

油菜光合作用及 CAT 对 UV - B 与 AR 胁迫的响应 (I)

梁婵娟¹, 徐青¹, 陶文沂¹, 李操¹, 沈东兴³, 徐雪松¹, 周青^{1,2}

(1. 江南大学生物工程学院, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214036; 3. 锡山市种子公司, 江苏 无锡 214036)

摘要: 采用水培试验方法研究了紫外辐射 (UV - B, 280 ~ 320 nm) 与酸雨 (AR) 单一和复合胁迫对油菜幼苗保护酶 (CAT) 及光合作用的影响。结果表明, 单一胁迫与复合胁迫对油菜幼苗 CAT 活性及光合作用有不同程度的作用效果。在单一 UV - B 辐射 ($0.45 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$), 单一酸雨 (pH3.5) 胁迫及复合胁迫下, 质膜透性、MDA 含量及 CAT 活性的增幅为 8%、18.1%、26.0%, 11.5%、21.6%、66.7% 和 28.8%、85.0%、113.8%; 叶绿素含量、净光合速率、蒸腾速率、水分利用效率及气孔导度降幅为 16.5%、48.6%、57.2%, 28.6%、42.9%、78.6%, 3.9%、12.4%、14.8%, 27.8%、31.0%、74.5% 和 35.6%、38.2%、44.7%; 而胞间 CO_2 浓度的增幅为 9.3%、10.6%、26.4%。结果显示, 复合胁迫的抑制效应强于单一胁迫, 即 $\text{UV - B} + \text{AR} > \text{UV - B} > \text{AR}$, 且对不同指标的影响不尽一致。

关键词: UV - B 辐射; 酸雨; 复合胁迫; 油菜幼苗; CAT; 光合作用

中图分类号: X131 文献标识码: A 文章编号: 1672 - 2043(2004)04 - 0642 - 04

Response of Defense Enzyme and Photosynthesis in Rape Seedling Under Combined Stress of Elevated Ultraviolet - B Radiation and Acid Rain

LIANG Chan-juan¹, XU Qing¹, TAO Wen-yi¹, LI Cao¹, SHEN Dong-xing³, XU Xue-song¹, ZHOU Qing^{1,2}

(1. The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 3. Xishan Seed Company, Wuxi 214036, China)

Abstract: The response of defense enzyme and photosynthesis in rape seedling to combined stress of elevated ultraviolet - B radiation (UV - B, 280 ~ 320nm) and acid rain was studied under lab conditions. In the experiment, the rapes were separated to three groups except control group. One group was sprayed with simulated acid rain at pH value of 3.5. One group was exposed to UV - B radiation with level of $0.45 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$. Another group was treated with simulated acid rain at first, and then exposed to UV - B radiation. After 5 days of UV - B treatment, membrane permeability, MDA content, CAT activity, chlorophyll content, net photosynthesis rate, transpiration rate, water use efficiency, stomatal conductance and intercellular CO_2 concentration of rapes were measured. The results showed that there were different effect on the CAT activity and photosynthesis under single stress and combined stress. Enhanced UV - B radiation and acid rain treatment induced rise on CAT activity with the increase in membrane permeability and MDA content, decrease in chlorophyll content, net photosynthesis rate, transpiration rate, water use efficiency and stomatal conductance and increase in intercellular CO_2 concentration, compared to control plants. Although the change trend was the same under single and combined stress, the extent of change was different. Under single stress and combined stress, the increase in membrane permeability was 8%, 18.1%, 26.0%, in MDA was 11.5%, 21.6%, 66.7% and in CAT activity was 28.8%, 85.0%, 113.8%, respectively. When damage happened after treated by the single stress and combined stress, the decrease in chlorophyll content was 16.5%, 48.6%, 57.2%, respectively, in net photosynthesis rate was 28.6%, 42.9%, 78.6%, in transpiration rate was 3.9%, 12.4%, 14.8%, in water use efficiency was 27.8%, 31.0%, 74.5% and in stomatal conductance was 35.6%, 38.2%, 44.7%. Contrarily, the intercellular CO_2 concentration was increase (9.3%, 10.6%, 26.4%). From above results, it could be found that the inhibition of combined stress is stronger than that of single stress ($\text{UV - B} + \text{AR} > \text{UV - B} > \text{AR}$) and different stress has different effect on each index. To CAT activity of rape, the single stress and combined stress showed the additive effect, however, showed synergistic effect on the MDA, net photosynthesis rate, water use efficiency and intercellular CO_2 concentration and independent effect on chlorophyll content, stomatal conductance, transpiration rate and membrane permeability.

