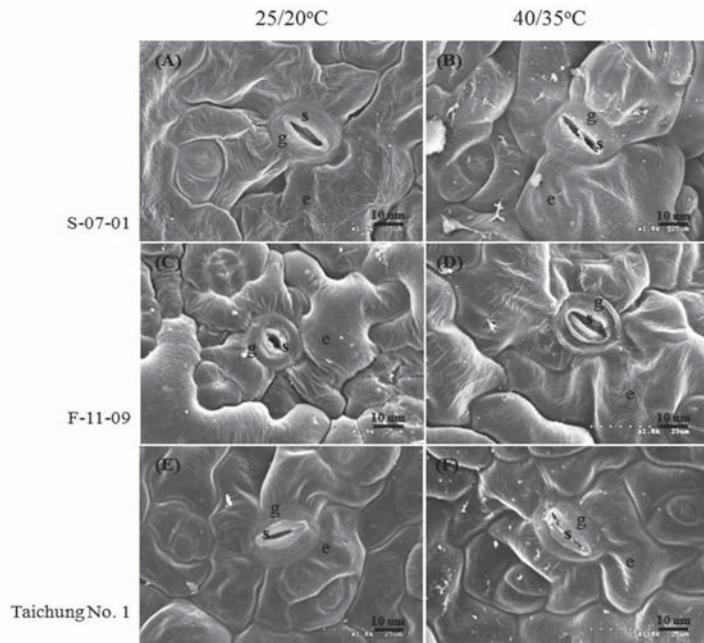
Line	Stomatal density (No./cm ²)	Opened stomata percentage (%)	Stomatal			Occupancy of total stomatal apertures on leaf ^y (%)
			Width (um)	Length (um)	Aperture ^z (um ²)	
25/20°C						
S-07-01	41.2 Ba ^x	44.1Bb	1.07 Aa	15.9 Aa	13.4Aa	0.024Ab
F-11-09	60.5 Aa	76.4Ab	1.04 Ab	5.6 Cb	4.7Bb	0.022Ab
Taichung No.1	35.5 Cb	38.9Ba	0.79 Ba	10.3 Bb	6.4Ba	0.009Ba
40/35°C						
S-07-01	44.8 Ba	57.6Ba	1.12 Ba	16.7 Aa	14.7Ba	0.038Ba
F-11-09	58.5 Aa	92.8Aa	2.81 Aa	10.8 Ba	23.8Aa	0.129Aa
Taichung No.1	55.1 Aa	15.7Cb	0.22 Cb	16.4 Aa	2.8Cb	0.002Cb
Temperature (T)	***	**	***	**	**	***
Line (C)	***	***	***	***	***	**
TxC	***	**	**	***	***	**

^z Stomatal aperture was estimate according to the equation for ellipse area: $1/4 \times (\text{length} \times \text{width} \times \pi)$.

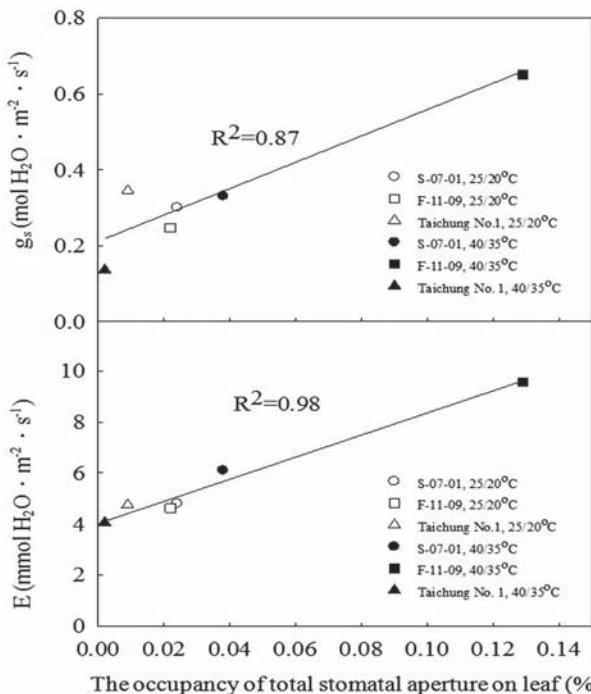
^y The occupancy of total stomatal apertures on leaf was estimate according to the equation : stomatal density \times opened stomata ratio \times stomatal aperture \times 100%.

