

ISSN 1000-0933

CN 11-2031/Q

生态学报

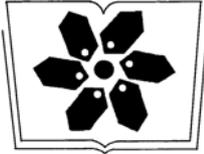
Acta Ecologica Sinica



第34卷 第5期 Vol.34 No.5 **2014**

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 34 卷 第 5 期 2014 年 3 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 干旱指标研究进展..... 李柏贞,周广胜 (1043)
- 气候变化对作物矿质元素利用率影响研究进展..... 李堃清,吴正云,张 强,等 (1053)
- 森林生态系统中植食性昆虫与寄主的互作机制、假说与证据 曾凡勇,孙志强 (1061)
- 线虫区系分析指示土壤食物网结构和功能研究进展..... 陈云峰,韩雪梅,李钰飞,等 (1072)
- 中国省际水足迹强度收敛的空间计量分析 赵良仕,孙才志,郑德凤 (1085)
- 高原河谷城市植被时空变化及其影响因素——以青海省西宁市为例..... 高 云,谢苗苗,付梅臣,等 (1094)
- 土地利用和环境因子对表层土壤有机碳影响的尺度效应——以陕北黄土丘陵沟壑区为例.....
..... 赵明月,赵文武,钟莉娜 (1105)
- 赤子爱胜蚓和毛利远盲蚓对添加造纸污泥土壤的化学和生物学特征的影响.....
..... 陈旭飞,张 池,戴 军,等 (1114)

个体与基础生态

- 钾与信号抑制剂对外生菌根真菌分泌乙酸的调控作用..... 杨红军,李 勇,袁 玲,等 (1126)
- 砷诱导蚕豆气孔保卫细胞死亡的毒性效应..... 薛美昭,仪慧兰 (1134)
- 石油污染土壤中苯酚降解菌 ad049 的鉴定及降解特性..... 胡 婷,谷 洁,甄丽莎,等 (1140)
- 紫花苜蓿对铜胁迫生理响应的傅里叶变换红外光谱法研究..... 付 川,余顺慧,黄怡民,等 (1149)
- 播种期对晚季稻香气 2-乙酰-1-吡咯啉含量和产量的影响 杨晓娟,唐湘如,闻祥成,等 (1156)
- 外源钙(Ca)对毛葱耐镉(Cd)胁迫能力的影响 王巧玲,邹金华,刘东华,等 (1165)
- 基于植被指数的北京军都山荆条灌丛生物量反演研究..... 高明亮,官兆宁,赵文吉,等 (1178)
- 三种暖季型草坪草对二氧化硫抗性的比较..... 李 西,王丽华,刘 尉,等 (1189)
- 恩施烟区无翅桃蚜在烤烟田空间动态的地统计学分析..... 夏鹏亮,王 瑞,王昌军,等 (1198)
- 啮齿动物捕食和搬运蒙古栎种子对种群更新的影响..... 张晶虹,刘丙万 (1205)
- 高原鼠兔有效洞穴密度对高寒草甸优势植物叶片和土壤氮磷化学计量特征的影响.....
..... 李倩倩,赵 旭,郭正刚 (1212)
- 光、温限制后铜绿微囊藻和斜生栅藻的超补偿生长与竞争效应..... 谢晓玲,周 蓉,邓自发 (1224)

种群、群落和生态系统

- 人工巢箱繁殖鸟类主要巢捕食者及其影响因素..... 张 雷,李东来,马锐强,等 (1235)
- 泉州湾埭埔潮间带大型底栖动物群落的时空分布..... 卓 异,蔡立哲,郭 涛,等 (1244)

- 不同尺度因子对滦河流域大型底栖无脊椎动物群落的影响…………… 张海萍,武大勇,王赵明,等 (1253)
- 呼兰河湿地夏、秋两季浮游植物功能分组演替及其驱动因子…………… 陆欣鑫,刘 妍,范亚文 (1264)
- 江西桃红岭国家级自然保护区梅花鹿生境适宜性评价…………… 李 佳,李言阔,缪沪君,等 (1274)

景观、区域和全球生态

- 中国自然保护综合地理区划…………… 郭子良,崔国发 (1284)
- 近 10 年来蒙古高原植被覆盖变化对气候的响应 …………… 缪丽娟,蒋 冲,何 斌,等 (1295)
- 人类活动与气候变化对洪湖春旱的影响 …………… 刘可群,梁益同,周金莲,等 (1302)
- 2000—2010 年武汉市中心城区湖泊景观变化 …………… 淡永利,王宏志,张 欢,等 (1311)

资源与产业生态

- 三江源区冬虫夏草资源适宜性空间分布…………… 李 芬,吴志丰,徐 翠,等 (1318)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 282 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 30 * 2014-03



封面图说: 插秧季节的桂西——2009—2011 年,我国广西、云南、贵州、四川、重庆等西南地区遭受了百年不遇的特大旱灾,其中广西西北部、云南大部、贵州西部等石漠化地区最为严重,农作物大面积绝收,千百万人和大牲畜饮水困难,这种危害是巨大的、现实的。从对 2009—2011 年我国西南地区旱灾程度及其对植被净初级生产力影响结果显示:2009—2011 年西南地区年均降水量和湿润指数明显低于 1980—2008 年均值,植被净初级生产力低于 2001—2008 年均值,造成的碳损失约占我国总碳汇的 7.91%。全球气候变暖给大气环流提供了动力,也造成了许多极端灾害天气,因此如何应对气候变化形势显得更加紧迫。

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

DOI: 10.5846/stxb201210171445

薛美昭, 仪慧兰. 砷诱导蚕豆气孔保卫细胞死亡的毒性效应. 生态学报, 2014, 34(5): 1134-1139.