Keywords: elevated UV - B radiation; acid rain; combined stress; rape seedling; CAT; photosynthesis

收稿日期: 2003 - 12 - 31

基金项目: 国家计委 (GJX01100626); 江苏省科技厅 (BG2001045); 江苏省教育厅 (01KJB150006) 基金资助

作者简介: 梁婵娟 (1978—), 女, 新疆石河子人, 环境生态学博士研究生。

联系人: 周青, 教授 (博士生导师), E-mail: zhouqeco@yahoo.com.cn

工业化进程加速了植物生境的破坏,其中臭氧层减薄引起的 UV - B 辐射增强与大气污染诱发的酸沉降(酸雨)对植物的影响尤为广泛。有关紫外辐射(UV - B, 280 ~ 330 nm)增强及酸雨对植物影响(的研究内容遍及植物分子、细胞、组织、器官、个体和生态系统等各个层次^[1, 2],但二者复合作用对植物的影响还尚未见报道。在自然界,各种环境因子常常是相互作用共同影响植物及生态系统,考察植物对复合因子胁迫的响应更接近自然现实。植物在逆境条件下保护酶系统的应激反应已广泛用于植物对逆境反应机理的探讨^[3];光合作用的变化也因其严重影响作物苗期素质及最终产量被作为探察植物响应逆境条件的重要内容^[4]。本文以经济植物油菜为试材,探讨了 UV - B 辐射与酸雨复合胁迫对保护酶(CAT)和光合作用的影响,为客观、综合评估复合污染因子对植物的生理、生化代谢的影响提供基础试验数据。

1 材料与方法

1.1 试材培养

将品种为“史力丰”的油菜(*B. chinensis var. oleifera*)种子用 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 10 min, 无菌水漂洗 3 次, 浸种 4 h 后, 放入垫有 3 层滤纸的培养皿中, 置于恒温培养箱(25 ℃)中萌发。当下胚轴长至 2 cm 时移入塑杯(φ = 10 cm)中, 去离子水培养, 每杯 5 株, 待真叶长出后, 移入 1/2(Arnon + Hogland) 营养液中继续培养, 每 3 d 更换一次营养液, 以确保 pH 值的稳定, 培养 5 周后用作处理。

1.2 试材处理

1.2.1 UV - B 处理

模拟 UV - B 辐射增加使用 40 W UV - B 灯管(λ ≈ 280 ~ 320 nm), 灯管悬挂于植株上方, 辐射强度设定为 0.45 W · m⁻²^[5], 并经双通道 UV - B 紫外辐照计(北京师大光电仪器厂)验证, 每日照射 5 h, 连续照射 6 d。为保持实验全程紫外辐射强度恒定不变, 需不断调节灯管的高度。

1.2.2 AR 处理

模拟酸雨(AR)的配制参照文献[6], 先配制 pH 1.0 的酸雨母液, 其中硫酸根和硝酸根的体积比为 4:7:1。以去离子水作为稀释液, 调制成为伤害阈值为 pH3.5 的酸雨^[7], 并经 PHS - 29A 酸度计(上海精密科学仪器有限公司)校准。将配制好的 pH3.5 的酸雨溶液, 用喷雾器均匀喷布油菜叶片, 以滴液为限, 对照植株(CK)喷等量的蒸馏水。

1.2.3 UV - B 与 AR 复合处理

将 AR 处理后的部分油菜幼苗移于 UV - B 灯管下, 时间与强度同前(1.2.1)。以上各处理与 CK 均 3 杯, 3 次重复。

1.3 指标测定

叶绿素含量, 质膜透性, MDA 含量及 CAT 酶活性测定参照文献[8]。用 CIRAS - 1 便携式光合测定仪(PP Systems International Ltd)在设定光强为 200 μmol · m⁻² · s⁻¹, 内供 CO₂ 为 320 mL · m⁻³ 条件下测定 CK, UV - B, AR, AR + UV - B 处理后植株的净光和速率(Pn), 蒸腾速率(En), 气孔导度(Gs), 细胞间隙 CO₂ 浓度(Ci) 4 项指标, 植物叶片光合作用过程中的水分利用率(WUE)以 Pn/En 计算。

