

中国百种杰出学术期刊
中国精品科技期刊
中国科协优秀期刊
中国科学院优秀科技期刊
新中国 60 年有影响力的期刊
国家期刊奖

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica

(Shengtai Xuebao)

第 31 卷 第 2 期
Vol.31 No.2
2011



中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 2 期 2011 年 1 月 (半月刊)

目 次

长白山山杨种群的性比格局及其空间分布	潘春芳, 赵秀海, 夏富才, 等 (297)
冬季融冻过程中白三叶叶片抗氧化酶活力和渗透调节物含量变化与抗冻性的关系	赵 梅, 周瑞莲, 刘建芳, 等 (306)
黄土高原主要森林类型自然性的灰色关联度分析	王乃江, 刘增文, 徐 钊, 等 (316)
两种抗生素对龙须菜的光合生理效应	简建波, 邹定辉, 刘文华, 等 (326)
典型喀斯特峰丛洼地植被群落凋落物 C:N:P 生态化学计量特征	潘复静, 张 伟, 王克林, 等 (335)
塔里木河下游地下水埋深对胡杨气体交换和叶绿素荧光的影响	陈亚鹏, 陈亚宁, 徐长春, 等 (344)
基于 MODIS/NDVI 的陕北地区植被动态监测与评价	宋富强, 邢开雄, 刘 阳, 等 (354)
火因子对荒漠化草原草本层片植物群落组成的影响	贺郝钰, 苏洁琼, 黄 磊, 等 (364)
4 种阔叶幼苗对 PEG 模拟干旱的生理响应	冯慧芳, 薛 立, 任向荣, 等 (371)
城市带状绿地宽度与温湿效益的关系	朱春阳, 李树华, 纪 鹏, 等 (383)
西藏斧钯水鸟多样性及斑头雁繁殖活动区的变化	张国钢, 刘冬平, 钱法文, 等 (395)
王朗自然保护区大熊猫生境选择	康东伟, 康 文, 谭留夷, 等 (401)
东方田鼠警觉对其功能反应的作用格局	陶双伦, 杨锡福, 邓凯东, 等 (410)
台州市路桥区重金属污染对土壤动物群落结构的影响	白 义, 施时迪, 齐 鑫, 等 (421)
青岛湾小型底栖生物周年数量分布与沉积环境	杜永芬, 徐奎栋, 类彦立, 等 (431)
叉尾斗鱼种群遗传变异与亲缘地理	王培欣, 白俊杰, 胡隐昌, 等 (441)
C ₃ 和 C ₄ 植物寄主对华北地区棉铃虫越冬代和第一代的影响	叶乐夫, 付 雪, 戈 峰 (449)
3 种海拔高度茶园中 2 种害虫与其天敌间的数量和空间关系	毕守东, 柯胜兵, 徐劲峰, 等 (455)
坝上地区农田和恢复生境地表甲虫多样性	刘云慧, 宇振荣, 王长柳, 等 (465)
若尔盖高寒湿地干湿土壤条件下微生物群落结构特征	牛 佳, 周小奇, 蒋 娜, 等 (474)
红枣贮藏期果面微生物多样性	沙月霞 (483)
CO ₂ 和温度升高情况下白粉菌侵染对西葫芦生长特性的影响	刘俊稚, 葛亚明, Pugliese Massimo, 等 (491)
丛枝菌根真菌对中性紫色土土壤团聚体特征的影响	彭思利, 申 鸿, 袁俊吉, 等 (498)
新疆断裂带泉水中细菌群落结构的 PCR-DGGE 分析	吴江超, 高小其, 曾 军, 等 (506)
石油污染对海洋浮游植物群落生长的影响	黄逸君, 陈全震, 曾江宁, 等 (513)
不同耐性水稻幼苗根系对镉胁迫的形态及生理响应	何俊瑜, 任艳芳, 王阳阳, 等 (522)
基于 CLUE-S 模型的密云县面源污染控制景观安全格局分析	潘 影, 刘云慧, 王 静, 等 (529)
基于生态足迹的生态地租分析	龙开胜, 陈利根, 赵亚莉 (538)
深圳市植被受损分级评价及其与景观可达性的关系	刘语凡, 陈 雪, 李贵才, 等 (547)
专论与综述	
美国、加拿大环境和健康风险管理方法	贺桂珍, 吕永龙 (556)
植物蜡质及其与环境的关系	李婧婧, 黄俊华, 谢树成 (565)
油田硫酸盐还原菌酸化腐蚀机制及防治研究进展	庄 文, 初立业, 邵宏波 (575)
叶际微生物研究进展	潘建刚, 呼 庆, 齐鸿雁, 等 (583)

冬季融冻过程中白三叶叶片抗氧化酶活力和渗透调节物含量变化与抗冻性的关系

赵 梅, 周瑞莲*, 刘建芳, 钟旭生

(鲁东大学生命科学学院, 山东烟台 264025)

摘要: 入冬气温大幅变化引起的冻融既是抗冻植物抗冻力形成的重要阶段也是非抗冻植物大量死亡的主要原因, 但是抗冻植物为何能在冬季融冻条件下生存的生理机理尚不清楚。以生长在烟台地区抗冻白三叶 (*Trifolium repens*) 为材料, 分析研究了不同微生态环境下生长的白三叶在冬季融冻过程中叶片抗氧化酶活性、渗透调节物含量、丙二醛和细胞膜透性的变化, 以了解它们在白三叶抗冻中的作用。结果表明: 在气温突然下降至零度以下 (融—冻阶段), 三样地白三叶叶片冻结, 叶片细胞膜透性在经历短暂下降后迅速急剧增加 2 倍, MDA 含量增加 85%, 叶片中脯氨酸和蛋白质含量、抗氧化酶 (过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)) 活力增加。在气温上升至日均温零度以上 (冻—融阶段), 叶片开始融化, 白三叶叶片膜透性、丙二醛和脯氨酸含量、POD 和 CAT 活力先增加后降低, SOD 活力和蛋白质含量持续增加。由此可见, 快速增强的抗氧化酶活力和快速增加的渗透调节物及时清除氧自由基防止细胞内脂质过氧化保护了细胞膜的完整性而使细胞能在冷冻条件下生存, 这可能是白三叶能在反复融冻过程中正常生长的重要生理机理。

关键词: 融冻; 抗氧化酶; 渗透调节物质; 膜脂过氧化

The relationship between freeze-tolerance and changes in activities of antioxidant enzymes and osmolyte content in the leaves of white clover during early winter freeze-thaw cycles

ZHAO Mei, ZHOU Ruilian*, LIU Jianfang, ZHONG Xusheng

Scholl of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China

Abstract: The key stage for the formation of freezing-resistance in cold-tolerant plants and the main timing of death of non cold-tolerant plants is during the freeze-thaw cycle induced by rapidly fluctuating temperatures in early winter. However, it is not clear that how cells in the leaves of cold-tolerant plants survive during freeze-thaw cycles in winter. The objective of this study was to investigate the changes in the activities of antioxidant enzymes and content of osmolytes, lipid peroxidation and membrane permeability in leaves of white clover grown in different micro-environment in order to know the relationship between changes in the antioxidant enzymes activities and the contents of osmolytes with freeze-tolerance during the freeze-thaw cycles in winter. Three separate white clover plantings were established in 2006 in full sun (roadside, enough sunlight), in partial shade (woodland) and in full shade (behind the building, shade until about 4 o'clock in the afternoon). In the fall of 2008, weeds and smaller and older leaves of white clover were pulled out to provide uniform leaves for sampling and the areas were fenced to avoid penetration by animals. Sampling of leaves of The white clover was took before and after snowfall. The results showed that in thaw-freeze stage when average daily temperature rapidly decreased from 9°C to -4.5°C, the leaves of white clover were frozen, membrane permeability initially declined, then rapidly increased up to 2 fold, the contents of malonaldehyde (MDA) and proline and the activities of catalase (CAT EC 1.11.1.6), peroxidase (POD EC 1.11.1.7), and superoxide dismutase (SOD EC 1.15.1.1) increased in the frozen

