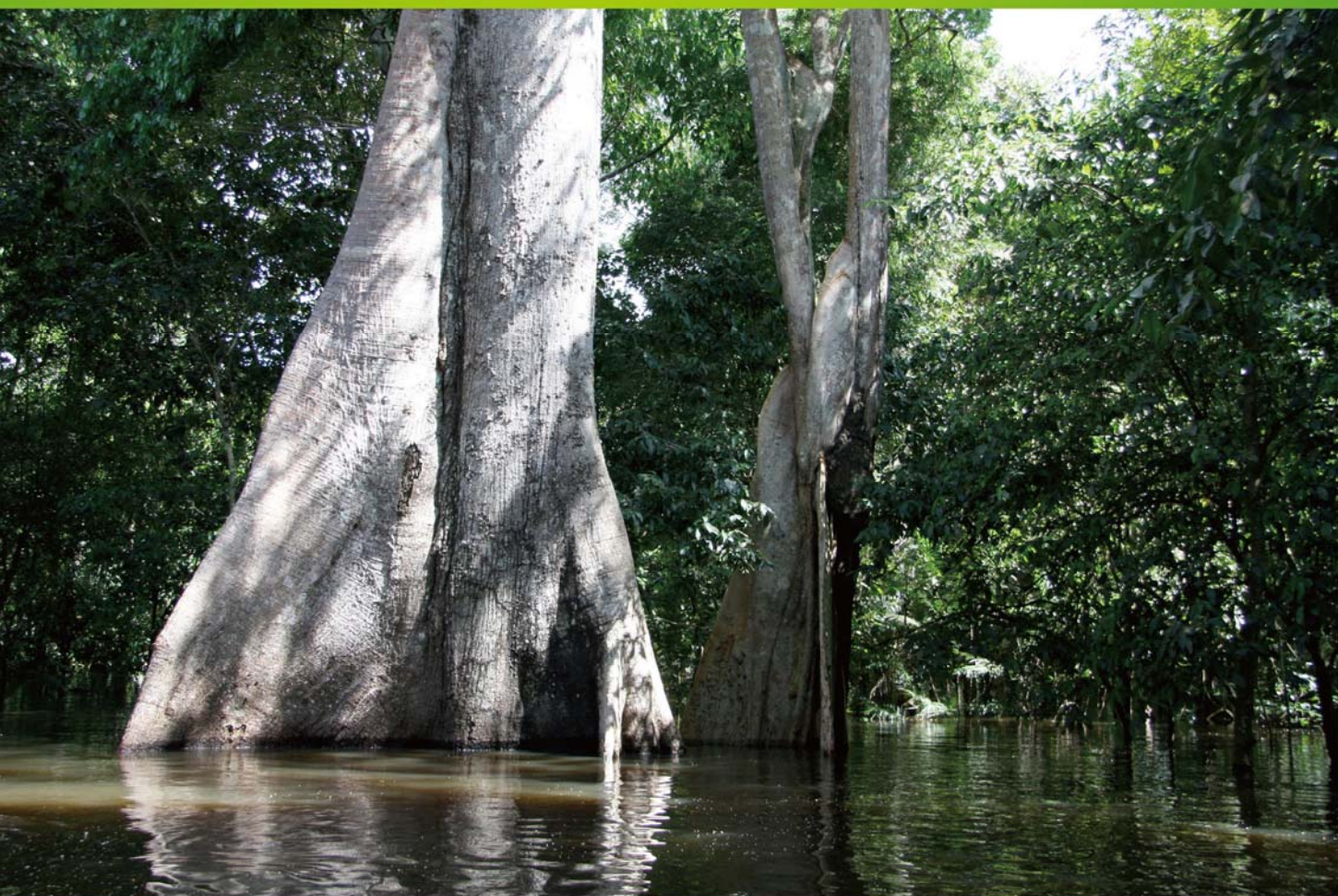


ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第31卷 第8期 Vol.31 No.8 **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 8 期

2011 年 4 月 (半月刊)

目 次

塔里木河下游胡杨径向生长与地下水的关系·····	安红燕,徐海量,叶 茂,等 (2053)
冲积平原区高程因子对土壤剖面质地构型的影响——以封丘县为例·····	檀满枝,密术晓,李开丽,等 (2060)
臭氧胁迫对大豆叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响·····	王俊力,王 岩,赵天宏,等 (2068)
重要理化因子对小球藻生长和油脂产量的影响·····	张桂艳,温小斌,梁 芳,等 (2076)
北亚热带马尾松净生产力对气候变化的响应·····	程瑞梅,封晓辉,肖文发,等 (2086)
亚热带沟叶结缕草草坪土壤呼吸·····	李熙波,杨玉盛,曾宏达,等 (2096)
UV-B 辐射对马尾松凋落叶分解和养分释放的影响·····	宋新章,张慧玲,江 洪,等 (2106)
干旱胁迫下内生真菌感染对羽茅的生理生态影响·····	韩 荣,李 夏,任安芝,等 (2115)
蜜环菌对锌的耐性和富集特性·····	朱 林,程显好,李维焕,等 (2124)
干旱荒漠区狭叶锦鸡儿灌丛扩展对策·····	张建华,马成仓,刘志宏,等 (2132)
黄土高原区不同植物凋落物搭配对土壤微生物量碳、氮的影响·····	王春阳,周建斌,夏志敏,等 (2139)
内蒙古典型草原克氏针茅与冰草的生存策略·····	孙 建,刘 苗,李胜功,等 (2148)
荒漠沙柳根围 AM 真菌的空间分布·····	贺学礼,杨 静,赵丽莉 (2159)
开放式昼夜不同增温对单季稻影响的试验研究·····	董文军,邓艾兴,张 彬,等 (2169)
醉马草免培养内生细菌的多样性·····	张雪兵,史应武,曾 军,等 (2178)
河南生态足迹驱动因素的 Hi_PLS 分析及其发展对策·····	贾俊松 (2188)
禹城市耕地土壤盐分与有机质的指示克里格分析·····	杨奇勇,杨劲松,余世鹏 (2196)
旋覆花提取物对朱砂叶螨的生物活性及酶活性的影响·····	段丹丹,王有年,成 军,等 (2203)
白洋淀湖滨湿地岸边带氨氧化古菌与氨氧化细菌的分布特性·····	叶 磊,祝贵兵,王 雨,等 (2209)
干旱胁迫条件下 6 种喀斯特主要造林树种苗木叶片水势及吸水潜能变化·····	王 丁,姚 健,杨 雪,等 (2216)
桉树人工林物种多样性变化特征·····	刘 平,秦 晶,刘建昌,等 (2227)
海河流域湿地生态系统服务功能价值评价·····	江 波,欧阳志云,苗 鸿,等 (2236)
芦苇在微咸水河口湿地甲烷排放中的作用·····	马安娜,陆健健 (2245)
云南不同土壤铅背景值下大叶茶种群对铅的吸收积累特征及其遗传分化·····	刘声传,段昌群,李振华,等 (2253)
长江口和杭州湾凤鲚胃含物与海洋浮游动物的种类组成比较·····	刘守海,徐兆礼 (2263)
江西大岗山地区 7—9 月降水量的重建与分析·····	乔 磊,王 兵,郭 浩,等 (2272)
山核桃免耕经营的经济效益和生态效益·····	王正加,黄兴召,唐小华,等 (2281)
基于 GIS 的广州市中心城区城市森林可达性分析·····	朱耀军,王 成,贾宝全,等 (2290)
专论与综述	
土壤呼吸温度敏感性的影响因素和不确定性·····	杨庆朋,徐 明,刘洪升,等 (2301)
植物代谢速率与个体生物量关系研究进展·····	程栋梁,钟全林,林茂兹,等 (2312)
耕地生态补偿实践与研究进展·····	马爱慧,蔡银莺,张安录 (2321)
问题讨论	
元谋干热河谷三种植被恢复模式土壤贮水及入渗特性·····	刘 洁,李贤伟,纪中华,等 (2331)
研究简报	
中微量元素和有益元素对水稻生长和吸收镉的影响·····	胡 坤,喻 华,冯文强,等 (2341)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 296 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 33 * 2011-04



