

大气 O₃ 浓度升高对麦田土壤重金属铜生物有效性和生理毒性的影响

周 辉¹, 朱建国², 孙媛媛³, 尹 颖¹, 王晓蓉¹, 郭红岩^{1,2}

(1.污染控制与资源化研究国家重点实验室,南京大学环境学院,江苏 南京 210093; 2.中国科学院南京土壤研究所,土壤与农业可持续发展国家重点实验室,江苏 南京 210008; 3.污染控制与资源化研究国家重点实验室,南京大学水科学系,江苏 南京 210093)

摘 要:在开放式空气 O₃ 浓度增加(FACE)平台下,采用盆栽试验,初步研究了 O₃ 浓度升高后麦田重金属 Cu 的生物有效性变化以及对各生长阶段小麦叶片生理毒性的影响。结果表明,在 FACE 条件下,小麦地上部对 Cu 的吸收相比于正常大气对应组有增加的现象;与正常大气对应组相比,FACE 条件下土壤中有效态 Cu 的含量也有所增加;随着小麦的生长发育,FACE 圈小麦叶片内的 MDA 含量总体呈上升趋势,O₃ 升高铜污染组的小麦叶片内 MDA 的含量最高;与正常大气对照组相比,O₃ 升高铜污染组的小麦叶片 SOD 酶和 POD 酶比较敏感,在分蘖期其活性受到诱导,但随着暴露时间的增加,抗氧化系统的各个酶的活性逐渐受到抑制。O₃ 加剧了 Cu 对小麦的生理胁迫,增加了 Cu 的生物有效性。

关键词: O₃ 浓度升高;小麦;土壤铜污染;SOD;CAT;POD;APX

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2009)01-0021-05

Effect of Elevated Atmospheric Ozone Concentration on the Bioavailability of Cu in Soil and Oxidative Stress of Cu in Wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Yangmai14)

ZHOU Hui¹, ZHU Jian-guo², SUN Yuan-yuan³, YIN Ying¹, WANG Xiao-rong¹, GUO Hong-yan^{1,2}

(1.State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2.State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Science, Nanjing 210008, China; 3.State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Hydrosiences Department, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: Using a Free Air Concentration Enrichment (FACE) system, we studied the effects of elevated O₃ concentrations on bioaccumulation of Cu in wheat plant and its oxidative stress to wheat plant in pot. At elevated O₃ concentration, both concentration of available Cu in soil and uptake of Cu by wheat shoots increased. The malondialdehyde(MDA) contents of wheat plants grown in Cu-contaminated soil at elevated O₃ concentrations were significantly higher than the control. At the wheat mid-tillering growth stage, we observed an increased activity of superoxide dismutase(SOD, EC 1.12.1.1) and phenol peroxidase(POD, EC 1.11.1.7) in the Cu and elevated O₃ treatments. However, activities of these antioxidant enzymes were induced by Cu and elevated O₃ treatments at the wheat panicle initiation growth stage, and inhibited over the exposure time. It can be concluded that elevated O₃ concentration can enhance Cu bioavailability and toxicity to wheat, which results in increased oxidative stresses and damage to the self-protection mechanisms of wheat plant.

Keywords: elevated ozone concentration; wheat; soil copper; SOD; CAT; POD; APX

对流层中臭氧(O₃)是由光化学反应产生的二次污染物,是温室气体和光化学烟雾的主要成分。近年来由于大量使用化石燃料、含 N 化肥,大气中 NO_x、

VOCs 剧增,导致对流层中 O₃ 浓度日益提高,每年以 0.5%~2.5% 速率增长,O₃ 污染事件频发、持续时间增长、影响范围和破坏程度不断增大^[1]。在高层大气中,O₃ 保护层可以减少紫外辐射,保护地球上的生物,但在近地面 O₃ 却给人类带来了很大的危害。已有许多报道表明,O₃ 作为一种空气污染物,可以对许多生物分子造成氧化损伤,严重影响近地面农作物和蔬菜的正常生理功能^[2]。O₃ 会导致植物的光合作用受到抑

