

O₃浓度升高对不同生长期冬小麦叶片抗氧化系统的影响

隋立华¹, 黄益宗^{1,*}, 王伟², 耿春梅², 殷宝辉²

1. 中国科学院生态环境研究中心 城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085
2. 中国环境科学研究院, 北京 100012

摘要: 由于人口的快速增长, 人类活动导致近地层 O₃ 浓度不断提高, O₃ 浓度升高将对植物、动物和人体健康产生极大的危害。采用开顶式气室(OTC)原位实验方法, 研究 O₃ 浓度升高对不同生长期冬小麦叶片抗氧化系统的影响, 进而分析 O₃ 对植物的伤害机制。结果表明, O₃ 浓度升高可导致冬小麦拔节期和抽穗期叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性, 以及还原型谷胱甘肽(GSH)、抗坏血酸(AsA)、丙二醛(MDA)和可溶性蛋白含量产生变化且呈现不同的变化规律。当 O₃ 浓度为 120 nL·L⁻¹ 时, 与对照相比, 冬小麦拔节期叶片 SOD、CAT 和 APX 活性分别降低 50.3%、64.9% 和 75.5%, POD 和 GR 活性分别提高 45.1% 和 80.5%, MDA、AsA 和 GSH 含量分别提高 314.3%、8.4% 和 31.7%, 可溶性蛋白含量降低 47.5%。冬小麦体内抗氧化系统物质因其所处生长季节的不同以及 O₃ 浓度的不同而不同。本研究结果显示, 冬小麦在 O₃ 的污染胁迫下, 为了清除体内活性氧自由基的伤害, 其抗氧化系统发生了极为复杂的变化, 是植物自我调节的一种反应。

关键词: O₃; 冬小麦; 抗氧化系统; 抗坏血酸过氧化物酶(APX); 谷胱甘肽还原酶(GR)

文章编号: 1673-5897(2011)6-507-08 中图分类号: X171.5; X503.231 文献标识码: A

Effects of Elevated Ozone on Antioxidant System of Winter Wheat Leaf in Varied Growth Stages

Sui Lihua¹, Huang Yizong^{1,*}, Wang Wei², Geng Chunmei², Yin Baohui²

1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China
2. Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

Received 7 January 2011 accepted 29 March 2011

Abstract: As human population increases rapidly, human activities cause the increase of tropospheric ozone (O₃) which significantly exerts adverse effects on the health of plants, animals and human beings. In this paper, open top chambers (OTCs) under field conditions were used to investigate the antioxidant system (malondialdehyde, MDA; soluble protein; ascorbic acid, AsA; glutathione, GSH, superoxide dismutase, SOD; peroxidase, POD; catalase, CAT; ascorbate peroxidase, APX; glutathione reductase, GR) of winter wheat leaf in different growing stages under elevated O₃. The results indicated that the increase of O₃ significantly affected the antioxidant system of winter wheat leaf both in jointing stage and heading stage. In the level of 120 nL·L⁻¹, as compared with the control group, the activities of SOD, CAT and APX of

收稿日期: 2011-04-07 录用日期: 2011-03-29

基金项目: 国家环保公益性行业科研专项(200809152); 国家自然科学基金面上项目(41071336)

作者简介: 隋立华(1986), 男, 硕士, 研究方向为生态毒理学, E-mail: suilihua08@mails.gucas.ac.cn;

*通讯作者(Corresponding author), E-mail: hyz@rcees.ac.cn

winter wheat leaf in jointing stage decreased by 50.3%, 64.9% and 75.5%, while the POD and GR activity increased by 45.1% and 80.5%, respectively. The contents of MDA, AsA and GSH increased by 314.3%, 8.4% and 31.7%, respectively, and the content of soluble protein decreased by 47.5%. Different levels of O₃ and different growing stages of winter wheat both resulted in different changes of substances in the antioxidant system. Under the stress of O₃ pollution, the antioxidant system of winter wheat had an extremely complex change in order to prevent the damage caused by active oxygen species (AOS), which is the self regulation of plants.

Keywords: ozone; winter wheat; antioxidant system; ascorbate peroxidase (APX); glutathione reductase (GR)

近年来,由于化石燃料的大量使用以及汽车数量的急剧增加,近地层臭氧(O₃)浓度在全球范围内日益升高,每年的增长率高达0.5%~2%^[1]。我国近地层O₃浓度增加也比较明显,特别是在人口密集的城市和地区,O₃污染较为严重。1993年在北京地区监测的1614个O₃样本中,最大值达到161 nL·L⁻¹,平均值为46 nL·L⁻¹^[2]。1995年在广州地区监测的468个O₃样本中,最大值为170 nL·L⁻¹,平均值为56 nL·L⁻¹^[2]。最近,有研究者报道在我国的京津唐、长江三角洲以及其他一些地区近地层O₃浓度最高可达150 nL·L⁻¹^[3]。