基金项目: 国家 973 课题 (2009CB421303); 国家自然科学基金项目 (30972422) 资助

收稿日期: 2009-12-05; **修订日期:** 2010-04-02

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhourl@hotmail.com

leaves. Thus there was a negative relationship between antioxidant enzymes activity and the contents of osmolytes during declining temperatures in thaw-freeze stage. In early freeze-thaw stage, when average daily temperature increased from -5°C up to 0°C , the leaves were in condition of freeze-thaw, the membrane permeability, malonaldehyde content and catalase activity increased, while the activities of superoxide dismutase and peroxidase decreased. When the temperature further increased to 5°C , the leaves were totally thaw, the membrane permeability, catalase activity, and malonaldehyde content declined while the activities of superoxide dismutase and peroxidase increased. There were no significant differences between the three separate populations of white clover.

In the thaw-freeze stage, antioxidant enzymes rapidly increase to scavenge active oxygen species activated by formatted-ice in the leaves in order to protect membrane integrity. Likewise, in the freeze-thaw stage, lower lipid peroxidation and higher membrane elasticity were highly correlated with antioxidant enzyme activity. It suggested that white clover has higher capacity to activate antioxidant enzyme system to control the lipid peroxidation and increase osmolytes in response to freezing temperature. Antioxidant enzymes activity and osmolytes contents enhance fastly prevent lipid peroxidation and protect cell membrane integrity, this plays a key role in surviving winter freezing-thaw cycles.

Key Words: freeze-thaw; antioxidant enzyme; osmolytes; lipid peroxidation

植物正常的生命活动一般是在相对狭窄的温度范围内进行,当环境温度低于最低温度时植物生理生化反应的酶系统受到影响、代谢受阻、细胞受到严重危害甚至死亡^[1-3]。比如,在温带地区当秋末气温下降时陆地上大部分植物叶片凋落、枯黄甚至死亡,但是在这种低温寒冷条件下仍然存活着一些耐冻植物。如欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)在冬季能耐受 -80°C 的低温^[4];高寒山区的多年生牧草能在冬季 -20°C — -30°C 低温条件下越冬并在第2年春季返青生长,是生产力较高的抗冻牧草^[5]。对抗冻植物抗冻机理研究发现,木本植物(高位芽植物)的越冬芽除了有包裹的蜡脂保护外,细胞膜中较高的不饱和脂肪酸含量维持其膜流动性保护细胞膜完整性在针叶安全越冬中起重要作用^[4, 6-10]。高寒山区多年生牧草越冬过程中根中渗透调节物和抗氧化酶活力均增加^[11]。越冬中较高的渗透调节物(游离脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白)作为胞质渗透剂可降低细胞冰点防止细胞内结冰,同时较高的抗氧化酶活力及时清除氧自由基防止膜脂过氧化维持了细胞膜完整性,它们的联合作用在植物抗冻中起重要作用^[12-15]。但这些研究主要集中于以针叶越冬的针叶林树种和以根越冬的多年生草本植物,而对以宽大稚嫩的叶片越冬的白三叶为何能在被雪和冬季反复冻融循环中生存?结冰状况下维持白三叶叶片正常生长的生理机理是什么?目前报道较少。

冬季环境一片枯黄色时,白三叶(*Trifolium repens*)地上芽植物)仍生长良好,叶片浓绿,甚至在雪下叶片仍能保持绿色,正常生长越冬。由于白三叶有较高的抗冻性加之其形成的草坪美观、整洁而成为我国许多地区主要的园林绿化草种。一些对白三叶抗冻生理机理研究结果发现,低温胁迫下叶片抗氧化酶活性提高和膜脂过氧化作用增强成正相关^[16-19]。但这些研究结果大多是在人工模拟条件下采用短时间低温和快速变温处理获得,难以对自然状况下为何白三叶叶片能经受被雪和冬季反复冻融循环而生存的机理做出解释。

本文拟通过对入冬和冬季气温大幅度变化引起的叶片反复冻融过程中白三叶叶片抗氧化酶活力和渗透调节物含量变化的对比分析,以了解抗氧化酶和渗透调节物在防止膜脂过氧化保护细胞膜完整性上的调控作用以及与白三叶抗冻力的相关关系。该研究结果不仅可揭示白三叶叶片抗冻融胁迫的生理机理、丰富植物抗冻理论,而且还可对未来培育抗冻性强的白三叶、培育抗冻果蔬品种和制定冬季蔬菜保存措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样地生境

试验于2008年冬季在烟台市鲁东大学校园内绿化小区上进行。烟台市地处山东半岛中部,位于东经 $119^{\circ}34'$ — $121^{\circ}57'$,北纬 $36^{\circ}16'$ — $38^{\circ}23'$ 。年平均降水量为651.9mm,主要集中在7—8月份占年降雨量的49%;年平均气温 11.8°C ,最热月为8月份(24.6°C),历年极端最高气温 38.4°C 。最冷月为1月份,月平均气

温 -1.5°C , 历年极端最低气温 -13.8°C ; 年平均相对湿度 68%, 年平均日照时数 2698.4h, 冬季最低气温 -10°C 左右。秋分过后, 昼夜温差逐渐加大, 幅度高于 10°C 以上。

1.2 试验材料

试验在自然条件下进行, 试验材料取自位于鲁东大学校园内 2006 年建植生长均匀的 3 个微生态环境不同的绿化小区样地上, 即阴地、林地、阳地。阴地绿化小区位于楼后, 接受光照的时间极短, 仅在 16:00 左右; 林地绿化小区可接收全天光照但有松树、柏树等乔木遮荫及杂草和小灌木; 阳地绿化小区位于通风良好的路边, 日照时间相对较长。试验前分别将试验绿化小区围起来做标记以保证试验期间不被干扰, 同时剔除生长过弱和过强的白三叶及杂草以确保试验材料均匀一致。试验于下雪前后不同时间采集叶片。为避免环境因子的影响, 样品的采集均在 8:00 开始, 迅速将从种群中随机采集的白三叶叶片包裹, 并放入液 N 中固定, 带回实验室用于保护酶活力 (SOD、CAT、POD) 和渗透调节物含量 (脯氨酸, 可溶性蛋白质) 及丙二醛的分析。同时取部分新鲜材料迅速带回实验室分析细胞膜相对透性。

1.3 实验方法

1.3.1 酶液制备

酶液的提取是在 4°C 条件下进行的。称取待测的样叶于预冷研钵中, 加入酶提取 (磷酸缓冲液, $\text{pH} = 7.8$), 冰浴上研磨成匀浆, 在 4°C 下以 $15000\text{r}/\text{min}$ 离心 15min, 上清液用于抗氧化酶活力、MDA、可溶性蛋白质和脯氨酸含量的测定。