收稿日期:2008-10-05

基金项目:国家自然科学基金项目(20777034,40110817);中科院知识创新项目(KZCX3-SW-440);江苏省博士后科研资助计划项目

作者简介:周 辉(1984—),男,硕士研究生,主要从事环境化学研究。

E-mail:tuotuluo@163.com

联系作者:郭红岩 E-mail:hyguo@nju.edu.cn

制,引起萎黄、叶绿体降解、植物蛋白缺失等症状^[3]。一般认为,O₃是通过叶片气孔进入植物体内,在植物体内产生过量的活性氧物质(ROS),导致叶片损伤以及植物生理生化的改变,最终抑制作物生长,致使作物减产^[4]。

近年来,由于矿产资源的不合理开采,农药、化肥的大量使用,超量或剩余的重金属铜(Cu)便成为污染物大量流入土壤、大气及水体环境中,给人类及生物带来极大的危害。由于重金属造成的污染一般难以消除,其越来越引起人们的广泛关注。植物是食物链中初级生产者,尽管 Cu 是植物生长必需的微量元素,但过量的 Cu 不仅会给植物的生长带来毒害,而且,还可通过在植物根、茎、叶及果实中的过量积累进入食物链,而危及人类。有许多文献表明,铜可以不同程度的影响到植物的生长、改变植物膜结构、新陈代谢过程以及正常的离子吸收^[5-6]。

无论是 O₃ 还是土壤中的重金属铜都能在植物组织内通过大量诱导活性氧物质(ROS)而导致氧化胁迫,这些活性氧物质主要包括 O₂⁻、H₂O₂ 以及 ¹O₂^[3,7]。在植物叶绿体内这些活性氧物质的过量产生被证明是叶片遭受氧化损伤的主要原因^[8]。作为正常生理功能之一,植物拥有抗氧化防御机制来避免活性氧物质所造成的损伤。生物体存在的抗氧化防御系统包括酶和非酶系统两大类,在参与活性氧清除及机体的保护性防御反应中发挥巨大作用^[9]。超氧化物歧化酶(SOD)是最先与活性氧自由基作用的酶,它可将超氧阴离子 O₂⁻ 分解为 H₂O₂ 和 O₂^[10];过氧化氢酶(CAT)又可继续分解 H₂O₂,将之转化为无毒的 H₂O^[10];过氧化物酶(POD)活性的诱导是高等植物对有害胁迫的综合反应,可能与膜质的氧化反应有关,通过催化植物体内酚类物质降解 H₂O₂^[11];抗坏血酸系统是整个防御系统中非常重要的部分,在抗坏血酸系统中,抗坏血酸过氧化物酶(APX)催化抗坏血酸直接参与清除活性氧物质的反应^[12]。

目前大气 O₃ 污染和农田重金属污染的问题日益严重。大气 O₃ 浓度升高导致植物生理机能发生改变后,其对土壤重金属污染物的富集以及适应能力是否会发生明显变化? O₃ 浓度升高后土壤重金属对环境的胁迫作用是否会进一步增强?未来的粮食食品安全问题是否会加剧?目前关于这方面的研究还比较少。本研究采用田间开放式大气 O₃ 浓度升高(FACE)平台,以小麦为试验作物,初步探讨在 O₃ 浓度升高下,农田重金属铜生物可利用性、小麦抗氧化防御系统以

及其氧化损伤的改变,为大气 O₃ 浓度升高条件下农田重金属的环境行为研究提供初步科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

