

酸雨和 UV-B 对玉米幼苗光合速率 和抗氧化酶活性的影响

龙 云¹, 刘 芸², 钟章成^{1,*}, Marinus J. A. Werger³

(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. 西南大学资源环境学院, 重庆 400715; 3. 荷兰乌德列支大学植物生态学系, 乌德列支 80084, 3508)

摘要:以玉米 (*Zea mays* L.) 的两个品种渝糯 7 号和苏玉糯为研究材料, 研究酸雨与 UV-B 辐射单一因子和复合处理对植物光合作用及抗氧化酶活性的影响机理, 模拟酸雨 [pH6.5 (A_0), 4.5 (A_1) 和 3.5 (A_2)] 和增强 UV-B 辐射 [0 (B_0), 2.88 (B_1) 和 5.76 (B_2) $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$] 及其复合作用下, 玉米叶片光合速率, 膜脂过氧化程度, 抗氧化酶活性的变化。结果表明, 与对照相比, 酸雨或增强 UV-B 辐射单因素处理下两个品种的玉米幼苗所测生理指标有相似的变化, 基本表现为: 净光合速率和过氧化氢酶 (CAT) 活性降低, 质膜透性与丙二醛 (MDA) 含量增加, 过氧化物酶 (POD) 活性亦增加, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性随处理时间延长先升高后降低。复合处理下, 两个品种的玉米幼苗所测生理指标与对照相比也与单因素处理表现相似, 且随处理组合的不同, 复合胁迫下各指标的效果可能表现为协同效应, 但更多地表现为拮抗作用。以上结果说明, 模拟 UV-B 辐射升高和酸雨 pH 值降低促进了玉米叶片活性氧的代谢速率, 导致了抗氧化酶系统的紊乱, 抑制了光合作用。在复合处理下, 两个因子对不同指标在不同处理时间和复合水平下, 表现出一定的协同或拮抗效应可能与作物对环境变化产生一定的抗逆性和适应性有关。在不同时期两玉米品种对紫外辐射与酸雨敏感性不同。与苏玉糯相比, 渝糯 7 号对外界环境变化的抗性更大。

关键词:UV-B 辐射; 酸雨; 复合作用; 玉米; 光合速率; 膜脂质过氧化; 抗氧化酶活性

文章编号: 1000-0933 (2009) 09-4956-11 中图分类号: Q494, Q945.11, S314, X171.1 文献标识码: A

Effects of UV-B irradiation and acid rain on photosynthetic rate and antioxidant enzyme activities of maize seedlings

LONG Yun¹, LIU Yun², ZHONG Zhang-Cheng^{1,*}, Marinus J. A. Werger³

1 School of Life Science, Key Laboratory of Eco-environments of Three Gorges Reservoir Region of Ministry of Education, Southwest University, Chongqing, 400715, China

2 College of Resources and Environments, Southwest University, Chongqing, 400715, China

3 Department of Plant Ecology, Utrecht University, Post Box 80084, 3508 TB, Utrecht Holland

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(9): 4956 ~ 4966.

Abstract: In order to reveal effects of acid rain (AR) and UV-B radiation (UV-B) singly and in combination on plant photosynthesis and anti-oxidant enzyme activities, the net photosynthetic rate, relative membrane permeability, malondialdehyde (MDA) content, and anti-oxidative enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) leaves were studied under simulated acid rain (pH = 6.5 (A_0), 3.5 (A_1), 4.5 (A_2)) and enhanced UV-B radiation (0 (B_0), 2.88 (B_1), 5.76 (B_2) $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$), both singly and in combination treatment in the green-house. The results indicated that the physiological traits in the maize breeds Yu Nuo 7 and Su YuNuo experienced similar changes under single AR and UV-B treatment. The treatments resulted in reduction of net photosynthetic rate and catalase (CAT) activity, increase of the relative membrane permeability, MDA content and peroxidase (POD) activity, while superoxide dismutase (SOD) activity increased first but decreased afterwards during the treatment. Under the combined stresses, compared with the control

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

收稿日期: 2008-10-12; 修订日期: 2009-01-22

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

treatment (A_0B_0), the changes of physiological traits in both breeds of maize were similar to those under single factor treatment. For some traits, combined stress displayed a synergistic effect, with significantly stronger effects than those under single factor stress, whereas for most traits it displayed antagonistic effects. The results showed that both enhanced UV-B radiation and decreased pH of simulated acid rain accelerated ROS metabolism rates, which damaged the anti-oxidative enzyme system and reduction of photosynthesis. Taken together, the dynamic changes of physiological and biochemical indices under the dual stresses (AR + UV-B) were not identical, and none of them showed a simple linear variation, but displayed additive, synergistic or antagonistic effects depending on the different treatment periods and/or degree of stresses, indicating that plants had different mechanisms of resistance and adaptability under different stresses. The two different breeds of maize had different sensitivity to AR and UV-B treatment at different stages. Yu Nuo 7 was in general more tolerant to stresses than Su YuNuo.

Key Words: ultraviolet-B radiation (UV-B); acid rain; combined stress; maize; photosynthetic rate; peroxidation of membrane-lipid; anti-oxidative enzyme activities

由于平流层的臭氧层减薄导致的到达地面紫外线 B (UV-B, 280 ~ 320nm) 增强将产生严重的生态学和生物学后果,这是备受各国科学家关注的全球性重大环境问题之一,酸雨则是另一个全球关注的环境问题^[1~4]。中国是世界三大酸雨区之一^[5],即使在目前不存在酸雨污染问题的北方地区随着工业除尘和绿化工作的进展,使碱性大颗粒等物质的含量逐年降低,加之因平流层臭氧破坏导致紫外辐射增加有助于极难控制的细粒子的形成和转化使大气酸性增强,将来也可能会存在酸雨污染的问题^[6],北欧就是一个先例。尽管目前国内对外对酸雨和 UV-B 两大环境问题所引发的植物生长、生理变化报道较多,但大都只是对单一因子影响的研究,探讨增强 UV-B 辐射和模拟酸雨的复合作用对植物的影响的研究较少^[7~10],尤其是复合作用对 C_4 植物生长和生理生态的影响尚未见报道。在自然环境中往往表现为 UV-B 增强和酸雨的复合作用,因而研究两者的复合作用所产生的生理和生态效应将具有更重要的理论和实践意义。重庆市地处全国第二大酸雨区即西南酸雨区的中心地带,是国家重点酸雨控制区。酸雨直接危害到了农作物的耕种及产量,进而造成严重的经济损失。为实现优质丰产,目前在重庆地区广泛采用玉米育苗带土移栽新技术。在从育苗棚移栽大田定苗过程中,幼苗也将面对酸雨和突然增强的紫外辐射,研究在移栽这一短时间内幼苗在此逆境下的生理生态适应性变化对其能否存活并健康成长,及将来的优质丰产有重要意义。本实验以我国尤其是西南地区的主要农作物玉米的幼苗为实验材料,模拟重庆酸雨的背景和 UV-B 辐射强度增强,探讨酸雨和 UV-B 对其生理代谢的影响及其相互作用机理和玉米耐受性的品种差异。

