

# UV-B 与 AR 胁迫下油菜光合及 CAT 活性的恢复过程 (II)

梁婵娟<sup>1</sup>, 陶文沂<sup>1</sup>, 李操<sup>1</sup>, 沈东兴<sup>3</sup>, 曾庆玲<sup>1</sup>, 徐雪松<sup>1</sup>, 周青<sup>1,2</sup>

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

**摘要:** 采用水培试验方法研究了油菜幼苗保护酶(CAT)及光合作用受紫外辐射(UV-B, 280~320 nm)与酸雨(AR)单一和复合胁迫后的恢复过程, 考察了各项指标在胁迫后 0~64 h 中的变化。结果显示, AR(pH3.5)对 E%、CAT 活性、Chl 含量及 En 的影响是可恢复的, 而对 Pn 造成了不可逆伤害; UV-B(0.45 W·m<sup>-2</sup>)对 E%、CAT 活性、Chl 含量、Pn 及 En 的影响均可恢复; AR+UV-B 对 E%、CAT 活性、Chl 含量、En 影响可恢复, 而对 Pn 的影响无法恢复。试验结果还进一步说明, 植物自身修复难易程度及恢复进程的快慢都与胁迫方式有关。

**关键词:** 油菜幼苗; UV-B 与酸雨复合胁迫; CAT; 光合作用; 恢复效应

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

## Restoration of Defense Enzyme and Photosynthesis in Rape Seedling Under Combined Stress of Elevated Ultraviolet-B Radiation and Acid Rain (II)

LIANG Chan-juan<sup>1</sup>, TAO Wen-yi<sup>1</sup>, LI Cao<sup>1</sup>, SHEN Dong-xing<sup>3</sup>, ZENG Qing-ling<sup>1</sup>, XU Xue-song<sup>1</sup>, ZHOU Qing<sup>1,2</sup>

(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)

**Abstract:** The restoration of defense enzyme and photosynthesis in rape seedling after combined stress of elevated ultraviolet-B radiation (UV-B, 280~320 nm) and acid rain was studied in this paper under lab condition. In the experiment, the rape seedlings 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 W·m<sup>-2</sup>. Another group was treated with simulated acid rain at first, and then exposed to UV-B radiation. During 0~64h after 5 days of UV-B treatment, we research the changes of some indexes include membrane permeability, CAT activity, chlorophyll content, net photosynthesis rate, transpiration rate, water use efficiency, stomatal conductance and intercellular CO<sub>2</sub> concentration. The change of membrane permeability and chlorophyll content of rape treated with acid rain showed damage of acid rain were appear lagging in the time. During 0~4h, before restoration starting, rapes were regulating phase, which defense react were begin when damage turned more serious. 32h was the dividing line to the two continuous processes. Before 32h, rapes were opposed phase which damage to rapes were more serious and endurance of rapes to stress were stronger gradually. After 32h, rapes were restored to natural state or were exhausted to dead. From the change trend of each index, it was found that, to the group treated with simulated acid rain, the damage to membrane permeability, CAT activity, chlorophyll content, transpiration rate and stomatal conductance of rape can be restored but to net photosynthesis rate can not. However, damage to the group treated by enhanced UV-B can all be restored. Under the combined stress of enhanced UV-B and acid rain, the damage to membrane permeability, CAT activity, chlorophyll content and transpiration rate can be restored but to net photosynthesis rate and stomatal conductance can not. This conclusion showed that selecting index and time is important to judge that plant was damaged under certain stress. If selecting index and time is different, the last result is maybe various. On the other hand, the results can prove that the restoring degree and time was related to stress intensity. Extent to restoration of membrane permeability, CAT activity, chlorophyll content, net photosynthesis rate, water use efficiency and intercellular CO<sub>2</sub> concentration of three groups showed the same rule which restoration of rapes treated by combined stress was more difficulty than that by single stress (AR+UV-B>UV-B, AR)

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

收稿日期: 2003-12-17

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, E-mail: zhouqec@yaho.com.cn