2 结果与分析

2.1 CAT 对 UV - B 与酸雨胁迫的响应

作为末端氧化酶的 CAT 是植物体内重要的活性氧清除酶系, 可防止细胞内过量活性氧对生物大分子与质膜的破坏。丙二醛(MDA)是细胞膜脂过氧化的产物, 可与质膜透性(E%)一起表征植物受逆境伤害的程度。由表 1 可知, 与 CK 相比, AR 处理下, 油菜幼苗的 CAT 活性显著提高, 增幅为 28.8%; 质膜透性和 MDA 含量均增加, 增幅为 8% 和 11.5%, 但并不显著。说明此时油菜体内保护酶产生应激反应, 并有效减轻由酸雨胁迫导致的活性氧增加触发的膜脂过氧化作用, 质膜伤害不明显。UV - B 处理下, CAT 活性显著提高, 增幅达到 85%; 此时, 质膜透性和 MDA 含量也均增加, 增幅为 18.1% 和 21.6%, 达到差异显著。说明此时油菜体内保护酶产生应激反应已不足以抵抗 UV - B 胁迫导致的活性氧增加触发的膜脂过氧化作用, 使质膜受到伤害, 胞内物质泄漏导致质膜透性增加。

AR + UV - B 复合胁迫处理下, CAT 活性增幅达到 113.8%, 质膜透性和 MDA 含量增幅为 26.0% 和 66.7%, 3 项指标不但与 CK 差异显著且与 AR, UV - B 差异也达到显著。由此可知, AR, UV - B 及 AR + UV - B 处理对油菜幼苗活性氧防御系统的影响呈现如下序列: AR + UV - B > UV - B > AR。这一结果说明, 复合胁迫的抑制作用强于单一胁迫, 使植物呈现出对复合胁迫因子的耐受性弱于单一胁迫因子。进一步考察发现, 复合胁迫对于 CAT 是相加效应, 对 MDA 为协调作用, 而 E% 则为独立效应。

2.2 光合作用对 UV - B 与酸雨胁迫的响应

表 1 AR, UV-B 及 AR+UV-B 处理对油菜幼苗质膜透性、MDA 及 CAT 活性的影响

Table 1 Effect of AR, UV-B and AR+UV-B on plasmolemma, MDA content and CAT activity of rape seedling

处理	质膜透性/%	MDA/mg·g ⁻¹	CAT/mg·g ⁻¹
CK	36.61±0.47 a (100.0)	0.30±0.01 a (100.0)	19.85±0.29 a (100.0)
AR	39.56±0.99 a (108.1)	0.36±0.03 a (111.5)	25.56±0.56 b (128.8)
UV-B	43.24±0.36 b (118.1)	0.39±0.03 b (121.6)	36.72±0.32 c (185.0)
AR+UV-B	46.13±0.79 c (126.0)	0.54±0.05 c (166.7)	42.43±1.60 d (213.8)

注:不同字母表示 $P < 0.05$ 差异显著性;括号内是相对值,下同。

表 2 数据显示,在 AR 胁迫下,油菜幼苗的叶绿素(Chl)含量较 CK 下降 16.5%,未达到差异显著水平;但叶片的净光合速率(Pn)下降 28.6%,达到差异显著水平,这与前人报道的酸雨胁迫下植物光合作用的下降进程先于叶绿素含量,前者对酸雨敏感性高于后者的事实相一致^[9]。叶片的 Pn 下降,势必导致 CO₂ 的同化速率降低,表现为细胞间隙内 CO₂ 浓度(Ci)增加,增幅为 9.3%,但未达到显著水平,显然这与 CO₂ 传输阻力增加有关。AR 胁迫也导致叶片蒸腾速率(En)和气孔导度(Gs)下降,降幅分别为 3.9%和 35.6%,Gs 显著降低阻遏了植物 En 与 Pn。比较 Pn 与

En 降幅可以看出,酸雨对蒸腾速率的抑制程度明显小于光合速率,因此叶片的水分利用效率(WUE)呈现显著降低的趋势。

与 CK 相比,UV-B 胁迫下油菜幼苗 Chl 含量和 Pn 均显著降低,降幅达 48.6%和 42.9%,呈现出与酸雨胁迫不同的反应规律。叶片 Pn 显著下降,同化 CO₂ 速率减缓,造成 Ci 增加,增幅为 10.6%,但未达到差异显著水平。UV-B 胁迫下叶片的 En 和 Gs 也都降低,降幅为 12.4%和 38.2%,Gs 的显著降低使 En 受到抑制,但因 En 的降幅远低于 Pn,未达到显著水平,叶片的 WUE 仍呈下降趋势。

