

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第7期 Vol.32 No.7 2012

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 (SHENTAI XUEBAO)

第32卷 第7期 2012年4月 (半月刊)

目 次

- 城市生态景观研究的基础理论框架与技术构架 孙然好, 许忠良, 陈利顶, 等 (1979)
拟南芥芥子酸酯对 UV-B 辐射的响应 李 敏, 王 垠, 韦晓飞, 等 (1987)
蛋白核小球藻对 Pb(II) 和 Cd(II) 的生物吸附及其影响因素 姜 晶, 李 亮, 李海鹏, 等 (1995)
梨枣在果实生长期对土壤水势的响应 韩立新, 汪有科, 张琳琳 (2004)
产业生态系统资源代谢分析方法 施晓清, 杨建新, 王如松, 等 (2012)
基于物质流和生态足迹的可持续发展指标体系构建——以安徽省铜陵市为例
..... 赵卉卉, 王 远, 谷学明, 等 (2025)
河北省县域农田生态系统供给功能的健康评价 白琳红, 王 卫, 张 玉 (2033)
温郁金内生真菌 *Chaetomium globosum* L18 对植物病原菌的抑菌谱及拮抗机理
..... 王艳红, 吴晓民, 朱艳萍, 等 (2040)
基于稳定碳同位素技术的华北低丘山区核桃-小麦复合系统种间水分利用研究
..... 何春霞, 孟 平, 张劲松, 等 (2047)
云贵高原喀斯特坡耕地土壤微生物量 C、N、P 空间分布 张利青, 彭晚霞, 宋同清, 等 (2056)
水稻根系通气组织与根系泌氧及根际硝化作用的关系 李奕林 (2066)
苹果绵蚜对不同苹果品种春梢生长期生理指标的影响 王西存, 于 耕, 周洪旭, 等 (2075)
磷高效转基因大豆对根际微生物群落的影响 金凌波, 周 峰, 姚 涓, 等 (2082)
基于 MODIS-EVI 数据和 Symlet11 小波识别东北地区水稻主要物候期
..... 徐岩岩, 张佳华, YANG Limin (2091)
基于降水利用比较分析的四川省种植制度优化 王明田, 曲辉辉, 杨晓光, 等 (2099)
气候变暖对东北玉米低温冷害分布规律的影响 高晓容, 王春乙, 张继权 (2110)
施肥对巢湖流域稻季氨挥发损失的影响 朱小红, 马中文, 马友华, 等 (2119)
丛枝菌根真菌对枳根净离子流及锌污染下枳苗矿质营养的影响 肖家欣, 杨 慧, 张绍铃 (2127)
不同 R:FR 值对菊花叶片气孔特征和气孔导度的影响 杨再强, 张 静, 江晓东, 等 (2135)
神农架海拔梯度上 4 种典型森林凋落物现存量及其养分循环动态 刘 蕾, 申国珍, 陈芳清, 等 (2142)
黄土高原刺槐人工林地表凋落物对土壤呼吸的贡献 周小刚, 郭胜利, 车升国, 等 (2150)
贵州雷公山秃杉种群生活史特征与空间分布格局 陈志阳, 杨 宁, 姚先铭, 等 (2158)
LAS 测算森林冠层上方温度结构参数的可行性 郑 宁, 张劲松, 孟 平, 等 (2166)
基于 RS/GIS 的重庆缙云山自然保护区植被及碳储量密度空间分布研究
..... 徐少君, 曾 波, 苏晓磊, 等 (2174)

- 模拟氮沉降增加对寒温带针叶林土壤 CO₂ 排放的初期影响 温都如娜,方华军,于贵瑞,等 (2185)
桂江流域附生硅藻群落特征及影响因素 邓培雁,雷远达,刘威,等 (2196)
小浪底水库排沙对黄河鲤鱼的急性胁迫 孙麓垠,白音包力皋,牛翠娟,等 (2204)
上海池塘养殖环境成本——基于双边界二分式 CVM 法的实证研究 唐克勇,杨正勇,杨怀宇,等 (2212)
稻纵卷叶螟蛾对寄主的搜索行为 周慧,张扬,吴伟坚 (2223)
农林复合系统中灌木篱墙对异色瓢虫种群分布的影响 严飞,周在豹,王朔,等 (2230)
苹果脱乙酰几丁质发酵液诱导苹果叶片对斑点落叶病的早期抗性反应
..... 王荣娟,姚允聪,戚亚平,等 (2239)

专论与综述

- 气候变化影响下海岸带脆弱性评估研究进展 王宁,张利权,袁琳,等 (2248)
外来红树植物无瓣海桑引种及其生态影响 彭友贵,徐正春,刘敏超 (2259)

问题讨论

- 城市污泥生物好氧发酵对有机污染物的降解及其影响因素 余杰,郑国砥,高定,等 (2271)
4 种绿化树种盆栽土壤微生物对柴油污染响应及对 PAHs 的修复 闫文德,梁小翠,郑威,等 (2279)

研究简报

- 云南会泽铅锌矿废弃矿渣堆常见植物内生真菌多样性 李东伟,徐红梅,梅涛,等 (2288)
南方根结线虫对不同砧木嫁接番茄苗活性氧清除系统的影响 梁朋,陈振德,罗庆熙 (2294)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 322 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 37 * 2012-04



封面图说: 站立的仓鼠——仓鼠为小型啮齿类动物,栖息于荒漠、荒漠草原等地带的洞穴之中。白天他们往往会躲在洞穴中睡觉和休息,以避开天敌的攻击,偶尔也会出来走动,站立起来警惕地四处张望。喜欢把食物藏在腮的两边,然后再走到安全的地方吐出来,由此得仓鼠之名。它们的门齿会不停的生长,所以它们的上下门齿必须不断啃食硬东西来磨牙,一方面避免门齿长得太长,妨碍咀嚼,一方面保持门牙的锐利。仓鼠以杂草种子、昆虫等为食。

彩图提供:陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201108101173

李敏, 王垠, 牟晓飞, 王洋, 阎秀峰. 拟南芥芥子酸酯对UV-B辐射的响应. 生态学报, 2012, 32(7): 1987-1994.

Li M, Wang Y, Mu X F, Wang Y, Yan X F. Response of sinapate esters in *Arabidopsis thaliana* to UV-B radiation. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(7): 1987-1994.