Xue M Z, Yi H L. Arsenic induces guard cell death in leaf epidermis of *Vicia faba*. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(5): 1134-1139.

砷诱导蚕豆气孔保卫细胞死亡的毒性效应

薛美昭, 仪慧兰*

(山西大学生命科学学院, 太原 030006)

摘要: 采用蚕豆 (*Vicia faba* L.) 叶面气孔保卫细胞, 研究砷对细胞的毒性效应。结果表明, 0.3—10 mg/L 的 NaAsO₂ 能降低保卫细胞活性, 使部分细胞死亡, 死亡率随砷浓度升高而增高。死细胞中呈现核固缩、核崩解等典型程序性死亡特征, 且泛 caspase 抑制剂 Z-Asp-CH₂-DCB 能阻止 NaAsO₂ 诱发的细胞死亡。过氧化氢清除剂过氧化氢酶与 NaAsO₂ 共同作用时, 细胞死亡率显著低于砷单独处理组, 保卫细胞内 Ca²⁺ 水平降低, 具程序性死亡特征的细胞数减少; Ca²⁺ 特异性螯合剂 EGTA 亦能降低 NaAsO₂ 诱发的细胞死亡。研究结果表明, NaAsO₂ 能诱发蚕豆保卫细胞程序性死亡, 该过程由胁迫引发的 ROS 升高引起, ROS 可能通过激活质膜 Ca²⁺ 通道, 使胞外 Ca²⁺ 内流, 造成胞内 Ca²⁺ 浓度升高, 进而诱导细胞程序性死亡。

关键词: 蚕豆保卫细胞; NaAsO₂; 程序性细胞死亡; ROS; Ca²⁺

Arsenic induces guard cell death in leaf epidermis of *Vicia faba*

XUE Meizhao, YI Huilan*

School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Arsenic is a highly toxic metalloid for all forms of life including plants. Arsenic enters in plants through phosphate transporters as a phosphate analogue or through aquaglycoporins. Uptake of arsenic in plant tissues can affect plant metabolism, causing various physiological disorders, structural abnormalities and even plant death. Oxidative stress is considered to be a key mechanism of arsenic toxicity.

In this study, the effect of sodium arsenite (NaAsO₂) on guard cell viability was investigated in detached epidermis of *V. faba* leaves. Epidermal strips were obtained from 4-week-old plants by peeling off the lower epidermis of *V. faba* leaves and incubated in 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid (MES) buffer containing some chemicals (NaAsO₂ with or without some antagonists) for 3 h in white light at 23 °C as the treatments. After treatment, the epidermal strips were stained with fluorescein diacetate (FDA) to show cell viability, or with 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) and fluo-3 acetomethoxyester (Fluo-3AM) respectively to indicate intracellular reactive oxygen species (ROS) and calcium ion (Ca²⁺) levels.

The results of our experiments showed that NaAsO₂ treatment significantly decreased cell viability and induced cell death in the concentration range of 0.3 to 10 mg/L. Arsenic provokes synchronous increases in cell death rate and intracellular levels of ROS and Ca²⁺ in *V. faba* guard cells. The typical nuclear morphological changes including nuclear fragmentation and nuclear condensation were observed in As-treated guard cells, while Z-Asp-2, 6-dichlorobenzoyloxymethylketone (Z-Asp-CH₂-DCB), a specific inhibitor of mammalian caspases, significantly blocked As-induced cell death. The occurrence of characteristic features of programmed cell death (PCD) and the inhibitory effect of

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30870454, 30470318); 教育部高等学校博士学科点基金项目 (20070108007, 20121401110007); 山西省回国留学人员科研资助项目 (2012013)

收稿日期: 2012-10-17; **修订日期:** 2013-04-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yihl@sxu.edu.cn

caspace inhibitor Z-Asp-CH₂-DCB on As-induced cell death suggest the activation of a PCD pathway evoked by arsenic exposure. Application of antioxidant catalase significantly inhibited As-induced cell death, PCD-to-total-cells ratio and intracellular Ca²⁺ increase provoked by arsenic. A specific Ca²⁺ chelator ethylene glycol tetraacetic acid also significantly decreased the cell death caused by arsenic. These results clearly demonstrated that arsenic induced cell death associated with obvious increases in intracellular ROS and Ca²⁺ levels, in which ROS positively regulated intracellular Ca²⁺ level. ROS generation and intracellular Ca²⁺ level increase in As-treated stomatal guard cells were involved in the process of As-induced cell death. The results of the present study indicate that arsenite induced guard cell death via a PCD pathway through ROS mediating Ca²⁺ elevation.

