

增强 UV-B 辐射与不同水平氮素对谷子 (*Setaria italica* (L.) Beauv.) 叶片保护物质及保护酶的影响

方 兴¹, 钟章成^{1,*}, 闫 明², 宋会兴³, 胡世俊⁴

(1. 西南大学生命科学学院 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715; 2. 山西师范大学生物多样性研究所, 山西临汾 041000
3. 山东曲阜师范大学, 山东曲阜 273165; 4. 中国科学院昆明植物研究所, 云南昆明 650204)

摘要: 研究了生长在 $1.875 \text{ mmol L}^{-1}$ 和 15 mmol L^{-1} 硝态氮素水平条件下的谷子 (*Setaria italica* (L.) Beauv.) 开花期间在进行强度为 $7.12 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 增强 UV-B 辐射处理时叶片类黄酮含量、苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 和保护酶活性变化差异。主要结果表明在开花期无论是否进行增强 UV-B 辐射处理, 较低水平氮素均比较高水平氮素更有利于提高谷子叶片 PAL 活性; 叶片类黄酮含量除在进行增强 UV-B 处理时较低氮素条件下生长的谷子在开花末期显著高于较高氮素条件下生长的谷子外, 受氮素水平影响不甚明显。而在开花期不进行与进行增强 UV-B 辐射处理, 氮素水平对叶片保护酶的影响有所差异: 不进行增强 UV-B 辐射处理, 整个开花期氮素水平对谷子叶片 SOD 活性有显著影响而对 ASP 活性无显著影响, 对 CAT 和 POD 活性则在开花期部分阶段有显著影响。进行增强 UV-B 辐射处理, 整个开花期氮素水平对谷子叶片 SOD 与 CAT 活性有显著影响而对 ASP、POD 活性影响不显著。

关键词: 氮素; 增强 UV-B 辐射; 类黄酮; 苯丙氨酸解氨酶 (PAL); 保护酶; 谷子

文章编号: 1000-0933(2008)01-0284-08 中图分类号: Q142, Q945.79 X171 文献标识码: A

Effects of enhanced UV-B radiation and different nitrogen conditions on protective matter and protective enzymes in millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) leaves

FANG Xing¹, ZHONG Zhang-Cheng^{1,*}, YAN Ming², SONG Hui-Xing³, HU Shi-Jun⁴

1 Key Laboratory of Eco-environments in the Three Gorges Reservoir Region (Ministry of Education), College of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 Institute of Biodiversity of Shanxi Teachers University, Linfen 041000, China

3 College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, China

4 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China

Acta Ecologica Sinica 2008, 28(1): 0284~291

Abstract The purpose of this study was to investigate the effects of different nitrogen conditions on anti-UV-B matter and protective enzymes in leaves of the millet plant in the florescence period. Potted millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) plants grown outdoors under $1.875 \text{ mmol L}^{-1}$ and 15 mmol L^{-1} nitrogen respectively were exposed to enhanced UV-B radiation ($7.12 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) for experimentation. Determined were the contents of flavonoids, activities of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), ascorbate peroxidase (ASP), catalase (CAT), peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD). PAL activity in leaves of millet plants grown under the lower nitrogen condition was increased significantly.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370279, 30670334)

收稿日期: 2007-06-15; 修订日期: 2007-10-30

作者简介: 方兴 (1979-), 男, 四川荣经人, 博士生, 主要从事植物生理生态学研究。E-mail: fangxing@swu.edu.cn

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zzhong@swu.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30370279, 30670334)

Received date: 2007-06-15; **Accepted date:** 2007-10-30

Biography: FANG Xing, Ph.D. candidate, mainly engaged in plant physiology and ecology. E-mail: fangxing@swu.edu.cn

compared to that under the higher nitrogen condition. Contents of flavonoids in leaves of millet plants had no significant difference between the lower and higher nitrogen conditions during the period of florescence, no matter whether exposed to enhanced UV-B radiation or not, except that a significant increase occurred in the content of flavonoids when under the lower nitrogen condition and enhanced UV-B radiation during the end of florescence. These results suggested that no matter whether the treatment of enhanced UV-B radiation was imposed or not in the florescence period, different nitrogen conditions evidently did not affect the content of flavonoids in millet leaves, although the lower nitrogen condition was more favorable to improved PAL activity in millet leaves than was the higher nitrogen condition. Furthermore, in leaves of millet plants grown under the lower nitrogen condition, SOD activity was increased significantly all the time, CAT activity was decreased significantly only in the mid-term of the florescence period, POD activity was increased significantly only in the early and the late florescence period, and ASP activity was not increased significantly compared to that under the higher nitrogen condition unless exposed to enhanced UV-B radiation during the whole florescence period. Meanwhile, with exposure to enhanced UV-B radiation in the florescence period, CAT activity was decreased while SOD activity was increased, both significantly, in leaves of millet plants grown under the lower nitrogen condition compared to those under the higher nitrogen condition. However, ASP and POD activities had no significant difference in leaves of millet plants grown under either the lower or higher nitrogen conditions. Thus, the results implied that the effects of different nitrogen conditions on protective enzymes in millet leaves were limited during the florescence period, especially under conditions of exposure to enhanced UV-B radiation.