1.3.2 细胞质膜透性及丙二醛含量的测定

根据 Lutts 等^[20] 相对电导率法测定细胞相对透性。参照侯福林^[21] 植物生理学实验教程及多立安^[22] 的试验方法测定叶片丙二醛含量。

1.3.3 抗氧化酶活性的测定

SOD 活性采用氮蓝四唑 (NBT) 光还原法测定^[23], 以每克植物鲜重抑制 NBT 光化还原量为酶活单位; POD 活性测定采用愈创木酚法^[24], 以每克植物鲜重每分钟氧化 $1\mu\text{mol}$ 愈创木酚为一个酶活单位; CAT 活性测定采用过氧化氢——碘量法^[25], 以每克植物鲜重每分钟分解 $1\mu\text{molH}_2\text{O}_2$ 为 1 个酶活单位。

1.3.4 游离脯氨酸和可溶性蛋白质含量的测定

游离脯氨酸的测定采用茚三酮比色法^[26], 可溶性蛋白质测定采用考马斯亮蓝法^[27]。

1.4 数据分析

采用 Excel 软件完成数据整理和计算, 用 SPSS 11.5 软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 入冬及冬季气温变化

由图 1 可知, 下雪前的 12 月 2 日最高日温 (13°C) 和最低日温 (5°C) 都在 0°C 以上, 叶片处于解冻状态。12 月 5 日突然降雪, 温度迅速下降, 最高日温降到 -2°C , 最低日温达 -9°C , 叶片冻结。12 月 6 日停雪, 温度开始回升, 但是日平均气温仍在 -1°C , 叶片仍处于冻结和冰融交互状态。12 月 7 日温度继续回升, 日平均气温 2.5°C , 叶片微解冻, 12 月 9 日, 日平均气温达到 4.5°C , 此时叶片完全解冻。12 月 21 日, 开始第 2 次降雪, 气温骤降, 最低日温为 -9°C , 叶片第 2 次冻结。根据以上的分析, 12 月 2 日—12 月 5 日, 12 月 9 日—12 月 23 日定为融冻胁迫阶段, 12 月 6 日—12 月 9 日定为冻融胁迫阶段。由于 12 月 5 日的雪是该年度的第 1 场

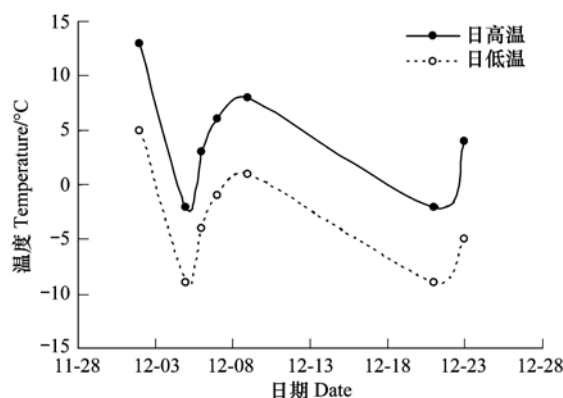


图 1 冻融循环中日高温与日低温变化趋势

Fig. 1 Daily changes in maximum and minimum temperature during freeze-thaw cycles

雪,12月2日—12月5日的融冻过程被划为入冬后的第1次融冻反应;12月6日—12月9日的冻融过程被认为是植物对升温的反应;12月9日—12月23日出现的第2个融冻变化看成是植物的适应性反应。

2.2 融冻过程中叶片细胞膜透性及丙二醛含量的变化

在融冻循环期间,3种不同微生态环境中生长的白三叶叶片细胞膜透性和丙二醛含量的动态变化趋势基本一致(图2,图3)。在第1次融冻过程中,气温突然由9℃(12-02)降至-4.5℃(12-05),白三叶叶片细胞膜透性下降,3样地叶片细胞膜透性平均下降了44%,膜脂过氧化产物(MDA)含量呈增加趋势,平均增加了50%。而在第2次融冻过程中,气温由5℃(12-09)降至-5℃(12-23),叶片细胞膜透性与丙二醛含量均分别小幅增加24%和22%。在冻融过程中,气温由-5℃升(12-06)至0℃(12-09),叶片膜透性与丙二醛含量均分别小幅降低21%和15%。

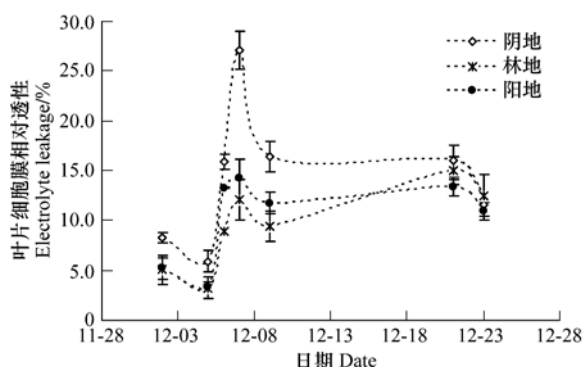


图2 冬季冻融循环过程中白三叶叶片细胞膜相对透性的变化

Fig. 2 Changes in relative electrolyte leakage in the leaves of white clover during freeze-thaw cycles in winter

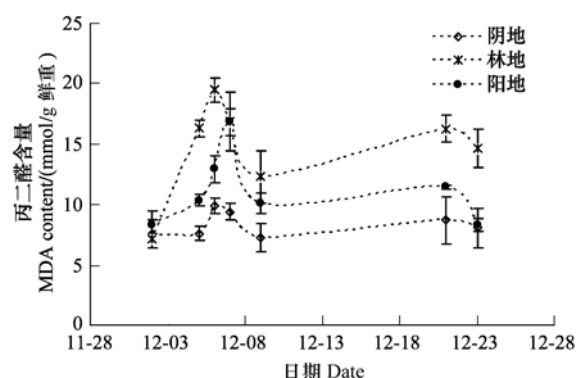


图3 冬季冻融循环过程中白三叶叶片丙二醛含量的变化

Fig. 3 Changes in MDA content in the leaves of white clover during freeze-thaw cycles in winter

12月2日—12月5日,气温突然降温至冰点,叶片结冰且细胞膜透性下降,但叶片持续处于结冰状况时(12-06),叶片细胞膜透性增加,随后叶片细胞膜透性随温度的升高而下降,随温度的想将而升高。这表明,白三叶在入冬第一次遇雪后叶片细胞膜透性的暂时下降是对细胞内突然结冰适应的“应激反应”,通过应激反应使细胞膜韧性增加以适应融冻变化中细胞体积变化造成的机械损伤。

2.3 融冻循环过程中叶片中渗透调节物的变化

结果表明,融冻循环中,不同微生态环境下白三叶叶片脯氨酸含量的动态变化趋势基本一致(图4)。第1次融冻过程气温由9℃(12-02)突然降至-4.5℃(12-05),3个样地的白三叶叶片脯氨酸含量平均增加87%,在第2个融冻过程气温由5℃(12-09)下降到-5℃(12-21),叶片脯氨酸含量再次升高达53%。但与第1次融冻相比,叶片脯氨酸含量变化幅度明显减小。在冻融过程中当叶片由结冻变为解冻状态时,叶片脯氨酸含量持续增加1倍多,但在随后的升温过程中(12-09),叶片脯氨酸含量呈下降趋势(下降32%)。研究表明,白三叶叶片中脯氨酸含量随温度上升而下降,随温度下降而增加,脯氨酸含量变化与温度成负相关($R=0.8094$)。这说明白三叶叶片中脯氨酸对温度的快速反应在保护其度过冬季融冻和冻融循环中起重要作用。