高浓度的O₃对植物生长具有抑制作用。许多研究报道O₃胁迫可抑制植物的正常生长,降低植物叶片气孔导度,影响植物光合速率,抑制株高和叶面积生长,加速植物老化,影响植物碳代谢,严重时可导致作物和林木减产^[4]。据估计,美国每年因O₃胁迫造成谷物减产所带来的经济损失高达43亿美元^[5,6],欧洲地区也高达40亿欧元^[7]。我国长江三角洲地区由于O₃污染导致水稻和小麦减产所造成的经济损失达14.75亿元人民币^[8]。

O₃污染胁迫下植物的抗氧化系统将发生变化。据金明红等^[9]报道,O₃可打破水稻和小麦体内活性氧产生清除平衡,加剧这2种植物的膜脂过氧化作用,对膜系统产生危害,致使膜相对透性、丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性均发生变化。黄玉源等^[10]研究了O₃对南方3种木本植物的急性伤害症状及其生理指标变化,发现O₃胁迫下植物叶片的叶绿素含量、POD活性、CAT活性、MDA含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白质含量等均发生不同程度的变化。而O₃污染胁迫对植物抗氧化系统抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性、谷胱甘肽还原酶(GR)活性、还原型谷胱甘肽(GSH)含量和抗坏血酸(AsA)含量的影响尚鲜有报道。此外,以往的研究主要是在土壤盆栽条件下开展O₃污染胁迫对植物生长的影响,本文在大田条件下采用开顶式气室

(OTC)法,研究了O₃浓度升高对冬小麦叶片抗氧化系统的影响,尤其是对抗坏血酸-谷胱甘肽循环体系的影响,为深入了解作物的O₃胁迫机制和防治O₃污染危害提供科学依据。

1 材料和方法(Materials and methods)

1.1 实验地点和材料

实验地位于北京市昌平区种子管理站(40°12'N, 116°8'E)。该站位于北京市西北部,属暖温带大陆性季风气候,全年四季分明,年均降水量为550.3 mm,雨量集中在6—8月,雨热同期,年均温为11.8℃,年均日照时数2684 h,无霜期为200 d左右。冬小麦为当地主要粮食作物。

实验用冬小麦品种为北农9549(*Triticum aestivum* L. Beining 9549),由北京农学院提供。2009年9月28日播种,播种前施用堆肥,2010年4月26日追施尿素(0.0225 kg·m⁻²)。冬小麦整个生长期内的田间管理方式与当地保持一致。

1.2 实验设计

通过自制的开顶式熏气系统对冬小麦进行原位O₃熏气实验。设4个O₃浓度处理:环境大气(CK)、40 nL·L⁻¹、80 nL·L⁻¹和120 nL·L⁻¹。开顶式熏气系统主要由开顶箱、箱内布气系统、鼓风机、O₃发生器、浓度控制系统和O₃分析仪组成。开顶箱由钢筋做骨架,制成正八面体形状,顶端为45°收缩开口。箱体外围用透明的聚乙烯塑料薄膜包被。箱体边长为1 m,高2.7 m,覆盖面积约为4.8 m²。系统内O₃通过医用纯氧(99.5%)经O₃发生器(SK-CFG 3, 济南三康科技有限公司)高压放电作用产生。通过质量流量计(GFC17, Aalborg Industries Inc., Carson, CA)和组态王工控软件(MCGS 6.2, 北京昆仑工控)调节O₂流量,进而控制系统内O₃浓度。箱内和自然大气O₃浓度通过2台O₃分析仪(Model 49c, Thermo Electron Co., Franklin, MA)进行连续监

测。从 2010 年 4 月 5 日起开始对小麦熏 O₃, 每天熏气 9 h(8:00—17:00), 6 月 12 日停止熏气, 共熏气 50 天。分别在小麦拔节期和抽穗期采集新鲜叶片, 随机取同一叶位的叶子数片做实验测定用, 每个实验设 5 次重复。叶片样品放入盛有液氮的罐中运回实验室, 然后转移至 -20℃ 冰箱保存备用。

1.3 测定方法

1.3.1 粗酶提取液制备

在 4℃ 条件下, 称取叶片鲜样约 0.5 g 加入 4 mL pH 7.8 的磷酸缓冲液(含质量分数为 1% 的聚乙烯吡咯烷酮)和少量石英砂研磨至匀浆, 匀浆以 15 000 r·min⁻¹ 转速离心 20 min, 上清液转移至干净塑料离心管, 即为粗酶提取液, 于 -20℃ 下保存备用^[11]。

1.3.2 生理指标测定

SOD 活性采用 NBT 光化学还原法测定^[12]; POD 活性采用愈创木酚法测定^[13]; CAT 活性采用紫外分光光度计法测定^[14]; APX 活性参照 Nakano 和 Asada^[15] 的方法测定, 以测定条件下每分钟每毫克蛋白氧化抗坏血酸的微摩尔数表示酶活性; GR 活性参照 Krivosheeva 等^[16] 的方法测定; GSH 含量参照 Brehe 和 Burch^[17] 的方法测定; AsA 含量参照 Law 等^[18] 的方法测定; MDA 含量的测定参考硫代巴比妥酸比色法测定^[19]; 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定。