1 材料与方法

1.1 材料处理

糯玉米 (Waxy corn) (*Zea mays* L. certain Kulesh) 起源于中国西南地区,籽粒中淀粉完全是支链淀粉,有特殊的工业用途;其所含蛋白质类型与品质优于普通玉米,赖氨酸含量一般比普通玉米高 16% ~ 74%,具有较高的营养价值。本实验选用糯玉米中的渝糯 7 号 (以下简称“y7”) 和苏玉糯 (以下简称“sy”) 为实验材料。渝糯 7 号系重庆市农科所 1995 年利用自选糯质玉米自交系“S147”与“S181”杂交选育而成的中早熟莱用糯玉米杂交种。苏玉糯是浙江省沿江地区农科所 1986 年以自选系 5 为母本,与外引系衡白 522 为父本杂交成的白粒糯质玉米单交种,1991 年通过浙江省作物品种评审委员会审定并正式命名。

“渝糯 7 号”和“苏玉糯”种子经消毒后,温水浸泡 24h,选取颗粒大小一致的玉米种子播种于珍珠岩中,各种 18 盘,待出苗后每盘选留整齐的壮苗 50 株,温室培养。昼夜温度 24 ~ 26℃/15 ~ 18℃,光照/黑暗周期为 11/13h,光照强度为 320 ~ 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,相对湿度 (70 ± 10) %。每天补充水分,每 2d 补充 1 次稀释 2 倍的 Hoagland 营养液,每 6d 以去离子水冲洗培养盘避免盐分积累。待长到“三叶一心”期后进行酸雨和 UV-B 处理。

1.2 UV-B 辐射和酸雨处理

对玉米进行 UV-B 辐射 3 水平、酸雨 3 水平组合处理。

UV-B 辐射方法见文献^[11],调节玉米植株顶端距灯管的高度设定出两个 UV-B 强度,其强度模拟重庆市北碚区 2005 年夏季晴日平均臭氧层衰减 10% 和 20%,即相当于平均太阳 UV-B 辐射增强 20% 和 40%,剂量为 2.88 (B_1 、低强度)和 5.76 (B_2 、高强度) $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$,紫外辐射强度用 UV-B 辐射测定仪(北京师范大学生产)测量。每天照射 8h(9:00 ~ 17:00),以不增加 UV-B 辐射为对照(B_0)。

酸雨(Acid Rain, AR)处理设置对照($\text{pH} 6.5, A_0$),参照文献^[12,13]确定模拟重庆酸雨 pH 值为 4.5 (A_1 、低强度)、3.5 (A_2 、高强度),酸液的化学组分为 38.19 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{SO}_4^{2-}$, 4.55 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_3^-$, 3.53 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$, 21.10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$,用稀 H_2SO_4 调节 pH 值。酸雨的喷洒与 UV-B 同时开始处理,用喷雾器将酸雨(含 0.001% 吐温-80)均匀喷于玉米幼苗全株使充分润湿至叶片滴液,每 3d 喷洒 1 次。

1.3 取样与测定方法

每 6d 9:00 剪取同一叶位的叶片测定各项生理指标,试验重复两次,数据用 SPSS16.0 和 Excel 进行分析。

1.3.1 净光合速率

于取样当天 9:00 ~ 11:00 利用 LI-6400 光合分析仪(Licor)测定。

1.3.2 膜脂过氧化程度

丙二醛(MDA)含量的测定参照李合生等^[14]的硫代巴比妥酸(TBA)比色法;外渗电导率用 DDS-11A 型电导率仪测定,以相对电导率(%)表示。

1.3.3 抗氧化酶活性

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定参照 Stewert 和 Bewley^[15]的 NBT 光氧化还原法,以每单位时间内抑制 NBT 光氧化还原 50% 的酶量为一个酶活性单位;过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用紫外吸收法,以每分钟 OD240 减少 0.01 为一个酶活力单位^[16];过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法,将每分钟 OD470 增加 0.01 定义为一个酶活力单位^[16],以样品鲜质量计算酶活性。

2 结果与分析

2.1 不同处理对玉米幼苗叶片净光合速率的影响

模拟酸雨和增强 UV-B 辐射无论是单独或者复合作用均使玉米幼苗叶片净光合速率相对于对照(A_0B_0)下降(图 1)。在增强 UV-B 辐射单因子处理 6d 后,两品种玉米幼苗叶片的净光合速率都随辐射强度的增加而减少,而“sy”比“y7”品种的净光合速率下降更多,显示在这一时期,“sy”比“y7”品种对 UV-B 辐射更为敏感。而随着处理时间延长,在处理 12d 后,两个品种的净光合速率与对照相比都进一步显著下降,在轻度增强 UV-B 辐射下,依然是“sy”比“y7”品种的净光合速率下降百分率更多,但在 B_2 辐射强度下,“sy”品种的净光合速率下降比 B_1 强度下下降幅度小。单独进行酸雨处理时,两品种玉米幼苗叶片的净光合速率都随酸雨的酸液 pH 值的降低而减少,在处理 6d 时“sy”品种净光合速率下降比“y7”品种下降幅度小,但随着处理时间延长,“y7”品种显示出对酸雨更好的耐受性。定义复合处理对生理指标的效果比两个单一因子的作用均更显著为两因子协同效应,复合处理对指标的效果弱于两单因子其中一个甚至比两个单因子处理效果都弱为两因子拮抗作用。在复合处理 6d 时,“y7”品种除 A_1B_2 组合外,始终表现出两种因子的拮抗作用,其净光合速率总的大小关系为:UV-B 处理 > UV-B $\times$ AR 处理 > AR 处理;影响光合速率的主要因子随处理时间延长由酸雨变为 UV-B 辐射,复合处理 12d 其净光合速率总的大小关系为:AR 处理 > UV-B $\times$ AR 处理 > UV-B 处理。而“sy”品种在处理初期,两因子对净光合速率影响为协同作用,除 $B_1 > A_2 > A_2B_1$,总的大小关系为:AR 处理 > UV-B 处理 > UV-B $\times$ AR 处理。低强度的 UV-B 辐射和两种强度酸雨复合表现出的协同作用随处理时间延长也表现出两种因子的拮抗作用,其净光合速率大小关系为:AR 处理 > UV-B $\times$ AR 处理 > UV-B 处理。而高强度的 UV-B 辐射和两种强度酸雨复合处理对净光合速率降低则始终表现为协同作用,其净光合速率大小关系