封面图说:巴西热带雨林——美丽的巴西北部玛瑙斯热带雨林景观。位于南美洲的亚马逊河是世界上流域最广、流量最大的河流,孕育了世界面积最大的热带雨林,雨林中蕴藏着极丰富的生物资源。

彩图提供:中国科学院生态环境研究中心徐卫华博士 E-mail: xuweihua@rcees.ac.cn

臭氧胁迫对大豆叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响

王俊力, 王 岩, 赵天宏*, 曹 莹, 刘玉莲, 段 萌

(沈阳农业大学农学院, 辽宁沈阳 110866)

摘要: 由于城市化的加剧导致近地面臭氧(O_3)浓度日益增加, 对植物生长和生态系统的功能产生了显著影响, 因此准确评估近地层 O_3 浓度升高对植物的影响具有重要意义。利用开顶式气室(OTCs), 系统探讨了模拟 O_3 胁迫下大豆抗氧化系统抗坏血酸(AsA)-谷胱甘肽(GSH)循环清除活性氧(ROS)的机制及其对植株生长发育的影响。结果表明, 在整个生育期内, 与对照相比, (80 ± 10) nL/L 和 (110 ± 10) nL/L O_3 可以使大豆叶片丙二醛(MDA)含量、相对电导率增大, 超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)产生速率、过氧化氢(H_2O_2)含量升高, 超氧化物歧化酶(SOD)活性减弱; AsA-GSH 循环中的 AsA、GSH 含量减少, 脱氢抗坏血酸(DHA)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量增加, 过氧化物酶(APX)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)活性呈现出前期增强后期减弱趋势, 而脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)活性呈现出增强—减弱—增强的趋势。以上结果说明, O_3 浓度升高促进了大豆叶片 ROS 的代谢速率, 降低了 AsA-GSH 循环效率, 表明抗氧化系统不能长时间忍受高浓度 O_3 带来的氧化伤害, 从而使膜脂过氧化程度加重, 对大豆表现为伤害效应。

关键词: 臭氧胁迫; 活性氧; AsA-GSH 循环; 大豆

Effects of ozone on AsA-GSH cycle in soybean leaves

WANG Junli, WANG Yan, ZHAO Tianhong*, CAO Ying, LIU Yulian, DUAN Meng

College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China

Abstract: Widespread areas of crop production are presently at risk for damage from ambient atmospheric ozone (O_3) concentrations. The concentration of tropospheric O_3 has been rising due to aggravating urbanization since the Industrial Revolution, it has had a significant impact on plants and plants play an important role in adjusting structure and function of the ecosystem. Thus, to correctly evaluate how elevated O_3 concentration affects plants is of great significance. AsA-GSH cycle has an important function of eliminating H_2O_2 , and the efficiency of AsA-GSH cycle in plants can be stimulated by moderate stress conditions to scavenge reactive oxygen species (ROS). In this research, open-top chambers (OTCs) were used to investigate the mechanism of AsA-GSH cycle to eliminate ROS and the effects on growth and development of plants under troposphere O_3 stress. The results showed that, compared with control, the O_3 concentration of (80 ± 10) nL/L and (110 ± 10) nL/L induced an increase on malondialdehyde (MDA) content, relative electrical conductivity and a decrease on superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) production rate, hydrogen peroxide (H_2O_2) content and the activities of superoxide dismutase (SOD) during the whole growth stage. Simultaneously, O_3 stress resulted in lower content of ascorbic acid (AsA) and glutathione (GSH), and higher content of dehydroascorbic acid (DHA) and oxidized glutathione (GSSG) of AsA-GSH cycle. It showed a trend of increasing in earlier stage and decreasing in later stage of the activities of ascorbate peroxidase (APX), monodehydroascorbate reductase (MDHAR) and glutathione reductase (GR), while the dehydroascorbate reductase (DHAR) activity was increased in earlier period, decreased in middle period and then increased in later period compared to control, respectively. The results indicated that elevated O_3 concentration accelerated ROS metabolism rates and peroxidation damage, reduced the efficiency of AsA-GSH cycle and antioxidant system could not tolerate O_3 -induced injury, thus increasing membrane lipid peroxidation and resulting in a significant negative effect on soybean. Also, in the

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30970448, 30500069)

收稿日期: 2010-03-22; 修订日期: 2010-08-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zth1999@163.com

early of O_3 treatment, the intensity of stress was low; the protection of plants played an important role to increase the efficiency of removing ROS and reduce ROS damage by improving the efficiency of AsA-GSH cycle. With stress intensity increasing, the structure of antioxidant system in soybean leaves was damaged, resulting in rapid accumulation of ROS. And O_3 stress caused an acceleration of caducity that might be in part responsible for the reduction of antioxidant ability. This paper reveals the effects of different treatments on ROS metabolic parameters and the response of AsA-GSH cycle in soybean leaves under elevated O_3 , which can analyze its ROS metabolic response mechanisms to elevated O_3 concentration and provide references for the response mechanism of plants, and how to prevent soybean from O_3 injury and predict the feasibility of soybean under future climate change.

