

臭氧胁迫下外源喷施亚精胺和 EDU 对小麦生理指标的影响

隋立华¹, 黄益宗^{1,*}, 王玮², 耿春梅², 殷宝辉²

1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085

2. 中国环境科学研究院, 北京 100012

摘要: 采用开顶式气室模拟研究外源喷施亚精胺(Spd)和EDU对O₃胁迫下小麦生理指标变化的影响,测定的生理指标包括丙二醛含量(MDA)、超氧化物歧化酶活性(SOD)、过氧化物酶活性(POD)、过氧化氢酶活性(CAT)、可溶性蛋白质含量、还原型谷胱甘肽含量(GSH)、谷胱甘肽还原酶活性(GR)、抗坏血酸含量(ASA)和抗坏血酸过氧化物酶活性(APX)。结果表明,外源喷施Spd和EDU可不同程度地提高小麦叶片的SOD、POD、CAT、APX和GR活性,降低MDA和ASA含量,提高GSH和可溶性蛋白含量。当Spd的浓度为0.25、0.50和0.75 mmol·L⁻¹时,小麦叶片POD活性比对照处理提高90.0%~226.7%,CAT活性提高21.4%~40.6%,APX活性提高164.2%~191.0%,MDA含量降低9.7%~42.5%。喷施300 mg·L⁻¹ EDU可导致小麦叶片POD、CAT和APX活性分别比对照处理提高76.8%、27.4%和128.1%,MDA和ASA含量降低,GSH含量提高25.6%。以上结果说明Spd和EDU是2种比较有效的缓解小麦O₃胁迫的抗氧化剂,可用来防护O₃对小麦的毒害。

关键词: 臭氧;亚精胺;EDU;小麦;抗氧化系统

文章编号: 1673-5897(2012)1-071-08

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

Effects of Spermidine and EDU on Physiological Indexes of Wheat under Ozone Stress

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

1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2. Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

Received 30 December 2010 **accepted** 9 May 2011

Abstract: Effects of exogenous spermidine (Spd) and ethylenediurea (EDU) on active oxygen scavenging system under ozone stress were studied by open top chambers (OTCs). Some physiological indexes including malondialdehyde (MDA), soluble protein, ascorbic acid (ASA), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) of wheat were investigated. The results showed that both Spd and EDU improved activities of SOD, POD, CAT, APX and GR, contents of GSH and soluble protein, while decreased the contents of MDA and ASA. Compared to the control treatment, activities of POD, CAT and APX in wheat leaf increased 90.0%~226.7%, 21.4%~40.6% and 164.2%~191.0%, respectively, while the contents of MDA decreased 9.7%~42.5% at Spd concentrations of 0.25, 0.50 and 0.75 mmol·L⁻¹. Compared to the control treatment, EDU concentration of 300 mg·L⁻¹ increased activities of POD, CAT and APX by 76.8%, 27.4% and 128.1%, respectively, MDA and ASA contents decreased by 17.5% and 14.9%, respectively, while the content of

收稿日期: 2010-12-30 录用日期: 2011-05-09

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) 资助。

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

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

GSH increased by 25.6%. The results indicated that Spd and EDU as two more effective antioxidants can be used to prevent O_3 poisoning.

Keywords: ozone; spermidine; ethylenediurea (EDU); wheat; antioxidation system

随着机动车的增多和矿物燃料的大量燃烧,近地层的 O_3 浓度以非同寻常的速度增加^[1]。在北半球中纬度地区, O_3 浓度以每年 0.5% ~ 2.0% 的速度增加,这主要归因于氮氧化物的大量排放。1993 年在北京地区监测的 1 614 个 O_3 样本数中,最大值为 $158 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$,超过国家空气质量标准的频度为:大于 1 级 ($60 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$) 的样本数占总样本数的 30%,大于 2 级 ($80 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$) 的占 15.4%,大于 3 级 ($100 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$) 的占 7.2%,全部样本数的平均值为 $46 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[2]。1995 年在广州地区监测了 468 个 O_3 样本,最大值为 $168 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$,超过国家空气质量标准 1 级的样本数占 36.8%,2 级占 17.5%,3 级占 8.3%,全部样本数的平均值为 $55 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[2]。最近,有研究者报道在我国的京津唐地区、长江三角洲地区以及其他一些地区近地层 O_3 浓度最高也达到 $150 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上^[3]。 O_3 对农业生产影响较大,欧洲、北美和许多发展中国家已有报道 O_3 对植物具有伤害作用,并导致农作物减产。根据美国全国农作物产量损失评估网络(NCLAN)研究,由于 O_3 的污染,美国每年农作物经济损失超过 30 亿美元^[4]。在英国, O_3 污染导致农作物产量损失约 5% ~ 15%,仅小麦损失就达 2 亿英镑^[5]。我国也有报道 O_3 对作物的危害作用^[6-9]。