为:AR 处理 > UV-B 处理 > UV-B × AR 处理。对于在处理的各个时期,两个品种 A_2B_1 处理的净光合速率都大于 A_1B_2 。

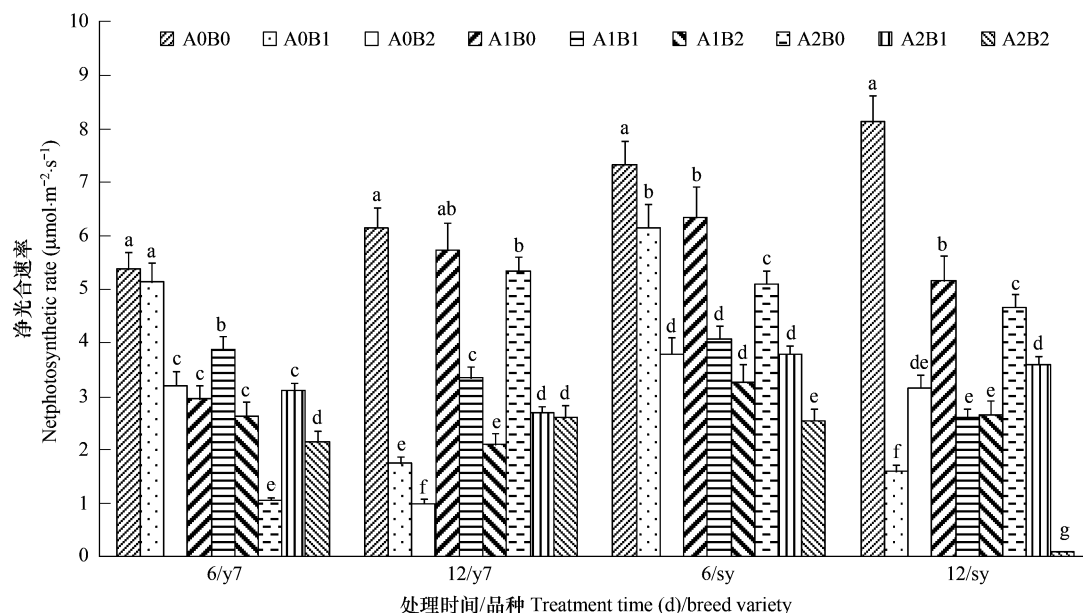


图1 增强 UV-B 辐射和模拟酸雨对渝糯 7 号和苏玉糯叶片净光合速率(±标准差)的影响

Fig. 1 Effect of enhanced UV-B irradiation and acid rain on photosynthetic rate (mean ± SD) of Yu Nuo 7 and Su Yu Nuo

A_0 、 A_1 和 A_2 分别为以 pH 值为 pH6.5、4.5 和 3.5 模拟酸雨处理; B_0 、 B_1 和 B_2 为 UV-B 辐射剂量为 0、2.88 和 5.76 $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$; 柱状图上端所注小写字母的差异意味着在 5% 水平上差异显著; 下同 A_0 、 A_1 和 A_2 mean treat with three different pH values (6.5, 4.5 and 3.5) of simulated acid rain, B_0 , B_1 , B_2 mean treat with enhanced UV-B irradiation under 0, 2.88 and 5.76 $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ and values in each column followed by the different small letters are significantly different at 0.05 level according to LSD, the same below

2.2 不同处理对玉米幼苗叶片细胞膜透性的影响

增强 UV-B 辐射和模拟酸雨对玉米幼苗叶片细胞膜透性的影响如图 2 所示。用 UV-B 与 AR 单独或复合处理两品种玉米幼苗,均表现为在处理初期叶片膜透性增加,延长处理时间膜透性数值减小,这可能与生长周期有关^[17],但相对于对照样而言,膜透性增加到一个更高水平。用 AR 单独处理两品种玉米幼苗时其叶片细胞膜透性增加程度均随模拟酸雨 pH 值降低而增大,表现出剂量效应。单独 UV-B 处理除苏玉糯在 B_2 强度下处理后期细胞膜透性低于 B_1 外,两品种玉米叶片细胞膜透性增加程度均随 UV-B 辐射强度增加而增大。复合处理时,两品种玉米在不同时期都表现出低强度的酸雨和低强度 UV-B 辐射复合处理的拮抗作用,细胞膜透性大小关系除“y7”品种在初期表现为:AR 处理 > UV-B × AR 处理 > UV-B 处理外,均为:UV-B 处理 > UV-B × AR 处理 > AR 处理。高强度酸雨和高强度 UV-B 辐射复合对“y7”品种和“sy”品种处理初期表现出拮抗作用,细胞膜透性大小关系表现为:AR 处理 > UV-B × AR 处理 > UV-B 处理;“y7”品种处理后期仍表现出两因子拮抗作用,但细胞膜透性大小关系为:UV-B 处理 > UV-B × AR 处理 > AR 处理,而“sy”品种处理后期表现出两种因子的叠加作用大于两个单因子之和,细胞膜透性大小关系表现为:UV-B × AR 处理 > UV-B 处理 > AR 处理。低强度酸雨和高强度 UV-B 辐射复合处理对“y7”品种在初期表现为协同作用,随后表现为拮抗作用;对“sy”品种则一直表现为协同作用。高强度酸雨和低强度 UV-B 辐射复合处理对“y7”品种和“sy”品种都表现为拮抗作用,在处理后期细胞膜透性大小关系为:UV-B 处理 > UV-B × AR 处理 > AR 处理,但在处理初期三者排列却有差异。比较渝糯 7 号和苏玉糯两个品种可以发现,延长处理时间,在酸雨和 UV-B 辐射无论单因素或是复合处理的胁迫下,与各自对照相比虽然苏玉糯膜透性变化幅度小于渝糯 7 号,但数值更大,意味着渝糯 7 号膜系统对胁迫更为敏感,而苏玉糯膜系统一旦受到伤害导致的渗漏则更为严重。