Key Words: Ozone stress; ROS; AsA-GSH cycle; soybean

臭氧(O_3)是主要的二次空气污染物,是影响近地层气温的温室气体和光化学烟雾的主要成分,对动、植物和人类健康都有不利影响。对流层清洁大气中 O_3 的自然背景或本底浓度为 40nL/L 左右,在污染大气中 O_3 浓度则达 100—200 nL/L^[1]。经预测,全球范围内地表附近对流层 O_3 浓度将持续增加^[2]。从微观结构、生理生化功能到生长发育以及生态系统等各个层次上, O_3 都能对植物产生影响。因此,研究未来近地面 O_3 浓度增加对植物的影响,成为国内外学者关注的焦点^[3-4]。

植物在生长发育过程中经常受到环境因素的胁迫,会严重影响植物的正常生长和发育,植物生理过程也会发生复杂的变化,其中活性氧(ROS)的产生被认为是导致这些过程的重要原因^[5]。ROS 产生于植物代谢过程中的需氧组织,在正常情况下,植物体内的 ROS 含量由抗氧化系统调控并保持在一定水平。当处于逆境条件下,ROS 的产生与清除的机制便失去平衡,致使植物体受到伤害。 O_3 通过气孔进入植物叶片,在质外体降解形成的各种类型的 ROS 与细胞壁组分和原生质膜发生反应^[6],也会改变 ROS 代谢从而影响整个植物的氧化还原状态^[7]。为了防御 ROS 的毒害作用,植物体内存在清除 ROS 的系统。抗坏血酸-谷胱甘肽(ASA-GSH)循环系统是植物体内清除 ROS 自由基的重要途径^[8],它负责清除 H_2O_2 ,并可调控体内的氧化还原势使信号转导系统朝着有利于植物生长的方向进行^[9]。但逆境条件下,植物体内抗氧化系统会发生变化,影响 ROS 的清除效率。目前,国内外对 O_3 胁迫下植物抗氧化系统的研究,多集中于研究抗氧化防御酶系统(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶)^[10-12],对 ASA-GSH 循环研究较少,尤其是 O_3 胁迫下的 ASA-GSH 循环的研究更少。

大豆(*Glycine max*)是我国主要农作物之一,深入了解 O_3 胁迫下大豆的 ROS 代谢机理,有利于筛选和培养抗性较强的品种以应对全球变化带来的负效应;而了解大豆对 O_3 浓度增高下的抗氧化系统的变化,有利于指导农业生产以及生态系统管理,从而减少由 O_3 污染给农业带来的损失。本试验以 ROS 清除为出发点,系统探讨近地层 O_3 胁迫下大豆 ASA-GSH 循环清除 ROS 的机制及其对植株生长发育的影响。为进一步研究全球气候变化对植物生长发育的影响及植物的响应机理提供理论依据和思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以大豆(*Glycine max*)品种“铁丰 29”为试材。该品种以铁 8114-7-4 为母本与铁 84059-13-8 杂交选育而成,生育期为 130—133d,适合中等或中等以上肥力土壤种植。

1.2 试验设计

(1)试验在中国科学院沈阳野外农田生态系统生态站进行,利用开顶式气室(Open-top chamber,简称 OTC)对大豆进行熏蒸试验。主要设备为 9 个结构完全相同的 OTCs(横截面为正八边形,边长 1.15m,高 2.4m,玻璃室壁)及与其配套的通气、通风控制设备。主要包括用于产生臭氧的臭氧发生器(BGY-Q8,北理国科,中国)以及监控开顶箱内 O_3 浓度的臭氧传感器(S-900,艾尔科,新西兰),和用于采集开顶箱内温湿度数据

的温湿度传感器以及数据分析与自动控制充气系统。在整个试验期间,气室内实际气体浓度控制稳定。

(2) 试验设 3 个处理: O_3 -1 (O_3 浓度升高, 浓度为 $(80 \pm 10) \text{ nL/L}$)、 O_3 -2 (O_3 浓度升高, 浓度为 $(110 \pm 10) \text{ nL/L}$) 和 CK (对照, 自然空气中 O_3 浓度, 约为 45 nL/L)。采用直播试验, 2008 年 4 月 30 日播于气室内, 每个气室大约 120 株 (相当于 18 万株/hm^2)。于大豆分枝期前 (6 月 10 日) 开始通入 O_3 , 每天熏蒸 8h (9:00—17:00)。试验期间水分、肥料均匀一致, 无病虫害及杂草等限制因素。分别于大豆分枝期 (6 月 29 日)、开花期 (7 月 21 日)、结荚期 (8 月 11 日) 和鼓粒期 (8 月 26 日) 取样, 每次选取各处理大豆相同部位的叶片充分混合后, 进行相关生理指标的测定, 每个处理气室间重复 3 次。8 月 30 日停止通气直至成熟收获 (9 月 24 日)。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 膜脂过氧化程度

丙二醛 (MDA) 含量的测定参照李合生等^[13]的硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法; 外渗电导率用 DDS-11A 型电导率仪测定, 以相对电导率 (%) 来表示。

1.3.2 活性氧自由基产生速率和含量

采用羟胺法测定超氧阴离子 (O_2^-) 的产生速率^[14]; 过氧化氢 (H_2O_2) 含量的测定采用分光光度计法^[15]。

1.3.3 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性

SOD 活性的测定采用 NBT 光氧化还原法, 以抑制 NBT 光氧化还原 50% 的酶量为一个酶活性单位^[16]。

1.3.4 ASA-GSH 循环

(1) 抗氧化物质含量

抗坏血酸 (AsA) 和脱氢抗坏血酸 (DHA) 含量的测定采用分光光度计法^[17], DHA 含量由总抗坏血酸含量减去 AsA 的含量获得。采用紫外分光光度计法测定还原型谷胱甘肽 (GSH) 和氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量^[18], GSH 含量由总谷胱甘肽含量减去 GSSG 含量获得。

(2) 抗氧化酶活性

抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性、单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR) 活性、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 活性和谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性的测定采用紫外分光光度计法, 以 290nm 处的吸光值变化为 AsA 的消耗量 (消光系数为 $2.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) 来计算 APX 活性^[19]; 在 340nm 处测定的吸光值增量 (消光系数为 $6.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) 计算 MDHAR 活性^[20]; 在 290nm 处测定吸光值的增量 (消光系数为 $2.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) 计算 DHAR 活性^[20]; 以 340nm 处的吸光值变化为 NADPH 的消耗量 (消光系数为 $6.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) 计算 GR 活性^[20]。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel2003 软件和 DPS 数据处理系统对数据进行分析并作图。

2 结果与分析

2.1 臭氧胁迫对大豆叶片膜脂过氧化程度的影响

MDA 是植物器官膜脂过氧化的产物, 其含量的高低反映了膜脂过氧化程度的大小。不同生育时期, 各处理植株 MDA 含量呈上升趋势 (图 1), 各处理间总的趋势为 $CK < O_3-1 < O_3-2$ 。从分枝期到鼓粒期, 高浓度 O_3 胁迫使 MDA 含量增加, 随着胁迫强度的增大, MDA 含量的增幅加大。不同 O_3 浓度对大豆叶片相对电导率的影响如图 1B 所示, 在整个生育期内, 各处理的相对电导率均呈逐渐增加的趋势, 并且各处理间总的趋势始终为 $CK < O_3-1 < O_3-2$ 。在整个生育期内, O_3 胁迫处理使大豆叶片相对电导率增大, O_3-1 处理和 O_3-2 处理与 CK 相比, 增加幅度分别为 9.12%—61.01% 和 25.46%—91.63%。上述结果表明, 高浓度 O_3 处理可以使大豆叶片质膜相对透性增加, 并且随着 O_3 浓度的增加, 质膜相对透性增加幅度逐渐增大。