小麦 FACE 系统位于江苏省江都市小纪镇粮种场(32°35'N,119°42'E)。土壤类型为姜砾土,当地土壤基本性质如下:有机碳 18.4 g·kg⁻¹,全 N 1.45 g·kg⁻¹,全 P 0.63 g·kg⁻¹,全 K 14.02 g·kg⁻¹,速效 P 10.1 mg·kg⁻¹,速效 K 70.5 mg·kg⁻¹,砂粒(2~0.02 mm)578.4 g·kg⁻¹,粉砂粒(0.02~0.002 mm)285.1 g·kg⁻¹,粘粒(<0.002 mm)136.5 g·kg⁻¹,容重 1.16 g·cm⁻³,pH 7.2。年平均降水量为 918 mm,年平均气温在 14~16 °C 之间,年日照时间超过 2 000 h,年无霜期天数大于 230 d。平台共有 2 个 FACE 试验圈和两个对照圈。FACE 圈与 FACE 圈之间,FACE 圈与对照圈之间的间隔大于 90 m,以减少 O₃ 释放对其他圈的影响。FACE 圈设计为正八角形,直径 12.5 m,通过 FACE 圈周围的管道向 FACE 圈中心喷射纯 O₃ 气体,电脑控制 FACE 圈内 O₃ 浓度,使其全生育期 FACE 圈内的平均 O₃ 浓度保持在 70 nmol·mol⁻¹,控制误差为 10%。对照田块没有安装 FACE 管道,其余环境条件与自然状态完全一致。

本试验以麦田生态系统为研究对象,以小麦作为供试植物,采用大田盆栽的方式,取当地农田土壤进行铜污染处理,在 O₃ 浓度升高圈(以下称 FACE 圈)和正常大气条件圈(以下称 Ambience 圈)各设一个铜空白对照组和一个铜污染组(铜总含量 200 mg·kg⁻¹),即 4 种处理组:正常大气对照组(Ambient blank),正常大气铜污染组(Ambient with Cu),O₃ 升高对照组(FACE blank),O₃ 升高铜污染组(FACE with Cu)。每组各设 3 个平行。在小麦生长各个时期的田间管理均与大田保持一致。

1.2 分析方法

1.2.1 植物和土壤样品的采集

按生长阶段采集小麦的地上部植株,包括分蘖期、抽穗期和孕穗成熟期。其中用于生理生化分析的叶片在采集之后立即用液氮封存并在-80 °C 条件下储存。

土壤样品最后收获阶段采集,于阴凉通风处自然风干,研磨过 80 目筛,用于形态分析。

1.2.2 小麦地上部 Cu 含量的测定

将小麦地上部样品用去离子水冲洗干净后,放入烘箱 85 °C 烘 48 h,取出粉碎,采用 HNO₃-HClO₄ 湿法消解定容后,用火焰原子吸收分光光度法(Thermo

Sollar M6)测定 Cu 的含量。

1.2.3 小麦叶片丙二醛的测定

叶片脂质过氧化产物丙二醛(MDA)测定参照 Dhindsa^[13]的方法。

1.2.4 蛋白质和酶活性的测定

粗酶液的制备参照 Cho and Seo^[14]的方法。蛋白采用 Bradford^[14]提出的考马斯亮蓝 G-250 染色法测定。SOD 酶活性采用 NBT 光还原法测定^[13]。CAT 酶和 POD 酶活性参照 Cakmak^[15-16]的方法测定。APX 酶活性的测定采用 Asada^[17]的方法。

1.2.5 土壤 Cu 元素有效态的提取

土壤有效 Cu(可交换态和碳酸盐结合态)的提取参照欧共体标准局(现名为欧共体标准测量与检测局)提出的 BCR 法第一态的提取方法^[18]。

1.3 统计分析

试验结果表示为平均数±标准误差(Mean±SDE); 单边 *t* 检验法对组间数据进行差异性显著分析, $P<0.05$ 被认为是差异显著。

2 结果与分析

2.1 小麦叶片不同生长期 MDA 含量的变化

由图 1 看出,随着小麦的生长发育,FACE 圈和 Ambience 圈小麦叶片内的 MDA 含量总体呈上升趋势。Cu 污染诱导了小麦叶片 MDA 的产生,而在 O₃ 和 Cu 双重胁迫下的小麦叶片内 MDA 的含量最高。在分蘖期, O₃ 升高铜污染组叶片内的 MDA 含量比正常大气对照组叶片内的 MDA 含量高 19.1%;而在抽穗期, O₃ 升高铜污染组叶片内的 MDA 含量要比正常大气对照组叶片内的 MDA 含量高 22.1%。

