

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

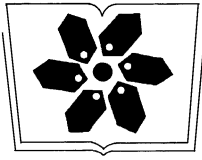
Acta Ecologica Sinica



第 31 卷 第 13 期 Vol.31 No.13 **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 13 期

2011 年 7 月 (半月刊)

目 次

我国东部北亚热带植物群落季相的时空变化	陈效速, 亓孝然, 阿 杉, 等 (3559)
华北低丘山地人工林蒸散的季节变化及环境影响要素	黄 辉, 孟 平, 张劲松, 等 (3569)
东北东部 14 个温带树种树干呼吸的种内种间变异	许 飞, 王传宽, 王兴昌 (3581)
RS 和 GIS 支持的洪河地区湿地生态健康评价	王一涵, 周德民, 孙永华 (3590)
应用光合色素研究广西钦州湾丰水期浮游植物群落结构	蓝文陆, 王晓辉, 黎明民 (3601)
基于不可替代性的青海省三江源地区保护区功能区划研究	曲 艺, 王秀磊, 栾晓峰, 等 (3609)
融雪时间对大卫马先蒿生长和繁殖特性的影响	陈文年, 吴 彦, 吴 宁, 等 (3621)
巴郎山刺叶高山栎叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 对海拔高度的响应	冯秋红, 程瑞梅, 史作民, 等 (3629)
宁南半干旱与半干旱偏旱区苜蓿草地土壤水分与养分特征	任晶晶, 李 军, 王学春, 等 (3638)
南岭小坑藜蒴栲栎群落地上部分生物量分配规律	李 根, 周光益, 王 旭, 等 (3650)
放牧对五台山高山、亚高山草甸牧草品质的影响	章异平, 江 源, 刘全儒, 等 (3659)
短期增温对贡嘎山峨眉冷杉幼苗生长及其 CNP 化学计量学特征的影响	羊留冬, 杨 燕, 王根绪, 等 (3668)
锰胁迫对垂序商陆叶片形态结构及叶绿体超微结构的影响	梁文斌, 薛生国, 沈吉红, 等 (3677)
土荆芥挥发油对蚕豆根尖细胞的化感潜力	胡琬君, 马丹炜, 王亚男, 等 (3684)
喀斯特城市杨树人工林微量元素的生物循环	王新凯, 田大伦, 闫文德, 等 (3691)
大兴安岭林区多孔菌的区系组成与种群结构	崔宝凯, 余长军 (3700)
铜绿微囊藻和斜生栅藻非稳态营养盐限制条件下的生长竞争特性	赵晓东, 潘 江, 李金页, 等 (3710)
陆地棉萌发至三叶期不同生育阶段耐盐特性	王俊娟, 王德龙, 樊伟莉, 等 (3720)
基于模式生物秀丽隐杆线虫的三丁基锡生态毒性评价	王 云, 杨亚楠, 简风雷, 等 (3728)
大庆油田石油开采对土壤线虫群落的影响	肖能文, 谢德燕, 王学霞, 等 (3736)
若尔盖高寒草甸退化对中小型土壤动物群落的影响	吴鹏飞, 杨大星 (3745)
洞庭湖湿地土壤环境及其对退田还湖方式的响应	刘 娜, 王克林, 谢永宏, 等 (3758)
渭北旱塬苹果园地产量和深层土壤水分效应模拟	张社红, 李 军, 王学春, 等 (3767)
黄土丘陵区不同土地利用下土壤释放 N_2O 潜力的影响因素	祁金花, 黄懿梅, 张 宏, 等 (3778)
东北中部地区水稻不同生育时期低温处理下生理变化及耐冷性比较	宋广树, 孙忠富, 孙 蕾, 等 (3788)
硫对成熟期烤烟叶绿素荧光参数的影响	朱英华, 屠乃美, 肖汉乾, 等 (3796)
高温强光对温州蜜柑叶绿素荧光、D1 蛋白和 Deg1 蛋白酶的影响及 SA 效应	邱翠花, 计玮玮, 郭延平 (3802)
覆膜对土壤-莴苣体系氮素分布和植物吸收的影响	李丽丽, 李非里, 刘秋亚, 等 (3811)
基于空间分带的崇明东滩水鸟适宜生境的时空动态分析	范学忠, 张利权, 袁 琳, 等 (3820)
驯鹿对苔藓植物的选择食用及其生境的物种多样性	冯 超, 白学良 (3830)
北京城市绿地调蓄雨水径流功能及其价值评估	张 彪, 谢高地, 薛 康, 等 (3839)
专论与综述	
冻土甲烷循环微生物群落及其对全球变化的响应	倪永清, 史学伟, 郑晓吉, 等 (3846)
哺乳动物毛被传热性能及其影响因素	郑 雷, 张 伟, 华 彦 (3856)
期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 304 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 33 * 2011-07	



封面图说: 滇金丝猴是我国特有的世界珍稀动物之一, 属国家一级重点保护物种。仅生活在滇藏交界处的高寒云冷杉林中, 是我国川、滇、黔三种金丝猴中唯一具有和人类一样美丽红唇的金丝猴。手中的松萝是它最喜爱的食物之一。

彩图提供: 陈建伟教授 国家林业局 E-mail: cites.chenjw@163.com

邱翠花, 计玮玮, 郭延平. 高温强光对温州蜜柑叶绿素荧光、D1 蛋白和 Deg1 蛋白酶的影响及 SA 效应. 生态学报, 2011, 31(13): 3802-3810.

Qiu C H, Ji W W, Guo Y P. Effects of high temperature and strong light on chlorophyll fluorescence, the D1 protein, and Deg1 protease in Satsuma mandarin, and the protective role of salicylic acid. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(13): 3802-3810.

高温强光对温州蜜柑叶绿素荧光、D1 蛋白和 Deg1 蛋白酶的影响及 SA 效应

邱翠花¹, 计玮玮¹, 郭延平^{2,*}

(1. 浙江大学园艺系, 杭州 310029; 2. 西北农林科技大学园艺学院, 杨凌 712100)

摘要:以 3 年生温州蜜柑 (*Citrus unshiu* Marc.) 植株为试材, 用叶绿素荧光分析、Western-blotting 蛋白质印记技术及 DAB (3,3'-二氨基联苯胺) 显色法, 研究了高温强光 (38 °C 和 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 对叶片叶绿素荧光参数、PS (光系统) II 反应中心 D1 蛋白和 Deg1 蛋白酶的影响和 SA (水杨酸) 的效应。结果表明, 高温强光交互作用 4 h 后, 叶片的初始荧光 F_0 升高, 最大光能转化效率 F_v/F_m 、表观光合电子传递速率 ETR 及 PS II 的量子产额 Φ_{PSII} 显著降低; 在 D1 蛋白降解的同时, Deg1 蛋白酶含量也下降, 并伴有 H_2O_2 的积累。在高温强光下, 外源的 H_2O_2 使叶绿素荧光动力学快相参数 $(F_i - F_0)/(F_p - F_0)$ 值 (反映 PS II 中 Q_B 非还原中心的数量) 升高和 I-P 的斜率 (反映 PS II 活化中心还原态 Q_A 积累的值) 下降, F_v/F_m 、 ETR 、 Φ_{PSII} 及 D1 蛋白和 Deg1 蛋白酶下降幅度增大; 而外源的 SA 使这些参数下降幅度减小。这些结果说明, 高温强光诱导 H_2O_2 的积累造成 Deg1 蛋白酶和光系统反应中心 D1 蛋白的降解, Deg1 蛋白酶的减少也进一步限制了 D1 蛋白的周转, 进而使温州蜜柑 PS II 反应中心遭到破坏, SA 对光合机构光破坏有保护作用。