2.2 臭氧胁迫对大豆叶片活性氧的影响

从图 2 可以看出, 在整个生育期内, 除 O_3-1 处理植株的 O_2^- 产生速率在开花期略有降低外, 大豆叶片 O_2^- 产生速率总体上呈增高趋势, 各处理植株叶片 O_2^- 产生速率总的趋势基本表现为 $CK < O_3-1 < O_3-2$, 这与 MDA

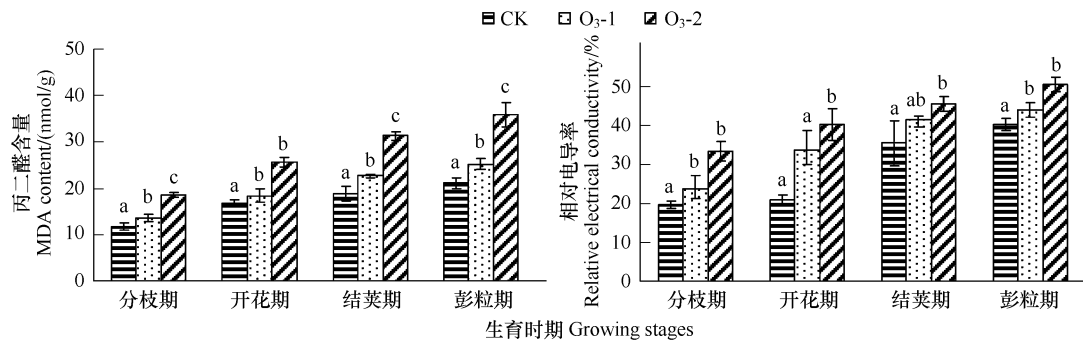
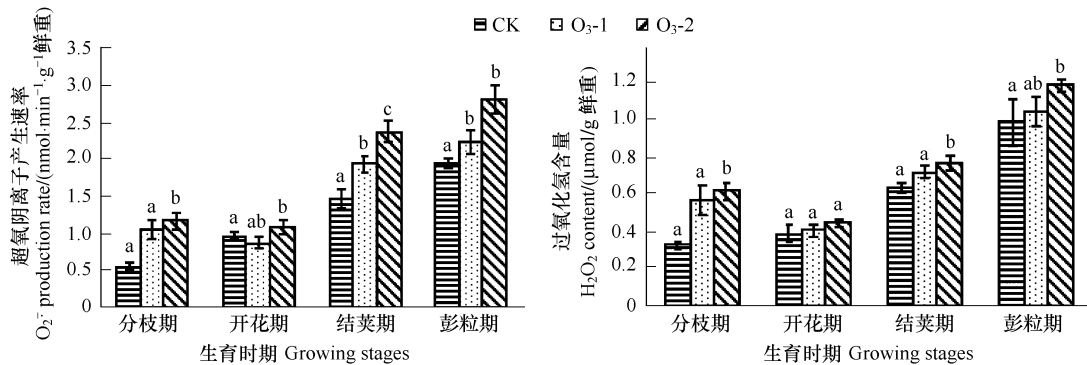
图1 O₃胁迫下大豆叶片MDA含量和质膜相对透性的变化

Fig. 1 Variation of MDA content and relative electrical conductivity in soybean leaves under ozone stress

图中不同小写字母分别表示同一生育期内不同处理间的差异达到0.05显著性水平

含量的变化趋势相同。随着O₃浓度的增加,O₂⁻产生速率增大,与CK相比,两个处理的最大增幅分别为89.29%和100.08%。由此可知,O₃浓度升高加速了O₂⁻产生速率,并且浓度越高O₂⁻产生速率越大。不同生育时期各处理大豆叶片H₂O₂含量的变化趋势为CK<O₃-1<O₃-2(图2)。与CK相比,O₃-1、O₃-2处理H₂O₂含量的最大增幅分别为74.51%和89.27%。随着通气时间的延长,CK处理植株的H₂O₂含量呈逐渐升高的趋势,而O₃-1处理和O₃-2处理呈高-低-高的趋势。上述结果表明,高浓度O₃胁迫可引起大豆叶片中活性氧的大量积累,随着胁迫的增强,积累量增大。

图2 O₃胁迫下大豆叶片O₂⁻产生速率和H₂O₂含量的变化Fig. 2 Variation of O₂⁻ production rate and H₂O₂ content in soybean leaves under ozone stress

2.3 臭氧胁迫对大豆叶片SOD活性的影响

由图3可知,随着生育期的延长,各处理大豆叶片SOD活性的变化趋势基本一致,除CK在开花期略有升高之外均呈降低趋势。在分枝期SOD活性的变化趋势为CK<O₃-1<O₃-2,与CK相比,O₃-1处理SOD活性的增加幅度为12.35%,O₃-2处理的增加幅度为14.05%,各处理间差异不显著;在开花期和结荚期SOD活性的变化趋势为CK>O₃-1>O₃-2,O₃-1处理、O₃-2处理的SOD活性降幅分别为9.64%—19.71%和18.52%—36.11%;在鼓粒期,SOD活性的变化趋势为CK>O₃-2>O₃-1,高浓度O₃处理使大豆叶片SOD活性显著低于CK(P<0.05),最大降幅为41.03%。

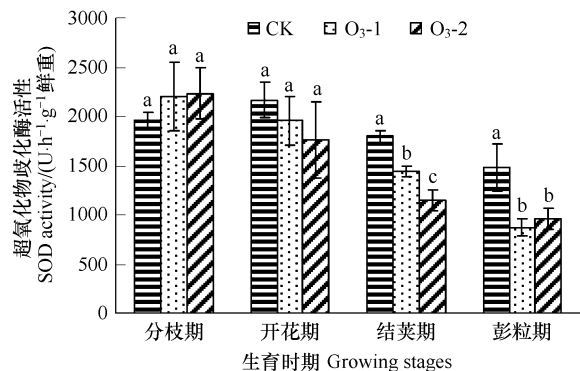
图3 O₃胁迫下大豆叶片SOD活性的变化

Fig. 3 Variation of SOD activity in soybean leaves under ozone stress

2.4 臭氧胁迫对大豆叶片 ASA-GSH 循环的影响

2.4.1 ASA-GSH 循环中抗氧化物质含量

AsA 是广泛存在于植物光合组织中的一种重要的抗氧化剂,在减少膜脂过氧化程度,保护细胞膜透性方面有重要作用。图 4 表明,随着 O_3 通气时间的延长,各处理植株的 AsA 含量变化在整个生育期内呈先升高后降低的趋势。在开花期,高浓度 O_3 处理植株的 AsA 含量有短期升高趋势,并且 O_3 -1 处理的含量增加明显,增幅分别为 18%。而其他生育时期,各处理间的变化趋势为 $CK > O_3$ -1 $> O_3$ -2, O_3 -1 处理下 AsA 含量的最大降低幅度为 20%,而 O_3 -2 处理下的最大降幅分别为 31%。从图 4B 可以看出,随胁迫时间的延长,叶片 DHA 含量总体上呈现上升趋势,在开花期, O_3 -1 处理和 O_3 -2 处理与 CK 相比达到显著水平 ($P < 0.05$);在结荚期和鼓粒期,各处理差异不显著 ($P > 0.05$)。