融冻循环中,不同微生态环境白三叶叶片可溶性蛋白质含量的动态变化趋势与脯氨酸的相反(图4)。在第1次融冻时(12-02—12-05),叶片蛋白质含量呈波动式下降,但变化不明显。第2次融冻中(12-09—12-21),叶片可溶性蛋白质含量却下降明显(53%)。冻融过程中(12-06—12-09),温度持续升高,叶片可溶性蛋白质含量呈波动式上升趋势,但是变化幅度很小(-10%, +18%)。方差分析发现,不同微生态环境下成长的叶片脯氨酸和可溶性蛋白质含量差异显著($P < 0.05$)。

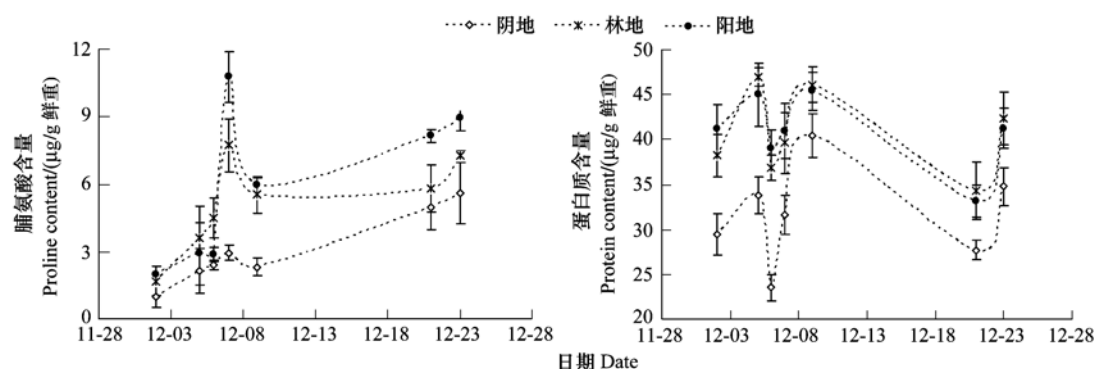


图4 冬季冻融循环过程中白三叶叶片脯氨酸和蛋白质含量的变化

Fig. 4 Changes in protein and proline content in the leaves of white clover during freeze-thaw cycles in winter

2.4 融冻循环过程中白三叶叶片中抗氧化酶活力的变化

2.4.1 白三叶叶片过氧化物酶(POD)活性的变化

第1次融冻过程(12-02—12-06)与第2次融冻过程(12-09—12-023)叶片中过氧化物酶(POD)的活力变化不一致(图5),第1次融冻过程中叶片中POD活力下降了7%,第2次融冻过程中叶片中POD活力升高了26%。原因可能是:第1次融冻时,叶片第1次结冰,对低温有一个应激性反应,打破原有的代谢平衡,导致POD活力下降。第2次融冻是叶片对融冻变化的适应性反应。值得注意的是,第1次融冻的下降率和第2次融冻的增加率都不大,这也从另一方面说明了POD不是白三叶抗冻力形成的主要抗氧化物保护酶,它可能只起到微量调节作用。在温度逐渐升高叶片解冻过程中(12-06—12-09),叶片POD活力有所增加,但是增加不显著,仅增加了6%。不同微生态环境下成长的叶片POD活力差异显著($P < 0.05$)。

2.4.2 融冻循环过程中叶片中超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化

在植物体中有许多酶参与氧自由基的清除,其中SOD可将活性氧自由基歧化为 H_2O_2 ^[28]。由图(6)可知,在冬季温度变化中三样地白三叶叶片中SOD活力变化趋势基本一致。在气温下降的两次融冻过程中(12-02—12-05, 12-09—12-21),叶片中SOD活力都上升,但是上升幅度均很小(8%, 10%)。在气温上升的冻融过程中(12-06—12-09),SOD活力快速持续增加(42%)。这可能是因为冻融过程中,持续升高的温度加速了细胞代谢使活性氧自由基积累而诱导SOD活性增强。还值得注意的是,气温由12-05和12-21(日均温 $-5^{\circ}C$)上升到12-06和12-23(日均温 $0^{\circ}C$),此时叶片由冻结转为半解冻状态SOD活力迅速下降,但在随后

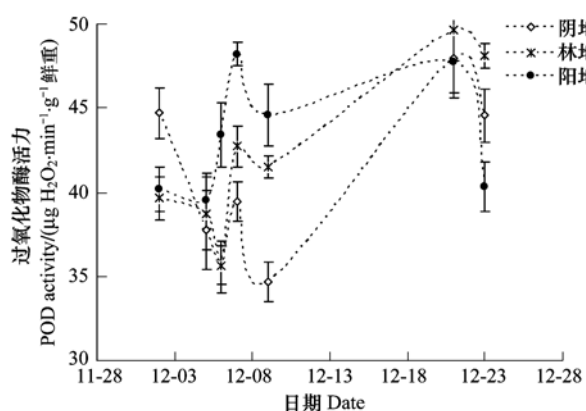


图5 冬季冻融循环过程中三叶草叶片过氧化物酶活力的变化

Fig. 5 Changes in activity of peroxidase in the leaves of white clover during freeze-thaw cycles in winter

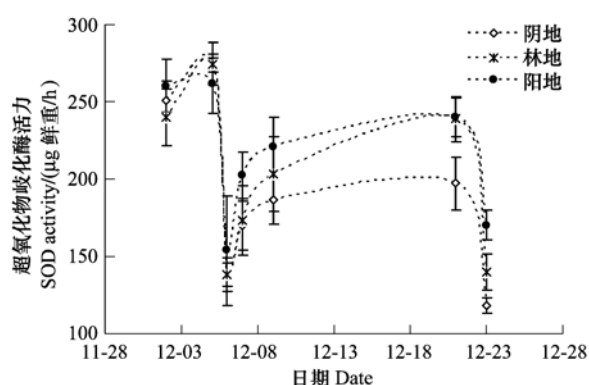


图6 冬季冻融循环过程中白三叶叶片SOD活性的变化

Fig. 6 Changes in activity of superoxide dismutase (SOD) in the leaves of white clover during freeze-thaw cycle in winter

气温继续上升叶片完全解冻时,叶片 SOD 快速上升。这不仅说明出于冰融交汇状态的细胞内会出现暂时的代谢调整过程,同时也表明白三叶细胞有很强的抗氧化能力,清除了大量氧自由基。方差分析表明,不同微生态环境中阴地和阳地叶片 SOD 活力差异显著 ($P < 0.05$)。

2.4.3 叶片中过氧化氢酶(CAT)活性的变化

过氧化氢酶 (CAT) 存在于过氧化物酶体中, CAT 是过氧化物酶体的标志酶,它的作用是将 H_2O_2 水解,清除细胞产生的毒性物质,对细胞起保护作用^[29]。在冬季温度变化中 3 种微生态环境中生长的白三叶叶片中 CAT 活力变化基本一致(图 7)。随最高气温降低到冰点以下(12-05,12-21)处于冻结状态下的叶片(融冻过程)CAT 活力呈上升趋势。随着温度的升高处于冻融过程的叶片 CAT 活力下降(45%)。结果表明,叶片中 CAT 活力的变化与冻融循环中温度的变化呈负相关($R = 0.7819$)。这表明植物在冷冻胁迫时叶片内积累了大量的 H_2O_2 ,而且 CAT 是清除冰冻细胞内 H_2O_2 的主要保护酶。方差分析显示,不同微生态环境中叶片 CAT 活力差异显著($P < 0.05$)(表 1)。