1.4 数据统计和处理

采用 SPSS 13.0 和 origin 8.0 对数据进行分析 and 统计。

2 结果(Results)

2.1 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂氧化的产物, 是植物衰老的重要指标。从图 1 可以看出, 无论是拔节期还是抽穗期, 在低浓度 O₃ 处理下冬小麦叶片 MDA 含量与对照相比差异不明显, 但是在高浓度处理时(120 nL·L⁻¹), MDA 含量均显著增加。与对照相比, 冬小麦叶片 MDA 含量在拔节期提高 314.3%, 抽穗期提高 65.0%。

2.2 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片可溶性蛋白含量的影响

图 2 为 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片可溶性蛋白含量的影响, 由图中看出在冬小麦拔节期, O₃ 的处理浓度为 120 nL·L⁻¹ 时, 可溶性蛋白含量与对照相

比有显著的下降, 下降幅度达 47.5%。在其他浓度 O₃ 处理条件下, 可溶性蛋白含量与对照相比均无明显变化。而在冬小麦抽穗期, O₃ 污染胁迫下冬小麦叶片可溶性蛋白含量均显著高于对照($p < 0.05$), 当 O₃ 浓度为 40、80 和 120 nL·L⁻¹ 时, 冬小麦叶片可溶性蛋白含量分别比对照提高 27.1%、9.5% 和 42.4%。

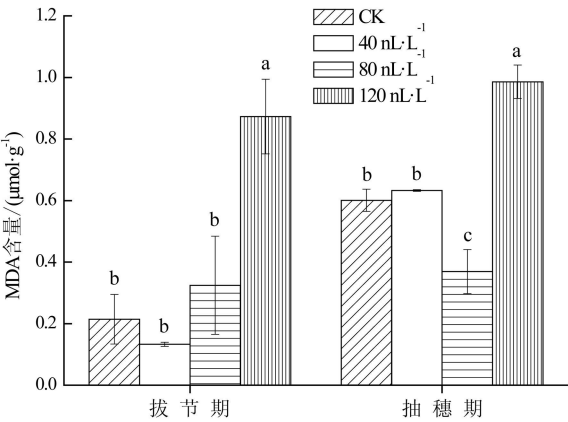


图 1 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 MDA 含量的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$ 。

Fig. 1 Effect of elevated ozone on MDA content in leaves of winter wheat

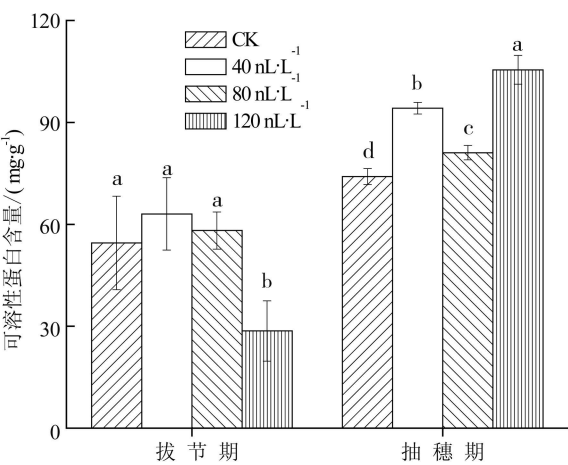


图 2 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片可溶性蛋白含量的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$ 。

Fig. 2 Effect of elevated ozone on soluble protein content in leaves of winter wheat

2.3 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 SOD 活性的影响

图 3 为 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 SOD 活性的影响, 如图所示, 冬小麦拔节期叶片 SOD 活性均随 O₃ 浓度的升高而显著降低($p < 0.05$), 当 O₃ 浓度为 40、80 和 120 nL·L⁻¹ 时, 冬小麦叶片 SOD 活性分别

比对照降低 27.5%、48.2%和 50.3%。在冬小麦抽穗期, O₃ 浓度为 40 和 120 nL·L⁻¹ 时 SOD 活性均比对照显著降低, 而 80 nL·L⁻¹ O₃ 处理时 SOD 活性相对于对照却有显著提高, 提高幅度为 17.3%。

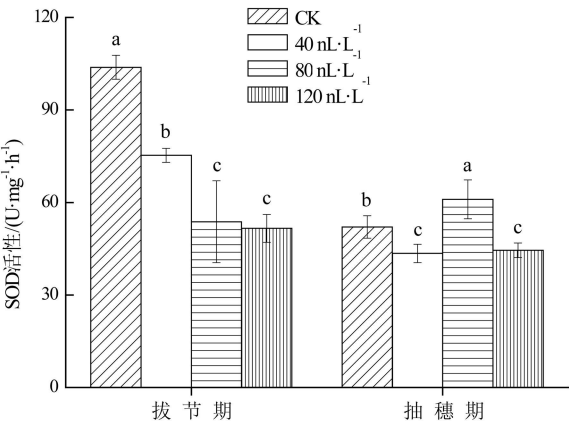


图 3 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 SOD 活性的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$.
Fig. 3 Effect of elevated ozone on SOD activity in leaves of winter wheat