关键词:温州蜜柑; 高温强光; 叶绿素荧光; D1 蛋白; Deg1 蛋白酶; H_2O_2

Effects of high temperature and strong light on chlorophyll fluorescence, the D1 protein, and Deg1 protease in Satsuma mandarin, and the protective role of salicylic acid

QIU Cuihua¹, JI Weiwei¹, GUO Yanping^{2,*}

1 Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029, China

2 College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China

Abstract: Photosynthesis is the key physiological process for crop yield and quality. Environmental stresses, especially light and temperature stresses, are important limiting factors for photosynthesis. Light and heat stress often co-occur under natural conditions, especially during day time in summer when temperatures and light intensity can reach 30—40°C and 1000—2000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, respectively. Such combined stresses severely restrict growth and photosynthesis of plants in many regions of the world, and have more severe effects than either stress alone. Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) is widely cultivated in the Yangtze River Valley. For growth of citrus species, the optimum temperatures are between 22 and 30°C, and the saturation light intensity ranges from 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ to 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. The decreased photosynthesis resulting from high temperatures and strong light has become a serious problem for citrus cultivation because of decreased yield. Although the effects of high temperature or strong light on photosynthesis have been studied, less is known about their combined effects on photosynthesis. We selected 3-year-old Satsuma mandarin plants to study the effects of high temperature

基金项目: 国家自然科学基金 (30771497)

收稿日期: 2011-01-06; 修订日期: 2011-04-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ypguo@nwsuaf.edu.cn

(38℃) and strong light ($1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) on chlorophyll fluorescence parameters and the relative contents of D1 protein (the reaction center protein of photosystem II) and Deg1 protease in leaves. Fluorescence parameters were measured using a chlorophyll fluorometer, the D1 protein and Deg1 protease were analyzed by Western-blotting, and hydrogen peroxide (H_2O_2) was detected using the 3,3-diaminobenzidine-uptake method. We also investigated the effects of exogenous hydrogen peroxide (H_2O_2) and salicylic acid (SA) on leaf parameters under high temperature and strong light. The results showed that the initial fluorescence (F_o) significantly increased when Satsuma mandarin leaves were exposed to high temperature and strong light for 4 h, whereas the maximal photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m), electron transport rate (ETR) and quantum yield of PS II (Φ_{PSII}) decreased. The relative content of Deg1 protease decreased when the D1 protein degraded, while simultaneously, H_2O_2 accumulated in the leaves. Analysis of the fast phase of chlorophyll fluorescence kinetics showed that exogenous H_2O_2 increased the $(F_i - F_o)/(F_p - F_o)$ value (the number of non-reductive Q_B centers in PS II), but decreased the slope of F_i to F_p (the redox state of Q_A in the activation center of PS II). Thus, exogenous H_2O_2 increased the PS II photoinactivation ratio. The F_v/F_m , ETR, Φ_{PSII} , and relative contents of D1 protein and Deg1 protease also decreased, compared with their respective values in the control. These parameters include: the slope from F_i to F_p , $(F_i - F_o)/(F_p - F_o)$, F_v/F_m , ETR, Φ_{PSII} , and relative contents of D1 protein and Deg1 protease were somewhat decreased by exogenous SA under high temperature and strong light. These results suggested that the accumulation of H_2O_2 induced by high temperature and strong light caused the net contents of D1 protein and Deg1 protease to decrease by inhibiting protein synthesis, and the decrease in Deg1 protease further limited the D1 protein turnover, which resulted in damage to the PS II reaction center in Satsuma mandarin leaves. These results also indicate that exogenous SA could protect the photosynthetic apparatus against photo-damage in Satsuma mandarin leaves.

Key Words: Satsuma mandarin; high temperature and strong light; chlorophyll fluorescence; D1 protein; Deg1 protease; hydrogen peroxide

光合作用是作物产量和品质形成的基础,逆境是限制光合作用的重要因素,其中高温和强光为主要逆境之一。作物光合机构 PS II 反应中心 D1 蛋白周转最容易受到强光的影响^[1]。在正常的生长环境中,D1 蛋白通过不断地快速降解和重新合成维持 PS II 的活性^[2-3],但强光引起的光抑制打破了这种平衡,使光破坏的速率远远大于 PS II 修复速率^[4]。破坏的 D1 蛋白只有被降解后才能由新合成的蛋白来替换,其中 Deg 蛋白酶参与了 D1 蛋白的降解过程。Deg1 蛋白酶是 Deg 家族中位于类囊体腔侧的蛋白酶之一,它不仅可以降解类囊体腔侧的蛋白质,而且在没有环境胁迫的情况下参与 D1 蛋白的降解和 PS II 的修复过程^[5]。因此,进一步弄清胁迫环境中 Deg1 蛋白酶对 D1 蛋白周转及保护其免受破坏的机理显得愈加重要。

越来越多的研究证明,处于逆境中的植物体内活性氧(H_2O_2 、HO、 O_2^-)的含量增加^[6-7]。在所有的活性氧种类中,因 H_2O_2 是最稳定的一种活性氧,所以对其的研究颇多。 H_2O_2 为植物细胞的信号分子,浓度较低时可以增加植物的耐受性^[8],但浓度较高时则会对植物造成氧化伤害^[9-11],抑制新的 D1 蛋白的合成,阻碍 PS II 的修复循环,从而加剧光抑制^[4,7]。植物在漫长的进化过程中已经形成了一套完整的抗氧化系统来避免活性氧可能造成的伤害^[12-13]。目前,也陆续发现外源水杨酸(SA)与植物体内活性氧的代谢有关,能提高植物对非生物逆境的抗性^[14-16],但对高温强光逆境下外源 H_2O_2 和 SA 共同作用于光合体系的研究却很少。

柑橘是我国长江流域栽培的重要经济作物^[17-18],夏季常常遭遇异常高温强光天气的侵袭,引起光合作用的光抑制,甚至发生光合机构不可逆的破坏^[19-20]。因此,研究高温强光胁迫下柑橘 D1 蛋白周转及外源 SA 对光合机构的保护机理,旨在为生产中采取抗逆应变措施,提高柑橘抗逆性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验于 2010 年 6—9 月在浙江大学华家池校区内进行。研究材料为 3 年生枳砧温州蜜柑(*Citrus*

unshiu Marc.) 盆栽苗,盆高 272 mm、上部直径 251 mm、底部直径 178 mm。每盆土量约为 7.0—8.0 kg,基质为 1:1(体积分数)的泥炭土和田间壤土。盆栽柑橘苗置于自动控温 20—25 °C 的温室中生长,空气相对湿度为 70%—80%。培养及实验期间及时充分灌水,以防水分亏缺。

1.2 研究方法

1.2.1 光温交互处理

选取大小和生长状况一致的温州蜜柑盆栽苗从温室移至人工气候室内后,挑选树冠外围枝条中上部生理状态较一致的健壮成熟叶片进行标记,作为测定叶片进行不同水平光温处理。照射光源为镓灯,在灯与植株之间以水循环的有机玻璃水槽隔热,调节叶片与光源之间的距离以保证照射到叶片表面的光合有效辐射为所需的强度。实验设 4 个处理:Ⅰ、适温中等光[(25±1)°C 和(800±50) μmol·m⁻²·s⁻¹];Ⅱ、适温强光[(25±1)°C 和(1600±50) μmol·m⁻²·s⁻¹];Ⅲ、高温中等光[(38±1)°C 和(800±50) μmol·m⁻²·s⁻¹];Ⅳ、高温强光[(38±1)°C 和(1600±50) μmol·m⁻²·s⁻¹],处理时间为 4 h。在处理过程中,用量子辐射光度计(Li-188B, LI-COR, USA)测定光强。每隔 1 h 测定 1 次叶片的叶绿素荧光参数,每个处理重复 6 次;每隔 2 h 液氮固定温州蜜柑叶片,用于蛋白含量分析,重复 3 次。结果以平均值±标准误表示。

