

芒果老叶在增强 UV-B 辐射处理下的损伤和保护反应

刘鹏, 周开兵*, 潘学锋

海南大学热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海口 570228

摘要:以‘台农一号’芒果盆栽苗离体老叶为试材, 研究增强UV-B辐射条件下芒果老叶的损伤和保护反应。结果表明: UV-B辐射处理使芒果叶片MDA含量和相对电导率升高、叶绿素含量和叶绿素a/b降低, 表明叶片受到损伤, 且随处理时间延长叶片损伤加重。UV-B辐射处理叶片可溶性蛋白含量、抗氧化酶(SOD、CAT、POD)活性、保护色素(类胡萝卜素、类黄酮)和还原型GSH含量显著高于对照叶片, UV-B辐射处理叶片维生素C含量显著低于对照叶片, 表明增强UV-B辐射可诱导叶片细胞通过提高活性氧清除能力和积累保护色素而直接吸收部分UV-B辐射来提高抗增强UV-B辐射损伤的能力。

关键词: 增强UV-B辐射; 芒果; 老叶; 损伤; 保护反应

The Damages and the Protection Response of Old Leaves of Mango (*Mangifera indica* L.) under Enhanced UV-B Radiation

LIU Peng, ZHOU Kai-Bing*, PAN Xue-Feng

Key Laboratory of Protection and Development Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources, Ministry of Education, Hainan University, Haikou 570228, China

Abstract: Old leaves of mango potted young trees were used to study damages and protection response under the enhanced UV-B radiation. The results showed that after UV-B treatment the content of MDA and the relative conductivity were higher, while the content of chlorophyll and the ratio of chlorophyll a/b became lower. It indicated the enhanced UV-B radiation caused the damages of leaves, which would be worse with longer treatment period. The UV-B treated leaves had higher contents of soluble protein, protective pigments (flavonoids, carotenoids) and reduced GSH, higher activities of antioxidant enzymes (SOD, CAT and POD), and lower content of vitamin C than CK. It indicated the enhanced UV-B radiation induced elevated resistance of enhanced UV-B radiation in cells through intensifying the oxidant scavenging activities and absorbing part of the enhanced UV-B radiation.

Key words: enhanced UV-B radiation; mango (*Mangifera indica*); old leaf; damage; protection response

太阳辐射中的紫外线波长介于200~400 nm, 分为C区(200~280 nm)、B区(280~320 nm)和A区(320~400 nm)。正常情况下, UV-C辐射全部被臭氧层吸收, UV-B辐射绝大多数被臭氧层吸收, UV-A辐射全部穿透臭氧层。臭氧层的破坏会造成太阳光中到达地面的UV-B辐射剂量增加, 此时称增强UV-B辐射。研究表明增强UV-B辐射直接影响生物的生存, 导致许多动、植物在形态结构、生理功能、遗传特性、生长周期等方面发生改变, 进而对人类生产生活构成严重威胁(韩榕等 2001; Roledal 等 2006)。根据相关预测, 今后70年内全球大气臭氧浓度将减少2%~10%, 到达地球表面的UV-B辐射将增加4%~20% (郑有飞等 2007)。因此, 研究增强UV-B辐射逆境伤害问题是当前植物生理学和生态学研究的一项重要内容。

芒果在我国号称“热带水果之王”, 海南是我国最大的芒果产区。海南岛地理纬度低, 紫外辐射强, 而芒果能够很好地适应这种强紫外辐射环境。因此, 通过研究芒果叶片在增强UV-B辐射胁迫下的损伤和保护性生理反应, 了解其UV-B辐射适应性机理。不同年龄的叶片对增强UV-B辐射处理的反应是不一样的, 笔者已经对幼叶、成年叶和老叶分别展开研究, 本文先报道老叶上的研究结果。

材料与amp;方法

供试材料为‘台农一号’芒果(*Mangifera indica*)

