

高浓度臭氧对春小麦膜脂过氧化和抗氧化系统的影响

徐 玲¹, 赵天宏^{1*}, 胡莹莹¹, 史 奕²

(1. 沈阳农业大学, 辽宁 沈阳 110161; 2. 中国科学院沈阳生态所, 辽宁 沈阳 110016)

摘 要: 利用开顶式气室(OTC)研究了高浓度 O₃ 对春小麦叶片膜脂过氧化程度、活性氧含量、抗氧化系统的影响。结果表明,随着臭氧浓度的升高,不同生育时期小麦叶片的相对电导率、MDA 含量显著上升 ($P < 0.01$); 穗粒重明显下降 ($P < 0.05$); O₂^{-·} 产生速率和 H₂O₂ 含量显著增加 ($P < 0.05$)。SOD 活性、CAT 活性、POD 活性随生育进程和 O₃ 浓度升高而显著下降。而对抗氧化物如类 Car 含量、ASA 含量的影响不显著。臭氧浓度增加,促使小麦叶片膜的伤害,引发了膜脂过氧化作用,产生了过多的活性氧自由基,破坏了抗氧化系统功能,影响了叶片的正常生理代谢。

关键词: 臭氧; 春小麦; 膜脂过氧化; 抗氧化系统

中图分类号: S 512.1⁺201 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2008)02-0074-05

众所周知,在海平面至距离地面 15 km 范围内的对流层中的臭氧,是一种对地球上的生命包括人类和动植物等有害的气体污染物。对流层中 O₃ 浓度由上个世纪 10~15 nmol/mol 已升至 30~40 nmol/mol,仍在继续增加^[1]。O₃ 是一种可以引起植物毒害甚至导致物种灭绝的空气污染物^[2]。以往对近地面 O₃ 胁迫的研究涉及作物生长发育、光合作用、产量、生物量及同化产物分配等方面。黄韵珠、王勋陵等^[3,4]研究了 O₃ 对辣椒不同发育时期光合作用、对倒挂金钟和蚕豆呼吸作用的影响;王慧觉、郑有斌^[5]研究了 10 个作物对 O₃ 的敏感性;王春乙、白月明、郭建平^[6~9]从 1998 年开始研究 O₃ 浓度增加对主要农作物叶片伤害、产量及品质的影响。而本实验从活性氧代谢生理角度,研究了高浓度 O₃ 对春小麦膜脂过氧化程度及抗氧化系统的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料与实验设计

以春小麦 (*Triticum aestivum* L)“辽春 15”(辽宁省农科院提供)为试材,利用开顶式气室(Open Top Chamber,简称 OTC)对作物进行熏蒸试验。试验在中国科学院沈阳野外农田生态系统生态站(国家级试验站)进行,主要设备为 6 个 OTC(边长 1.15 m,高 2.4 m,玻璃室壁的正八边形)及与其配套的通气、通风控制设备,主要包括臭氧发生器(GP-5,中国)、臭氧传感器(S-900,新西兰)用于监控开顶箱内 O₃ 浓度,温湿度传感器采集开顶箱内温湿

度数据,以及数据分析与自动控制充气系统。在整个试验期间气室内实际 O₃ 浓度控制稳定,浓度在 80±10 nmol/mol 范围内。

试验设两个处理:高浓度 O₃ 处理(浓度为 80±10 nmol/mol)和空白对照(自然空气中 O₃ 浓度,CK),每个处理(气室)设 3 次重复。2006 年 4 月 1 日播于盆口直径 26 cm、深 30 cm 的瓦盆中,每个气室 15 盆。三叶期每盆均匀定植 15 株,试验期间水分、肥料均匀一致,无病虫害及杂草等限制因子。于 4 月 28 日开始通气,并适应性熏气 3 d,正式熏气在 2006 年 5 月 1 日至 6 月 20 日。