多胺(polyamines, PAs)是生物体代谢过程中产生的一类具有强烈生理活性的低分子量脂肪族含氮碱。高等植物中常见的多胺包括腐胺(Put)、尸胺(Cad)、亚精胺(Spd)、精胺(Spm)等。植物中多胺常常以阳离子形式存在,能被动地束缚几种生物分子如DNA、蛋白质、膜磷脂和果胶多糖,参与蛋白质磷酸化、转录后修饰,并且影响植物体内的DNA、RNA和蛋白质生物合成。多胺可调整酶活性和离子平衡,作为一种激素媒介,多胺可加速植物的细胞分化从而调节植物的生长发育和提高植物的抗逆性^[10]。Spd是由Put和腺苷甲硫氨酸生物合成的,可能因为独特的分子结构其对植物的抗胁迫能力更为明显^[11]。

近年来,越来越多的学者开始了对PAs提高植物抗性机理进行探讨^[12-13]。 O_3 胁迫下外源喷施Spd对作物生理反应的影响目前还未见报道。本文研究 O_3 胁迫下外源喷施Spd和EDU对小麦生理指标变化的影响,为 O_3 污染防治和提高粮食产量提供科学

依据。

1 材料和方法(Materials and methods)

1.1 实验地点和材料

在北京市昌平区种子管理站($40^{\circ}12' \text{ N}$, $116^{\circ}8' \text{ E}$)内进行实验,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° C ,年均日照时数 2 684 h,无霜期为 200 d 左右。小麦为当地主要粮食作物。

实验用小麦品种为北农 9549(*Triticum aestivum* L. Beinong 9549),由北京农学院提供。盆栽用土取自昌平种子站内无污染农田 20 cm 表土。

1.2 O_3 熏气

盆栽小麦培育一个月后转移至自制的开顶式熏气系统进行 O_3 熏气实验, O_3 浓度为 $120 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 。开顶式熏气系统主要由开顶箱、箱内布气系统、鼓风机、 O_3 发生器、浓度控制系统和 O_3 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裹。箱体边长为 1 m,高 2.7 m,覆盖面积约为 4.8 m^2 。系统内 O_3 通过医用纯氧(99.5%)经 O_3 发生器(SK-CFG-3, 济南)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)调节 O_2 流量,进而控制系统内 O_3 浓度。箱内和自然大气 O_3 浓度通过 2 台 O_3 分析仪(Model 49c, Thermo Electron Co., Franklin, MA)进行连续监测。小麦每日熏气 8 h (9:00—17:00)连续熏气 7 d。

1.3 喷施 Spd 和 EDU 实验

小麦在 $120 \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度 O_3 熏蒸下,喷施不同的 Spd 和 EDU 处理:只喷施蒸馏水(简写 CK); $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd (简写 Y1); $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd (简写 Y2); $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd (简写 Y3); $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EDU (简写 EDU)。每天 8:00 和 18:00 各喷施一次,采用叶面喷施和根施的方式进行,每盆每次喷施量为 50 mL,喷施 Spd 和 EDU 时间共 7 d。

1.4 生理指标测定

小麦在 O_3 熏蒸 7 d 后开始采集叶片进行生理指标测定。在 4° C 条件下,称取叶片鲜样 0.5 g 左右加

入 4 mL pH 7.8 的磷酸缓冲液(含 1% 聚乙烯吡咯烷酮)和少量石英砂研磨至匀浆,匀浆 $15\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 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°C 下保存备用^[14]。

丙二醛(MDA)含量用硫代巴比妥酸法(TBA)测定,单位为 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ ^[15-16];超氧化物歧化酶歧化酶(SOD)的测定采用 NBT 光化学还原法,抑制 NBT 光化学还原 50% 的酶量为一个酶活性单位^[17];过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,以 OD470 值在 1 min 内增加 0.01 为一个酶活单位,以样品鲜重计算酶活性^[18];过氧化氢酶活性(CAT)活性采用紫外分光光度计法测定,以每分钟每克样品鲜重氧化的 H_2O_2 毫克数($\text{mgH}_2\text{O}_2\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$)表示;可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝染色法测定,以牛血清蛋白为标准蛋白^[19]。抗坏血酸(ASA)参照 Law 等^[20]方法测定;抗坏血酸过氧化物酶活性(APX)采用紫外吸收法测定,以每分钟 ΔA_{290} 为一个酶活力单位;还原型谷胱甘肽(GSH)以 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)显色法测定;谷胱甘肽还原酶活性(GR)测定是以每分钟还原产生 $1\text{ }\mu\text{g}$ GSH 为一个酶活力单位进行。

2 结果与分析(Results and analysis)