收稿 2010-02-02 修定 2010-05-06

资助 海南省自然科学基金项目(807005)。

* 通讯作者(E-mail: kaibingzhou0528@163.com; Tel: 0898-66182916)

L.)盆栽苗(50株)。由海南省农业科学院果树研究所提供。2008年6月取一年生容器苗上盆定植。盆土为人工调配的营养土,盆容积7L,上盆后先在荫棚内培养,成活后即揭去遮阳网,之后一直全光照。其余管理采取常规管理措施。2009年6月,取12月龄以上(即苗木上盆前已经存在的叶片)、健康的叶片200片,在室内对完整的离体叶片模拟增强UV-B辐射处理。

紫外灯为上海晨辰照明电器有限公司生产的ZWB系列UV-B灯管,光照强度为 $4\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,紫外灯离叶片垂直高度为30cm,经0.08mm乙酸纤维素膜过滤后,在室内26℃条件下(空调控温,同时启用空调换气功能)对离体叶片进行模拟增强UV-B辐射处理。以室内自然散射光下离体叶片为对照。在辐照0、2、4、6、8、10和12h分别取样。每次取5片叶,重复3次。每次样叶经液氮速冻后存放于-80℃冰箱备用。

相对电导率测定采用郝再彬等介绍的方法(郝再彬等2004)。丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸比色法。叶片光合色素含量的测定采用改良Arnon法(郝再彬等2004)。叶片总黄酮含量的测定采用孙群和胡景江(2006)的方法。可溶性蛋白含量测定采用Bradford法(Bradford 1976)。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性测定采用氮蓝四唑(nitro blue tetrazolium chloride, NBT)光还原法(高俊凤2004)。过氧化氢酶(catalase, CAT)活性测定采用紫外吸收法(陈建勋和王晓峰2006)。过氧化物酶(peroxidase, POD)活性测定采用愈创木酚法(陈建勋和王晓峰2006)。维生素C含量和还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)含量的测定参考陈建勋和王晓峰(2006)的方法。

用*t*-test分析处理与对照差异显著性;用一元方差分析(one-way ANOVA)检验处理时间效应的显著性,采用LSD法作多重比较分析。所有分析均使用SAS软件。

结果与讨论

1 增强UV-B辐射处理对叶片的损伤

1.1 相对电导率 UV-B处理的芒果老叶与对照叶片的相对电导率都随着处理时间的延长而增加(UV-B

处理: $F=12.81, P<0.0001$; 对照: $F=4.96, P=0.0064$),但UV-B处理叶片增加幅度更大(图1)。UV-B处理的叶片和对照叶片相对电导率上升说明在离体条件下细胞膜透性随时间延长而增大,即二者细胞均受到一定程度的损伤。UV-B处理与对照叶片的相对电导率在4h之前无显著差异;从6h开始UV-B处理叶片的相对电导率高于对照的,且差异均显著或极显著。说明UV-B处理叶片的相对电导率在6h以后比对照上升更快,即说明增强UV-B辐射处理使芒果叶片受到损伤。

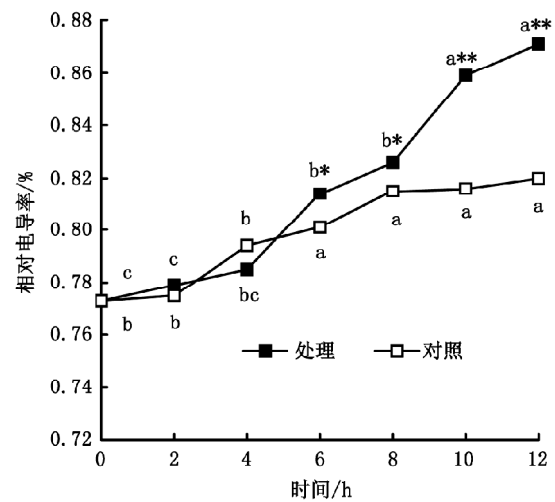


图1 UV-B处理对芒果老叶相对电导率的影响

Fig.1 The effect of UV-B radiation on the relative conductivity in old leaves of mango