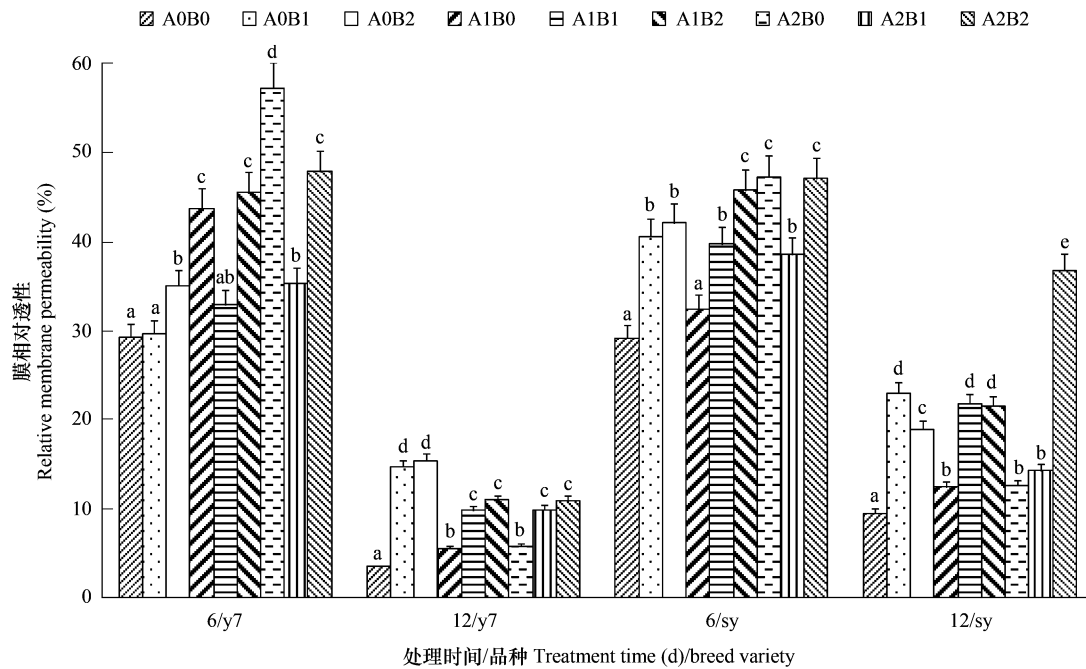


图2 增强 UV-B 辐射和模拟酸雨对渝糯 7 号和苏玉糯叶片细胞膜相对透性 ($\pm$ 标准差) 的影响

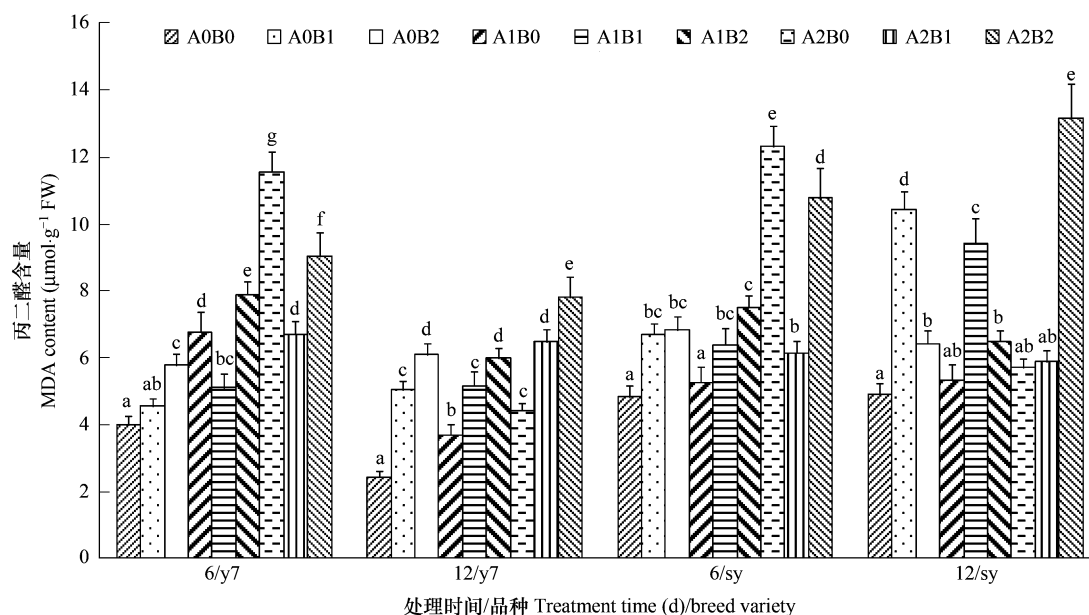
Fig. 2 Effect of enhanced UV-B irradiation and acid rain on relative membrane permeability (mean $\pm$ SD) of Yu Nuo 7 and Su YuNuo

2.3 不同处理对玉米幼苗叶片 MDA 含量的影响

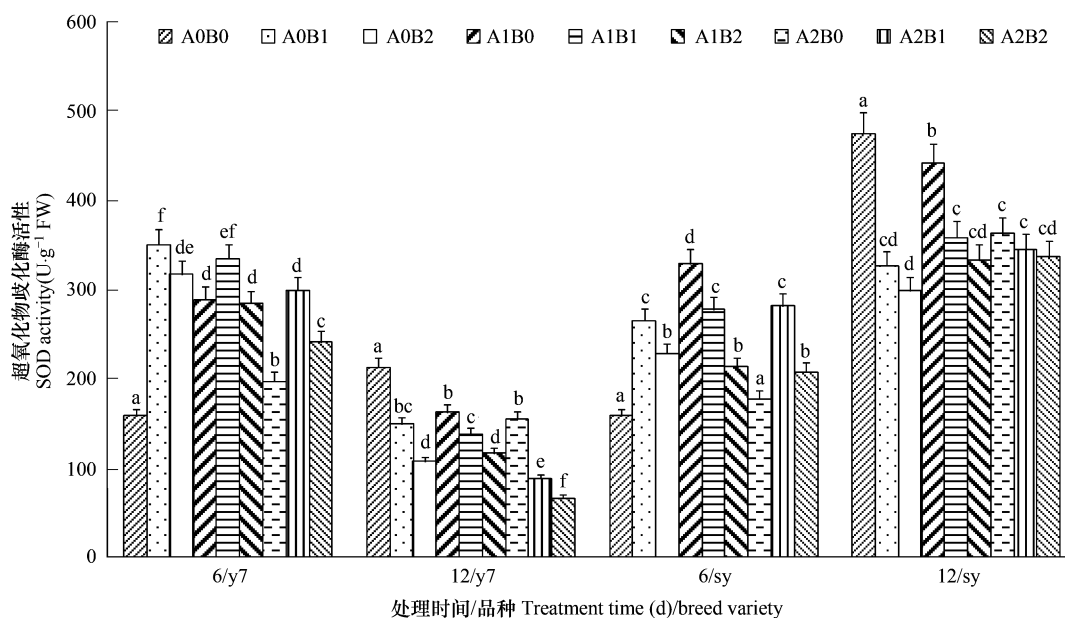
实验结果表明: 增强 UV-B 辐射和模拟酸雨无论是单独或者复合作用均使玉米幼苗叶片 MDA 含量相比于对照 (A_0B_0) 增加 (图 3)。用 UV-B 单独处理玉米叶片, 随处理强度增加和时间延长两品种玉米叶片 MDA 含量相对于对照样均增加到一个更高水平, 但处理 12d 后“sy”品种高辐射条件下叶片 MDA 含量低于低辐射强度处理样本。复合处理时, 在处理初期两品种玉米表现出相同的情况, 除 A_1B_2 处理表现出增益效应表现出叶片 MDA 含量为: UV-B $\times$ AR 处理 > UV-B 处理和 AR 处理外, 其他各种复合处理均表现为酸雨和 UV-B 辐射的拮抗作用, UV-B $\times$ AR 处理叶片 MDA 含量处于 UV-B 处理与 AR 处理之间, 甚至小于单独处理。延长处理时间, 尽管与对照相比, 在酸雨和 UV-B 辐射无论单因素或是复合处理的胁迫下苏玉糯 MDA 含量变化幅度小于渝糯 7 号, 但其叶片内累积的 MDA 含量更多。此时, “y7”品种只有低强度的酸雨和高强度 UV-B 辐射复合处理 (A_1B_2) 表现出拮抗作用, 其它复合处理均表现为两种因子的协同作用, 即叶片 MDA 含量为: UV-B $\times$ AR 处理 > UV-B 处理 > AR 处理; 而对于“sy”品种, 与膜透性变化趋势相似, 两种强度的酸雨与低强度 UV-B 辐射复合处理均表现为两因子的拮抗作用, 低强度酸雨和高强度 UV-B 辐射复合处理则一直表现为协同作用。高强度酸雨和高强度 UV-B 辐射复合处理在初期表现出拮抗作用, 在后期则表现出两种因子的增益效应大于两个单因子处理之和。