前文<sup>[1]</sup>曾报道了 UV-B 辐射增强, 酸雨损伤及两者复合胁迫对油菜幼苗光合作用及过氧化氢酶活性(CAT)的影响, 目的旨在了解不同生理指标对 3 种胁迫的即时响应。考虑到胁迫效应通常是时间的函数, 研究油菜幼苗在 UV-B 辐射与酸雨复合胁迫后, 不同时间光合作用与 CAT 的恢复过程显得更为重要。这对客观、综合评估复合污染因子对植物的生理、生化代谢过程及植物自我修复过程影响是非常有益的, 文献调研显示, 这方面研究尚未见报道<sup>[2,3]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材培养

将油菜 (*B. chinensis* var. *oleifera*) 品种“史力丰”的种子用 0.1% 的 HgCl<sub>2</sub> 消毒 10 min、无菌水漂洗 3 次, 浸种 4 h 后移入放入垫有 3 层滤纸的培养皿中, 置恒温培养箱(25 ℃)中萌发。当下胚轴长至 2 cm 时, 置塑杯(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, 以确保其 pH 值稳定, 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<sup>-2</sup> [4], 并经双通道 UV-B 紫外辐射计校准, 每日照射 5 h, 连续照射 6 d。为保持实验全程 UV-B 强度恒定不变, 需不断调节灯管高度。

#### 1.2.2 AR 处理

模拟酸雨(AR)的配制参照文献[5], 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, 调制成伤害阈值为 pH3.5 的酸雨<sup>[6]</sup>, 并以 PHS-29A 酸度计(上海精密科学仪器有限公司)标定。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。处理时间相当于 UV-B 处理的第 5、6 d。

### 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, 及 CAT 酶活性测定参照[7]。用 CIRAS-1 便携式光合测定仪(PP Systems International Ltd)在设定光强为 200 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>, 内供 CO<sub>2</sub> 为 320 mL · m<sup>-3</sup> 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 CO<sub>2</sub> 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。各项指标均在 UV-B 辐射处理结束后 0、4、8、16、32 和 64 h 测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 UV-B 和 AR 胁迫下 CAT 的恢复过程

CAT 作为植物体内重要活性氧清除酶系可与质膜透性一起表征植物受逆境伤害的程度。两者在胁迫发生后一段时间内的变化态势, 可反映出植物自身修复过程中的一些信息。首先, 当 AR, UV-B 及 AR + UV-B 胁迫结束时(0h), CAT 活性显著提高, 与 CK 相比增幅为 28.8%, 85.0%, 113.8%, 达差异显著水平(P < 0.05), 暗示此时植物体内自由基反应加剧, 酶活应激上升, 以减轻自由基伤害。而增幅变化差异则表明, 自由基反应强度是 AR < UV-B < AR + UV-B; 其次, 在 4 ~ 64 h 间 CAT 变化显示, 3 种胁迫下 CAT 活性增幅表现为 9.0%、23.3%、4.6%、3.2%、-8.7%(AR), 9.3%、32.6%、25.9%、5.0%、5.4%(UV-B), 34.7%、44.1%、56.9%、36.6%、19.0%(AR + UV-B), 表明酶活呈先升后降趋势, 酶活恢复常态并非简单的线性过程, 而 4 h 处似为调整阶段; 第三, AR + UV-B 胁迫下酶活拐点后延(16 h), 直至 64 h 仍与 CK 差异显著的事实说明, 与单因子污染伤害相比, 油菜对复合胁迫的自我恢复过程较为缓慢(图 1a)。