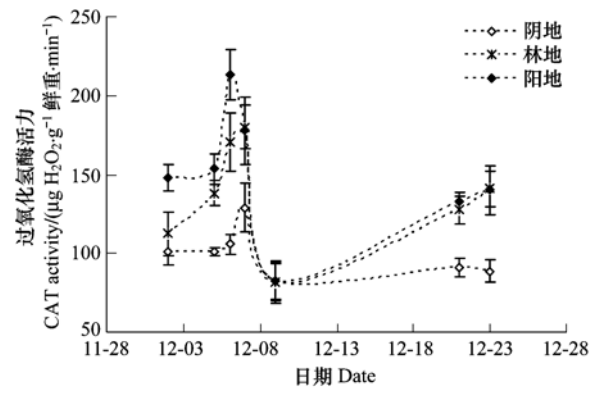


图 7 冬季冻融循环过程中白三叶叶片 CAT 活性的变化
Fig. 7 Changes in activity of catalase (CAT) in the leaves of white clover during freeze-thaw cycle in winter

表 1 冻融循环中白三叶叶片抗氧化酶和渗透调节物质与温度的相关关系分析

Table 1 Analysis on correlation between activities of antioxidant enzymes, osmolytes content and temperature during freeze-thaw cycle in winter

样地 Sites	温度 Temperature	超氧化物歧化酶 SOD	过氧化物酶 POD	过氧化氢酶 CAT	脯氨酸 Proline	蛋白质 Protein
阴地 SH	<i>T</i>	-0.890	-0.830	-0.844	-0.934	+0.689
林地 WL	<i>T</i>	-0.714	-0.901	-0.849	-0.760	-0.447
阳地 SU	<i>T</i>	-0.888	+0.111	-0.608	-0.879	-0.537

“-”表示负相关,“+”表示正相关

3 讨论与结论

3.1 反复融冻过程中,叶片细胞膜透性和 MDA 含量的变化与抗氧化酶活力关系。

研究表明,植物冷害首先发生在细胞膜系统,膜系统稳定性的大小与植物的抗逆性密切相关,冷冻引发细胞严重脱水导致膜系统损伤^[30-32]。近十几年来,人们普遍认为逆境引起的自由基的累积与膜伤害有密切关系^[33]。植物体内抗氧化酶活力及抗氧化物含量的多少与细胞内氧自由基浓度及膜脂过氧化程度相关^[34]。植物在逆境胁迫下会产生大量的活性氧自由基,引发或加剧膜脂过氧化,膜脂过氧化的中间产物活性氧自由基和最终产物 MDA 都会严重损害生物膜结构,导致细胞死亡^[35]。

融冻阶段,气温由日均温 9℃ (12-02,最高温/最低温 13/5℃) 降低至日均温 -4.5℃ (12-05, -2/-9℃) 和气温持续维持在零度以下(12-06),三样地中的白三叶叶片冻结,叶片细胞膜透性在经历短暂下降后迅速急剧增加 2 倍,MDA 含量增加(85%)。同时,叶片 CAT 活力增加 34% (12-02—12-06),SOD 在融冻初期活力增加且活力也较高(12-02—12-05)。但是第二次融冻时随气温再次下降至零点以下(-5℃),白三叶叶片细胞膜透性和丙二醛增加(24%、21.8%)(图 2,图 3),但与第 1 次相比,增加幅度率减少了 3 倍,叶片中 CAT、POD 和 SOD 活力增加了 44.4%,21.5%,10.3%,3 种抗氧化酶活力与温度下降成负相关(表 1)。这表明在融冻胁迫过程中随着白三叶叶片结冰,细胞内流动性水分的减少引起水分亏缺,加之细胞内结冰引起的细胞体积增大可能导致代谢紊乱诱产生活性氧,造成细胞膜脂质过氧化作用增加引起细胞膜通透性增大。但是此时叶片并未受伤害可能是因为叶片细胞结冰时积累的氧自由基激活了抗氧化酶系统,如 SOD 和 CAT 的活

力增大,及时清除了体内存在的活性氧,防止细胞膜过氧化作用,使氧自由基的产生和清除处于平衡而保护细胞膜免受伤害。

在冻融阶段,随着日均温从 -5°C 上升至 0°C (12-05—12-06),叶片细胞膜透性和MDA含量大幅增加,而叶片SOD和POD活力下降,CAT活力上升。这表明气温在零度时叶片由冻结转为半解冻状态,处于冰融交汇状态的细胞内会出现暂时的代谢调整过程。由于细胞内冰晶融化,使细胞内水分的运动和代谢加快,可能导致细胞内氧自由基增加引起膜质过氧化和膜通透性增大。但此时积累的氧自由基又激活了抗氧化酶系统,以至在接着温度持续上升到第4天(12-09,日均温 5°C),相对气温较高,叶片完全解冻,POD和SOD活力上升,细胞膜透性和MDA含量均下降。这说明白三叶叶片形态上由冻结向解冻方向发展过程中,叶片有一个冰融交汇时期,虽然该时期很短但由于发生的代谢调解激活了抗氧化酶系统,为后来完全解冻的叶片维持细胞正常代谢奠定了基础,因此由于该时期能激活抗氧化酶保护系统抑制膜脂过氧化保护膜膜的完整性而与白三叶适应冻融胁迫生存密切相关。

一般认为细胞内的融冻和冻融引起的细胞膜机械拉伤是植物在冰冻条件下死亡的主要原因^[36-37]。而白三叶在冬季反复降温升温引起的融冻循环下却能正常生长,一方面这与降温融冻胁迫中细胞能快速做出响应提高抗氧化酶活性抑制膜脂过氧化有关,另一方面与升温冻融胁迫初期,细胞在“冰融交汇期”的短暂生理调控作用激活抗氧化酶系统,提高细胞膜弹力和韧性有关。

3.2 反复融冻过程中,叶片细胞膜透性和MDA含量的变化与渗透调节物含量的关系。

脯氨酸是目前所知分布最广的渗透保护物质,动物、植物、真菌、藻类中都有脯氨酸的累积^[38]。在两次气温由日均温降低至 -5°C (12-02—12-05和12-09—12-21),三样地的白三叶叶片冻结,叶片脯氨酸含量增加并与细胞膜透性和MDA含量变化成正相关。同时冬季融冻循环过程中白三叶叶片中脯氨酸含量与温度呈负相关(表1)。在气温下降的融冻过程中,叶片细胞内水分结冰引起的细胞脱水干旱可能是脯氨酸积累的主要原因。因为一些研究发现,在低温冷冻条件下细胞不仅遭遇冷胁迫,还会遇到因结冰脱水引起的干旱胁迫,植物在受到干旱胁迫时细胞内脯氨酸会迅速积累^[39]。在冰冻条件下细胞中积累的脯氨酸可能会作为渗透调解物在防止细胞脱水,减少细胞内结冰增强细胞弹力上起重要作用。同时有人发现,脯氨酸的大量积累可激发植物体内的过氧化氢酶及多酚氧化酶的活性^[40]。研究也发现,随温度下降至叶片结冰时,叶片CAT活力与脯氨酸含量都增加。这是否预示着冷冻条件下脯氨酸的增加是保护酶活力增强的激活剂还有待于进一步研究。

在冻融阶段,随着日均温从 -5°C 上升至 0°C (12-05—12-06),叶片由冰冻转为解冻状态,细胞处于冰融交汇期,叶片脯氨酸含量和细胞膜透性及MDA含量均大幅增加,在细胞完全解冻,而大幅度下降。一些研究发现脯氨酸既可以清除活性氧的危害^[41],又可作为低温保护物质降低细胞渗透势^[42],维持体内水分平衡,保护蛋白质和细胞膜及叶绿体膜,使其在低温下进行光合作用^[43]。可见,在细胞冰晶融化过程中,脯氨酸的增加可能作为渗透调节物稳定冰晶融化释放的水而维持体内水分平衡。而在叶片完全解冻后,叶片脯氨酸含量的下降可能是在此阶段脯氨酸作为氮源被用于细胞代谢消耗所致,有人研究发现脯氨酸可在植物胁迫解除后作为氮、碳以及还原力的一种快速补偿来源^[44-45]。

