

CO₂ 浓度倍增对城市银杏 (*Ginkgo biloba*) 叶片 膜脂过氧化与抗氧化酶活性的影响

阮亚男^{1,2}, 何兴元^{1,*}, 陈 玮¹, 徐 胜¹, 徐文铎¹

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所 沈阳 110016 2. 辽宁大学 沈阳 110036)

摘要 :以生长在沈阳市区内的银杏为试材,使用开顶箱模拟法对倍增 CO₂ 浓度 (700 μmol mol⁻¹) 和正常空气 CO₂ 浓度 (≈ 350 μmol mol⁻¹) 条件下银杏生长参数,超氧阴离子自由基 (O₂^{-·}) 产生速率,丙二醛 (MDA) 含量,抗坏血酸 (ASA) 含量,超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 及谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性动态变化进行分析,探讨高浓度 CO₂ 对银杏膜脂过氧化与抗氧化酶活性的影响。结果表明,在短期 (60d) 内 CO₂ 浓度倍增使银杏细胞内 O₂^{-·} 产生速率与 H₂O₂ 含量减少,而 ASA 含量与 SOD、APX、GR 活性升高。与对照相比,大多数测定显示出显著差别。但较长期 (70d 以上) CO₂ 浓度倍增处理则使试验结果发生逆转,活性氧 O₂^{-·} 产生速率略有升高, SOD、APX、GR 活性略有下降, ASA 含量仍略高于对照 (但与对照相比差异并不显著), 长期 CO₂ 浓度倍增处理可能使试验结果发生逆转。

关键词 :CO₂ 倍增, 银杏, 膜脂过氧化, 抗氧化酶活性, 活性氧水平;

文章编号 :1000-0933 (2007) 03-1106-07 中图分类号 :Q945 Q948 文献标识码 :A

Effects of elevated CO₂ on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in *Ginkgo biloba*

RUAN Ya-Nan^{1,2}, HE Xing-Yuan^{1,*}, CHEN Wei¹, XU Sheng¹, XU Wen-Duo¹

1 Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China

2 Liaoning University, Shenyang 110036, China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (3) 1106 ~ 1112.

Abstract :To study the impact of elevated atmospheric CO₂ concentrations on activities of anti-oxidative enzymes and lipid peroxidation of trees, the superoxide anion (O₂^{-·}) generating rate, malondialdehyde (MDA) content, activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR), and ascorbic acid (ASA) content were periodically analyzed in leaves of *Ginkgo biloba* exposed in open-top chambers to either ambient (≈ 350 μmol mol⁻¹) or elevated (700 μmol mol⁻¹) CO₂ concentrations in urban area for a growing season. The results show that elevated CO₂ exposure in the short-term reduced generating rate of superoxide anion radical and content of hydrogen peroxide. Malondialdehyde (MDA) content as an index of lipid peroxidation was also decreased. The activities of SOD, APX and

基金项目 :国家自然科学基金重大研究计划重点资助项目 (90411019);中国科学院知识创新工程重要方向资助项目 (kzcx3-sw-436);中国科学院沈阳应用生态研究所创新资助项目 (SLYQY0414)

收稿日期 :2005-12-30;修订日期 :2007-01-12

作者简介 :阮亚男 (1975 ~), 女, 辽宁鞍山人, 博士, 主要从事城市森林、植物生理生态学研究. E-mail :ruanyanan@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail :uforest@163.com

Foundation item :The project was supported by National Natural Science Foundation of China (No. 90102004); Foundation of Knowledge Innovation Program of Chinese Academy of Sciences (No. kzcx3-sw-43); Innovation Program of Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences (No. SLYQY0414)

Received date 2005-12-30; **Accepted date** 2007-01-12

Biography :RUAN Ya-Nan, Ph. D., mainly engaged in urban forest ecology. E-mail :ruanyanan@163.com

GR , and ascorbate content were increased by high CO₂ exposure. However the results were reversed by the long-term elevated CO₂ exposure. Generating rate of superoxide anion radical and content of hydrogen peroxide slight increased , the activities of SOD , APX and GR tiny declined and ASA content increased. These results were not significant difference compared to control. It is concluded that the activities of antioxidant system in *Ginkgo biloba* increased and the ability of scavenging reactive oxygen enhanced. However , the antioxidant ability might be declined by the long - term high CO₂ exposure.

