

DOI: 10.5846/stxb201504180796

回嵘, 赵锐明, 李刚, 朱瑞清, 王艳莉. UV-B 辐射及光修复对真藓生理特性和细胞超微结构的影响. 生态学报, 2016, 36(11): - .
Hui R, Zhao R M, Li G, Zhu R Q, Wang Y L. Effects of UV-B radiation and light recovery on physiological property and cell ultrastructure of *Bryum argenteum*. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(11): - .

UV-B 辐射及光修复对真藓生理特性和细胞超微结构的影响

回 嵘^{1,*}, 赵锐明², 李 刚¹, 朱瑞清¹, 王艳莉¹

1 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所, 沙坡头沙漠试验研究站, 兰州 730000

2 兰州大学, 生命科学学院, 兰州 730000

摘要:研究了 UV-B 增强及可见光修复对真藓生理特性和细胞超微结构的影响。结果表明, 增强 UV-B 会使真藓的光合色素、类黄酮含量及抗氧化酶活性下降, 丙二醛(MDA)含量升高, 细胞超微结构遭到破坏, 表现为叶绿体结构变形, 类囊体片层排列稀疏紊乱、膨胀甚至模糊不清, 嗜铁颗粒增多, 并且 UV-B 辐射强度越大, 损伤越大; 而可见光可以部分修复增强 UV-B 对真藓生理特性及细胞超微结构引起的损伤。本研究探索了真藓对 UV-B 辐射的响应及自身修复能力, 对于进一步理解真藓对 UV-B 辐射的耐受机理具有重要的理论意义。

关键词:UV-B; 真藓; 光合色素; 叶绿体超微结构; 光修复

Effects of UV-B radiation and light recovery on physiological property and cell ultrastructure of *Bryum argenteum*

HUI Rong^{1,*}, ZHAO Ruiming², LI Gang¹, ZHU Ruiqing¹, WANG Yanli¹

1 Shapotou Desert Research and Experiment Station, Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

2 School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: Over the last several decades, significant reductions in the concentrations of stratospheric ozone (O_3) have been reported. The reduced ozone concentration causes an increase in the UV-B radiation that reaches the earth's surface; this is one of the most important environment problems worldwide. Although UV-B radiation accounts for only about 1.5% of total solar radiation, it is readily absorbed by biomacromolecules, with the result that increased UV-B radiation inhibits the growth of most plants. Biological soil crusts (BSCs) are complex assemblages of minute organisms that are formed primarily by cyanobacteria, green algae, lichens, and mosses on the surface of soil. Previous studies have shown that increased UV-B radiation has detrimental effects on BSCs. However, we observed that they can recover from UV-B stress, and still flourish in desert regions. Moss crust has great ecological significance in desert areas, where it is the dominant component of BSCs, and a major pioneer species in community succession processes. In desert ecosystems, plant life is damaged as a result of adverse environmental conditions, such as strong light, extreme temperature, salinity, and water deficit. Several studies have examined the effects of environmental factors on the species composition and physiological properties of BSCs. However, fewer studies have addressed the recovery mechanisms of BSCs after they are subjected to environmental stresses. We used UV-B radiation (2.75, 3.08, 3.25 and 3.41 W/m^2) to simulate the depletion of 0% (control), 6%, 9% and

基金项目: 国家自然科学基金项目(41271061, 41371100); 中国科学院西部之光博士项目

收稿日期: 2015-04-18; 修订日期: 2015-11-30

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: huirong850623@163.com

12% of stratospheric ozone at the latitude of Shapotou region and recovery after a return to visible-light conditions ($150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and evaluated the effects of this exposure on physiological variables and cell ultrastructure in the moss *Bryum argenteum*, which we isolated from BSCs in the Tengger Desert in northern China. The results indicated that the photosynthetic pigments content, flavonoid content, and antioxidant enzyme activity in *B. argenteum* decreased, while malondialdehyde (MDA) content increased after exposure to UV-B radiation. The ultrastructure of the chloroplasts of *B. argenteum* subjected to enhanced UV-B was significantly disrupted, as follows: the chloroplast structure was distorted, the arrangement of the thylakoids in the chloroplast was disordered, expanded or even obscured, and the number of osmiophilic granules increased. The degree of damage increased with increasing UV-B radiation. However, visible light could partially repair damage induced by enhanced UV-B radiation. The aim of the present study was to discuss the responses of *B. argenteum* to UV-B radiation and its repair capabilities, and to improve the understanding of the mechanisms of the tolerance of *B. argenteum* to UV-B radiation.

