

# 增强 UV-B 辐射对小麦叶片内源 ABA 和游离脯氨酸的影响

杨景宏<sup>1</sup>, 陈 拓<sup>2</sup>, 王勋陵<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 兰州大学生物系, 兰州 730000; <sup>2</sup> 中国科学院兰州冰川冻土所冰芯与寒区环境开放实验室, 兰州 720000)

**摘要:** 研究温室种植的小麦在 0(CK)、8.82KJ/m<sup>2</sup>(T<sub>1</sub>)和 12.6KJ/m<sup>2</sup>(T<sub>2</sub>)3 种剂量的 UV-B 辐射下其内源 ABA 和游离脯氨酸含量的变化。UV-B 辐射导致叶绿体膜脂脂肪酸配比改变和 IUFA 降低、叶片 MDA 含量升高及 ABA 和游离脯氨酸积累。分析表明, UV-B 辐射对膜系统的损坏也许是内源 ABA 和游离脯氨酸含量增加的原因之一, 而后者也是植物抵抗 UV-B 胁迫所做出的适应性反应。

**关键词:** 小麦; UV-B 辐射; 内源 ABA; 游离脯氨酸

## Effect of enhanced UV-B radiation on endogenous ABA and free proline contents in wheat leaves

YANG Jing-Hong<sup>1</sup>, CHEN Tuo<sup>2</sup>, WANG Xun-Ling<sup>1</sup> (*1 Department of Biology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2 The Laboratory of Ice Core and Cold Regions Environment, LIGG, CAS, Lanzhou 730000, China*)

**Abstract:** The changes of endogenous ABA and free proline in wheat leaves exposed to 0(CK), 8.82KJ/m<sup>2</sup>(T<sub>1</sub>) and 12.6KJ/m<sup>2</sup>(T<sub>2</sub>) were studied. Enhanced UV-B radiation led to changes of the composition of fatty acids as well as decrease of IUFA in chloroplast membrane, increase in MDA content and accumulation of ABA and proline. The analysis indicated that damage of UV-B radiation to membrane system may be the reason accumulating endogenous ABA and free proline. The latter is the adaptive mechanism of plants to UV-B radiation stress.

**Key words:** wheat *Triticum aestivum* L.; UV-B radiation; endogenous ABA; free proline

文章编号: 1000-0933(2000)01-0039-04 中图分类号: Q494 文献标识码: A

臭氧层减薄、紫外线 B(UV-B)增强是当今全球性环境问题之一, 倍受科学家的注意。研究表明, 植物的生长、发育和许多生理生化过程直接或间接地受增强 UV-B 辐射的影响<sup>[1]</sup>。Kramer 等<sup>[2]</sup>和 Willckens 等<sup>[3]</sup>发现增强 UV-B 辐射与臭氧、冷害等胁迫一样, 可导致多胺的积累、诱导膜脂的过氧化和基因表达活性的改变。植物对逆境胁迫响应的一致性暗示植物的响应机制可能是相同的。叶片中内源 ABA 和游离脯氨酸含量的积累在许多胁迫, 如干旱胁迫、盐胁迫、冷害胁迫下被观察到<sup>[4,5]</sup>。内源 ABA 和游离脯氨酸含量的这种变化与植物的抗性有关<sup>[6]</sup>。然而, UV-B 辐射对内源 ABA 和游离脯氨酸含量的影响还未见报道。鉴于此, 本文以小麦为受试材料, 研究了 UV-B 辐射下内源 ABA 和游离脯氨酸含量的变化及其机理。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材 料

春小麦(*Triticum aestivum* L.), 92-5005 品种。

#### 1.2 处 理 方 法

将春小麦种子经 5% 次氯酸钠消毒, 30℃ 预萌发 24h 后, 种植于直径为 30cm 的花盆中, 置于室内。生

长条件,昼夜温度为 30 C/15 C,光照 PAR 为 400~600 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ,相对温度为 70%。待长出 3 片真叶后分为 3 组,每组 4 盆。处理组分别以不同强度的 UV-B 处理,连续照射 4 周,每隔 7d 采样,取同一叶位的叶片测定各项生理指标。

紫外灯管(秦牌,波长峰值 310nm,宝鸡光源研究所研制)发射的 UV-B 经 0.08mm 乙酸纤维素膜过滤后照射植物。不断调整灯高度以维持恒定的辐射剂量。每天照射 8h(9:00~17:00)。UV-B 辐射量由北京师范大学制造的便携式 UV-B 测定仪测得的读数经 Caldwell(1971)公式转换后获得。公式为:

$$UV - B = 140.2 \times (\text{读数}) - 4.283$$

### 1.3 分析测定方法

① 叶绿体膜脂脂肪酸组成分析 按 Norberg 等(1991)的方法<sup>[7]</sup>。

② 膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量的测定 按 Kramer 等(1991)的方法<sup>[2]</sup>。