Key Words : *Ginkgo biloba* ;elevated CO₂ concentration ;anti-oxidantive enzymes ;level of reactive oxygen

CO₂作为最重要的温室气体 其浓度已经从工业革命前的 270 μmol/mol 左右增至目前的 360 μmol/mol , 而且仍以每年 1 ~ 1.5 μmol/mol 的速度上升^[1]。CO₂是植物光合作用最重要的 C 源 ,其浓度的倍增对于农业以及自然生态系统有着深远的影响^[2]。高浓度 CO₂通过提高净光合速率 ,增加光合产物而影响植物生长 ,增加生物量^[3~5]。高浓度 CO₂能否增强植物自身的抗性 ,提高植物对逆境的抵抗能力 ,已经引起众多学者的关注 ,但相关研究大多以农作物及天然林为试验对象^[6,7] ,对于城市森林的研究很少。

活性氧 (如 O₂⁻、H₂O₂)是植物体内正常代谢的产物 ,当植物遭遇逆境时 ,活性氧产生速率升高。过量的活性氧能够启动膜脂过氧化连锁反应 ,使细胞膜稳定性降低 ,离子渗漏增加。为了避免氧化伤害 ,植物体内有一套由抗氧化酶 (包括 SOD、POD、APX、GR 等)和小分子抗氧化剂 (包括 ASA、GSH 等)组成的高效抗氧化系统来抵御活性氧的攻击。抗氧化系统对活性氧的清除能力是衡量植物对逆境抵抗的关键因素之一^[8]。

由于银杏具有较高的观赏价值和经济价值 ,目前已经成为沈阳城市森林建设中大面积推广的引入树种 ,栽植总量约占沈阳市乔木总量的 5.06%。本文使用开顶箱模拟试验 ,对城市生长的银杏进行高浓度 CO₂熏蒸。测定 CO₂浓度倍增情况下银杏叶片生理指标的动态变化 ,特别是对其活性氧水平、膜脂过氧化程度及抗氧化酶活性进行分析 ,从而阐述 CO₂浓度倍增对城市银杏生长的影响。

1 试验材料与方法

1.1 试验区概况与试验材料

试验区位于中国科学院沈阳树木园 (41°46'N ,123°26'E) ,是沈阳市人口密集商业文化中心地带。在气候上属暖温带半湿润季风型大陆性气候 ,四季分明 ,雨热同期 ,土壤类型为地带性土壤——淋溶褐色土。试验主要设备为 6 个开顶箱 (直径 4 m ,高 3 m ,间距 4 m)及与其配套的通气控制设备 ,主要包括 CO₂红外传感器 (森尔 瑞典)实时监控开顶箱内 CO₂浓度 ,温湿度传感器实时采集开顶箱内温湿度数据 ,以及数据分析与自动控制充气系统。试验设两个处理 :CO₂浓度倍增 (700 μmolmol⁻¹)和对照 (自然 CO₂浓度 ,约 350 μmolmol⁻¹) ,每个处理设 3 次重复。

选取 6 年生银杏幼树为试验对象 ,于 2005 年 4 月初将其移栽在开顶箱内 ,常规管理。从 6 月 10 日银杏叶片完全展开时开始每日 24 h 不间断通气 ,到 9 月 30 日停止供气 (沈阳银杏 10 月中旬落叶)。自 6 月 20 日开始 ,每间隔 10d 在 9:00 左右取样 1 次 ,选取植株上部叶片 ,保温箱冰浴保存 ,当天开始试验。

1.2 测定指标与试验方法

1.2.1 超氧阴离子自由基 (O₂⁻)产生速率

取 0.5 g 叶片加入 0.0625 molL⁻¹、pH7.8 的磷酸缓冲液 (PBS)冰浴研磨 ,定容至 5 ml ,15000 g ,4℃ 下离心 20 min ,取上清液。参照王爱国方法测定 O₂⁻产生速率^[9]。