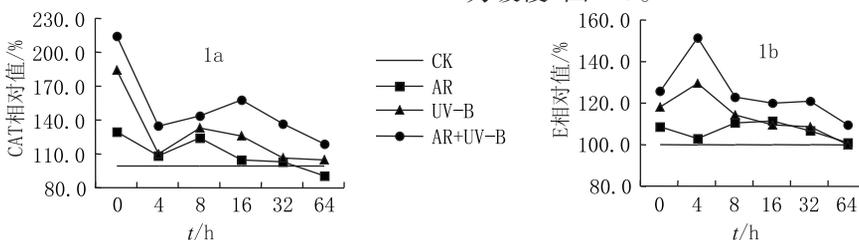


图 1 AR, UV-B 及 AR + UV-B 胁迫后油菜幼苗 CAT 及质膜透性(E)的动态变化过程

图 1b 反映的是 3 种胁迫发生后油菜幼苗质膜透性(E%)自我恢复的时间进程,其特点是(1)胁迫结束时(0 h),AR、UV-B 及 AR+UV-B 处理的油菜幼苗 E% 分别比 CK 增加 8.1%、18.1%、26.0%。AR 与 CK 差异不显著的事实说明,AR 伤害效应延迟;(2)4~64 h 间,3 种胁迫下油菜 E% 的变化趋势是 AR 先升后降(2.5%、10.2%、11.8%、6.2%、3.8%),UV-B (30.0%、14.0%、10.0%、8.3%、0.4%)与 AR+UV-B(51.1%、23.1%、19.7%、20.8%、9.5%)缓降,表明 AR 伤害具有明显的“时滞效应”,而 4 h 时 UV-B 与 AR+UV-B 下油菜 E% 最高,可能与 CAT 处于调整期有关;(3)64 h 时 3 种处理与 CK 差异均不显著,显示油菜幼苗质膜透性自身修复状况良好,但 AR+UV-B 的 E% 增幅> AR、UV-B,暗示 3 种胁迫方式下,E% 自身修复的难易程度不同。

## 2.2 UV-B 和 AR 胁迫下光合作用的恢复过程

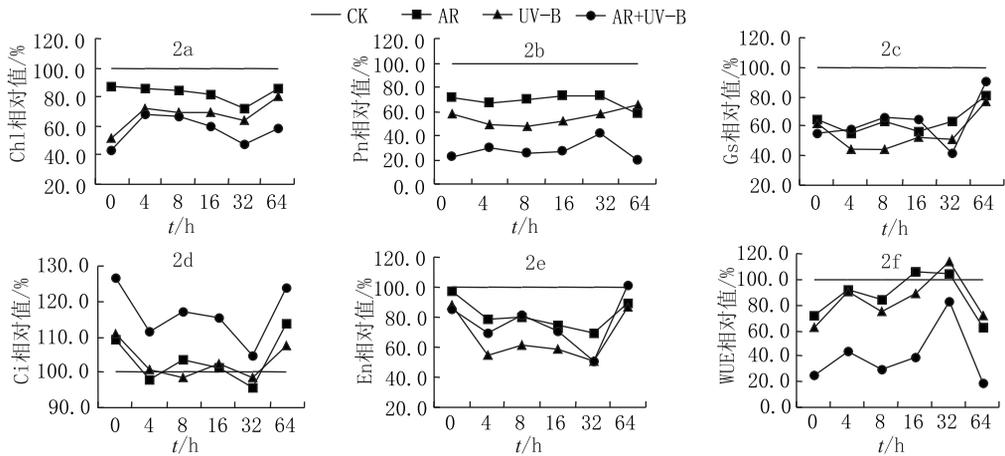


图 2 AR、UV-B 及 AR+UV-B 胁迫后油菜幼苗光合作用的动态变化过程

Figure 2 The trends of photosynthesis of rape seedling under AR, UV-B and AR+UV-B stress

图 2b 显示,3 种胁迫结束时(0 h) Pn 的降幅为 28.1%、42.2%、78.2%,均与 CK 差异显著。随后的 4~64 h,3 种胁迫下 Pn 的基本变化规律是 AR 先降后增(33.8%、30.5%、27.7%、27.3%、42.1%),UV-B 逐渐降低(50.8%、53.2%、48.2%、42.2%、35.1%),AR+UV-B 也是先降后增,不同的是降幅大于 AR(69.7%、75.3%、72.8%、58.3%、80.7%)。上述事实说明,(1)Pn 对酸雨胁迫敏感性高于 Chl,此时 Pn 降低不能简单理解为叶绿素下降所致<sup>[8]</sup>;(2)与 AR、UV-B+AR 胁迫相比,植物对 UV-B 损伤的修复效应较好,这与 Chl 大幅回升、Gs 与 Ci 增加等代偿性因素有关。结果与刘清华等报道的 Chl 含量增加有利于吸收和利用过多的光能从而缓解 UV-B 伤害的