Key Words nitrogen; enhanced UV-B radiation; flavonoids; phenylalanine ammonia-lyase (PAL); protective enzymes; millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.)

因大气平流层臭氧损耗造成的地表 UV-B 辐射增加对植物造成很大的危害。已有研究发现, UV-B 辐射的增强能引起植物体内对抵御 UV-B 辐射伤害起重要作用的保护物质类黄酮和保护酶系统发生明显改变^[1-4]。氮元素作为植物生长发育的必需元素和主要限制因子, 其在生境中存在状况, 特别是其含量水平高低对植物类黄酮代谢和保护酶系统也有重要影响^[5-7]。虽然有关不同氮素水平下生长的植物体内保护物质对 UV-B 辐射响应的研究已有一定报道^[8, 9], 然而这些研究多采用幼苗作材料进行短期研究, 以成熟时期特别是开花期植株作为研究对象比较少见。早年有关 UV-B 辐射增强对植物的授粉开花存在抑制或危害并造成减产^[10]的研究说明, UV-B 辐射增强对开花期植物的影响不容忽视, 而叶片作为受 UV-B 辐射及氮素水平影响较强的部位, 其生理状况更是与开花期植物生长和开花结实密切相关。然而, 有关环境中氮素水平对开花期植物叶片抗 UV-B 辐射物质特别是有关保护物质代谢酶类及保护酶类的研究却不多见。因此, 本研究对生长在不同水平氮素下的谷子 (*Setaria italica* (L.) Beauv.) 在开花期进行一定强度增强 UV-B 辐射处理, 测定和比较各处理植株叶片类黄酮含量、PAL 和保护酶活性之间的差异, 并就其中相关生理机制和生态学意义进行探讨, 在丰富相关领域研究的同时, 也为地表 UV-B 辐射日益增强的现状下如何采取有效手段提高谷子等作物抗 UV-B 辐射能力, 维持和增加产量, 乃至确定全球气候变化的应对措施等研究提供科学依据与参考。

1 材料与方法

1.1 材料和处理

供试谷子品种为金谷 8Q 由河北省农林科学院提供。种子经 5% 次氯酸钠消毒 30 min, 用去离子水冲洗, 30 °C 温水中浸泡 24 h, 温室内播种于盛有 0.5 L 经酸洗处理珍珠岩基质的营养袋中。待幼苗长出 3 片真叶后, 转移至西南大学生命科学学院楼顶大棚内, 每天浇水一次, 每 3 d 浇 1 次 1/4 Hoagland 营养液, 每袋 0.25 L。并在此期间不定期进行匀苗, 最后每袋只留 2 株材料。2006 年 7 月中旬谷子生长进入拔节期后, 以预备实验为前提, 将所有材料随机分为两个组并分别浇灌以 15 mmol L⁻¹ 和 1.875 mmol L⁻¹ 氮素的营养液。两种氮素浓度营养液配制均基于 Hoagland 营养液, 其中氮素形态以硝态氮形式存在。除氮素浓度不同外, P,

K、Ca等主要矿质元素的浓度通过加入定量 K_2SO_4 、 $CaCl_2$ 、 KH_2PO_4 等保证一致。此时营养液浇灌改为每 2 d 一次, 每袋 0.25L, 同时每天仍浇水一到两次, 直至实验结束。

在 2006年 7月下旬时, 将生长在不同水平氮素处理下的植株随机各再分为两组, 至此所有材料被分为 4 个组: 高氮组 (T1), 施加 15 mmol L^{-1} 氮素但不进行增强 UV-B 辐射处理; 高氮 + UV-B 组 (T2), 施加 15 mmol L^{-1} 氮素并进行增强 UV-B 辐射处理; 低氮组 (T3), 施加 $1.875 \text{ mmol L}^{-1}$ 氮素但不进行增强 UV-B 辐射处理; 低氮 + UV-B 组 (T4), 施加 $1.875 \text{ mmol L}^{-1}$ 氮素并进行增强 UV-B 辐射处理。用国产紫外灯管 (北京光源研究所生产, 波长范围 290~400 nm) 平行悬挂于植株上方, 用于模拟增强 UV-B 辐射 (280~320 nm)。用 UV-B 辐照计 (北京师范大学光电仪器厂生产) 测量 UV-B 辐射强度。根据预备实验情况设计 T2 和 T4 增加的 UV-B 辐射强度均为 $7.12 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (以植株顶部叶尖为准), 约相当于重庆北碚区 2006 年夏至时晴天 25% 臭氧层衰减的状况。实验期间通过调整灯管与植株顶端之间的距离维持恒量 UV-B 辐射, 同时每天调换同一处理组中植株的位置以保证同一处理组内植株接受较均匀的 UV-B 辐射。另外, 为保证各处理组 UV-A 辐射 (320~400 nm) 一致, T1 和 T3 也所用紫外灯管照射但均用厚度为 0.18 mm 的 mylar 膜包裹仅让 UV-A 透过。增强 UV-B 处理从 7 月 26 日植株进入抽穗期开始, 到 8 月 10 日植株基本度过开花期转而进入灌浆期结束。在处理开始后第 6、11、16 天 9:00 定时采样, 采样时间分别对应于开花初期、中期和末期。每次取样均从各处理组中随机选取一定数量植株, 采集旗叶及其以下 2 片叶片进行生理指标测定, 每次每项指标测定每个处理组均设 3 个重复, 每个重复测定 3 次取平均值作为该重复的值。数据为各处理的平均值, 并运用 SPSS 11.5 进行有关统计分析。