③ 叶组织中游离脯氨酸含量的测定 按张殿忠等(1990)<sup>[8]</sup>的方法。

④ 内源 ABA 的测定 准确称取植物叶片 1g,加预冷的含 10mg/LBHT 的 80% 甲醇水溶液匀浆,4 C 浸提液过夜(甲醇提取液经 Sep-Pak C<sub>18</sub> 柱纯化,以除去色素和其它亲脂性杂质)。减压除去甲醇,水相用乙酸乙酯萃取 3 次(pH8.0),合并乙酸乙酯提取液,减压蒸干。提取物用 TBS(50mM Tris, 150mM NaCl, 1.0ml MgCl<sub>2</sub>, pH7.8)溶解。按厂家推荐的程序,使用 ABA-ELISA 试剂盒(南京农业大学提供),在 Bio-rad 公司生产的 3350 型测定仪上测定 ABA 含量。

## 2 实验结果

叶绿体膜脂脂肪酸组成的气相色谱分析表明,处理组与对照组相比,脂肪酸组成并无区别,但配比上有较大差异,亚麻酸含量下降,硬脂酸含量明显升高。由于脂肪酸配比的改变,UV-B 处理后的脂肪酸不饱指数(IUFA)相对于对照有所降低(表 1)。

表 1 增强 UV-B 处理对叶绿体膜脂脂肪酸组成的影响

Table 1 Total fatty acid composition in the chloroplast membrane isolated from wheat exposed to enhanced UV-B radiation

处理 Treatment	脂肪酸组成(mol%) Composition of fatty acid					脂肪酸不 饱和指数 IUFA
	棕榈酸 Palmitic acid (16:0)	硬脂酸 Stearic acid (18:0)	油酸 Oleic acid (18:1)	亚油酸 Linoleic acid (18:2)	亚麻酸 Linolenic acid (18:3)	
CK	42.74	4.68	8.06	7.68	36.83	133.91
T <sub>1</sub>	43.31	8.97	9.59	14.03	24.10	109.95
T <sub>2</sub>	44.81	7.99	16.04	7.34	23.82	102.18

增强 UV-B 辐射,除在处理初期叶片 MDA 稍微下降外,均导致 MDA 含量增加,并且高强度处理,MDA 含量增加更为显著(图 1)。

图 2 显示了 UV-B 辐射后游离脯氨酸含量的变化。相对于对照,游离脯氨酸含量升高,在处理 28d 后,游离脯氨酸含量分别升高了 50.75%(T<sub>1</sub>)和 133.33%(T<sub>2</sub>)。

ELISA 分析叶片内 ABA 含量的结果如表 2。UV-B 辐射引起了 ABA 的积累,至处理 21d 后,ABA 含量分别升高了 55.54%(T<sub>1</sub>)和 124.35%(T<sub>2</sub>),但在 T<sub>1</sub> 处理初期,ABA 含量较对照有所下降。

表 2 UV-B 辐射对 ABA 含量的影响(nmol/g·FW)

Table 2 Effect of UV-B radiation on ABA content in wheat leaves

处理天数 Days of treat	CK	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
7	3.41±0.85	2.99±0.94	4.23±1.01
14	4.40±0.62	4.32±1.14	5.32±0.97
21	4.76±1.16	7.39±2.23	10.67±3.19

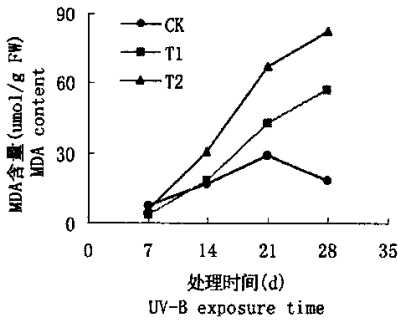


图1 UV-B 辐射对 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effects of UV-B radiation on MDA content in wheat leaves

