

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

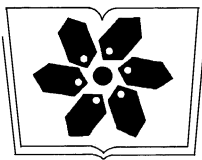
Acta Ecologica Sinica



第31卷 第9期 Vol.31 No.9 **2011**

中国生态学会
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 9 期

2011 年 5 月 (半月刊)

目 次

EAM 会议专刊述评——气候变化下旱区农业生态系统的可持续性	李凤民, Kadambot H. M Siddique, Neil C Turner, 等 (I)
第二届生态系统评估与管理(EAM)国际会议综述	李朴芳, 赵旭喆, 程正国, 等 (2349)
应对全球气候变化的干旱农业生态系统研究——第二届 EAM 国际会议青年学者论坛综述	赵旭喆, 李朴芳, Kadambot H. M Siddique, 等 (2356)
微集雨模式与降雨变律对燕麦大田水生态过程的影响	强生才, 张恒嘉, 莫非, 等 (2365)
黑河中游春小麦需水量空间分布	王 瑶, 赵传燕, 田风霞, 等 (2374)
祁连山区青海云杉林蒸腾耗水估算	田风霞, 赵传燕, 冯兆东 (2383)
甘肃小陇山不同针叶林凋落物量、养分储量及持水特性	常雅军, 陈 琦, 曹 靖, 等 (2392)
灌水频率对河西走廊绿洲菊芋生活史对策及产量形成的影响	张恒嘉, 黄高宝, 杨 斌 (2401)
玛纳斯河流域水资源可持续利用评价方法	杨 广, 何新林, 李俊峰, 等 (2407)
西北旱寒区地理、地形因素与降雨量及平均温度的相关性——以甘肃省为例	杨 森, 孙国钧, 何文莹, 等 (2414)
黑河河岸植被与环境因子间的相互作用	许莎莎, 孙国钧, 刘慧明, 等 (2421)
干旱胁迫对高山柳和沙棘幼苗光合生理特征的影响	蔡海霞, 吴福忠, 杨万勤 (2430)
树锦鸡儿、柠条锦鸡儿、小叶锦鸡儿和鹰嘴豆干旱适应能力比较	方向文, 李凤民, 张海娜, 等 (2437)
胡杨异形叶绿素荧光特性对高温的响应	王海珍, 韩 路, 徐雅丽, 等 (2444)
柠条平茬处理后不同组织游离氨基酸含量	张海娜, 方向文, 蒋志荣, 等 (2454)
玛河流域扇缘带盐穗木土壤速效养分的“肥岛”特征	涂锦娜, 熊友才, 张 霞, 等 (2461)
摩西球囊霉对三叶鬼针草保护酶活性的影响	宋会兴, 钟章成, 杨万勤, 等 (2471)
燕麦属不同倍性种质资源抗旱性状评价及筛选	彭远英, 颜红海, 郭来春, 等 (2478)
光周期对燕麦生育时期和穗分化的影响	赵宝平, 张 娜, 任长忠, 等 (2492)
水肥条件对新老两个春小麦品种竞争能力和产量关系的影响	杜京旗, 魏盼盼, 袁自强, 等 (2501)
猪场沼液对蔬菜病原菌的抑制作用	尚 斌, 陈永杏, 陶秀萍, 等 (2509)
不同夏季填闲作物种植对设施菜地土壤无机氮残留和淋洗的影响	王芝义, 郭瑞英, 李凤民 (2516)
不同群体结构夏玉米灌浆期光合特征和产量变化	卫 丽, 熊友才, Baoluo Ma, 等 (2524)
脱硫废弃物对碱胁迫下油菜幼叶细胞钙分布及 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响	毛桂莲, 许 兴, 郑国琦, 等 (2532)
过去 30a 玛纳斯河流域生态安全格局与农业生产力演变	王月健, 徐海量, 王 成, 等 (2539)
基于 RS 和转移矩阵的泾河流域生态承载力时空动态评价	岳东霞, 杜 军, 刘俊艳, 等 (2550)
毛乌素沙地农牧生态系统能值分析与耦合关系	胡兵辉, 廖允成 (2559)
民勤绿洲农田生态系统服务价值变化及其影响因子的回归分析	岳东霞, 杜 军, 巩 杰, 等 (2567)
青岛市城市绿地生态系统的环境净化服务价值	张绪良, 徐宗军, 张朝晖, 等 (2576)
基于 3S 技术的祖厉河流域农村人均纯收入空间相关性分析	许宝泉, 施为群 (2585)
专论与综述	
全球变化下植物物候研究的关键问题	莫非, 赵 鸿, 王建永, 等 (2593)
区域气候变化统计降尺度研究进展	朱宏伟, 杨 森, 赵旭喆, 等 (2602)
干旱胁迫下植物根源化学信号研究进展	李冀南, 李朴芳, 孔海燕, 等 (2610)
山黧豆毒素 ODAP 的生物合成及与抗逆性关系研究进展	张大伟, 邢更妹, 熊友才, 等 (2621)
旱地小麦理想株型研究进展	李朴芳, 程正国, 赵 鸿, 等 (2631)
小麦干旱诱导蛋白及相关基因研究进展	张小丰, 孔海燕, 李朴芳, 等 (2641)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 306 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 35 * 2011-05



封面图说: 覆膜-垄作燕麦种植——反映了雨水高效利用和农田水生态过程的优化(详见强生才 P2365)。

彩图提供: 兰州大学干旱与草地生态教育部重点实验室莫非 E-mail: mofei371@163.com

山黧豆毒素 ODAP 的生物合成及与 抗逆性关系研究进展

张大伟^{1,2}, 邢更妹³, 熊友才¹, 焦成瑾¹, 樊宪伟¹, 王崇英¹, 王亚馥¹, 李志孝^{4,*}

(1. 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所, 兰州 730000; 2. 兰州大学干旱与草地生态教育部重点实验室, 兰州 730000;

3. 中国科学院高能物理研究所, 北京 100039; 4. 兰州大学有机化学国家重点实验室, 兰州 730000)

摘要:有关山黧豆毒素 ODAP 的生物合成途径的前体物和合成程序已经证实,但其关键合成酶尚未分离与鉴定,因而无法克隆相应基因和利用反义 RNA 技术以控制其生物合成。研究表明,利用相应的抑制剂控制 ODAP 生物合成前体物可降低 ODAP 的积累量。山黧豆中 ODAP 含量与其抗逆性之间密切相关,这与其能有效地清除山黧豆中·OH 自由基有关,外源 ODAP 处理获同样效果。此外,因 ODAP 既是含氮化合物,又是游离氨基酸,极易溶于水,可在逆境胁迫下与脯氨酸和多胺一样大量而迅速地积累,推测它也可能作为细胞渗透调节物质和防脱水剂,并在氮代谢和能量代谢方面起重要作用。对今后该领域的重点研究方向也进行了探讨。

关键词: 山黧豆; ODAP; 山黧豆中毒; 生物合成; 抗逆性

ODAP biosynthesis: recent developments and its response to plant stress in grass pea (*Lathyrus sativus* L.)