1.2.2 丙二醛 (MDA)含量

称取 0.5 g 叶片 ,用 0.05 molL⁻¹磷酸缓冲液 (pH7.8)研磨定容至 5 ml ,5000 g 离心 10 min ,取上清液加入 2 ml 含硫代巴比妥酸 (TBA)的 20% 三氯乙酸溶液 ,煮沸 15 min ,冷却后用分光光度计测定提取液 532 nm 和 600 nm 处光密度值 ,按 Dhindsa 和 Matowe 方法计算 MDA 含量^[10]。

1.2.3 抗坏血酸 (ASA)含量

取新鲜叶片 1g ,加入 5 ml 5% 三氯乙酸 (TCA)溶液 ,研磨成匀浆 ,以 4℃ 20000 g 离心 10 min ,上清液为提取液。ASA 的测定参照 Arakawa 等的方法 ,稍加修改^[1] ,测定 OD₅₃₄ 值。

1.2.4 超氧化物歧化酶 (SOD)活性

提取 0.5 g 叶片 (鲜重) ,加入 50 mmolL⁻¹ 盐酸缓冲液和 0.25% Triton X-100 4% PVP 0.1 mmolL⁻¹EDTA ,冰浴研磨 ,定容到 5 ml ,匀浆用 45 μm 尼龙纱过滤 ,13000 g 离心 5 min ,上清液为粗酶液。按 Giannopolitis 和 Ries 的方法测定酶活性 ,以抑制光还原 50% 的氮蓝四唑 (NBT)为一个酶活性单位 (U)^[2]。

1.2.5 抗坏血酸过氧化物酶 (APX)活性

0.5g 叶片 ,加入 3.5ml pH7.6 磷酸钾缓冲液 (内含 1 mmolL⁻¹ EDTA ,1 mmolL⁻¹ ASA (钠盐)和 4% PVP ,0.25% TritonX-100 ,研磨成匀浆后 ,加入 1.5ml (NH₄) SO₄ ,充分搅拌 ,用尼龙纱过滤后 ,4℃ ,16000g 离心 20min ,上清液为粗酶液。按 Nakamo 和 Asada 方法测定 APX 活性 ,以 290nm 处的吸光值变化作为 AsA 的消耗量 ,(消光系数为 2.8 (mmol/L)⁻¹cm⁻¹)^[3]。

1.2.6 谷胱甘肽还原酶 (GR)活性

按 Krivosheeva 等^[4]方法测定 GR 活性 ,340nm 吸光值表示 NADPH 消耗量 ,消光系数 6.2 (mmol/L)⁻¹cm⁻¹。

2 试验结果与分析

2.1 CO₂ 浓度倍增条件下银杏生长参数的变化

正常 CO₂ 浓度下银杏主枝在 (20 ~ 90d)内生长 (8.57 ± 1.01) cm ,侧枝生长 (6.04 ± 2.23) cm ;而在 CO₂ 浓度倍增情况下银杏主枝在 (20 ~ 90d)内生长 (12.33 ± 1.26) cm ,侧枝生长 (10.58 ± 3.48) cm ,二者差异显著 (*P* 值分别为 0.041 与 0.020) (表 1) 。说明高浓度 CO₂ 增加银杏枝生长量。

表 1 CO₂ 浓度倍增对银杏 20 ~ 90d 内生长参数 (主枝、侧枝长)的影响

Table 1 Effects of elevated CO ₂ exposure on growth parameters (axial shoot and lateral shoot lengths) of <i>Ginkgo biloba</i>			
处理 Treatment	时间 Time (d)	主枝 Axial shoot (cm)	侧枝 Lateral shoot (cm)
CO ₂ 自然浓度 Ambient CO ₂	20	25.10 ± 5.39	19.59 ± 3.75
	90	33.67 ± 5.69	25.63 ± 3.46
	20 ~ 90	8.57 ± 1.01	6.04 ± 2.23
CO ₂ 浓度倍增 Elevated CO ₂	20	25.0 ± 3.91	20.05 ± 1.59
	90	37.33 ± 3.06	30.63 ± 4.54
	20 ~ 90	12.33 ± 1.26	10.58 ± 3.48

Means ± S. D. (n = 4 ~ 8)