每天熏气的时间为 9:00~17:00,整个生长季共熏气 50 d。分别在 5 月 24 日(孕穗期)和 6 月 5 日(开花期)取样。选择小麦植株的上部全展叶为试材,每次每个气室取小麦 3 盆,每盆取样 5 株。测定指标结果均取平均值并进行方差分析(ANOVA),并做出标准误。

1.2 指标测定

1.2.1 膜脂过氧化指标的测定 用 DDS-11A 型电导率仪测定电解质渗出率,确定膜透性的变化;采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量^[10]。

1.2.2 活性氧测定 采用羟胺法测定超氧阴离子自由基(O₂^{-·})的产生速率;H₂O₂ 含量的测定为分光光度计法^[10]。

1.2.3 抗氧化酶活性的测定 过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法,以每分钟 OD₄₇₀ 变化量

收稿日期:2007-08-06; 修改日期:2007-12-11

基金项目:国家自然科学基金项目(30500069,30570348);中科院陆地生态过程重点实验室基金(2005)

作者简介:徐 玲(1982-),女,青海西宁人,硕士研究生,研究方向植物生理生态学。

* 通讯作者:赵天宏, E-mail: zth1999@163.com

为酶活性单位;过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外吸收法,每分钟 ΔA_{240} 下降0.01为一个酶活力单位;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用NBT光化还原法,抑制NBT光化学还原50%的酶量为一个酶活性单位^[1]。

1.2.4 抗氧化物测定 类胡萝卜素含量用乙醇丙酮混合法测定;分光光度计法测定ASA含量^[19]。

1.2.5 生物量和籽粒产量测定 植株收获后,每个气室取样10株,自然风干,然后将籽粒、茎、叶分别烘干,测定籽粒重及地上部生物量干重。

2 结果与分析

2.1 高浓度O₃对小麦生物量和穗粒重的影响

如图1所示,O₃浓度增加处理使生物量有所下降,但与CK差异不显著($P < 0.05$)。而小麦穗粒重比对照下降了20.9%,与CK相比呈明显下降($P < 0.05$)。

2.2 高浓度O₃对小麦叶片膜脂过氧化的影响

在不同生育时期,高浓度O₃处理的小麦叶片

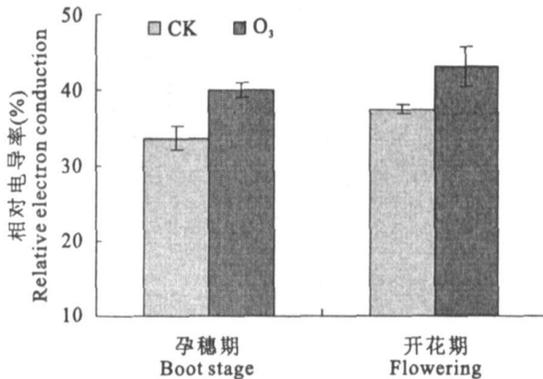


图2 在不同生育时期高浓度O₃对膜透性的影响

Fig. 2 Effect of ozone treatment on membrane permeability in varied growth stage

2.3 高浓度O₃对小麦叶片活性氧的影响

如图4所示,高浓度O₃下,O₂⁻的产生速率在孕穗期和开花期分别比CK处理增加21.1%、8.6%。O₂⁻在孕穗期增加较大,高浓度O₃处理与CK差异显著($P < 0.05$)。在开花期高浓度O₃处理和CK之间无明显差异。

高浓度O₃也使叶片中H₂O₂含量增加,孕穗期和开花期分别比CK处理上升了10.8%、14.2%,如图5。高浓度O₃下,在孕穗期H₂O₂含量与CK间有极显著差异($P < 0.01$)。在开花期显著差异($P < 0.05$)。

膜透性都明显高于CK的膜透性($P < 0.05$),分别比对照增加17.6%和16.2%。在孕穗期与CK间差异达极显著水平($P < 0.01$),如图2。

图3表明,在O₃浓度升高条件下,MDA含量在孕穗期是CK的118%,在开花期是CK的113.6%。O₃浓度升高使MDA含量在不同时期都比CK极显著增加($P < 0.01$)。