Key Words: *V. faba* guard cells; NaAsO₂; programmed cell death; ROS; Ca²⁺

砷(As)是一种广泛存在于自然界中的类金属元素,通常以极低浓度存在于人类生存环境中,不会对生物造成危害。近年来,随着砷化物在工、农、医药业中的大量使用,含砷矿石的开采和冶炼,含砷废水、废渣的不合理排放,以及地下水的不合理开采,导致很多地区大气、土壤和水体砷污染^[1]。

环境中较高浓度的砷可使植物叶面蒸腾速率下降,抑制根部向地上部分水分供给^[2];能降低叶绿素含量,破坏叶绿体膜结构及光合系统,从而降低光合速率^[3]。砷可通过主动或被动方式进入植物体内,影响植株生理过程^[4],引起作物减产,严重时导致植株死亡^[5]。由于砷与磷结构类似,砷能通过质膜上的磷转运通道进入植物细胞内,从而干扰磷的代谢过程,影响细胞能量代谢;砷可与胞内酶和组织蛋白中的巯基反应,致蛋白结构异常、多种酶促反应受阻^[6]。砷胁迫时,植物抗氧化防御系统被激活,抗氧化酶如过氧化物歧化酶、过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶等活性提高,非酶抗氧化物质如抗坏血酸、谷胱甘肽、维生素E等含量增加,以维持胞内氧化还原平衡;体内解毒系统中的植物络合素、金属硫蛋白和谷胱甘肽硫转移酶以及蛋白和非蛋白巯基均能与砷结合,发挥解毒作用^[6-7]。但较高浓度砷暴露时植株难以适应,产生毒性效应。氧化胁迫是目前公认的砷毒性作用机制:无机砷可诱发植物体内超氧阴离子(O₂⁻),羟基自由基(·OH)和过氧化氢(H₂O₂)的生成,这些活性氧(Reactive oxygen species, ROS)分子能破坏细胞膜及胞内生物大分子如膜脂、蛋白和核苷酸^[8],进而影响细胞和分子的结构与功能,使细胞生理功能紊乱,细胞死亡。近期研究证实,胞内一定水平的活性氧分子具有信号分子的功能,但是砷胁迫中产生的ROS

是否参与调节胁迫诱发的植物细胞死亡未见报道,有关砷致植物细胞死亡的信号途径尚不清楚。

植物叶表面的气孔保卫细胞是研究细胞信号转导的模式系统,对环境变化反应灵敏而准确^[9-10]。前人采用蚕豆(*Vicia faba* L.)叶面气孔保卫细胞研究氰化物、铝、二氧化硫的细胞毒性效应,发现了它们对细胞的致死效应及信号途径,说明保卫细胞对环境化学物的毒性具有灵敏的反应^[11-13]。因此,本文以蚕豆气孔保卫细胞为实验模型,根据砷在植物体内多以三价砷存在的事实^[14],研究NaAsO₂对蚕豆气孔保卫细胞的致死作用,为进一步揭示砷的毒性作用机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料准备

蚕豆(*Vicia faba* L.)种子清洗后用自来水浸泡48 h,25℃湿纱布包裹催芽2—3 d,然后播种于较肥沃的营养土中。培养条件:光暗周期为14 h/10 h,温度18—25℃,光照强度240 μmol·m⁻²·s⁻¹,相对湿度40%—80%。幼苗长至4周时用于实验。

取顶端第2节完全展开的叶片,选非叶脉部位用镊子撕取其下表皮,切成长约1 cm,宽约0.5 cm的表皮条,置于含2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid(MES)的缓冲液中。MES缓冲液含50 mmol/L KCL,10 mmol/L MES,用三羟甲基氨基甲烷(Tris)调节pH值至7.0。

1.2 药物处理

用MES缓冲液配制含NaAsO₂浓度为0.1、0.3、1、3和10 mg/L的溶液作为砷处理液。缓解组采用一定浓度拮抗剂分别与NaAsO₂同时作用。MES缓

冲液作对照。每个处理用 3 个不同蚕豆植株上的叶片,将表皮条置于含不同药物的处理液中,于 23 °C 光照 3 h。

所选拮抗剂包括:0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的泛 caspase 抑制剂 (Z-Asp-2, 6-dichlorobenzoyloxymet-hylketon, Z-Asp-CH₂-DCB), 200 U/mL 的 CAT 和 1 mmol/L 的 Ca²⁺ 特异性螯合剂乙二醇双四乙酸 (ethylene glycol tetraacetic acid, EGTA)。实验中,用 NaAsO₂ 处理蚕豆表皮后,检测保卫细胞内 ROS 和 Ca²⁺ 水平,与对照组比较,以分析砷胁迫诱发的细胞死亡过程中胞内 ROS 和 Ca²⁺ 的变化;将 NaAsO₂ 和 CAT 共同作用于蚕豆表皮后,检测保卫细胞内 Ca²⁺ 水平的改变,分析 ROS 水平降低时胞内 Ca²⁺ 的变化规律^[12-13],判断砷胁迫期间 ROS 对 Ca²⁺ 的调节作用。

1.3 细胞活性检测

参照 Yi 等实验方法^[13],药物处理结束后,表皮条用 0.1 mg/L 的二乙酸荧光素 (fluorescein diacetate, FDA) 暗染 10 min,荧光显微镜下观察、拍照。统计无绿色荧光的保卫细胞(死细胞)数与观察的保卫细胞总数,计算保卫细胞死亡率。每个处理重复 3 次,每次至少观察 2000 个保卫细胞。