1.2 类黄酮提取与含量的测定

提取方法结合 Robberrecht 和 Caldwell^[11] 以及 Stapleton 和 Walbot^[12] 的方法, 而测定则采用紫外测定法^[13]。

1.3 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性测定

参照欧阳光察^[14]的方法。以每 min 内 OD290 值增加 0.01 为 1 个酶活单位 U, 酶活性按样品鲜重进行计算。

1.4 保护酶活性测定

过氧化物酶 (POD) 活性测定参照 Chance 和 Maehly^[15] 的方法, 定义在测定条件下以 OD470 值在 1 min 内增加 0.01 为 1 个酶活单位 U, 以样品蛋白含量计算酶活性。过氧化氢酶 (CAT) 活性测定参照 He^[16] 的方法, 以测定条件下每 min 每 mg 蛋白分解的 H_2O_2 的 mmol 数表示酶活性。抗坏血酸过氧化物酶 (ASP) 活性测定结合 Nakano 和 Asada^[17] 以及 Knozler 等^[18] 的方法, 以测定条件下每 min 每 mg 蛋白氧化的抗坏血酸 (ASA) 的 mmol 数表示酶活性。SOD 活性测定参照 Steward 和 Bewley^[19] 的 NBT 法, 以每单位时间内抑制光化还原 50% 的氮蓝四唑 (NBT) 为 1 个酶活性单位 U, 以样品蛋白含量计算酶活性。样品中可溶性蛋白含量测定采用 Bradford 方法^[20], 以牛血清白蛋白为标准蛋白。

2 结果与分析

2.1 增强 UV-B 辐射与对不同水平氮素处理对开花期谷子叶片类黄酮、PAL 活性的影响

图 1 显示, 在整个处理期间, 高氮组 (T1) 植株叶片类黄酮含量呈先上升再下降的趋势; PAL 活性则先上升, 然后基本保持平稳。在此水平氮素基础上进行增强 UV-B 辐射处理 (T2), 植株叶片类黄酮含量和 PAL 活性变化趋势均同高氮组一致且在整个处理时期均高于高氮组, 其中 PAL 活性提高在 16 d 时达显著水平 ($p < 0.05$)。低氮组 (T3) 植株叶片类黄酮含量在整个处理期间呈先上升然后略微下降趋势, 而 PAL 活性则呈一直上升趋势且均高于高氮组, 其中 PAL 活性提高在整个处理期间呈显著或极显著水平 ($p < 0.05$, 6 d 时; $p < 0.01$, 11 d 和 16 d 时)。而低氮 + UV-B 组 (T4) 植株叶片类黄酮含量和 PAL 活性在整个处理期间均呈上升趋势。与低氮组相比, 类黄酮含量除 6 d 时略低于后者外, 均高于后者 ($p < 0.05$, 16 d 时), 而 PAL 活性则一直高于后者 ($p < 0.01$, 11 d 时)。此外, 低氮 + UV-B 组与高氮 + UV-B 组相比, 16 d 时, 低氮 + UV-B 组植株叶片

类黄酮含量显著高于高氮 + UV-B 组 ($p < 0.05$); 而其 PAL 活性也在整个处理期间显著或极显著高于高氮 + UV-B 组植株 ($p < 0.05$, 6 d 和 11 d 时; $p < 0.01$, 16 d 时)。