不同字母表示相同处理不同处理时间的差异显著性($P\leq 0.05$), *表示处理与对照间差异显著 $P<0.05$, **表示差异极显著 $P<0.01$ 。以下各图表同。

1.2 丙二醛(MDA)含量 随着UV-B处理时间的延长,UV-B处理的叶片与对照叶片MDA的含量均呈上升趋势(UV-B处理: $F=9.73, P=0.0003$; 对照: $F=41.55, P<0.0001$),且UV-B处理叶片MDA含量比对照的上升幅度更大(图2)。UV-B处理叶片12h时的MDA含量升高了54.59%,对照12h的MDA含量升高了13.26%。从4h开始,UV-B处理叶片MDA含量显著或极显著地高于对照的。说明离体叶片随着时间的延长,细胞膜膜酯过氧化作用增强;同时,UV-B处理加剧了膜酯过氧化作用,即UV-B辐射处理引起膜酯损伤。

1.3 叶绿素和叶绿素a/b UV-B处理叶片的叶绿素

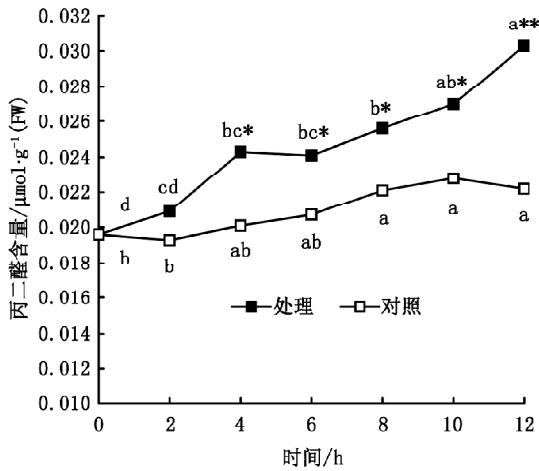


图2 UV-B 处理对芒果老叶丙二醛含量的影响
Fig.2 The effect of UV-B radiation on the content of MDA in old leaves of mango

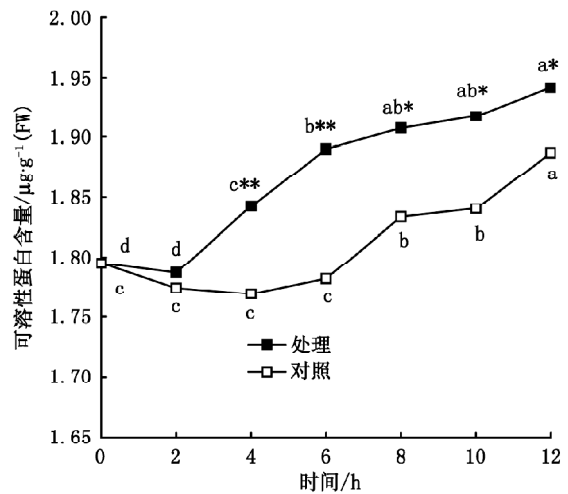


图3 UV-B 处理对芒果老叶可溶性蛋白含量的影响
Fig.3 The effect of the UV-B radiation on the content of soluble protein in old leaves of mango

含量和叶绿素 a/b 均呈显著下降趋势(叶绿素: $F=15.6, P<0.0001$; 叶绿素 a/b: $F=46.17, P<0.0001$), 对照叶片的叶绿素含量和叶绿素 a/b 则无显著变化(叶绿素: $F=0.59, P=0.7351$; 叶绿素 a/b: $F=0.63, P=0.7041$); UV-B 处理叶片的叶绿素含量和叶绿素 a/b 从 4 h 开始显著低于对照的(表 1)。可见, 增强 UV-B 辐射处理导致叶片叶绿素含量和叶绿素 a/b 降低, 说明可能引起叶绿体损伤。