^x Different lowercase letters indicate significant differences between treatments at each lines and different uppercase letters indicate that among lines at each temperature treatment by least significant difference at P<0.05

,* Means significant at P<0.01 and 0.001, respectively.

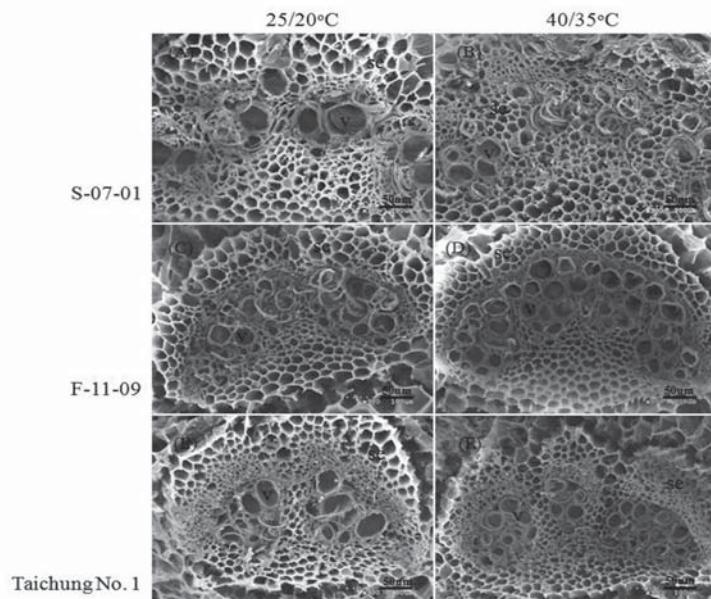


圖四、葉用蘿蔔三品種(系)植株栽培於 $25/20^{\circ}\text{C}$ 和 $40/35^{\circ}\text{C}$ 28天葉表皮氣孔形態。



圖五、葉用蘿蔔三品種(系)植株栽培於 $25/20^{\circ}\text{C}$ 和 $40/35^{\circ}\text{C}$ 下28天葉片單位面積氣孔開張率和氣孔導度(A)及蒸散作用(B)之相關性。

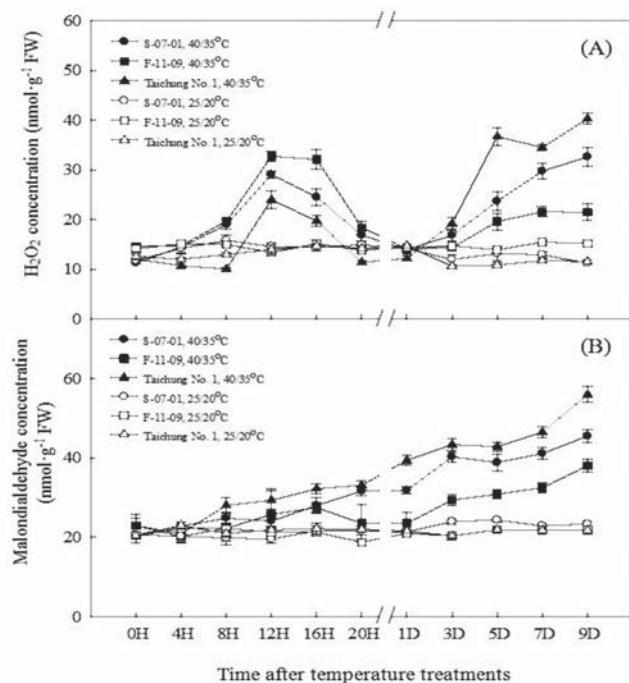
從葉柄橫切面維管束觀察可見高溫對木質部導管組織數量影響，耐熱品系F-11-09在40/35°C、28天環境下生長發展出較多的導管細胞(vessel elements)且相互連接成一條狀，S-07-01和'Taichung No. 1'導管細數量雖增加但體積變小，且排列則較為鬆散(圖六)。