拟南芥芥子酸酯对UV-B辐射的响应

李敏, 王垠, 牟晓飞, 王洋, 阎秀峰*

(东北林业大学盐碱地生物资源环境研究中心, 东北油田盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室, 哈尔滨 150040)

摘要: 芥子酸酯(sinapate esters)是拟南芥和其他十字花科植物中大量存在的一类具有紫外吸收作用的羟基肉桂酸衍生物, 有研究表明其紫外吸收能力甚至强于类黄酮。以模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为实验材料, 通过施加低强度($40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$)、相对长时间(7 d)的UV-B辐射, 考察了拟南芥幼苗和成苗芥子酸酯组分(芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸)和含量及合成途径关键酶编码基因表达水平对UV-B辐射的响应。经过7 d的UV-B辐射处理, 拟南芥幼苗和成苗的芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸含量均高于对照植株, 芥子酸酯表现为响应UV-B辐射而积累。无论是幼苗还是成苗, 叶片中芥子酰苹果酸的含量都要比芥子酰葡萄糖高出一个数量级, 而且在UV-B处理过程中观察到芥子酰葡萄糖含量减少而芥子酰苹果酸含量增加, 催化芥子酰葡萄糖生成芥子酰苹果酸的芥子酰葡萄糖苹果酸转移酶编码基因的表达水平也显著提高, 说明芥子酰苹果酸在拟南芥叶片响应UV-B辐射过程中起重要作用并优先合成。另外, 拟南芥幼苗中两种芥子酸酯的含量是成苗中的数十倍之多, 芥子酸酯合成途径关键酶编码基因*fah1*和*sng1*的相对表达量也显著高于成苗。同时, 在响应UV-B辐射的过程中, 幼苗中芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸含量的变化幅度(分别是7.01%、6.05%)远远低于成苗叶片中芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸含量的变化幅度(分别是21.88%、70.63%), 这可能意味着拟南芥叶片中芥子酸酯对于UV-B辐射的防护作用, 幼苗属于组成型防御(constitutive defense), 而到成苗则转变为诱导型防御(inducible defense)。

关键词: 芥子酸酯; UV-B辐射; 拟南芥

Response of sinapate esters in *Arabidopsis thaliana* to UV-B radiation

LI Min, WANG Yin, MU Xiaofei, WANG Yang, YAN Xiufeng*

Alkali Soil Natural Environmental Science Center, Northeast Forestry University/Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration in Oil Field, Ministry of Education, Harbin 150040, China

Abstract: The impact of UV-B radiation (280 to 320 nm) at the earth's surface is predicted to increase because of the anthropogenic depletion of stratospheric ozone caused by industrial emissions of atmospheric pollutants. Plant growth and productivity are compromised by excessive UV-B because it damages DNA, RNA, and proteins. Plants are thought to employ a variety of UV-B-protective mechanisms, including accumulation of a range of secondary metabolites, which in turn affect numerous physiological functions. Sinapate esters are a group of hydroxycinnamic acid derivatives found abundant in cruciferous plants, e.g., *Arabidopsis thaliana*. One of the functions of sinapate esters is to protect plants from harmful UV irradiation. It has been suggested that sinapate esters provide greater UV-B attenuation than flavonoids. Unlike flavonoids, studies of sinapate esters UV-B absorption are rare, despite their widespread occurrence throughout the plant kingdom. In the past decades, gene-knockout mutants have provided an opportunity to study the role of sinapate esters in protecting the leaves against the deleterious effects of UV-B radiation. However, none of these studies offered insights into the profiles of the sinapate esters in the wild-type plants in response to UV-B irradiation. Here we report the profiles of sinapate esters and

基金项目: 国家自然科学基金(30670325, 30528013)

收稿日期: 2011-08-10; 修订日期: 2011-11-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xfyang@nefu.edu.cn

the expression of related genes in response to UV-B radiation ($40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) for 7 days in model plant *A. thaliana*. The seedlings were exposed to UV-B radiation at two different growth stages: young plants (1 week after planting, 2 cotyledons) and mature plants (2 week after planting, 4 rosette leaves). Chlorophyll a/b ratio, an indicator of plant damage caused by UV-B, was not significantly affected by UV-B radiation both in young and mature plants. It suggests that the intensity of UV-B used in our research is not harmful to *A. thaliana*. Results may also indicate under this UV-B radiation, plants have the ability for self-repair. Two sinapate esters were detected in *A. thaliana* leaves including sinapoylglucose (SG) and sinapoylmalate (SM). The sinapate esters were accumulated in response to 7 day UV-B exposure. The levels of sinapoylglucose and sinapoylmalate in young and mature plants were higher than those in control plants after UV-B treatment. The content of sinapoylmalate was an order of magnitude higher than sinapoylglucose in both young and mature *A. thaliana*. The proportion of sinapoylmalate increased with UV-B treatment, while the content of sinapoylglucose showed a significant decrease. The significantly higher expression of SNG1 was also observed in UV-B treated plants than in control. These results indicate that sinapoylmalate biosynthesis plays an important role in response to UV-B radiation. In addition, the contents of two sinapate esters in young plants were more than ten times higher than those in mature plants since the biosynthesis related genes, FAH1 and SNG1, showed higher expression in the young plants. Meanwhile, the amplitude of sinapoylglucose and sinapoylmalate variations in response to UV-B is substantially greater in mature plants (21.88% and 70.63% respectively) than in young plants (7.01% and 6.05% respectively). These results indicate that sinapate esters are effective UV-B protectants, which exhibit constitutive defense response in young plants and inducible defense response in mature plants.

Key Words: sinapate esters; UV-B radiation; *Arabidopsis thaliana*

近年来,地球表面UV-B辐射增强导致了严重的生态学后果^[1-2],UV-B辐射增强对植物的伤害作用以及植物防御与修复机制成为人们研究的热点。大多数学者认为,紫外吸收物质含量的诱导增加是植物应对UV-B辐射的重要防御机制^[3-6]。UV-B辐射增强诱导的植物次生代谢产物主要是酚类化合物如类黄酮、黄酮醇、花色素苷,以及烯萜类化合物如类胡萝卜素、树脂等^[7-8]。

羟基肉桂酸类物质也是广泛存在于植物体的具有UV-B吸收作用的酚类化合物^[9],它在植物应对UV-B辐射方面的重要性逐渐被人们证实^[10-13]。芥子酸酯即是一类拟南芥和其他十字花科植物中大量存在的羟基肉桂酸衍生物^[11],Sheahan等^[14]利用荧光分析技术评估了拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)类黄酮缺失突变体和芥子酸酯缺失突变体的UV-B抗性,结果表明芥子酸酯具有比类黄酮更强的UV-B吸收能力。Landry等^[11]也通过测定脂质和蛋白过氧化物、抗坏血酸过氧化物酶等指标比较了UV-B增强对两种突变体的伤害程度,证明羟基肉桂酸类物质是比类黄酮更为有效的UV-B保护物质。近年来还有工作从光合系统^[15]、芥子酸酯合成途径中酶编码基因表达^[16]等角度考察了芥子酸酯在植物应对UV-B辐射过程中的作用。