2.1 MDA 含量变化

MDA 是细胞膜脂过氧化的最终产物,含量高低可反应膜脂氧化水平。图 1 为 O_3 胁迫下外源喷施

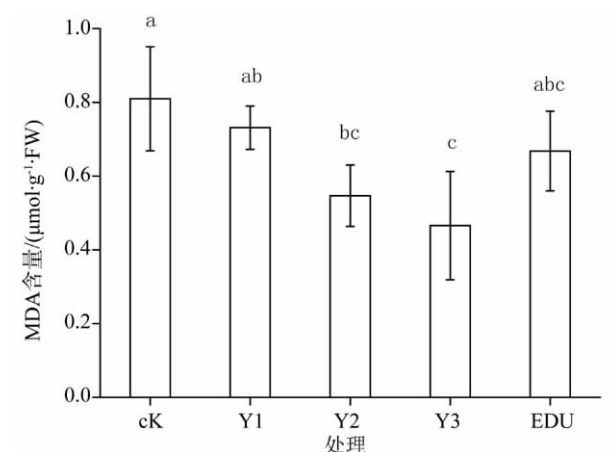


图 1 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 MDA 含量的影响

注:不同小写字母表示 Duncan's 检验中 $p < 0.05$, 相同字母表示差异不显著,下同。

Fig. 1 Effect of exogenous Spd and EDU on MDA contents in the leaf of winter wheat under ozone stress

Spd 和 EDU 对小麦叶片 MDA 含量的影响,从图中可以看出,随着 Spd 浓度从 $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 提高到 $0.75\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,小麦叶片 MDA 含量降低 9.7% ~ 42.5%,浓度为 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EDU 处理时 MDA 含量降低 17.5%。根据数理统计检验,喷施 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.75\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Spd 可导致小麦叶片 MDA 含量降低与 CK 处理相比达到了显著水平,说明喷施此浓度 Spd 在一定程度上缓解了小麦叶片的膜质过氧化水平。

2.2 SOD、POD 和 CAT 活性

由图 2 可以看出,喷施浓度为 $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EDU 可导致小麦叶片 SOD 活性比对照提高 72.3%。喷

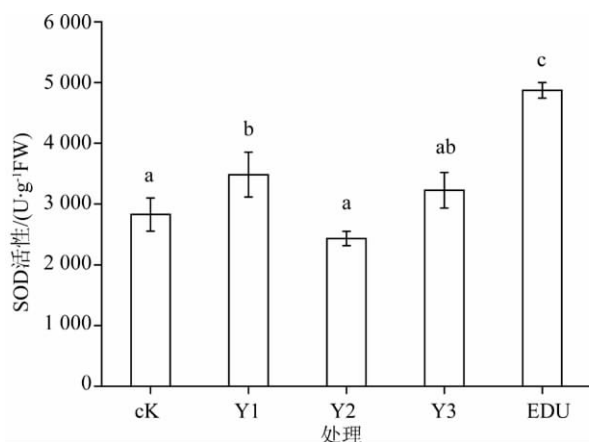


图 2 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effect of exogenous Spd and EDU on SOD activities in the leaf of winter wheat under ozone stress

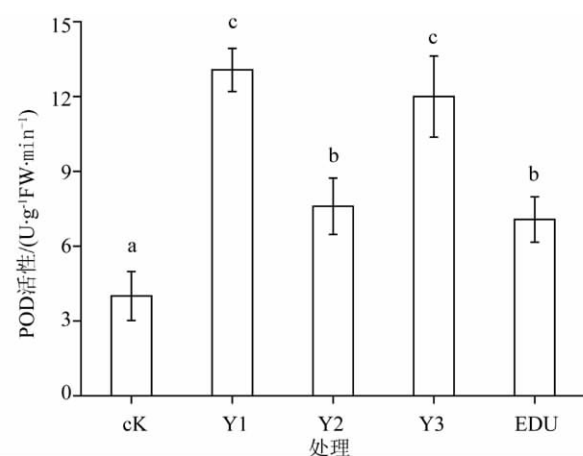


图 3 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 POD 活性的影响

Fig. 3 Effect of exogenous Spd and EDU on POD activities in the leaf of winter wheat under ozone stress

施 Spd 除了浓度为 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时小麦叶片 SOD 活性比对照显著提高外, 0.50 和 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd 处理的叶片 SOD 活性与对照相比均没有显著差异。

由图 3 和图 4 可以看出, 外源喷施 Spd 和 EDU 均能提高小麦叶片 POD 和 CAT 活性。与对照相比, 当 Spd 的浓度为 0.25 、 0.50 和 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 小麦叶片 POD 活性分别提高 226.7% 、 90.0% 和 200.0% , 小麦叶片 CAT 活性分别提高 21.4% 、 31.4% 和 40.6% 。喷施浓度为 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EDU 可导致小麦叶片 POD 活性提高 76.8% , CAT 活性提高 27.4% 。