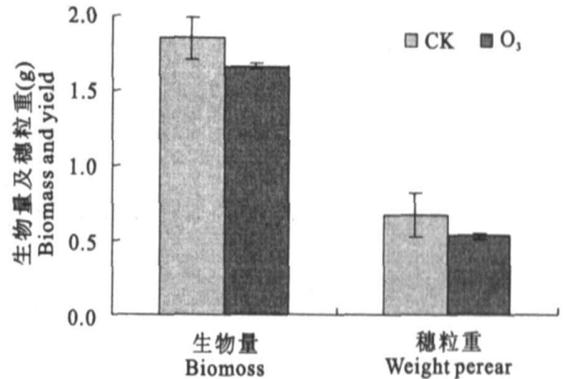


图1 高浓度O₃对小麦生物量和穗粒重的影响

Fig. 1 Effect of ozone treatment on biomass and yield

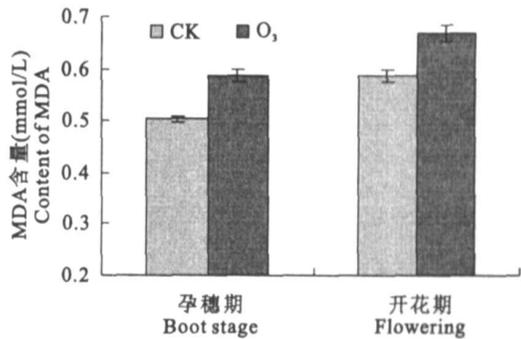


图3 高浓度O₃对小麦叶片丙二醛含量的影响

Fig. 3 Effect of ozone treatment on MDA content

2.4 高浓度O₃对小麦叶片抗氧化酶活性的影响

在O₃浓度升高条件下,SOD活性在孕穗期和开花期分别较CK减少11.7%、13%,如图6。不同生育时期比较,孕穗期CK和O₃处理之间有显著差异($P < 0.05$),开花期O₃处理和CK间差异极显著($P < 0.01$)。

如图7所示,高浓度O₃处理下,CAT活性在孕穗期比CK下降了16.2%。在开花期比CK低17.6%。CAT活性随生育进程和O₃浓度升高而显著下降($P < 0.05$)。伴随小麦的生长发育,从孕穗期到开花期,CAT活性减弱。孕穗期O₃处理和CK间差异显著($P < 0.05$),开花期O₃处理和CK间差