MDA 是膜脂氧化的最终分解产物之一,通常用于指示细胞膜损伤的程度可间接反映机体活性氧

物质的生成情况^[19]。许多研究发现随着污染胁迫程度的增加,植物体内 MDA 含量也会显著上升^[20-21],表明产生了氧化应激。本试验中 O₃ 升高铜污染组小麦叶片的 MDA 含量较高,说明 O₃ 和 Cu 可能存在潜在的协同作用,诱导小麦叶片内产生了大量的活性氧物质,抗氧化系统酶无法及时清除这些活性氧物质,导致 MDA 在叶片内累积。

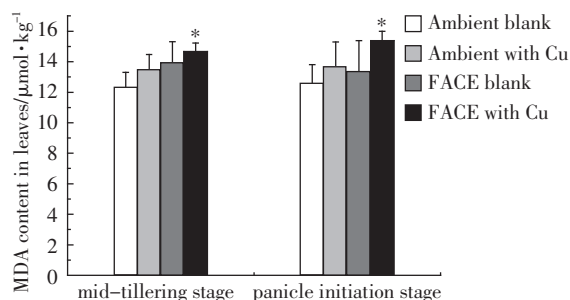
2.2 小麦叶片不同生长期抗氧化系统酶活性的变化

小麦叶片在分蘖期和抽穗期的抗氧化系统酶活性的变化见图 2。在分蘖期,正常大气铜污染组小麦叶片的 CAT 活性受到显著抑制($P<0.05$),其 APX 和 SOD 的活性与正常大气对照组比较受到显著诱导($P<0.05$); O₃ 升高对照组小麦叶片除 CAT 活性外,其他酶的活性都较正常大气对照组叶片要低; O₃ 升高铜污染组的小麦叶片内的 SOD 酶较正常大气对照组有显著诱导($P<0.05$),而其他酶活性则不同程度受到抑制。

在抽穗期,正常大气铜污染组小麦叶片 CAT 酶和 POD 酶活性受到显著抑制($P<0.05$); O₃ 升高对照组小麦叶片的 POD 酶活性较正常大气对照组叶片显著提高($P<0.05$),而其 SOD 酶的活性则受到了明显抑制($P<0.05$);在这个生长阶段, O₃ 升高铜污染组的小麦叶片内各个酶的活性都受到了不同程度的抑制。

抗氧化防御系统是需氧植物体内重要的活性氧清除系统,主要包括酶性清除剂抗氧化酶,如 SOD、APX、CAT 等,以及小分子抗氧化剂,如 GSH、维生素 C、维生素 E 等。在正常生理条件下,植物体内产生的活性氧可被抗氧化防御系统有效清除。但当机体暴露于可产生氧化还原污染的污染物时,若活性氧的产生速度超出了机体抗氧化防御系统的清除能力,就会对机体造成氧化胁迫,从而引发一系列毒性效应,如脂质过氧化、酶失活、细胞死亡等^[22-23]。本研究表明,无论是单独铜或 O₃ 污染胁迫还是复合污染胁迫,都对植物叶片的抗氧化酶活性造成了不同程度的影响。

SOD 是生物体内唯一一种以自由基作为底物的抗氧化酶,可通过歧化反应消除超氧阴离子自由基,将之分解为 H₂O₂ 和 O₂,从而阻止危害性很大的 O₂ 大量生成,是生物防护机制的中心酶。而 H₂O₂ 可以在 CAT、APX 和 POD 酶的作用下转化为无毒的 H₂O 和 O₂。本试验中,分蘖期的正常大气铜污染组与 O₃ 升高铜污染组小麦叶片的 SOD 酶活性受到显著诱导,说明污染物在植物体内产生大量的自由基。然而代谢产生的氧自由基也越来越多,抗氧化防御系统已不能完全清除体内大量产生的氧自由基,机体受到氧化损