在拟南芥和其他十字花科植物中主要积累3种芥子酸酯即芥子酰葡萄糖(sinapoylglucose)、芥子酰苹果酸(sinapoylmalate)、芥子酰胆碱(sinapoylcholine),其中芥子酰胆碱只在种子的发育过程中形成,随后在种子发芽的过程中被降解^[17-19]。已有报道多是以其它指标从侧面反映芥子酸酯在植物抵抗UV-B辐射中的作用,而对各种芥子酸酯组分在UV-B辐射下的含量变化少于关注。本文考察拟南芥芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸两种芥子酸酯组分以及合成途径关键酶基因表达对UV-B辐射的响应,为深入探讨芥子酸酯在植物应对UV-B辐射过程中的作用积累基础资料。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料及培养

哥伦比亚野生型(Columbia-0 ecotype)拟南芥种子购自拟南芥生物资源中心(Arabidopsis Biological Resource Center, US)。种子消毒冲洗后播种于1/2 MS培养基中,置于4℃黑暗环境中3 d打破休眠后移入自

动控制温室中培养,温度 20—25℃,光照 $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,每天光照 16 h(6:00—22:00),空气相对湿度 50%—70%。长出 2 片子叶的幼苗和长至 4 片真叶的成苗用于实验。

1.2 UV-B 辐射处理与样品采集

参照 Hectors 等^[20]的 UV-B 辐射处理方法,在植物培养室内使用日光灯管提供正常光照,使用 Philips 公司的 UV-B 灯管(TL20W/01RS,最大波长 311 nm,波宽 20 nm)进行 UV-B 辐射处理,UV-B 灯管用 0.13 mm 厚度的醋酸纤维素膜滤除少量 UV-C,每隔 2d 更换 1 次,以保证辐照强度一致。

UV-B 处理的拟南芥幼苗(生长 1 周,2 片子叶)和成苗(生长 2 周,4 片真叶),每天在光周期(6:00—22:00)的 11:00—17:00 施以 UV-B 辐射,辐射强度 $40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 。连续处理 7 d 后,于第 8 天的 11:00(UV-B 处理前)、17:00(UV-B 处理后)、22:00(光周期结束)、第 9 天的 6:00(暗周期结束)计 4 个时间点采集叶片用于芥子酸酯和叶绿素含量测定,每个样品至少 3 个重复。于 17:00(UV-B 处理后)采集叶片用于关键酶基因表达检测。

1.3 叶绿素含量测定

用 Arnon^[21]的方法测定叶绿素含量,计算叶绿素 a/b 值。

1.4 芥子酸酯含量测定

参考 Li 等^[13]和 Baumert 等^[22]的方法提取芥子酸酯,通过对比保留时间、紫外吸收光谱(200—400 nm)和相对峰面积初步判定拟南芥叶中含有两种芥子酸酯即芥子酰葡萄糖(sinapoylglucose, SG)和芥子酰苹果酸(sinapoylmalate, SM)。使用 Agilent 1100 LC/MSD 液相和离子阱质谱联用的增强分辨扫描和中性粒子丢失扫描模式,通过分析母离子质量和相应片段峰谱完成芥子酸酯的准确鉴定。

利用 Waters 高效液相色谱(1525 梯度洗脱泵、717 自动进样器、2487 紫外检测器)以山奈酚(kaempferol)为内标测定芥子酸酯含量。Discovery C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm; Supelco 公司),流动相 A(含 0.01% 冰乙酸的超纯水)和流动相 B(乙腈,色谱纯)梯度洗脱(0→5 min, 0% B→7% B; 6 min→20 min, 7% B; 21 min→45 min, 7% B→22% B; 46 min→55 min, 22% B→100% B),流速 1.5 mL/min,进样量 20 μL,检测波长 330 nm。拟南芥幼苗和成苗的芥子酸酯样品在 330 nm 检测波长下的高效液相色谱图如图 1 所示。

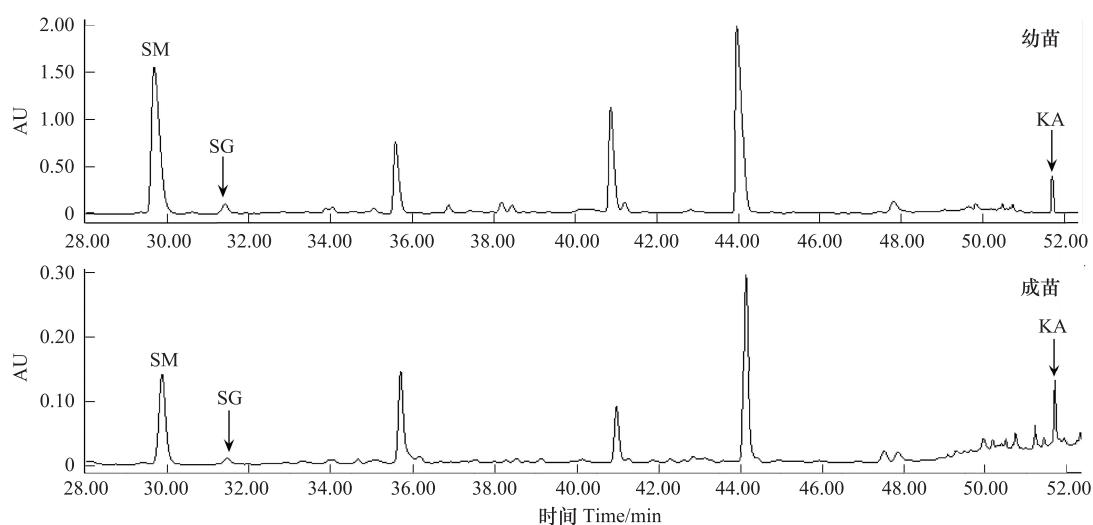


图 1 拟南芥叶片中芥子酸酯的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of sinapate esters identified in *Arabidopsis*

SM: 芥子酰苹果酸(sinapoylmalate) SG: 芥子酰葡萄糖(sinapoylglucose) KA: 山奈酚(kaempferol, 内标)

1.5 基因表达检测

采用 Real-time PCR 技术检测芥子酸酯合成途径中关键酶编码基因 *fah1* 和 *sng1* 的表达水平(以 *Actin2* 基

因为内参)。用 TRIzol 试剂(Invitrogen 公司)提取样品总 RNA。按照 TAIR 数据库提供的基因序列设计特异引物(表 1),引物均由上海生工有限公司合成。

