

# 大豆对 CO<sub>2</sub>、O<sub>3</sub> 污染的逆境反应

刘延吉<sup>1</sup>, 田晓艳<sup>2</sup>, 阮燕烨<sup>1</sup>

(1. 沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳 110161; 2. 辽宁石油化工大学环境与生物工程学院, 抚顺 113001)

**摘要** 研究大豆对 CO<sub>2</sub>、O<sub>3</sub> 污染的逆境反应。以浓度分别 700 mg/m<sup>2</sup> 的 CO<sub>2</sub>、110 μg/m<sup>3</sup> 的 O<sub>3</sub> 以及二者混合气体, 分别处理不同生育阶段的大豆叶片, 测定其逆境下生理指标的变化。700 mg/m<sup>2</sup> CO<sub>2</sub> 条件下, 大豆叶片中 MDA、SOD、O<sub>2</sub><sup>-</sup>、ABA、CaM 含量下降; 可溶性糖 (WSS) 含量上升; 110 μg/m<sup>3</sup> O<sub>3</sub> 浓度条件下, 上述指标相反。CO<sub>2</sub> 与 O<sub>3</sub> 混合, 表现 CO<sub>2</sub> 具有抑制 O<sub>3</sub> 的氧化作用。伴随 CO<sub>2</sub> 浓度升高对 O<sub>3</sub> 浓度升高的胁迫产生同步抑制作用。

**关键词** CO<sub>2</sub>; O<sub>3</sub>; 大豆; SOD; ABA; CaM

**中图分类号** Q948 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2007)03-0347-04

## STRESS RESPONSE ON SOYBEAN PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS TO ELEVATED CO<sub>2</sub> AND O<sub>3</sub>

LIU Yan-ji<sup>1</sup>, TIAN Xiao-yan<sup>2</sup>, RUAN Yan-ye<sup>1</sup>

(1. Biotechnology College, Shenyang Agriculture University, Shenyang, 110161; 2. Environmental Technology and Biotechnology College, Liaoning University of Petroleum & Chemical Technology, Fushun, 113001)

**Abstract** Stress response on soybean physiological characteristics to elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> was studied. Dispose different procreate phase laminae of soybean with 700mg/m<sup>2</sup>CO<sub>2</sub>, 110μg/m<sup>3</sup> O<sub>3</sub> and mixture of above gas, and determine physiological characteristics under stress. Showed that under 700mg/m<sup>2</sup> CO<sub>2</sub>, the content of MDA, SOD, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ABA, CaM decreased while WSS increased; under 110μg/m<sup>3</sup> O<sub>3</sub>, the results of above target just reverse. Under the mixture, CO<sub>2</sub> restrains oxygenation reaction of O<sub>3</sub>. The elevated CO<sub>2</sub> inhibited stress of O<sub>3</sub> with synchronization to its concentration elevated.

**Key words** CO<sub>2</sub>; O<sub>3</sub>; Soybean; SOD; ABA; CaM

全球气候变化是指大气中如 CO<sub>2</sub>、CH<sub>4</sub>、N<sub>2</sub>O、CFC<sub>s</sub>、O<sub>3</sub> 等气体增加及其可能造成全球性的大气升温及其它可能变化。该变化可能会导致一系列生物生态学效应, 是当今全球性关注的热门课题之一<sup>[1~3]</sup>。

大气中的 CO<sub>2</sub> 浓度在 200 年内从 270 μmol · mol<sup>-1</sup> 左右增至目前的 350 μmol · mol<sup>-1</sup>, 空气中 CO<sub>2</sub> 浓度仍以每年 2 μmol · mol<sup>-1</sup> 的速度上升。国内外学者关于 CO<sub>2</sub> 浓度倍增对农作物生长发育的直接影响的研究已有一些进展<sup>[4~8]</sup>。但 CO<sub>2</sub> 浓度增加

收稿日期: 2006-12-14

基金项目: 国家高技术研究发展(863)计划项目(2004AA247010)

作者简介: 刘延吉(1959-), 男, 副教授, 博士, 研究方向细胞信号转导。Tel: 13998815963, E-mail: yanjiliu@yahoo.com.cn