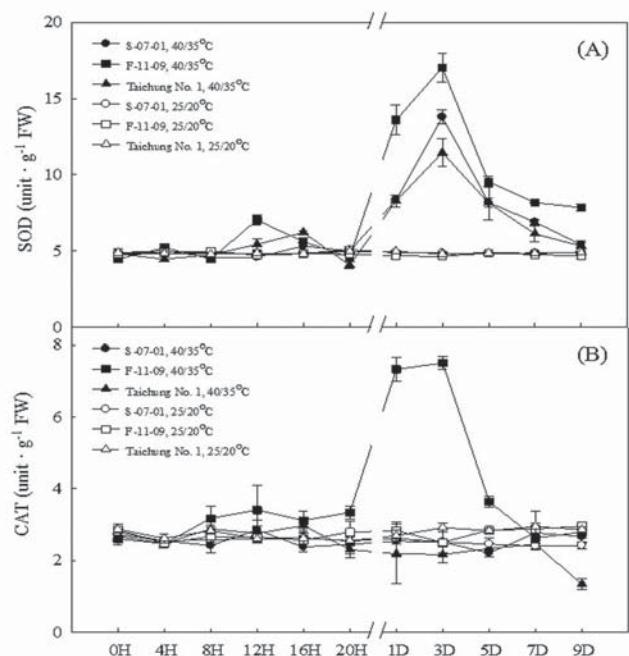
圖六、葉用蘿蔔三品種(系)植株栽培於25/20°C
和40/35°C下28天其維管束形態。

氧化逆境之指標H₂O₂和MDA濃度方面，三參試品種(系)在40/35°C、9天處理下之H₂O₂濃度均呈現上升趨勢，第一個高峰出現在高溫處理後12~16小時而後下降，以F-11-09增加量最多，其次為S-07-01和'Taichung No. 1'，且F-11-09和S-07-01濃度開始增加時間約較'Taichung No. 1'提早4小時；第二個高峰出現在高溫處理後第3天，但以'Taichung No. 1'濃度較高，其次為S-07-01和F-11-09。MDA濃度在高溫逆境下變化和H₂O₂有些許不同，其濃度隨著高溫處理時間延長逐漸增加，其中又以'Taichung No. 1'開始增加時間較早且量較多，耐熱品系F-11-09則無明顯的變化(圖七)。

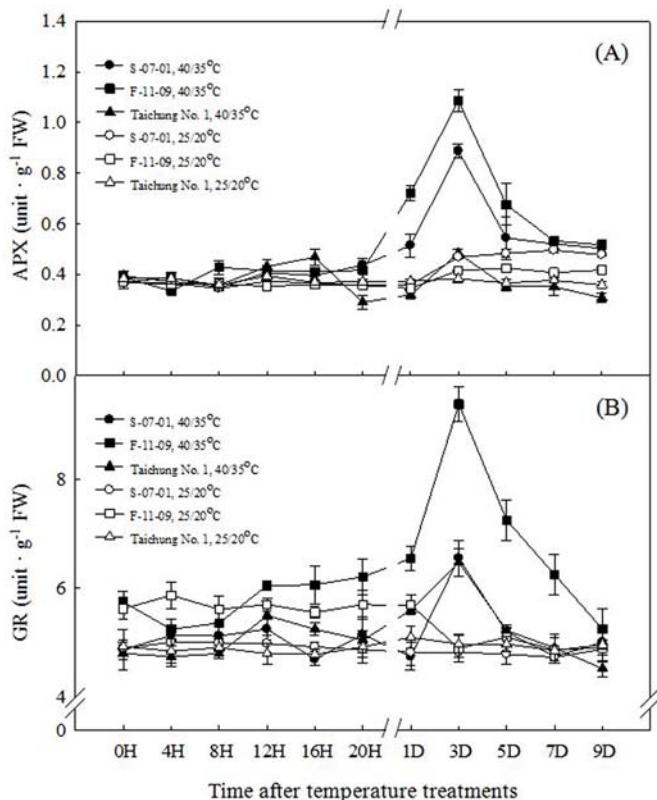
抗氧化酵素SOD和CAT活性變化和H₂O₂累積時間相符合，F-11-09之SOD和CAT活性增加高峰在出現高溫處理12小時內，但S-07-01和'Taichung No. 1'活性卻無變化；而後SOD活性在第1~3天開始增加至第5天下降，為第二個高峰，F-11-09之CAT活性變化亦為相似表現，活性增加超過3倍，然而S-07-01和'Taichung No. 1'CAT活性方面則無變化(圖八)。在APX和GR活性趨勢方面，也和H₂O₂累積時間相符合，其活性在高溫處理後第3天達到高峰而後降低，活性增加量以耐熱品種F-11-09最高，其次為S-07-01，'Taichung No. 1'則最低(圖九)。