ZHANG Dawei^{1,2}, XING Gengmei³, XIONG Youcai¹, JIAO Chengjin¹, FAN Xianwei¹, WANG Chongying¹, WANG Yafu¹, LI Zhixiao^{4,*}

1 MOE Key Laboratory for Arid and Grassland Ecology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2 Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, CAS, Lanzhou 730000, China

3 Institute of High Energy Physics, Academia Sinica, Beijing, 100039, China

4 State Key Laboratory of Applied Organic Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: Over the past decades, considerable progresses have been achieved in the research of biosynthesis of ODAP (β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic) in grass pea (*Lathyrus sativus* L.). The progresses include the separation, identification and verification of the precursors and the biosynthesis procedure of ODAP. The corresponding genes which guide the biosynthesis of ODAP have not yet been cloned so far, mainly because its synthetase could not be separated and characterized. Therefore the biosynthesis of ODAP can not be blocked by the antisense RNA technology. In our previous work, the ODAP precursors were successfully controlled as to reduce the ODAP accumulation with the application of the corresponding inhibitors in grass pea. ODAP content was found to be closely related to plant stress resistance, for the reason that ODAP can effectively remove ·OH in grass pea leaves. The same effects were observed from the experiment of exogenous ODAP application. ODAP, as a nitrogen compound as well as one of highly soluble amino acids, acts in a similar way to proline and polyamine under the adverse stress. It is so easy to be dissolved in water that it can be accumulated rapidly in large quantities. In this case, it can be argued that ODAP may act as a cellular osmotic regulator and an anti-dehydrator, and must play an important role in the nitrogen and energy metabolism. In addition, a few potential approaches for the future research have been suggested here.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(3860384, 39770469, 30270965, 30625025); 国家重点基础研究发展规划项目

收稿日期: 2010-10-21; **修订日期:** 2011-02-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lizhixiao@lzu.edu.cn

Key Words: *Lathyrus sativus* L.; ODAP; Lathyrism; biosynthesis; stress resistance

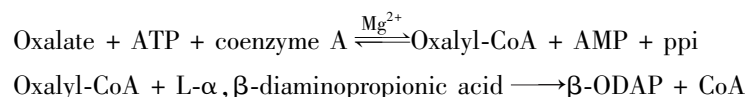
山黧豆为豆科香豌豆属 1 年生植物,有 187 个种和亚种,主要分布于新旧大陆的北温带和南美、非洲的高海拔山区,其中广泛种植的家山黧豆(*Lathyrus sativus* L.)可食用或饲用^[1-2]。我国种植的山黧豆大多引自国外,约有 16—20 个种或亚种,100 余个品种,主要分布于东北、华北、西南和西北,以西北种植面积最广,其最显著的特点是抗旱、耐寒、耐瘠薄、抗病虫害,适应性广,茎叶是优质高蛋白青饲料,种子既可食用,也可作饲料,茎叶和种子中蛋白质含量分别高达 18.5% 和 29.4%,同时含有哺乳动物所需的 17 中氨基酸,具有极丰富的营养价值^[1-4]。多年引种实验证明,它特别适宜于西北干旱、高寒、贫瘠的丘陵山区,黄土丘陵沟壑区种植和普通农业区,是人类急待开发的植物蛋白质库,动物的优质饲料,也是极好的固氮换茬植物和优质绿肥,对农业生产和改善区域生态环境具有重要意义。

限制山黧豆开发与利用的关键因素是其中含有的神经毒素 β -N-草酰基-L- α , β -二氨基丙酸(β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic, β -ODAP),长期过量食用会引起神经性中毒,导致下肢瘫痪,即所谓的山黧豆中毒(Lathyrism)^[5-6]。这一现象在欧洲、非洲和印度等地区屡有发生,如我国甘肃省在 20 世纪 70 年代初,埃塞俄比亚北部高地和山区在本世纪初均有中毒事件发生^[7-9]。已知不同品种的山黧豆,其 ODAP 含量不同,根据引起中毒的毒素成分不同可分为神经性山黧豆中毒(Neuro Lathyrism,有毒成分为 β -ODAP)和骨性山黧豆中毒(Osteo Lathyrism,有毒成分为骨质毒素 β -氨基丙腈 β -aminopropionitrile, BAPN)。山黧豆中毒的毒理学证明, β -ODAP 是山黧豆中毒的主要原因^[1,10-11]。

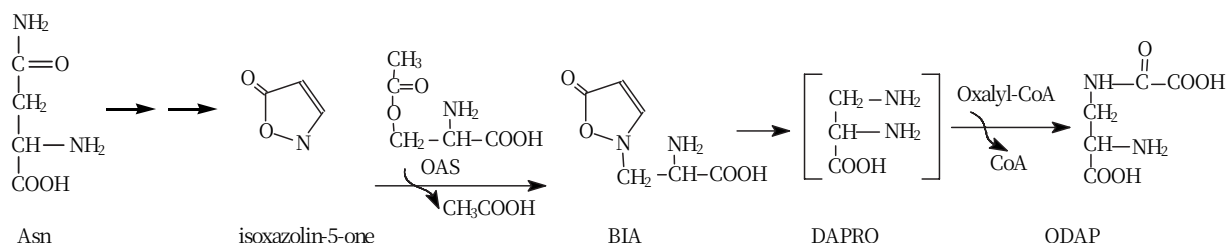
多年来,围绕山黧豆及其毒素方面的研究,在诸多方面取得了一系列成果与进展,包括:毒素的分离提取^[5-6],毒理学研究^[10-11],化学合成^[12-13],ODAP 及相关物质的分析测定方法^[14-27],去毒方法^[28-31],代谢机理^[32-33]、生物合成^[34-38]以及与山黧豆抗逆性之间的关系等^[39-45]。本文结合国内外研究进展,就其中几个主要问题进行综述。

1 山黧豆中 ODAP 的生物合成

只有揭示 ODAP 的生物合成途径,才能有效地控制其底物或有关酶活性,阻断、改变或降低终产物 ODAP 的积累。相关的研究不少,但直到今日其中一些环节仍悬而未决。早在 20 世纪 70 年代 Malathi K. 等曾提出下列合成途径^[35]:



认为催化草酰辅酶 A 形成的酶是草酰辅酶 A 合成酶;催化 ODAP 合成的酶是 ODAP 合成酶,但随后未见进一步报道。到 20 世纪 90 年代,Lambein F. 等提出了另一种途径^[36-38]:

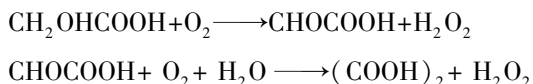


ODAP 的生物合成被认为是在酶的作用下,从天冬酰胺环化形成异噁唑啉-5-酮(isoxazoline-5-one)开始,异噁唑啉-5-酮又在半胱氨酸合成酶催化下取代 O-乙酰丝氨酸(O-acetyl-L-serine, OAS)的乙酰基而形成 β -异噁唑啉-5-酮丙氨酸[β -(isoxazolin-5-one-2-yl)-L-alanine, BIA],随后 BIA 开环形成短命的 2,3-二氨基丙酸(2,3-diaminopropionic acid, DAPA)中间体,DAPA 在 ODAP 合成酶的作用下被草酰 CoA 草酰化而最终合成

ODAP。该合成途径得到一些实验证据。如当山黧豆种子在 L-[U- ^{14}C] 丝氨酸溶液中萌发生长两日后,发现放射性标记的丝氨酸渗入 BIA,并有少量渗入 ODAP。在山黧豆的愈伤组织的液体培养基中同时加入 DAPA 与 [^{14}C] 标记的 BIA 时,DAPA 抑制放射性标记渗入 ODAP。但当 [^{14}C] 标记 BIA 与草酸一起加入时,草酸可促进 [^{14}C] 渗入 ODAP,证明 BIA 是 ODAP 生物合成的前体物,DAPA 是 BIA 与 ODAP 之间的中间体,BIA 在种子发芽和苗期大量存在,但在根、叶和成熟种子中没有发现 BIA,推测在这些组织中 BIA 储存于细胞的液泡中,或有另外的代谢途径^[37]。Ikegami 等从山黧豆幼苗中分离到 BIA 开环酶,并在体外证实了该酶催化 BIA 开环形成 DAPA 反应,但从山黧豆属另一个种 *Lathyrus odoratus* L. 幼苗中用同样方法提取的酶却无此功能,表明 BIA 开环酶有种类的特异性^[38]。该合成途径虽有一定的实验证据,但仍有许多问题无法解释:种子中无 BIA,但含有较高的 ODAP,ODAP 合成的前体物又从何而来? 控制这一系列反应的酶的性质、结构和功能以及 BIA 开环机制又如何? 推测 DAPA 是 BIA 与 ODAP 的中间体,但从山黧豆种子或萌发后的胚芽中均未检测到游离 DAPA,是 DAPA 迅速形成了稳定的草酰衍生物? 仍有待深入研究。