1.4 细胞核形态观察

药物处理后,表皮条用卡诺氏液固定 2 h, Feulgen 法染色^[15],普通光学显微镜观察。

1.5 胞内 ROS 和 Ca²⁺ 水平检测

参照 González 等实验方法^[16],药物处理后表皮条分别于 10 $\mu\text{mol/L}$ 的活性氧荧光指示剂 2', 7'-二氯荧光黄双乙酸酯 (2', 7'-dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA) 或 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ca²⁺ 荧光指示剂 fluo-3 acetomethoxyester (Fluo-3 AM) 中暗孵育 60—90 min 后,荧光显微镜(激发波长 488 nm)下观察并拍照。使用图像分析软件 Image-Pro Plus 6.0 测量每组 3 个表皮条中约 300 个细胞的荧光值,计算其平均值。将对照组荧光值计为 1,各处理组的相对荧光值为处理组荧光值与对照组的比值。

1.6 数据分析

计算每组 3 个重复实验的平均值和标准误,采用 SPSS17.0 对实验结果进行 *F* 检验后,采用 Duncan 方法进行多重比较,分析不同处理组和对照组之间的差异显著性 (* $P < 0.05$, 差异显著; ** $P < 0.01$, 差异极显著; 不同字母间差异显著, $P < 0.05$)。

2 结果

2.1 砷诱发蚕豆保卫细胞死亡

表皮条经 FDA 染色后,对照组保卫细胞发亮绿色荧光,表明细胞具有良好的活性;NaAsO₂ 处理组保卫细胞荧光亮度降低,说明胞内非特异性酯酶活性降低,不能很好地将 FDA 水解为极性荧光素分子,其中部分细胞无绿色荧光,记为死细胞。随着 NaAsO₂ 浓度的增高,死细胞比率增高。浓度为 0.3 mg/L 的 NaAsO₂ 能显著诱导蚕豆气孔保卫细胞死亡,NaAsO₂ 浓度为 1—10 mg/L 时,细胞死亡率极显著增高(图 1),其中 10 mg/L 处理组死亡率最高,达到 32.2%,比对照组增加了 3.4 倍。

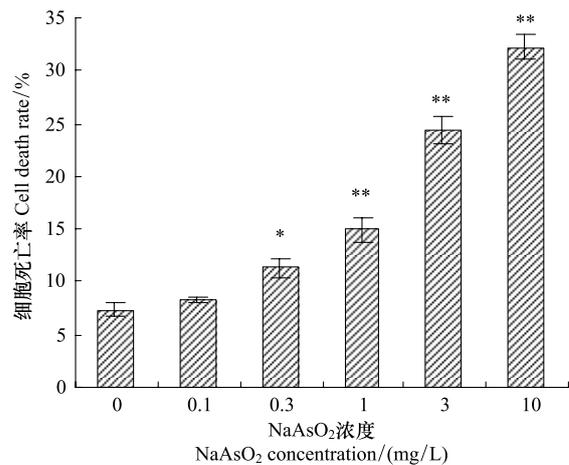


图 1 砷对蚕豆保卫细胞活性的影响

Fig. 1 Effect of arsenic on guard cell viability in detached epidermis of *V. faba* leaves

2.2 砷诱发保卫细胞程序性死亡

用 Schiff 试剂染色后,对照组保卫细胞核质均匀,砷处理组保卫细胞出现核固缩、核崩解等典型的程序性细胞死亡 (Programmed cell death, PCD) 特征(图 2),由此推测砷胁迫诱发的蚕豆保卫细胞死亡过程中可能存在细胞程序性死亡。

Caspase 是细胞程序性死亡的关键酶,本研究用 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的泛 caspase 抑制剂 Z-Asp-CH₂-DCB 分别与 3 mg/L 和 10 mg/L 的 NaAsO₂ 共同作用时,细胞死亡率显著低于砷单独处理组(图 3),即 caspase 抑制剂抑制了 NaAsO₂ 诱发的细胞死亡。该结果说明,蚕豆保卫细胞中的类 caspase 蛋白酶参与并执行了 NaAsO₂ 诱发的细胞死亡过程,砷胁迫诱发的蚕豆保卫细胞死亡过程中存在程序性细胞死亡。

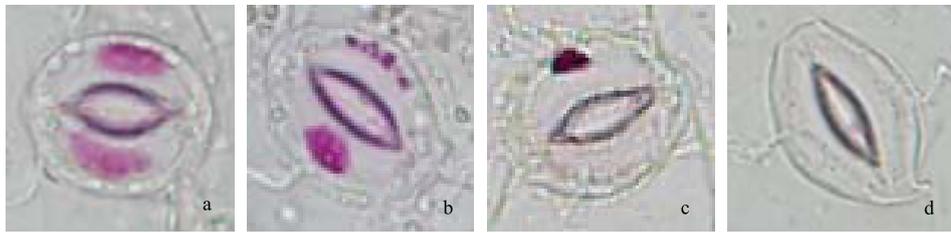


图2 砷诱发蚕豆气孔保卫细胞核形态异常($\times 200$)