2.4 不同处理对玉米幼苗叶片活性氧防御酶活性的影响

实验结果表明: 在处理初期, 增强 UV-B 辐射和模拟酸雨无论是单独或者复合作用均使玉米幼苗叶片 SOD 活性相对于对照 (A_0B_0) 增加 (图 4), 轻度酸雨 (A_1) 与增强 UV-B 辐射 (B_1) 对 SOD 活性增大的效果大于对应的重度酸雨胁迫 (A_2) 与增强 UV-B 辐射 (B_2)。随着处理时间延长, 各种处理下两品种玉米叶片 SOD 活性相对于对照均降低, 而且单因素处理时随着各处理强度的增加, 下降幅度更大。复合处理时, 两品种玉米表现出不同的情况。“y7”品种在处理初期, 各种复合处理均表现为酸雨和 UV-B 辐射的拮抗作用, 即 SOD 活性关系一般为: UV-B 处理 > UV-B $\times$ AR 处理 > AR 处理, A_1B_2 处理的 SOD 活性甚至还低于其两因子均单独处理值。而随着处理时间延长, 只有低强度的酸雨和高强度 UV-B 辐射复合处理表现出拮抗作用, 其它复合处理均表现为两种因子的协同作用, SOD 活性关系为: AR 处理 > UV-B 处理 > UV-B $\times$ AR 处理, 使 SOD 活性降至

图3 增强 UV-B 辐射和模拟酸雨对渝糯 7 号和苏玉糯叶片 MDA 含量 ($\pm$ 标准差) 的影响Fig. 3 Effect of enhanced UV-B irradiation and acid rain on MDA content (mean $\pm$ SD) of Yu Nuo 7 and Su Yu Nuo

更低水平。而对于“sy”品种,除了高强度酸雨和低强度 UV-B 辐射复合处理在初期表现出协同作用外,其余组合在各时间段均表现为两因子的拮抗作用,基本表现为 SOD 活性之 AR 处理 > UV-B $\times$ AR 处理 > UV-B 处理。

图4 增强 UV-B 辐射和模拟酸雨对渝糯 7 号和苏玉糯叶片 SOD 活性 ($\pm$ 标准差) 的影响Fig. 4 Effect of enhanced UV-B irradiation and acid rain on SOD activity (mean $\pm$ SD) of Yu Nuo 7 and Su Yu Nuo

实验结果表明:增强 UV-B 辐射和模拟酸雨无论是单独或者复合作用均使玉米幼苗叶片 POD 活性相对于对照(A₀B₀)增加(图 5)。单因素处理时除苏玉糯在 B₂ 强度下处理后期叶片 POD 活性高于 B₁ 外,轻度酸雨(A₁)与增强 UV-B 辐射(B₁)对 POD 活性增大的效果大于对应的重度酸雨胁迫(A₂)与增强 UV-B 辐射(B₂)。复合处理时,两品种玉米表现较为相似的情况,除“sy”品种在处理初期高强度酸雨和低强度 UV-B 辐射复合

处理在初期表现出协同作用表现为 UV-B $\times$ AR 处理 > UV-B 处理 > AR 处理外,各种复合处理均表现为酸雨和 UV-B 辐射的拮抗作用,即 UV-B $\times$ AR 处理 < UV-B 处理和/或 AR 处理。而复合处理对“sy”品种叶片 POD 活性与 SOD 活性影响更为一致。

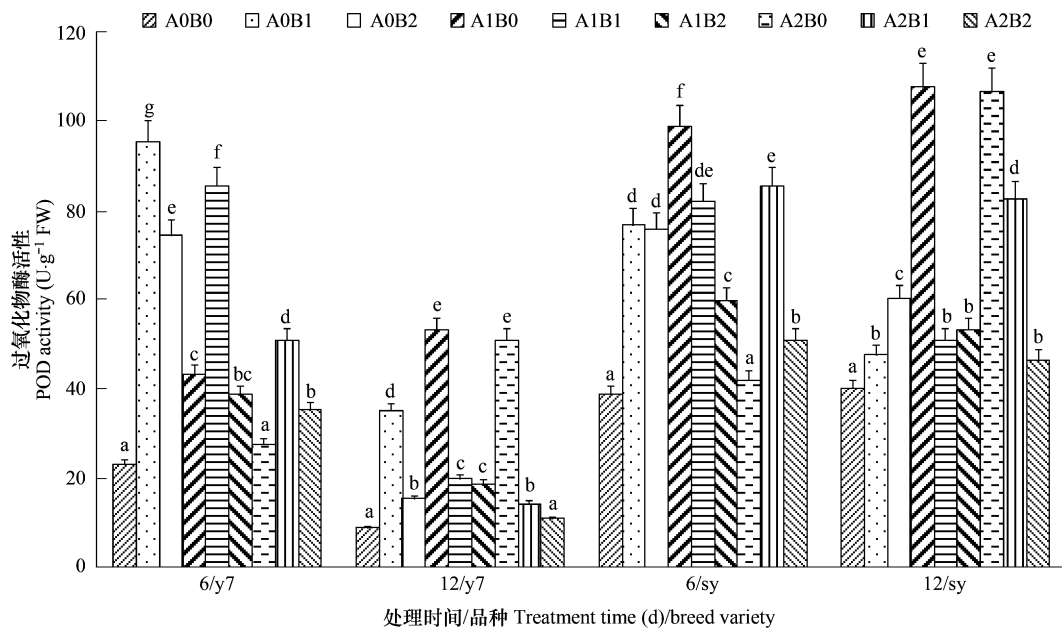


图5 增强 UV-B 辐射和模拟酸雨对渝糯 7 号和苏玉糯叶片 POD ($\pm$ 标准差) 活性的影响

Fig. 5 Effect of enhanced UV-B irradiation and acid rain on POD activity (mean $\pm$ SD) of Yu Nuo 7 and Su Yu Nuo

实验结果表明:增强 UV-B 辐射和模拟酸雨无论是单独或者复合作用均使玉米幼苗叶片 CAT 活性相对于对照 (A_0B_0) 降低 (图 6)。单因素处理时除苏玉糯在 B_2 强度下处理后期叶片 CAT 活性高于 B_1 外,酸雨与增强 UV-B 辐射对 CAT 活性降低的效果均随处理强度增加而增大,表现出剂量效应。复合处理对两品种玉米叶片 CAT 活性降低的影响的协同或拮抗作用表现与对细胞膜透性增加的影响表现一致;且对“sy”品种叶片 CAT 活性降低的影响的协同或拮抗作用表现与对 MDA 含量增加的影响表现更为一致。

3 讨论

3.1 不同处理对玉米幼苗叶片净光合速率的影响

本研究表明,增强 UV-B 辐射处理降低了玉米叶片的净光合速率,净光合速率降低的原因可能是增强 UV-B 辐射伤害膜系统和叶绿体光合结构^[18,19]以及下调光合基因,降低 1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶 (Rubisco) 等参与碳同化和光呼吸的关键酶含量与活性^[20],或使受试植物叶面积指数降低、光合面积减小^[21]。有关研究表明^[22],酸雨处理降低植物光合色素含量与组成以及破坏同化组织,影响植物的光合作用,这也可能是本试验中玉米叶片经酸雨处理后其净光合速率下降的原因,但植物受酸雨伤害程度与植物种类和酸雨处理的时间和 pH 等有关,且并不一定成正比^[23]。UV-B 和 AR 处理降低玉米幼苗叶片净光合速率虽有相似的效果,但 UV-B $\times$ AR 处理下它们虽然有可能表现出协同效应^[7~10],但并非简单的线性叠加,而是随处理时间与强度不同,表现出不同品种差异性及 AR 与 UV-B 对幼苗胁迫伤害的不同贡献率,且随着玉米幼苗的生长发育在两个品种中均更多的表现出两个因子间的拮抗作用,这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^[24]。