图 2a 是 Chl 受 3 种胁迫后的动态变化过程。与 CK 相比,AR、UV-B 及 AR+UV-B 胁迫结束时(0 h)的 Chl 含量分别下降 13.4%、48.6%、57.1%,AR 与 CK 差异不显著的事实再次说明,AR 伤害效应延迟。随后的 4~64 h 间,3 种处理的 Chl 降幅均呈先增后降的规律(AR,14.6%、16.0%、18.2%、28.0%、14.4%;UV-B,27.3%、31.2%、31.3%、36.3%、19.9%;AR+UV-B,32.5%、33.7%、40.9%、52.5%、42.1%),UV-B 及 AR+UV-B 处理下 4 h 时,Chl 变化即进入恢复性调整期(但有波动)。32 h 为恢复性调整的转折点,其后 Chl 含量始向 CK 靠近,表明伤害未超过其耐受负荷,经自修复能逐渐恢复到正常水平。整个过程中,Chl 含量降幅呈现出的规律为,AR+UV-B> UV-B> AR,暗示在 3 种胁迫下,Chl 含量的降幅和最终恢复程度与胁迫方式和与时间相关。

结论相一致<sup>[9]</sup>,这种恢复效应也可看作是 UV-B 诱发的损伤在可见光下修复的光复活作用<sup>[10]</sup>;(3)UV-B+AR 的 Pn 在 32 h 后剧降,暗示胁迫超出植物承受负荷,Chl、Gs 及 Ci 等代偿性反应也无法逆转该过程。

Gs 作为 CO<sub>2</sub> 与 H<sub>2</sub>O 传输的限制因子间接影响植物 Pn 与 En。在 AR、UV-B 及 AR+UV-B 胁迫下,与 CK 相比,油菜叶片 Gs 均降低,见图 2c。0 h 降幅分别为 35.6%、37.1%、44.7%,表明胁迫影响气孔行为,Gs 降低并最终导致 Pn 和 En 降低,见图 2b、图 2e。在随后 4~64 h 中,3 种胁迫下 Gs 降幅变化 AR 为 45.2%、37.2%、44.0%、37.4%、18.6%,16 h 后气孔导度逐渐增大,表明植物自修复进程虽缓慢但有效

(64 h时,与CK差异不显著)。UV-B变化为56.0%、55.8%、47.5%、49.6%、23.2%,由于胁迫机理不同,UV-B胁迫造成的 $G_s$ 降低虽然逐渐恢复,但恢复的困难程度大于AR(64h时 $G_s$ 降幅仍与CK达到差异显著)。AR+UV-B变化为41.8%、34.4%、34.7%、58.7%、10.4%,64h降幅急剧降低,与CK差异不显著。对此结果可做如下推测:在Pn恢复的最后阶段(32~64h), $G_i$ 与 $C_i$ 代偿性增加,确保原料( $CO_2$ )供给不成为限制因子,虽然最终未能促使Pn恢复,但可延缓Pn降低速度。

在本试验中,光合指标测定均在恒定内供气的条件下测定,因此 $C_i$ 的变化只受Pn和 $G_s$ 的影响。叶片的Pn下降使 $CO_2$ 同化速率降低,导致 $C_i$ 增加;而 $G_s$ 降低使进入胞内的 $CO_2$ 浓度降低。两者平衡的结果决定 $C_i$ 的变化趋势。AR,UV-B及AR+UV-B处理后(0h), $C_i$ 增幅分别为9.3%、10.6%、26.4%,此时虽Pn与 $G_s$ 均降低,但Pn降低的影响占主导地位,因此表现为 $C_i$ 上升。随后的4~64h中, $C_i$ 增幅变化趋势分别为-2.3%、3.5%、1.5%、-4.3%、13.6%(AR),0.5%、-1.4%、2.1%、-1.5%、7.4%(UV-B),11.2%、16.9%、15.4%、4.0%、24.0%(AR+UV-B),见图2d。参照图2b与图2c来分析试验结果, $C_i$ 的变化反应两个信息:其1,4~32h间,AR与UV-B胁迫下 $C_i$ 变化均未达到差异显著,表明在此阶段Pn与 $G_s$ 恢复程度相近;对于AR+UV-B,4~16h间 $C_i$ 均显著增加,表明Pn恢复程度小于 $G_s$ 或Pn的恢复进程慢于 $G_s$ ;其2,64h,AR及AR+UV-B的Pn自修复失败和 $G_s$ 代偿性反应导致 $C_i$ 显著增加。