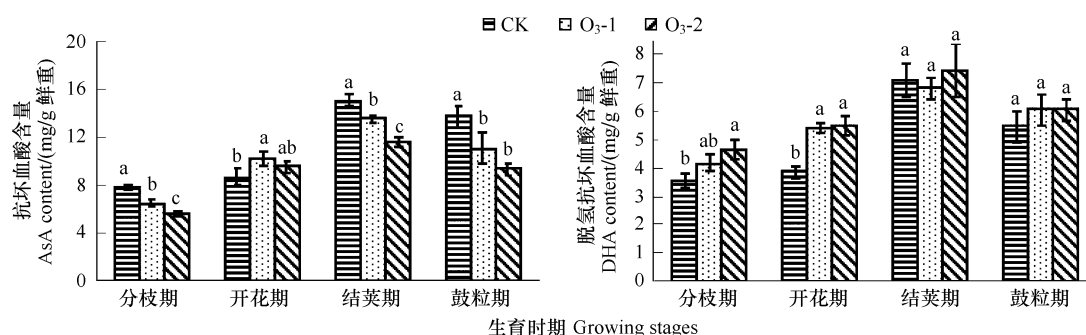


图 4 O_3 胁迫下大豆叶片 AsA 和 DHA 含量的变化

Fig. 4 Variation of AsA and DHA content in soybean leaves under ozone stress

GSH 是 ASA-GSH 循环中重要的抗氧化物质,在整个生育期内, GSH 含量基本呈现先升高后降低的趋势 (图 5)。在分枝期, O_3 -2 处理与 CK 相比, GSH 含量在短期内升高,增幅为 11.1%;而在开花期, O_3 -1 处理下的 GSH 含量有短期升高趋势,其增幅为 9%。在其余各时期,各处理间的变化趋势均为 $CK > O_3$ -1 $> O_3$ -2。随着胁迫时间延长,除分枝期和结荚期 O_3 -1 处理的叶片 GSSG 含量略有下降外,各时期处理间的 GSSG 含量在总体上呈现上升趋势 (图 5)。在整个生育期中, GSSG 含量在 O_3 -1 处理下变化的并不显著;开花期和结荚期, O_3 -2 处理的下 GSSG 含量与 CK 相比增加明显,增幅分别为 31.3% 和 29.7%;在鼓粒期,各处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。

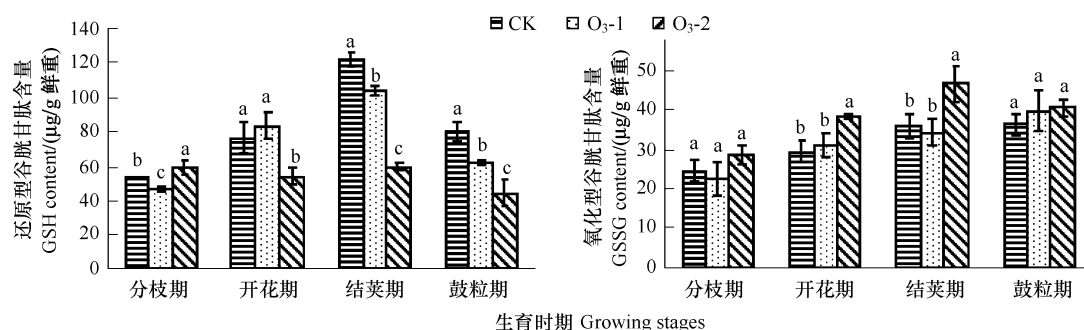


图 5 O_3 胁迫下大豆叶片 GSH 和 GSSG 含量的变化

Fig. 5 Variation of GSH and GSSG content in soybean leaves under ozone stress

2.4.2 ASA-GSH 循环中抗氧化酶活性

不同 O_3 浓度对大豆叶片 APX 活性的影响如图 6 所示,在整个生育期内,随着大豆植株的逐渐衰老,各处理大豆叶片 APX 活性的变化趋势一致,均呈先上升后下降趋势。在分枝期 O_3 -2 处理植株的 APX 活性略高于 CK,增幅为 10.4%;而在开花期 O_3 -1 处理下植株的 APX 活性显著高于 CK ($P < 0.05$),增幅为 19.2%,其他各

处理间总的变化趋势为 $CK > O_3-1 > O_3-2$ 。除分枝期外,两个高浓度 O_3 处理的 APX 活性在整个生育期内差异均显著 ($P < 0.05$)。在 O_3 胁迫的过程中,大豆叶片 MDHAR 活性在分枝期略有增加,但并不十分显著,其余各时期与对照相比 MDHAR 活性均下降,趋势为 $CK > O_3-1 > O_3-2$,并且随着处理时间的延长,MDHAR 活性在整个生育时期呈现出低—高一低—高的趋势。与 CK 相比, O_3-1 处理和 O_3-2 处理下的 MDHAR 活性均在结荚期达到降幅最大值,分别为 22.6% 和 52.5%。在 O_3 胁迫前期,大豆叶片中 DHAR 活性变化不显著 ($P > 0.05$)。随胁迫时间的延长,在各时期内,处理间的植株体内 DHAR 活性与 CK 相比呈现出先下降后上升的状态。结荚期,与对照相比,DHAR 活性在 O_3-1 处理和 O_3-2 处理下达到差异显著水平 ($P < 0.05$),降幅分别为 25.4% 和 44.4%;而在鼓粒期,与对照相比, O_3-1 处理和 O_3-2 处理下 DHAR 活性的增加幅度分别达到 39.9% 和 46.7%,两个处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。大豆叶片 GR 活性在整个生育时期内变化幅度不大。在 O_3 胁迫条件下,与 CK 相比,各处理间 GR 活性先上升后下降。在开花期,与 CK 相比, O_3-1 处理和 O_3-2 处理下的增幅分别达到 25.1% 和 14%。随着胁迫时间的延长,高浓度 O_3 处理使 GR 活性降低,最大降幅出现在结荚期,两个 O_3 处理降幅分别为 17.8% 和 28% (图 6)。