2.4 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 POD 活性的影响
在冬小麦拔节期, O₃ 胁迫对叶片 POD 活性的影响较不明显, 但是 120 nL·L⁻¹ O₃ 浓度处理时 POD 活性比对照提高了 45.1%, 而在抽穗期 O₃ 胁迫导致 POD 活性有升高的趋势(除 80 nL·L⁻¹ O₃ 处理外)。尤其是当 O₃ 浓度为 120 nL·L⁻¹ 时冬小麦抽穗期叶片 POD 活性相比对照提高了 210.7%。在相同 O₃ 处理浓度下, 冬小麦抽穗期叶片 POD 活性均高于拔节期(图 4)。

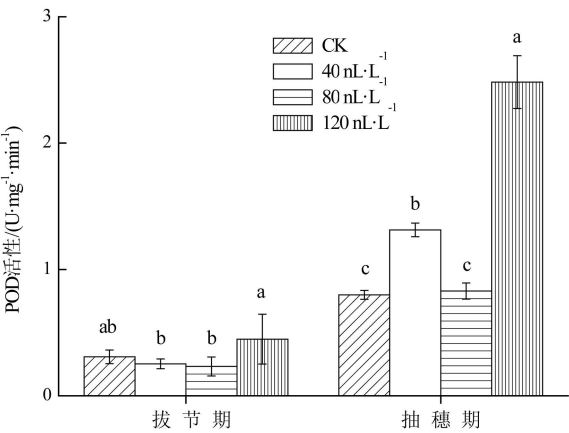


图 4 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 POD 活性的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$.
Fig. 4 Effect of elevated ozone on POD activity in leaves of winter wheat

2.5 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 CAT 活性的影响
图 5 为 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 CAT 活性的影响, 从图中看出在冬小麦拔节期, 低浓度 O₃ 处理下(40 nL·L⁻¹) 冬小麦叶片 CAT 活性与对照相比差别不明显, 但是 80 和 120 nL·L⁻¹ O₃ 浓度导致 CAT 活性分别比对照显著降低 57.1%和 64.9%。在抽穗期, 随着 O₃ 浓度的升高冬小麦叶片 CAT 活性呈现出一个显著降低的趋势($p < 0.05$)。当 O₃ 浓度为 40、80 和 120 nL·L⁻¹ 时, 冬小麦叶片 CAT 活性分别比对照降低 37.6%、35.7%和 60.4%。

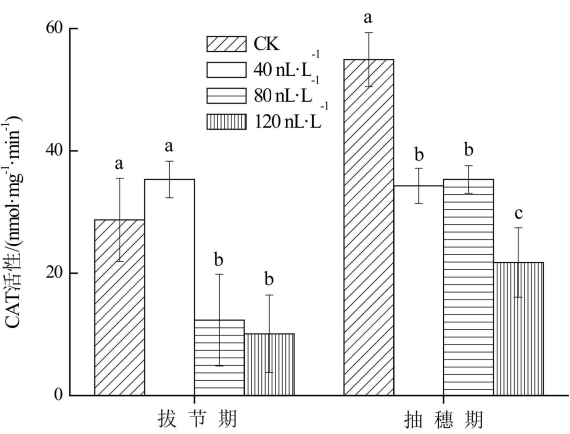


图 5 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 CAT 活性的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$.
Fig. 5 Effect of elevated ozone on CAT activity in leaves of winter wheat

2.6 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片抗坏血酸 谷胱甘肽循环体系的影响

抗坏血酸 谷胱甘肽循环是植物体内非常重要的清除活性氧的体系。在这里我们研究了 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 AsA 含量、APX 活性、GSH 含量和 GR 活性的影响。

由图 6 可以看出, 冬小麦拔节期 AsA 含量在 O₃ 浓度为 40 和 120 nL·L⁻¹ 时有一个提高的过程, 均分别比对照提高 8.4%, 但在 80 nL·L⁻¹ O₃ 浓度时 AsA 含量与对照相比却显著减少。与对照相比抽穗期 120 nL·L⁻¹ O₃ 浓度下冬小麦叶片 AsA 含量显著提高 63.8% ($p < 0.05$), 其他浓度 O₃ 处理下 AsA 含量与对照相比无显著差异。

O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 APX 活性的影响见图 7。在冬小麦拔节期, 低浓度的 O₃ (40 nL·L⁻¹) 导致叶片 APX 活性显著提高, 但是随着 O₃ 浓度不断升高, APX 活性呈现出降低的趋势。当 O₃ 浓度