圖七、葉用蘿蔔三品種(系)植株於25/20°C和40/35°C處理9天下葉片過氧化氫(A)及丙二醛(B)濃度之變化。



圖八、葉用蘿蔔三品種(系)植株於25/20°C和40/35°C處理9天下葉片超氧化物歧酶(A)和過氧化氫酶(B)活性之變化。



圖九、葉用蘿蔔三品種(系)植株於25/20 °C和40/35 °C處理9天下葉片抗敗血酸過氧化酶(A)和谷胱甘肽還原酶(B)活性之變化。

結 語

田間栽培環境下，高溫往往和水分利用性減少相關⁽³⁵⁾，溫度提升造成葉片水分潛勢大量的減少^(8,27)，前人研究中曾評估高溫及乾旱逆境同時發生時對於作物生育及產量之影響，其結果顯示，兩逆境結合相較於單一逆境對於作物所造成之傷害明顯較為嚴重。菸草(*Nicotiana tabacum* L)在高溫逆境下，為使熱量快速散失，氣孔導度則相對增加，但當高溫及乾旱同時發生，氣孔導度較正常環境下生長之植株低，約和乾旱下植株氣孔導度相同，且葉面溫度在兩同時發生時較分別單一逆境來的高⁽³¹⁾，而當水分足夠時，植物傾向維持穩定的組織水分狀態不論溫度變化⁽²⁴⁾。本試驗在40/35 °C高溫處理期間提供足夠的水分以避免乾旱影響，因此由鮮乾重數據計算水分含量，不論在40/35 °C或25/20 °C下，參試品種(系)葉片水分含量介於91.8%~93.6%，並無顯著差異(圖一)。

高溫為作物生長之重要限制因子，其往往導致植株形態發育異常、營養元素吸收受阻、呼吸作用提高、淨光合作用能力降低等變化，進而影響作物產量與品質^(12,39)。本試驗中，葉用蘿蔔除產量和植株性狀受高溫影響外(圖一)，植體品質亦如此(圖2)。其中，植體TSS濃度除耐熱品系F-11-09不受影響外，其餘兩品



種(系)均減少(圖二)，其原因可能為高溫下光合作用能下降(圖三)、葉綠體基粒數減少、粒線體結構發生破壞⁽¹⁾，又呼吸作用在高溫下提升、醣類代謝相關酵如蔗糖代謝相關之蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶和轉化酶活性降低，造成植體碳水化合物含量降低所致^(4,10,25)；*Agrostis stolonifera* L.總非結構性碳水化合物(total nonstructure carbohydrate, TNC)的濃度、果聚醣、澱粉、葡萄糖、蔗糖在35/28°C均呈現減少現象，而其耐熱品系L-93其含量顯著高於不耐熱之'Penncross'，可能為重要的耐熱生理特徵⁽²³⁾。

植物光合作用形成的同化產物主要以蔗糖的型式通過韌皮部向外運輸外，同時有一部分以澱粉的形式在葉片內累積。本試驗中，高溫下葉片澱粉含量累積，累積量以不耐熱之'Taichung No. 1'較少(圖二)，可能的原因為光合作用率在高溫下降低較顯著(圖三)因此葉綠體中澱粉累積減少，但同時呼吸作用增加，因此累積之澱粉經由澱粉酶(amylose)分解成葡萄糖進入糖解作用所致。

