

Ce(Ⅲ)对增强 UV-B 辐射胁迫下大豆幼苗 光呼吸关键酶活性影响

戴 浩¹, 周 青^{1,2}

(1.江南大学环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122; 2.江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘 要:采用水培法研究了 Ce(Ⅲ)对紫外辐射(UV-B:0.15 W·m⁻², 0.45 W·m⁻²)胁迫下大豆(*Glycine max*)乙醇酸氧化酶(GO)、谷氨酰胺合成酶(GS)、过氧化氢酶(CAT)和 H₂O₂ 含量的影响。试验表明,与 CK 相比,无 UV-B 胁迫时 20 mg·L⁻¹CeCl₃ 能够有效提高 GO 和 GS;UV-B 处理使 GO 和 GS 提高,植物的光呼吸速率增加;Ce+UV-B 组 GO、GS 和 CAT 高于 UV-B 组,H₂O₂ 含量低于 UV-B 组。研究表明,20 mg·L⁻¹CeCl₃ 通过提高 GO、GS 和 CAT 活性进而增强光呼吸代谢,耗散过多的光能;通过对植物体内 H₂O₂ 含量的变化,检测是否受到环境胁迫,利用 Ce(Ⅲ)缓解植物所受的 UV-B 等强光逆境胁迫,具有积极的环境生态学意义。

关键词:Ce(Ⅲ);UV-B 辐射;光呼吸;GO;GS

中图分类号:Q945.78 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)02-0321-04

Effect of Cerium on the Key Enzymes of Photorespiration in Soybean Seedling Under Supplementary UV-B Radiation Stress

DAI Hao¹, ZHOU Qing^{1,2}

(1.School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2.The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Effect of cerium (Ce³⁺) on GO, GS, CAT and H₂O₂ content in soybean seedlings exposed to two levels of ultraviolet-B radiation (UV-B, 280~320 nm) was studied with hydroponics under laboratory conditions. The results showed that when seedling was pretreated by 20 mg·L⁻¹CeCl₃, GO and GS was effectively increased without UV-B stress compared with the control, UV-B radiation caused increase in GO, GS and photorespiration rate, and the enzyme activities of GO, GS and CAT with Ce+UV-B treatment were higher than those with UV-B treatments, as the H₂O₂ content was lower than UV-B treatment. Research showed that the key enzymes of photorespiration as GO and GS could be increased by 20 mg·L⁻¹CeCl₃ which leading to increase photorespiration rate, exhaust overplus solar energy, it had affirmative significance of environmental bionomics as CeCl₃ could ease adversity stress of Glare as UV-B.

Keywords: Cerium(Ⅲ); UV-B radiation; photorespiration rate; GO; GS

由于人类的工业生产及其他活动,使地球的大气臭氧层逐渐变薄,导致到达地表的 UV-B(紫外线-B)辐射量持续增加,对生物及作物产生了广泛影响。对于 UV-B 辐射增强引起的生物学效应的研究,是近年来国内外全球环境变化研究的热点问题之一。稀土(rare earth, RE)农用是中国科学家首创、居世界领先

水平且经济效益显著的一项成果,适量的稀土施用于农作物不仅能够增产,还能增强植物 UV-B 辐射的抗性^[1-3]。

以前的研究认为,光呼吸是一种消耗的生理过程,对农业而言是一种消耗碳化合物的无用过程^[4]。而近期的研究则表明,光呼吸是植物耗散过剩能量的光保护途径^[5]。研究证明在 CO₂ 同化限制条件下,光呼吸能够维持一定的线性电子传递和光能利用率,对光合器官起保护作用^[5]。在 UV-B 辐射胁迫等强光抑制条件下,通过增加光呼吸耗散过多的光能与同化力,提高光能利用率,成为植物适应自然、趋利避害的一条

收稿日期:2008-05-09

基金项目:国家发改委稀土专项基金(IFZ20051210)