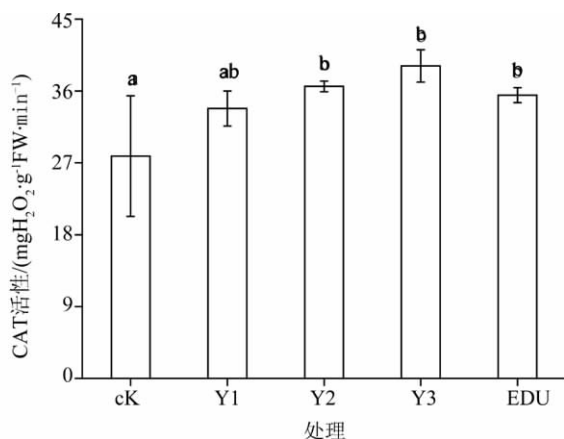


图 4 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 CAT 活性的影响

Fig. 4 Effect of exogenous Spd and EDU on CAT activities in the leaf of winter wheat under ozone stress

2.3 可溶性蛋白含量

图 5 为 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片可溶性蛋白含量的影响, 由图中可以看出, 与对

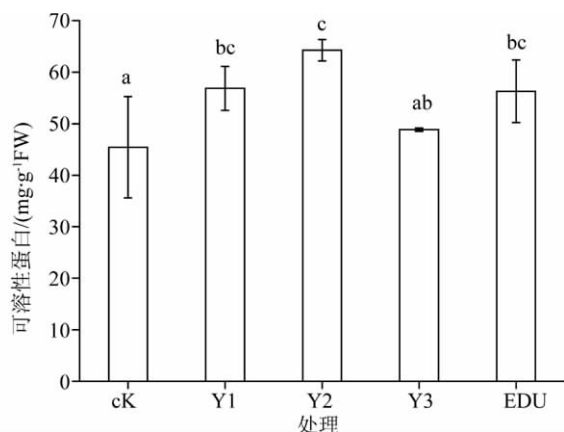


图 5 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig. 5 Effect of exogenous Spd and EDU on soluble protein contents in the leaf of winter wheat under ozone stress

照相比, 喷施 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd、 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd 和 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EDU 均可以显著提高小麦叶片可溶性蛋白含量, 分别提高 24.0% 、 41.5% 和 23.9% 。

2.4 ASA 含量和 APX 活性变化

喷施 Spd 和 EDU 均导致小麦叶片 ASA 含量显著降低。当喷施 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EDU 和浓度为 0.25 、 0.50 、 $0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd 时, 小麦叶片 ASA 含量分别比对照降低 16.9% 、 13.5% 、 16.1% 和 14.9% (图 6)。

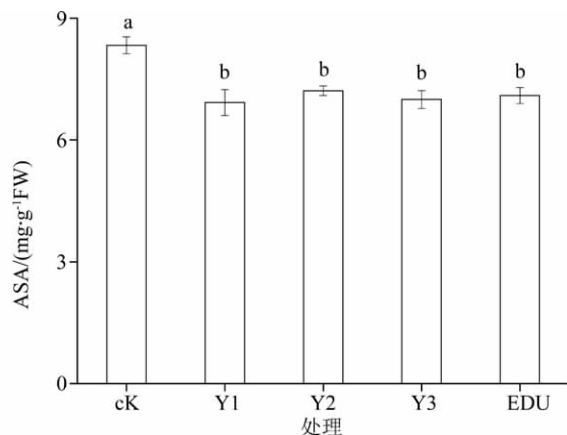


图 6 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 ASA 含量的影响

Fig. 6 Effect of exogenous Spd and EDU on ASA contents in the leaf of winter wheat under ozone stress

图 7 为 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 APX 活性的影响, 由图中可以看出, 喷施 Spd 和 EDU 均导致小麦叶片 APX 活性显著提高。与对照相比, 当喷施 Spd 的浓度为 0.25 、 0.50 和 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

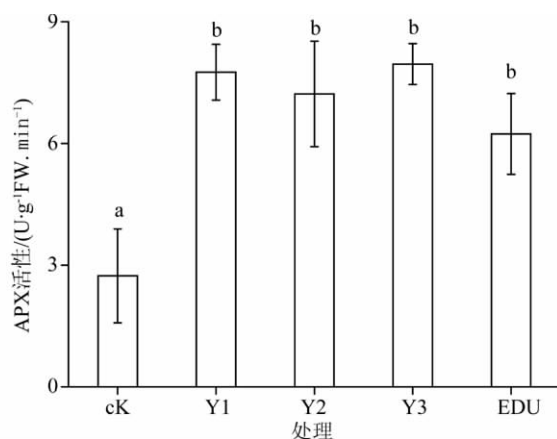


图 7 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 APX 活性的影响

Fig. 7 Effect of exogenous Spd and EDU on APX activities in the leaf of winter wheat under ozone stress