从山黧豆中提取的 β -ODAP 中常有 α -草酰-L- α , β -二氨基丙酸(α -ODAP)的存在,它是 β -ODAP 的异构体。 β -ODAP 有毒性, α -ODAP 无毒,李志孝等用纸电泳和 HPLC 检测 ODAP 时均可见到两条带或两个峰,一是 β -ODAP,另一是 α -ODAP^[14-27]。已知 β -ODAP 是山黧豆中生物合成的产物,而 α -ODAP 是 β -ODAP 的转化产物, α -ODAP 在植物细胞内的天然丰度大约为 5%,加热能使 α -ODAP 丰度提高,即部分 β -ODAP 转化为 α -ODAP,而使毒性降低,在 55℃,30h 的条件下, β -ODAP 在水溶液中形成 β/α 等于 60/40 的平衡混合物。 α -ODAP 在同样条件下也能形成 α 、 β 异构体混合物^[23-27]。因此有人用烹饪去毒的方法,加水煮将有毒的 β -ODAP 部分地转化为无毒的 α -ODAP,能大大降低毒性可安全食用。

尽管 β -ODAP 生物合成途径中一些环节尚待进一步被证实,但其合成的某些前体物是被确认的,如草酰辅酶 A 和 BIA 参与 ODAP 的生物合成。而草酰辅酶 A 是草酸和辅酶 A 结合而形成的,所以草酸也是 ODAP 合成的前体物之一。此外,乙醇酸氧化酶(glycolate oxidase, GO),是植物光呼吸过程中的关键酶之一,普遍存在植物组织中,特别是在 C_3 植物叶片中活性高,GO 能催化乙醇酸氧化生成乙醛酸,又能催化乙醛酸氧化生成草酸:



根据以上原理,Xing GS 等在大田和实验室对山黧豆的不同发育期分别用 PEG,GO 活化剂(Na_2S),GO 抑制剂 2-羟基-3-丁炔酸丁酯(butyl-2-hydroxy-3-butyrate,BHB)等处理,目的是揭示这些因子与 ODAP 生物合成之间内在联系,并探索如何适量降低山黧豆中 ODAP 的积累,以达到安全食用或饲用的标准(ODAP 含量约 0.1% 左右)。结果表明:(1)山黧豆不同发育期,根、茎、叶各器官中 ODAP 与草酸积累消长动态具有高度一致性,叶中含量最高,根中最低,而茎中含量介于两者之间。此外两者积累都是随着发育进程而降低,只是草酸含量变化幅度远大于 ODAP。同时草酸与 ODAP 的含量变化动态和 GO 活性变化趋势一致,由此推测草酸确实是 ODAP 生物合成前体物之一;(2)PEG 和 Na_2S 处理均可促进 ODAP 的积累,显然两者作用机制是不同的,水分胁迫可能是诱导内源激素如 ABA 和内源活性物质如多胺的积累,进一步诱导 ODAP 合成酶等基因表达,从而促进 ODAP 的生物合成^[39-45]。而 Na_2S 的作用则是激活了 GO 活性,加速了乙醇酸和乙醛酸的氧化而生成草酸,为 ODAP 生物合成提供了充足的底物,促进了 ODAP 的积累;(3)在山黧豆不同发育时期用 BHB 处理后,对 ODAP 积累均有一定的抑制效应,而且处理时期愈早抑制效应愈明显,但对山黧豆的产量影响也愈大,显然 ODAP 与山黧豆的抗逆性和最后产量关系密切^[45-46]。如在山黧豆的生长后期,特别是盛花期或结荚期喷施 GO 合成抑制剂或类似物,如钼酸铵或硝酸钴等的极稀溶液,可以降低 ODAP 的积累约 25% 左右,可达安全食用或饲用标准,而又不至于影响其抗逆性和最后产量^[46]。相反要将 ODAP 从山黧豆中全部消除,完全阻止 ODAP 的生物合成,不仅难度大,而且会影响一些重要的生物学特性,并降低产量。

2 山黧豆中毒(Lathyrism)

山黧豆不仅蛋白质含量高,脂肪含量低,还含有胡萝卜素、维生素 B_1 、维生素 B_2 、维生素 B_6 、维生素 C、维

生素 H、肌醇、泛酸(B_3)、叶酸(B_{11})等人体所需的各种维生素,以及 1.5% 蔗糖,6.8% 戊聚糖,3.6% 植酸钙镁,1.5% 木质素,6.7% 白蛋白,1.5% 醇溶谷蛋白。已经鉴定出山黧豆中有毒成分主要是 β -ODAP,也称 β -N-草酰氨基丙氨酸(β -N-oxalyl-laminoalanine, BOAA),属非蛋白氨基酸的小分子次生代谢物^[47]。Chen YZ 等于上世纪 80 年代用 β -ODAP 含量高低不同的山黧豆(分别为 0.55% 和 0.25%)和纯品 β -ODAP,用大白鼠、小白鼠、雏鸡、猪(杂食动物代表)、绵羊(反刍动物代表)和驴(马属动物代表)等实验动物进行急性毒性、慢性毒性、致癌和致畸等实验,临床观测结合血液学、肾功能、病理解剖和病理组织学检查等,结果表明:小白鼠腹腔注射 ODAP LD_{50} 748.86 mg/kg,雏鸡腹腔注射 ODAP LD_{50} 694.93 mg/kg,即表现出明显的神经性中毒症状;动物长期(3 个月以上)饲喂高 ODAP 含量山黧豆,脊髓、脑神经细胞和肝、肾细胞都出现明显病理性损伤,ODAP 经血液循环,透过血脑屏障,主要伤害中枢神经系统。超微结构观察证明,脑和脊髓神经细胞部分结构破坏,线粒体肿胀,嵴消失,一些结构呈颗粒性变性^[10-11]。也有研究表明,在神经系统中, β -ODAP 作为谷氨酸类似物与 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA)型谷氨酸受体强烈结合,使神经元受到持久兴奋性损伤^[48]。也有研究认为, β -ODAP 在神经系统中可能与一氧化氮(NO)相互作用而引起神经元的损伤与细胞凋亡^[8],或者是因为 β -ODAP 使 Ca^{2+} 平衡被打破和氧化胁迫导致了运动神经元细胞的死亡^[49]。ODAP 毒理学的分子机理尚待更深入研究。

实验证明,动物中单胃类反刍类更易受 ODAP 毒害,幼龄动物比成年动物更敏感。反刍动物不易中毒是由于其胃中有分解 ODAP 的菌类,Peng 等从绵羊瘤胃中分离到形态不同的 3 种球菌,它们可利用分解 ODAP 作为氮源、碳源而生长,在 24h 可将 ODAP 分解掉 46%^[50]。Liu XC 等人的实验结果表明,ODAP 无致癌或致畸作用,对动物繁殖也无影响,胚胎学跟踪检查亦无畸形表现^[11-12]。此外,低毒(ODAP 含量在 0.25% 以下)山黧豆长期饲喂动物中毒症状不明显,特别是与其他谷物饲料配合应用更是安全可靠,既保证了动物的营养成分,又不至于产生山黧豆中毒。有人甚至以益生菌和酶制剂为辅料混合在山黧豆种子中做猪饲料,发现山黧豆的添加量可以达到饲料总蛋白的 50%^[51]。因而如何降低山黧豆中 ODAP 含量和低毒山黧豆品种的选育以及与其他饲料的合理配比应用的研究对畜牧业发展具有重要意义^[10-11]。