2.2 CO₂ 浓度倍增条件下银杏超氧自由基产生速率 (O₂^{-·})的变化

在试验的 50d 内 ,高浓度 CO₂ 处理银杏叶片的 O₂^{-·} 产生速率一直显著低于对照 (第 20 天除外) 。但此后高 CO₂ 处理植株的 O₂^{-·} 产生速率达到最低点之后迅速升高 ,在 60d 之后二者之间无显著差异 ,而且在 80 ~ 90d 时高 CO₂ 浓度环境下银杏 O₂^{-·} 产生速率略高于对照 (*P* 分别为 0.733、0.312 > 0.05) (图 1) 。这说明在短期内 CO₂ 浓度倍增可以降低 O₂^{-·} 的产生速率 ,但在试验后期对自由基产生的抑制作用在减弱或者消失。

2.3 CO₂ 浓度倍增条件下银杏丙二醛 (MDA) 含量变化

图 2 表明在 CO₂ 处理前 60d 中 ,处理植株的 MDA 含量变化趋势与对照植株均保持一致 ,而且显著低于对照。70d 以后处理植株的 MDA 含量迅速上升 ,略高于对照植株但差异不显著。MDA 含量的最低点出现在 CO₂ 处理的第 50 天 ,与 O₂^{-·} 产生速率的最低点出现时间基本一致 ,MDA 含量的变化与活性氧的积累是相联系的。随着 CO₂ 浓度倍增处理时间的增加 ,特别在 70d 后 ,CO₂ 处理使银杏叶片的 MDA 含量略有上升。

2.4 CO₂ 浓度倍增条件下银杏抗坏血酸 (ASA) 含量变化

在高浓度 CO₂ 处理 10d 后的银杏抗坏血酸含量与对照植株之间并无明显差异 ,随着曝露时间的延长 ,银杏叶片抗坏血酸含量上升 ,且与对照之间差异达到显著水平。但在试验末期 (80 ~ 90d) ,二者差异变得不显

著 (P 值分别为 0.115、0.208) (图 3)。结果表明,高浓度 CO₂ 使植物抗坏血酸含量增加,但在试验末期增加趋势减弱。

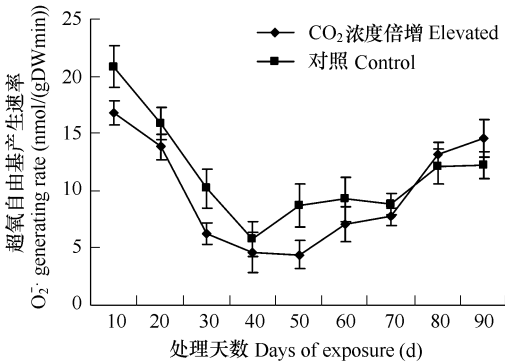


图 1 CO₂ 浓度倍增对银杏叶片 O₂⁻ 产生速率的影响

Fig. 1 Effects of elevated CO₂ on O₂⁻ generating rate in *Ginkgo biloba* leaves

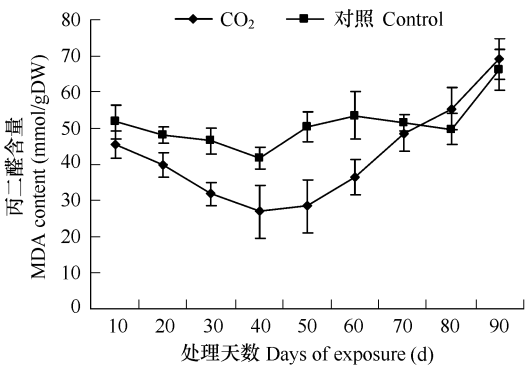


图 2 CO₂ 浓度倍增对银杏叶片丙二醛含量的影响

Fig. 2 Effects of CO₂ enrichment on MDA content in *Ginkgo biloba* leaves

2.5 银杏叶片超氧化物歧化酶 (SOD) 活性变化

在高浓度 CO₂ 处理前 10d, 处理植株的 SOD 活性上升 32%, 之后上升幅度虽略有下降, 但一直高于对照植株。在 70d 之后处理植株 SOD 活性迅速下降且低于对照植株但无显著差异 (图 4)。CO₂ 倍增熏蒸的银杏叶片 SOD 活性与 O₂⁻ 产生速率相关达到极显著水平 ($r = -0.837$)。这些结果表明, CO₂ 倍增短期处理可以使银杏叶片 SOD 活性上升对活性氧的清除能力增强, 但在处理后期 SOD 活性略有下降, 较长期的高浓度 CO₂ 处理对银杏的抗氧化能力有所影响。