时,小麦叶片 APX 活性分别提高 183.8%、164.2% 和 191.0%,喷施浓度为 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 EDU 时,小麦叶片 APX 活性提高 128.1%。

2.5 GSH 含量和 GR 活性变化

O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 GSH 含量的影响见图 8。除了喷施 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd 处理与 CK 处理相比 GSH 含量不显著以外, $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd、 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd 和 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EDU 处理的 GSH 含量与 CK 处理相比均达到显著差异水平,GSH 含量分别比 CK 处理提高 17.1%、39.9% 和 25.6%。

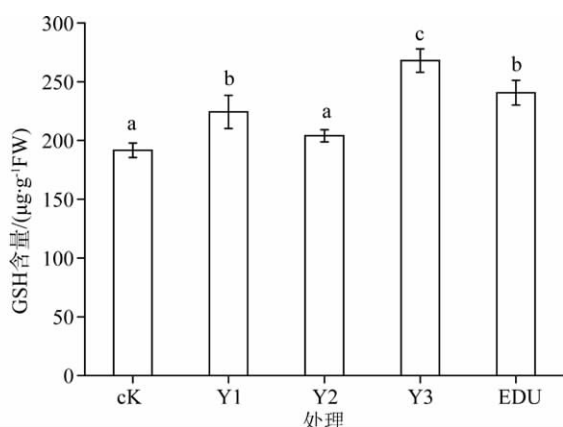


图 8 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 GSH 含量的影响

Fig. 8 Effect of exogenous Spd and EDU on GSH contents in the leaf of winter wheat under ozone stress

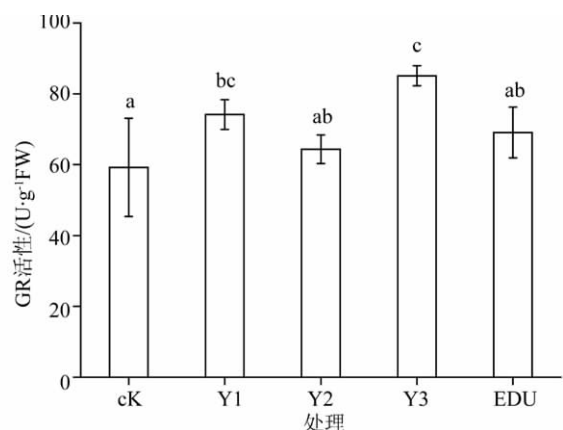


图 9 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 GR 活性的影响

Fig. 9 Effect of exogenous Spd and EDU on GR activities in the leaf of winter wheat under ozone stress

图 9 为 O_3 胁迫下外源喷施 Spd 和 EDU 对小麦叶片 GR 活性的影响,从图中可以看出,与对照相比喷施浓度为 0.25 和 $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Spd 可分别导致小麦叶片 GR 活性分别提高 25.2% 和 43.7%。与对照相比,喷施 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Spd 和 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EDU 也导致小麦叶片 GR 活性有所提高,但是它们之间的差异没有达到显著水平。

3 讨论 (Discussion)

在 O_3 胁迫下,植物组织内将产生大量的活性氧物质(如 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{HO}^{\cdot}$ 和 H_2O_2 等),这些活性氧物质会造成膜脂氧化,并导致抗氧化系统发生变化^[21-22]。 O_3 可造成水稻和小麦体内活性氧产生和清除之间的失衡,加剧了这两种植物的膜脂过氧化作用,对膜系统产生危害^[23]。黄玉源等^[24]研究了 O_3 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 O_3 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了不同程度的变化。

SOD 是植物体内清除活性氧物质(active oxygen species, AOS)的第一道防线,在抗氧化酶类中处于核心地位,其酶促反应产生 H_2O_2 和 O_2 ^[25],产生的 H_2O_2 可由 POD 和 CAT 来清除^[26]。只有 SOD、POD、APX 和 CAT 协同作用,才能使生物自由基维持在一个较低水平,从而减少生物自由基对细胞的伤害。另外, H_2O_2 的清除还依赖于 ASA-GSH 循环系统(包括 ASA、APX、GSH 和 GR 等)来完成,APX 被认为是 H_2O_2 脱毒作用中最重要的植物过氧化物酶^[27],它以 ASA 为电子供体催化 H_2O_2 还原,同时氧化为单脱氢抗坏血酸(MDHA),MDHA 可自发歧化生成脱氢抗坏血酸(DHA),单脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)利用还原型谷胱甘肽(GSH)提供的电子,将 DHA 还原为 AsA,GSH 同时被氧化成氧化型谷胱甘肽(GSSG),GSSG 又在谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)催化下被光合作用产生的还原型辅酶 II(NADPH)还原为 GSH,最终使 H_2O_2 分解为 H_2O ,因此,APX、GR 是这一循环系统中的重要酶组分,ASA 和 GSH 是非酶促系统的重要抗氧化剂^[28]。