由图2e可知,与CK相比,AR,UV-B及AR+UV-B处理后 $E_n$ 均降低。0h降幅分别为2.9%、12.4%、14.7%,AR,UV-B与CK皆未达到差异显著。4~32h间,3种处理下 $E_n$ 呈现相同的变化趋势,降幅略微减小后又缓增(AR,22.0%、19.7%、25.1%、30.4%;UV-B,45.2%、38.7%、41.6%、49.5%;AR+UV-B,31.3%、18.2%、29.6%、49.7%)。处理后64h测得 $E_n$ 降幅分别为10.3%、12.8%、-1.8%,均与CK不显著。分析数据可知,在胁迫后初期, $E_n$ 变化并不显著,随着伤害加深,植物为了保证自身正常生长需求,降低水分散失,以增强自身的耐受性。32h后,植物自身修复使其稳定性改善,水分代谢逐渐正常化。

胁迫下WUE的变化是由Pn与 $E_n$ 的受抑制程度

决定。如图2f所示,与CK相比,AR,UV-B及AR+UV-B处理完(0h)WUE降幅分别为27.8%、37.0%、74.5%,表明胁迫对蒸腾速率的抑制程度明显小于光合速率,因此叶片的WUE呈现显著降低的趋势。随后的4~64h间,3种胁迫下WUE的降幅变化为8.7%、15.5%、-5.1%、-4.9%、37.0%(AR),10.0%、25.4%、11.4%、-14.1%、28.4%(UV-B),55.9%、70.4%、61.5%、17.6%、81.7%(AR+UV-B),均呈现先上升后逐渐降低,32h后降幅急剧增大。略上升的原因是,此时Pn修复并不明显,而 $E_n$ 由于水汽散失而略微增大;缓降是因为Pn处于修复增加而 $E_n$ 处于降低趋势;而32h后降幅急剧增大,原因之一是 $E_n$ 上升,恢复到正常水平;之二是AR及AR+UV-B对Pn的伤害无法修复,Pn急剧降低。

### 3 结论

通过对AR,UV-B及AR+UV-B处理后(0~64h)植物CAT活性、 $E_n$ 、Chl含量、Pn、 $G_s$ 、 $C_i$ 、 $E_n$ 及WUE变化规律的分析,可得到如下结论:

(1) AR胁迫下 $E_n$ 与Chl变化表明,AR伤害具有滞效应。

(2) 0~4h为植物自身恢复开始之前的调整期,特点为伤害迅速加深,保护性应激反应启动。

(3) 32h为2个连续过程的分界点。32h前,植物处于伤害加剧与耐受性增强的抗争阶段;32h后,或修复回到正常水平或耗尽而崩溃。

(4) 3种胁迫下, $E_n$ 、CAT活性、Chl含量、Pn、WUE及 $C_i$ 自身修复的困难程度呈现相同规律,即AR+UV-B>UV-B,AR。

(5) AR胁迫下,对 $E_n$ 、CAT活性、Chl含量、 $E_n$ 及 $G_s$ 的影响是暂时的,可以恢复,而对于Pn,造成不可逆伤害而无法修复;UV-B胁迫下, $E_n$ 、CAT活性、Chl含量、Pn、 $E_n$ 及 $G_s$ 均可恢复;AR+UV-B胁迫下, $E_n$ 、CAT活性、Chl含量、 $E_n$ 可恢复,而Pn和 $G_s$ 无法修复。这一结论说明,在评价某一胁迫因子对植物是否有伤害时,采用的评价指标和测定时段不同,则得出的结论会有差异,甚至完全相反。