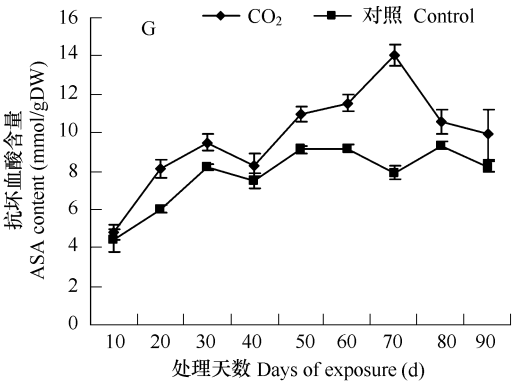


图 3 CO₂ 浓度倍增对银杏抗坏血酸含量的影响

Fig. 3 Effects of CO₂ enrichment on ASA content in *Ginkgo biloba* leaves

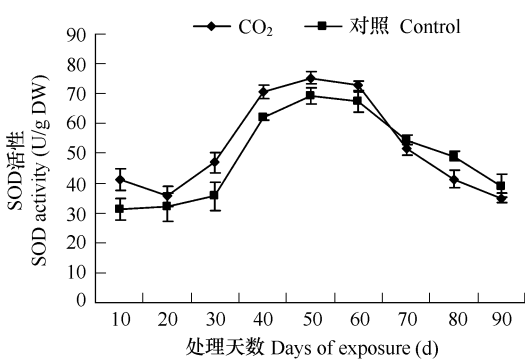


图 4 CO₂ 浓度倍增对银杏叶片 SOD 活性的影响

Fig. 4 Effects of CO₂ enrichment on SOD activity in *Ginkgo biloba* leaves

2.6 抗坏血酸过氧化物酶活性变化 (APX)

在植物细胞中, APX 利用抗坏血酸为电子供体将 H₂O₂ 转化为 H₂O。CO₂ 浓度倍增浓度处理银杏幼树的前 10d, APX 活性与对照相比无明显变化, 但随着熏蒸时间的延长, 处理植株 APX 活性迅速上升, 显著高于对照 (30d、50d 除外)。但 60d 时 APX 达到最高点, 之后高浓度 CO₂ 处理银杏 APX 活性迅速下降, 与对照之间差异不显著, 而且在 70d 之后 APX 活性低于对照, 90d 时显著低于对照 ($P = 0.009 < 0.05$) (图 5)。短期内高浓度 CO₂ 熏蒸能够提高植物 APX 活性, 但试验后期 APX 活性不再上升甚至下降。

2.7 谷胱甘肽还原酶活性变化 (GR)

谷胱甘肽还原酶 (GR)通过参与抗坏血酸-谷胱甘肽循环而在细胞活性氧的清除中起重要作用。图 6 表明 ,在高浓度 CO₂熏蒸 80d ,GR 活性高于对照。在 80d 之后 GR 活性略低于对照。但经方差分析 ,在整个生长季内只有 30d 时高 CO₂条件下银杏 GR 活性显著高于对照 ($P = 0.026 < 0.05$)。说明在银杏 GR 对 CO₂浓度倍增的反应并不敏感。