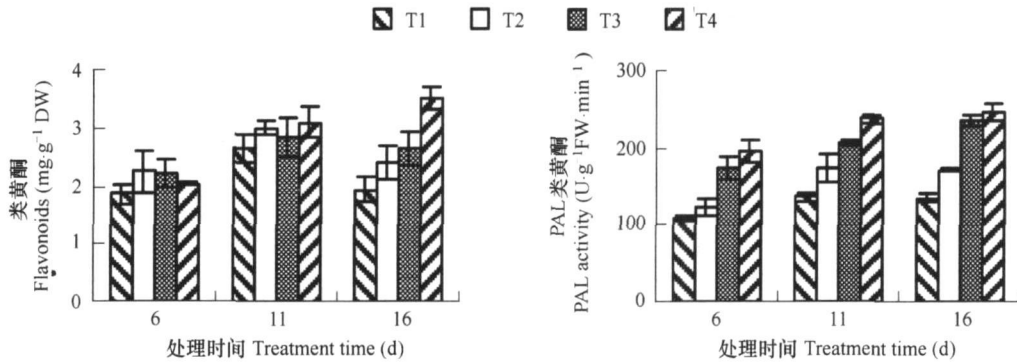


图 1 增强 UV-B 辐射及对不同水平氮素处理对开花期谷子叶片类黄酮、PAL 活性的影响

Fig. 1 Effects of enhanced UV-B radiation and different nitrogen conditions on flavonoids and PAL activity in millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) leaves in the florescence period

T1: 高氮组 Higher nitrogen; T2: 高氮 + UV-B 组 Higher nitrogen plus enhanced UV-B radiation; T3: 低氮组 Lower nitrogen; T4: 低氮 + UV-B 组 Lower nitrogen plus enhanced UV-B radiation; 下同 the same below

2.2 增强 UV-B 辐射与对不同水平氮素处理对开花期谷子叶片保护酶活性的影响

从图 2 可见, 整个处理期间高氮组植株叶片 ASP、SOD 活性呈逐渐上升趋势而 CAT、POD 活性呈逐渐下降趋势。在此基础上增强 UV-B 辐射 (T2), 植株叶片 ASP、POD 和 SOD 活性在处理期间均呈上升趋势而 CAT 活性仍保持下降趋势; 与高氮组相比, 其 ASP 和 POD 活性提高在 16 d 时达显著水平 ($p < 0.05$), SOD 活性提高在 16 d 时达极显著水平 ($p < 0.01$) 而 CAT 活性下降在 11 d 时达显著水平。低氮组植株叶片 ASP、CAT 和 POD 在整个处理期间均呈先下降后上升趋势, 而 SOD 活性则保持一直上升趋势; 同高氮组比较, 其 ASP 活性在整个处理期间均无显著差异, CAT 活性下降在 11 d 时达极显著水平 ($p < 0.01$), POD 活性上升在 6 d 和 16 d 时均达显著水平 ($p < 0.05$), SOD 活性则在整个处理期间显著或极显著高于高氮组 ($p < 0.05$, 6 d $p < 0.01$, 11 d 和 16 d)。低氮 + UV-B 组与高氮 + UV-B 组植株叶片 ASP、CAT、POD 和 SOD 活性变化趋势基本一致, 同低氮组相比, 其植株叶片 ASP 活性在 11 d 和 16 d 时显著提高 ($p < 0.05$); CAT 活性在 6 d 和 16 d 时显著降低 ($p < 0.05$); POD 活性在 6 d 时显著降低 ($p < 0.05$) 而在 11 d 和 16 d 时显著提高 ($p < 0.05$); SOD 在 6 d 时也显著低于后者, 在 16 d 时则极显著高于后者 ($p < 0.01$)。而通过对低氮 + UV-B 组与高氮 + UV-B 组植株叶片中这 4 种保护酶的比较后发现, 整个处理期间低氮 + UV-B 组植株叶片 ASP、POD 活性与高氮 + UV-B 组相比无显著差异, CAT 活性显著或极显著低于后者 ($p < 0.05$, 6 d $p < 0.01$, 11 d 和 16 d) 而 SOD 活性则显著或极显著高于后者 ($p < 0.05$, 6 d $p < 0.01$, 11 d 和 16 d)。

3 讨论

一般认为, 类黄酮可吸收和阻挡 UV-B 辐射^[3]并可对 UV-B 辐射诱导形成的活性氧 (active oxygen) 如 O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 H_2O_2 、 1O_2 等进行清除以减缓由其植物细胞的伤害^[1, 21]。PAL 是类黄酮合成途径中的一个关键酶, 其主要功能是对苯丙氨酸进行不可逆的定速脱氨反应, 产物之一反式肉桂酸^[14]进入合成包括类黄酮在内的多种简单酚类化合物多条代谢途径中^[22]。PAL 基因转录可因 UV-B 辐射诱导而加强^[23], 这被认为是植物体增强对 UV-B 辐射耐受性的一种手段^[24]。由于 PAL 基因转录加强往往导致 PAL 活性升高^[25], 因而本研究中开花期进行增强 UV-B 辐射处理时不同氮素水平下生长的谷子叶片 PAL 活性均升高的现象也可被看作是该时期谷子试图适应或忍耐 UV-B 辐射增强的一种表现。除增强 UV-B 辐射外, PAL 活性也受其他环境因子如氮素的影响。最近的研究报告显示, 氮素亏缺可导致 PAL 基因转录加强^[26]并观察到 PAL 活性升高^[6]。这在本研究中也可见到: 整个开花期中低氮组谷子叶片 PAL 活性持续升高并一直显著或极显著高于高氮组。