异极显著 ($P < 0.01$)。

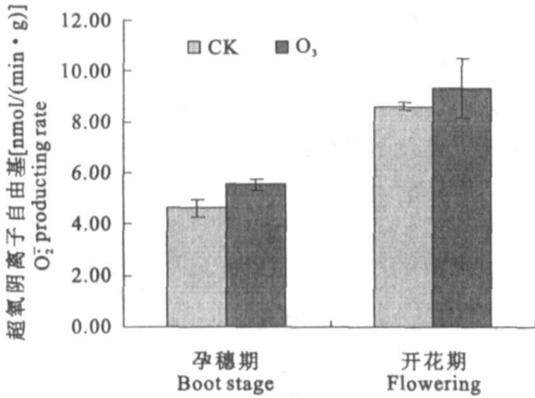


图 4 高浓度 O₃ 条件下小麦 O₂^{•-} 产生速率的变化

Fig. 4 Changes of O₂^{•-} producing rates of wheat leaves under ozone treatment

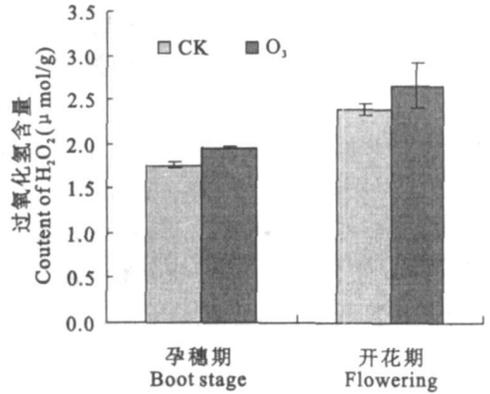


图 5 高浓度 O₃ 对 H₂O₂ 含量的影响

Fig. 5 Effect of ozone treatment on H₂O₂ content

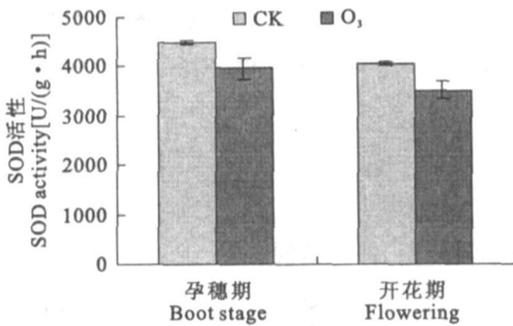


图 6 高浓度 O₃ 对小麦 SOD 活性的影响

Fig. 6 Changes of SOD activity of wheat leaves under ozone treatment

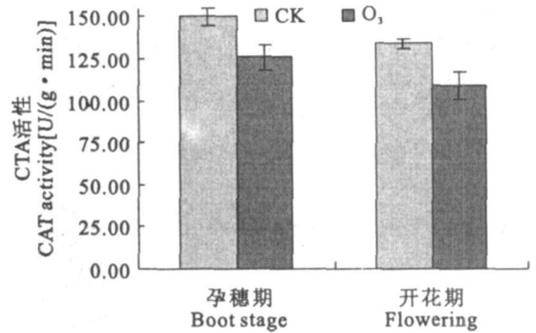


图 7 高浓度 O₃ 处理对 CAT 活性的影响

Fig. 7 Effect of ozone treatment on CAT activity

在不同时期高浓度 O₃ 处理下, 叶片中 POD 活性分别比降低 25.0%、24.3%, 如图 8 所示。POD 活性随生育进程和 O₃ 浓度升高而显著下降 ($P < 0.05$)。O₃ 处理与 CK 之间在孕穗期差异极显著 ($P < 0.01$), 而在开花期呈差异显著 ($P < 0.05$)。

2.5 高浓度 O₃ 对小麦叶片抗氧化物的影响

如图 9, 小麦叶片中 Car 含量随生育进程显著降低 ($P < 0.05$), 其中孕穗期 O₃ 处理和 CK 之间无明显差异, 开花期 O₃ 处理与 CK 间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 10 表明, 随生育期延长, 孕穗期和开花期之间 ASA 含量降低显著 ($P < 0.05$)。然而 O₃ 处理与 CK 处理间差异不显著 ($P < 0.05$)。

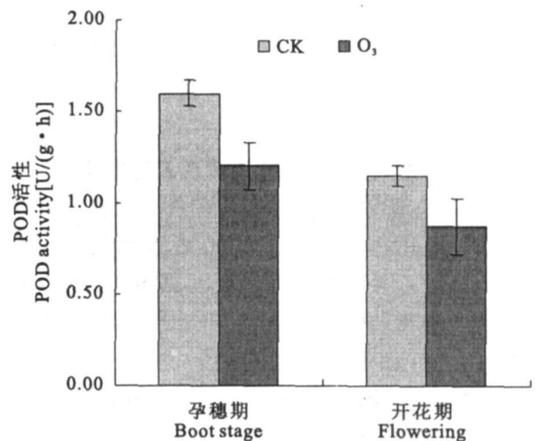


图 8 高浓度 O₃ 对 POD 活性的影响

Fig. 8 Effect of ozone treatment on POD activity of wheat leaves in varied growth stage