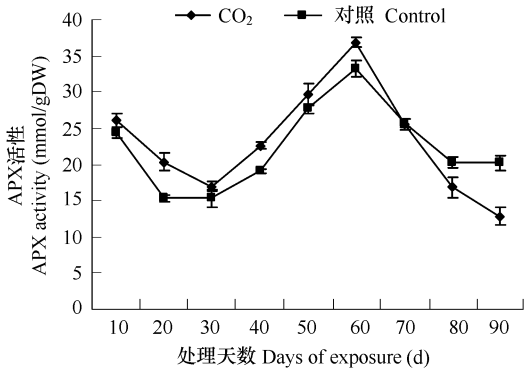


图5 CO₂浓度倍增对银杏叶片 APX 活性的影响

Fig. 5 Effects of CO₂ enrichment on APX activity in *Ginkgo biloba* leaves

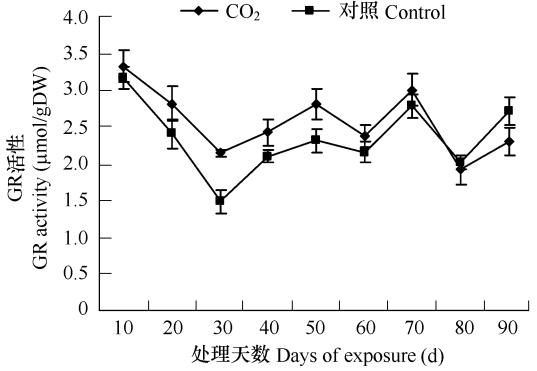


图6 CO₂浓度倍增对银杏叶片 GR 活性的影响

Fig. 6 Effects of CO₂ enrichment on GR activity in *Ginkgo biloba* leaves

3 结论与讨论

(1)大气中 CO₂浓度升高增加了 C₃植物中的羧化反应 ,同时碳的净同化作用也增加了 ,光合产物也相应增加 ,植物生长速度加快。高浓度 CO₂条件下银杏的主枝、侧枝生长量都比在正常 CO₂浓度下植株增加。

(2)作为光合作用反应底物 ,CO₂浓度的高低可以影响 Rubisco 的活性及催化方向 ,调节电子传递速率和不同支路之间的比例 ,因此 CO₂倍增不仅可以影响植物的光合作用而且可以调节活性氧的代谢状态^[15]。本试验发现 ,短期内 CO₂倍增条件下生长的银杏叶片的超氧产生速率低于对照 (试验后期除外) (图 1)。CO₂浓度升高能够增强植物光合作用^[3~5] ,光合碳水化合物的增加可以提高作为 PS I 电子受体的 NADP⁺的利用率 ,因而限制了电子传给分子氧 (O₂)的流量。Mehler 反应被抑制 ,毒性的 O₂⁻产生率减少。

(3)生物细胞膜发生膜脂过氧化的一个主要机制是活性氧自由基 (ROS)诱发膜脂不饱和脂肪酸发生连锁的过氧化反应 ,使脂肪酸发生降解 ,产生脂质过氧化物^[16,17]。丙二醛 (MDA)含量是反映膜脂过氧化作用强弱的一个重要指标。与对照相比 ,CO₂倍增条件下生长的银杏叶片的 MDA 含量显著下降 (图 2)。MDA 含量与 O₂⁻产生速率显著正相关 ($r = 0.724$)。在 CO₂浓度倍增条件下银杏膜脂过氧化程度减弱 ,说明在一定期间内高浓度 CO₂对防护银杏的氧化损伤具有一定的作用。

(4)在植物体正常代谢过程中亦有 ROS 产生 ,活性氧的清除主要由抗氧化物质和保护酶系统来完成的。抗坏血酸 (ASA)在 ASA-GSH 循环中发挥重要作用 ,它能清除有机自由基和 H₂O₂ ,也能直接清除 O₂⁻。Schwanz 等^[18]研究表明 ,高 CO₂条件下橡树 ASA 含量无明显变化 ,Meckee 等^[19]报道高浓度 CO₂使小麦 ASA 含量降低。而在本试验中 ,银杏 ASA 对高浓度 CO₂反应敏感 ,在处理前期 ASA 含量显著增加 ,而且抗坏血酸过氧化物酶 (APX)活性也相应升高。APX 以 2 分子 ASA 为底物将 H₂O₂还原为 H₂O ,因此高活性 APX 是与高 ASA 含量相一致的。Oksanen 等报道^[20] ,ASA 合成匮乏的拟南芥 ,其 APX 活性同样较低。谷胱甘肽还原酶 (GR)利用 NADPH 为电子供体再生谷胱甘肽。CO₂浓度倍增使银杏 GR 活性略有升高 ,但与对照之间差异不大。当生存环境改变时 ,GR 活性通常不能升高两倍以上 ,有时甚至不升高^[21]。SOD 作为植物抗氧化系统的第一道防线在生物体中普遍存在^[22]。高浓度 CO₂条件下 ,SOD 活性与 O₂⁻产生速率显著相关 ($r = -0.837$)。抗坏血酸-谷胱甘肽循环 (ASA-GSH cycle)则负责清除 H₂O₂ ,SOD 需要和它协作来共同完成清除活性氧和自由基的任务。