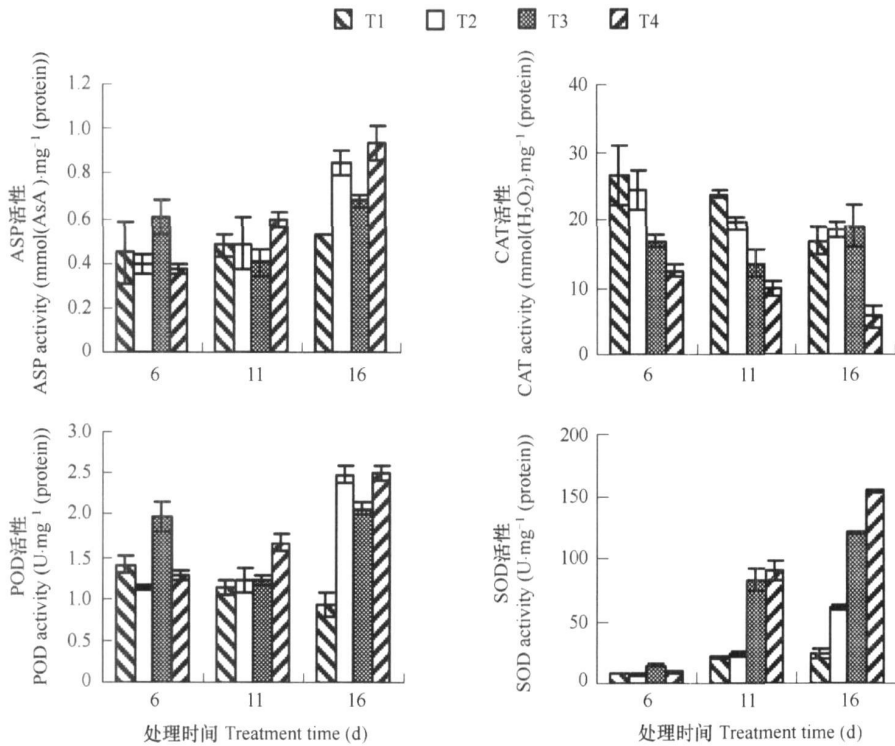


图 2 增强 UV-B 辐射及对不同水平氮素处理对开花期谷子叶片保护酶活性的影响

Fig 2 Effect of enhanced UV-B radiation and different nitrogen conditions on the activities of protective enzymes in millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) leaves in the florescence period

由氮素亏缺造成 PAL 活性升高被认为是植物体对与生长发育有关蛋白质需求减少所致^[6, 27]。Jones 等^[28]提出的蛋白质竞争模型 (PCM) 进一步说明, 蛋白质合成与酚类合成成为苯丙氨酸均相互竞争, 其分配比例受 PAL 活性高低调节。PAL 活性升高, 包括类黄酮在内的酚类物质合成则占优势。而本研究在实验中还发现, 整个开花期中低氮 + UV-B 组谷子叶片 PAL 活性一直显著乃至极显著高于高氮 + UV-B 组谷子。这说明无论是否在开花期进行增强 UV-B 辐射处理, 较低氮素水平对于提高谷子叶片 PAL 活性方面明显有利于较高氮素水平。所以本研究认为, 将氮素水平加以适当控制, 在保证谷子生长发育不受较大影响的同时, 可明显提高叶片 PAL 活性并将有助于类黄酮等酚类物质合成与积累。而根据 Beggs 等^[29]提出有关高含量的类黄酮等紫外吸收物质能保持植物 DNA 完整性以及较高的生物量的观点, 这一措施无疑有助于增强谷子抵抗 UV-B 辐射伤害的能力, 毕竟较低氮素水平为开花期谷子适应增强 UV-B 辐射提供了更好的代谢基础。