通讯作者: 阮燕烨, Tel: 024-88487163, E-mail: yanyeruan@yahoo.com.cn

对未来气候变暖而可能发生的高温胁迫与 CO<sub>2</sub> 浓度的关系等问题,在世界范围内研究尚少。

臭氧在海拔 15 ~ 50 km 范围的平流层中,它可以吸收太阳的高能紫外辐射,保护地球上的生物免于紫外线的危害。但在海平面至距离地面 15 km 范围内的对流层中,它却是有害物质。清洁大气中 O<sub>3</sub> 的自然背景或本底浓度为 0.02 ~ 0.08 mg/m<sup>2</sup> 左右,污染大气中为 0.10 ~ 0.20 mg/m<sup>2</sup>,城市大气中 O<sub>3</sub> 的浓度甚至高达背景浓度的 10 倍以上<sup>[9]</sup>。其中,O<sub>3</sub> 是大气中唯一的氧化型光化学气体污染物<sup>[9]</sup>。臭氧对植物有高度毒性,甚至可引起物种的灭绝<sup>[9]</sup>。

CO<sub>2</sub> 及 O<sub>3</sub> 浓度升高对植物的影响是多方面的<sup>[10,11]</sup>,但植物对其逆境反应、细胞信号转导方面的研究报道甚少,本文将对此进行研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

大豆叶片,采自苗期、分枝期、开花始期、开花盛期、灌浆期、成熟期等 7 个时期。且经不同浓度 CO<sub>2</sub> 及 O<sub>3</sub> 的处理。

### 1.2 方法

1.2.1 材料处理 采摘 7 个时期的大豆叶片,每个时期分为 6 个处理:T1 为 700 mg/m<sup>2</sup> CO<sub>2</sub>;T2 为 110 μg/m<sup>3</sup> O<sub>3</sub>;T3 为 700 mg/m<sup>2</sup> CO<sub>2</sub> + 110 μg/m<sup>3</sup> O<sub>3</sub>;T4 为 350 mg/m<sup>2</sup> CO<sub>2</sub> + 55 μg/m<sup>3</sup> O<sub>3</sub> 初始浓度,以后递增每 10 d 10%;CK1 为室内对照;CK2 为室外对照。

1.2.2 测定方法 超氧化物歧化酶 SOD 的提取和测定采用光化学还原法,超氧化自由基的提取和测定采用 a - 萘胺法,丙二醛的提取和测定采用硫代巴比妥酸法,内源激素 ABA 的提取和测定采用酶联免疫分析方法(ELISA)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对大豆叶片 MDA 含量的影响

图 1 的结果表明,经 O<sub>3</sub> 处理后,MDA 积累增加,说明发生了脂质过氧化作用<sup>[7]</sup>,其中 O<sub>3</sub> 单独处理氧化作用最显著。单独增加 CO<sub>2</sub>,MDA 含量低于对照。但 CO<sub>2</sub> 与 O<sub>3</sub> 混合处理后,其 MDA 值高于对照。由上可见 CO<sub>2</sub> 浓度的增加促进光合作用,促进

图 1 不同处理 MDA 含量的变化  
Fig. 1 Variety of MDA content under different treatment

图 2 不同处理超氧自由基的变化  
Fig. 2 Variety of O<sub>2</sub><sup>-·</sup> content under different treatment

糖的合成,通过抑制自由基的产生,抑制 MDA 的形成。T4 后期 MDA 含量低于 T2、T3,说明 T4 对 CO<sub>2</sub> 和 O<sub>3</sub> 浓度递增的适应。MDA 变化趋势表现为初期含量高的短期效应,说明细胞通过磷酸化水平适应逆境;后期 MDA 含量下降,变化缓慢,表明基因表达的结果,有新的蛋白产生。

### 2.2 不同处理对 O<sub>2</sub><sup>-·</sup> 产生的影响

图 2 结果表明,O<sub>3</sub> 处理的大豆叶片内超氧自由基含量明显高于正常水平,说明 O<sub>3</sub> 使植物体不仅导致膜的过氧化作用,并且导致叶绿体、线粒体电子传递泄漏,致使 O<sub>2</sub><sup>-·</sup> 大量产生,T1 处理具有抑制 O<sub>2</sub><sup>-·</sup> 产生的作用。