然而高溫下光合作用下降可分為氣孔與非氣孔因素限制⁽²⁶⁾。葉用蘿蔔在40/35°C高溫下，其氣孔導度、蒸散作用以至氣孔密度、張開氣孔率的變化與調整呈現品種(系)間差異性。耐熱品系F-11-09單位葉面積氣孔開張率增加，反之在熱敏感品種'Taichung No. 1'減少(圖三、表一)，而'Taichung No. 1'不耐熱原因之一可就是因為不能夠有效的經由氣孔蒸散除去累積的熱，因此造成光系統II(PSII)傷害，導致Fv/Fm和Pn的下降⁽³⁶⁾。其中單位葉面積氣孔開張率和gs與E相關性高，其決定系數分別為0.87、0.98(圖五)，確認了氣孔因素對於葉用蘿蔔耐熱性扮演著重要的角色。然而現這樣的氣孔限制並未表現在F-11-09和S-07-01，因耐熱品系F-11-09亦發展其他機制以適應高溫而為維持Pn與PSII的穩定。

本試驗結果推測耐高溫品種F-11-09可藉由解剖組織上的調適更有效的消除熱及增加水分吸收，如氣孔開張度增加5倍、提升了開張氣孔率至92.8%和增加木質部導管組織，因而提升了兩倍的gS和E(圖四)，但在氣孔密度上則無顯著變化(表一)。

在其他十字花科蔬菜耐熱形態變化方面，高溫下結球白菜葉片氣孔密度降低，可能有利於水分運輸到葉片並抑制蒸散，使得結球期遇到高溫仍能保持細胞膨壓⁽²⁰⁾。甘藍耐熱品種在高溫環境下，葉片表面蠟粉晶粒緻密⁽⁴²⁾，葉肉細胞結構仍能保持正常狀態和完整性，而不耐熱品種其葉綠體膜斷裂、解體、類囊體片層鬆散、排列紊亂，基質片層模糊不清⁽⁵⁾。根用蘿蔔耐熱品種具有表皮氣孔密度大、體積小、開度小，葉肉細胞排列緊密，很少出現質壁分離，葉柄維管束總面積大，具有發達的形成層及厚壁組織，耐熱品種葉柄內維管束總面積是不耐感品種的1.5倍以上且有發達的形成層和厚壁組織，在高溫逆境下保水能力強⁽⁷⁾。

此外，氧氣在參與細胞新陳代謝的過程中，容易被活化成為具強氧化力的活性氧(Activated oxygen species, AOS)，正常情況下植物體內AOS的產生和清除處於動態平衡狀態，但逆境下AOS大量產生而抗氧化系統對於AOS清除能力下降，故發生氧化傷害，植物在正常生長狀況下，細胞中AOS的產生量很低， O_2^- 在葉綠體中的產生速率為 $240 \mu M \cdot s^{-1}$ 、 H_2O_2 到達平衡的濃度為 $0.5 \mu M$ ，環境逆境促使 O_2^- 產生速率增加至 $720 \mu M \cdot s^{-1}$ 、 H_2O_2 濃度提高至 $5\sim15 \mu M$ ，造成膜脂質、蛋白質、酵素活性抑制及DNA與RNA的損傷，進而造成細胞內氧化逆境^(14,22,34,44)。

本試驗中，氧化逆境指標 H_2O_2 和 MDA 在高溫逆境下呈現上升趨勢且品種(系)間差異性大，顯示受到氧化逆境程度不同，不論在9天或28天高溫處理後，皆以耐熱品系F-11-09之濃度最低而'Taichung No. 1'最高(圖七)，顯示如何有效率的減少AOS造成的氧化逆境為植物耐逆境的重要機制。

檢視三品種(系) H_2O_2 和 MDA 濃度累積的時間及其相對應的抗氧化酵素活性變化，只有耐熱品系F-11-09在高溫處理後24小時內提升其SOD和CAT活性，此時 H_2O_2 濃度亦增加，在S-07-01與'Taichung No. 1'則未出現此現象；而隨著處理時間延長，F-11-09仍表現較高的抗氧化酵素活性，特別是CAT活性顯著提升，且維持較低的 H_2O_2 和 MDA 濃度，在S-07-01及 'Taichung No. 1'並無此表現(圖七、八、九)，因此CAT活性變化可作為耐熱性篩選的指標之一。

SOD主要的作用是將 O_2^- 轉換成 H_2O_2 ，為防禦系統的第一線，進行之歧化作用會被金屬離子所催化，具有Mn-SOD、Fe-SOD和Cu/Zn-SOD三種同功酶，分別位於粒線體、葉綠體細胞質，且均由核基因所控制。SOD在不同逆境下的調控及反應有差別，顯示與植體對逆境的忍受性有關^(26,32)，因此依據本試驗結果，高溫逆境下24小時內SOD變化可作為另一評估葉用蘿蔔耐熱指標之一。