Fig.2 Abnormal nucleus in *V. faba* guard cells exposed to arsenic

a: 对照; b-d: NaAsO_2 处理组; b: 核崩解; c: 核固缩; d: 核消失

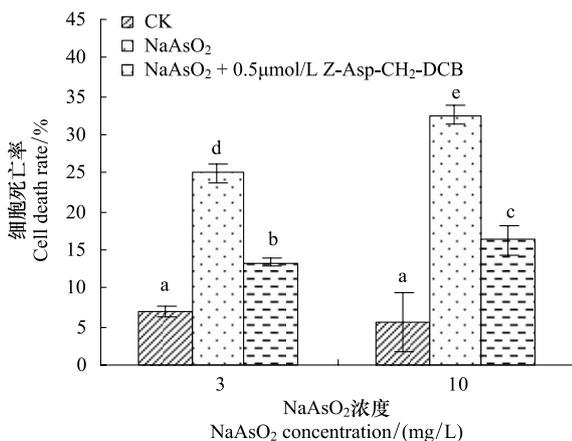


图3 泛 caspase 抑制剂对砷致蚕豆保卫细胞死亡的缓解作用

Fig.3 Antagonistic effect of caspase inhibitor on As-induced guard cell death in *V. faba*

2.3 胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平升高与砷诱发的细胞死亡有关

在砷处理液中加入抗氧化剂 CAT 或 Ca^{2+} 特异性螯合剂 EGTA 后,细胞死亡率显著降低。200 U/mL 的 CAT 或 1 mmol/L 的 EGTA 与 NaAsO_2 同时作用时,细胞死亡率显著低于砷单独处理组(图 4),说明降低砷胁迫组胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平可有效阻止砷诱发的细胞死亡,砷胁迫诱发的细胞死亡可能与胁迫引发的胞内 ROS 和 Ca^{2+} 升高有关。

为了证实砷胁迫中保卫细胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平的变化,采用特异性荧光探针标记后检测了保卫细胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平。经 ROS 探针 DCFH-DA 标记后, NaAsO_2 处理组保卫细胞 ROS 相对荧光值明显高于对照组;用 Ca^{2+} 探针 Fluo-3AM 标记后, NaAsO_2 组保卫细胞内 Ca^{2+} 相对荧光值较对照组明显升高(图 5)。结果表明, NaAsO_2 处理组保卫细胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平显著升高。

上述结果表明,砷处理组细胞死亡与胞内 ROS

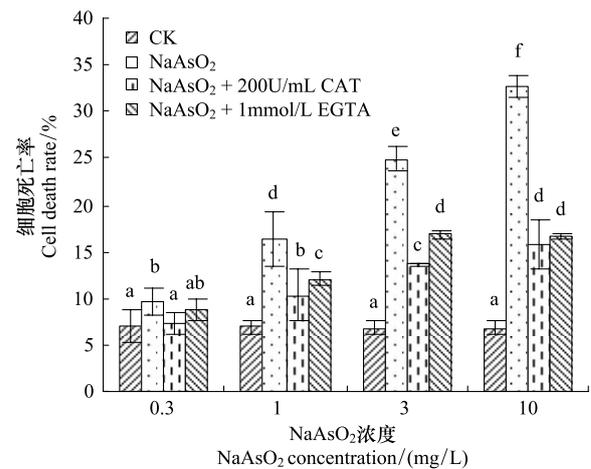


图4 CAT 和 EGTA 对砷致蚕豆保卫细胞死亡的缓解作用

Fig.4 Antagonistic effects of CAT and EGTA on As-induced guard cell death in *V. faba*

和 Ca^{2+} 水平升高同时发生,加入抗氧化剂降低胞内 ROS 或用 Ca^{2+} 特异性螯合剂减少胞外后 Ca^{2+} 内流后,保卫细胞死亡率显著下降,即胁迫组胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平增高参与介导了保卫细胞的死亡。

加入 200 U/mL 的 CAT 后,砷处理组细胞死亡率降低(图 4),具有程序性死亡特征的细胞数减少(图 6),砷诱发的胞内 Ca^{2+} 升高被抑制(图 5),表明在砷诱发蚕豆保卫细胞死亡过程中,ROS 对胞内 Ca^{2+} 水平具有正调控作用,ROS 位于 Ca^{2+} 的上游发挥作用。加入 Ca^{2+} 特异性螯合剂 EGTA 降低细胞外 Ca^{2+} 浓度,阻止胞外 Ca^{2+} 内流后,可阻止砷处理诱发的细胞死亡(图 4),说明在砷诱导细胞死亡的过程中,胞外 Ca^{2+} 内流对胞内 Ca^{2+} 水平升高和继发细胞死亡发挥了重要作用。