为 120 nL·L⁻¹ 时, 冬小麦叶片 APX 活性比对照降低 75.5%。在冬小麦抽穗期, 80 nL·L⁻¹ O₃ 浓度导致冬小麦叶片 APX 活性比对照提高 104.5%, 但是其他 O₃ 处理的 APX 活性与对照无显著差异。

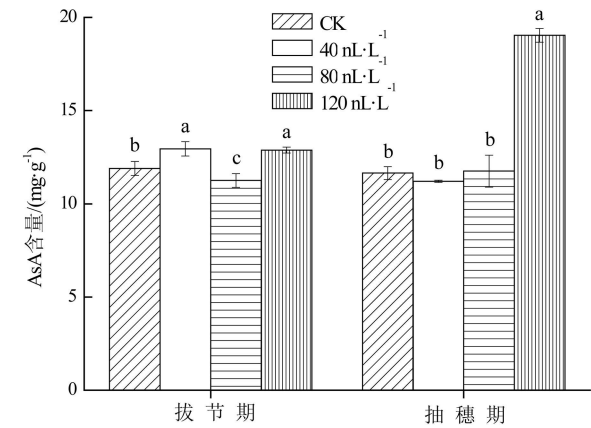


图 6 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 AsA 含量的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$.
Fig. 6 Effect of elevated ozone on AsA content in leaves of winter wheat

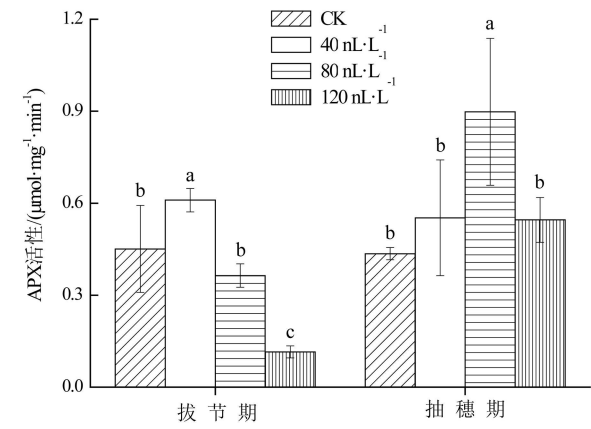


图 7 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 APX 活性的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$.
Fig. 7 Effect of elevated ozone on APX activity in leaves of winter wheat

图 8 为 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 GSH 含量的影响, 如图所示在冬小麦拔节期, O₃ 污染胁迫导致 GSH 含量显著提高 ($p < 0.05$), 当 O₃ 浓度为 40、80 和 120 nL·L⁻¹ 时, 冬小麦叶片 GSH 含量分别比对照提高 49.7%、48.1% 和 31.7%。在冬小麦抽穗期, 除了 O₃ 浓度为 40 nL·L⁻¹ 时冬小麦叶片 GSH 含量与对照相比有所提高外, 80 和 120 nL·L⁻¹ O₃ 胁迫均导致 GSH 含量与对照相比有显著降低, 降

低幅度分别达到 14.2% 和 27.9%。

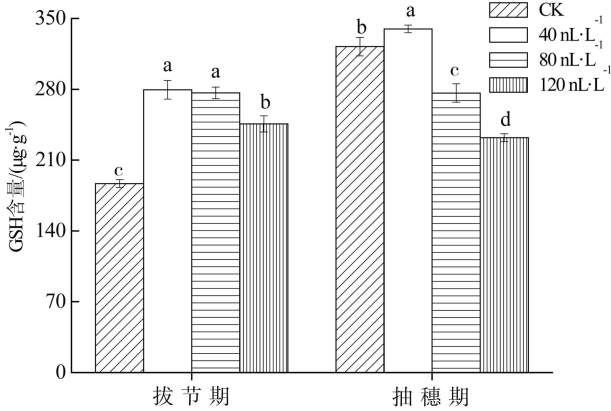


图 8 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 GSH 含量的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$.
Fig. 8 Effect of elevated ozone on GSH content in leaves of winter wheat

从图 9 看出, 在冬小麦拔节期除 120 nL·L⁻¹ O₃ 胁迫导致冬小麦叶片 GR 活性与对照相比显著提高 80.5% 外, 其他浓度 O₃ 处理的 GR 活性与对照相比没有达到显著差异水平。在冬小麦抽穗期, 40 和 80 nL·L⁻¹ O₃ 浓度处理的 GR 活性与对照相比没有显著差异, 但是当 O₃ 浓度升高到 120 nL·L⁻¹ 时冬小麦叶片 GR 活性与对照相比显著降低 70.4%。