Key Words: UV-B; *Bryum argenteum*; photosynthetic pigments; chloroplast ultrastructure; light recovery

作为荒漠生态系统的“生态系统工程师”,生物土壤结皮(Biological Soil Crusts, BSCs)发挥着独特而重要的生态作用^[1-2]。然而,BSCs的生态功能不是一成不变的,其重要组成成分隐花植物对生境变化表现出极大的敏感性,随着生境变化 BSCs 组成和多样性发生变化,进而波及整个荒漠生态系统的健康和稳定^[3-4]。高强度的 UV-B 是影响隐花植物生存及其结皮形成的重要环境因子^[5]。UV-B 辐射抑制了隐花植物的光生物学和光化学过程,而隐花植物则通过趋避迁移、积累吸收 UV-B 辐射的保护色素、修复紫外辐射所造成的 DNA 损伤等机制抵御紫外辐射所造成的伤害^[6]。但由于构成生物土壤结皮的隐花植物形体微小、种类鉴定困难而引起的研究技术复杂性等因素的限制,导致对最引人注目的全球现象之一——UV-B 增强对生物土壤结皮层隐花植物影响的研究仅见少量报道^[7]。仅有的研究也多集中在极地、亚极地、北美热带荒漠等地区^[7]。研究表明,结皮层不同种类隐花植物对 UV-B 的响应不同^[8]。此外,从不同生境结皮分离得到的隐花植物对 UV-B 的响应也不尽相同^[9]。因此,本研究选用腾格里沙漠东南缘的沙坡头地区常见藓类结皮——真藓为研究对象,通过对增强 UV-B 及 UV-B 胁迫解除后真藓光合色素含量、类黄酮含量、抗氧化酶活性、丙二醛(MDA)含量及细胞超微结构的跟踪测定,揭示 UV-B 胁迫解除后真藓生理特性及细胞超微结构的恢复机制。

1 研究区概况

研究区位于中国科学院沙坡头沙漠研究试验站包兰铁路以北的人工固沙植被区($37^{\circ}32'N-37^{\circ}26'N$, $105^{\circ}02'E-104^{\circ}30'E$),属于阿拉善高原荒漠与荒漠草原过渡地带,海拔为 1330 m。该地区多年平均气温 9.6°C ,年均降雨量 186.2 mm,主要集中在 5—9 月(沙坡头 1956—2010 年气象资料)。土壤基质为松散贫瘠的流沙,土壤稳定含水量为 2%—3%。人工植被区主要固沙灌木、半灌木为柠条(*Caragana korshinskii*)、花棒(*Hedysarum scoparium*)和油蒿(*Artemisia ordosica*);草本植物主要有小画眉草(*Eragrostis poaeoides*),雾冰藜(*Bassia dasyphylla*)等^[10]。始建于 20 世纪 50 年代中期的人工固沙植被体系,在经过 50 余年的演变后,区域内广泛分布着不同发育阶段的生物土壤结皮,常见的结皮类型主要有藻类、地衣及其混生结皮和藓类,其中盖度较大且发育较好的藓类结皮主要有真藓(*Bryum argenteum* Hedw.)、土生对齿藓(*Didymodon vinealis* (Brid.) Zand.)和刺叶赤藓(*Syntrichia caninervis* Mitt.)^[11]。

2 材料和方法

2.1 试验材料

采样于 2010 年 9 月中旬完成。在沙坡头人工植被区选取长势均匀、发育良好的真藓结皮。在所选区域上小心喷洒蒸馏水,使真藓结皮表面湿润,用内径约 10 cm,高约 5 cm 的 PVC 管采集真藓结皮及其下层土壤,

共 24 个样品。将采集的样品带回实验室,风干待用。

2.2 试验设计

本研究于 2011 年 8 月在中国科学院寒区旱区环境与工程研究所成立的甘肃省逆境生理与生态重点实验室内进行。UV-B 灯管由上海晨辰照明电器有限公司生产(40W, 313 nm)。UV-B 辐射采用可升降式的 UV-B 灯架,将 UV-B 灯管垂直置于真藓结皮上方,调节结皮顶端距灯管的高度设定 2.75(对照)、3.08、3.25 和 3.41 W/m² 4 个 UV-B 强度,分别相当于沙坡头地区夏天日平均 UV-B 辐射增强 0、12%、18%和 24%。UV-B 灯管外用厚度为 0.13 mm 的乙酸纤维素膜(courtauld chemicals, Derby, UK)包被,以消除 UV-C 辐射的干扰,为防止乙酸纤维素膜因光解老化,每隔 5 d 更换一次。整个实验过程中,培养室内的光合有效辐射(PAR, 400—700 nm)为 150 μmol m⁻² s⁻¹,温度保持在 25 ℃,每天给结皮补充相应的水分,以提供充足的水分。UV-B 辐射强度采用紫外辐照计(北京师范大学光电仪器厂)测量。UV-B 每天 9:00—17:00 照射 8 h,连续照射 10 d 后去除 UV-B 辐射,进行 5 d 的光恢复。以上各处理均设 3 次重复。在 UV-B 辐射处理和可见光修复完成后分别测定真藓的光合色素含量、类黄酮含量、抗氧化酶活性、MDA 含量,并对样品进行细胞超微结构的透射电镜观察。