1.2.2 叶绿素荧光参数的测定和计算

标记叶片经暗适应 20 min 后,用 PAM-2000(Walz, Germany)便携式叶绿素荧光仪测定初始荧光 F_0 和最大荧光 F_m 。测定时,先打开测量光($PFD < 0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 频率为 600 Hz)测定初始荧光 F_0 ,再打开一次饱和脉冲光($PFD > 3000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 频率为 20 kHz, 0.8 s, 1 个脉冲),测定最大荧光(F_m)和最大光化学效率 F_v/F_m 。之后,打开作用光(光强约为 420 μmol·m⁻²·s⁻¹, 白光),当 F_s (光下稳态荧光)稳定后,再打饱和脉冲光测定 F_m' ,然后关闭作用光,打开远红光(光强约为 5 μmol·m⁻²·s⁻¹),3s 后测定 F_0' (光适应后的初始荧光)。电子传递速率(ETR)和 PS II 的量子产量(Φ_{PSII})分别按公式 $ETR = 0.5 \times 0.85 \times PAR \times \Phi_{PSII}$ 和 $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$ 计算^[21-22]。数据处理软件为 PAM Win(Walz, Germany)。

叶片的快相荧光诱导动力学参照 Lichtenthaler 和 Govindjee 的方法^[23-24]。经过充分暗适应的叶片以 1000 μs/point 的测样速率照射红光(PFD 约为 50 μmol·m⁻²·s⁻¹, 2 s),整个过程约持续 4 s。

1.2.3 叶片中过氧化氢的观测

参考 Thordal-Christensen 等的方法^[25],将经标记的叶片迅速插入 1 mg/mL 的 3, 3-二氨基联苯胺(DAB, pH 值 3.8)溶液中,于 25 °C, 30 μmol·m⁻²·s⁻¹ 放置 3 h 使叶片均匀吸取 DAB 溶液。然后分别将处理后的叶片贴在水槽壁上,调节水槽内水的温度,使叶片表面温度为 25 °C 或 38 °C,并用 1600 μmol·m⁻²·s⁻¹ 或 800 μmol·m⁻²·s⁻¹ 的光强照射处理 4 h。叶片经 95% 乙醇中煮沸直至退去绿色,于 95% 乙醇中保存以备观察。

1.2.4 外源水杨酸和过氧化氢引入叶片

将已选好的生理状态较一致的成熟叶片剪下,并将其叶柄于水中再剪一段,迅速转移至 1 mmol/L 的水杨酸溶液和 10 mmol/L 的过氧化氢溶液中,于弱光 30 μmol·m⁻²·s⁻¹、25 °C 下放置 3 h,对照叶片浸入蒸馏水中。然后将对照叶片和饲喂水杨酸与过氧化氢的叶片置于 38 °C, 1600 μmol·m⁻²·s⁻¹ 下处理 30 min 后取样,用液氮固定进行蛋白含量的测定。

1.2.5 类囊体膜提取和蛋白含量分析

(1) 类囊体膜提取

参照 Russell 等法提取类囊体膜^[26]。将已用液氮固定的处理叶片去除中脉放入预冷的研钵中,加入 8 mL 冰冷的提取液(10 mmol/L NaF、50 mmol/L Tricine、100 mmol/L 蔗糖、5 mmol/L MgCl₂, pH 值 7.8)。粗提液用 1157×g, 4 °C 离心 5 min 后去沉淀,上清液用 18514×g 离心 30 min,去上清液,在沉淀中加入适量的提取液悬浮、保存,最后所得即为类囊体颗粒。

(2) 蛋白含量检测

类囊体膜经样品缓冲液[0.3 mol/L Tris-HCl(pH 值 6.8), 12% SDS, 36% β-巯基乙醇, 60% 甘油, 0.01%

溴酚蓝]增溶,在 50 ℃ 水浴中变性 30 min 后,用 15% 和 12% SDS-PAGE(含 4 mol/L 尿素)分离类囊体膜蛋白,每孔上样量 8 μg Chl。

Western-blotting 蛋白质印迹分析采用文献 27 中方法并加以改进^[27],将凝胶转移印迹至 PVDF 膜后,与特异性 D1 和 Deg1 抗体(Agrisera 公司)进行反应。显色试剂用 SuperSignal® West Pico Chemiluminescent Substrate(Perice 公司),显色后用 LAS-3000(Fuji Film, Japan)化学发光系统分析显影。实验用的一抗为兔抗体,二抗为辣根过氧化物酶标记的兔抗体。采用 Quantity-One 软件(Bio-Rad 公司)对凝胶进行蛋白质定量分析。

1.3 数据处理与分析

本试验数据用 Excel 处理,Origin 8 软件作图,SAS 9.1 软件进行 Tukey 显著性分析。

2 结果与分析

2.1 光温交互作用对温州蜜柑叶片叶绿素荧光参数的影响

经 25 ℃ 适温 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光强和 25 ℃ 适温 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光处理 4 h 后,叶片的初始荧光 F_0 、PS II 最大光化学效率 F_v/F_m 、电子传递速率 ETR 和 PS II 量子产量 Φ_{PSII} 无明显变化;38 ℃ 高温 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光强处理 4 h 后, F_v/F_m 下降了 31.4%,而 F_0 、 ETR 、 Φ_{PSII} 变化不大;38 ℃ 高温 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光处理前 2 h 使 F_0 显著上升,随着处理时间的延长 F_0 又呈现下降的趋势,但是整个处理过程中 F_v/F_m 、 ETR 、 Φ_{PSII} 则显著下降,作用 4 h 后,3 参数 F_v/F_m 、 ETR 、 Φ_{PSII} 分别下降了 74.3%、82.8%、81.8% (图 1)。可见,高温强光交互作用对温州蜜柑叶片叶绿素荧光参数的影响远大于单一高温或强光因子。