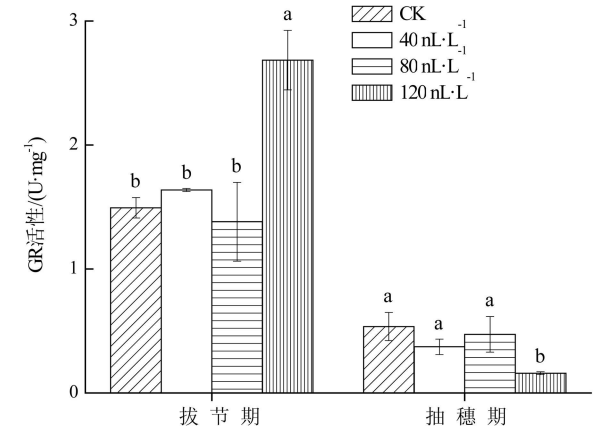


图 9 O₃ 浓度升高对冬小麦叶片 GR 活性的影响
注: 不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$.
Fig. 9 Effect of elevated ozone on GR activity in leaves of winter wheat

3 讨论 (Discussion)

3.1 MDA 含量变化

植物在逆境条件下会出现膜质过氧化现象, 改

变了膜的通透性,影响植物正常的生理机能。在盐胁迫、重金属毒害和 O_3 、 SO_2 、 NO_x 等污染作用下,植物体内将产生大量的活性氧物质,如超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟基自由基($\cdot OH$)、单态氧(1O_2)和过氧化氢(H_2O_2)等,这会导致和加剧膜脂过氧化^[20],使植物受害症状加剧。 O_3 作为一种强氧化剂,它通过植物气孔进入叶片组织,导致植物体内产生大量的活性氧,活性氧与膜脂发生反应,从而对植物造成伤害^[21]。MDA 是人们用来检测植物膜脂过氧化程度的一个公认指标,其含量的高低直接体现出植物的膜脂过氧化程度。从本实验的结果来看,无论是在冬小麦拔节期还是在抽穗期,高浓度 O_3 胁迫均导致叶片 MDA 含量显著提高,这也与其他研究者的报道结果一致^[22]。

3.2 可溶性蛋白含量变化

植物体内的可溶性蛋白既是氮素吸收同化的产物,又是植物体内转运氮的贮存物,是构成光合与其他生理生化过程的活性基础,与作物氮的吸收、同化、转运及酶生理生化作用密切相关,因此,植物生育期叶片可溶蛋白含量的高低可以反映叶片生理生化作用的状态^[22]。本研究结果发现,冬小麦拔节期叶片可溶性蛋白含量在高浓度的 O_3 胁迫时呈现出显著下降的趋势,但是抽穗期叶片可溶性蛋白含量随着 O_3 浓度的升高而不断的增加,说明冬小麦在不同的生长期对 O_3 的调节适应机制不同。已有植物叶片可溶性蛋白含量随 O_3 污染胁迫的加剧而提高的报道^[23]。

3.3 SOD、CAT 和 POD 活性变化

SOD 可以清除植物体内的 $O_2^{\cdot-}$ 并形成 H_2O_2 ,被认为是清除活性氧自由基的关键酶^[24],而形成的 H_2O_2 可以被 CAT、POD 等催化形成 H_2O 。因此,SOD、CAT 和 POD 等酶活性的增加,是植物对 O_3 等逆境胁迫反应的结果,使植物能够加速活性氧的清除,降低活性氧在植物体内过多的累积,抑制膜脂过氧化,有效保护膜系统。但是在较强的 O_3 胁迫下,当植物体内的活性氧累积超过一定限度后,植物多种功能膜和酶系统将会受到破坏,从而致使能清除活性氧的 SOD、CAT 活性下降,导致植物体内活性氧累积更迅速,进一步加速了 $O_2^{\cdot-}$ 、 1O_2 和 H_2O_2 通过 Fenton 和 Haber Weiss 反应向毒性极强的 $\cdot OH$ 转化^[25]。因此较高浓度的 O_3 胁迫将极大地破坏膜系统,使植物代谢失调,细胞及器官受损,加剧植物叶片的衰老

本研究中,冬小麦拔节期叶片 SOD 活性均随 O_3 浓度的升高而显著降低,CAT 活性在低 O_3 浓度时有一个上升的过程,但是在高浓度的 O_3 胁迫下 CAT 活性却显著地下降;在冬小麦抽穗期, O_3 浓度为 40 和 $120\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 SOD 活性也显著低于对照,而 CAT 活性均随 O_3 浓度的升高而显著降低,说明在 O_3 胁迫下植物的膜系统受到了严重的破坏,包括 SOD、CAT 等酶系统也受到了破坏。同样有研究报道,低浓度 O_3 胁迫可导致植物叶片 SOD、CAT 活性提高,但是随着 O_3 浓度的上升 SOD、CAT 活性又急剧地下降^[26]。