* 代表不同处理与 Ambient blank 组 0.05 水平上的差异显著,下同。

图 1 分蘖期和抽穗期不同处理组的小麦叶片内 MDA 含量
Figure 1 MDA contents in the leaves of wheat at mid-tillering growth stage and panicle initiation growth stage

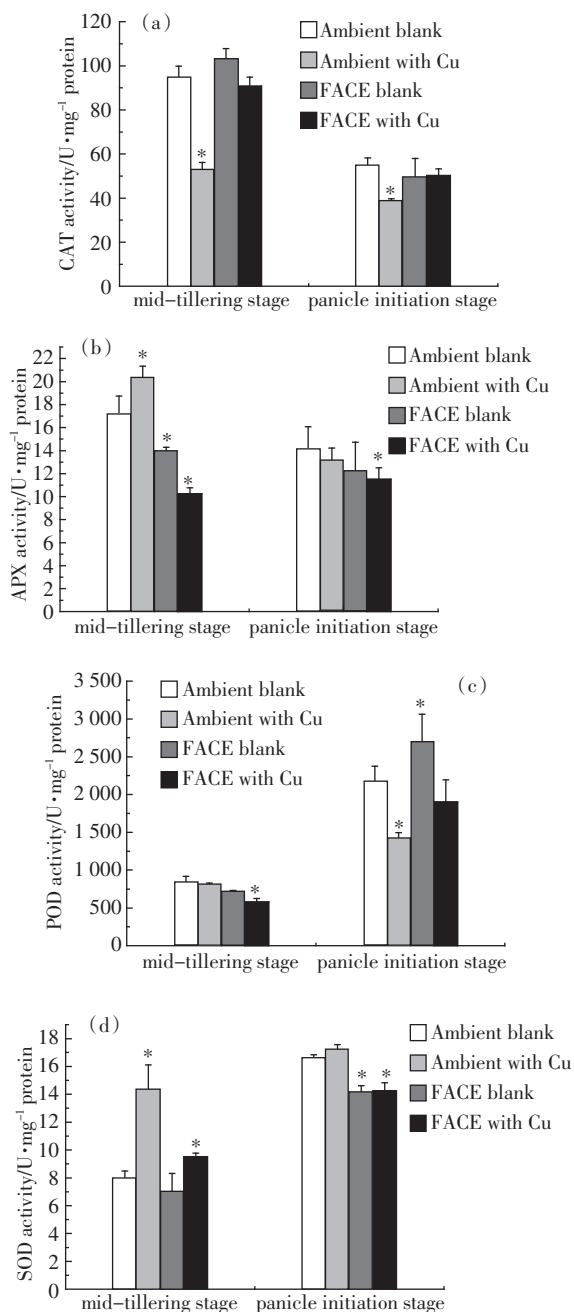


图 2 分蘖期和抽穗期不同处理组的小麦叶片内 CAT(a)、APX(b)、POD(c)、SOD(d)活性变化

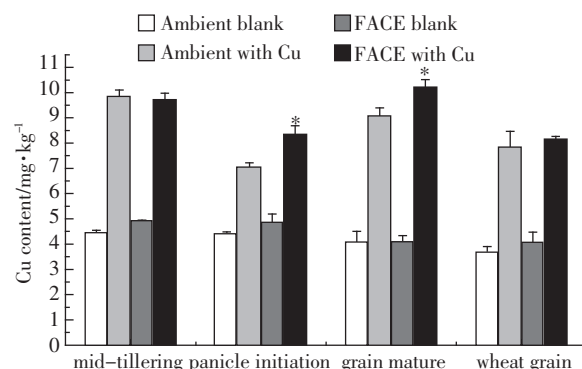
Figure 2 Effects of Cd and ozone treatments on the activities of CAT(a), APX(b), POD(c), SOD(d) in the leaves of wheat at mid-tillering growth stage and panicle initiation growth stage