多胺是一种抗氧化剂,是一类广泛分布于植物细胞中的小分子量并且具有生物活性的脂肪族含氮碱,被认为在生物体内信号传递中起“第二信使”的作用,与植物的生长、物质形态转化和对胁迫的反应有密切关系。在不同的环境胁迫下,多胺含量的改

变可以稳定膜的结构^[29],调节生物大分子合成^[30],提高植物抗氧化酶活性^[25],清除活性氧^[31],抑制乙烯合成^[32]。Spd是多胺的一种,它可以缓解植物的膜脂过氧化作用。本研究中发现外源喷施Spd可导致小麦叶片MDA含量下降,GSH含量增加,SOD、CAT、POD、APX和GR活性有所提高,说明喷施Spd可缓解O₃胁迫对植物的伤害。喷施Spd导致小麦叶片ASA含量有所减少,这可能是由于APX活性的增加使得更多的还原态ASA转换成氧化态。一些研究发现Spd和Spm可以与自由基相结合,通过阻止脂质过氧化来抵制氧化胁迫^[33-34]。段辉国等^[35]的研究也表明,外源Spd的喷施可提高渗透胁迫下小麦幼苗质膜的稳定性和完整性,从而提高植物的抗渗透胁迫的能力。据报道^[36],在渗透胁迫下抗性强的品种其叶片含有较高浓度的自由态亚精胺(Free-Spd)和自由态精胺(Free-Spm),而抗性弱的品种其叶片自由态腐胺(Free-Put)含量较高,因此推断高的(Free-Spd + Free-Spm)/Free-Put比值有利于提高小麦抗渗透胁迫能力。Spd缓解植物环境胁迫的原因可能是:Spd诱导了多胺的合成,使其在植物体内大量积累,从而促进酶蛋白的合成,提高了总酶的活性^[37];同时多胺也可以直接结合到酶分子上,提高了单位酶的活性^[38],减缓O₃胁迫下O₂⁻的产生速率,降低植物细胞内ROS对植物膜系统的伤害。另一方面,Spd的多聚阳离子特性使其能够与膜上的酸性蛋白质、膜磷脂层、细胞壁等组分通过非共价键结合并维持细胞膜的稳定性和完整性,从而减缓了膜脂过氧化物的发生。据Hummel等^[39]研究,环境胁迫下植物组织内Free-Put含量上升对植物生长不利,而当Free-Put含量不断向Free-Spd和Free-Spm转化时将提高植物的抗逆性。在生物体内Free-Put是Spd合成的前体,Spd通过反应生成精胺。植物喷施外源Spd后,通过叶片的吸附作用使植物体内保持较高的Spd含量,而高含量的Spd对腐胺的合成将产生负反馈作用,从而降低植物体内腐胺的含量,提高精胺的含量,这样有利于提高植株的抗逆能力。

植物体内的可溶性蛋白既是氮素吸收同化的产物,又是植物体内可转运氮的贮存物,是构成光合与其他生理生化过程的活性基础,因此,叶片可溶蛋白含量的高低可反映植物生理生化的状态^[40]。从本研究的结果来看,外源喷施0.25和0.50 mmol·L⁻¹ Spd导致小麦叶片可溶性蛋白含量分别比对照提高24.0%和41.5%,但是当Spd浓度升高到0.75

mmol·L⁻¹时叶片可溶性蛋白含量又出现降低的趋势,说明Spd对叶片可溶性蛋白含量的影响存在一定的剂量效应,在一定范围内将产生积极的诱导效果,但当浓度过高时反而产生抑制效果。有人研究Spd对小麦离体叶片蛋白质含量与蛋白酶活性的影响,发现Spd可抑制小麦离体叶片蛋白质含量的降低,可能是其在一定程度上促进某些蛋白质合成和通过“电荷效应”抑制蛋白质的降解和蛋白酶活性的升高^[41]。

EDU也是一种抗氧化的物质,近年来利用EDU来缓解O₃胁迫的研究开展不少^[42-45],有的研究认为EDU对作物的影响不大,有的认为EDU对作物有负面影响,也有较多研究者认为EDU是一种有效的外源性抗氧化剂,它可以调节植物体内生理机能,减轻植物的O₃伤害。从本研究的结果看,外源喷施300 mg·L⁻¹ EDU可导致小麦MDA和ASA含量分别比对照降低17.3%和14.9%,SOD、CAT、POD和APX活性分别比对照提高72.3%、27.4%、76.8%和128.1%,这说明喷施EDU可以有效地缓解小麦的O₃胁迫。EDU可在非原生质中维持10 d以上,而不进入细胞,这表明EDU在保护植物免受O₃伤害起到了直接的作用^[42,46]。EDU喷施浓度的不同对作物影响很大,高浓度EDU(大于500 mg·L⁻¹)对作物生长有毒害作用^[44]。

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,近年来在国内外核心期刊发表论文近100篇。

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(2–3): 392–400
- [3] Zhang Y H, Shao K S, Tang X Y. Study of urban photochemical smog pollution in China [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinesis*, 1998, 34(2–3): 392–400 (in Chinese)
- [4] Shao M, Tang X, Zhang Y, et al. City clusters in China: Air and surface water pollution [J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2006, 4(7): 353–361
- [5] Adams R, Glycer J, McCarl B. The NCLAN economic assessment: Approach, findings and implications [M].