POD 是植物的呼吸功能酶,它是植物呼吸反应过程中不可缺少的物质,另外它在抑制膜脂化等植物抗逆生理方面发挥了重要的作用^[27]。植物在逆性环境胁迫下,膜脂化作用增强,使植物体内 H_2O_2 等过氧化物浓度增加,从而导致 POD 酶活性提高,经过一系列的反应,这些过氧化物最终被降解成为水而起了解毒作用^[9]。本研究也得到相类似的结果,即冬小麦抽穗期受 O_3 污染胁迫后叶片 POD 活性出现提高的现象。在冬小麦拔节期 O_3 胁迫对叶片 POD 活性影响不大,原因可能是 O_3 胁迫的时间过短还没有对 POD 活性造成影响。同样许多研究也发现, O_3 污染胁迫导致植物叶片 POD 活性显著地提高^[10, 28 29]。说明植物受到 O_3 污染胁迫后膜脂作用加强,植物叶片 POD 活性的提高起到了缓解 O_3 伤害的作用。

3.4 抗坏血酸 谷胱甘肽循环

抗坏血酸 谷胱甘肽循环是植物体内重要的清除活性氧的体系,包括的物质有 AsA、GSH 及相关酶类(APX 和 GR 等)。AsA 是一种存在于植物细胞内与细胞间隙间的小分子水溶性还原剂,它与 O_3 及其分解产生的自由基反应常数较高,因此被认为是植物抵抗 O_3 氧化胁迫的第一道防线^[30]。由于叶绿体中不存在大量的 CAT,所以叶绿体中 SOD 歧化 $O_2^{\cdot-}$ 所产生的 H_2O_2 将由一种特定的代谢途径 即抗坏血酸 谷胱甘肽循环来清除,而 AsA 将作为这个循环中 APX 的电子供体将 H_2O_2 还原为 H_2O ^[31]。

本研究发现,冬小麦拔节期和抽穗期 AsA 含量在 O_3 浓度为 $120\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ 时均比对照显著增加,说明此时 AsA 在清除活性氧自由基方面起到了重要的作用。冬小麦拔节期叶片 GSH 含量随着 O_3 浓度的升高而显著提高,而冬小麦抽穗期 80 和 $120\text{ nL}\cdot\text{L}^{-1}$ O_3 胁迫均导致 GSH 含量比对照显著降低,说

明在冬小麦拔节期 GSH 作为电子供体在清除活性氧自由基方面发挥了重要的作用,而在抽穗期高浓度 O₃ 胁迫下 AsA 起到了主要的作用。也有一些研究表明,谷胱甘肽、抗坏血酸和酚类化合物等是 POD 的电子供体,当这些物质含量增加的时候,也会促使 POD 的活性增加^[32]。

通讯作者简介:黄益宗(1970—),男,博士,副研究员,主要研究方向为农林生态环境保护。

参考文献:

- [1] Vingarzan R. A review of surface ozone background levels and trends [J]. *Atmospheric Environment*, 2004, 38(21): 3431–3442
- [2] 张远航,邵可声,唐孝炎. 中国城市光化学烟雾污染研究[J]. *北京大学学报:自然科学版*, 1998, 34(23): 392–400
Zhang Y H, Shao K S, Tang X Y. The study of urban photochemical smog pollution in China [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 1998, 34(23): 392–400 (in Chinese)
- [3] Shao M, Tang X Y, Zhang Y H, et al. City clusters in China: Air and surface water pollution [J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2006, 4(7): 353–361
- [4] Calatayud A, Iglesias D J, Talón M, et al. Effects of 2 month ozone exposure in spinach leaves on photosynthesis, antioxidant systems and lipid peroxidation [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003, 41(9): 839–845
- [5] Adams R M, Glycer J D, Johnson S L, et al. A reassessment of the economic effects of ozone on US agriculture [J]. *International Journal of Air Pollution Control and Waste Management*, 1989, 39(7): 960–968
- [6] Murphy J J, Delucchi M A, McCubbin D R, et al. The cost of crop damage caused by ozone air pollution from motor vehicles [J]. *Journal of Environmental Management*, 1999, 55(4): 273–289
- [7] Holland M, Mills G, Hayes F, et al. Economic Assessment of Crop Yield Losses from Ozone Exposure [R] // UNECE International Cooperative Programme on Vegetation. Progress Report (April 2001–March 2002). [S. l.]: Center for Ecology and Hydrology, 2002
- [8] Feng Z W, Jin M H, Zhang F Z, et al. Effects of ground level ozone (O₃) pollution on the yields of rice and winter wheat in the Yangtze River Delta [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2003, 15(3): 360–362
- [9] 金明红,冯宗炜,张福珠. 臭氧对水稻叶片膜脂过氧化和抗氧化系统的影响[J]. *环境科学*, 2000, 21(3): 1–5
- [10] Jin M H, Feng Z W, Zhang F Z. Effects of ozone on membrane lipid peroxidation and antioxidant system of rice leaves [J]. *Environmental Sciences*, 2000, 21(3): 1–5 (in Chinese)
- [10] 黄玉源,黄益宗,李秋霞,等. 臭氧对南方3种木本植物的急性伤害症状及其生理指标变化[J]. *生态环境*, 2006, 15(4): 674–681
- [11] Huang Y Y, Huang Y Z, Li Q X, et al. Physiological and foliar symptom response of *Pinus massoniana*, *Eucalyptus urophylla* and *Aglaia odorata* to ozone in southern China [J]. *Ecology and Environment*, 2006, 15(4): 674–681 (in Chinese)
- [11] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein) [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244(22): 6049–6055
- [12] Beyer W F, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 161(2): 559–566
- [13] Beffa R, Martin H V, Pilet P E. In vitro oxidation of indoleacetic acid by soluble auxin oxidases and peroxidases from maize roots [J]. *Plant Physiology*, 1990, 49(2): 485–491
- [14] Aebi H. Catalase in vitro [J]. *Methods in Enzymology*, 1984, 105: 121–126
- [15] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22(5): 867–880
- [16] Krivosheeva A, Tao D L, Ottander G, et al. Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis in Scots pine [J]. *Planta*, 1996, 200(3): 296–305
- [17] Brehe J E, Burch H B. Enzymatic assay for glutathione [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 74(1): 189–197
- [18] Law M Y, Charles S A, Halliwell B. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effect of hydrogen peroxide and of Paraquat [J]. *Biochemical Journal*, 1983, 210(3): 899–903
- [19] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1968, 125(1): 189–198
- [20] Blokhina O B, Fagerstedt K V, Chirkova T V. Relationships between lipid peroxidation and anoxia tolerance in a range of species during post anoxic reaeration [J]. *Physiologia Plantarum*, 1999, 105(4): 625–632
- [21] Sakaki T, Kondo N, Sugahara K. Breakdown of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: Role of active oxygens [J]. *Physiologia Plantarum*, 1983, 59(1): 28–34
- [22] 张巍巍,郑飞翔,王效科,等. 大气臭氧浓度升高对水稻叶片膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. *应用*