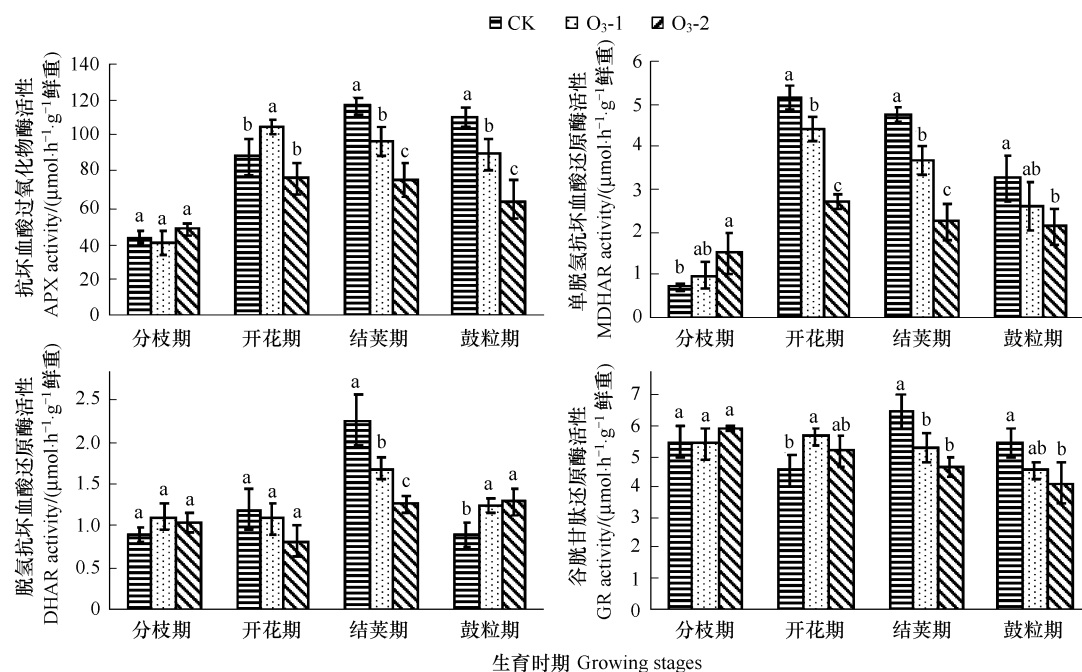


图 6 O_3 胁迫下大豆叶片 APX、MDHAR、DHAR、GR 活性的变化

Fig. 6 Variation of APX, MDHAR, DHAR and GR activity in soybean leaves under ozone stress

3 讨论

MDA 是植物器官衰老或受逆境胁迫时膜脂发生过氧化作用形成的产物之一,本试验结果表明 O_3 胁迫使大豆叶片 MDA 含量增加,加剧了大豆叶片的膜脂过氧化程度,使膜遭到破坏,说明高浓度 O_3 已经对叶片细胞中的膜系统产生了伤害,并且 O_3 浓度越高,对大豆的伤害作用越明显,这与相关研究结果一致^[21-22]。目前普遍认为, O_3 对植物的毒害是由于其强氧化性,通过氧化硫氢链和类脂肪的水解,破坏膜结构的完整性,增加膜透性,降低原初代谢产物的合成,增强了酶和基质的反应而提高次生代谢产物的数量,从而使细胞代谢活动失调,致使细胞受害^[23]。

当发生 O_3 胁迫时, O_3 通过张开的气孔进入植物体内,从而影响植物体内活性氧代谢系统的平衡,即增加植物体内的活性氧,引起活性氧大量累积。 O_3 浓度升高可使大豆叶片中 O_2^- 产生速率提高^[24],与本试验结果一致。而 O_2^- 产生速率在开花期的短暂下降可能是由于 SOD 的活力增强,使单位时间内 O_2^- 的量减少造成的。

植物体内产生的 O_2^- 在线粒体 SOD 催化下可歧化生成 H_2O_2 。 O_3 处理下大豆叶片 SOD 活性呈降低趋势,说明在较强 O_3 胁迫下,植物细胞中 ROS 累积超过一定限度,其毒性破坏了细胞内多种功能膜和酶系统结构致使植物叶片抗氧化酶活性下降^[25]。而 SOD 活性在胁迫前期的短暂增加,说明植物自身可以通过内源保护机制来抵御 O_3 胁迫伤害,这种内源保护机制是通过细胞间硫醇类抗氧化物质含量的提高促进了 SOD 基因的表达来实现的^[26]。

ASA-GSH 循环负责清除 H_2O_2 ,适度的逆境条件能够刺激植物 ASA-GSH 循环中酶活性升高^[27],增强对活性氧的清除能力。AsA 和 GSH 是 ASA-GSH 循环中两种重要的抗氧化物质,在抵御植物体内活性氧损伤方面具有重要作用,通常两者相偶联起作用^[18]。可以认为在 O_3 胁迫初期,AsA 含量和 GSH 含量的升高可能是植物对胁迫的一种适应性反应,植物通过加快二者的生成来增强自身的抗逆性。APX 利用 AsA 将 H_2O_2 还原成 H_2O ,从而清除 H_2O_2 的毒性;AsA 氧化时,形成 MDHA,MDHA 很不稳定,一部分被 MDHAR 还原为 AsA,另一部分进一步氧化生成 DHA。AsA 和 DHA 的相对平衡在 ASA-GSH 循环中起着重要作用。 O_3 胁迫后期大豆叶片内的 GSH 含量的下降可能是由于细胞内大量 GSH 用于各种解毒过程,也降低了 ASA-GSH 循环的效率。试验结果说明, O_3 处理初期,胁迫强度较低,为抵御 ROS 的伤害,植物的保护机制发挥作用,通过提高 AsA 和 GSH 含量来增强其清除 ROS 的效率,减轻 ROS 的伤害作用。随着胁迫时间的延长,胁迫强度不断加重,使其自身抗氧化物质结构遭到破坏,抗氧化物质含量降低,造成 ROS 的快速积累。Mahalingam^[28] 的研究结果也与此相符。