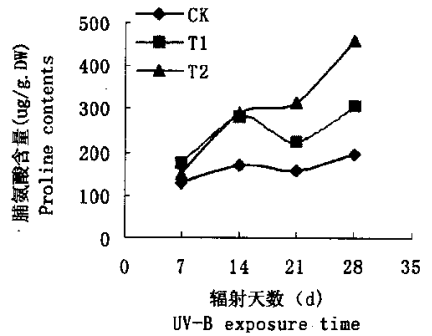


图2 UV-B 辐射对脯氨酸含量的影响

Fig. 2 Effects of UV-B radiation on proline content

### 3 讨论

大量研究指出,无论在温室内还是在田间条件下,许多敏感的植物在 UV-B 辐射下生长和生物量积累都有明显降低<sup>[1]</sup>。Van 等的试验表明,植物经 UV-B 辐射后,其光合速率和光合产物累积下降同步进行<sup>[9]</sup>。Okada 等认为光合速率的下降是由于光系统 II 反应中心失活的缘故。而光系统 II 的失活可能与叶绿体的脂质过氧化有关<sup>[10]</sup>。本试验结果显示由于膜脂脂肪酸配比的改变而引起不饱和度指数(IUFA)的降低及膜脂过氧化产物 MDA 含量在 UV-B 辐射下明显升高,这说明植物膜系统受到了 UV-B 辐射的破坏。然而,Herick<sup>[11]</sup>和 Wright<sup>[12]</sup>认为 UV-B 造成光合速率下降的原因是由于气孔阻力增大或气孔关闭所致,植物对气孔开关的调节是植物在环境胁迫下的一种响应。有人把植物调节气孔开关的生理生化机制归结为内源 ABA 含量的积累。研究表明,胁迫引起了植物体内 ABA 浓度的显著升高,ABA 水平的升高和植物的抗性有关<sup>[13]</sup>。本试验结果显示 UV-B 辐射诱导了 ABA 的积累。植物在 UV-B 胁迫下内源 ABA 累积量的增加可能是因为 UV-B 辐射损伤了叶绿体膜或细胞膜,而使得细胞失去膨压或膜上 Mg-ATPase 活性下降、叶绿体基质 pH 降低所致<sup>[14]</sup>。但 UV-B 辐射引起的 ABA 含量升高的生理意义还不清楚,是否和其他激素共同作用调控植物生长及植物生理生化反应和是否影响到 mRNA 转录及蛋白质的合成需进一步研究。

脯氨酸是植物蛋白质的组分之一,并以游离态广泛存在于植物体中。试验表明,植物在受到逆境胁迫时,体内游离脯氨酸含量会发生明显的变化<sup>[4]</sup>。胁迫下游离脯氨酸的积累可能是植物适应逆境的一种表现,如在低温伤害中,人们把脯氨酸作为一种防冻剂和膜稳定剂<sup>[15]</sup>。本试验对 UV-B 辐射下植物体内游离脯氨酸含量变化的测定结果表明,小麦叶经 UV-B 处理后,游离脯氨酸含量显著升高。这可能与 ABA 含量的增加有关。Stewart 发现外源 ABA 的使用导致了体内游离脯氨酸的积累,他认为是 ABA 刺激了谷氨酸合成脯氨酸的过程<sup>[16]</sup>。曹仪植和吕忠恕的试验表明干旱胁迫下,内源 ABA 含量首先增加,继而促进了体内游离脯氨酸的累积<sup>[17]</sup>。

综上所述,UV-B 辐射影响了植物的生理生化反应,如膜系统的破坏、ABA 的累积。UV-B 辐射对膜系统的损坏导致了内源 ABA 和游离脯氨酸的累积,而后者也是植物抵抗 UV-B 胁迫所做出的适应性反应。

### 参考文献

- [1] 杨志敏, 颜景义, 郑有飞, 等. 紫外辐射增强对植物生长的影响. 植物生理学报, 1994, **30**: 241~248.
- [2] Kramer G F, Norman H A, Krizck D T, *et al.* Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber. *Photochemistry*, 1991, **30**: 2101~2108.
- [3] Willenbrunn J P, W C, Montagu M V, *et al.* Ozone, sulfur dioxide and ultraviolet-B have similar effects on mRNA accumulation of antioxidant genes in *Nicotiana glauca* L. *Plant Physiol*, 1994, **106**: 1007~1014.

- [4] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义. 植物生理学通讯, 1984, **1**:15~21.
- [5] Kefu Z, Munns R, King R W. Abscisic acid levels in NaCl-treated barley, cotton and saltbush. *Aust J Plant Physiol*, 1991, **18**:17~24.
- [6] 郭 确, 潘瑞帜. ABA 对水稻幼苗抗冷性的影响. 植物生理学通讯, 1984, **10**:295~299.
- [7] Norberg P, Lijenberg C. Lipid of PM prepared from oat root cells: Effect of induced water deficit tolerance. *Plant Physiol*. 1991, **96**:1136~1141.
- [8] 张殿忠, 汪柿洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法. 植物生理学通讯, 1990, **4**:62~65.
- [9] Van T K, Garrard L A, West S H. Effects of UV-B radiation on net photosynthesis of some crop plants. *Crop Sci*. 1976, **16**:715~718.
- [10] Oxada M, Kitajima M, Bulter W L. Inhibition of photosystem I and photosystem II in chloroplasts by UV radiation. *Plant Cell Physiol*. 1976, **17**:35~41.
- [11] Herick F. Effect of ultraviolet light on stomatal movement. *Biol Plant*. 1964, **6**:70~73.
- [12] Wright L A, Murphy T M. Short wave ultraviolet light closes leaf stomata. *Amer J Bot*. 1982, **69**:1196~1198.
- [13] Rikin A, Atomon D, Gitter C. Chilling injury in cotton: Provention of abscisic acid. *Plant Cell Physiol*. 1979, **20**:1537~1539.
- [14] Piere M, Baschke K. Correlation between loss of turgor and accumulation of abscisic acid in detached leaves. *Planta*. 1980, **148**:174~182.
- [15] Duncan D R, Widhol W. Proline accumulation and its implication in cold tolerance of regenerable maize callus. *Plant Physiol*. 1987, **83**:703~708.
- [16] Stewart C R. The mechanism of abscisic acid-induced proline accumulation in barley leaves. *Plant Physiol*. 1980, **66**:230~233.
- [17] 曹仪植, 吕忠恕. 水分胁迫下植物体内游离脯氨酸的积累 ABA 在其中的作用. 植物生理学报, 1985, **11**:9~16.