按照宝生物(大连)有限公司生产的 Transcriptor First Strand cDNA synthesis kit 试剂盒说明书合成全长 cDNA 第一链,加去离子水稀释 10 倍作为模板,在 DNA Engine Opticon2TM 实时定量 PCR 仪上扩增。25 μL 的 PCR 反应体系中含有 2 μL 的 cDNA 模版,12.5 μL 的 SYBR Premix Ex TaqTM(2×),正向、反向引物各 0.5 μL,超纯水 9.5 μL。PCR 条件为 94℃ 60 s,94℃ 20 s,55℃ 20 s,72℃ 20 s,45 个循环,读板温度 79℃。反应结束后,采用 Dissociation Curves Software(MJ Research Inc.)软件分析溶解曲线,琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物长度以确定产物的特异性。以 *Actin2* (At3g18780) 为内参使用软件 Q-Gene 计算 *fah1* 和 *sng1* 基因的相对表达量,软件算法基于 Muller 等^[23]的公式。

表 1 实验所用引物

Table 1 Sequences of forward and reverse primers in real-time RT-PCR

基因 Gene	位点 Locus	引物序列 Primer sequences(5'—3')
<i>sng1</i>	At2g22990	F: GGTGGGTTGAAGTTGAGGTGT / R: TTGTGAGATTCTTCTGAACGAGGG
<i>fah1</i>	At4g36220	F: AGCTGACTCATGGGCTTCAGTT / R: TCGATAATATCGTCAATAAATCCGTC
<i>actin2</i>	At3g18780	F: TCCAGGAATCGTTACAGAA / R: GCTACAAAACAATGGGACTAAAA

1.6 数据处理

应用 Excel 和 SPSS 软件进行数据分析,并采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)检验对照与处理之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 叶绿素 a/b 值对 UV-B 辐射的响应

叶绿体是植物进行光合作用的重要器官,许多研究表明叶绿素 a/b 值变化与 UV-B 辐射有密切关系,并以叶绿素 a/b 值的变化来衡量植物受损害的情况^[24-26]。经过 7 d 的 UV-B 处理后,无论是拟南芥幼苗还是成苗,叶绿素 a/b 值与对照植株相比均无明显差异,只有幼苗叶绿素 a/b 值在 UV-B 处理结束时显著低于对照植株,但经光恢复、暗恢复阶段后也回复至对照水平(图 2)。这表明实验采用的 UV-B 辐射强度对拟南芥植株的伤害程度未超出植株的自我修复能力,符合实验设计要求,即在相对长期(7 d)、低强度的 UV-B 辐射下观察芥子酸酯的响应。

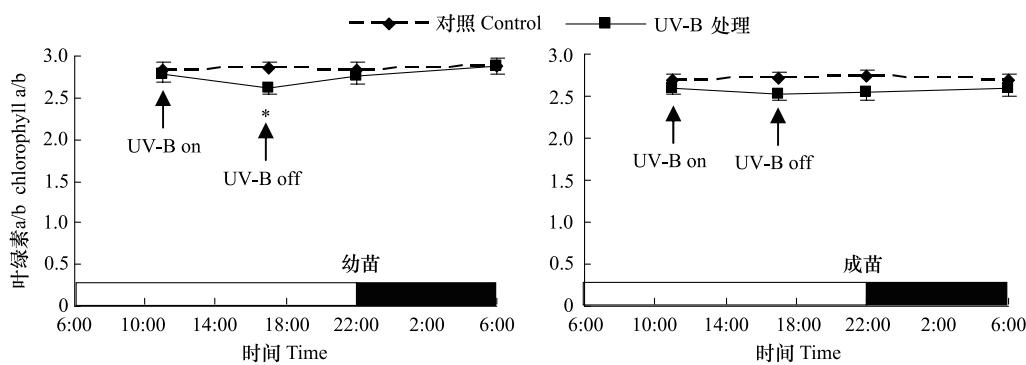


图 2 拟南芥叶绿素 a/b 值对 UV-B 辐射的响应(平均值±标准差)

Fig. 2 Influence of UV-B radiation on the chlorophyll a/b ratio change of *Arabidopsis* (mean±SD)

* 表示处理与对照差异显著($P<0.05$)

2.2 芥子酸酯含量对 UV-B 辐射的响应

拟南芥幼苗和成苗芥子酸酯含量差异很大,幼苗的芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸含量均为成苗含量的 10 倍以上。同时,无论是幼苗还是成苗,芥子酰苹果酸含量也均为芥子酰葡萄糖含量的 10 倍以上(图 3、图 4)。

经过 7 d 的 UV-B 辐射处理,拟南芥幼苗和成苗的芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸含量均高于未经 UV-B 辐射处理的植株(图 3、图 4),芥子酸酯表现为响应 UV-B 辐射而积累。

对应于 UV-B 辐射处理以及光、暗周期的转变,芥子酸酯含量呈现出一定的变化规律。在拟南芥幼苗中,一日中芥子酰葡萄糖含量的变化不是很明显(各采样点之间差异不显著),但还是表现出一定的变化趋势。UV-B 处理开始后,芥子酰葡萄糖含量趋低,在 UV-B 处理结束后的光恢复阶段回升,至光周期结束时达到 UV-B 处理前的水平,并维持到暗周期结束、新的光周期开始。而在成苗中,芥子酰葡萄糖含量的变化幅度(绝对数值)与幼苗是相近的,但由于成苗芥子酰葡萄糖的含量均远低于幼苗,因而呈现出更明显的变化趋势。芥子酰葡萄糖含量因 UV-B 处理而降低,随后在光恢复阶段升高至一日中的峰值,再经暗恢复阶段回复到 UV-B 处理前的水平(图 3)。

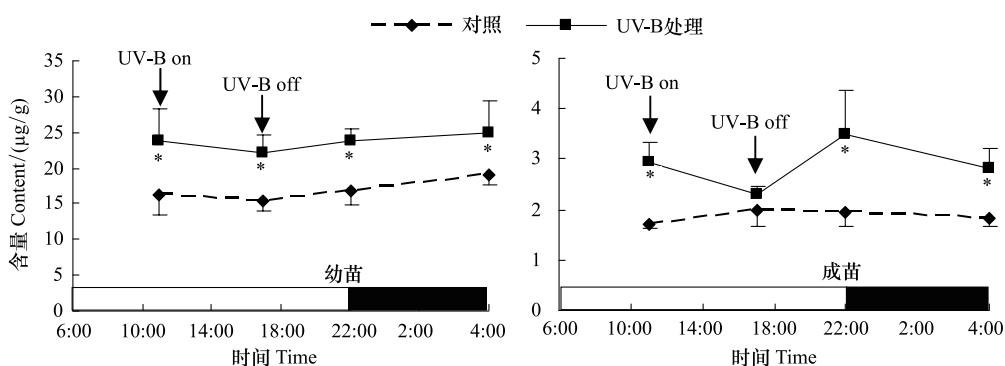


图 3 拟南芥芥子酰葡萄糖含量对 UV-B 辐射的响应(平均值±标准差)