- Assessment of Crop Loss from Air Pollutants, London: Elsevier, 1988: 473–504
- [5] Brown M, Cox R, Bull K, et al. Quantifying the fine scale (1km×1km) exposure, dose and effects of ozone: Part 2 estimating yield losses for agricultural crops [J]. *Water, Air & Soil Pollution*, 1995, 85(3): 1485–1490
- [6] Feng Z W, Jin M H, Zhang F Z, et al. Effects of ground-level ozone (O_3) pollution on the yields of rice and winter wheat in the Yangtze river delta [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2003, 15(3): 360–362
- [7] 姚芳芳, 王效科, 陈展, 等. 农田冬小麦生长和产量对臭氧动态暴露的响应 [J]. *植物生态学报*, 2008, 32(1): 212–219
- Yao F F, Wang X K, Chen Z, et al. Response of photosynthesis, growth and yield of field-grown winter wheat to ozone exposure [J]. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(1): 212–219 (in Chinese)
- [8] 刘宏举, 郝有飞, 吴荣军, 等. 地表臭氧浓度增加对南京地区冬小麦生长和产量的影响 [J]. *中国农业气象*, 2009, 30(2): 195–200
- Liu H J, Zheng Y F, Wu R J, et al. Impacts of increasing surface ozone on growth and yield of winter wheat in Nanjing area [J]. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2009, 30(2): 195–200 (in Chinese)
- [9] 金东艳, 赵天宏, 付宇, 等. 臭氧浓度升高对大豆光合作用及产量的影响 [J]. *大豆科学*, 2009, 28(4): 632–635
- Jin D Y, Zhao T H, Fu Y, et al. Effects of elevated ozone concentration on soybean photosynthesis and yield [J]. *Soybean Science*, 2009, 28(4): 632–635 (in Chinese)
- [10] Martin-Tanguy J. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches) [J]. *Plant Growth Regulation*, 2001, 34(1): 135–148
- [11] 张胜, 刘怀攀, 陈龙, 等. 亚精胺提高大豆幼苗的抗旱性 [J]. *华北农学报*, 2005, 4: 25–27
- Zhang S, Liu H P, Chen L, et al. Spd enhanced resistance of soybean seedling under water stress [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2005, 4: 25–27 (in Chinese)
- [12] Del Duca S, Beninati S, Serafini-Fracassini D. Polyamines in chloroplasts: Identification of their glutamyl and acetyl derivatives [J]. *Biochemical Journal*, 1995, 305(1): 233–237
- [13] Shen W, Nada K, Tachibana S. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars [J]. *Plant Physiology*, 2000, 124(1): 431–439
- [14] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein) [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244(22): 6049–6055
- [15] Heath R, 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
- [16] Hodges D, DeLong J, Forney C, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds [J]. *Planta*, 1999, 207(4): 604–611
- [17] Beyer W. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions [J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, 161(2): 559–566
- [18] Beffa R, Martin H, Pilet P. In vitro oxidation of indoleacetic acid by soluble auxin-oxidases and peroxidases from maize roots [J]. *Plant Physiology*, 1990, 94(2): 485–491
- [19] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1–2): 248–254
- [20] Law M, Charles S, 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
- [21] Wolff S, Garner A, Dean R. Free radicals, lipids and protein degradation [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1986, 11(1): 27–31
- [22] Asada K, Takahashi M. Production and Scavenging of Active Oxygen in Photosynthesis [M]. Amsterdam: Elsevier, 1987: 227–288
- [23] 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
- Jin M H, Feng Z W, Zhang F Z. Effects of ozone on membrane lipid peroxidation and antioxidant system of rice leaves [J]. *Environmental Science*, 2000, 21(3): 1–5 (in Chinese)
- [24] 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
- 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)
- [25] 任红旭, 陈雄, 王亚馥. 抗旱性不同的小麦幼苗在水分和盐胁迫下抗氧化酶和多胺的变化 [J]. *植物生态学报*, 2001, 25(6): 709–715
- Ren H X, Chen X, Wang Y F. Changes in antioxidative enzymes and polyamines in wheat seedlings with different drought resistance under drought and salt stress [J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 2001, 25(6): 709–715 (in Chinese)
- [26] 焦彦生, 郭世荣, 李娟, 等. 钙对根际低氧胁迫下黄瓜