然而, 在本研究中除开花末期低氮 + UV-B 组谷子叶片类黄酮含量显著高于低氮组以及高氮 + UV-B 组外, 并未观察到开花期中谷子叶片类黄酮含量受到增强 UV-B 辐射以及氮素水平较明显的影响, 这似乎同已有研究结果^[8, 9]及上述观点相悖。不过应注意到, 从苯丙氨酸经 PAL 脱氨形成反式肉桂酸最后到类黄酮形成需要通过多步生化反应过程, 且该过程仅是众多酚类合成途径之一^[30], 因此本研究认为谷子叶片类黄酮含量效果变化与 PAL 活性变化之间可能存在时滞效应: 由于研究中谷子花期时间较短仅 10 余天左右, 故在时间上同以往研究中对幼苗施以长达数周的处理时间难以相比, 类黄酮含量升高在短时间内还无法像 PAL 活性升高那样迅速表现出来。同时, 有报道认为某些植物体内不同 PAL 同工酶形式在与类黄酮合成关联性存在差异^[31]也是造成这一现象的可能原因, 而本研究中所选用谷子品种叶片 PAL 是否存在类似情况仍需进一步研究。此外还应看到, 如果将这一问题的探讨放在更广泛的时间范围中进行, 譬如将开花期后的灌浆期、籽粒形成期也考虑在内, 则本研究中开花末期低氮 + UV-B 组与低氮组与高氮 + UV-B 组之间叶片类黄酮含量的比较说明谷子叶片类黄酮含量很有可能在开花期后的一段时间里将受到增强 UV-B 辐射和氮素水平较明显

的影响。同时与已往研究相似^[8, 9], 此结果再次表明 UV-B 辐射与氮素水平间可能存在某种复杂的相互作用, 因为在开花末期, 高氮组与高氮 + UV-B 组谷子相比两者叶片类黄酮含量并无显著差异, 即高氮组谷子叶片类黄酮含量对增强 UV-B 辐射的响应不如低氮组显著; 并且较低氮素水平提高其叶片类黄酮含量效果明显优于较高氮素水平这一现象仅在增强 UV-B 辐射环境下体现出来。至于这种相互作用的具体机理为何, 目前对此认识依然模糊, 因而在更多积累有关事例基础上, 还需深入研究。当然, 就本研究而言, 在结合 Björk^[32]报道的有关过量施用氮肥导致增强 UV-B 辐射条件下黑麦、玉米叶片中类黄酮下降并对增强 UV-B 辐射更敏感这一相反事例后, 依然可确信较低氮素水平在促进特别是处于 UV-B 辐射增强环境中的谷子叶片 PAL 活性升高和类黄酮积累加强方面为谷子在整个生殖生长期抵抗和适应 UV-B 辐射伤害在非酶保护物质方面创造了有利的条件。

除类黄酮等非酶保护物质外, 保护酶系统也是植物体减免 UV-B 伤害的重要手段。同已往研究^[1, 2]相似, 本研究结果表明在开花期模拟 UV-B 辐射增强时谷子叶片保护酶活性均发生不同程度的改变(图 2)。和增强 UV-B 辐射下植物体中类黄酮代谢发生变化相同, 这些改变也被认为是植物体对增强 UV-B 辐射逆境的防御性反应, 且已有研究表明其变化与植物抵抗 UV-B 辐射能力密切相关^[33]。UV-B 辐射增强导致保护酶活性变化的原因在于 UV-B 辐射通可诱导如 O_2^- (超氧阴离子) 一类活性氧 (active oxygen) 物质大量形成^[1, 33], 且其中具体机理依然不清楚; 植物体内形成活性氧胁迫后, 特别是活性氧以及因 UV-B 辐射刺激而积累的水杨酸 (salicylic acid) 等物质均为 UV-B 辐射的信号物质^[34, 35], 它们与蛋白质磷酸化发生联系从而调控基因在不同水平上的表达^[36], 最后导致保护酶活性的改变。已有研究表明氮素亏缺也会导致保护酶活性发生改变^[7]。这在本研究中体现为: 低氮组与高氮组谷子相比, 前者叶片 SOD 及 POD 活性在开花期整个或部分阶段显著高于后者, CAT 活性在开花期部分阶段前者显著低于后者。同 UV-B 辐射类似, 较低的氮素供应水平也会导致植物体内活性氧增加, 但其产生途径较为清晰一般被认为主要与由氮素亏缺造成植物开放光系统 II (PSII) 反应中心捕获激发能效率以及最大光合速率逐渐下降导致过剩光能累积有关^[7]。然而, 在进行增强 UV-B 辐射处理后, 氮素水平对于开花期谷子保护酶活性影响与上述结果有所差异, 其表现为: 整个开花期间, 低氮 + UV-B 组与高氮 + UV-B 组谷子相比, 前者叶片 SOD 活性显著或极显著高于后者, CAT 活性显著或极显著低于后者; 而 POD 活性两者无显著差异。至于谷子叶片 ASP 活性, 无论是否存在增强 UV-B 辐射处理, 氮素水平均对其无显著影响。这种因 UV-B 辐射条件不同而出现氮素水平对开花期谷子叶片保护酶活性影响有所差异的原因由于相关研究很少, 仍不太清楚。本研究认为其可能原因在于: 尽管从诱导植物体内活性氧增加方面来看, UV-B 辐射和较低水平氮素有相似的效果, 但 UV-B 辐射对于植物体伤害更大, 植物体内 PSII 蛋白质和 DNA、膜系统以及植物激素均为其作用靶^[24], 因而对保护酶影响的效果更强。这就干扰或掩盖了氮素水平对某些保护酶影响。总之, 本研究认为在正常 UV-B 辐射环境下氮素水平对开花期谷子叶片保护酶活性影响比较有限, 并非所有保护酶因此产生明显响应, 而在增强 UV-B 辐射环境下则更加有限。