#### 参考文献:

- [1] 梁婵娟,徐青,周青,等.油菜光合作用及CAT对UV-B与酸雨胁迫的响应(I)[J].农业环境科学学报,2004,23(4):642-645.
- [2] Gareth K P, Dylan G J, John A. L, Terry V C. Ecological importance of ambient solar ultraviolet radiation to a sub-arctic heath community[J]. *Plant Ecology*, 2002, 165: 263-273.

- [3] 齐文启, 席俊清, 汪志国, 等. 酸雨研究的现状和发展趋势[J]. 中国环境监测, 2002, 18(1): 6-11.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [8] 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): 59-61.
- [9] 刘清华, 钟章成. 紫外线-B 对银杏光合生理指标的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2002, 27(3): 378-382.
- [10] 师生波, 贲桂英, 赵新全, 等. 增强 UV-B 辐射对高山植物麻花苣净光合速率的影响[J]. 植物生态学报, 2001, 25(5): 520-524.

## 欢迎订阅 2005 年《农业环境科学学报》

《农业环境科学学报》(原《农业环境保护》)是由农业部主管、中国农业生态环境保护协会主办的全国性学术期刊。是中国科学引文数据库核心期刊, 列于被引频次最高的中国科技期刊 500 名之内并入编《中国学术期刊(光盘版)》。本刊还被国外多家著名检索机构收录, 如美国《化学文摘》(CA)和俄罗斯《文摘杂志》(AJ), 美国《剑桥科学文摘社网站: 水系统、水科学与渔业文摘、环境工程、水资源文摘及环境科学与污染管理》等 7 种国际检索系统列为来源期刊。本刊主要刊登农业生态环境科学领域具有创新性的研究成果, 包括新理论、新技术和新方法。读者对象为从事农业科学、环境科学、林业科学、生态学、医学和资源保护等领域的科技人员和院校师生。

《农业环境科学学报》为双月刊, 大 16 开, 208 页, 每本定价 30.00 元, 全年定价 180.00 元。国内外公开发行, 全国各地邮局征订, 邮发代号 6-64。如读者在当地邮局漏订, 可通过邮局汇款至本刊编辑部补订。

编辑部地址: 天津市南开区复康路 31 号 邮政编码: 300191 电话: 022-23674336

传真: 022-23367139 E-mail: caep@public.tpt.tj.cn

## 欢迎订阅 2005 年《农业环境与发展》

《农业环境与发展》是由中国农业生态环境保护协会、农业部环境保护科研监测所和全国农业环境保护科技信息网联合主办的国家级综合指导类科技期刊。该刊积极宣传我国农业生态环境保护有关政策, 及时报道生态农业建设与无公害农产品生产的发展, 在农业生态环境保护工作中发挥宣传指导作用。该刊主要刊登我国农业生态环境保护的方针政策、管理经验, 监测与评价方法, 生态农业建设理论与实践以及无公害农产品生产技术, 农业环境信息、动态等。同时, 《农业环境与发展》在重要版面上宣传各地农业环境保护成就并承办各类相关广告业务。

《农业环境与发展》为双月刊, 48 页, 大 16 开, 逢双月 25 日出版, 刊号 ISSN 1005-4944, CN12-1233/S, 全国发行, 各地邮电局(所)均可订阅, 邮发代号 6-40, 每本定价 6.00 元, 全年 36.00 元。有漏订者可直接与编辑部联系订阅。本刊现有 1999—2000 年度合订本, 定价 60.00 元/册(含邮资), 2001 年合订本每册 50 元(含邮资)、2002 年合订本每册 65 元(含邮资)。需订购者请直接到邮局汇款至编辑部订阅(务请在汇款单上注明订户详细地址及需订内容)。

编辑部地址: 天津市南开区复康路 31 号 邮政编码: 300191 电话: 022-23674336

传真: 022-23367139 E-mail: caed@public.tpt.tj.cn