表 2 AR,UV-B 及 AR+UV-B 处理对油菜幼苗光合作用的影响

Table 2 Effect of AR, UV-B and AR+UV-B on photosynthesis of rape seedling

处理	Chl /mg·g ⁻¹	Pn /μmol·m ⁻² ·s ⁻¹	En /mmolH ₂ O·m ⁻² ·s ⁻¹	WUE /μmol·mmol ⁻¹ H ₂ O	Ci /mL·m ⁻³	Gs /mmolH ₂ O·m ⁻² ·s ⁻¹
CK	1.33±0.06 a (100.0)	5.6±0.3 a (100.0)	1.05±0.08 a (100.0)	5.46±0.39 a (100.0)	227±2 a (100.0)	174.5±2.3 a (100.0)
AR	1.11±0.07 a (83.6)	4.0±0.4 b (71.4)	1.02±0.01 ab (97.1)	3.94±0.24 b (72.2)	248±2 a (109.3)	112.3±5.3 b (64.4)
UV-B	0.68±0.04 b (51.4)	3.2±0.1 c (57.1)	0.92±0.01 ab (87.6)	3.44±0.05 b (63.0)	251±6 a (110.6)	108.0±0.8 b (61.9)
AR+UV-B	0.57±0.05 b (42.9)	1.2±0.2 d (21.4)	0.87±0.02 b (85.3)	1.39±0.20 c (25.5)	287±5 b (126.4)	96.5±2.1 b (55.3)

在 AR+UV-B 复合胁迫下,油菜叶片的 Chl 含量、Pn、En、Gs 及 WUE 等指标均显著低于对照植株,降幅分别为 57.2%、78.6%、14.8%、44.7%和 74.5%,Ci 显著增加,增幅为 26.4%,暗示 Pn 严重受抑,Gs 陡增。由此比较油菜光合作用对 3 种胁迫方式的响应序列是:AR+UV-B>UV-B>AR。进一步分析发现,不同生理过程,或同一生理过程对胁迫因子的反应各不相同。其中与单因子作用相比,复合胁迫对于 Pn, WUE 和 Ci 表现为协同效应,与现有的报道一致^[10];对 Chl 含量、En 和 Gs 表现为独立效应。

度的抑制。由于两种污染因子胁迫方式,作用机理不同,油菜两大系统的响应方式也不尽一致,其作用规律为:

(1)在本试验条件下,油菜幼苗 CAT、光合作用对 3 种胁迫方式的响应序列是 AR+UV-B>UV-B>AR。

(2)复合胁迫对于油菜幼苗两大系统的不同生理过程影响较为复杂,对 CAT 活性呈现相加作用,对 MDA、Pn、WUE、Ci 是协同效应,对 Chl 含量、Gs、En、E% 则表现为独立效应。

3 结论

研究表明:在 UV-B 与 AR 单一和复合胁迫下,油菜幼苗保护酶(CAT)与光合作用受到不同程

参考文献:

- [1] Paul. ND Stratospheric ozone depletion, UV-B radiation and crop disease[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 108: 343-355.

- [2] 冯宗炜. 中国酸雨的生态影响和防治对策[J]. 云南环境科学, 2000, 19(增刊): 1-6.
- [3] Hernan Costa, Susana M Gallego, Maria L Tomaro. Effect of UV - B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons[J]. *Plant Science*, 2002, 162: 939 - 945.
- [4] Correia, CM Torres - Pereira, MS Torres - Pereira. JMG Growth, photosynthesis and UV - B absorbing compounds of Portuguese Barblea wheat exposed to ultraviolet - B radiation[J]. *Environmental Pollution*, 1999, 104: 384 - 388.
- [5] 郑有飞, 何雨红, 甘思旧. 紫外辐射增加后麦田的小气候特征研究 (I) [J]. 农业环境保护, 2002, 21(5): 406 - 409.
- [6] 张耀民, 吴丽英, 王晓霞, 等. 酸雨对农作物的叶片伤害及生理特性的影响[J]. 农业环境保护, 1996, 15(5): 197 - 208, 227.
- [7] 唐鸿寿. 模拟酸雨对油菜生长的影响[J]. 农业环境保护, 1996, 15(6): 261 - 263.
- [8] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [9] 周 青, 黄晓华, 王东燕, 等. La 对腊梅酸致损伤的影响[J]. 生态学杂志, 1997, 16(6): 59.
- [10] 孙振令, 彭长连, 孙梓健, 陈等. 增强 UV - B 辐射和 SO₂ 作用下植物光合响应及其相对抗性[J]. 植物生态学报, 2003, 27(3): 285 - 292.