3 环境胁迫与山黧豆中 ODAP 消长动态

兰州大学先后从世界各地搜集了 73 个产地,种子形状、大小和颜色不同以及一些生物学特性存在明显差异的山黧豆品种。在引种实验和 ODAP 含量分析过程中发现,大粒马牙型种子的山黧豆 ODAP 含量远高于小粒绿豆型种子,同时前者在干旱、高寒条件下种植表现出很强的抗逆性、很广的适应性和较高的丰产性;相反绿豆型种子山黧豆抗逆性和适应性差,产量低,甚至在相应条件下不能正常生长。山黧豆中 ODAP 的积累量是否与抗逆性相关? Ongena 等曾将高毒和低毒的两个品种在不同浓度 NaCl、甘露醇或 PEG 中吸胀过夜,然后转移到与原溶液具有相同渗透压的培养基上生长 4 日,比较高毒品种和低毒品种的根/芽比值这一耐旱性的重要指标,结果是 ODAP 含量与根/芽比值无关,因此认为 ODAP 与耐旱性无关^[52]。然而,近几年 Xing GS, Zhang DW 等人的一些研究结果证明,山黧豆中 ODAP 含量与其抗逆性密切相关,而且 ODAP 的积累量随着 PEG 等环境因子的胁迫而增加,同时脯氨酸(L-proline, Pro)、胱氨酸(L-cystine, Cyss)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、多胺类(polyamines, PAs)化合物和过氧化氢(H_2O_2)等也同步增加,甚至还早于 ODAP 的积累^[39-45]。已有研究表明,ABA 和 PA 是植物在逆境胁迫条件下细胞内积累的一类极其敏感的信号分子,可调节细胞内相关基因表达和生理生化反应,以响应逆境胁迫^[53-54]。Xing GS 等人的研究结果也证明,ABA 含量迅速提高,接着 ODAP 积累。外源 ABA 处理也得到同样的结果,降低了 PEG 胁迫引起的膜脂过氧化程度,延缓了过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的衰减,同时提高了谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)活性。显然外源 ABA 在一定程度上通过增加保护酶活性而降低活性氧引起的膜脂过氧化反应,从而降低水分胁迫对山黧豆细胞的伤害^[39]。至于 ABA 对 ODAP 积累的调节机制尚待进一步研究,是否是 ABA 与其相应受体结合,进而调控 ODAP 合成酶基因表达? Xing GS 等人的实验结果还表明,在水分胁迫下,PAs 含量增加,特别是精胺(spermine, Spm)含量增加的同时也伴随 ODAP 的积累,如加入多胺化合物抑制剂 α -二氟甲基精氨酸

(α -difluoromethylarginine DFMA), 不仅抑制 PAs 的合成, 也抑制 ODAP 的累积。外加腐胺 (Putrescine, Put) 可部分缓解 DFMA 对 Put 和亚精胺 (Spermidine, Spd) 抑制作用, ODAP 的积累也仍然被抑制。显然在水分胁迫下, PA, 特别是 Spm 含量的增加与 ODAP 的生物合成密切相关, 这是否由于生理活性极强的 Spm 通过促进生物大分子的合成, 包括调节 ODAP 合成的相关酶的形成而加速 ODAP 的积累, 以适应逆境胁迫^[40]? 此外, 活性氧, 特别是 H_2O_2 作为信号分子参与基因表达调控已有大量实验证明^[55-58]。在水分胁迫下, H_2O_2 和 ODAP 含量也先后迅速提高, 如在 PEG 处理液中分别加入 H_2O_2 抑制剂二乙基二硫代氨基甲酸钠 (Sodium diethyldithiocarbamate, DDC) 或激活剂氨基三唑 (aminotriazole, AT), DDC 抑制了 H_2O_2 的形成, 也降低了 ODAP 的积累; 相反, AT 促进了 H_2O_2 产生的同时也提高了 ODAP 的积累。显然在水分胁迫下, 活性氧代谢与 ODAP 生物合成有关。这可能是活性氧, 如 H_2O_2 是作为信号分子或信号转导物质参与基因表达调控, 从而促进 ODAP 的积累^[40-41]。Cui KR 等在植物体细胞胚发生过程中, 也证实 H_2O_2 作为信号分子参与了调控相关基因表达^[59-60]。

至于 ODAP 与抗逆相关的作用机制, Xing GS 等用 $\cdot OH$ 胁迫下山黧豆中 ODAP 积累及其抗氧化作用的研究结果表明: $\cdot OH$ 不仅能启动山黧豆细胞膜脂过氧化作用, 而且能诱导 ODAP 的大量积累; 在 $\cdot OH$ 源胁迫下山黧豆中 ODAP 的积累与清除活性氧有关。外加 ODAP 预处理不仅显著地抑制了 $\cdot OH$ 引发的 MDA 增加, 同时也显著降低了 $\cdot OH$ 浓度, 说明 ODAP 是 $\cdot OH$ 的有效清除剂, 这可能是山黧豆抗逆、耐旱的重要机制之一^[39-45]。此外, 大量实验证明, 在渗透胁迫下, 能引起植物细胞中一系列含氮化合物积累, 其中包括酰胺、氨基酸和多胺, 特别是多胺和脯氨酸的研究最受关注。Xing GS 等人推论: 在逆境胁迫下 ODAP 积累的生物学效应类同于 PA 或 Pro, 因为 ODAP 既是含氮化合物, 又是游离氨基酸, 易溶于水, 同样可作为细胞中渗透调节物质, 防脱水剂, 在氮代谢和能量代谢方面起重要作用。ODAP 尽管对哺乳动物是毒素, 但对其自身细胞却有利无害, 它的积累可能是作为一种氮源的储藏形式, 植物细胞受害期间所生成氮的解毒剂, 也可能参与植物胁迫解除后叶绿素和蛋白质等物质的合成, 或者作为呼吸底物或能源物质。这些推论的直接证据有待深入研究。

4 今后研究的思路

自鉴定出 ODAP 是山黧豆中毒的主要成分至今已近半个世纪了, 人们围绕 ODAP 的分离、测定、化学合成、去毒方法、中毒机理和生物合成等等做了大量工作, 也取得了不少成果和进展, 但始终未选育出几个优质、丰产、抗逆而安全食(饲)用的栽培山黧豆新品系, 其主要原因是有一些关键性问题尚未解决: 如 ODAP 的生物合成途径尚未完全被揭示, ODAP 中毒机理远未明了, ODAP 的生物学意义也有待进一步探索, 筛选低毒山黧豆新品系的思路有待商讨。

4.1 ODAP 生物合成途径

根据现有研究成果已显示, ODAP 的生物合成受多基因控制, 而且合成位点与多种细胞器相关。如从 isoxazolin-5-one 到 BIA 反应的半胱氨酸合成酶 (cysteine synthase): Csase A 和 Csase B 都是二聚体, 它们单体分子量分别为 35000 和 39000, 前者主要存在于线粒体中, 而后者主要存在于叶绿体中, 显然 ODAP 的生物合成位点至少与这两种细胞器密切相关。用高毒品系与低毒品系作正、反杂交试验结果表明: ODAP 的遗传似乎受细胞质因子所控制。但从一些杂交 F_2 中 ODAP 含量的分布频率又显示受多个核基因的控制^[60-61]。所以, 研究 ODAP 生物合成的关键是分离和鉴定出相关的酶及其性质和结构, 从而克隆相应的基因, 或利用反义 RNA 技术封闭 ODAP 合成酶基因, 达到降低山黧豆中 ODAP 含量的目的。

4.2 ODAP 中毒的机理

关于 ODAP 的毒理学研究已做了不少工作, 但 ODAP 对神经系统或细胞的作用多属推测性的, 对其作用的分子机理知之甚少。已知 β -ODAP 作为一种非蛋白质的氨基酸, 它的空间结构与酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 近似, 与谷氨酸 (glutamate, Glu) 差别较大, 但迄今在神经系统中尚未发现 Tyr 的受体^[62]。近几年随着 NO 在生物体内, 特别是在神经系统中介导细胞凋亡, 参与病理生理过程的分子机理研究进展, 使人们认识到, 在哺乳