3.2 不同处理对玉米幼苗叶片细胞膜透性的影响

植物组织在受到外界不利因素危害时,细胞膜的结构和功能首先受到伤害,细胞膜透性增大^[11],外渗电导率反映了细胞膜破损程度。细胞膜系统是 UV-B 辐射胁迫伤害的靶位^[25],酸雨对植物细胞质膜透性的影响也有较多报道^[4,9,26],本试验结果表明,UV-B 辐射和酸雨处理均可因促进膜脂过氧化的加剧导致植物细胞

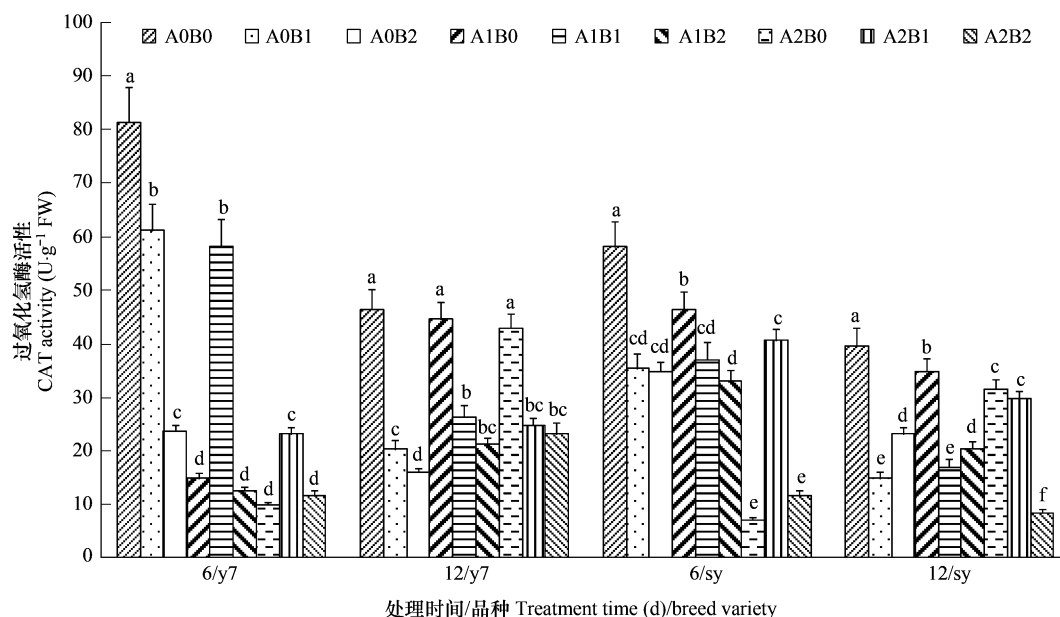


图6 增强 UV-B 辐射和模拟酸雨对渝糯 7 号和苏玉糯叶片 CAT 活性 ($\pm$ 标准差) 的影响

Fig. 6 Effect of enhanced UV-B irradiation and acid rain on CAT activity (mean $\pm$ SD) of Yu Nuo 7 and Su Yu Nuo

质膜透性增大^[27,28],UV-B 辐射还能改变膜脂质的组成,增加乙烯、乙烷和丙醛的产量,减少类囊体中单半乳糖二酰基甘油(monogalactosyl diacyl glycerol)的浓度^[29]。由于酸雨中的 H^+ 与叶片角质层中阳离子交换,随降雨酸度、物种不同,植物叶片中的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 等阳离子可被淋洗出来^[30],细胞内生物电位与 pH 偏离正常范围改变膜组成或性质而影响膜透性。所模拟的重庆地区酸雨中含有 Ca^{2+} ,也可能补充了膜系统上钙的流失,提高了膜系统的完整性,因此复合处理下两个玉米品种细胞质膜透性在处理后期均表现为复合处理大于单独酸雨处理,但这种修复能力是有限的,在不同处理时间和复合处理水平上并不总是有效。

3.3 不同处理对玉米幼苗叶片 MDA 含量的影响

植物衰老或在逆境的胁迫下,活性氧失调是引起细胞伤害的主要原因,进入生物体内的氧分子在接受一个电子后转变为超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)既能与体内蛋白质和核酸等活性物质直接作用,又能衍生为 H_2O_2 ,羟自由基($\cdot OH$),单线态氧 1O_2 等活性氧使膜脂质过氧化产生 MDA,MDA 又会加剧膜的损伤,其含量变化是最常用的膜脂过氧化指标^[31]。在 UV-B 辐射下脂肪氧化酶(LOX)活性增大主导的酶促过氧化和伴生的活性氧等自由基含量增多主导的非酶促过氧化共同加快膜脂的过氧化作用^[27],且本试验结果显示膜保护酶活性失衡,致使叶片内 MDA 含量增加。酸雨处理导致叶片内 MDA 含量增加^[28]也可以用这一抗性生理理论解释。复合处理后期,两个玉米品种叶片内 MDA 含量表现多为复合处理大于任一单因子处理,说明它们协同加强了膜脂的过氧化作用,但仍有部分复合处理组合下表现出因子间的拮抗作用,暗示不同逆境因子或同一因子不同水平处理可能触发不同的膜脂过氧化水平及植物膜保护酶活性,使叶片内 MDA 含量不同^[28]。

3.4 不同处理对玉米幼苗叶片活性氧防御酶活性的影响

在正常情况下植物体内有一套完整的活性氧清除系统(抗氧化酶和抗氧化剂)能将活性氧的产生和清除维持在动态平衡状态。SOD 是植物氧化代谢过程中的一个极为重要的诱导酶,它能催化超氧阴离子自由基歧化反应成为基态的分子氧和 H_2O_2 ,并与过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)组成活性氧防御酶系统^[31],三者协同作用使植物体内活性氧浓度维持在一个较低水平,从而防止活性氧伤害。UV-B 辐射和酸雨胁迫均能够影响植物体内活性氧代谢系统的平衡^[11,28]、破坏和降低活性氧清除剂的活性及含量水平。

本研究中,玉米植株生长在 UV-B 或/和酸雨胁迫下,使细胞产生大量活性氧自由基,活性氧可能介导相关抗逆基因的表达增强^[32],但也会导致细胞的氧化损伤。玉米虽然在胁迫初期叶片内 SOD 活性诱导性升

高,以清除胁迫时植物体内的过量 $O_2^{\cdot-}$,这是植物的一种应激反应。但随着胁迫程度的增加或持续,SOD 活性下降,表明该酶歧化的能力下降,导致组织中 $O_2^{\cdot-}$ 的积累。

POD 对多种胁迫具有响应,能降解 H_2O_2 ,参与植物细胞木质素合成、吲哚乙酸(IAA)降解。UV-B 或/和酸雨胁迫下,玉米持续维持叶片内较高的 POD 活性来抵御胁迫,使组织清除 H_2O_2 的能力有所增强,但无法缓解 UV-B 与酸雨对玉米幼苗的伤害作用,出现了宏观上的光合作用的减弱,并有可能加强了 IAA 的氧化作用而不利植株的生长^[33]。