Fig. 3 Influence of UV-B radiation on the sinapoylglucose content of *Arabidopsis* (mean±SD)

* 表示处理与对照差异显著($P<0.05$)

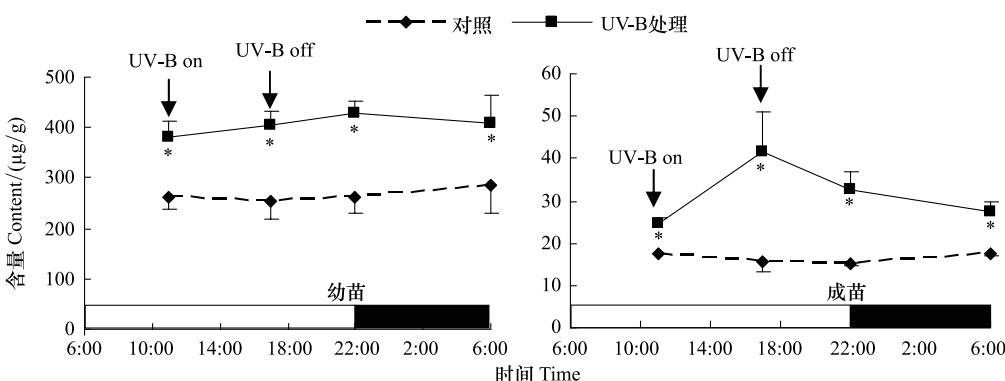


图 4 拟南芥芥子酰苹果酸含量对 UV-B 辐射的响应(平均值±标准差)

Fig. 4 Influence of UV-B radiation on the sinapoylmalate content of *Arabidopsis* (mean±SD)

* 表示处理与对照差异显著($P<0.05$)

芥子酰苹果酸含量的变化则与芥子酰葡萄糖不同。在幼苗中,UV-B 处理致使其含量趋高,并在光周期结束时达到顶峰,而后在暗恢复阶段回复至 UV-B 处理前的水平。在成苗中,UV-B 处理导致芥子酰苹果酸含量升高,而后经光恢复、暗恢复阶段持续降低至 UV-B 处理前的水平(图 4)。

2.3 芥子酸酯合成关键酶基因表达对 UV-B 辐射的响应

芥子酸酯的生物合成源于苯丙烷类化合物代谢途径,在拟南芥中已经比较清晰^[27](图 5)。在该途径中,*fah1* 基因编码的阿魏酸-5-羟化酶(F5H)是芥子酸酯合成所必需的,*fah1* 的缺失会导致植物不能合成芥子酸酯^[10, 28];*sng1* 基因编码的芥子酰葡萄糖苹果酸转移酶(SMT)则催化芥子酰葡萄糖向芥子酰苹果酸的转化^[29]。本文采用 Real-time PCR 技术检测了 UV-B 处理结束时拟南芥叶片中 *fah1* 和 *sng1* 基因的表达水平并

与对照的拟南芥进行比较,这个时间点上的基因表达水平代表着基因表达对 UV-B 处理的响应。

对应于 UV-B 处理,拟南芥幼苗、成苗叶片中 *fah1* 和 *sng1* 基因的表达水平均表现为上调趋势,除成苗叶片中的 *fah1* 外均显著高于对照植株(图 6)。*fah1* 基因表达水平的上调与拟南芥叶片中芥子酸酯特别是其中芥子酰苹果酸积累对 UV-B 辐射的响应是对应的,而 *sng1* 基因表达水平的上调与 UV-B 处理期间芥子酰葡萄糖含量降低、芥子酰苹果酸含量的增加也是对应的,这表明拟南芥叶片在响应 UV-B 辐射的过程中存在芥子酰葡萄糖向芥子酰苹果酸的转变。

3 讨论

拟南芥中芥子酸酯的组分与含量即组合模式(profile)受到生长发育的调节^[30-31]。有报道芥子酰胆碱在种子发育过程中形成并贮藏,而在种子发芽过程中降解^[22, 32]。降解形成的芥子酸(芥子酰供体)可参与合成到芥子酰葡萄糖中,又可经芥子酰葡萄糖苹果酸转移酶(SMT)作用转移到芥子酰苹果酸中^[29](图 5)。

芥子酰苹果酸通常在叶片上表皮细胞的液泡中积累,起到遮蔽 UV-B 辐射的作用^[11, 14]。这意味着植物体中具有防御 UV-B 伤害作用的芥子酸酯中,芥子酰苹果酸可能是起主要作用的组分。本实验中经 UV-B 辐

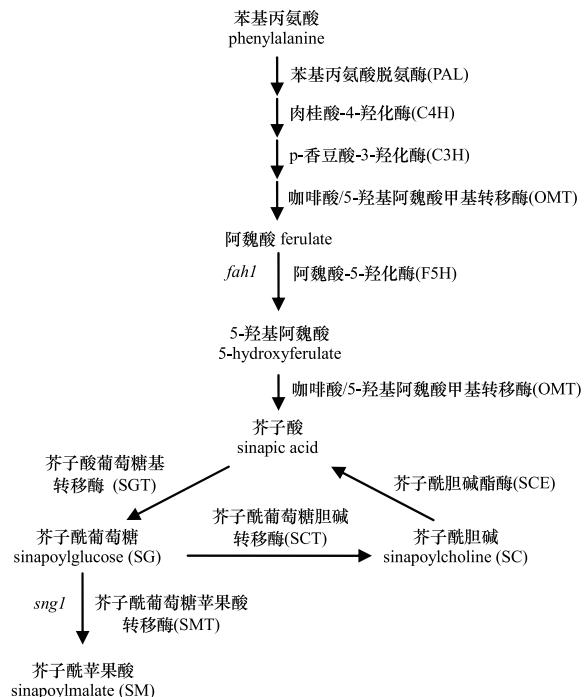


图 5 拟南芥芥子酸酯的生物合成途径(参考 Lorenzen^[18])

Fig. 5 Pathway of sinapate esters biosynthesis in *Arabidopsis*
(Refer to Lorenzen^[18])

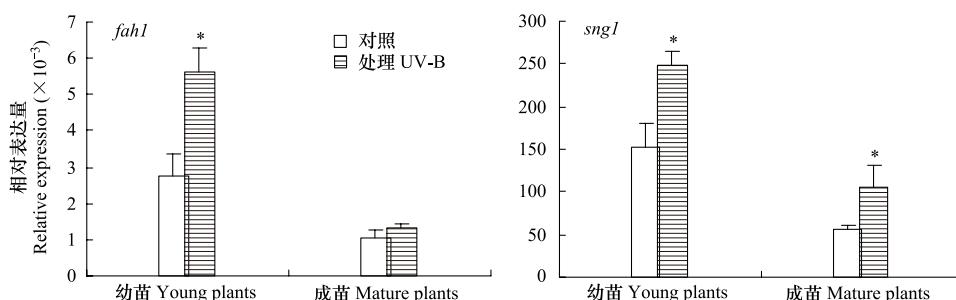


图 6 拟南芥芥子酸酯合成关键酶基因表达对 UV-B 辐射的响应(平均值±标准差)