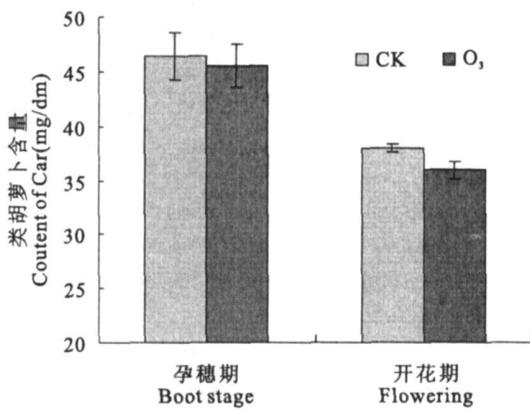
图9 高浓度O₃对小麦叶片类胡萝卜素含量的影响

Fig. 9 Effect of ozone treatment on the carotenoid content of wheat leaves

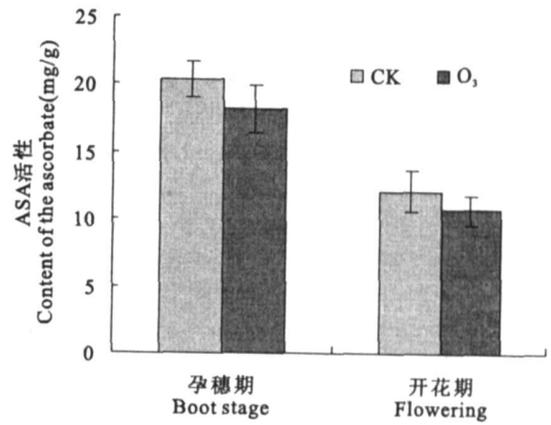
图10 高浓度O₃对小麦叶片ASA含量的影响

Fig. 10 Effect of ozone treatment on the ascorbate content of wheat leaves

3 结论

植物在逆境下会导致细胞膜受损,从而影响正常的生理机能。本试验表明,在O₃浓度升高条件下,MDA含量在孕穗期、开花期分别为差异极显著($P < 0.01$)。小麦叶片膜透性明显高于CK处理。膜透性的增加和MDA含量的升高呈极显著的正相关($R = 0.964$)。而质膜内的氨基酸、蛋白质、不饱和脂肪酸和硫氢残基是臭氧的潜在作用位点,臭氧可以氧化、改变这些物质,从而增加膜透性,使植物发生伤害^[13]。

臭氧作为一种强氧化剂,通过气孔进入叶片组织内并被转化为活性氧。这些活性氧能同膜脂发生反应,导致形成有毒的中间产物,对植物造成伤害。本试验中, O_2^- 的产生速率在高浓度O₃条件下各时期都有不同程度的增加。 O_2^- 参与并加剧了脂质过氧化作用^[13],MDA含量升高。O₃浓度升高使叶片中H₂O₂含量显著增加($P < 0.05$)。

在本试验O₃浓度处理下,SOD、CAT和POD活性均随O₃浓度增加而迅速降低。SOD和CAT活性在孕穗期和开花期分别较CK差异显著($P < 0.05$)、极显著($P < 0.01$)。而POD活性在孕穗期差异极显著($P < 0.01$),在开花期差异显著($P < 0.05$)。同时SOD、CAT和POD活性随生育进程而显著下降($P < 0.05$)。伴随小麦的生长发育,孕穗期到开花期,其抗逆能力下降,CAT活性减弱,POD的活性也下降。研究冬小麦、水稻、油菜和菠菜得出,O₃浓度增加可导致叶片中的CAT、SOD活性开始均随O₃浓度增加而迅速增强,到达一个峰值后又急剧或逐渐下降,甚至可能低于对照水平,呈L形^[14]。在以往研究中,POD活性在受O₃污染后便

升高^[15,16],认为臭氧对POD活性有促进作用;有的研究表明在低浓度时,POD活性上升,但在高浓度、较长时间处理后,则表现出活性下降的情况^[13]。

随着叶片的衰老,叶片中Car含量和ASA含量都显著下降($P < 0.05$)。O₃浓度增加也使小麦叶片中抗氧化物含量降低。Car含量在开花期显著降低($P < 0.05$)。然而高浓度O₃处理对ASA含量的影响不显著($P < 0.05$)。