CAT 是细胞内 H_2O_2 的重要清除剂,CAT 活性显著下降会造成 H_2O_2 积累^[31]。胞内 H_2O_2 不能及时清除,可与过量的 $O_2^{\cdot-}$ 生成毒性更强的 $\cdot OH$ 。叶片细胞内活性氧积累使得叶片细胞膜脂过氧化加剧,MDA 相对含量增加^[11]。膜脂过氧化加剧会导致膜脂不饱和度降低,膜流动性下降,对为膜所束缚的细胞酸性磷酸酯酶起明显的增溶作用,膜脂分子构象发生改变,致使细胞膜透性增强^[27]。活性氧可直接攻击生物大分子,导致蛋白质、膜脂、DNA 分子结构异常,使 SOD 和 CAT 等酶活性降低、膜结构和功能伤害^[31]使细胞生理功能紊乱,过多的 H_2O_2 向叶绿体内渗透而加速叶绿素的降解^[33],叶片光合速率降低。

胁迫处理下两个品种 SOD,POD,CAT 活性变化具有相似的趋势,但在“sy”品种在 A_0B_2 水平的 UV-B 辐射下通过 SOD,POD,CAT 协同作用一定程度上降低自由基对植株体造成的危害,最终表现为膜透性相对降低,而维持相对较高的净光合速率。因此,SOD,POD,CAT 活性变化可考虑作为研究酸雨和 UV-B 对膜系统影响的敏感指标。MDA 的含量变化和膜透性的变化也直接反映了酸雨与 UV-B 对玉米膜系统的损伤情况,并与活性氧防御酶体系共同构成了研究两个品种的玉米在外加胁迫作用下膜系统产生一系列变化的依据。

目前已有的国内外研究较多地集中在双子叶的 C_3 植物,结果表明两种逆境因子对植物伤害存在协同作用^[7-10,24],但本实验表明,两种胁迫因子的复合作用对于单子叶的 C_4 植物玉米的上述生理指标较多地表现出因子间相互的拮抗作用,这可能与本试验设定的处理强度、胁迫时间较短以及玉米的生物学特性有关,但也意味着可以通过适当的处理减少逆境因子对植物造成的不利影响。本实验结果表明,虽然酸雨与 UV-B 复合作用有可能表现为一定的拮抗作用,但相比于单一的 UV-B 辐射或酸雨处理,复合作用更多表现为加剧了膜脂质过氧化作用,降低了光合速率。说明对于自然环境条件的进一步恶化,臭氧空洞及工业废气排放导致的酸雨现象^[2,5]可能通过对膜系统和光合作用的影响,直接对玉米等粮食作物造成严重的伤害,影响其生长,使作物的产量下降,造成不可估量的经济损失,因此,必须加强对环境生态系统的保护和防治^[5]。本实验采用的两个优质推广的玉米品种在实验处理过程中各生理指标变化虽有一定相似却表现出一些不同之处,如复合处理对“y7”品种在处理时间内膜透性和净光合速率两指标的拮抗和协同影响完全一致,而“sy”品种则在处理初期有几乎相反的作用,而在处理后期变为一致,说明不同品种对酸雨和 UV-B 胁迫的耐受性不同^[34]。就净光合速率而言,在本次实验条件下,得到渝糯 7 号对于酸雨和 UV-B 的单独或复合胁迫的耐受性强于苏玉糯的结论,而研究品种间耐受性的差异对农耕具有参考价值^[35]。但苏玉糯品种在单独以较高强度增强 UV-B 辐射(A_0B_2)处理下能维持比低强度处理相对较高的净光合速率,这与膜保护系统维持高的 POD 和 CAT 活性减少 MDA 与膜透性有关。

References:

- [1] Feng Z W, Cao F H, Zhou X P. Effects of acid precipitation on ecology and environment and its' recovery. Beijing: Chinese Environmental Science Press, 1999. 1-104.
- [2] Albert K R, Rinman R, Ro-Poulsen H, Mikkelsen T N, Hakansson K B, Arndal M F, Michelsen A. Solar ultraviolet-B radiation at Zackenberg: The impact on higher plants and soil microbial communities. *Advances in Ecological Research*, 2008, 40: 421-440.
- [3] Krizek D T, Chalker-Scott L. Ultraviolet radiation and terrestrial ecosystems. *Photochemistry and Photobiology*, 2005, 81(5): 1021-1025.
- [4] Singh A, Agrawal M. Acid rain and its ecological consequences. *Journal of Environmental Biology*, 2008, 29(1): 15-24.
- [5] Larssen T, Lydersen E, Tang D G, He Y, Gao J X, Liu H Y, Duan L, Seip H M, Vogt R D, Mulder J, Shao M, Wang Y H, Shang H, Zhang X S, Solberg S, Aas W, Okland T, Eilertsen O, Angell V, Liu Q R, Zhao D W, Xiang R J, Xiao J S, Luo J H. Acid rain in China.