Fig. 6 The expression profile of sinapate esters metabolism related genes in response to UV-B radiation (mean±SD)

* 表示处理与对照差异显著($P<0.05$)

射处理 7 d 的拟南芥,无论是幼苗还是成苗,叶片中芥子酰苹果酸的含量都要比芥子酰葡萄糖高一个数量级,且一日中 UV-B 辐射导致的芥子酰苹果酸含量变化幅度要大于芥子酰葡萄糖含量的变化幅度,说明芥子酰苹果酸抵御 UV-B 辐射的作用可能强于芥子酰葡萄糖。本实验也观察到拟南芥响应 UV-B 辐射过程中由芥子酰葡萄糖向芥子酰苹果酸的转化,即无论是拟南芥幼苗还是成苗,在 UV-B 处理过程中芥子酰葡萄糖减少而芥子酰苹果酸增多,并且芥子酰葡萄糖苹果酸转移酶(催化芥子酰葡萄糖转化为芥子酰苹果酸)编码基因的表达水平也显著提高,说明拟南芥在响应 UV-B 辐射过程中确实更倾向于合成芥子酰苹果酸。Lorenzen 等^[18]的工作也显示,野生型拟南芥中芥子酰苹果酸的含量是芥子酰葡萄糖含量的 10 倍,而在 *sng1* 突变体(催化芥子酰葡萄糖转化为芥子酰苹果酸的芥子酰葡萄糖苹果酸转移酶缺失)中检测不到芥子酰苹果酸,但却存在数量近等的芥子酰葡萄糖,野生型和突变体中总的芥子酸酯含量是一致的。Strack^[29]在一篇研究芥子酰葡萄糖苹果酸转移酶活性的文章中也指出,芥子酰葡萄糖在植物中的作用可能更多是提供芥子酰供体,供植物在种子

中合成芥子酰胆碱,在叶片中合成芥子酰苹果酸。

Meißner等^[16]认为,类黄酮衍生物持续地参与到长期的保护中,而芥子酰苹果酸只是在植物受到UV-B辐射初期能及时地起到保护作用。本实验中芥子酰苹果酸含量在UV-B处理过程中明显提高,经过光恢复和暗恢复阶段又回复至到UV-B处理前的水平,表明芥子酰苹果酸对UV-B辐射的响应确是一个较快的过程,能起到及时的保护作用。不过,本实验中经过7 d的UV-B辐射处理,两种芥子酸酯都有一定程度的积累,说明芥子酸酯的保护作用可能不仅仅局限于UV-B辐射的初期。

实验结果还显示,拟南芥幼苗中两种芥子酸酯的含量是成苗中的数十倍之多,同时芥子酸酯合成途径关键酶编码基因fah1和sng1的相对表达量也显著高于成苗。同时,在响应UV-B辐射的过程中,幼苗和成苗芥子酸酯含量的变化幅度也有很大差异:幼苗芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸含量的变化幅度分别是7.01%、6.05%,而成苗芥子酰葡萄糖、芥子酰苹果酸含量的变化幅度分别是21.88%、70.63%(图3、图4),远远高于幼苗。这些结果可能意味着,拟南芥芥子酸酯对于UV-B辐射的防护作用,幼苗属于组成型防御,而到成苗则转变为诱导型防御^[33-35]。

References:

- [1] Caldwell M M, Bornman J F, Ballaré C L, Flint S D, Kulandaivelu G. Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation, and interactions with other climate change factors. *Photochemical Photobiological Science*, 2007, 6(3): 252-266.
- [2] Ries G, Heller W, Puchta H, Sandermann H, Seidlitz H K, Hohn B. Elevated UV-B radiation reduces genome stability in plants. *Nature*, 2000, 406(6791): 98-101.
- [3] Bassman J H. Ecosystem consequences of enhanced solar ultraviolet radiation: Secondary plant metabolites as mediators of multiple trophic interactions in terrestrial plant communities. *Photochemistry and Photobiology*, 2004, 79(5): 382-398.
- [4] Garcia-Pichel F, Belnap J. Microenvironments and microscale productivity of cyanobacterial desert crusts. *Journal of Phycology*, 1996, 32(5): 774-782.
- [5] Casati P, Walbot V. Gene expression profiling in response to ultraviolet radiation in maize genotypes with varying flavonoid content. *Plant Physiology*, 2003, 132(4): 1739-1754.
- [6] Tsoy K, Park H B, Kim Y M, Chung J I, Shin S C, Shim H J, Lee W S, Seo H G, Lee J H, Chang K C, Kim H J. Protective effect of anthocyanins from black soybean seed coats on UVB-induced apoptotic cell death in vitro and in vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(22): 10600-10605.
- [7] Ormrod D P, Landry L G, Conklin P L. Short-term UV-B radiation and ozone exposure effects on aromatic secondary metabolite accumulation and shoot growth of flavonoid-deficient *Arabidopsis* mutants. *Physiologia Plantarum*, 1995, 93(4): 602-610.
- [8] Wang X J, Pan R C. Influence of UV-B on growth, yield and some metabolic processes in higher plants. *Plant Physiology Communications*, 1995, 31(5): 385-389.
- [9] Wintersohl U, Krause J, Napp-Zinn K. Phenylpropane derivatives in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Arabidopsis information service*, 1979, 16: 76-77.
- [10] Chapple C S, Vogt T, Ellis B E, Somerville C R. An *Arabidopsis* mutant defective in the general phenylpropanoid pathway. *The Plant Cell*, 1992, 4(11): 1413-1424.
- [11] Landry L G, Chapple C C S, Last R L. *Arabidopsis* mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced Ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant Physiology*, 1995, 109(4): 1159-1166.
- [12] Schnabl H, Weissenböck G, Sachs G, Scharf H. Cellular distribution of UV-absorbing compounds in guard and subsidiary cells of *Zea mays* L. *Journal of Plant Physiology*, 1989, 135(2): 249-252.
- [13] Li J, Ou-Lee T M, Raba R, Amundson R G, Last R L. *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. *The Plant Cell*, 1993, 5(2): 171-179.
- [14] Sheahan J J. Sinapate esters provide greater UV-B attenuation than flavonoids in *Arabidopsis Thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 1996, 83(6): 679-686.
- [15] Booij-James I S, Dube S K, Jansen M A K, Edelman M, Mattoo A K. Ultraviolet-B radiation impacts light-mediated turnover of the photosystem II reaction center heterodimer in *Arabidopsis* Mutants altered in phenolic metabolism. *Plant Physiology*, 2000, 124(3): 1275-1284.
- [16] Meißner D, Albert A, Böttcher C, Strack D, Milkowski C. The role of UDP-glucose: hydroxycinnamate glucosyltransferases in phenylpropanoid