本研究结果表明可溶性蛋白质与白三叶抗冻性相关性不大。Wanner等推测植物在低温所发生的生理生化变化中,一些是提高抗寒性必需的,而另外一些不是必需的,所以蛋白质的变化可能仅仅是低温的结果^[46]。有些研究已发现抗冻植物内存在有抗冻蛋白,它们在防止胞内结冰和减小胞内冰晶及保护细胞膜完整性上有重要作用^[47-51]关于蛋白质在白三叶抗冻力形成中的作用有待进一步研究。

综上所述,抗氧化酶和渗透调节物质是白三叶叶片适应融冻和冻融胁迫的重要生理响应物质和低温保护物质,他们在降低细胞冰点,防止细胞结冰和膜机械伤害、维持细胞水分平衡、抑制膜脂过氧化、保护膜稳定性、维护膜的弹性和韧性等方面具有重要作用。在融冻和冻融循环过程中白三叶叶片细胞能快速通过生理调控作用激活抗氧化酶系统,提高脯氨酸含量,这可能是其叶片冰冻胁迫下正常生长、安全越冬的重要生理原

因,也是白三叶抗冻基因调控的结果。

References:

- [1] Guo Z W, Li X L, Gao D S, Duan C G. Advance in the mechanism of biochemistry and molecularbiology in response to cold stress of plant. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2004, 12(02): 54-57.
- [2] Lu C F, Jian L C, Kuang T Y. Freezing hardiness in alpin plants. Chinese Bulletin of Botany, 1998, 15(3): 17-22.
- [3] Li Z J, Chen X L, Zheng H L. Ecology. Beijing: Science Press, 2007: 82-83.
- [4] Chen Y P, Zhang M X, Chen T, Zhang Y F, An L Z. The relation of seasonal changes in water and organic osmotica to freezing tolerance in the leaves of sabina. Bulletin of Botanical Research, 2008, 28(03): 336-341.
- [5] Zhou R L, Zhao H L. Cryo-protectant changes in roots of perennial grasses habituated in alpine area in spring related to dehardening. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2004, 24(02): 199-204.
- [6] Zhang Y F, Chen Y P, Zhang M X, Chen T, An L Z. Seasonal changes in foliar micro-and ultra structure of two Sabina species and their relationships with cold tolerance. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(08): 1393-1397.
- [7] Kjellsen T D, Shiryaeva L, Schroeder W P, Strimbeck G R. Proteomics of extreme freezing tolerance in Siberian spruce(*Picea obovata*). Journal of Proteomic, 2010, 73(5): 965-975.
- [8] Strimbeck G R, Kjellsen T D, Schaberg P G, Murakami P F. Dynamics of low-temperature acclimation in temperate and boreal conifer foliage in a mild winter climate. Tree Physiology, 2008, 28: 1365-1374.
- [9] Renaut J, Hausman J F, Bassett C, Artlip T, Cauchie H M, Witters E, Wisniewski M. Quantitativeproteomic analysis of short photoperiod and low temperature responses in bark tissues of peach(*Prunus persica* L. Batsch). Tree Genetics & Genomes, 2008, 4(4): 589-600.
- [10] Deng R J, Yang W Q, Wu F Z. Effects of seasonal freeze-thaw on the enzyme activities in abies faxoniana and *Betula platyphylla* litters. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(05): 1026-1031.
- [11] Zhou R L, Zhao H L, Cheng G D. Seasonal changes in enzymatic antioxidant system in roots of alpine perennial forage grasses related to freezing tolerance. Acta Ecologica Sinica, 2001, 21(06): 865-870.
- [12] Jie J M, Yu J H, Jie M H, Feng Z. Changes of three osmotic regulatory metabolites in leaves of pepper under low temperature and poor light stress and relations between its and varietal tolerance. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(01): 0105-0110.
- [13] Zhang C H, Fang J, Tian Y, Lu X Y. The response mechanism of plant to cold stress. Plant Physiology Communications, 2009, 45(07): 721-726.
- [14] Zhou R L, Zhao H L. Fall and early winter changes in root fatty acid composition and membrane fluidity of three perennial alpine grasses. Acta Phytocologica Sinica, 2001, 25(1): 115-118.
- [15] Liu Y H, An L Z, Guo F X, Xu S J. Studies on the Relationship between the changes of fat, soluble sugar and flavonoids and the adaptation to environments of alpine subnival plants at the source of Urumqi River. Journal of Glaciology and Geocryology, 2007, 29(6): 947-952.
- [16] Sigridur D, Aslaug H, Bjarni E, Xu S J. Fatty acid and sugar content in white clover in relation to frost tolerance and ice-encasement tolerance. Annals of Botany, 2001, 88(4): 753-759.
- [17] Kirsti R, Olavi J, Arild E, Nina S. Development of cold tolerance in white clover (*Trifolium repens* L.) in relation to carbohydrate and free amino acid content. Acta Agriculturae Scandinavica, 1993, 43(3): 151-155.
- [18] An Y, Chen Y J, Zhao W, Jin B H, Qi X H. The effect of low temperature on the peroxidization of cytomembrane and the activity of protective enzyme of white clover. Grassland and Turf, 2009, (03): 8-11.
- [19] Ewers F W, Lawson M C, Bowen T J, Davis S D. Freeze/thaw stress in ceanothus of southern Californiachaparral. Oecologia, 2003, 136(2): 213-219.
- [20] Luttus S, Kinet J M, Bouharmont J. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryzasativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany, 1996, 78: 389-398.
- [21] Hou F L. Plant Physiology Experimental Course. Beijing: Science Press, 2005: 91.
- [22] Duo L A, Zhang Y H, Zhao S L. Effects of earthworms on growth and antioxidant enzyme system of turfgrasses grown in municipal solid waste compost. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(10): 4765-4770.
- [23] Sundar D, Perianayagay B, Reddy A R. Localization of antioxidant enzymes in the cellular compartments of sorghum leaves. Plant Growth Regulation, 2004, 44(2): 157-163.
- [24] Zhang Z L, Qu W Q. The Experimental Guide for Plant Physiology. Beijing: Higher Education Press, 2003: 123-276.
- [25] Maria D, Ewa S, Zbigniew K. Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in Arabidopsis thaliana. Biometal, 2004, 17(4):

379-387.