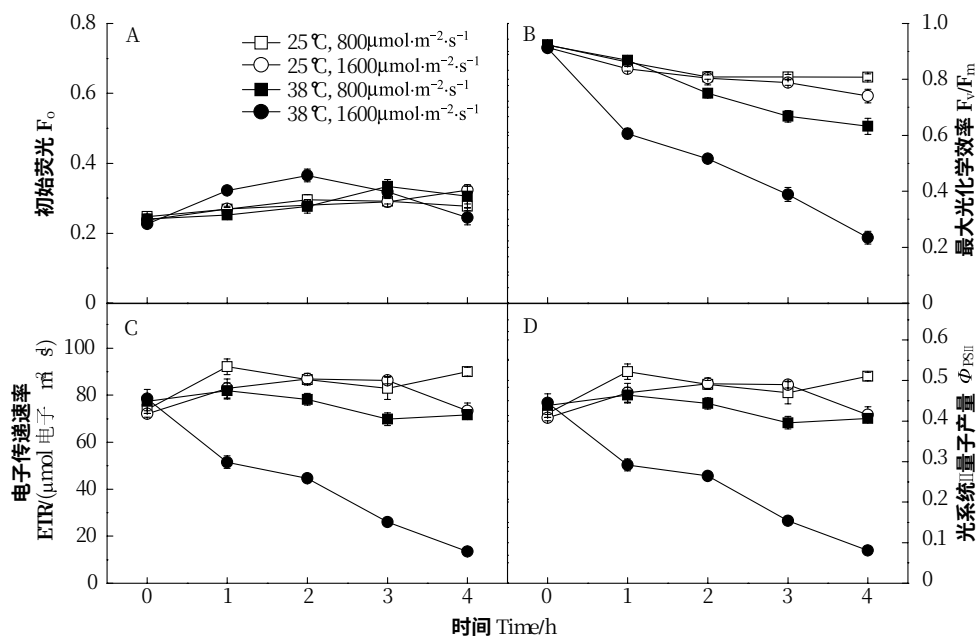


图 1 不同光温水平交互作用过程中温州蜜柑叶片叶绿素荧光参数的变化

Fig. 1 Changes of chlorophyll fluorescence parameters in Satsuma mandarin leaves under interactive impacts of different combinations of light and temperature

2.2 光温交互作用对温州蜜柑叶片 D1 和 Deg1 的影响

Western-Blotting 结果显示,温州蜜柑叶片经不同水平的光温交互作用后,PS II 反应中心 D1 蛋白和 Deg1 蛋白酶含量均有不同程度的变化(图 2)。与对照(0 h)相比,经 25 ℃ 适温 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光强交互作用 4 h,叶片中 D1 和 Deg1 蛋白含量无明显变化;25 ℃ 适温 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光交互作用 2 h 对 D1 和 Deg1 蛋白含量影响也不大,但处理 4 h 后则分别下降了 30% 和 20%;当 38 ℃ 高温 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光强处理温州蜜柑叶片时,D1 和 Deg1 含量均呈现下降的趋势,4 h 后下降幅度达 32% 和 35%。与适温中等光或适温

强光交互作用后相比,经高温中等光处理的叶片中两种蛋白的含量下降幅度更大些;特别是经 38 °C 高温 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光交互作用处理 2 h 后, D1 和 Deg1 含量就下降了 51% 和 59%, 4 h 后仅为对照的 24% 和 17%, 且 D1 蛋白与 Deg1 蛋白酶具有很好的相关性。可见, 高温强光的交互作用极易造成类囊体膜蛋白的大量降解。

2.3 光温交互作用对叶片中 H_2O_2 积累的影响

DAB(3, 3-diaminobenzidine) 在过氧化物酶存在时能够与 H_2O_2 反应并立即生成在多数溶液中都相当稳定的一种褐色聚合物, 这个褐色聚合物的多少, 反映了 H_2O_2 在叶片内的分布量甚至其在亚细胞水平上的定位^[25]。与对照相比, 经过 25 °C 适温 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光交互作用 4 h 后的温州蜜柑叶片中并无明显的 H_2O_2 积累; 而经过 25 °C 适温 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光或 38 °C 高温 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 中等光交互作用 4 h 后, 仅叶片叶柄附近的叶脉周围有部分的 H_2O_2 积累。但经过 38 °C 高温 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光交互作用 4 h 后则可以看到 H_2O_2 几乎遍布了整个叶片(图 3)。这些结果说明高温强光交互作用导致了温州蜜柑叶片中 H_2O_2 的大量积累。

2.4 高温强光下 H_2O_2 和外源水杨酸(SA)对叶片叶绿素荧光参数的影响

为了进一步探讨 H_2O_2 对光合机构的影响及 SA 对光合机构的保护效应, 向叶片中引入 H_2O_2 和 SA, 并将其置于 38 °C 高温 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光的环境中处理 30 min。叶片引入 H_2O_2 和 SA 后, 不经高温强光处理, 其 F_o 、 F_v/F_m 、ETR 和 Φ_{PSII} 与对照(H_2O)相比没有显著性差异, 但经高温强光处理 30 min 后, 引入 H_2O_2 的 F_v/F_m 、ETR 和 Φ_{PSII} 的值均低于对照, 仅为对照的 66.3%、61.5%、61.4%; 相反, 引入外源 SA 的 F_v/F_m 、ETR 和 Φ_{PSII}

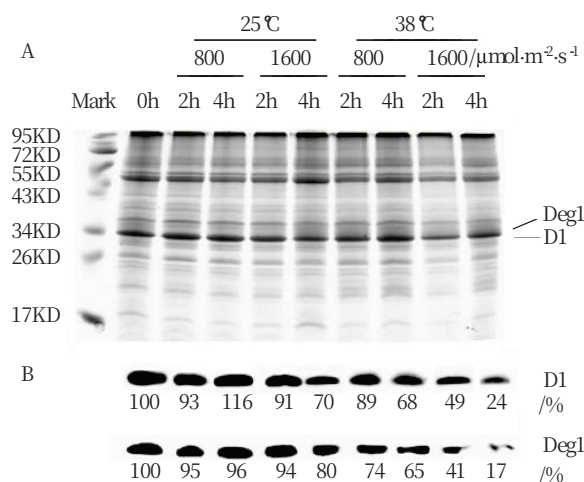


图2 温州蜜柑叶片经不同光温水平交互作用 2 h 与 4 h 后, 用 SDS-PAGE 和 Western-Blotting 检测的叶片中 D1 和 Deg1 含量的变化

Fig. 2 Changes of D1 protein and Deg1 in Satsuma mandarin leaves under interactive impacts of different combinations of light and temperature for 2 h and 4 h were analyzed by SDS-PAGE and Western-Blotting

A: SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳结果; B: 蛋白质印记分析

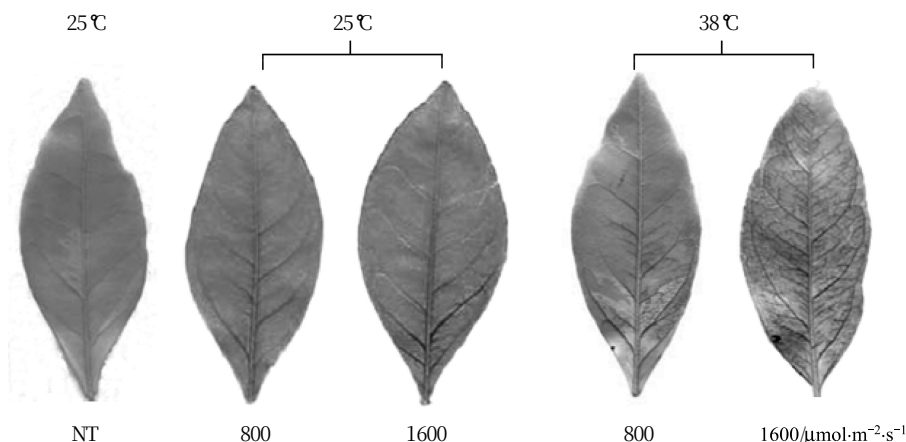


图3 经不同光温水平交互作用 4 h 后温州蜜柑叶片中 H_2O_2 的积累状况

Fig. 3 The accumulation of H_2O_2 in Satsuma mandarin leaves under interactive impacts of different combinations of light and temperature for 4 h

NT; 25 °C, 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 弱光下诱导 3 h 后未经光温处理的叶片