动物细胞内, NO 作为一种细胞内生物信使或细胞毒性效应分子介导细胞凋亡。NO 作用于细胞凋亡的中心点是线粒体, 这与 ODAP 生物合成的位点相一致。特别是神经细胞对 NO 作用极为敏感, 即使接触低水平的 NO 也会发生细胞凋亡或坏死。细胞内 Fe 含量是调节 NO 介导细胞凋亡的一种重要因子, 而 Fe 又是 ODAP 合成中 BIA 开环酶的活性剂, 其过量摄入导致 ODAP 合成增加^[38]。过氧化亚硝酸可致运动神经细胞凋亡, 而过氧化亚硝酸可由 NO 与超氧化物反应生成, 对于神经细胞, NO 诱导细胞凋亡与抑制细胞凋亡作用之间的平衡可能依赖于超氧阴离子产生的水平; NO 毒性依赖于靶细胞内氧化还原状态和 NO 产生速率^[63]。众所周知, 在生物体内 NO 主要是由一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化 L-精氨酸末端胍基氮氧化而成。巧的是山黧豆种子中游离的高精氨酸的含量还高于 ODAP, 二者的量占种子中游离氨基酸总量的 90% 以上。而高精氨酸与精氨酸具有相同的功能基团—胍基, 只是前者比后者多了一个碳骨架(—CH₂—)。总之, 根据以上进展, 特别是 NO 与 ODAP 在许多方面的相关性或一致性, 有关山黧豆中毒的分子机理研究应该考虑 ODAP 与 NO 代谢及其对神经细胞凋亡或病理生理过程之间关系的研究。

4.3 ODAP 的生物学意义

山黧豆中 ODAP 的合成代谢与分解代谢必然是随着细胞内外条件变化而波动, 并处于动态平衡过程中。至于各种环境因素对 ODAP 消长的影响不外乎是: 有些因子本身就是一些酶的激活剂或抑制剂, 另一些因素, 如逆境胁迫首先诱导相应激素或信号分子应答, 进而调节相应基因表达, 从而促进 ODAP 的生物合成或加速分解过程等。那么山黧豆中 ODAP 的生物学意义又如何? 曾有些零星报道: ODAP 水溶液对其他一些豆类种子萌发或幼苗生长均有抑制作用; ODAP 是 Zn²⁺的运载体, 将 Zn²⁺从根部运至地上部分^[64]。而 Zhou GK 等人的研究结果显示: ODAP 与山黧豆的抗逆性密切相关, 机理是 ODAP 具有清除羟自由基, 降低膜脂过氧化水平, 保证细胞在逆境条件下较好的生理代谢作用; 推测 ODAP 也是一种渗透调节剂, 可提高植物细胞的抗逆性; ODAP 积累与山黧豆内源性活性氧水平和根瘤菌生长显著相关等^[39-46, 65]。有意思的是, 近年来在与山黧豆亲缘关系较远的一些物种中也发现了 ODAP 物质, 如在人参、三七、白芍、仙鹤草、红参、高丽参、西洋参、甚至苏铁等物种中都存在, 这些物质具有止血、升高血小板活性和神经兴奋毒素等作用, 在神经细胞与受体相互作用过程中具有神经递质作用^[4, 66-69]。所以, 只有探明 ODAP 存在的意义, 才有可能理智地选择采取什么样的措施去改造山黧豆。

4.4 结语

人们一直采用引种或杂交等手段选育无毒或低毒山黧豆, 但工作量很大^[70]。由于 ODAP 的生物合成受多基因控制, 其含量的消长又极易受细胞内外条件影响, 加之 ODAP 又与其细胞的抗逆性和丰产性相关, 使得选育丰产、抗逆而又无毒或低毒的山黧豆新品系难度很大。Zhang DW 等人研究认为, 在探明 ODAP 生物合成的基础上, 根据某个前体物或关键酶的抑制剂或类似物的极稀溶液, 在生长后期大面积喷施, 哪怕是对 ODAP 的积累仅起部分的抑制效应, 降低青饲料或种子中的 ODAP 含量的 25%—50% 是可行的, 既不影响山黧豆的抗逆性和产量, 又可达到安全食用或饲用的范围。如再与其他饲料以一定比例配合应用, 则更加安全可靠^[43, 45]。另外, 采用分子生物学技术选育低毒山黧豆新品系的研究在近几年也取得了较大的进展^[71-73], 有学者采用限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)和随机扩增多态性 DNA(random amplified polymorphic DNA, RAPD)标记技术对 9 个不同地域的品种和 5 个具有代表性的山黧豆属品种的基因组进行了分子变异分析(analysis of molecular variance, AMOVA), 并建立了这些品种的 RAPD 片段库^[74-75], 近期又有学者用扩增片段长度多态性(Amplified restriction fragment polymorphism, AFLP)标记技术对 2 个品种的种子 ODAP 含量和遗传变异水平进行了量化分析^[76]。目前也建立了山黧豆细胞离体培养的体细胞无性系。这些工作为采用分子生物学手段改造和筛选低毒山黧豆奠定了良好的基础。

References:

- [1] Cui H B. Flora of China. Beijing: Science Press, 1998, 4(2): 270-286.

- [2] Eugeniusz R G, Eugeniusz R G, Wojciech R S, Klebaniuk R, Matras J. Morphological characteristics of some accessions of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) grown in Europe and nutritional traits of their seeds. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2010, 57: 693-701.
- [3] Yan Z Y, Xing G M, Wang C Y, Wang Y F, Li Z X. Recent advance in *Lathyrus sativus* and toxin ODAP. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2004, 24(5): 911-920.
- [4] White C L, Hanbury C D, Younga P, Phillipsa N, Wiese S C, Milmond J B, Davidsons R H, Siddique K H M. The nutritional value of *Lathyrus sativus* and *lupinus angustifolius* grain for sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 2002, 99: 45-64.
- [5] Department of Chemistry, Lanzhou University. Studies of the analysis of toxin and the method of toxin removal in *Lathyrus sativus*. *Journal of Lanzhou University (Natural Sciences)*, 1975, 6(2): 1-21.
- [6] Rao S L N, Adiga P R, Sarma P S. The isolation and characterization of β -N-Oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid: a neurotoxin from the seed of *Lathyrus sativus*. *Biochemistry*, 1964, 3(3): 432-436.
- [7] Lambein F, Ngudi D D, Kuo Y H. Vapniarca revisited: lessons from an inhuman human experience. *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, 2001, 20(1): 5-7.
- [8] Getahun H. A real life drama in a newrolathyrityc family. *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, 2001, 2(2): 59-61.
- [9] Kuo Y H, Defoort B, Getahun H, Haimanot R T, Lambein F. Comparison of urinary amino acids and trace elements (copper, zinc and manganese) of recent neurolathyrism patients and healthy controls from Ethiopia. *Clinical biochemistry*, 2007, 40: 397-402.
- [10] Chen Y Z, Li Z X, Lv F H, Bao X G, Liu S Z, Liu X C, Zhang G W, Li Y R. Studies on the Screening of Low Toxic Species of *Lathyrus*, Analysis of Toxins and Toxicology. *Journal of Lanzhou University (Natural Sciences)*, 1992, 28(3): 93-98.
- [11] Liu X C, Zhang G W, Li Y R, Wang J X, Liang Z N. Toxicological study on Grass Peavine (*Lathyrus Sativus* L.) and its toxico-component BOAA. *Scientia Agricultura Sinica*, 1989, 22(5): 86-93.
- [12] Li Y L, Pan X F, Huang W G. The part acylation of basic amino acid-the synthesis of Oxalyl amido propionic acid. *Journal of Lanzhou University (Natural Sciences)*, 1975, 6(2): 1-4.
- [13] France L H, Nunn P B, Hill R R. Synthesis of α - and β -N-Oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid and their isolation from seed of *Lathyrus sativus*. *Phytochemistry*, 1977, 16: 1211-1215.
- [14] Li Z X, Zhang D H, Chen Y Z. Fluorometric Assay of a Neurotoxin in *Lathyrus Sativus*. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 1989, 17(12): 1090-1094.
- [15] Zhao L, Chen X G, Hu Z D, Li Q F, Chen Q, Li Z X. Analysis of β -N-Oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid and homoarginine in *Lathyrus sativus*, by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1999, 857: 295-302.
- [16] Li Z X, Cai W T, Xu Z G, Chen Y Z. O-Phthaldehyde color comparison test grass pea toxin ODAP. *Journal of Lanzhou University (Natural Sciences)*, 1987, 23(2): 130-132.
- [17] Ye Z Y, Xing G M, Li Z X. Kinetic Spectrophotometric method for determination of Oxalic acid and 1st application in *lathyrus sativus*. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2003, 23: 441-447.
- [18] Yan Z Y, Xing G M, Li Z X. Quantitative determination of Oxalic acid using Victoria blue B based on a catalytic spectrophotometric method. *Microchimica Acta*, 2004, 144: 199-205.
- [19] Xing G M, Yan Z Y, Wang F, Chen X, Li Z X. Quantitative high-performance liquid chromatographic determination of neurotoxin β -ODAP and α -isomer in Grass pea (*Lathyrus sativus*). *Chemical Research in Chinese Universities*, 2001, 17: 224-225.
- [20] Xing G M, Wang F, Cui K R, Li Z X. Assay of neurotoxin β -ODAP and non-protein amino acid in *Lathyrus sativus* by high-performance liquid chromatography with dansylation. *Analytical Letter*, 2001, 34(15): 2649-2657.
- [21] Wang F, Xing G S, Li Z X, Wang Y F. Sensitive liquid chromatography determination of neurotoxin β -ODAP and non-protein amino acid in *Lathyrus sativus* by precolumn derivatization with dansylchloride. *Chemical Research in Chinese Universities (Suppl)*, 2000, 21(12): 70.
- [22] Wang F, Chen X, Chen Q, Qin X C, Li Z X. Determination of neurotoxin β -ODAP and non-protein amino acid in *Lathyrus sativus* by high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization with 6-amino quinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate. *Chinese Chemical Letters*, 2000, 11(7): 605-608.
- [23] Wang F, Chen X, Chen Q, Qin X C, Li Z X. HPLC determination of neurotoxin and non-protein amino acid in *Lathyrus sativus* by precolumn derivatization with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene. *The Journal of Chromatography A*, 2000, 883: 113-118.
- [24] Yan Z Y, Jiao C J, Li F M, Liang Y M, Li Z X. Analysis of toxin β -N-Oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid (β -ODAP), Its Isomer α -ODAP and other Free Amino Acid in *lathyrus sativus*. *Chinese Chemical Letter*, 2005, 16(5): 627-630.
- [25] Yan Z Y, Jiao C J, Li F M, Liang Y M, Li Z X. HPLC Determination of the major non-protein Amino acid and common Biogenic Amines in *lathyrus sativus* using a Novel Extraction Method. *Chinese Chemical Letter*, 2005, 16(5): 639-642.
- [26] Chen X, Fei W, Qian C, Qin X C, Li Z X. Analysis of neurotoxin 3-N-Oxalyl-L-2,3-diaminopropionic acid and its α -isomer in *Lathyrus sativus* by