APX 是叶绿体中清除 H_2O_2 的主要酶, H_2O_2 的产生能够诱导 APX 的表达,本试验中, O_3 胁迫前期 APX 活性的短暂增加可能与此有关,但胁迫后期 APX 活性的显著降低,可能是高浓度的 H_2O_2 能够破坏 APX,催化 APX 与 H_2O_2 反应的中间产物——氧化态化合物 I 的血红素辅基脱落,从而导致 APX 活性被抑制。MDHAR 活性和 DHAR 活性在 O_3 处理前期时略有提高,它们可以催化 AsA 的再生而使 AsA 在植物组织中保持较高的还原态,对适应胁迫环境非常重要,胁迫后期二者活性的降低进一步证明了 ASA-GSH 循环效率的下降。另外,大豆叶片中 APX 活性远大于 MDHAR 活性与 DHAR 活性之和,说明 APX 氧化 AsA 的活性比 MDHAR 与 DHAR 再生 AsA 的活性要强。GR 能够将 GSSG 转化为 GSH,但是高浓度 O_3 只能使 GR 活性略有波动,与对照之间无显著差异(除结荚期)。在很多胁迫条件下,GR 活性的变化幅度都很小^[29-30]。本试验中,在 O_3 胁迫初期,SOD、APX、MDHAR、DHAR、GR 活性的增加,说明抗氧化酶活性的增加是植物对外界环境的一种应激和自我保护反应,并通过调节抗氧化物的水平去适应逆境并再次建立 ROS 产生与清除之间的平衡关系。然而,随着胁迫时间的延长,植物体内过多的活性氧不能被有效清除,一方面抑制了酶活性,降低了植物对自身的保护能力,另一方面又攻击细胞膜系统,诱发膜脂过氧化水平加剧,最终导致植物受到逆境伤害。

References:

- [1] Fishman J. The global consequences of increasing tropospheric ozone concentrations. *Chemosphere*, 1991, 22(7): 685-695.
- [2] UNEP. Environmental effects of ozone depletion and its interactions with climate change: 2006 assessment. The Environmental Effects Assessment Panel Report, 2006.
- [3] Gaucher C, Costanzo N, Widden P, Renaud J P, Dizengremel P, Mauffette Y, Chevrier N. Response to an ozone gradient of growth and enzymes implicated in tolerance to oxidative stress in *Acer saccharum* (Marsh.) seedlings. *Annals of Forest Science*, 2006, 63(4): 387-397.
- [4] Morgan P B, Mies T A, Bollero G A, Nelson R L, Long S P. Season-long elevation of ozone concentration to projected 2050 levels under fully open-air conditions substantially decreases the growth and production of soybean. *New Phytologist*, 2006, 170(2): 333-343.
- [5] Smirnov N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 1993, 125(1): 27-58.
- [6] Keutgen A J, Pawelzik E. Apoplastic antioxidative system responses to ozone stress in strawberry leaves. *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165(8): 868-875.
- [7] Foyer C H, Noctor G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a reevaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell and Environment*, 2005, 28(8): 1056-1071.
- [8] Alscher R G, Donahue J L, Cramer C L. Reactive oxygen species and antioxidant relationships in green cells. *Plant Physiology*, 1997, 100(2): 224-233.
- [9] Mallick N, Mohn F H. Reactive oxygen species: response of algal cells. *Plant Physiology*, 2000, 157(2): 183-193.

- [10] Zhao T H, Sun J W, Fu Y, Zhao Y X, Hu Y Y, Xu L, Shi Y. Effects of elevated CO₂ and O₃ concentration on active oxygen metabolism and anti-oxidative enzymes activities in spring wheat. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42 (1): 64-71.
- [11] Guo Z, Ou W, Lu S, Zhong Q. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, 44(11/12): 828-836.
- [12] Guéra A, Calatayud A, Sabater B, Barreno E. Involvement of the thylakoidal NADH-plastoquinone-oxidoreductase complex in the early responses to ozone exposure of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(409): 205-218.
- [13] Li H S, Sun Q, Zhao S J, Zhang W H. *Plant Physiology Biochemistry Principle and Experimental Technique*. Beijing: Higher Education Press, 2000; 260-261.
- [14] Wang A G, Luo G H. The quantitative relationship between superoxide radical reaction and hydroxylamine in plants. *Plant Physiology Communications*, 1990, 26(6): 55-57.
- [15] Zou Q. *Experimental Manual on Plant Physiology*. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000; 159-170.
- [16] Beyer W F, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 1987, 161(2): 559-566.
- [17] Law M Y, Charles S A, Halliwell B. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effect of hydrogen peroxide and of Paraquat. *Biochemical Journal*, 1983, 210(3): 899-903.
- [18] Nagalakshmi N, Prasad M N V. Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*. *Plant Science*, 2001, 160(2): 291-299.
- [19] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22 (5): 867-880.
- [20] Krivosheeva A, Tao D L, Ottander C, Wingsle G, Dube S L, Öquist G. Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis in Scots pine. *Planta*, 1996, 200(3): 296-305.
- [21] Zhao T H, Sun J W, Zhao Y X, Fu Y, Wang Y, Shi Y. Effects of elevated CO₂ and O₃ concentration and combined on ROS metabolism and antioxidative enzymes activities of maize (*Zea mays* L.). *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(8): 3644-3653.
- [22] Zheng Q W, Wang X K, Xie J Q, Feng Z Z, Feng Z W, Ni X W, Ouyang Z Y. Effects of exogenous ascorbate acid on membrane protective system of in situ rice leaves under O₃ stress. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26 (4): 1131-1137.
- [23] Jiang G M. *Plant Physioecology*. Beijing: Higher Education Press, 2004; 12-12.
- [24] Zhao T H, Shi Y, Huang G H, Wang Y, Sun B. Respective and interactive effects of double CO₂ and O₃ concentrations on membrane lipid peroxidation and antioxidative ability of soybean. *Science in China, Series C: Life Sciences*, 2005, 48(1): 136-141.
- [25] Wang C Y, Bai Y M, Wen M, Huang H. Effects of double CO₂ and O₃ on growth and yields in soybean. *Environmental Science*, 2004, 25(6): 6-10.
- [26] Bower C, Montagu M V, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992, 43: 83-116.
- [27] Rao M V, Hale B A, Ormrod D P. Amelioration of ozone induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide. *Plant Physiology*, 1995, 109(2): 421-432.
- [28] Mahalingam R, Jambunathan N, Gunjan S K, Faustin E, Weng H, Ayoubi P. Analysis of oxidative signaling induced by ozone in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell and Environment*, 2006, 29 (7): 1357-1371.
- [29] Calatayud A, Barreno E. Chlorophyll a fluorescence, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in tomato in response to ozone and benomyl. *Environment Pollution*, 2001, 115(2): 283-289.
- [30] Calatayud A, Iglesias D J, Talón M, Barreno E. Effects of 2-month ozone exposure in spinach leaves on photosynthesis, antioxidant systems and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003, 41(9): 839-845.