和 Φ_{PSII} 值高于对照,分别是对照的 172%、108%、108% (图 4)。这些结果表明, H_2O_2 会降低高温强光下的光合功能,而 SA 在一定程度上可以减轻高温强光对光合机构的影响。

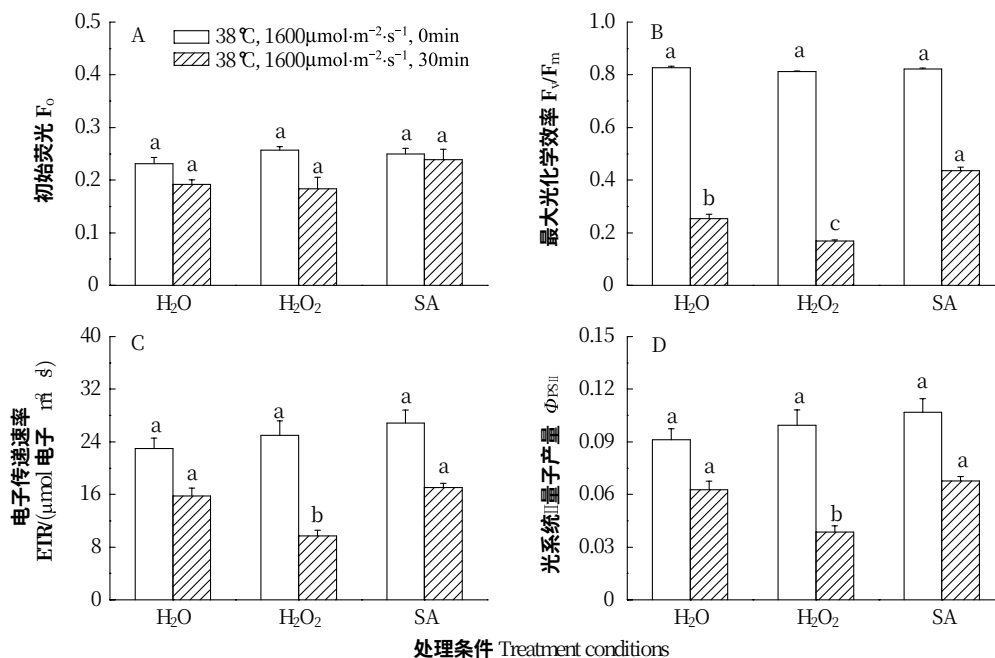


图 4 高温强光下外源水杨酸与过氧化氢对温州蜜柑叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig. 4 Effects of exogenous salicylic acid and hydrogen peroxide on chlorophyll fluorescence parameters in Satsuma mandarin leaves under high temperature and strong light

图中小写字母为不同处理在同一处理时间下的差异显著性 ($P < 0.05$)

2.5 高温强光下外源 SA 和 H_2O_2 对叶片叶绿素荧光快速诱导动力学曲线的影响

从荧光动力学快速诱导曲线 O 相位上升到 P 相位反映了电子由 PS II 反应中心向 Q_A 、 Q_B 及 PQ 库传递的过程。在荧光诱导动力学曲线中, O—I 阶段和 I—P 阶段的变化分别用参数 $(F_i - F_0)/(F_p - F_0)$ 和 I—P 的斜率表示。O—I 阶段的变化 [即 $(F_i - F_0)/(F_p - F_0)$ 值的大小] 反映了 PS II 中 Q_B 非还原中心的百分比, 即 PS II 反应中心失活的状况, 而 I—P 阶段的变化 (即 I—P 的斜率大小) 反映了 PS II 活化中心还原态 Q_A 积累的情况。分别引入 H_2O 、 H_2O_2 和 SA 的叶片经 38 °C 高温 1600 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 强光处理 30 min 后, 叶绿素荧光快相诱导动力学曲线存在明显差异 (图 5)。与对照 H_2O 相比, 引入 H_2O_2 叶片的荧光动力学曲线中拐点 D 基本消失, 峰点 P 明显降低, $(F_i - F_0)/(F_p - F_0)$ 值显著升高, 而 F_i 到 F_p 的斜率显著下降; 而引入外源 SA 叶片的荧光动力学曲线中峰点 P 明显高于对照, 且 $(F_i - F_0)/(F_p - F_0)$ 值明显降低, F_i 到 F_p 的斜率也明显上升 (表 1)。说明

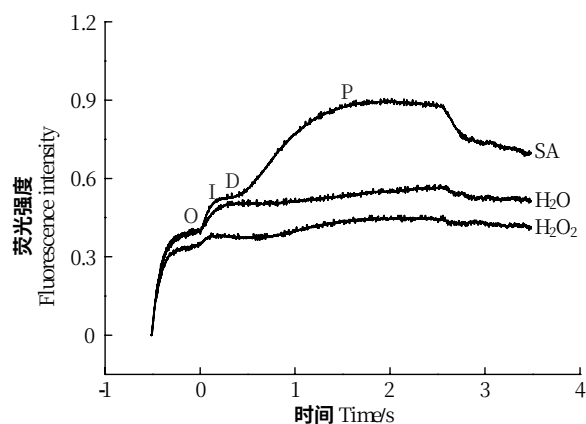


图 5 高温强光下外源水杨酸与过氧化氢处理对温州蜜柑叶片荧光诱导动力学曲线快相的影响

Fig. 5 Effects of SA and H_2O_2 on Kinetic curves of chlorophyll a fluorescence fast phase in Satsuma mandarin leaves under high temperature strong light conditions

当叶片中存在大量 H_2O_2 时会导致 PS II 中非还原 Q_B 比例增加, 而 Q_B^- 的比例减少, 即电子传递从 Q_A^- 到 Q_B 受阻, Q_A 的活性下降, 失活的反应中心比例升高; 外源 SA 能通过调整 PS II 反应中心中 Q_B 非还原中心与还原态

Q_A 的比例维持较高的 PS II 的活性。

表 1 高温强光下外源水杨酸与过氧化氢处理对温州蜜柑叶片叶绿素荧光快相参数的影响

Table 1 Effects of SA and H₂O₂ on parameters of chlorophyll fluorescence fast phase (F_i-F_o)/(F_p-F_o) and slope of F_i to F_p in Satsuma mandarin leaves under high temperature strong light conditions

处理 Treatments	(F_i-F_o)/(F_p-F_o)	F_i 到 F_p 的斜率 Slope from F_i to F_p
H ₂ O	0.372±0.014 b	0.077±0.008 b
H ₂ O ₂ /(10 mmol/L)	0.513±0.018 a	0.027±0.002 c
SA/(1 mmol/L)	0.231±0.015 c	0.187±0.015 a

表中小写字母为不同处理间的差异显著性($P<0.05$)

2.6 高温强光下外源水杨酸和过氧化氢对类囊体膜蛋白含量的影响

叶片引入 SA 和 H₂O₂ 经 38 ℃ 高温 1600 μmol·m⁻²·s⁻¹ 强光交互作用 30 min 后,D1 和 Deg1 含量的变化如图 6。与对照 H₂O 相比,叶片中引入 H₂O₂ 的叶片,其 D1 和 Deg1 含量均下降,下降幅度分别达 35% 和 41%;引入 SA 后,叶片中的 D1 和 Deg1 含量不但没有下降,反而分别上升了 53% 和 51%。可见,H₂O₂ 造成了 D1 和 Deg1 降解,而外源 SA 有利于 D1 和 Deg1 的合成。