3 讨论

在砷的毒理学研究中以动物为材料的居多,砷对植物细胞的毒性效应研究较少,相关毒理学机制

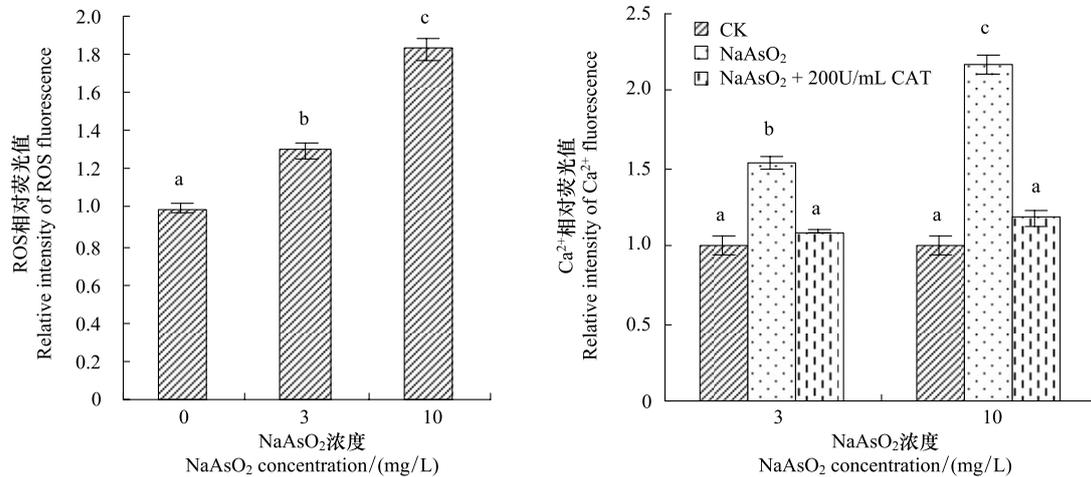


图5 砷对蚕豆保卫细胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平的影响

Fig.5 Changes of ROS and Ca^{2+} fluorescence in *V. faba* guard cells exposed to arsenic

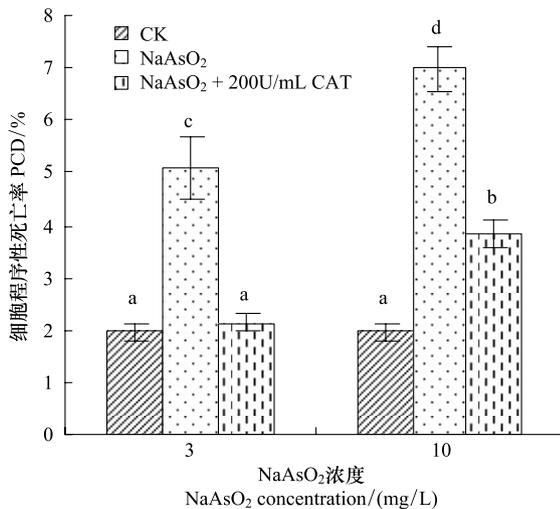


图6 CAT 对砷致蚕豆保卫细胞程序性死亡的抑制效应

Fig.6 Inhibition of CAT on PCD in *V. faba* guard cells exposed to arsenic

的研究更是少见。本文以蚕豆气孔保卫细胞为实验模型,提供了植物细胞中砷的毒性作用证据。用亚砷酸钠处理后蚕豆气孔保卫细胞活性降低并出现典型的程序性死亡特征,且泛 caspase 蛋白酶抑制剂 Z-Asp- CH_2 -DCB 能阻止砷诱发的细胞死亡,表明砷诱发的蚕豆保卫细胞死亡过程存在程序性细胞死亡。通过检测抗氧化剂 CAT 和钙离子特异性螯合剂 EGTA 对砷毒性作用的抑制效应,证实砷胁迫组胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平的提高是砷诱发植物细胞程序性死亡的诱因,该结果与砷诱发的多种动物细胞的凋亡途径类似^[17-18],表明植物细胞与动物细胞中可能存在着相似的机制。

植物细胞可通过 ROS 介导的钙信号途径而致死,过氧化氢能激活质膜上的钙离子通道,使胞外 Ca^{2+} 内流,胞内 Ca^{2+} 水平升高^[19],胞内 Ca^{2+} 浓度升高可激活 Ca^{2+} 依赖性核酸内切酶,使细胞核 DNA 在核小体连接处被切割,从而引发细胞程序性死亡。本研究发现,砷处理组 ROS 水平对胞内 Ca^{2+} 水平具正向调节作用,减少胞外 Ca^{2+} 内流后砷处理组死亡率下降,由此推测,砷胁迫产生的 ROS 可能通过激活质膜 Ca^{2+} 通道,使 Ca^{2+} 内流导致胞内 Ca^{2+} 水平升高,从而介导了细胞死亡。研究发现,砷胁迫能引起酵母细胞核崩解,蚕豆和洋葱根尖细胞氧化损伤、微核率升高,这些结果的产生与砷胁迫组 ROS 升高有关^[8,20];ROS 可直接攻击 DNA、蛋白质等生物大分子,使 DNA 分子断裂、修复酶活性降低,DNA 损伤无法及时修复。DNA 损伤能激活细胞死亡程序,引发细胞死亡^[21-22],因此,砷胁迫组蚕豆保卫细胞内 ROS 升高可能通过类似途径诱发细胞死亡。

研究表明,砷胁迫可致酵母细胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平升高,线粒体膜完整性破坏,细胞色素 c 释放,类 caspase 蛋白酶激活,引发程序性细胞死亡^[20]。因此,砷胁迫组蚕豆保卫细胞内 ROS 和 Ca^{2+} 水平升高也可能通过线粒体途径完成细胞死亡过程,通过破坏线粒体膜完整性释放细胞色素 c、凋亡诱导因子,并于胞质中形成凋亡复合体,激活类 caspase 蛋白酶,进而特异性切割下游底物,引发细胞凋亡。

气孔调节着植物和外界环境间气体与水分的交换,砷胁迫导致气孔保卫细胞活性降低或死亡会干

扰气孔正常的调节功能,影响植物的光合作用和呼吸代谢,从而干扰植株生理生化过程。但本研究观察到砷胁迫诱发的植物细胞程序性死亡,可能在植株对环境胁迫和刺激的应答过程中具有积极的意义,具体效应机制有待进一步深入研究。