- metabolism and the response to UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 2008, 228(4): 663-674.
- [17] Strack D. Sinapine as a supply of choline for the biosynthesis of phosphatidylcholine in *Raphanus sativus* seedlings. *Zeitschrift fuer Naturforschung, Section C, Biosciences*, 1981, 36c: 215-221.
- [18] Lorenzen M, Racicot V, Strack D, Chapple C. Sinapic acid ester metabolism in wild type and a sinapoylglucose-accumulating mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 1996, 112(4): 1625-1630.
- [19] Milkowski C, Baumert A, Schmidt D, Nehlin L, Strack D. Molecular regulation of sinapate ester metabolism in *Brassica napus*: expression of genes, properties of the encoded proteins and correlation of enzyme activities with metabolite accumulation. *The Plant Journal*, 2004, 38(1): 80-92.
- [20] Hectors K, Prinsen E, De Coen W, Jansen M A K, Guisez Y. *Arabidopsis thaliana* plants acclimated to low dose rates of ultraviolet B radiation show specific changes in morphology and gene expression in the absence of stress symptoms. *New Phytologist*, 2007, 175(2): 255-270.
- [21] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in *Beet vulgaris*. *Plant Physiology*, 1949, 24(1): 1-15.
- [22] Baumert A, Milkowski C, Schmidt J, Nimitz M, Wray V, Strack D. Formation of a complex pattern of sinapate esters in *Brassica napus* seeds, catalysed by enzymes of a serine carboxypeptidase-like acyltransferase family? *Phytochemistry*, 2005, 66(11): 1334-1345.
- [23] Muller P Y, Janovjak H, Miserez A R, Dobbie Z. Processing of gene expression data generated by quantitative real-time RT-PCR. *Biotechniques*, 2002, 32(6): 1372-1374, 1376, 1378-1379.
- [24] Zi X N, Qiang J Y, Chen Z Y, Guo S C. Influence of UVB radiation on the chlorophyll change of *Primula henryi*. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(3): 587-591.
- [25] Lin W X, Wu X C, Liang Y Y, Chen F Y, Guo Y C. Effects of enhanced UV-B radiation stress on kinetics of chlorophyll fluorescence in rice *Coryza sativa* L. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2002, 10(1): 8-12.
- [26] Hou F J, Ben G Y, Yan J Y, Han F, Shi S B, Wei J. Effects of supplement ultraviolet(UV) radiation on the growth and photosynthesis of soybean growing in the field. *Acta Phytoecologica Sinica*, 1998, 22(3): 256-261.
- [27] Wang Y M, Cao T, Feng Y, Chai Y R. Construction of RNAi vector of *Brassica napus* MYB4 gene. *Crops*, 2010(2): 23-27.
- [28] Ruegger M, Meyer K, Cusumano J C, Chapple C. Regulation of Ferulate-5-Hydroxylase expression in *Arabidopsis* in the context of sinapate ester biosynthesis. *Plant Physiology*, 1999, 119(1): 101-110.
- [29] Strack D. Development of 1-O-sinapoyl- β -D-glucose: L-malate sinapoyltransferase activity in cotyledons of red radish (*Raphanus sativus* L. var. *sativus*). *Planta*, 1982, 155(1): 31-36.
- [30] Strack D. Sinapic acid ester fluctuations in cotyledons of *Raphanus sativus*. *Zeitschrift fuer Pflanzenphysiologie*, 1977, 84(2): 139-145.
- [31] Mock H P, Vogt T, Strack D. Sinapoylglucose: malate sinapoyltransferase activity in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica rapa*. *Zeitschrift fuer Naturforschung, Section C, Biosciences*, 1992, 47(9/10): 680-682.
- [32] Strack D, Nurmann G, Sachs G D. Sinapine esterase. Part II. Specificity and change of sinapine esterase activity during germination of *Raphanus sativus*. *Zeitschrift fuer Naturforschung, Section C, Biosciences*, 1980, 35c(11/12): 963-966.
- [33] Feys B J, Parker J E. Interplay of signaling pathways in plant disease resistance. *Trends in Genetics*, 2000, 16(10): 449-455.
- [34] Genoud T, Métraux J P. Crosstalk in plant cell signaling: structure and function of the genetic network. *Trends in Plant Science*, 1999, 4(12): 503-507.
- [35] Ton J, Van Pelt J A, Van Loon L C, Pieterse C M J. Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, 15(1): 27-34.

参考文献:

- [8] 王小菁, 潘瑞炽. UV-B 对高等植物生长和产量及某些生理代谢过程的影响. *植物生理学通讯*, 1995, 31(5): 385-389.
- [24] 詹先能, 强继业, 陈宗瑜, 郭世昌. UV-B 辐射对云南报春花叶绿素含量变化的影响. *农业环境科学学报*, 2006, 25(3): 587-591.
- [25] 林文雄, 吴杏春, 梁义元, 陈芳育, 郭玉春. UV-B 辐射胁迫对水稻叶绿素荧光动力学的影响. *中国生态农业学报*, 2002, 10(1): 8-12.
- [26] 侯扶江, 贲桂英, 颜景义, 韩发, 师生波, 魏捷. 田间增加紫外线(UV)辐射对大豆幼苗生长和光合作用的影响. *植物生态学报*, 1998, 22(3): 256-261.
- [27] 王玉明, 曹廷, 冯瑜, 柴友荣. 甘蓝型油菜 MYB4 基因 RNA 干扰载体构建. *作物杂志*, 2010, (2): 23-27.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.32 ,No.7 April ,2012(Semimonthly)