3 讨论

初始荧光(F_o)是 PS II 反应中心处于完全开放时的荧光产量, F_o 上升表明 PS II 反应中心受到破坏或失活, F_o 下降与叶黄素循环有关^[28]。在本实验中,高温强光使 F_o 先上升后下降(图 1A),暗示了高温强光作用 2 h 后已经造成了温州蜜柑叶片 PS II 反应中心的失活或破坏。 F_v/F_m 反应了暗适应下 PS II 的最大光化学效率,即在吸收的总光能中用于光化学的能量^[29]。 F_v/F_m 下降主要有两种情况:一是光合功能的下调,但 PS II 反应中心并不失活,是光合机构免遭光破坏的保护机制;二是 PS II 反应中心破坏^[19, 30]。本研究结合 F_o 的变化可以推测高温强光造成的 F_v/F_m 下降(图 1B)与 PS II 反应中心破坏有关,而单一高温或单一强光处理引起的 F_v/F_m 下降可能只是光合功能的下调,在一定程度上,是为了减少用于光化学的能量,从而保护 PS II 免遭高温破坏^[31-32]。此外,经高温强光交互作用后,反映 PS II 电子传递能力的 Φ_{PSII} 和表观的电子传递速率 ETR 显著下降(图 1C,D),这也为 PS II 反应中心遭受高温光破坏提供了佐证。

在高等植物中,D1 蛋白是构成 PS II 反应中心基本框架的重要组成部分之一^[33-34]。现已发现在强光或与其它环境胁迫相偶联时,D1 蛋白会发生净降解,且 D1 的降解与胁迫环境中大量产生的活性氧有关^[35-37]。D1 蛋白周转是 PS II 修复的前提条件,有研究发现 D1 蛋白的降解需要 Deg1 蛋白酶参与^[5]。但也有实验表明,Deg 家族蛋白并不是 D1 蛋白周转和 PS II 修复所必需的,FtsH 蛋白酶可单独介导 D1 蛋白的降解^[38-39]。在本实

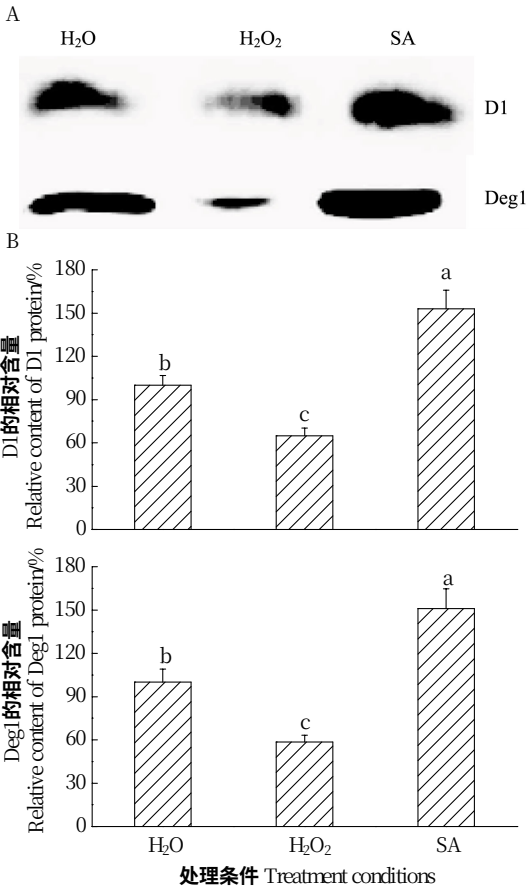


图 6 高温强光下外源水杨酸(SA)与 H₂O₂ 对温州蜜柑叶片中 D1 和 Deg1 含量的影响

Fig.6 Effects of SA and H₂O₂ on relative content of D1 and Deg1 in Satsuma mandarin leaves under high temperature and strong light conditions for 30 min

A:蛋白质印记分析;B:D1 和 Deg1 相对含量;图中小写字母为不同处理间的差异显著性($P<0.05$)

验中,温州蜜柑在高温强光交互作用下,叶片 D1 蛋白含量明显降低(图 2),可见高温强光下 PS II 反应中心确实遭到了破坏。高温强光胁迫下 D1 蛋白下降的同时,Deg1 蛋白酶的含量明显降低(图 2),推测在柑橘上 Deg1 蛋白酶参与了 D1 的周转,可能是较长时间的高温强光交互作用,使 Deg1 蛋白酶受到破坏,而不能继续降解受损的 D1 蛋白,限制了 D1 蛋白的周转,其机制还有待于进一步的研究。

从本研究来看,经过高温强光处理后的温州蜜柑叶片中 H_2O_2 大量积累(图 3),这一结果与黄瓜和小麦相似^[40-41],由此可以推测,高温强光交互作用下,植物体内抗氧化酶系统受到抑制,打破了活性氧的产生与清除之间的动态平衡,无法清除过多的 H_2O_2 ,导致 H_2O_2 的积累。而大量积累的 H_2O_2 可能是造成光合机构氧化破坏和加剧光抑制的重要原因。活性氧通过抑制 D1 蛋白的重新合成来抑制损坏的 PS II 的修复^[4, 7, 42]。本研究发现,与对照(H_2O)相比,引入外源 H_2O_2 的温州蜜柑叶片经高温强光交互作用后, F_v/F_m 、 ETR 、 Φ_{PSII} 显著下降, $Q_A \rightarrow Q_B$ 的电子传递受阻(表 1,图 4,图 5),PS II 反应中心 D1 蛋白含量急剧减少(图 6),并且伴随着 Deg1 蛋白酶的减少,这充分说明了高温强光下大量积累的 H_2O_2 抑制了 D1 蛋白的修复,导致 PS II 反应中心发生了不可逆的破坏。近来研究发现,SA 缓解大麦幼苗的渗透胁迫主要是通过活性氧,而并非水杨酸本身作用^[16]。虽然本实验与渗透胁迫关系不大,但高温强光下引入外源 SA 的温州蜜柑叶片的 F_v/F_m 、 ETR 和 Φ_{PSII} (图 4)显著高于对照,而且外源 SA 的存在有效抑制了高温强光所致的 D1 蛋白降解,保持了较高的 Deg1 蛋白酶活性,有活性的 PS II 反应中心比例显著上升(表 1,图 5,图 6)。因此推测 SA 能平衡柑橘叶片内的活性氧代谢,维持一定的 PS II 反应中心结构稳定及周转,对光合机构有保护作用。

References:

- [1] Anderson J M, Park Y I, Soon W S. Unifying model for the photoinactivation of photosystem II in vivo under steady-state photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 1998, 56(1): 1-13.
- [2] Kato Y, Sakamoto W. Protein quality control in chloroplasts: a current model of D1 protein degradation in the photosystem II repair cycle. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 146(4): 463-469.
- [3] Huesgen P F, Schuhmann H, Adamska I. Deg/HtrA proteases as components of a network for photosystem II quality control in chloroplasts and cyanobacteria. *Research in Microbiology*, 2009, 160(9): 726-732.
- [4] Murata N, Takahashi S, Nishiyama Y, Allakhverdiev S I. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 2007, 1767(6): 414-421.
- [5] Kapri-Pardes E, Naveh L, Adam Z. The thylakoid lumen protease Deg1 is involved in the repair of photosystem II from photoinhibition in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 2007, 19(3): 1039-1047.
- [6] Foyer C H, Noctor G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytologist*, 2000, 146(3): 359-388.
- [7] Takahashi S, Murata N. How do environmental stresses accelerate photoinhibition?. *Trends in Plant Science*, 2008, 13(4): 178-182.
- [8] Moskova I, Todorova D, Alexieva V, Ivanov S, Sergiev I. Effect of exogenous hydrogen peroxide on enzymatic and nonenzymatic antioxidants in leaves of young pea plants treated with paraquat. *Plant Growth Regulation*, 2009, 57(2): 193-202.
- [9] Foyer C H, Noctor G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*, 2005, 17(7): 1866-1875.
- [10] van Breusegem F, Dat J F. Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiology*, 2006, 141(2): 384-390.
- [11] Xu C M, Zhao B, Wang X D, Wang Y C. Lanthanum relieves salinity-induced oxidative stress in *Saussurea involucreta*. *Biologia Plantarum*, 2007, 51(3): 567-570.
- [12] Logan B A, Korniyev D, Hardison J, Holaday A S. The role of antioxidant enzymes in photoprotection. *Photosynthesis Research*, 2006, 88(2): 119-132.
- [13] Verhoeven A S, Swanberg A, Thao M, Whiteman J. Seasonal changes in leaf antioxidant systems and xanthophyll cycle characteristics in *Taxus x media* growing in sun and shade environments. *Physiologia Plantarum*, 2005, 123(4): 428-434.
- [14] Horváth E, Pál M, Szalai G, Páldi E, Janda T. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biologia Plantarum*, 2007, 51(3): 480-487.
- [15] Mahdavian K, Kalantari K M, Ghorbanli M, Torkzade M. The effects of salicylic acid on pigment contents in ultraviolet radiation stressed pepper plants. *Biologia Plantarum*, 2008, 52(1): 170-172.
- [16] Luo M H, Yuan S, Chen Y E, Liu W J, Du J B, Lei T, Wang M B, Lin H H. Effects of salicylic acid on the photosystem 2 of barley seedlings under osmotic stress. *Biologia Plantarum*, 2009, 53(4): 663-669.
- [17] Shan Y. Present situation, development trend and countermeasures of citrus industry in China. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2008, 8(1): 1-7.
- [18] Guo Y P, Zhou H F, Zeng G H, Zhang L C. Effects of high temperature stress on net photosynthetic rate and photosystem II activity in *Citrus*.

- Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(6): 867-870.
- [19] Zheng J, Guo Y P, Hu M J. Interacting effects of radiation and temperature on chlorophyll fluorescence and D1 protein in *Satsuma mandarin* plants. Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Science, 2008, 34(6): 629-634.
- [20] Hu M J, Guo Y P, Shen Y G, Guo D P, Li D Y. Midday depression of photosynthesis and effects of mist spray in *Citrus*. Annals of Applied Biology, 2009, 154(1): 143-155.
- [21] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1989, 990(1): 87-92.
- [22] Guo Y P, Guo D P, Zhou H F, Hu M J, Shen Y G. Photoinhibition and xanthophyll cycle activity in bayberry (*Myrica rubra*) leaves induced by high irradiance. Photosynthetica, 2006, 44(3): 439-446.
- [23] Lichtenthaler H K. The Kautsky effect: 60 years of chlorophyll fluorescence induction kinetics. Photosynthetica, 1992, 27: 45-55.
- [24] Govindjee. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence. Australian Journal of Plant Physiology, 1995, 22(2): 131-160.
- [25] Thordal-Christensen H, Zhang Z G, Wei Y D, Collinge D B. Subcellular localization of H₂O₂ in plants: H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. The Plant Journal, 1997, 11(6): 1187-1194.
- [26] Russell A W, Critchley C, Robinson S A, Franklin L A, Seaton G G R, Chow W S, Anderson J M, Osmond C B. Photosystem II regulation and dynamics of the chloroplast D1 protein in *Arabidopsis* leaves during photosynthesis and photoinhibition. Plant Physiology, 1995, 107(3): 943-952.
- [27] Yamamoto Y, Nishi Y, Yamasaki H, Uchida S, Ohira S. Assay of photoinhibition of photosystem II and protease activity. Photosynthesis Research Protocols, 2004, 274: 217-228.
- [28] Cai Y P, Li L, Li H S, Luo B S, Lin Y. Daily change of photosynthesis and chlorophyll fluorescence of *dendrobium huoshanense*. Acta Horticulturae Sinica, 2004, 31(6): 778-783.
- [29] Henriques F S. Leaf chlorophyll fluorescence: background and fundamentals for plant biologists. The Botanical Review, 2009, 75(3): 249-270.
- [30] Andersson B, Barber J. Mechanisms of photodamage and protein degradation during photoinhibition of photosystem II // Baker N R, ed. Photosynthesis and the Environment. Dordrecht: Kluwer Academic publishers, 1996: 101-121.
- [31] Korniyev D, Holaday A S, Logan B A. Minimization of the photon energy absorbed by 'closed' reaction centers of photosystem 2 as a photoprotective strategy in higher plants. Photosynthetica, 2004, 42(3): 377-386.
- [32] Hormaetxe K, Becerril J M, Hernández A, Esteban R, García-Plazaola J I. Plasticity of photoprotective mechanisms of *Buxus sempervirens* L. leaves in response to extreme temperatures. Plant Biology, 2007, 9(1): 59-68.
- [33] Dang N C, Zazubovich V, Reppert M, Neupane B, Picorel R, Seibert M, Jankowiak R. The CP43 proximal antenna complex of higher plant photosystem II revisited: modeling and hole burning study. The Journal of Physical Chemistry B, 2008, 112(32): 9921-9933.
- [34] Nanba O, Satoh K. Isolation of a photosystem II reaction center consisting of D-1 and D-2 polypeptides and cytochrome b-559. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1987, 84(1): 109-112.
- [35] Yamamoto Y, Akasaka T. Degradation of antenna chlorophyll-binding protein CP43 during photoinhibition of photosystem II. Biochemistry, 1995, 34(28): 9038-9045.
- [36] Qu Y G. Study of the Structure and Function Changes of CP43 and CP47 Induced by Physical and Chemical Factors (MI). Beijing: Chinese Academy of Sciences, 2006.
- [37] Nishiyama Y, Allakhverdiev S I, Yamamoto H, Hayashi H, Murata N. Singlet oxygen inhibits the repair of photosystem II by suppressing the translation elongation of the D1 protein in *Synechocystis* sp. PCC 6803. Biochemistry, 2004, 43(35): 11321-11330.
- [38] Barker M, de Vries R, Nield J, Komenda J, Nixon P J. The deg proteases protect *Synechocystis* sp. PCC 6803 during heat and light stresses but are not essential for removal of damaged D1 Protein during the photosystem two repair cycle. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(4): 30347-30355.
- [39] Komenda J, Barker M, Kuvikoffi S, De Vries R, Mullineaux C W, Tichy M, Nixon P J. The FtsH protease slr0228 is important for quality control of photosystem II in the thylakoid membrane of *Synechocystis* sp. PCC 6803. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(2): 1145-1151.
- [40] Sun Y, Xu W J, Wan A L. Effects of salicylic acid on chlorophyll fluorescence and xanthophyll cycle in cucumber leaves under high temperature and strong light. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(3): 399-402.
- [41] Ma P F, Li L H, Yang Y J, Zhao H J, Fu X J, Zhang C N. Effects of salicylic acid on D1 protein phosphorylation and PS II performance in wheat leaf chloroplasts under high temperature and high light stress. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(12): 2632-2636.
- [42] Nishiyama Y, Yamamoto H, Allakhverdiev S I, Inaba M, Yokota A, Murata N. Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery. The EMBO Journal, 2001, 20(20): 5587-5594.