2.3 不同处理对 SOD 活性及 WSS 含量的影响

图 3 结果表明,O<sub>3</sub>处理的大豆叶片内 SOD 的活性增加,即用来消除植物体内产生的过多 O<sub>2</sub><sup>-·</sup>。T1 表现出能稳定膜结构及抗氧化作用。

图 4 说明 T1 提高光合作用促进了糖的合成,而 T2 破坏光合作用抑制了糖的合成,导致可溶性糖 (WSS) 含量下降。T4 提高光合作用促进了可溶性糖含量提高,从而抑制了 O<sub>3</sub>对膜的伤害。

图 3 不同处理 SOD 活性的变化

Fig. 3 Variety of SOD activity under different treatment

加,中期变化迟缓,而 T1 处理则 CaM 呈现下降趋势,说明植物对逆境的适应,初期通过蛋白质磷酸化适应逆境变化,后期通过调节因子磷酸化调控基因表达来适应逆境。

图 5 不同处理 ABA 含量的变化(单位:pmol/gFW)

Fig. 5 Variety of ABA content under different treatment

图 4 不同处理可溶性糖含量的变化

Fig. 4 Variety of WSS content under different treatment

2.4 不同处理对大豆叶片 ABA 含量的影响

图 5 结果表明,经 T1 处理的大豆叶片内内源激素 ABA 含量下降,此浓度下 CO<sub>2</sub>促进羧化作用,使大豆叶片光合作用增强,促进生长,故 ABA 含量下降。而 T2 处理诱导逆境反应,ABA 作为保护性物质,其含量增加,抑制了 O<sub>3</sub>的破坏作用。T3 的交互作用对 ABA 产生抑制。T4 显示大豆对 O<sub>3</sub>的浓度递增具有适应反应。

2.5 不同处理对大豆叶片 CaM 含量的影响

图 6 显示大豆叶片经 O<sub>3</sub>处理,初期 CaM 急剧增

图 6 不同处理 CaM 含量的变化

Fig. 6 Variety of CaM content under different treatment

3 讨论

大豆对 O<sub>3</sub> 逆境表现出短期快速反应与长期慢速反应的细胞信号转导途径特征。初期通过蛋白质磷酸化,活化 CaM,SOD,后期通过转录因子磷酸化调控基因表达,提高可溶性糖含量<sup>[12]</sup>,抑制 O<sub>3</sub>对膜的伤害,适应逆境变化<sup>[11,13]</sup>。植物中存在反转录酶将 RNA 逆转录为 DNA。逆境下植物中逆转座子被激活,反转录酶活性得到启动,促进 RNA 逆转录为 DNA,于是合成新的多拷贝 cDNA 整合到基因组中去,从而获得新的形状<sup>[14]</sup>。目前已发现 ABA 作为胞间信号分子诱导 150 多种基因的表达<sup>[12]</sup>,其中大多数基因是植物器官对逆境胁迫的响应表达。植物

在多种逆境下都可以积累 ABA 抵御环境胁迫,此中钙信使参与 ABA 的信号转导。细胞质中 Ca<sup>2+</sup> 浓度升高<sup>[15,16]</sup>,通过信号震荡,CaM 激活,诱导 CaM 基因表达,诱导 SOD 合成。O<sub>3</sub> 与 CO<sub>2</sub> 浓度同步增加,植物产生适应机制<sup>[17,18]</sup>。

## 4 结论

CO<sub>2</sub> 浓度增加促进大豆叶片光合作用,促进糖的合成,通过抑制自由基的产生,抑制 MDA 的形成。O<sub>3</sub> 不仅导致大豆叶片细胞膜的过氧化作用,并且导致叶绿体、线粒体电子传递泄漏,致使 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 大量产生,而高 CO<sub>2</sub> 浓度 T1 处理具有抑制 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生的作用。ABA、CaM 信号系统参与了 O<sub>3</sub> 胁迫的抵御,通过诱导 SOD 合成,诱导糖的合成,抑制活性氧的产生,抑制膜的氧化。但 O<sub>3</sub> 浓度过高,糖的合成被破坏,加速活性氧产生,加速膜氧化。