作者简介:戴 浩(1984—),男,江苏淮安人,硕士研究生,主要研究方向为环境生态学。

通讯作者:周 青 E-mail:zhouqeco@yahoo.com.cn

有效途径。本文通过对不同Ce(Ⅲ)浓度和不同UV-B辐射剂量下大豆幼苗光呼吸中关键酶:乙醇酸氧化酶(GO)、谷氨酰胺合成酶(GS)和过氧化氢酶(CAT),以及氨过氧化氢(H_2O_2)含量的研究,阐明稀土对逆境胁迫下农作物光呼吸的影响及其环境生态价值。

1 材料和方法

1.1 试材培养

大豆(*Glycine max*)“台湾292”种子用0.1% $HgCl_2$ 消毒5 min,去离子水冲洗4次后置铺有3层纱布的培养皿中,于恒温培养箱(25℃)中萌发。待胚根长至1 cm移入塑料杯中去离子水培养(3株·杯⁻¹),每日换水1次。待第2片真叶出现时,改用1/2 Hoagland全营养液、室温(25℃/30℃)下培养,每日光照12 h(10 klx),早晚各通气1次,每3 d换1次营养液。至第3片真叶展开后,开始进行 $CeCl_3$ 处理。

1.2 试材处理

用预实验中筛选的 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (最适剂量) $CeCl_3$ 溶液处理大豆幼苗,以喷雾器均匀喷布植株叶片,滴液为限,对照(CK)喷等量去离子水。 $CeCl_3$ 处理2 d后将大豆幼苗置于模拟紫外辐射的40 W UV-B灯管($\lambda=280\sim 320\text{ nm}$,南京紫光电器厂)下方,辐射强度为 $T_1(1.68\text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2})$ 和 $T_2(5.88\text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2})$,经双通道紫外辐照计(北京师范大学光电仪器厂)标定,每日照射6 h(9:00—15:00),连续照射5 d。5 d后停止照射,进入恢复期。动态测定从处理开始每隔48 h取样测定1次,连续测6次。

1.3 指标测定

乙醇酸氧化酶(GO)用盐酸苯肼-铁氰化钾比色法测定^[6],谷氨酰胺合成酶(GS)按参考文献[6]测定,过氧化氢酶(CAT)用高锰酸钾滴定法测定^[7],过氧化氢(H_2O_2)含量参考文献[7]。

2 试验结果

2.1 Ce(Ⅲ)与UV-B胁迫对大豆幼苗GO的动态影响

由图1可见,与CK组相比,Ce(Ⅲ)组GO在整个实验时段皆高于CK。UV-B组在1~5 d(胁迫期)呈上升趋势,6~11 d(恢复期)呈下降趋势; T_1 与 T_2 的胁迫期和恢复期变化显示,UV-B辐射与GO间存在明显的剂量效应。Ce(Ⅲ)+UV-B组在胁迫期亦呈明显的上升趋势,恢复期也呈下降趋势;Ce(Ⅲ)+UV-B组在整个实验期间GO整体高于UV-B组。实验结束时,Ce(Ⅲ)+ T_1 和Ce(Ⅲ)+ T_2 组GO分别高于CK

11.84%和14.73%,分别高于 T_1 组0.3%和 T_2 组12%。

2.2 Ce(Ⅲ)与UV-B胁迫对大豆幼苗GS的动态影响

图2显示,与CK组相比,Ce(Ⅲ)组GS在整个实验时段皆高于CK。UV-B组在胁迫期呈上升趋势,恢复期呈下降趋势; T_1 与 T_2 的胁迫期和恢复期变化显示,UV-B辐射与GS间存在明显的剂量效应。Ce(Ⅲ)+UV-B组在胁迫期亦呈明显的上升趋势,恢复期也呈下降趋势;Ce(Ⅲ)+UV-B组在整个实验期间GS整体高于UV-B组。实验结束时,Ce(Ⅲ)+ T_1 和Ce(Ⅲ)+ T_2 组GS分别高于CK 38.18%和26.12%,分别高于 T_1 组8%和 T_2 组5.2%。Ce(Ⅲ)处理可以提高UV-B辐射胁迫下大豆幼苗GS的活性,UV-B辐射与GS间存在明显的剂量效应。