参考文献:

- [10] 赵天宏, 孙加伟, 付宇, 赵艺欣, 胡莹莹, 徐玲, 史奕. CO₂和O₃浓度升高对春小麦活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响. *中国农业科学*, 2009, 42(1): 64-71.
- [13] 李合生, 孙群, 赵世杰, 章文华. *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 2000; 260-261.
- [14] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物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.
- [15] 邹琦. *植物生理学实验指导*. 北京: 中国农业出版社, 2000; 159-170.
- [21] 赵天宏, 孙加伟, 赵艺欣, 付宇, 王岩, 史奕. CO₂和O₃浓度升高及其复合作用对玉米(*Zea mays* L.)活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响. *生态学报*, 2008, 28(8): 3644-3653.
- [22] 郑启伟, 王效科, 谢居清, 冯兆忠, 冯宗炜, 倪雄伟, 欧阳志云. 外源抗坏血酸对臭氧胁迫下水稻叶片膜保护系统的影响. *生态学报*, 2006, 26(4): 1131-1137.
- [23] 蒋高明. *植物生理生态学*. 北京: 高等教育出版社, 2004; 12-12.
- [25] 王春乙, 白月明, 温民, 黄辉. CO₂和O₃浓度倍增及复合效应对大豆生长和产量的影响. *环境科学*, 2004, 25(6): 6-10.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 8 April, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

The relationship between <i>Populus euphratica</i> 's radial increment and groundwater level at the lower reach of Tarim River	AN Hongyan, XU Hailiang, YE Mao, et al (2053)
Influence of elevation factor on soil profile texture configuration: a case study of the alluvial plain of Fengqiu County	TAN Manzhi, MI Shuxiao, LI Kaili, et al (2060)
Effects of ozone on AsA-GSH cycle in soybean leaves	WANG Junli, WANG Yan, ZHAO Tianhong, et al (2068)
The effects of physical and chemical factors on the growth and lipid production of <i>Chlorella</i>	ZHANG Guiyan, WEN Xiaobin, LIANG Fang, et al (2076)
Response of net productivity of masson pine plantation to climate change in North Subtropical Region	CHENG Ruimei, FENG Xiaohui, XIAO Wenfa, et al (2086)
Soil respiration of <i>Zoysia matrella</i> turfgrass in subtropics	LI Xibo, YANG Yusheng, ZENG Hongda, et al (2096)
Effect of UV-B radiation on the leaf litter decomposition and nutrient release of <i>Pinus massoniana</i>	SONG Xinzhang, ZHANG Huiling, JIANG Hong, et al (2106)
Physiological ecological effect of endophyte infection on <i>Achnatherum sibiricum</i> under drought stress	HAN Rong, LI Xia, REN Anzhi, et al (2115)
Zinc Tolerance and Accumulation Characteristics of <i>Armillaria mellea</i>	ZHU Lin, CHENG Xianhao, LI Weihuan, et al (2124)
Expansion strategies of <i>Caragana stenophylla</i> in the arid desert region	ZHANG Jianhua, MA Chengchang, LIU Zhihong, et al (2132)
Effects of mixed plant residues from the Loess Plateau on microbial biomass carbon and nitrogen in soil	WANG Chunyang, ZHOU Jianbin, XIA Zhimin, et al (2139)
Survival strategy of <i>Stipa krylovii</i> and <i>Agropyron cristatum</i> in typical steppe of Inner Mongolia	SUN Jian, LIU Miao, LI Shengcong, et al (2148)
Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in <i>Salix psammophila</i> root-zone soil in Inner Mongolia desert	HE Xueli, YANG Jing, ZHAO Lili (2159)
An experimental study on the effects of different diurnal warming regimes on single cropping rice with Free Air Temperature Increased (FATI) facility	DONG Wenjun, DENG Aixin, ZHANG Bin, et al (2169)
Endophytic bacterial diversity in <i>Achnatherum inebrians</i> by culture-independent approach	ZHANG Xuebing, SHI Yingwu, ZENG Jun, et al (2178)
Hierarchical Partial Least Squares (Hi_PLS) model analysis of the driving factors of Henan's Ecological Footprint (EF) and its development strategy	JIA Junsong (2188)
Evaluation on spatial distribution of soil salinity and soil organic matter by indicator Kriging in Yucheng City	YANG Qiyong, YANG Jinsong, YU Shipeng (2196)
The toxicity of lupeol of <i>Inula britannica</i> on <i>Tetranychus cinnabarinus</i> and its effects on mite enzyme activity	DUAN Dandan, WANG Younian, CHENG Jun, et al (2203)
Abundance and biodiversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in littoral wetland of Baiyangdian Lake, North China	YE Lei, ZHU Guibing, WANG Yu, et al (2209)
Changes of leaf water potential and water absorption potential capacities of six kinds of seedlings in Karst mount area under different drought stress intensities: Taking six forestation seedlings in karst Mountainous region for example	WANG Ding, YAO Jian, YANG Xue, et al (2216)
Comparison of structure and species diversity of <i>Eucalyptus</i> community	LIU Ping, QIN Jing, LIU Jianchang, et al (2227)
Ecosystem services valuation of the Haihe River basin wetlands	JIANG Bo, OUYANG Zhiyun, MIAO Hong, et al (2236)
Effects of <i>Phragmites australis</i> on methane emission from a brackish estuarine wetland	MA Anna, LU Jianjian (2245)
Genetic differentiation and the characteristics of uptake and accumulation of lead among <i>Camellia sinensis</i> populations under different background lead concentrations of soils in Yunnan, China	LIU Shengchuan, DUAN Changqun, LI Zhenhua, et al (2253)
Comparison of zooplankton lists between <i>Coilia mystus</i> food contents and collections from the Yangtze River Estuary & Hangzhou Bay	LIU Shouhai, XU Zhaoli (2263)
Reconstruction and analysis of July-September precipitation in Mt. Dagangshan, China	QIAO Lei, WANG Bing, GUO Hao, et al (2272)
Analysis on economic and ecological benefits of no-tillage management of <i>Carya cathayensis</i>	WANG Zhengjia, HUANG Xingzhao, TANG Xiaohua, et al (2281)
GIS-based analysis of the accessibility of urban forests in the central city of Guangzhou, China	ZHU Yaojun, WANG Cheng, JIA Baoquan, et al (2290)
Review and Monograph	
Impact factors and uncertainties of the temperature sensitivity of soil respiration	YANG Qingpeng, XU Ming, LIU Hongsheng, et al (2301)
The advance of allometric studies on plant metabolic rates and biomass	CHENG Dongliang, ZHONG Quanlin, LIN Maozi, et al (2312)
Practice and the research progress on eco-compensation for cultivated land	MA Aihui, CAI Yinying, ZHANG Anlu (2321)
Discussion	
Soil water holding capacities and infiltration characteristics of three vegetation restoration models in dry-hot valley of Yuanmou	LIU Jie, LI Xianwei, JI Zhonghua, et al (2331)
Scientific Note	
Effects of secondary, micro- and beneficial elements on rice growth and cadmium uptake	HU Kun, YU Hua, FENG Wenqiang, et al (2341)

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 8 期 (2011 年 4 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 8 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		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元