综上所述,伴随 CO<sub>2</sub> 浓度升高,对 O<sub>3</sub> 浓度升高的胁迫产生同步抑制作用。

## 参 考 文 献

- [1] Andrew DBL, Martin U, Elizabeth AA, et al. Photosynthesis, productivity, and yield of maize are not affected by open – air elevation of CO<sub>2</sub> concentration in the absence of drought [J]. *Plant Physiology*, 2006. 140:779 – 790
- [2] David MO, David TT. Joint Action of O<sub>3</sub> and SO<sub>2</sub> in modifying plant gas exchange[J]. *Plant Physiology*, 1986. 82:401 – 405.
- [3] Elizabeth AA, Alistair R, Lila OV, et al. The effects of elevated CO<sub>2</sub> concentration on soybean gene expression. An analysis of growing and mature leaves[J]. *Plant Physiology*, 2006. 142:135 – 147.
- [4] Fitzgerald LB, Edwin LF. The role of ozone flux and antioxidants in the suppression of ozone injury by elevated CO<sub>2</sub> in soybean[J]. *Journal of Experimental Botany*. 2005. 56:2139 – 2151.
- [5] Grantz DA, Silva V, Toyota M, et al. Ozone increases root respiration but decreases leaf CO<sub>2</sub> assimilation in cotton and melon[J]. *Journal of Experimental Botany* 2003. 54:2375 – 2384.
- [6] Olevikull, IT, Elina V. Influence of elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on betula pendula roth crown structure[J]. *Annals of Botany*, 2003. 91:559 – 569.
- [7] Rao MV, Hale BA, Ormrod DP. Amelioration of ozone – induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide (role of antioxidant enzymes) [J]. *Plant Physiology*, 1995. 109:421
- [8] Ulrich Lüttge. CO<sub>2</sub> – concentrating: consequences in crassulacean acid metabolism[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002. 53: 2131 – 2142
- [9] Fiscus EL, Reid CD, Miller JE, et al. Elevated CO<sub>2</sub> reduces O<sub>3</sub> flux and O<sub>3</sub> – induced yield losses in soybeans: possible implications for elevated CO<sub>2</sub> studies[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1997. 48:307 – 313.
- [10] Miquela GM, Lina T, Rebeccaj. T. Plant respiration and elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration: cellular responses and global significance[J]. *Annals of Botany*, 2004. 94:647 – 656.
- [11] Phillip AD, Stephen H, Graham JH, et al. Respiratory oxygen uptake is not decreased by an instantaneous elevation of [CO<sub>2</sub>], but is increased with long – term growth in the field at elevated [CO<sub>2</sub>] [J]. *Plant Physiology*, 2004. 134:520.
- [12] Michael T, Helena S, Dieter G. The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress – response concept valid? [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004. 55: 1955 – 1962.
- [13] Peter BR. Effects of low concentrations of O<sub>3</sub> on net photosynthesis, dark respiration, and chlorophyll contents in aging hybrid poplar leaves[J]. *Plant Physiology*, 1983. 73:291 – 296.
- [14] Kenji M, Takashi Y, Satoshi Y, et al. Expression profiling – based identification of CO<sub>2</sub> – responsive genes regulated by CCMI controlling a carbon – concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Physiology*, 2004. 135:1595 – 1607.
- [15] Knight H, Trewarar AJ, Knight MR. Calcium signaling in arabidopsis thaliana responding to drought and salinity [J]. *Plant*, 1997. 12(5):1067 – 1078.
- [16] Pardo JM, Reddy MP, Yang S. Stress signaling through Ca<sup>2+</sup>/calmodulin – dependent protein phosphatase calcinurin mediates salt adaption in plant[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998. 95(16):9681 – 9686.
- [17] Raja RK. An introduction to effects of global warming, increasing atmospheric CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> concentrations, and soil salinization on crop physiology and yield[J]. *Crop Science*. 2005. 45:2674.
- [18] Tracy L, Jim C, Colin RB, et al. Impact of elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> on gas exchange parameters and epidermal characteristics in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002. 53:737 – 746.