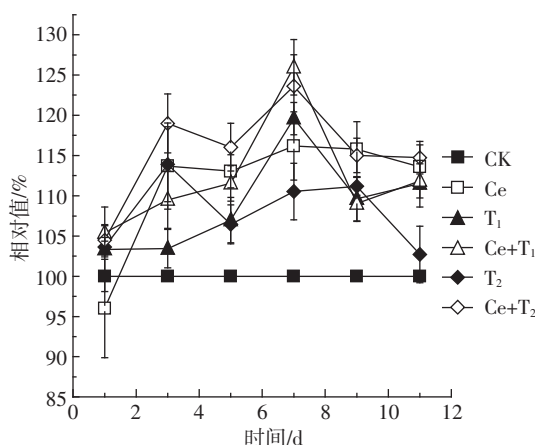


图1 Ce(Ⅲ)对UV-B胁迫下大豆幼苗GO的动态影响

Figure 1 Effect of Ce(Ⅲ) on GO in soybean seedlings under UV-B radiation stress

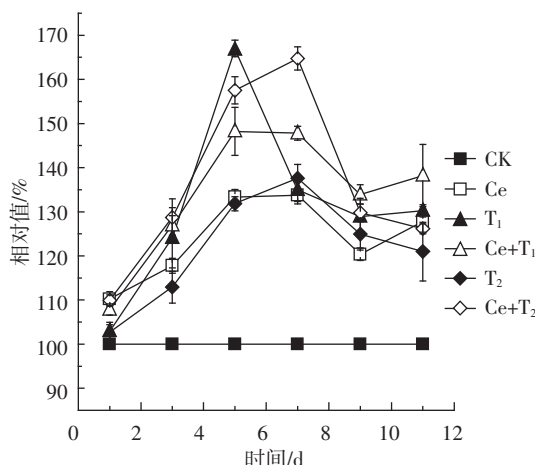


图2 Ce(Ⅲ)对UV-B胁迫下大豆幼苗GS的动态影响

Figure 2 Effect of Ce(Ⅲ) on GS in soybean seedlings under UV-B radiation stress

2.3 Ce(Ⅲ)与UV-B胁迫对大豆幼苗CAT和H₂O₂含量的动态影响

图3a说明,与CK组相比,Ce(Ⅲ)组H₂O₂含量始终低于UV-B组,且与CAT活性变化相关。UV-B组在胁迫期呈上升趋势,恢复期呈下降趋势;T₁与T₂的胁迫期和恢复期变化显示,UV-B辐射与H₂O₂含量间存在明显剂量效应。Ce(Ⅲ)+UV-B组在胁迫期亦呈明显上升趋势,恢复期呈下降趋势;Ce(Ⅲ)+UV-B组在整个实验期间H₂O₂含量整体低于UV-B组。实验结束时,Ce(Ⅲ)+T₁和Ce(Ⅲ)+T₂组H₂O₂含量分别低于CK 19.1%和19.8%,分别高于T₁组11.7%和T₂组4.7%。

图3b表明,与CK组相比,Ce(Ⅲ)组CAT在整个实验时段皆高于CK。UV-B组在胁迫期呈上升趋势,恢复期呈下降趋势;T₁与T₂胁迫期和恢复期变化显示,UV-B辐射与CAT间存在明显剂量效应。Ce(Ⅲ)+UV-B组在胁迫期亦呈明显的上升趋势,恢复期也呈下降趋势;Ce(Ⅲ)+UV-B组在整个实验期间CAT整体高于UV-B组。实验结束时,Ce(Ⅲ)+T₁和

Ce(Ⅲ)+T₂组CAT分别高于CK 5.2%和1.97%,分别高于T₁组3.3%和T₂组0.3%。

3 讨论

乙醇酸氧化酶(GO)是控制光呼吸的一个关键酶^[8],其活性与光活化及底物诱导有关^[9]。在C3植物光呼吸代谢中,GO将光合碳还原中形成的乙醇酸氧化成乙醛酸,并生成副产物H₂O₂。GO活性的高低,代表了光呼吸作用的强弱。UV-B胁迫下,T₁和T₂组GO提高,表明在UV-B等强光条件下,植物通过提高GO活性增强Pr,较强的光呼吸活性有利于防御逆境下光抑制造成的光合器官伤害^[10]。Ce(Ⅲ)提高植物GO活性,促进植物光呼吸代谢,无疑有益于缓解高能量UV-B辐射对植物光合器官造成的伤害。