- high-performance liquid chromatography with 6-amino quinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate derivatization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(8): 3383-3386.
- [27] Zhao L, Li Z X, Li G B, Chen X G, Hu Z D. Kinetics studies on thermal isomerization of β -ODAP by capillary zone electrophoresis. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 1999, 1: 3771-3773.
- [28] Akalu G, Johansson G, Nair B M. Effect of processing on the content of β -ODAP in Grass pea (*Lathyrus sativus*) seeds and flour as determined by flow injection analysis. *Food Chemistry*, 1998, 62(2): 233-237.
- [29] Kuo Y H, Bau H M, Quemener B, Khan J K, Lambein F. Solid-state fermentation of *Lathyrus sativus* seed using *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus Oligosporus* SPF3 to eliminate the neurotoxin β -ODAP without loss of nutritional value. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1995, 69: 81-89.
- [30] Yan Z Y, Spencer P S, Li Z X, Liang Y M, Wang Y F, Wang C Y, Li F M. *Lathyrus sativus* (grass pea) and its neurotoxin ODAP, *Phytochemistry*, 2006, 67:107-121.
- [31] Qin X C, Wang F, Wang X J, Zhou G K, Li Z X. The effect to ODAP and activity of anti oxidase of grass pea treat with ^{60}Co - γ radial and EMS compound. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(6): 957-958.
- [32] Sukanya R, Santha I M, Mehta S L. Cloning and characterization of a gene responsible for the *Lathyrus sativus* neurotoxin degradation. *Journal of Plant Biochemistry & Biotechnology*, 1993, 2: 77-82.
- [33] Bruyn A D, Verhegge G, Lambein F. Mechanism for the photolysis of the naturally occurring isoxazolin-5-ones and the link with the *lathyrus* toxins. *Planta Med*, 1992, 58: 159-163.
- [34] Kuo Y H, Ikegami F, Lambein F. Metabolic routes of β -(isoxazolin-5-on-2-yl)-L-alanine (BIA), the precursor of the neurotoxin ODAP (β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid) in different legum seedlings. *Phytochemistry*, 1998, 49: 43-48.
- [35] Malathi K, Padmanaban G, Sarma P S. Biosynthesis of β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid, the *lathyrus sativus* neurotoxin. *Phytochemistry*, 1970, 9: 1603-1610.
- [36] Kuo Y H, Khan J K, Lambein F. Biosynthesis of the neurotoxin β -ODAP in developing pods of *Lathyrus sativus*. *Phytochemistry*, 1994, 35(4): 911-913.
- [37] Kuo Y H, Lambein F. Biosynthesis of the neurotoxin β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid in callus tissue of *Lathyrus sativus*. *Phytochemistry*, 1991, 30(10): 3241-3244.
- [38] Ikegami F, Yamamoto A, Kuo Y H. Enzymatic formation of 2,3-diaminopropionic acid, the direct precursor of the neurotoxin β -ODAP in *Lathyrus sativus*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1999, 22(7): 770-771.
- [39] Xing G S, Zhou G K, Li Z X, Cui K R. Accumulation of ABA and ODAP in *Lathyrus sativus* under water stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(5): 693-698.
- [40] Xing G S, Zhou G K, Li Z X, Cui K R. Studies of Polyamine Metabolism and β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic Acid Accumulation in Grass Pea (*Lathyrus sativus*) Under Water Stress. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42(10): 1039-1044.
- [41] Xing G S, Zhou G K, Li Z X, Cui K R. Effects of Osmotic Stress on Accumulation of H_2O_2 and ODAP in Grass Pea (*Lathyrus sativus*). *Acta Phytobiologica Sinica*, 2001, 27(1): 5-8.
- [42] Xing G S, Cui K R, Wang Y F, Li Z X. Water stress and the accumulation of β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid in Grass pea (*Lathyrus sativus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(1): 216-220.
- [43] Zhang D W, Xing G M, Yan Z Y, Wang C Y, Li Z X, Wang Y F. The study of oxalic acid and the biosynthesis and resistance of β -ODAP in grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Journal of Lanzhou University (Natural Sciences)*, 2007, 43: 63-70.
- [44] Zhou G K, Kong Y Z, Cui K R, Li Z X, Wang Y F. Hydroxyl radical scavenging activity of β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid. *Phytochemistry*, 2001, 58: 759-762.
- [45] Zhang D W, Xing G M, Xu H, Yan Z Y, Wang C Y, Wang Y F, Li Z X. Relationship between Oxalic Acid and the Metabolism of ODAP in Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.). *Israel Journals of Plant Sciences*, 2005, 53(2): 89-96.
- [46] Zhang J, Xing G M, Yan Z Y, Li Z X. β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid protects the activity of glycolate oxidase in *Lathyrus sativus* seedling and high light. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2003, 52(5): 618-622.
- [47] Hanbury C D, White C L, Mullan B P, Siddique K H M. A review of the potential of *Lathyrus sativus* L and *Lathyrus cicera* L grain for use as animal feed. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 2000, 87: 1-27.
- [48] Jain R K, Junaid M A, Rao S L N. Receptor interactions of β -N-oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid, the *Lathyrus sativus* putative excitotoxin with synaptic membranes. *Neurochemical research*, 1998, 23(9): 1191-1196.
- [49] Kuniko K E, Naduki Y, Minoura A, Watanabe K, Kusama T, Lambein F, Ikegami F. Sulfur amino acids deficiency caused by grass pea diet plays an important role in the toxicity of L-b-ODAP by increasing the oxidative stress; Studies on a motor neuron cell line. *Food and Chemical*