CONTENTS

Theoretical framework and key techniques of urban ecological landscape research	SUN Ranhao,XU Zhongliang, CHEN Liding, et al (1979)
Response of sinapate esters in <i>Arabidopsis thaliana</i> to UV-B radiation	LI Min, WANG Yin, MU Xiaofei, et al (1987)
Biosorption of lead (II) and cadmium (II) from aqueous solution by <i>Chlorella pyrenoidosa</i> and its influential factors	JIANG Jing, LI Liang, LI Haipeng, et al (1995)
Response of pear jujube trees on fruit development period to different soil water potential levels	HAN Lixin, WANG Youke, ZHANG Linlin (2004)
An approach for analyzing resources metabolism of industrial ecosystems	SHI Xiaoqing, YANG Jianxin, WANG Rusong, et al (2012)
Establishment of environmental sustainability assessment indicators based on material flow and ecological footprint model in Tongling City of Anhui Province	ZHAO Huihui, WANG Yuan, GU Xueming, et al (2025)
Health status evaluation of the farmland supply function at county level in Hebei Province	BAI Linhong, WANG Wei, ZHANG Yu (2033)
Inhibition effects and mechanisms of the endophytic fungus <i>Chaetomium globosum</i> L18 from <i>Curcuma wenyujin</i>	WANG Yanhong, WU Xiaomin, ZHU Yanping, et al (2040)
Water use of walnut-wheat intercropping system based on stable carbon isotope technique in the low hilly area of North China	HE Chunxia, MENG Ping, ZHANG Jinsong, et al (2047)
Spatial heterogeneity of soil microbial biomass carbon, nitrogen, and phosphorus in sloping farmland in a karst region on the Yunnan-Guizhou Plateau	ZHANG Liqing, PENG Wanxia, SONG Tongqing, et al (2056)
Relationship among rice root aerechyma, root radial oxygen loss and rhizosphere nitrification	LI Yilin (2066)
Effects of <i>Eriosoma lanigerum</i> (Hausmann) on physiological indices of different apple cultivars	WANG Xicun, YU Yi, ZHOU Hongxu, et al (2075)
Effects of P-efficient transgenic soybean on rhizosphere microbial community	JIN Lingbo, ZHOU Feng, YAO Juan, et al (2082)
Detecting major phenological stages of rice using MODIS-EVI data and Symlet11 wavelet in Northeast China	XU Yanyan, ZHANG Jiahua, YANG Limin (2091)
Cropping system optimization based on the comparative analysis of precipitation utilization in Sichuan Province	WANG Mingtian, QU Huihui, YANG Xiaoguang, et al (2099)
The impacts of global climatic change on chilling damage distributions of maize in Northeast China	GAO Xiaorong, WANG Chunyi, ZHANG Jiquan (2110)
Effect of fertilization on ammonia volatilization from paddy fields in Chao Lake Basin	ZHU Xiaohong, MA Zhongwen, MA Youhua, et al (2119)
Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on net ion fluxes in the roots of trifoliolate orange (<i>Poncirus trifoliata</i>) and mineral nutrition in seedlings under zinc contamination	XIAO Jiaxin, YANG Hui, ZHANG Shaoling (2127)
The effect of red:far red ratio on the stomata characters and stomata conductance of <i>Chrysanthemum</i> leaves	YANG Zaiqiang, ZHANG Jing, JIANG Xiaodong, et al (2135)
Dynamic characteristics of litterfall and nutrient return of four typical forests along the altitudinal gradients in Mt. Shennongjia, China	LIU Lei, SHEN Guozhen, CHEN Fangqing, et al (2142)
Aboveground litter contribution to soil respiration in a black locust plantation in the Loess Plateau	ZHOU Xiaogang, GUO Shenli, CHE Shengguo, et al (2150)
Life history and spatial distribution of a <i>Taiwania flousiana</i> population in Leigong Mountain, Guizhou Province, China	CHEN Zhiyang, YANG Ning, YAO Xianming, et al (2158)
The feasibility of using LAS measurements of the turbulence structure parameters of temperature above a forest canopy	ZHENG Ning, ZHANG Jinsong, MENG Ping, et al (2166)
Spatial distribution of vegetation and carbon density in Jinyun Mountain Nature Reserve based on RS/GIS	XU Shaojun, ZENG Bo, SU Xiaolei, et al (2174)
Early nitrogen deposition effects on CO ₂ efflux from a cold-temperate coniferous forest soil	WENDU Runa, FANG Huajun, YU Guirui, et al (2185)
Epilithic diatom assemblages distribution in Gui River basin, in relation to chemical and physiographical factors	DENG Peiyan, LEI Yuanda, LIU Wei, et al (2196)
Acute stress caused by sand discharging on Yellow River Carp (<i>Cyprinus carpio</i>) in Xiaolangdi Reservoir	SUN Luyin, Baiyinbaogao, NIU Cuijuan, et al (2204)
Environmental cost of pond aquaculture in Shanghai: an empirical analysis based on double-bounded dichotomous CVM method	TANG Keyong, YANG Zhengyong, YANG Huaiyu, et al (2212)
Host searching behaviour of <i>Apanteles cypris</i> Nixon (Hymenoptera: Braconidae)	ZHOU Hui, ZHANG Yang, WU Weijian (2223)
The effect of hedgerows on the distribution of <i>Harmonia axyridis</i> Pallas in agroforestry systems	YAN Fei, ZHOU Zaibao, WANG Shuo, et al (2230)
Induction of early resistance response to <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>mali</i> in apple leaves with apple and chitosan fermentation broth	WANG Rongjuan, YAO Yuncong, QI Yaping, et al (2239)
Review and Monograph	
Research into vulnerability assessment for coastal zones in the context of climate change	WANG Ning, ZHANG Liquan, YUAN Lin, et al (2248)
Introduction and ecological effects of an exotic mangrove species <i>Sonneratia apetala</i>	PENG Yougui, XU Zhengchun, LIU Minchao (2259)
Discussion	
Degradation of organic contaminants with biological aerobic fermentation in sewage sludge dewatering and its influencing factors	YU Jie, ZHENG Guodi, GAO Ding, et al (2271)
Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using four greening tree species	YAN Wende, LIANG Xiaocui, ZHENG Wei, et al (2279)
Scientific Note	
Diversity of endophytic fungi from six dominant plant species in a Pb-Zn mine wasteland in China	LI Dongwei, XU Hongmei, MEI Tao, et al (2288)
Effects of <i>Meloidogyne incognita</i> on scavenging system of reactive oxygen species in tomato seedlings grafted with different rootstocks	LIANG Peng, CHEN Zhende, LUO Qingxi (2294)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 32 卷 第 7 期 (2012 年 4 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 7 2012

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
主 管 中国科学技术协会
主 办 中国生态学学会
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

Editor-in-chief FENG Zong-Wei
Supervised by China Association for Science and Technology
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:1000717

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 1000717, China

印 刷 北京北林印刷厂
行 书 学 出 版 社
地址:东黄城根北街 16 号
邮政编码:100717
电话:(010)64034563

Printed by Beijing Bei Lin Printing House,
Beijing 100083, China
Distributed by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North
Street, Beijing 100717, China

订 购 全国各地邮局
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

Domestic All Local Post Offices in China
Foreign China International Book Trading
Corporation
Add: P. O. Box 399 Beijing 100044, China

广 告 经 营 京海工商广字第 8013 号
许 可 证

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q
07>


9 771000093125

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