谷氨酰胺合成酶(GS)不仅是高等植物铵同化途径中一种重要酶,也是C3植物光呼吸过程中的关键酶,GS活性高低直接影响到大麦、烟草等植物的光呼吸速率^[11]。当植物受到逆境胁迫时,GS活性会受到抑制^[12]。试验表明,Ce(Ⅲ)同样可以提高GS活性。UV-B胁迫下,Ce(Ⅲ)处理后的大豆幼苗GS在胁迫期维持较高活性,恢复期GS仍然保持一定水平。GS不仅是光呼吸中的关键酶,也是植物氮同化过程的关键酶。光呼吸期间释放的氨量是初级氨同化的10倍^[13]。研究表明,在烟草中过量表达GS可以提高光呼吸速率,通过提高光呼吸增强再同化释放氨的能力,提高植物的氮素利用率^[14]。因此,Ce(Ⅲ)处理可以提高GS活性,进而提高植物光呼吸速率,通过提高光呼吸速率来提高植物氮素利用率,缓解由于逆境胁迫造成的氮循环障碍,同时耗散UV-B辐射高能量对光合器官的伤害。

逆境胁迫早期,活性氧分子(如H₂O₂)作为信号传导分子起到触发植物应激生理反应的作用^[15],其含量可用以表征UV-B胁迫下,植物是否受到逆境伤害及伤害程度。UV-B胁迫下,Ce(Ⅲ)处理后的CAT和H₂O₂含量呈现先上升后下降的趋势,胁迫期由于受到UV-B胁迫导致光呼吸速率提高,增加了植物体内H₂O₂量,但Ce(Ⅲ)处理有效提高了CAT活性,加快清除植物体内的H₂O₂,减轻由于H₂O₂增多而增加的活性氧对植物的损伤。恢复期,由于光呼吸速率降低,使植物体内的H₂O₂量降低,进而导致CAT应激活性降低。可见,Ce(Ⅲ)处理大豆幼苗,提高其光呼吸关键酶GO、GS和CAT活性,增加光呼吸代谢速率,可在一定程度上缓解UV-B辐射胁迫对大豆幼苗造成的

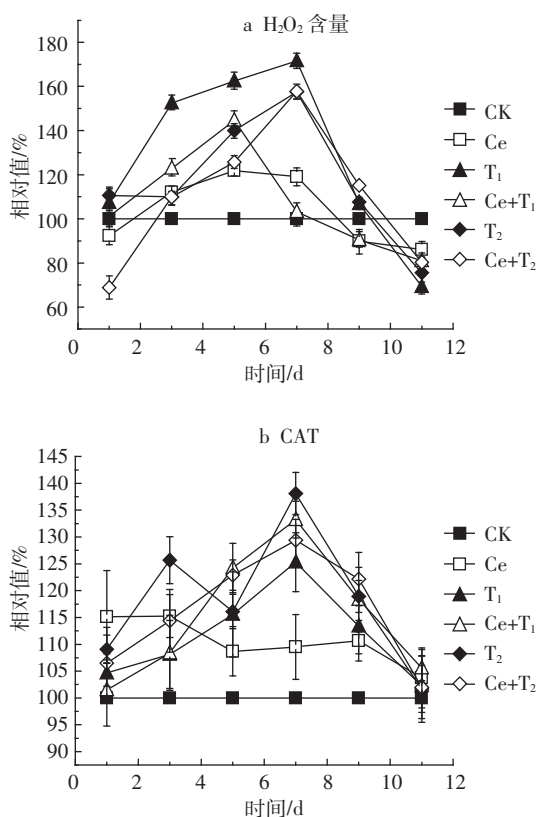


图3 Ce(Ⅲ)对UV-B胁迫下大豆幼苗H₂O₂含量和CAT的动态影响

Figure 3 Effect of Ce(Ⅲ) on H₂O₂ content and CAT soybean seedlings under UV-B radiation stress