- [26] Chi C Y, Ding G H, Lian Y Q, Li W J. Effect of low temperature stress on proline content and membrane permeability in three kind cold-season turfgrass. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(1): 101-104.
- [27] Zou Q. The Experimental Guide for Plant Physiology. Beijing: China Agriculture Press, 2000.
- [28] Bowler S R, Mckersie B D. Relationships among freezing, low temperature flooding, and ice encasement tolerance in alfalfa. Plant Science, 1990, 70: 227-235.
- [29] Guo M, Xu Y L, Liu M, Li Z L, Wang Y M. Effects of agrochemicals on activity of catalase, peroxidase in cotton. Agro-environmental Protection, 2001, 20(1): 10-12, 22.
- [30] Hughes M A, Dunn M A. The molecular biology of plant acclimation to low temperature. Journal of Experimental Botany, 1996, 47(03): 291-305.
- [31] Uemura M, Joseph R A, Steponkus P L. Cold acclimation of arabidopsis thaliana effect on plasma membrane lipid composition and freeze-induced lesions. Plant Physiology, 1995, 109(1): 15-30.
- [32] Xu Y J, Li Y C, Yu Z H. Studies on biochemical and physiological indices of cold tolerance in Cucurbita pepo. Hubei Agriculture Science, 2006, 45(02): 212-213.
- [33] Li R Q, Wang J B. Cells and Physiology of Plant Stress. Wuhan: Wuhan University Press, 2002: 164-165.
- [34] Zhou R L, Zhao H L. Protecting enzyme system of herbage and its functions in the cold growing process in alpine and cold region. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2002, 22(03): 566-573.
- [35] Ma Y X, Cai T J, Song L P, Yu X L. Changes in contents of MDA and osmoregulatory substances during snow cover for Pyrola dahurica. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(11): 4596-4602.
- [36] Warren G J, Thorlby G J, Knight M R. The molecular biological approach to understanding freezing tolerance in the model plant Arabidopsis thaliana. Environmental stressors and Gene Responses, 2000, 1: 245-258.
- [37] Cyril J, Powell G L, Duncan R R. Changes in membrane polar lipid fatty acids of seashore paspalum response to low temperature exposure. Crop Science, 2002, 42: 2031-2037.
- [38] Quan X Q, Zhang Y J, Shan L, Bi Y P. The roles of proline in plant growth and the tolerance to abiotic stresses. Letters in Biotechnology, 2007, 18(01): 159-162.
- [39] Zhou R L, Sun G J, Wang H O. Osmoregulation changes in desert plants under drought and high temperature stresses, related to their resistance. Journal of Desert Research, 1999, 19(S1): 18-22.
- [40] Wang X H, Zhuang N S. Advances in research on proline and cold resistance of plant. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008(11): 398-402.
- [41] Taschler D, Beikircher B, Neuner G. Frost resistance and ice nucleation in leaves of five woody timberline species measured in situ during shoot expansion. Tree Physiology, 2004, 24(3): 331-337.
- [42] Lee B R, Kim K Y, Jung W J, Avice J C, Ourry A. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). Journal of Experimental Botany, 2007, 58(6): 1271-1279.
- [43] Zhou R L, Zhao H L. Protecting matters of herbage and their functions in the cold growing process in alpine and mount region. Grassland of China, 2001, 23(05): 19-26.
- [44] Repo T. Effects of timing of soil frost thawing on Scots pine. Tree Physiology, 2005, 25(8): 1053-1062.
- [45] Marquez E J, Rada F, Farinas M R. Freezing tolerance in grasses along an altitudinal gradient in the Venezuelan Andes. Oecologia, 2006, 150(3): 393-397.
- [46] Cao Q, Kong W. Plant freezing tolerance and genes express in cold acclimation: a review. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(04): 806-811.
- [47] Li L, Wang X j, Zhao M A. The antifreezing genes in plants. Plant Physiology Communications, 2004, 40(5): 643-650.
- [48] Chen R G, Gong Z H, LU M H, Li D W, Huang W. Research advance in the cold-resistance genetic engineering in plants. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2008, 28(06): 1274-1280.
- [49] Antikainen M, Griffith M, Zhang J, Hon W C, Yang D S C, Kaarian P M. Immunolocalization of antifreeze proteins in winter rye leaves, crown, and root by tissue printing. Plant Physiology, 1996, 110(3): 845-857.
- [50] Wang R Y, Li R Z, Sun Z Y, Ren Y S, Yue W B. Antifreezing proteins and plant responses to low temperature stress. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(3): 551-556.
- [51] Holmberg N, Farres J, Bailey J E, Kallio P T. Targeted expression of a synthetic codon optimized gene, encoding the spruce budworm antifreeze protein, leads to accumulation of antifreeze activity in the apoplasts of transgenic tobacco. Gene, 2001, 275(01): 115-124.

参考文献:

- [1] 郭子武, 李宪利, 高东升, 段成国. 植物低温胁迫响应的生化与分子生物学机制研究进展. 中国生态农业学报, 2004, 12(02): 54-57.

- [2] 卢存福, 简令成, 匡廷云. 高山植物的抗寒抗冻特性. 植物学通报, 1998, 15(3): 17-22.
- [3] 李振基, 陈小麟, 郑海雷. 生态学. 北京: 科学出版社, 2007: 82-83.
- [4] 陈银萍, 张满效, 陈拓, 张有福, 安黎哲. 圆柏属常绿木本植物叶片水分、渗透调节物质的季节变化与抗冷冻性的关系. 植物研究, 2008, 28(03): 336-341.
- [5] 周瑞莲, 赵哈林. 春季高寒山区牧草低温保护物质变化与其脱冻适应间关系研究. 西北植物学报, 2004, 24(02): 199-204.
- [6] 张有福, 陈银萍, 张满效, 陈拓, 安黎哲. 两种圆柏属植物不同季节显微和超微结构变化与耐寒性的关系. 应用生态学报, 2006, 17(08): 1393-1397.
- [10] 邓仁菊, 杨万勤, 吴福忠. 季节性冻融对岷江冷杉和白桦凋落物酶活性的影响. 应用生态学报, 2009, 20(05): 1026-1031.
- [11] 周瑞莲, 赵哈林, 程国栋. 高寒山区植物根抗氧化酶系统的季节变化与抗冷冻关系. 生态学报, 2001, 21(06): 865-870.
- [12] 颜建明, 郁继华, 颜敏华, 冯致. 低温弱光下辣椒 3 种渗透调节物质含量变化及其与品种耐性的关系. 西北植物学报, 2009, 29(01): 0105-0110.
- [13] 张操昊, 方俊, 田云, 卢向阳. 植物响应低温胁迫的应答机制. 植物生理学通讯, 2009, 45(07): 721-726.
- [14] 周瑞莲, 赵哈林. 高寒山区根脂膜和脂肪酸组分对冷冻低温的适应反应. 植物生态学报, 2001, 25(1): 115-118.
- [15] 刘艳红, 安黎哲, 郭凤霞, 徐世健. 高山冰缘植物粗脂肪、可溶性糖和类黄酮的含量变异与环境适应关系的研究. 冰川冻土, 2007, 29(6): 947-952.
- [18] 安莹, 陈雅君, 赵伟, 金不换, 齐孝辉. 低温对白三叶膜质过氧化及保护酶活性的影响. 草原与草坪, 2009, (03): 8-11.
- [21] 侯福林. 植物生理学实验教程. 北京: 科学出版社, 2005: 91.
- [22] 多立安, 张明含, 赵树兰. 生活垃圾堆肥草坪中蚯蚓对植物生长和抗氧化酶系的影响. 生态学报, 2008, 28(10): 4765-4770.
- [24] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2003: 123-276.
- [26] 池春玉, 丁国华, 连永全, 李文君. 低温胁迫对三种冷季型草坪草脯氨酸含量及膜透性的影响. 中国农学通报, 2007, 23(1): 101-104.
- [27] 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [29] 郭明, 徐雅丽, 刘明, 李治龙, 王咏梅. 几种农药对棉花过氧化氢酶过氧化物酶活力的影响. 农业环境保护, 2001, 20(1): 10-12, 22.
- [32] 徐跃进, 李艳春, 俞振华. 西葫芦抗冷性生理生化指标分析. 湖北农业科学, 2006, 45(2): 212-213.
- [33] 利容千, 王建波. 植物逆境细胞及生理学. 武汉: 武汉大学出版社, 2002: 164-165.
- [34] 周瑞莲, 赵哈林. 高寒山区草本植物的保护酶系统及其在低温生长中的作用. 西北植物学报, 2002, 22(03): 566-573.
- [35] 马玉心, 蔡体久, 宋丽萍, 喻晓丽. 兴安鹿蹄草雪盖前后丙二醛及渗透调节物质含量的变化. 生态学报, 2007, 27(11): 4596-4602.
- [38] 全先庆, 张渝洁, 单雷, 毕玉平. 脯氨酸在植物生长和非生物胁迫耐受中的作用. 生物技术通讯, 2007, 18(01): 159-162.
- [39] 周瑞莲, 孙国钧, 王海鸥. 沙生植物渗透调节物对干旱、高温的响应及其在抗逆性中的作用. 中国沙漠, 1999, 19(S1): 18-22.
- [40] 王晓华, 庄南生. 脯氨酸与植物抗寒性的研究进展. 中国农学通报, 2008, 2001, 23(05): 398-402.
- [43] 周瑞莲, 赵哈林. 高寒山区牧草生长过程中低温保护物质的作用. 中国草地, 2001, 23(05): 19-26.
- [46] 曹琴, 孔温. 植物抗寒及其基因表达研究进展. 生态学报, 2004, 24(04): 806-811.
- [47] 李璐, 王晓军, 赵民安. 植物抗冻基因. 植物生理学通讯, 2004, 40(5): 643-650.
- [48] 陈儒钢, 巩振辉, 逯明辉, 李大伟, 黄炜. 植物抗寒基因工程研究进展. 西北植物学报, 2008, 28(6): 1274-1280.
- [50] 王瑞云, 李润植, 孙振元, 任有蛇, 岳文斌. 抗冻蛋白与植物低温胁迫反应. 应用生态学报, 2006, 17(3): 551-556.