2.3 测定指标及方法

2.3.1 光合色素的测定

叶绿素、类胡萝卜素含量的测定采用兰书斌等^[12]的分光光度法。用 UV/VIS-752N 紫外可见分光光度计(上海黄河仪器仪表厂有限公司)测量 665 nm、649 nm 和 470 nm 波长下的光吸收值,并按照公式计算叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量^[13]。

2.3.2 类黄酮的测定方法

类黄酮含量的测定采用 NaNO₂-Al(NO₃)₃ 比色法^[14]。于紫外可见分光光度计波长 510 nm 下测定光吸收值。

2.3.3 抗氧化酶活性的测定

取一定面积的真藓,称重。用 5 mL 提取液(50 mmol/L 磷酸缓冲液,pH7.8 含 1%PVP、1%PMSF、1%ASA 及 1%Triton X-100)在冰浴条件下研磨提取,15000×g 离心 20 min,上清液用于测定超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性。SOD 活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化学反应法^[15],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。用紫外可见分光光度计测定 560 nm 下的光吸收值。CAT 活性测定采用紫外吸收法^[16],以每分钟 OD₂₄₀减少 0.01 为一个酶活性单位,用紫外可见分光光度计在 240 nm 下作时间扫描。

2.3.4 MDA 含量的测定

MDA 含量测定采用三氯乙酸(TCA)-硫代巴比妥酸(TBA)显色法^[17]。用紫外可见分光光度计在 532 nm 和 600 nm 处测定光吸收值。

2.3.5 细胞超微结构观察

超薄切片制作的方法参照王钧等^[18]的方法。选取不同处理的真藓新鲜样品(每个样品从上往下取 1—2 个长约 0.5 cm 的个体),依次经过 3%戊二醛溶液固定(4℃)、磷酸缓冲液漂洗(pH 7.0)、锇酸固定(4℃)、乙醇梯度脱水、冷冻断裂法分割样品等,环氧树脂对样品进行包埋渗透。用 LKB4800 超薄切片机切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色,在 JEM-1230 透射电子显微镜下观察、照相。

2.4 统计分析

采用 SPSS 16.0(SPSS, Chicago, IL, USA) 软件进行数据处理和统计分析,并用单因素方差分析(One-way ANOVA)检验同一测定参数不同处理间差异显著性,采用 Independent Sample T-test 分析 UV-B 辐射处理与可见光处理之间的差异显著性。差异显著水平用 $P < 0.05$ 表示。统计分析前,将光合色素、类黄酮、抗氧化酶、MDA 进行对数转换,使数据服从正态分布。

3 结果

3.1 增强 UV-B 辐射及可见光修复后真藓光合色素含量的变化

从图 1 可以看出,UV-B 辐射处理后,真藓叶绿素含量和类胡萝卜素含量均表现出相似的趋势。其中 3.41 W/m² UV-B 处理下真藓 Chl a 含量、Chl b 含量、Chl a/b、类胡萝卜素含量分别降低 74.87%、60.91%、35.29%、67.05%,并且差异达显著水平(图 1, $P < 0.05$)。去除 UV-B 辐射后,在可见光下生长一段时间后发现,真藓光合色素含量有所升高。与 3.41 W/m² UV-B 辐射处理相比,去除 UV-B 辐射后,真藓 Chl a 含量、Chl b 含量、Chl a/b、类胡萝卜素含量分别升高 7.14%、2.33%、5.21%、17.45%(图 1)。T 检验结果表明,通过可见光处理,3.08 和 3.25 W/m² UV-B 辐射处理组叶绿素 a 含量,色素比和类胡萝卜素含量显著增加(图 1, $P < 0.05$)。