表 1 UV-B 辐射对芒果老叶叶绿素和叶绿素 a/b 的影响

Table 1 The effects of the enhanced UV-B radiation on the content of chlorophyll and the ration of chlorophyll a/b in old leaves of mango

时间/h	叶绿素含量/mg·g ⁻¹ (FW)		叶绿素 a/b	
	UV-B 辐射	对照	UV-B 辐射	对照
0	2.54 ^a	2.54 ^a	2.29 ^a	2.29 ^a
2	2.54 ^a	2.55 ^a	2.30 ^a	2.26 ^a
4	2.50 ^{ab*}	2.54 ^a	2.21 ^{b*}	2.31 ^a
6	2.44 ^{bc*}	2.52 ^a	2.13 ^{c*}	2.23 ^a
8	2.45 ^{bc*}	2.52 ^a	2.09 ^{cd*}	2.27 ^a
10	2.39 ^{c*}	2.50 ^a	2.04 ^{d*}	2.32 ^a
12	2.28 ^{d*}	2.51 ^a	1.95 ^{e*}	2.24 ^a

2 增强 UV-B 辐射对叶片可溶性蛋白含量的影响

UV-B 处理叶片和对照叶片的可溶性蛋白含量均呈现上升的趋势(UV-B 处理: $F=30.38, P<0.0001$; 对照: $F=8.26, P=0.006$), 且 UV-B 处理叶片的可溶性蛋白含量自 4 h 后显著高于对照的(图 3)。

UV-B 处理的可溶性蛋白含量高于对照的结果与前人的研究有类似之处。UV-B 辐射促进植物细胞蛋白质合成(Nedunchezian 等 1992), 植物组织细胞可溶性蛋白水平的提高有增强渗透调节的作用(张莉和续九如 2003), 这说明可能是细胞通过降低水势而保水和维持正常生理活动。

3 增强 UV-B 辐射对叶片抗氧化酶活性的影响

UV-B 处理叶片与对照叶片的 SOD 活性变化在 2 h 后, 前者继续上升, 而后者则显著下降; 自 4 h 到 8 h, 二者均持续上升, 且同时在 8 h 达到高峰; 自 8 h 后, 二者均持续下降(UV-B 处理: $F=93.37, P<0.0001$; 对照: $F=23.68, P<0.0001$)。除 0、2 和 12 h 时 UV-B 处理与对照叶片的 SOD 活性差异不显著外, 其余时间里 UV-B 处理叶片的 SOD 活性均显著高于对照的(表 2)。

UV-B 处理叶片与对照叶片 CAT 活性均表现出先升后降的趋势, 而且都在 8 h 达到峰值(UV-B 处理: $F=50.14, P<0.0001$; 对照: $F=26.17, P<0.0001$); 除 0 h 和 6 h 时 UV-B 处理与对照叶片的 CAT 活性无显著差异外, 在其余时间里, UV-B 处理叶片的 CAT 活性均显著或极显著地高于对照的(表 2)。

UV-B 处理叶片与对照叶片 POD 活性均呈现出先升后降的相似趋势(UV-B 处理: $F=145.33, P<0.0001$; 对照: $F=34.81, P<0.0001$); UV-B 处理与对照叶片 POD 活性在 6 h 以前无显著差异, 此后, UV-B 处理叶片的 POD 活性均显著或极显著地高于对

照的(表 2)。

在增强UV-B辐射持续处理过程中,UV-B处理叶片的抗氧化酶(SOD、POD和CAT)活性出现高于对照的现象,说明抗氧化酶在增强UV-B辐射持续处理过程中一直参与活性氧的清除,这与前人的研究结果(晏斌和戴秋杰 1996;黄少白等 1998)一致。