伤,脂质过氧化程度加剧,细胞结构受到一定程度的损伤,SOD 酶蛋白构象发生改变,从而其活性也出现抑制。图 2d 显示,在最后的抽穗期阶段,O₃ 升高对照组与 O₃ 升高铜污染组小麦叶片的 SOD 酶都受到了显著的抑制。O₃ 升高对照组和 O₃ 升高铜污染组小麦叶片内清除 H₂O₂ 的几种酶都不同程度的受到抑制,

说明随着暴露时间的增加,损伤程度加剧,对酶蛋白产生了破坏或消耗。

2.3 小麦各生长阶段地上部、麦粒 Cu 含量及小麦根际土壤有效 Cu(交换态及碳酸盐结合态 Cu)的变化

从图 3 可以看出,O₃ 圈内小麦铜含量要高于对应的正常大气圈内的小麦铜含量。O₃ 升高铜污染组与正常大气铜污染组相比较,在抽穗期地上部吸收增加了 18.9%,在成熟期地上部吸收增加了 12.5%,但是麦粒内 Cu 含量没有明显的差异。在未施加 Cu 污染的小麦中也有类似的情况,O₃ 升高对照组与正常大气对照组相比较,在分蘖期地上部吸收增加 10.1%,在抽穗期地上部吸收增加了 9.9%。



* 代表同一 Cu 处理下 Ambient 和 FACE 样品在 0.05 水平上的显著差异。

图 3 小麦分蘖期、抽穗期、孕穗成熟期地上部及麦粒铜含量
Figure 3 Cu content in wheat shoots at the mid-tillering growth stage, panicle initiation growth stage and grain mature stage, and in wheat grains.

表 1 显示了在麦季结束后不同处理组下根际土壤有效态铜的变化。可以看出,O₃ 圈内小麦根际土壤 Cu 有效态的含量明显高于正常大气圈对应组。O₃ 升高铜污染组与正常大气铜污染组相比较,铜有效态增加了 6.9%。O₃ 升高对照组与正常大气对照组相比较,铜有效态增加了 6.7%。

表 1 土壤 Cu 有效态含量

Table 1 Content of the available form of soil Cu

	Ambient blank	Ambient with Cu	FACE blank	FACE with Cu
Cu 有效态/ mg·kg ⁻¹	1.64±0.06	58.03±0.22	1.75±0.11	62.03±0.45

本研究发现,大气 O₃ 浓度升高可能会增加小麦对土壤中 Cu 的吸收,并且发现,在 O₃ 浓度升高下土壤中 Cu 有效态含量也有所增加。大气 O₃ 浓度升高主要通过以下几方面对土壤系统产生影响:第一,通过

叶片气孔进入叶片造成氧化损伤,妨碍正常的光合过程,最终导致光合速率下降,因此植物通过根系向土壤中输送的产物和成分也会随之改变;第二,大气 O_3 浓度升高的情况下,植物叶片气孔导度减少,蒸腾作用降低,土壤中的水分含量会受到影响,进而影响到土壤中其他的物理、化学过程;第三,大气 O_3 浓度升高改变了植物的生理机制,削弱了植物光合作用而促进了呼吸作用,改变碳在植物中的分配会对土壤系统产生影响^[24-25]。在大气 O_3 浓度升高的情况下,小麦根系环境的改变,包括根际土壤 pH 和氧化还原电位的改变,根系分泌物的整合、络合作用对重金属铜的生物有效性和毒害性都会有重要影响。然而何种机制对重金属生物有效性的改变起主导作用以及其影响程度有多大,还有待于今后进一步的研究。

3 结论

(1)FACE 圈内小麦铜含量要高于对应的 Ambience 圈内的小麦铜含量。在麦季结束后,FACE 圈内小麦土壤 Cu 有效态的含量明显高于 Ambience 圈对应组。

(2)随着小麦的生长发育,FACE 圈和 Ambience 圈小麦叶片内的 MDA 含量总体呈上升趋势。Cu 污染诱导了小麦叶片产生较多的 MDA,而在 O_3 和 Cu 双重胁迫下的小麦叶片内 MDA 的含量最高, O_3 和 Cu 对小麦叶片的胁迫可能存在潜在的协同作用。