- 生态学报, 2008, 19(11): 2485–2489
- Zhang W W, Zheng F X, Wang X K, et al. Effects of elevated ozone on rice (*Oryza sativa* L.) leaf lipid peroxidation and antioxidant system [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(11): 2485–2489 (in Chinese)
- [23] 金明红. 大气 O_3 浓度变化对农作物影响的试验研究 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2001: 101
- Jin M H. Experimental study on the impacts of O_3 concentration change on crops [D]. Beijing: Graduate University of Chinese Academy of Sciences, 2001: 101 (in Chinese)
- [24] Bowler C, Montagu M V, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1992, 43(1): 83–116
- [25] 蒋明义. 水分胁迫下植物体内 $\cdot OH$ 的产生与细胞的氧化损伤 [J]. 植物学报, 1999, 41(3): 229–234
- Jiang M Y. Generation of hydroxyl radicals and its relation to cellular oxidative damage in plants subjected to water stress [J]. Acta Botanica Sinica, 1999, 41(3): 229–234 (in Chinese)
- [26] 金明红, 黄益宗. 臭氧污染胁迫对农作物生长与产量的影响 [J]. 生态环境, 2003, 12(4): 482–486
- Jin M H, Huang Y Z. Review of crops damaged and yield loss by ozone stress [J]. Ecology and Environment, 2003, 12(4): 482–486 (in Chinese)
- [27] 杨居荣, 贺建群, 蒋婉茹. Cd 污染对植物生理生化的影响 [J]. 农业环境保护, 1995, 14(5): 193–197
- Yang J R, He J Q, Jiang W R. Effect of Cd pollution on the physiology and biochemistry of plant [J]. Agro Environmental Protection, 1995, 14(5): 193–197 (in Chinese)
- [28] Guéra A, Calatayud A, Sabater B, et al. Involvement of the thylakoidal NADH plastoquinone oxidoreductase complex in the early responses to ozone exposure of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings [J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(409): 205–218
- [29] 郑有飞, 胡程达, 吴荣军, 等. 臭氧胁迫对冬小麦光合作用、膜脂过氧化和抗氧化系统的影响 [J]. 环境科学, 2010, 31(7): 1643–1651
- Zheng Y F, Hu C D, Wu R J, et al. Effects of ozone stress upon winter wheat photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant systems [J]. Environmental Science, 2010, 31(7): 1643–1651 (in Chinese)
- [30] Kangasjärvi J, Talvinen J, Utriainen M, et al. Plant defence systems induced by ozone [J]. Plant, Cell & Environment, 1994, 17(7): 783–794
- [31] Noctor G, Foyer C. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1998, 49(1): 249–279
- [32] De Souza I, MacAdam J. A transient increase in apoplastic peroxidase activity precedes decrease in elongation rate of B73 maize (*Zea mays*) leaf blades [J]. Physiologia Plantarum, 1998, 104(4): 556–562 ◆