- Toxicology, 2011, 22(3): 131-135.
- [50] Peng H H, Brooker J D. Isolation of ODAP-degrading bacteria from the sheep rumen. *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, 2000, 1: 33.
- [51] Anna W M, Małgorzata K. The effectiveness of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) seeds in pig feed. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2010, 34(2): 155-162.
- [52] Ongena G, Kuo Y H, Lambein F. Drought tolerance and neurotoxicity of *Lathyrus sativus* seedlings. *Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique*, 1989, 98: 17-26.
- [53] Zeevaert J A D, Creelman R A. Metabolism and physiology of abscisic acid. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1988, 39: 439-443.
- [54] Palavan N, Galston A W. Polyamine biosynthesis and fiter during various developmental stages of phaseolus vulgaris. *Physiologia Plantarum*, 1982, 55: 438-444.
- [55] Chen Z X, Malamy J, Henning J, Conrath U, Sanchezcasas P, Silva H, Ricigliano J, Klessig D F. Induction, modification and transcription of salicylic-acid signal in plant defence responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 1995, 92: 4134-4197.
- [56] Chen Z X, Silva H, Klessig D F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, 1993, 262: 1883-1886.
- [57] Lecine A, Tenhaken R, Dixon R, Lamb C. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 1994, 79: 583-593.
- [58] Sen C K, Packer L. Antioxidant and redox regulation of gene-transcription. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal (FASEB)*, 1996, 10: 709-720.
- [59] Cui K R, Xing G S, Liu X M, Xing G M, Wang Y F. Effect of hydrogen peroxide on somatic embryogenesis of *Lycium barbarum* L. *Plant Science*, 1999, 146: 9-16.
- [60] Cui K R, Xing G S, Qin L, Liu X M, Wang Y F. The analysis of differential gene expression in early somatic embryogenesis on *Lycium barbarum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1999, 56(3): 1-6.
- [60] Campbell C G. Grass pea *Lathyrus sativus* L. promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops, 18. Rome, Italy, International Plant Genetic Resources Institute, 1997: 42-43.
- [61] Pandey R L, Geda A K, Sharma R N. Inheritance of newrotoxin content in the grass pea *Lathyrus sativus* L. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science*, 2000, 22 (Suppl I): 68.
- [62] Rao S L N. Do we need more research on newrolathyrism? *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, 2001, 2(1): 2-3.
- [63] Zhou S C, Zhou J T. Molecular basis of NO-mediated apoptosis. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2002, 14(3): 135-138.
- [64] Lambein F, Haquea R, Khana J K, Kebedea N, Kuo Y H. From soil to brain: Zinc deficiency increases the newrotoxicity of *Lathyrus sativus* and may affect the susceptibility for the motornewzone disease neurolathyrism. *Toxicon*, 1994, 32(4): 461-466.
- [65] Jiao C J, Jiang J L, Ke L M, Cheng W, Li F M, Li Z X, Wang C Y. Factors affecting b-ODAP content in *Lathyrus sativus* and their possible physiological mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(3): 543-549.
- [66] Xie G X, Qiu Y P, Qiu M F, Gao X F, Liu Y M, Jia W. Analysis of dencichine in *Panax notoginseng* by gas chromatography-mass spectrometry with ethylchloroformate derivatization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 43: 920-925.
- [67] Kuo Y H, Ikegami F, Lambein F. Neuroactive and other free amino acids in seed and young plants of *Panax ginseng*. *Phytochemistry*, 2003, 62: 1087-1091.
- [68] Lambein F, Kuo Y H, Eguchi K K, Ikegami F. 3-N-oxalyl-L-2,3- diaminopropanoic acid, a multifunctional plant metabolite of toxic reputation. *Archive for Organic Chemistry*, 2007 (ix): 45-52
- [69] Pan M D, Mabry T J, Cao P, Moini M. Identification of nonprotein amino acids from cycad seeds as N-ethoxycarbonyl ethyl ester derivatives by positive chemical-ionization gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1997, 787: 288-294.
- [70] Vaz Patto M C, Skiba B, Pang E C K, Ochatt S J, Lambein F, Rubiales D. *Lathyrus* improvement for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical breeding to marker assisted selection. *Euphytica*, 2006, 147: 133-147.
- [71] Ochatt S, Mousset-Déclas C, Rancillac M. Fertile pea pants regenerate from protoplasts when calluses have not undergone endoreduplication. *Plant Science*, 2000, 156: 177-183.
- [72] Ochatt S, Durieu P, Jacas L, Pontécaille C. Protolast cell and tissue cultures for the biotechnological breeding of grass pea (*Lathyrus sativus* L). *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, 2001, 2 (1): 35-38.
- [73] Zambre M, Chowdhury B, Kuo Y H, Montagu M V, Angenon G, Lambein F. Prolific regeneration of fertile plants from green nodular callus induced from meristematic tissues in *Lathyrus sativus* L (grass pea). *Plant Science*, 2002, 163: 1107-1112.

- [74] Chtowrou G N, Lauga B, Combes D, Marrakchi M. Comparative genetic diversity studies in genus lathyrus using RFLP and RAPD markers. *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, 2001, 2 (2): 62-68.
- [75] Chtowrou G N, Lauga B, Brakim N B. Genetic variation analysis in the genus Lathyrus using RAPD markers. *J Genetic Resources and Crop Evolution*, 2002, 49: 363-370.
- [76] Tavoletti S, Iommarini L, Mogliani L. Agronomic, qualitative (b-ODAP) and molecular variability in grasspea populations of the Marche region (central Italy). *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(3): 601-606.

参考文献:

- [1] 崔鸿宾. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 1998, 4(2): 270-286
- [3] 严则义, 邢更妹, 王崇英, 王亚馥, 李志孝. 家山黧豆及其毒素 ODAP 的研究. *西北植物学报*, 2004, 24(5): 911-920.
- [5] 兰州大学化学系. 山黧豆毒素分析与去毒方法研究. *兰州大学学报(自然科学版)*, 1975, 6(2): 1-21.
- [10] 陈耀祖, 李志孝, 吕福海, 包兴国, 刘生战, 刘绪川, 张国伟, 李雅茹. 低毒山黧豆引种筛选, 毒素分析及毒理学研究. *兰州大学学报(自然科学版)*, 1992, 28(3): 93-98.
- [11] 刘绪川, 张国伟, 李雅茹, 王菊香, 梁兆年. 山黧豆及其有毒成分(ODAP)的毒理学研究. *中国农业科学*, 1989, 22(5): 86-93.
- [12] 李裕林, 潘鑫复, 黄文魁. 碱性氨基酸的局部酰化-L-β-N-草酰氨基丙酸的合成. *兰州大学学报(自然科学版)*, 1975, 6(2): 1-4.
- [14] 李志孝, 张东辉, 陈耀祖. 荧光光度法测定山黧豆毒素. *分析化学*, 1989, 17(12): 1090-1094.
- [16] 李志孝, 蔡文涛, 许主国, 陈耀祖. 邻苯二甲醛比色测定山黧豆毒素 ODAP. *兰州大学学报*, 1987, 23(2): 130-132.
- [31] 覃新程, 王飞, 王晓娟, 周功克, 李志孝. ⁶⁰Co-γ 射线与 EMS 复合物处理对山黧豆抗氧化酶活力及 ODAP 的影响. *应用生态学报*, 2000, 11(6): 957-958.
- [39] 邢更生, 周功克, 李志孝, 崔凯荣. 水分胁迫下山黧豆中 ABA 与 ODAP 的积累研究. *应用生态学报*, 2000, 11(5): 693-698.
- [40] 邢更生, 周功克, 李志孝, 崔凯荣. 水分胁迫下山黧豆中多胺代谢与 β-N-草酰-α,β-二氨基丙酸积累相关性研究. *植物学报*, 2000, 42(10): 1039-1044.
- [41] 邢更生, 周功克, 李志孝, 崔凯荣. 渗透胁迫对山黧豆幼苗 H₂O₂ 及毒素积累的影响. *植物生理学报*, 2001, 27(1): 5-8.
- [43] 张大伟, 邢更妹, 严则仪, 王崇英, 李志孝, 王亚馥. 草酸与家山黧豆 ODAP 生物合成及其抗逆性关系的研究. *兰州大学学报(自然科学版)*, 2007, 43: 63-70.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 9 May, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Guest Editorial from EAM Workshop—Sustainability of agricultural ecosystems in arid regions in response to climate change	
..... LI Fengmin, Kadambot H. M Siddique, Neil C Turner, et al (I)	
Overview on the 2 nd international workshop on ecosystem assessment and management (EAM)	
..... LI Pufang, ZHAO Xuzhe, CHENG Zhengguo, et al (2349)	
Arid agricultural ecology in response to global change: Overview on Young Scholar Forum of the 2 nd International Workshop on	
EAM	ZHAO Xuzhe, LI Pufang, Kadambot H. M Siddique, et al (2356)
The effects of micro-rainwater harvesting pattern and rainfall variability on water ecological stoichiometry in oat (<i>Avena sativa</i> L.)	
field	QIANG Shengcai, ZHANG Hengjia, MO Fei, et al (2365)
Spatial variation of water requirement for spring wheat in the middle reaches of Heihe River basin	
..... WANG Yao, ZHAO Chuanyan, TIAN Fengxia, et al (2374)	
Model-based estimation of the canopy transpiration of Qinghai spruce (<i>Picea crassifolia</i>) forest in the Qilian Mountains	
..... TIAN Fengxia, ZHAO Chuanyan, FENG Zhaodong (2383)	
Litter amount and its nutrient storage and water holding characteristics under different coniferous forest types in Xiaolong Mountain,	
Gansu Province	CHANG Yajun, CHEN Qi, CAO Jing, et al (2392)
Effect of irrigation frequency on life history strategy and yield formation in Jerusalem artichoke (<i>Helianthus tuberosus</i> L.) in oasis	
of Hexi Corridor	ZHANG Hengjia, HUANG Gaobao, YANG Bin (2401)
The evaluation method of water resources sustainable utilization in Manas River Basin	
..... YANG Guang, HE Xinlin, LI Junfeng, et al (2407)	
Correlation of topographic factors with precipitation and surface temperature in arid and cold region of Northwest China: a case	
study in Gansu Province	YANG Sen, SUN Guojun, HE Wenying, et al (2414)
The relationship between riparian vegetation and environmental factors in Heihe River Basin	
..... XU Shasha, SUN Guojun, LIU Huiming, et al (2421)	
Effects of drought stress on the photosynthesis of <i>Salix paraqulesia</i> and <i>Hippophae rhamnoides</i> seedlings	
..... CAI Haixia, WU Fuzhong, YANG Wanqin (2430)	
The comparison of drought resistance between <i>Caragana species</i> (<i>Caragana arborescens</i> , <i>C. korshinskii</i> , <i>C. microphylla</i>) and two	
chickpea (<i>Cicer arietinum</i> L.) cultivars	FANG Xiangwen, LI Fengmin, ZHANG Haina, et al (2437)
Response of chlorophyll fluorescence characteristics of <i>Populus euphratica</i> heteromorphic Leaves to high temperature	
..... WANG Haizhen, HAN Lu, XU Yali, et al (2444)	
Free amino acid content in different tissues of <i>Caragana korshinskii</i> following all shoot removal	
..... ZHANG Haina, FANG Xiangwen, JIANG Zhirong, et al (2454)	
“Fertile Island” features of soil available nutrients around <i>Halostachys caspica</i> shrub in the alluvial fan area of Manas River watershed	
..... TU Jinna, XIONG Youcai, ZHANG Xia, et al (2461)	
Analysis of the activities of protective enzymes in <i>Bidens pilosa</i> L. inoculated with <i>Glomus mosseae</i> under drought stress	
..... SONG Huixing, ZHONG Zhangcheng, YANG Wanqin, et al (2471)	
Evaluation and selection on drought-resistance of germplasm resources of <i>Avena</i> species with different types of ploidy	
..... PENG Yuanying, YAN Honghai, GUO Laichun, et al (2478)	
Ecophysiological mechanism of photoperiod affecting phenological period and spike differentiation in oat (<i>Avena nuda</i> L.)	
..... ZHAO Baoping, ZHANG Na, REN Changzhong, et al (2492)	
Effects of water and fertilization on relationship between competitive ability and seed yield of modern and old spring wheat varieties	
..... DU Jingqi, WEI Panpan, YUAN Ziqiang, et al (2501)	

- Inhibitory effect of biogas slurry from swine farm on some vegetable pathogen SHANG Bin, CHEN Yongxing, TAO Xiuping, et al (2509)
- Effects of different summer catch crops planting on soil inorganic N residue and leaching in greenhouse vegetable cropping system WANG Zhiyi, GUO Ruiying, LI Fengmin (2516)
- Photosynthetic characterization and yield of summer corn (*Zea mays* L.) during grain filling stage under different planting pattern and population densities WEI Li, XIONG Youcai, Baoluo Ma, et al (2524)
- Effects of desulfurization waste treatment on calcium distribution and calcium ATPase activity in oil-sunflower seedlings under alkaline stress MAO Guilian, XU Xing, ZHENG Guoqi, et al (2532)
- The evolution between ecological security pattern and agricultural productive force in Manas River Basin for the past 30 years WANG Yuejian, XU Hailiang, WANG Cheng, et al (2539)
- Spatio-temporal analysis of ecological carrying capacity in Jinghe Watershed based on Remote Sensing and Transfer Matrix YUE Dongxia, DU Jun, LIU Junyan, et al (2550)
- The coupling relationship and emergy analysis of farming and grazing ecosystems in Mu Us sandland HU Binghui, LIAO Yuncheng (2559)
- Dynamic analysis of farmland ecosystem service value and multiple regression analysis of the influence factors in Minqin Oasis YUE Dongxia, DU Jun, GONG Jie, et al (2567)
- Environment purification service value of urban green space ecosystem in Qingdao City ZHANG Xuliang, XU Zongjun, ZHANG Zhaohui, et al (2576)
- The spatial relationship analysis of rural per capital revenue based on GIS in Zulihe River basin, Gansu Province XU Baoquan, SHI Weiqun (2585)
- Review and Monograph**
- The key issues on plant phenology under global change MO Fei, ZHAO Hong, WANG Jianyong, et al (2593)
- Recent advances on regional climate change by statistical downscaling methods ZHU Hongwei, YANG Sen, ZHAO Xuzhe, et al (2602)
- Current progress in eco-physiology of root-sourced chemical signal in plant under drought stress LI Jinan, LI Pufang, KONG Haiyan, et al (2610)
- ODAP biosynthesis: recent developments and its response to plant stress in grass pea (*Lathyrus sativus* L.) ZHANG Dawei, XING Gengmei, XIONG Youcai, et al (2621)
- Current progress in plant ideotype research of dryland wheat (*Triticum aestivum* L.) LI Pufang, CHENG Zhengguo, ZHAO Hong, et al (2631)
- Recent advances in research on drought-induced proteins and the related genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) ZHANG Xiaofeng, KONG Haiyan, LI Pufang, et al (2641)

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

客座编辑 Guest Editors LI Fengmin XIONG Youcai Neil Turner Kadambot Siddique

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 31 卷 第 9 期 (2011 年 5 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 31 No. 9 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