References:

- [1] Garelick H, Jones H, Dybowska A, Valsami-Jones E. Arsenic pollution sources. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 197: 17-60.
- [2] Singh N, Ma L Q, Srivastava M, Rathinasabapathi B. Metabolic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Pteris vittata* L and *Pteris ensiformis* L. *Plant Science*, 2006, 170: 274-282.
- [3] Li W X, Chen T B, Huang Z C, Lei M, Liao X Y. Effect of arsenic on chloroplast ultrastructure and calcium distribution in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Chemosphere*, 2006, 62 (5): 803-809.
- [4] Stoeva N, Berova M, Zlatev Z. Effect of arsenic on some physiological parameters in bean plants. *Plantarum Biologia*, 2005, 49(2): 293-296.
- [5] Titah H S, Abdullah S R S, Idris M, Anuar N, Basri H, Mukhlisin M. Arsenic range finding phytotoxicity test against *Ludwigia octovalvis* as first step in phytoremediation. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 2012, 6(4): 151-159.
- [6] Malik J A, Goel S, Kaur N, Sharma S, Singh I, Nayyar H. Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, 77: 242-248.
- [7] Sharma I. Arsenic induced oxidative stress in plants. *Biologia*, 2012, 67(3): 447-453.
- [8] Wu L H, Yi H L, Yi M. Assessment of arsenic toxicity using *Allium/Vicia* root tip micronucleus assays. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 176(1/3): 952-956.
- [9] Hetherington A M. Guard cell signaling. *Cell*, 2001, 107(6): 711-714.
- [10] Schroeder J I, Allen G J, Hugouvieux V, Kwak J M, Waner D. Guard cell signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001, 52: 627-658.
- [11] Samuilov V D, Kiselevshy D B, Sinityn S V, Shestak A A, Lagunova E M, Nesov A V. H₂O₂ intensifies CN⁻-induced apoptosis in pea leaves. *Biochemistry*, 2006, 71(4): 384-394.
- [12] Liu X, Yi H L. Aluminum induces apoptosis in *Vicia faba* guard cells. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(9): 1659-1664.
- [13] Yi H L, Yin J J, Liu X, Jing X Q, Fan S H, Zhang H F. Sulfur dioxide induced programmed cell death in *Vicia* guard cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, 78: 281-286.
- [14] Zhu Y G, Rosen B P. Perspectives for genetic engineering for the phytoremediation of arsenic-contaminated environments: from imagination to reality? *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, 20(2): 220-224.
- [15] Yang H M. *Experiment of Cell Biology*. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 1997: 75-76.
- [16] González A, de los Cabrera M, Henríquez M J, Contreras R A, Morales B, Moenne A. Cross talk among calcium, hydrogen peroxide, and nitric oxide and activation of gene expression involving calmodulins and calcium-dependent protein kinases in *Ulva compressa* exposed to copper excess. *Plant Physiology*, 2012, 158(3): 1451-1462.
- [17] Han Y H, Moon H J, You B R, Kim S Z, Kim S H, Park W H. Effects of arsenic trioxide on cell death, reactive oxygen species and glutathione levels in different cell types. *International Journal of Molecular Medicine*, 2010, 25(1): 121-128.
- [18] Das J, Ghosh J, Manna P, Sil P C. Protective role of taurine against arsenic-induced mitochondria-dependent hepatic apoptosis via the inhibition of PKC δ -JNK pathway. *PLoS One*, 2010, 5(9): e12602.
- [19] Pei Z M, Murata Y, Benning G, Thomine S, Allen G J, Grill E, Schroeder J I. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature*, 2000, 406(6797): 731-734.
- [20] Wu L H. *Mechanism of Sodium Arsenite-Induced Cell Death*[D]. Shanxi: Shanxi University, 2011.
- [21] Pan J W, Zhu M Y, Chen H. Aluminum-induced cell death in root-tip cells of barley. *Environmental and Experimental Botany*, 2001, 46(1): 71-79.
- [22] Fleury C, Mignotte B, Vayssière J L. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. *Biochimie*, 2002, 84(2/3): 131-141.

参考文献:

- [12] 刘鑫, 仪慧兰. 铝诱导蚕豆气孔保卫细胞凋亡研究. *农业环境科学学报*, 2010, 29(9): 1659-1664.
- [15] 杨汉民. *细胞生物学实验* (第二版). 北京: 高等教育出版社, 1997: 75-76.
- [20] 吴丽华. 亚砷酸钠诱导细胞死亡的分子机制研究 [D]. 山西: 山西大学, 2011.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.34, No.5 Mar., 2014 (Semimonthly)
CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Advance in the study on drought index LI Bozhen, ZHOU Guangsheng (1043)
- State-of-the-art review of the impact of climatic change on bioavailability of mineral elements in crops
..... LI Longqing, WU Zhengyun, ZHANG Qiang, et al (1053)
- Mechanism, hypothesis and evidence of herbivorous insect-host interactions in forest ecosystem
..... ZENG Fanyong, SUN Zhiqiang (1061)
- Approach of nematode fauna analysis indicate the structure and function of soil food web
..... CHEN Yunfeng, HAN Xuemei, LI Yufei, et al (1072)
- A spatial econometric analysis of water footprint intensity convergence on a provincial scale in China
..... ZHAO Liangshi, SUN Caizhi, ZHENG Defeng (1085)
- Pattern dynamics of vegetation coverage of Plateau Valley-City in the Western China; a case study in Xining
..... GAO Yun, XIE Miaomiao, FU Meichen, et al (1094)
- Scale effect analysis of the influence of land use and environmental factors on surface soil organic carbon; a case study in the
hilly and gully area of Northern Shaanxi Province ZHAO Mingyue, ZHAO Wenwu, ZHONG Lina (1105)
- Effects of *Eisenia foetida* and *Amyntas morrissi* on the chemical and biological properties of soil amended with the paper mill
sludge CHEN Xufei, ZHANG Chi, DAI Jun, et al (1114)