4 增强UV-B辐射下叶片非酶保护体系的变化

4.1 类黄酮和类胡萝卜素 UV-B处理与对照叶片类黄酮变化均呈先升后降趋势,但高峰出现时间不一样(UV-B处理: $F=79.71$, $P<0.0001$; 对照: $F=25.67$, $P<0.0001$); UV-B处理和对照叶片的类黄酮含量除在0、2、4和12 h无显著差异外,在其余时间里,

UV-B处理叶片的类黄酮含量均显著高于对照的(图 4-A)。

UV-B处理与对照叶片的类胡萝卜素含量变化趋势明显不同,UV-B处理叶片先升后降($F=3.38$, $P=0.0284$),对照叶片则无显著变化($F=0.60$, $P=0.7289$); UV-B处理与对照叶片的类胡萝卜素含量在6 h前差异不显著,此后,UV-B处理叶片的类胡萝卜素含量显著高于对照的(图 4-B)。

可见,UV-B处理的保护性色素(类胡萝卜素和类黄酮)含量高于对照的,即UV-B处理积累了大量的保护性色素。前人已经证明植物能通过UV-B诱导的表皮色素类UV-B吸收复合物来抵抗UV-B辐射伤害,这些物质包括类黄酮、黄酮、花青素

表2 UV-B处理对芒果老叶抗氧化酶活性的影响

Table 2 The effects of UV-B radiation on the activities of antioxidant enzymes in old leaves of mango

时间/h	SOD/U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ (FW)		CAT/U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ (FW)		POD/U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ (FW)	
	UV-B 辐射	对照	UV-B 辐射	对照	UV-B 辐射	对照
0	410.98 ^d	411.26 ^b	15.83 ^e	15.83 ^{de}	45.91 ^d	45.91 ^c
2	477.91 ^c	432.44 ^b	18.90 ^{d*}	15.46 ^e	47.62 ^d	50.34 ^b
4	529.63 ^{b*}	301.72 ^c	20.57 ^{cd*}	17.43 ^{cd}	56.13 ^c	53.27 ^b
6	628.47 ^{a*}	422.65 ^b	22.29 ^c	20.41 ^b	69.10 ^{a*}	57.18 ^a
8	661.60 ^{a*}	487.13 ^a	30.74 ^{a*}	22.62 ^a	62.25 ^{b*}	55.52 ^a
10	542.08 ^b	475.34 ^a	26.16 ^{b*}	18.83 ^c	58.61 ^{c*}	49.73 ^{bc}
12	306.27 ^e	344.45 ^c	21.46 ^{c*}	14.37 ^e	50.07 ^{cd*}	44.87 ^c

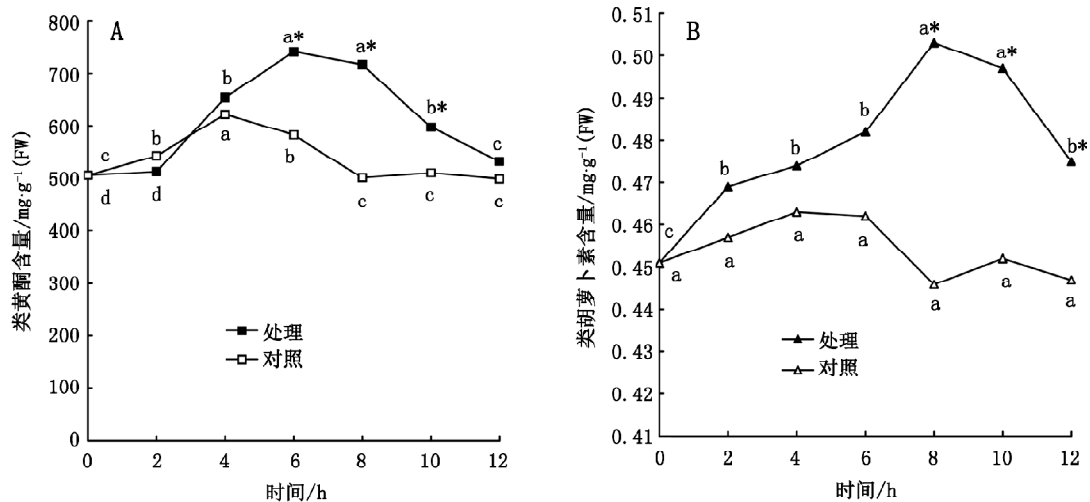


图4 UV-B处理对芒果老叶类黄酮和类胡萝卜素含量的影响

Fig.4 The effect of the UV-B radiation on the contents of flavonoids and carotenoids in old leaves of mango