高浓度O₃处理加速小麦叶片的衰老,伤害最终表现在收获的生物量上。Chamides预计10%~35%的世界谷物生产地区已经处于O₃胁迫下^[17]。本试验也表明高浓度O₃影响了小麦干物质的积累,地上部生物量及穗粒重均有下降。且穗粒重呈明显下降($P < 0.05$)。

参考文献:

- [1] Lawson T, Craigan J. Impact of elevated CO₂ and O₃ on gas exchange parameters and epidermal characteristics in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(369): 737-746.
- [2] Smith H, Jesse A. Atmospheric science: Detox strategy for NO_x and VOCs [J]. *Science*, 2004, 304(9): 173.
- [3] 黄韵珠, 王勋陵. 臭氧对辣椒不同发育时期光合作用的影响 [J]. *农业环境保护*, 1991, 10(2): 60-63.
- [4] 王勋陵, 郭清霞. 臭氧对倒挂金钟和蚕豆呼吸作用的影响 [J]. *环境科学*, 1990, 11(2): 31-35.
- [5] 王慧觉, 郑有斌. 臭氧陆生生态影响的实验研究 [J]. *武汉交通科技大学学报*, 1997, 21(3): 268-274.
- [6] 白月明, 郭建平, 刘玲, 等. 臭氧对水稻叶片伤害、光合作用及产量的影响 [J]. *气象*, 2001, 27(6): 17-21.
- [7] 白月明, 郭建平, 王春乙, 等. 水稻和冬小麦对臭氧的反应及其敏感性试验研究 [J]. *中国生态农业学报*, 2002, (1): 13-16.
- [8] 白月明, 霍治平, 王春乙, 等. 臭氧浓度增加对冬小麦叶片影响

的试验研究[J]. 中国农业气象, 2001, 22(4): 22-26.

- [9] 赵天宏, 史奕, 王春乙, 等. CO₂ 和 O₃ 浓度倍增及其复合作用对大豆叶绿素含量的影响[J]. 生态学杂志, 2003, 22(6): 117-120.
- [10] 邹奇. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [11] Beyer W F, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions[J]. Anal Biochem, 1987, 161: 559-566.
- [12] Tester M. Plantion channel. Whole cell and single channel studies[J]. New Phytol, 1990, 114: 305-340.
- [13] Sakaki T, N Kondo, K Sugahara. Breakdown of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation. Role of active oxyge Physiol. Plant, 1983, 59: 28-34.
- [14] 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.
- [15] 金明红, 冯宗伟, 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): 3-5.
- [16] Guera 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.
- [17] Chameides W I, Kasibhatlapp, Yienger J, et al. Growth of continental scale metroplexes, regional ozone pollution, and world food production[J]. Science, 1994, 264: 74-77.

Effect of ozone on membrane lipid and anti oxidation system of wheat leaves

XU Ling¹, ZHAO Tian hong^{1*}, HU Ying ying¹, SHI Yi²

(1. College of agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China;

2. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang, Liaoning 110016, China)

Abstract: To examine the effects of ozone on lipid peroxidation, and anti oxidation system of the seedlings of wheat, field study was carried out by using open top chamber (OTCs). The results revealed that with ozone concentration rising, the relative electric conductivity and MDA content of the leaves increased. Compared to the CK treatment, ozone treatments caused a 20.9% decrease in grain weight of ear remarkably. The trend of changes of O₂⁻ producing rates of wheat leaves, H₂O₂ content increased under ozone treatment. The SOD, CAT and POD activities declined in various stages of wheat growth and this change appeared remarkable. No significant change was detected about antioxidants such as the carotenoid content and ascorbate content. Accordingly, it can be seen that ozone intensify the damage to their membrane lipid and impair the function of their anti-oxidation system, in such a way exerting influence on their regular physiological metabolism.

Key words: ozone O₃; wheat; membrane lipid peroxidation; anti-oxidation system