- Environmental Science & Technology, 2006, 40(2): 418—425.
- [6] Solomon K R, Tang X Y, Wilson S R, Zanis P, Bais A F. Changes in tropospheric composition and air quality due to stratospheric ozone depletion. Photochemical & Photobiological Sciences, 2003, 2(1): 62—67.
- [7] Paoletti E. UV-B and acid rain effects on beech (*Fagus sylvatica* L.) and holm oak (*Quercus ilex* L.) leaves. Chemosphere, 1998, 36(45): 835—840.
- [8] Liang C J, Zhou Q, Shen D X, Zeng Q L, Zhang G S, Huang X H. Effect of UV-B Radiation and Acid Rain on Rape Seedling Growth. Journal of Agro-Environment Science, 2004, 23(2): 231—234.
- [9] Liang C J, Huang X H, Tao W Y, Zhou Q. Responses of antioxidant enzyme and photosynthesis in rape seedling to the combined stresses of acid rain and ultraviolet-B radiation. Journal of Environmental Sciences, 2005, 17(6): 1038—1041.
- [10] Garty J, Tamir O, Levin T, Lehr H. The impact of UV-B and sulphur- or copper-containing solutions in acidic conditions on chlorophyll fluorescence in selected *Ramalina* species. Environmental Pollution, 2007, 145(1): 266—273.
- [11] Liu Y, Zhong Z C, Marinus J A W, Cao G X, Yin K L, Long Y. Effects of a-NAA and UV-B radiation on photosynthetic pigments and activities of protective enzymes in *Trichosanthes Kirilowii* Maxim leaves. Acta Ecologica Sinica, 2003, 23(1): 8—13.
- [12] Zhang Y. The characteristics of acid rain pollution and the causes for its formation during the Tenth Five-Year Plan in Chongqing. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2007, 29(4): 164—168.
- [13] Liao B H, Jiang Q. Importance of base cations of acid precipitation in China. Journal of Agro-Environment Science, 2001, 20(4): 254—256.
- [14] Li H S, Sun Q, Zhao S J, Zhang W H. Plant physiology biochemistry principle and experimental technique. Beijing: Higher Education Press, 2004. 260—261.
- [15] Stewart R C, Bewley J D. Lipid peroxidation associated with aging of soybean axes. Plant Physiology, 1980, 65: 245—248.
- [16] Chance B, Maehly A C. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology, 1955, 2: 746—755.
- [17] Li Y, Zu Y Q, Gao Z H, Gao G K. Physiological and biochemical effects of UV-B radiation on *Primula malacoides*. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(1): 0179—0182.
- [18] Bornman J F. Target sites of UV-B radiation in photosynthesis of higher plants. Photochemistry and Photobiology, 1989, (4): 145—158.
- [19] Elena B, Anna S, Giorgio M G, Delia T, Carlo S, Flora A and Roberto B. Role of visible light in the recovery of photo system II structure and function from ultraviolet-B stress in higher plants. Journal of Experimental Botany, 2003, 54: 1665—1673.
- [20] Jordan B R. The effect of Ultraviolet-B radiation on gene expression and pigment composition in etiolated and green pea leaf tissue: UV-B induced changes in gene expression are gene specific and dependent upon tissue development. Plant Cell Environ, 1994, 17: 45—54.
- [21] Barnes P W, Ballare C L, Caldwell M M. Photomorphogenic effects of UV-B radiation on plants: sequences for light competition. Plant Physiology, 1996, 148: 15—20.
- [22] Qi Z M, Zhong Z C. Effect of simulated acid rain on photosynthesis and growth of *Eucommia ulmoides* Oliv. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition), 2006, 31(2): 151—156.
- [23] Fu X P, Tian D L, Huang Z Y. Effects of simulated acid rain on phytomorphology. Journal of Zhejiang Forestry College, 2006, 23(5): 521—526.
- [24] Liang C J, Tao W Y, Li C, Shen D X, Zeng Q L, Xu X S, Zhou Q. Restoration of defense enzyme and photosynthesis in rape seedling under combined stress of elevated ultraviolet-B radiation and acid rain (II). Journal of Agro- environmental Science, 2004, 23(5): 890—894.
- [25] Stapleton A E. Ultraviolet radiation and plants: burning questions. Plant Cell, 1992, 4: 1353.
- [26] Zhou Q, Huang X H, Liu X L. Stress effects of simulant acid rain on three woody plants. Environmental Science, 2002, 23(5): 42—46.
- [27] Chen T, An L Z, Feng H Y, Yang J H, Wang Y L. The effect of UV-B radiation on membrane lipid peroxidation and mechanisms in broad bean leaves. Acta Ecologica Sinica, 2001, 21(4): 579—583.
- [28] Yan C L, Li R Z, Zhong Z C. Effect of simulated acid rain on ecophysiological characteristics of mung bean and maize. Chinese Journal of Applied Ecology, 1995, 6(supp.): 124—131.
- [29] Predieri S, Norman H A, Krizek D T, Pillai P, Mirecki R M and Zimmerman R H. Influence of UV-B radiation on membrane lipid composition and ethylene evolution in ‘Doynne d’hiver’ pear shoots grown in vitro under different photosynthetic photon fluxes. Environmental and Experimental Botany, 1995, 35: 151—160.
- [30] Gary D Hogan. Physiological effects of direct impact of acidic deposition on foliage, Agriculture. Ecosystems and Environment, 1992, 42: 307—319.
- [31] Long Y, Deng M L, Tan F. Study on adaptability to water stress in *Gynostemma pentaphyllum*. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science), 1999, 24(1): 81—86.
- [32] Braun J, Tevini M. Regulation of UV-protective pigment synthesis in the epidermal layer of rye seedlings. Photochemistry and Photobiology, 1993,

57:318—323.

- [33] Yan C L, Hong Y T, Fu S Z, Fang C H, Lei J X, Shen Q. Effect of Cd, Pb stress on scavenging system of activated oxygen in leaves of tobacco. *Acta Ecologica Sinica*, 1997, 17 (5): 42—47.
- [34] Wu X C, Lin W X, Huang Z L. Influence of enhanced ultraviolet-B radiation on photosynthetic physiologies and ultrastructure of leaves in two different resistivity rice cultivars. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (2): 554—564.
- [35] Li J Q. Study on Quality and Genetic Affected yield and the mechanisms of different maize varieties. *Journal of Maize Sciences*, 2007, 15(4): 13—17, 33.

参考文献:

- [1] 冯宗炜,曹法洪,周修萍. 酸沉降对生态环境的影响及其生态恢复. 北京:中国环境科学出版社, 1999. 1~104
- [8] 梁婵娟,周青,沈东兴,曾庆玲,张光生,黄晓华. UV-B 辐射与酸雨复合胁迫对油菜幼苗生长的影响. *农业环境科学学报*, 2004, 23(2): 231~234.
- [11] 刘芸,钟章成,Marinus J A WERGER,操国兴,尹克林,龙云. a-NAA 和 UV-B 辐射对栉楼幼苗光合色素及保护酶活性的影响. *生态学报*, 2003, 23(1): 8~13.
- [12] 张勇. 重庆市“十五”期间酸雨污染特征及成因分析. *西南大学学报(自然科学版)*, 2007, 29(4): 164~168.
- [13] 廖柏寒,蒋青. 我国酸雨中盐基离子的重要性. *农业环境保护*, 2001, 20(4): 254~256.
- [14] 李合生,孙群,赵世杰,章文华. 植物生理生化原理和实验技术. 北京:高等教育出版社, 2004. 260~261.
- [17] 李元,祖艳群,高召华,高光凯. UV-B 辐射对报春花的生理生化效应. *西北植物学报*, 2006, 26(1): 0179~0182.
- [22] 齐泽民,钟章成. 模拟酸雨对杜仲光合生理及生长的影响. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2006, 31(2): 151~156.
- [23] 付晓萍,田大伦,黄智勇. 模拟酸雨对植物形态学效应的影响. *浙江林学院学报*, 2006, 23(5): 521~526.
- [24] 梁婵娟,陶文沂,李操,沈东兴,曾庆玲,徐雪松,周青. UV-B 与 AR 胁迫下油菜光合及 CAT 活性的恢复过程(II). *农业环境科学学报*, 2004, 23(5): 890~894.
- [26] 周青,黄晓华,刘小林. 酸雨对 3 种木本植物的胁迫效应. *环境科学*, 2002, 23(5): 42~46.
- [27] 陈拓,安黎哲,冯虎元,杨景宏,王勋陵. UV-B 辐射对蚕豆膜脂过氧化影响及其机制. *生态学报*, 2001, 21(4): 579~583.
- [28] 严重玲,李瑞智,钟章成. 模拟酸雨对绿豆、玉米生理生态特性的影响. *应用生态学报*, 1995, 6(supp.): 124~131.
- [31] 龙云,邓美玲,谈锋. 绞股蓝对水分胁迫的适应性研究. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 1999, 24(1): 81~86.
- [33] 严重玲,洪业汤,付舜珍,方重华,雷基祥,沈芹. Cd、Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响. *生态学报*, 1997, 17(5): 42~47.
- [34] 吴杏春,林文雄,黄忠良. UV-B 辐射增强对两种不同抗性水稻叶片光合生理及超显微结构的影响. *生态学报*, 2007, 27(2): 554~564.
- [35] 李建奇. 不同玉米品种的品质、产量差异及机理研究. *玉米科学*, 2007, 15(4): 13~17, 33.