A: 类黄酮含量; B: 类胡萝卜素含量。

和类胡萝卜素等(Dai等2004; de Bakker等2005)。本试验结果也可能暗示处理叶片通过类黄酮吸收增强UV-B辐射, 而类胡萝卜素则在一定程度上避免了叶绿素光氧化而降低了胁迫的伤害(周党卫等2002)。

4.2 维生素C和还原型谷胱甘肽 UV-B处理与对照叶片的维生素C含量均呈下降趋势(UV-B处理: $F=84.91, P<0.0001$; 对照: $F=31.71, P<0.0001$); UV-B

处理与对照叶片的维生素C含量除在0、2和4h无显著差异外, 在其余时间里, UV-B处理叶片的维生素C含量均极显著地低于对照叶片的(图5-A)。

UV-B处理与对照叶片的GSH含量均呈先升高后下降的趋势(UV-B处理: $F=62.99, P<0.0001$; 对照: $F=13.96, P<0.0001$); UV-B处理与对照叶片除在0、2、4和10h的GSH含量无显著差异外, 在其余时间里, UV-B处理均显著高于对照(图5-B)。

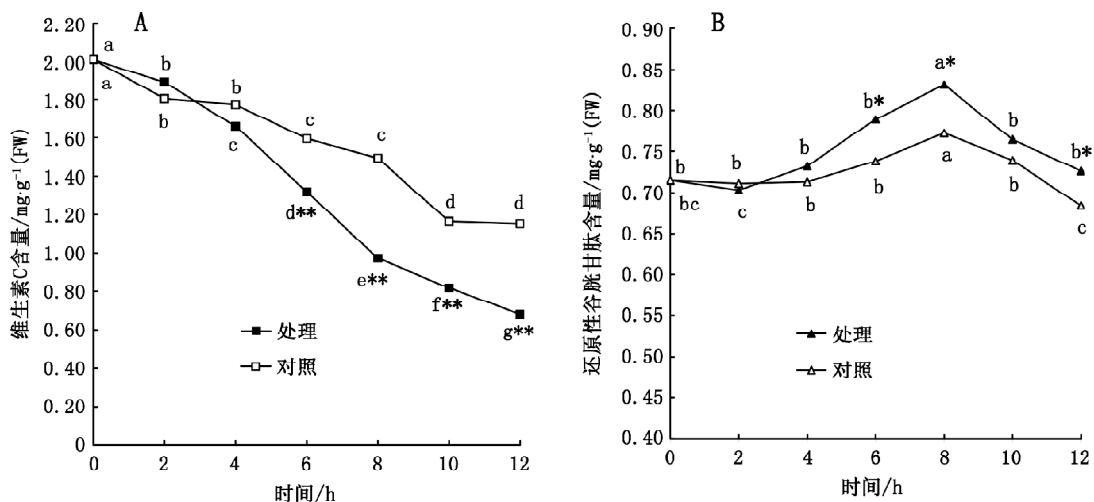


图5 UV-B处理对芒果老叶维生素C和还原型谷胱甘肽含量的影响

Fig.5 The effect of the UV-B radiation on the contents of VC and GSH in old leaves of mango