参考文献:

- [17] 单杨. 中国柑橘工业的现状、发展趋势与对策. 中国食品学报, 2008, 8(1): 1-7.
- [18] 郭延平, 周慧芬, 曾光辉, 张良诚. 高温胁迫对柑橘光合速率和光系统 II 活性的影响. 应用生态学报, 2003, 14(6): 867-870.
- [19] 郑洁, 郭延平, 胡美君. 光温交互作用对柑橘植株叶绿素荧光和 D1 蛋白的影响. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2008, 34(6): 629-634.
- [28] 蔡永萍, 李玲, 李合生, 骆炳山, 林毅. 霍山石斛叶片光合速率和叶绿素荧光参数的日变化. 园艺学报, 2004, 31(6): 778-783.
- [36] 曲元刚. 理化因子诱导的 CP43 和 CP47 结构与功能变化规律的研究. 北京: 中国科学院, 2006.
- [40] 孙艳, 徐伟君, 范爱丽. 高温强光下水杨酸对黄瓜叶片叶绿素荧光和叶黄素循环的影响. 应用生态学报, 2006, 17(3): 399-402.
- [41] 马培芳, 李利红, 杨亚军, 赵会杰, 付晓记, 张超男. 水杨酸对高温强光胁迫下小麦叶绿体 D1 蛋白磷酸化及光系统 II 功能的影响. 应用生态学报, 2008, 19(12): 2632-2636.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 13 July, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Spatiotemporal variation of plant community aspections in the north-subtropical zone of eastern China	CHEN Xiaoqiu, QI Xiaoran, A Shan, et al (3559)
Seasonal variations and environmental control impacts of evapotranspiration in a hilly plantation in the mountain areas of North China	HUANG Hui, MENG Ping, ZHANG Jinsong, et al (3569)
Intra- and inter-specific variations in stem respiration for 14 temperate tree species in northeastern China	XU Fei, WANG Chuankuan, WANG Xingchang (3581)
Assessment of the ecological health of wetlands in Honghe supported by RS and GIS techniques	WANG Yihan, ZHOU Demin, SUN Yonghua (3590)
Phytoplankton community structure in Qinzhou Bay during flood season by analysis of HPLC photosynthetic pigment signatures	LAN Wenlu, WANG Xiaohui, LI Mingmin (3601)
Irreplaceability-based function zoning of nature reserves in the Three Rivers Headwater Region of Qinghai Province	QU Yi, WANG Xiulei, LUAN Xiaofeng, et al (3609)
Effects of snowmelt timing on individual growth and reproduction of <i>Pedicularis davidii</i> var. <i>pentodon</i> on the eastern Tibetan Plateau	CHEN Wennian, WU Yan, WU Ning, et al (3621)
Response of foliar $\delta^{13}\text{C}$ of <i>Quercus spinosa</i> to altitudinal gradients	FENG QiuHong, CHENG Ruimei, SHI Zuomin, et al (3629)
Soil water and nutrient characteristics of alfalfa grasslands at semi-arid and semi-arid prone to drought areas in southern Ningxia	REN Jingjing, LI Jun, WANG Xuechun, et al (3638)
Aboveground biomass of natural <i>Castanopsis fissa</i> community at the Xiaokeng of NanLing Mountain, Southern China	LI Gen, ZHOU Guangyi, WANG Xu, et al (3650)
Impacts of grazing on herbage quality of the alpine and subalpine meadows within Wutai Mountain	ZHANG Yiping, JIANG Yuan, LIU Quanru, et al (3659)
Short-term effects of warming on growth and stoichiometrical characteristics of <i>Abies fabii</i> (Mast.) Craib seedling in Gongga mountain	YANG Liudong, YANG Yan, WANG Genxu, et al (3668)
Manganese stress on morphological structures of leaf and ultrastructures of chloroplast of a manganese hyperaccumulator, <i>Phytolacca americana</i>	LIANG Wenbin, XUE Shengguo, SHEN Jihong, et al (3677)
Allelopathic potential of volatile oil from <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. on root tip cells of <i>Vicia faba</i>	HU WanJun, MA Danwei, WANG Yanan, et al (3684)
Contents and cycling of microelements in Karst urban poplar plantations	WANG Xinkai, TIAN Dalun, YAN Wende, et al (3691)
Fungal flora and population structure of polypores in the Great Xingan Mountains	CUI Baokai, YU Changjun (3700)
Growth competition characteristics of <i>Microcystis aeruginosa</i> Kutz and <i>Scenedesmus obliquus</i> (Turp.) Kutz under non-steady-state nutrient limitation	ZHAO Xiaodong, PAN Jiang, LI Jinye, et al (3710)
The characters of salt-tolerance at different growth stages in cotton	WANG Junjuan, WANG Delong, FAN Weili, et al (3720)
Assessment of tributyltin ecotoxicity using a model animal nematode <i>Caenorhabditis elegans</i>	WANG Yun, YANG Yanan, JIAN Fenglei, et al (3728)
Effect of oil exploitation on soil nematode communities in Daqing Oilfield	XIAO Nengwen, XIE Deyan, WANG Xuexia, et al (3736)
Effect of habitat degradation on soil meso- and microfaunal communities in the Zoigê Alpine Meadow, Qinghai-Tibetan Plateau	WU Pengfei, YANG Daxing (3745)
Characteristics of the soil environment of Dongting Lake wetlands and its response to the converting farmland to lake project	LIU Na, WANG Kelin, XIE Yonghong, et al (3758)
Modeling the changes of yield and deep soil water in apple orchards in Weibei rainfed highland	ZHANG Shehong, LI Jun, WANG Xuechun, et al (3767)
Potential soil N_2O emissions and its controlling factors under different land use patterns on hilly-gully loess plateau	QI Jinhua, HUANG Yimei, ZHANG Hong, et al (3778)
Comparison between physiological properties and cold tolerance under low temperature treatment during different growing stages of rice in northeast central region of China	SONG Guangshu, SUN Zhongfu, SUN Lei, et al (3788)
Effect of sulfur on chlorophyll fluorescence of flue-cured tobacco at maturation stage	ZHU Yinghua, TU Naimei, XIAO Hanqian, et al (3796)
Effects of high temperature and strong light on chlorophyll fluorescence, the D1 protein, and Deg1 protease in Satsuma mandarin, and the protective role of salicylic acid	QIU Cuihua, JI Weiwei, GUO Yanping (3802)
Effect of plastic film mulching on the distribution and translocation of nitrogen in soil-lettuce system	LI Lili, LI Feili, LIU Qiuya, et al (3811)
An analysis on spatio-temporal dynamics of suitable habitats for waterbirds based on spatial zonation at Chongming Dongtan, Shanghai	FAN Xuezhong, ZHANG Liquan, YUAN Lin, et al (3820)
The bryophyte consumed by reindeers and species diversity of bryophyte in reindeer habitats	FENG Chao, BAI Xueliang (3830)
Evaluation of rainwater runoff storage by urban green spaces in Beijing	ZHANG Biao, XIE Gaodi, XUE Kang, et al (3839)
Review and Monograph	
Advances in methane-cycling microbial communities of permafrost and their response to global change	NI Yongqing, SHI Xuwei, ZHENG Xiaoji, et al (3846)
Heat transfer property of mammal pelage and its influencing factors	ZHENG Lei, ZHANG Wei, HUA Yan (3856)

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 13 期 (2011 年 7 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 31 No. 13 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@csppg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@csppg.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