虽然在增强 UV-B 辐射环境下氮素水平对于开花期谷子叶片 ASP 和 POD 均无显著影响, 然而 SOD 与 CAT 活性受氮素水平影响依然明显, 故它们的变化同开花期谷子抗 UV-B 辐射能力之间的关系仍值得探讨。农业生产中, 对作物少施氮肥, 增施磷、钾肥, 可以提高其抵抗逆境的能力^[30]。因此本研究认为, 同促进类黄酮代谢相似, 合理控制环境中氮素水平在保证谷子正常生长发育的需求同时, 在植株体内造成适度活性氧胁迫以锻炼其抗活性氧能力, 这对提高开花期谷子抵抗增强 UV-B 辐射伤害的能力是十分有意义的。本研究结果中较低氮素水平下开花期谷子叶片 SOD 活性显著高于较高氮素水平下处于同时期的谷子, 在遭受增强 UV-B 辐射处理时也依然如此。从此角度来看, 较低氮素水平对提高谷子叶片 SOD 活性从而使之能更有效清除 O_2^- 是很有好处的。然而本研究中氮素水平对开花期谷子叶片 CAT 活性影响则恰好相反(图 2), 而这正和 SOD 活性变化紧密相关: SOD 催化 O_2^- 形成的产物 H_2O_2 仍然是活性氧一种存在形式, 其最终被消除主要依赖于 CAT 完成, 此外 ASP、POD 等保护酶也承担部分 H_2O_2 的清除。SOD 活性升高导致大量 O_2^- 被转化为 H_2O_2 , 后者的积累往往导致 CAT 消耗或失活^[37]。因此, 本研究虽可确定这两种保护酶活性与开花期谷子抵

抗增强 UV-B 辐射能力存在一定联系,然而它们活性高低及变化与这种能力强弱之间的关系难以判断。因此,关于氮素水平对开花期谷子等农作物的保护酶与其抵抗增强 UV-B 辐射能力之间关系的影响的认识还有待加深。

此外,在本研究基础上进一步拓宽氮素水平范围和氮素形式(如采用铵态氮、有机态氮等)并同时开展对该时期植物其他生理生化过程的研究。

References

- [1] Murphy T M. Effects of broadband ultraviolet and visible radiation on hydrogen peroxide formation by cultured rose cells. *Plant Physiol*, 1990, 80: 63-78.
- [2] Kramer G E, Norman H A, Krizek D T, *et al*. Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber. *Photochemistry*, 1991, 30: 2101-2108.
- [3] Tevini M, Braun J, Fieser G. The protective function of the epidermal layer of rye seedling against ultraviolet-B radiation. *Photochem. Photobiol*, 1991, 53: 329-333.
- [4] Santos I, Fidalgo F, Almeida J M. Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Science*, 2004, 167(4): 925-935.
- [5] Stewart A J, Chapman W, Jenkins G I, *et al*. The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissue. *Plant Cell Environ.*, 2001, 24: 1189-1197.
- [6] Kováčik J, Klejdus B, Bačkor M, *et al*. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant Science*, 2007, 172: 393-399.
- [7] Huang Z A, Jiang D A, Yang Y, *et al*. Effects of nitrogen deficiency on gas exchange, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzymes in leaves of rice plants. *Photosynthetica*, 2004, 42(3): 357-364.
- [8] Hunt J E, McNeil D L. Nitrogen status affects UV-B sensitivity of cucumber. *Aust J. Plant Physiol*, 1998, 25: 79-86.
- [9] Pinto M E, Casati P, Hsu T P, *et al*. Effects of UV-B radiation on growth, photosynthesis, UV-B absorbing compounds and NADP-malic enzyme in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different nitrogen conditions. *J. Photochem. Photobiol. B Biol*, 1999, 48: 200-209.
- [10] Tevini M, Teramura A H. UV-B effects on terrestrial plants. *Photochem Photobiol*, 1989, 50: 479-487.
- [11] Robberrecht R, Caldwell M. Leaf epidermal transmittance of ultraviolet radiation and its implications for plant sensitivity to UV induced injury. *Oecologia*, 1978, 32: 277-287.
- [12] Stapleton A E, Walbot V. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. *Plant Physiol*, 1994, 105: 881-889.
- [13] Li J M, Chen Y H, Jin Z X, *et al*. Extraction and analysis of flavonoids from *Sargentodoxa cuneata*. In: Zhong Z C ed. *Theories and research methods on the behavioral ecology of climbing plants*. Beijing: Science Press, 2005. 161-166.
- [14] Ou-Yang G C. Extraction, purification and determination of phenylalanine ammonia-lyase (PAL). In: Tang Z C ed. *Guide of modern plant physiological experiments*. Beijing: Science Press, 1999. 318-324.
- [15] Chance B, Mahley A C. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 1955, 2: 746-755.
- [16] He A. Catalase. In: Hu B ed. *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie, 1983, 3: 273-282.
- [17] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell and Physiology*, 1981, 22: 867-880.
- [18] Knorr O C, Dumer J, Boger P. Alterations in the antioxidative system of suspension cultured soybean (*Glycine max*) cells induced by oxidative stress. *Physiol Plant*, 1996, 97: 388-396.
- [19] Stewart R C, Bewley J D. Lipid Peroxidation associated with aging of soybean axes. *Plant Physiol*, 1980, 65: 245-248.
- [20] Bradford M M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-254.
- [21] Tevini M, Iwanick W, Thoma U. Some effects of enhanced UV-B radiation on the growth and composition of plants. *Planta*, 1981, 153: 388-394.
- [22] Bongue-Bartelmann M, Phillips D A. Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. *Plant Physiol Biochem.*, 1995, 33: 539-549.
- [23] Chappell J, Hahlbrock K. Transcription of plant defence genes in responses to UV light or fungal elicitor. *Nature*, 1984, 311: 76-78.