危害。

参考文献:

- [1] 陈 菊, 章星异, 梁婵娟, 等. 铈对 UV-B 胁迫下菠菜离体叶绿体光化学反应影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(3): 960-963.
CHEN Ju, ZHANG Xing-yi, LIANG Chan-juan, et al. Effect of cerium on photochemical reactions in isolated intact chloroplast from spinach exposed to supplementary UV-B radiation[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(3): 960-963.
- [2] 梁婵娟, 李 娟, 黄晓华, 等. Ce 对 UV-B 辐射胁迫下大豆幼苗光合作用影响: I 对光合色素与希尔反应活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(3): 576-579.
LIANG Chan-juan, LI Juan, HUANG Xiao-hua. Effect of cerium on photosynthesis in soybean seedling under supplementary UV-B radiation stress: I photosynthetic pigments and hill reaction activity[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(3): 576-579.
- [3] 梁婵娟, 黄晓华, 周 青. Ce 对 UV-B 辐射胁迫下大豆幼苗光合作用影响: II 对光合量子效率与羧化效率的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(3): 580-583.
LIANG Chan-juan, HUANG Xiao-hua, ZHOU Qing. Effect of cerium on photosynthesis in soybean seedling under supplementary UV-B radiation stress: II photosynthetic quantum yield and carboxylation efficiency[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(3): 580-583.
- [4] Demmig-Adams B, Adams W W. Photoprotection and other responses of plants to hight stress [J]. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992 (43): 599-626.
- [5] Kozaki A, Takeka G. Photorespiration protects C3 plants from photooxidation[J]. *Nature*, 1999(384): 557-560.
- [6] 章汤城. 现代植物生理学试验指南[M]. 上海: 上海科学出版社, 2004.
ZHANG Tang-cheng. Modern plant physiology experiments guide[M]. Shanghai: Shanghai Science Press, 2004.
- [7] 邹 琦. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
ZOU Qi. Plant physiology pilot guidance[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000.
- [8] Esquivel M G, Ferreira R B, Teixeira A R. Protein degradation in C3 and C4 plants with particular reference to ribulose biphosphate carboxylase and glycolate oxidase[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1998(49): 807-816.
- [9] 李启明. 植物的乙醇酸氧化酶[J]. 植物生理学通讯, 1988(6): 67-71.
LI Qi-ming. Plant glycolate oxidase[J]. *Plant Physiology Communications*, 1988(6): 67-71.
- [10] 刘厚诚, 黄红星, 孙光闻, 等. 温光处理对节瓜幼苗光合作用的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(3): 386-389.
LIU Hou-cheng, HUANG Hong-xing, SUN Guang-wen, et al. Effect of temperature and light treatments on photosynthesis of chiehqua seedlings[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2006, 37(3): 386-389.
- [11] Wallsgrave R M, Turner J C, Hall N P. Barley mutants lacking chloroplast glutamine synthetase biochemical and genetic analysis[J]. *Plant Physiol*, 1987(83): 155-158.
- [12] Gouia H, Ghorbal M H, Meyer C. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2000(38): 629-638.
- [13] Keys A J, Bird I F, Cornelius M J. Photorespiratory nitrogen cycle[J]. *Nature*, 1978(275): 741-743.
- [14] Migge A, Carrayol E, Hirel B. Leaf-specific over expression of plastidic glutamine synthetase stimulates growth of transgenic tobacco seedlings[J]. *Planta*, 2000(210): 252-260.
- [15] 刘家忠, 龚 明. 植物抗氧化系统研究进展[J]. 云南师范大学学报, 1999, 19(6): 1-11.
LIU Jia-zhong, GONG Ming. Advances in antioxidant systems of plants [J]. *Journal of Yunnan Normal University (Natural Sciences Edition)*, 1999, 19(6): 1-11.