(5) 在短期内, CO_2 倍增条件下生长银杏叶片 SOD、APX 和 GR 酶活性都比对照有所升高, 而 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率和丙二醛含量都低于对照, 可见在高 CO_2 条件下抗氧化酶活性提高不是被活性氧浓度升高所刺激。彭长连等^[6]发现高浓度 CO_2 使水稻抗氧化酶活性降低, 认为膜脂过氧化程度的降低是由于活性氧产生量的减少所致。而林久生等^[17]认为 CO_2 浓度升高条件下小麦有更强的清除活性氧的作用, 与本试验结果相一致。 CO_2 倍增条件下银杏的抗性增强, 膜脂过氧化程度降低可能是由于高浓度 CO_2 能够提高叶绿体 PS I 内 NADP^+ 的利用率, 产生大量的 NADPH, 这些 NADPH 不仅能增强卡尔文循环而且能被用于 ASA-GSH 循环, 从而增加抗氧化酶活性。因此抗氧化酶对活性氧的清除能力增强, 细胞内活性氧含量降低, 对细胞的攻击能力减弱。

(6) 在生长季的大部分时间内 CO_2 浓度倍增条件下生长的银杏 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率及 MDA 含量都比对照略有下降, 而 ASA 含量、SOD、APX 与 GR 活性则比对照略有增加。这种对比趋势虽在生长季后期发生逆转, 但总的效果仍是使银杏的生长有所增加。但更长期生长在高浓度 CO_2 条件下植物的生理响应, 还有待于进一步研究。

综上所述, 短期 (大约两个月) 的 CO_2 浓度倍增条件可使银杏抗氧化能力增强, 减少活性氧的产生, 降低膜脂过氧化损伤, 并促进银杏的生长。但较长期高浓度 CO_2 条件则可能使此效果发生逆转。尽管总的生长量仍然是在高 CO_2 浓度下更高, 但这种趋势仍然值得重视。这种趋势和天气及植物生长节律的变化有什么关系, 以及更长期 (多个生长季) 的处理效应如何有待研究。

References :

- [1] Monique C, Laure H. Elevated atmospheric CO_2 in open top chambers increases net nitrification and potential denitrification. *Global Change Biology*, 2002, 8 : 590 — 598.
- [2] Ziska L H, Moya T B, Wassmann R, *et al.* Long-term growth at elevated carbon dioxide stimulates methane emission in tropical paddy rice. *Global Change Biology*, 1998, 4 : 657 — 665.
- [3] Long S P. Modification of the response of photosynthetic production to rising temperature by atmospheric CO_2 concentrations has its importance been under estimated? *Plant Cell Environ*, 1991, 14 : 729 — 739.
- [4] Alison Donnelly, Jim Craigon, Colin R Black, Jeremy J. Colls and Geoff Landon, Does elevated CO_2 ameliorate the impact of O_3 on chlorophyll content and photosynthesis in potato (*Solanum tuberosum*)? *Physiol Plant*, 2001, 111 : 501 — 511.
- [5] Remy Manderscheid, Stefan Burkart, Andreas Bamm, Hans Joachim Weigel. Effect of CO_2 enrichment on growth and daily radiation use efficiency of wheat in relation to temperature and growth stage. *Europ. J. Agronomy*, 2003, 19 : 411 — 425.
- [6] Peng C L, Lin Z F, Lin G Z. Changes of antioxidative ability in leaves of rice cultivars grown under enriched CO_2 . *Acta Agron Sin*, 1999, 25 : 39 — 43.
- [7] Peltonen, Petri A, Vapaavuori, Elina Julkunen-tiitto, Riitta. Accumulation of phenolic compounds in birch leaves is changed by elevated carbon dioxide and ozone. *Global Change Biology*, 2005, 11 : 1305 — 1324.
- [8] Foyer C H, Descourvierse P, Kunert K J. Protection against oxygen radicals : an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ*, 1994, 17 : 507 — 523.
- [9] Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. *Plant Physiol Communication*, 1990, 26 (6) : 55 — 57.
- [10] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 1997, 59 : 309 — 314.
- [11] Nobuhiko Arakawa, Kimiko Tsutsumi, Morlita G. Sanceda, Tadao Kurata, Choten Inagaki. A rapid and sensitive method for the determination of ascorbate acid using 4,7-Diphenyl-1,10-phenanthroline. *Agric. Biol. Chem.*, 1981, 45 (5) : 1289 — 1290.
- [12] Li J S, Wang H C. Effect of drought on the membrane permeability and lipid peroxidative in leaves of maize. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1983, 9 (3) : 223 — 229.
- [13] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol*, 1987, 22 : 867 — 880.
- [14] Krivosheeva A, Tao D L, Ottander C, Wingsle G, Dube S L, Oquist G. Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis in Scots pine. *Planta*, 1996, 200 : 296 — 305.
- [15] Lin J S, Wang G X. Effects of doubled CO_2 concentration on antioxidant enzymes and programmed cell death of wheat leaves under osmotic stress.