A: 抗坏血酸含量; B: 还原型谷胱甘肽含量。

随着处理时间的延长, 维生素C含量显著降低, 而GSH含量升高, 这与Herbinger等(2002)报道小麦抗旱品种和不抗旱品种在遭受水分胁迫时叶片的GSH含量提高和维生素C含量降低是一致的。维生素C因为直接清除活性氧而出现含量降低, 说明其可能参与了活性氧清除; 而GSH含量升高, 则利于清除活性氧自由基。至于维生素C和GSH清除活性氧的消耗量与逆境促进其合成积累量之间的变化关系还有待深入研究。

总之, 在增强UV-B辐射处理下, 老叶提高了SOD、CAT和POD的活性、消耗了维生素C和刺激积累了GSH, 从而增强清除活性氧的能力, 尽可能减轻活性氧损伤; 刺激老叶积累类黄酮和类胡萝卜素等保护色素, 从而吸收部分增强UV-B辐射, 避免叶绿素光氧化; 提高老叶可溶性蛋白含量, 从而增强细胞渗透调节功能, 尽量保水和维持正常生

理活动。这些生理生化变化可能是芒果叶片尽可能提高耐增强UV-B辐射能力的生理生化机理。

参考文献

- 陈建勋, 王晓峰(2006). 植物生理实验学实验指导. 广州: 华南理工大学出版社
- 高俊凤(2004). 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社
- 韩裕, 王勋陵, 岳明, 齐智(2001). He-Ne激光对小麦幼苗增强UV-B辐射损伤修复的影响. 光子学报, 30 (10): 1182~1187
- 郝再彬, 苍晶, 徐仲(2004). 植物生理实验. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社
- 黄少白, 章静娟, 刘晓忠, 戴秋杰, 王志霞(1998). 紫外光B辐射增强对小白菜膜脂质过氧化作用的影响. 华北农学报, 13 (3): 97~101
- 孙群, 胡景江(2006). 植物生理学研究技术. 杨凌: 西北农林科技大学出版社
- 晏斌, 戴秋杰(1996). 紫外线B对水稻叶组织中活性氧代谢及膜系统的影响. 植物生理学报, 22 (4): 373~378
- 张莉, 续九如(2003). 水分胁迫下刺槐不同无性系生理生化反应的研究. 林业科学, 39 (4): 162~167

- 郑有飞, 刘建军, 王艳娜, 吴荣军(2007). 增强 UV-B 辐射与其它因子复合作用对植物生长的影响研究. 西北植物学报, 27 (8): 1702~1712
- 周党卫, 韩发, 滕中华, 朱文琰, 师生波(2002). UV-B 辐射增强对植物光合作用的影响及植物的相关适应性研究. 西北植物学报, 22 (4): 1004~1010
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248~254
- Correia CM, Pereira JMM, Coutinho JF, Bjorn LO, Torres-Pereira JMG (2005). Ultraviolet-B radiation and nitrogen affect the photosynthesis of maize: a Mediterranean field study. *Euro J Agron*, 22 (3): 337~347
- Dai Q, Furness NH, Upadhyaya MK (2004). UV-absorbing compounds and susceptibility of weedy species to UV-B radiation. *Weed Biol Manag*, 4: 95~102
- de Bakker NVJ, van Bodegom PM, van de Poll WH, Boelen P, Nat E, Rozema J, Aerts R (2005). Is UV-B radiation affecting charophycean algae in shallow freshwater systems? *New Phytol*, 166: 957~966
- Herbinger K, Tausz M, Wonisch A, Soja G, Sorger A, Grill D (2002). Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars. *Plant Physiol Bioch*, 40: 691~696
- Nedunchezian N, Annamalaiathan K, Kulandaivelu G (1992). Induction of heat shock-like proteins in *Vigna sinensis* seedlings growing under ultraviolet-B (280-320 nm) enhanced radiation. *Physiol Plant*, 85: 503~524
- Roledal MY, Wiencke C, Lüder UH (2006). Impact of ultraviolet radiation on cell structure, UV-absorbing compounds, photosynthesis, DNA damage, and germination in zoospores of Arctic *Saccorhiza dermatodea*. *J Exp Bot*, 57: 3847~3856