- 幼苗活性氧代谢的影响[J]. 西北植物学报, 2006, 26(10): 2056–2062
- Jiao Y S, Guo S R, Li J, et al. Effect of low rhizosphere oxygen stress on reactive oxygen species metabolism in cucumber seedlings [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(10): 2056–2062 (in Chinese)
- [27] Noctor G, Foyer C. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 1998, 49(1): 249–279
- [28] Asada K. Ascorbate peroxidase Ca hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants [J]. *Physiologia Plantarum*, 1992, 85(2): 235–241
- [29] Borrell A, Carbonell L, Farras R, et al. Polyamines inhibit lipid peroxidation in senescing oat leaves [J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 99(3): 385–390
- [30] Tiburcio A, Campos J, Figueras X, et al. Recent advances in the understanding of polyamine functions during plant development [J]. *Plant Growth Regulation*, 1993, 12(3): 331–340
- [31] Tadolini B. Polyamine inhibition of lipoperoxidation. The influence of polyamines on iron oxidation in the presence of compounds mimicking phospholipid polar heads [J]. *Biochemical Journal*, 1988, 249(1): 33–36
- [32] Lee M M, Lee S H, Park K Y. Effects of spermine on ethylene biosynthesis in cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers during senescence [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1997, 151(1): 68–73
- [33] Drolet G, Dumbroff E, Legge R, et al. Radical scavenging properties of polyamines [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(2): 367–371
- [34] 段九菊, 郭世荣, 樊怀福, 等. 盐胁迫对黄瓜幼苗根系脯氨酸和多胺代谢的影响[J]. 西北植物学报, 2006, 26(12): 2486–2492
- Duan J J, Guo S R, Pan H F, et al. Effects of salt stress on proline and polyamine metabolisms in the roots of cucumber seedlings [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(12): 2486–2492 (in Chinese)
- [35] 段辉国, 雷韬, 卿东红, 等. 亚精胺对渗透胁迫小麦幼苗生理活性的影响[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2006, 43(4): 922–926
- Duan H G, Lei T, Qing D H, et al. The effects of spermidine physiological activities of wheat seedlings under osmotic stress [J]. *Journal of Sichuan University: Natural Science Edition*, 2006, 43(4): 922–926 (in Chinese)
- [36] Liu H, Dong B, Zhang Y, et al. Relationship between osmotic stress and the levels of free, conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedlings [J]. *Plant Science*, 2004, 166(5): 1261–1267
- [37] Kramer G F, Norman H A, Krizek D T, et al. Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(7): 2101–2108
- [38] 徐仰仓, 王静, 刘华, 等. 外源精胺对小麦幼苗抗氧化酶活性的促进作用[J]. 植物生理学报, 2001, 27(4): 349–352
- Xu Y C, Wang J, Liu H, et al. Promoting effect of exogenous spermine on anti-oxidative enzyme activity in wheat seedlings [J]. *Acta Photophysiological Sinica*, 2001, 27(4): 349–352 (in Chinese)
- [39] Hummel I, Couee I, ElAmrani A, et al. Involvement of polyamines in root development at low temperature in the subantarctic cruciferous species *Pringlea antiscorbutica* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(373): 1463–1473
- [40] 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)
- [41] 段辉国. 亚精胺对小麦离体叶片中蛋白质含量与蛋白酶的影响[J]. 四川师范学院学报: 自然科学版, 2000, 21(1): 44–47
- Duan H G. of Speridine on protein contents and protease during senescence of fixcised wheat leaves [J]. *Journal of Sichuan Teachers College: Natural Science*, 2000, 21(1): 44–47 (in Chinese)
- [42] Heggstad H. Reduction in soybean seed yields by ozone air pollution [J]. *Journal of the Air Pollution Control Association*, 1988, 38(8): 1040–1041
- [43] Clarke B, Greenhalgh-Weidman B, Brennan E. An assessment of the impact of ambient ozone on field-grown crops in New Jersey using the EDU method: Part 1 white potato (*Solanum tuberosum*) [J]. *Environmental Pollution*, 1990, 66(4): 351–360
- [44] Kostka-Rick R, Manning W. Dose-response studies with ethylenediurea (EDU) and radish [J]. *Environmental Pollution*, 1993, 79(3): 249–260
- [45] Manning W. Establishing a cause and effect relationship for ambient ozone exposure and tree growth in the forest: Progress and an experimental approach [J]. *Environmental Pollution*, 2005, 137(3): 443–454
- [46] Szantoi Z, Chappelka A, Muntifering R, et al. Use of ethylenediurea (EDU) to ameliorate ozone effects on purple coneflower (*Echinacea purpurea*) [J]. *Environmental Pollution*, 2007, 150(2): 200–208 ◆