除此之外， H_2O_2 除了為氧化逆境下之產物外，因其高穩定性和較長的半衰期，亦被認為生物或非生物逆境下訊息分子⁽²⁹⁾，且前人研究中利用外施 H_2O_2 前處理植株可增加其環境耐受性^(24,38,41)。本試驗中顯現出高溫處理下前24小時之 H_2O_2 高峰(圖5.14A)應該扮演著訊息的角色，而後誘導AOS清除酵素活性。此外，在其他AOS清除酵素作用之前，耐熱品系F-11-09可藉由SOD/CAT去清除訊息 H_2O_2 ，以維持較低的氧化逆境程度，而後明顯誘導其他AOS清除酵素活性提升，此結果亦說明葉用蘿蔔耐熱品系可透過抗氧化酵素系統的調適，降低高溫下非氣孔限制因子對光合作用之影響。



參考文獻

1. 朱德民 1995 植物與環境逆境明文書局臺北。臺灣。
2. 李文汕 2006 蘿蔔臺灣農家要覽：農作篇(二)。豐年社臺北 p.247~252。
3. 周佳、劉紹臣 2011 全球氣候變遷觀測。臺灣氣候變遷科學報告2011行政院國家科學委員會臺北 p. 59~90。
4. 柯勇 2002 植物生理學藝軒圖書出版社臺北。臺灣。
5. 苗琛、利容千、王建波 1994 甘藍熱脅迫葉片細胞的超微結構研究。植物學報 36:730~732。
6. 鄭文瑛 1997 新鮮蔬果內硝酸離子和維他命C含量、分佈及貯藏期間的變化。國立臺灣大學園藝學系碩士論文臺北。
7. 韓笑冰、利容千、王建波 1997 热脅迫下蘿蔔不同耐熱品種細胞組織結構比較。武漢植物學研究 15:173~178。
8. Ba~non, S., J.A. Fernandez, J.A. Franco, A. Torrecillas, J.J. Alarc'on and M.J. S'anchez-Blanco. 2004. Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Sci. Hort.* 101:333-342.
9. Cui, L., J. Li, Y. Fan, S. Xu and Z. Zhang. 2006. High temperature effects on photosynthesis, PSII functionality and antioxidant activity of two *Festuca arundinacea* cultivars with different heat susceptibility. *Bot. Studies* 47:61-69.
10. Ebrahim, M.K., O. Zingsheim and M.N. Shourbagy. 1998. Growth and sugar storage in sugarcane grown at temperatures below and above optimum. *J. Plant Physiol.* 153: 593-602.
11. Foster, J.G. and J.L. Hess. 1980. Responses of superoxide dismutase and glutathione reductase activities in cotton leaf tissue exposed to an atmosphere enriched in oxygen. *Plant Physiol.* 66:482-487.
12. Hall, A.E. 2001. Crop response to environment. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida.
13. Heath, R.L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125:189-198.
14. Hung, S.H., C.W. Yu and C.H. Lin. 2005. Hydrogen peroxide functions as stress signal in plants. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 46:1-10.