- [24] Li Y, Yue M. Ultraviolet radiation ecology. Beijing: Chinese Environmental Science Press, 2000. 95-104
- [25] Xie L L, Zhao W L, Shen L M. Light regulation of the expression of PAL gene in soybean leaves and isoflavone synthesis. Chinese Bulletin of Botany, 2000, 17(5): 443-449
- [26] Fritz C, Palacios-Rojas N, Feil R M, *et al*. Regulation of secondary metabolism by the carbon-nitrogen status in tobacco: nitrate inhibits large sectors of phenylpropanoid metabolism. Plant J, 2006, 46: 533-548
- [27] Meyer S, Cerovic Z G, Goulas Y, *et al*. Relationships between optically assessed polyphenols and chlorophyll contents and leaf mass per area ratio in woody plants: a signature of the carbon-nitrogen balance within leaves? Plant Cell Environ., 2006, 29: 1338-1348
- [28] Jones C G, Hartley S E. A protein competition model of phenolic allocation. Oikos, 1999, 27: 27-44
- [29] Beggs C J, Andrea S J, Eckard W. Isoflavonoid formation as an indication of UV stress in bean (*Phaseolus vulgaris*) leaves. Plant Physiol., 1985, 79: 630-634
- [30] Pan R C. Plant physiology. Beijing: Higher Education Press, 2004. 130-137, 283-286
- [31] Neumann G, Schwemmler B. Flavonoids from Oenothera seedlings: identification and extranuclear control of their biosynthesis. Journal of Plant Physiology, 1993, 142: 135-143
- [32] Björn L O. Effects of ozone depletion and increased UV-B on terrestrial ecosystem. Intern J Environ Studies, 1996, 51: 217-243
- [33] Takeuchi Y, Kubo H, Kasahara H, *et al*. Adaptive alterations in the activities of scavengers of active oxygen in cucumber cotyledons irradiated with UV-B. Journal of Plant Physiology, 1996, 147(5): 589-592
- [34] van Camp W, van Montagu M, Inze D. H₂O₂ and NO: Redox signals in disease resistance. Trends Plant Sci., 1998, 3: 330-334
- [35] Chen Z, Klessig D F. Identification of a soluble salicylic acid binding protein that may function in signal transduction in the plant disease resistance response. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 8179-8183
- [36] Yu S G, Björn L O. Effects of UV-B radiation on light-dependent and light-independent protein phosphorus in thylakoid proteins. J Photochem Photobiol B: Biol., 1997, 37: 212-218
- [37] Ambash t N K, Agrawal M. Interactive effects of ozone and ultraviolet B singly and in combination on physiological and biochemical characteristics of soybean plants. J Plant Biol., 2003, 30: 37-45

参考文献:

- [13] 李钧敏, 陈永辉, 金则新, 等. 大血藤黄酮类化合物的提取与分析. 见: 钟章成主编. 攀援植物行为生态学的理论与研究方法. 北京: 科学出版社, 2005. 161~166
- [14] 欧阳光察. 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 的提取、纯化及活性测定. 见: 汤章城主编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999. 318~324
- [24] 李元, 岳明. 紫外辐射生态学. 北京: 中国环境科学出版社, 2000. 95-104
- [25] 谢灵玲, 赵武玲, 沈黎明. 光照对大豆叶片苯丙氨酸裂解酶 (PAL) 基因表达及异黄酮合成的调节. 植物学通报, 2000, 17(5): 443~449
- [30] 潘瑞炽. 植物生理学. 北京: 高等教育出版社, 2004. 130~137, 283~286