Acta Phytophysiologica Sinica 2000 ,26 (5) :453 — 457.

- [16] Chris B , Marc V H , Dirk I. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annu Rev Plant Pysiol Plant Mol Biol ,1992 ,43 :83 — 88.
- [17] Li B L , Mei H S. Relationship between oat leaf senescence and activated oxygen metabolism. Acta Phytophysiologica Scinica ,1989 ,15 (1) :2 — 6.
- [18] Schwanz Peter , Picon Catherine , Vivin Philippe , Dreyer Erwin , Guehl Jean-Marc , Polle Andrea. Responses of antioxidative systems to drought stress in pendunculate oak and maritime as modulated by elevated CO₂. Plant Physiol ,1996 ,110 :393 — 402.
- [19] Mekee I F , Eiblmeier M , Polle A. Enhanced ozone-tolerance in wheat grown at an elevated CO₂ concentration :ozone exclusion and detoxification. New Phytol ,1997 ,137 :275 — 284.
- [20] Oksanen E , Häikiö E H E , Sober J Karnosky D F. Ozone-induced H₂O₂ accumulation in field-grown aspen and birch is linked to foliar ultrastructure and peroxisomal activity. New Phytol ,2003 ,161 :791 — 799.
- [21] Pasqualini S , Batini P , Ederli L , Porceddu A , Piccioni C , Marchis D E F , Amtonielli M. Effects of short-term ozone fumigation on tobacco plants : response of the scavenging system and expression of the glutathione reductase. Plant , Cell and Environment ,2001. 24 :245 — 252.
- [22] Rurh Gene Alscher , Neval Erturk and Lenwood S. Heath , Role of superoxide disutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany ,2002 ,53 :1331 — 1341.

参考文献：

- [6] 彭长连 ,林植芳 ,林桂珠. 高浓度 CO₂对水稻叶片膜脂过氧化和抗氧化酶活性的影响. 中国水稻科学 ,1999 ,25 :39 ~ 43.
- [9] 王爱国 ,罗广华. 植物超氧化自由基与羟胺反应的定量关系. 植物生理学通讯 ,1990 ,26 (6) :55 ~ 57.
- [13] 李锦树 ,王洪春 ,王文英 ,等. 干旱对玉米细胞透性及膜脂的影响. 植物生理学报 ,1983 ,9 (3) :223 ~ 228.
- [17] 林久生 ,王根轩. CO₂ 倍增对渗透胁迫下小麦叶片抗氧化酸类及细胞程序性死亡的影响. 植物生理学报 ,2000 ,26 (5) :453 ~ 457.
- [19] 李伯林 ,梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系. 植物生理学报 ,1989 ,15 (1) :6 ~ 12.