Autecology & Fundamentals

- Regulation of potassium supply and signal inhibitors on acetate effluxes by ectomycorrhizal fungi
..... YANG Hongjun, LI Yong, YUAN Ling, et al (1126)
- Arsenic induces guard cell death in leaf epidermis of *Vicia faba* XUE Meizhao, YI Huilan (1134)
- Identification and characteristics of phenol degrading bacteria ad049 screened from oil contaminated soil
..... HU Ting, GU Jie, ZHEN Lisha, YANG Jiu, et al (1140)
- Physiological response of *Medicago sativa* L. to copper stress by FTIR spectroscopy
..... FU Chuan, YU Shunhui, HUANG Yimin, et al (1149)
- Effects of sowing date on 2-acetyl-1-pyrroline content and yield of late season aromatic rice
..... YANG Xiaojuan, TANG Xiangru, WEN Xiangcheng, et al (1156)
- Effects of exogenous calcium (Ca) on tolerance of *Allium cepa* var. *agrogarum* L. to cadmium (Cd) stress
..... WANG Qiaoling, ZOU Jinhua, LIU Donghua, et al (1165)
- The study of *Vitex negundo* shrubs canopy biomass inversion in Beijing Jundu mountainous area based on vegetation indices
..... GAO Mingliang, GONG Zhaoning, ZHAO Wenji, et al (1178)
- Comparison study of sulfur dioxide resistance of three warm-season turf grasses LI Xi, WANG Lihua, LIU Wei, et al (1189)
- Geostatistical analysis on spatial dynamics of the apterous *Myzus persicae* in flue-cured tobacco fields of Enshi tobacco area, China ...
..... XIA Pengliang, WANG Rui, WANG Changjun, et al (1198)
- Patterns of seed predation and removal of Mongolian oak (*Quercus mongolica*) by rodents
..... ZHANG Jinghong, LIU Bingwan (1205)
- Effect of available burrow densities of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) on leaf nitrogen and phosphorus stoichiometry of dominant
plants and soil in alpine meadow LI Qianqian, ZHAO Xu, GUO Zhenggang (1212)

Overcompensation and competitive effects of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus* after low temperature and light stresses XIE Xiaoling, ZHOU Rong, DENG Zifa (1224)

Population, Community and Ecosystem

The main nest predators of birds breeding in artificial nest-boxes and its influencing factors ZHANG Lei, LI Donglai, MA Ruiqiang, et al (1235)

Temporal and spatial variation of macrobenthic communities in the intertidal zone of Xunpu, Quanzhou Bay ZHUO Yi, CAI Lizhe, GUO Tao, et al (1244)

The influence of variables at different scales on stream benthic macroinvertebrates in Luanhe River Basin ZHANG Haiping, WU Dayong, WANG Zhaoming, et al (1253)

Relationships between environmental variables and seasonal succession in phytoplankton functional groups in the Hulan River Wetland LU Xinxin, LIU Yan, FAN Yawen (1264)

Habitat assessment of sika deer (*Cervus nippon*) in the Taohongling National Nature Reserve, Jiangxi Province, China LI Jia, LI Yankuo, MIAO Lujun, et al (1274)

Landscape, Regional and Global Ecology

The comprehensive geographical regionalization of China supporting natural conservation GUO Ziliang, CUI Guofa (1284)

Response of vegetation coverage to climate change in Mongolian Plateau during recent 10 years MIAO Lijuan, JIANG Chong, HE Bin, et al (1295)

Impact analysis of human activities and climate change on Honghu lake's spring drought LIU Kequn, LIANG Yitong, ZHOU Jinlian, et al (1302)

Lakes evolution of central Wuhan during 2000 to 2010 DAN Yongli, WANG Hongzhi, ZHANG Huan, et al (1311)

Resource and Industrial Ecology

The spatial distribution of *Ophiocordyceps sinensis* suitability in Sanjiangyuan Region LI Fen, WU Zhifeng, XU Cui, et al (1318)

《生态学报》2014 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的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;新书评价和学术、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 90 元/册,全年定价 2160 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

本期责任副主编 象伟宁 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 34 卷 第 5 期 (2014 年 3 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 34 No. 5 (March, 2014)

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

主 编 王如松
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

出 版 科 学 出 版 社
地址:北京东黄城根北街 16 号
邮政编码:100717

印 刷 北京北林印刷厂
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

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

广告经营 京海工商广字第 8013 号
许 可 证

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

Editor-in-chief WANG Rusong
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

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

Printed by Beijing Bei Lin Printing House,
Beijing 100083, China

Distributed by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North
Street, Beijing 100717, China
Tel: (010)64034563
E-mail: journal@cspg.net

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



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 90.00 元