(3)与 Ambience 圈相比,暴露于 O_3 和重金属铜下的小麦叶片 SOD 酶和 POD 酶比较敏感,在分蘖期其活性受到诱导。但随着暴露时间的增加,抗氧化系统酶的活性逐渐受到抑制。

参考文献:

- [1] Vingarzan R. A review of surface ozone background levels and trends[J]. *Atmospheric Environment*, 2004(38):3431-3442.
- [2] Sandermann H, Jr. Ozone and plant health[J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1996(34):347-366.
- [3] Pell E J, Schlagnhauser C D, Arteca, R N Arteca. Ozone-induced oxidative stress; mechanisms of action and reaction[J]. *Physiologia Plantarum*, 1997(100):264-273.
- [4] Krupa S V, W J Manning. Atmospheric ozone; formation and effects on vegetation[J]. *Environmental Pollution*, 1988(50):101-137.
- [5] Krupa Z, Baszynski T. Some aspects of heavy metals toxicity towards photosynthetic apparatus—direct and indirect effects on light and dark reactions[J]. *Acta Physiologia Plantarum*, 1995(17):177-190.
- [6] Masarovicova E, Cicak A, Stefancik I. Plant responses to air pollution and heavy metal stresses[M]. Handbook of plant and crop Press, 1999. 569-598.
- [7] Schraudner M, Langebartels C, Sandermann H. Changes in the biochemical status of plant cells induced by the environmental pollutant ozone[J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 100:274-280.
- [8] Foyer C H, G Noctor. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria[J]. *Physiologia Plantarum*, 2003, 119:355-364.
- [9] Hernandez J A, Ferrer M A, Jimenez A, et al. Antioxidant systems and O_2^-/H_2O_2 production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins[J]. *Plant Physiology*, 2003, 127:817-831.
- [10] Dionisio-Sese M L, S Tobita. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress[J]. *Plant Science*, 1998, 135:1-9.
- [11] Lin C C, C H Kao. Osmotic stress-induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings[J]. *Plant Growth Regulation*, 2002(37):177-183.
- [12] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1998(49):249-279.
- [13] Dhindsa R S, Dhinsa P P, Thorpe T A. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. *J Exp Bot*, 1980(32):127-132.
- [14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding[J]. *Anal Biochem*, 1976(72):248-254.
- [15] Cakmak I, Horst W J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*) [J]. *Physiol Plant*, 1991(83):463-468.
- [16] Cakmak I, Strboe D, Marschner H. Activities of hydrogen peroxide scavenging enzymes in germinating wheat seeds[J]. *J Exp Bot*, 1993(44):127-132.
- [17] Asada K. Chloroplasts: formation of active oxygen and its scavenging[J]. *Methods Enzymol*, 1984(105):422-429.
- [18] Ruban V Lopez-Sanchez J F, Pardo P. Selection and evaluation of sequential extraction procedures for the determination of phosphorus forms in lake sediment[J]. *J Environ Monitor*, 1999(1):57-61.
- [19] Verma S, Dubey R S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants[J]. *Plant Sci*, 2003, 164:645-655.
- [20] Mishra S, Srivastava S, Tripathi R D. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2006(44):25-37.
- [21] Smeets K, Cuypers A, Lambrechts A, et al. Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2005(43):437-444.
- [22] Maksymiec W, Krupa Z. The effects of short-term exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Environ Exp Bot*, 2006(57):187-194.
- [23] Pirker K F, Goodman B A, Pascual E C, et al. Free radicals in the fruit of three strawberry cultivars exposed to drought stress in the field[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2002(40):709-717.
- [24] Yong-Ki Lee, Sang Mok Kim, Sanghwa Han. Ozone-induced inactivation of antioxidant enzymes[J]. *Biochimie*, 2003(85):947-952.
- [25] Pierre D. Effects of ozone on the carbon metabolism of forest trees[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2001(39):729-742.