CONTENTS

Sex ratio and spatial pattern in <i>Populus davidiana</i> in Changbai Mountain	PAN Chunfang, ZHAO Xiuhai, XIA Fucui, et al (297)
The relationship between freeze-tolerance and changes in activities of antioxidant enzymes and osmolyte content in the leaves of white clover during early winter freeze-thaw cycles	ZHAO Mei, ZHOU Ruilian, LIU Jianfang, et al (306)
Gray correlation analysis on naturalness of the primary forest types on the Losses Plateau	WANG Naijiang, LIU Zengwen, XU Zhao, et al (316)
Photosynthetic responses of <i>Gracilaria lemaneiformis</i> to two antibiotics	JIAN Jianbo, ZOU Dinghui, LIU Wenhua, et al (326)
Litter C:N:P ecological stoichiometry character of plant communities in typical Karst Peak-Cluster Depression	PAN Futing, ZHANG Wei, WANG Kelin, et al (335)
Effects of groundwater depth on the gas exchange and chlorophyll fluorescence of <i>Populus euphratica</i> in the lower reaches of Tarim River	CHEN Yapeng, CHEN Yaning, XU Changchun, et al (344)
Monitoring and assessment of vegetation variation in Northern Shaanxi based on MODIS/NDVI	SONG Fuqiang, XING Kaixiong, LIU Yang, et al (354)
Effects of fire on the structure of herbage synusia vegetation in desertified steppe, North China	HE Haoyu, SU Jieqiong, HUANG Lei, et al (364)
Physiological responses of four broadleaved seedlings to drought stress simulated by PEG	FENG Huifang, XUE Li, REN Xiangrong, et al (371)
Effects of the different width of urban green belts on the temperature and humidity	ZHU Chunyang, LI Shuhua, JI Peng, et al (383)
Diversity of waterbirds and change in home range of bar-headed geese <i>Anser indicus</i> during breeding period at Hangcuo Lake of Tibet, China	ZHANG Guogang, LIU Dongping, QIAN Fawen, et al (395)
The habitat selection of Giant panda in Wanglang Nature Reserve, Sichuan Province, China	KANG Dongwei, KANG Wen, TAN Liuyi, et al (401)
Effects of vigilance on the patterns of functional responses of foraging in voles (<i>Microtus fortis</i>)	TAO Shuanglun, YANG Xifu, DENG Kaidong, et al (410)
Influence of heavy metal pollution on soil animal community in Luqiao, Taizhou City	BAI Yi, SHI Shidi, QI Xin, et al (421)
Annual quantitative distribution of meiofauna in relation to sediment environment in Qingdao Bay	DU Yongfen, XU Kuidong, LEI Yanli, et al (431)
Population genetic variations and phylogeography of <i>Macropodus opercularis</i>	WANG Peixin, BAI Junjie, HU Yinchang, et al (441)
Contribution of C ₃ and C ₄ host plants for the overwintering and 1 st generation of <i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner) in Northern China ..	YE Lefu, FU Xue, GE Feng (449)
Relationships between two species of insect pests and their natural enemies in tea gardens of three different altitudes	BI Shoudong, KE Shengbing, XU Jinfeng, et al (455)
The diversity of ground-dwelling beetles at cultivated land and restored habitats on the Bashang plateau	LIU Yunhui, YU Zhenrong, WANG Changliu, et al (465)
Characteristics of soil microbial communities under dry and wet condition in Zoige alpine wetland	NIU Jia, ZHOU Xiaoqi, JIANG Na, et al (474)
Microbial diversity of the jujube (<i>Zizyphus jujuba</i> Mill.) fruits surface during harvesting and storage stages	SHA Yuexia (483)
Effects of powdery mildew infection on zucchini growth under elevated CO ₂ and temperature	LIU Junzhi, GE Yaming, Pugliese Massimo, et al (491)
Impacts of arbuscular mycorrhizal fungi on soil aggregation dynamics of neutral purple soil	PENG Sili, SHEN Hong, YUAN Junji, et al (498)
The bacterial community structures in Xinjiang fault belt spring analyzed by PCR-DGGE	WU Jiangchao, GAO Xiaoqi, ZENG Jun, et al (506)
The impact of oil pollution on marine phytoplankton community growth change	HUANG Yijun, CHEN Quanzhen, ZENG Jiangning, et al (513)
Root morphological and physiological responses of rice seedlings with different tolerance to cadmium stress	HE Junyu, REN Yanfang, WANG Yangyang, et al (522)
Non-point pollution control for landscape conservation analysis based on CLUE-S simulations in Miyun County	PAN Ying, LIU Yunhui, WANG Jing, et al (529)
Analysis on ecological land rent based on ecological footprint	LONG Kaisheng, CHEN Ligen, ZHAO Yali (538)
Relationship of vegetation degradation classification and landscape accessibility classification in Shenzhen	LIU Yufan, CHEN Xue, LI Guicai, et al (547)
Review and Monograph	
Risk management approaches for environmental and human health risks in the United States and Canada	HE Guizhen, LÜ Yonglong (556)
Plant wax and its response to environmental conditions: an overview	LI Jingjing, HUANG Junhua, XIE Shucheng (565)
Acid corrosion mechanism of the sulfate-reducing bacteria and protecting studies in oilfield	ZHUANG Wen, CHU Liye, SHAO Hongbo (575)
Advance in the research of phyllospheric microorganism	PAN Jiangang, HU Qing, QI Hongyan, et al (583)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊*

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任: 孔红梅

执行编辑: 刘天星 段 靖

生态学报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 31 卷 第 2 期 (2011 年 1 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 2 2011

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许可证	京海工商广字第 8013 号		