15. Ismail, A.M. and A.E. Hall. 1999. Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Sci.* 39:1762-1768.
16. Jana, S. and M.A. Choudhuri. 1981. Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperm during aging. *Aquat. Bot.* 12:345-354.
17. Kaneko, Y., C.K. Takagi, S.W. Bang and Y. Matsuzawa. 2007. Radish, p.141-160. In: C. Kole (ed). *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*. Springer Ind. NY. USA.
18. Kotak, S., J. Larkindale, U. Lee, P. Koskull-Döring, E. Vierling and K.D. Scharf. 2007. Complexity of the heat stress response in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10:310-316.
19. Kato, M. and S. Shimizu. 1985. Chlorophyll metabolism in higher plant. VII. Chlorophyll degradation in senescing tobacco leaves: Phenolic dependent peroxidative degradation. *Can. J. Bot.* 65:729-735.
20. Kuo, C.G. 1999. Vegetable improvement for heat-tolerance under tropical conditions. *JIRCAS Working Rpt.* 14:3.
21. Larkindale, J. and B. Huang. 2004. Thermotolerance and antioxidant system in *Agrostis stolonifera*: involvement of salicylic acid, abscisic acid, calcium, hydrogen peroxide and ethylene. *J. Plant Physiol.* 141:405-413.
22. Liu, X. and B. Huang. 2000a. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bent grass. *Crop Sci.* 40:503-510.
23. Liu, X and B. Huang. 2000b. Carbohydrate accumulation in relation to heat stress tolerance in two creeping bentgrass cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125:442-447.
24. Machado, S. and G.M. Paulsen. 2001. Combined effects of drought and high temperature on water relations of wheat and sorghum. *Plant Soil* 233:179-187.
25. Miron, D.S. 1991. Sucrose phosphate synthase, sucrose, sucrose synthase, and invertase activities in developing fruit of *Lycopersicon esculentum* Mill. and the sucrose accumulating. *Plant Physiol.* 95:623-627.
26. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7:405-410.
27. Morales, D., P. Rodríguez, J. Dell'Amico, E. Nicolás, A. Torrecillas and M.J. Sánchez-Blanco. 2003. High-temperature preconditioning and thermal shock



- imposition affects water relations, gas exchange and root hydraulic conductivity in tomato. *Biol. Plant.* 47:203-208.
28. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22:867-880.
29. Okuda, T., Y. Matsuda, A. Yamanaka and S. Sagisaka. 1991. Abrupt increase in the level of hydrogen peroxide in leaves of winter wheat is caused by cold treatment. *Plant Physiol.* 97:1256-1267.
30. Paoletti, F., D. Aldinucci, A. Mocali and A. Caparrini. 1986. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts. *Anal. Biochem.* 154:536-541.
31. Rizhsky, L. H. Liang and R. Mittler. 2002. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. *Plant Physiol.* 130:1143-1151.
32. Rui, R.L., Y.Q. Nie and H.Y. Tong. 1990. SOD activity as a parameter for screening stress tolerant germplasm resources in sweet potato (*Lpomoea batatas* L.). *J. Agr. Sci.* 6: 52-56.
33. Sairam, R.K. and A. Tyagi. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stresstolerance in plants. *Curr. Sci.* 86:407-421.
34. Sarvajeet, S.G. and T. Narendra. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48:909-930.
35. Simoes-Araujo, J.L., N.G. Rumjanek and M. Margis-Pinheiro. 2003. Small heat shock proteins genes are differentially expressed in distinct varieties of common bean. *Braz. J. Plant Physiol.* 15:33-11.
36. Souza, R.P., E.C. Machadoa, J.A.B. Silva, A.M.M.A. Lagoa and J.A.G. Silveira. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environ. Expt. Bot.* 51:45-56.
37. Sung, D.Y., F. Kaplan, K.J. Lee and C.L. Guy. 2003. Acquired tolerance to temperatureextremes. *Trends Plant Sci.* 8:179-187.
38. Uchida, A., A.T. Jagendrof, T. Hibino and T. Takabe. 2002. Effect of hydrgoen peroxide and nitroc oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sci.* 163:515-523.
39. Wahid, A., S. Gelani, M. Ashraf and M.R. Foolad. 2007. Heat tolerance in plants:

- An review. Environ. Expt. Bot. 61:199-223.
40. Wahid, A., S. Sehar, M. Perveen, S. Gelani, S.M.A. Basra and M. Farooq. 2008. Seed pretreatment with hydrogen peroxide improves heat tolerance in maize at germination and seedling growth stages. Seed Sci. Tech. 36:633-645.
41. Wang, W., B. Vinocur and A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta 218:1-14.
42. Welker, O.A. and S. Furuya. 1994. Surface structure of leaves in heat tolerant plants. J. Agron. Crop. Sci. 173:279-288.
43. Wintermans, J.F. and A. De Mots. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll a and band their pheophytins in ethanol. Biochem. Biophys. Acta Hort. 109:448-453.
44. Xu, S., J. Li, X. Zhang, H. Wei and L. Cui. 2006. Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress. Environ. Expt. Bot. 56:274-285.