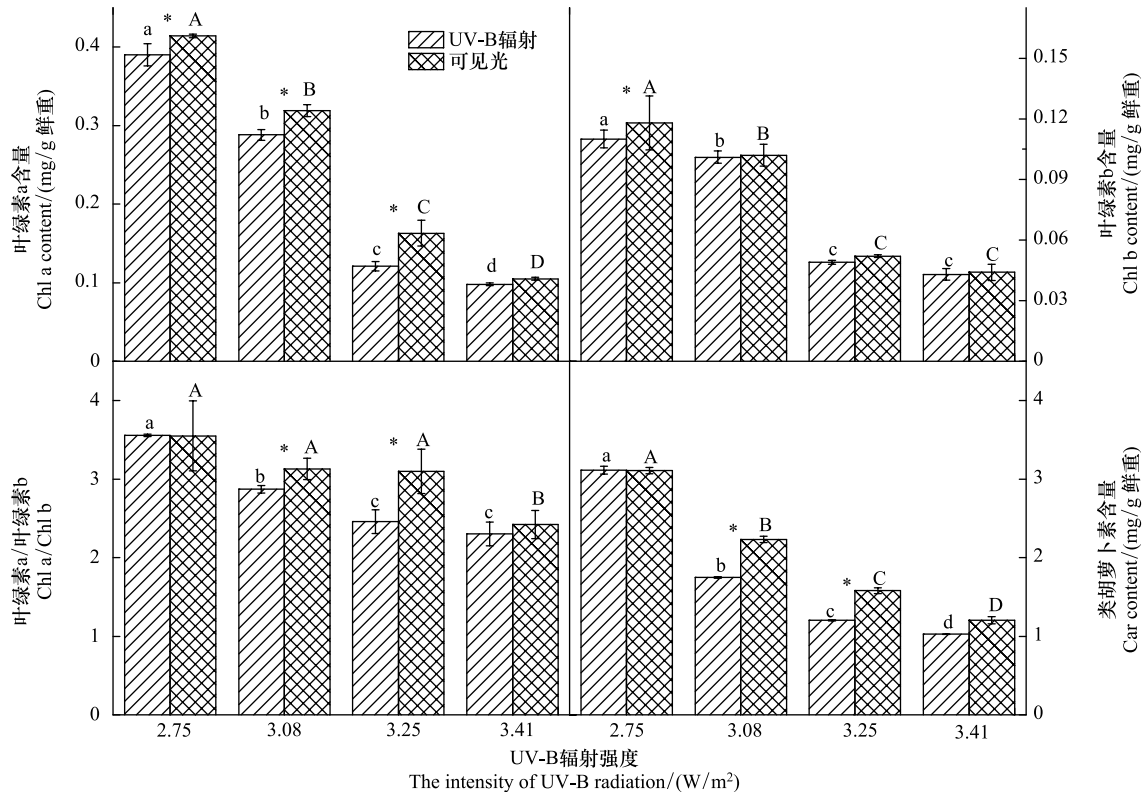


图 1 增强 UV-B 辐射及光修复对真藓光合色素含量的影响

Fig.1 Effect of enhanced UV-B radiation and light recovery on photosynthetic pigments content of *B. argenteum*

A 真藓叶绿素 a 含量 Chl a contents of *B. argenteum*; B 真藓叶绿素 b 含量 Chl b contents of *B. argenteum*; C 真藓色素比 Chl a/Chl b contents of *B. argenteum*; D 真藓类胡萝卜素含量 Car contents of *B. argenteum*; 数据为平均值±标准误差(n=3),不同大写字母表示增强 UV-B 辐射条件下藓类结皮差异显著;不同小写字母表示光修复条件下藓类结皮差异显著; * 表示 UV-B 辐射处理和光修复处理下藓类结皮的差异显著; $P < 0.05$

3.2 增强 UV-B 辐射及可见光修复后真藓类黄酮含量的变化

不同处理下真藓类黄酮含量变化如图 2 所示,从图中可以看出相比于对照组,增强 UV-B 辐射处理下的真藓类黄酮含量均显著降低,且下降幅度与辐射强度成正比(图 2, $P < 0.05$)。除 2.75 W/m² UV-B 处理后再用可见光照射,未能引起类黄酮含量升高,其余强度 UV-B 辐射后经过可见光辐照,均能提高真藓类黄酮含量,类黄酮含量分别提高 0.49%、16.62%和 7.84%,但与 UV-B 辐照处理相比无显著性差异(图 2)。

3.3 增强 UV-B 辐射及可见光修复后真藓抗氧化酶活性的变化

如图 3 所示,UV-B 辐射处理下真藓 SOD 和 CAT 活性呈降低趋势,差异显著。在 3.41 W/m² UV-B 辐射处理后 SOD 和 CAT 活性降至最低,分别低于对照组的 34.32%和 35.98%(图 3, $P < 0.05$)。然而去除 UV-B 辐照

后,培养在可见光下的真蕈 SOD 和 CAT 活性均有所升高,经 $3.41\text{W}/\text{m}^2$ UV-B 处理后,在可见光下生长的真蕈 SOD 和 CAT 活性分别升高 3.55% 和 4.43% (图 3)。T 检验结果表明,通过可见光处理, $3.08\text{W}/\text{m}^2$ UV-B 辐射处理组 SOD 和 CAT 酶活性显著增加 (图 3, $P<0.05$), 其余均无显著性差异。

3.4 增强 UV-B 辐射及可见光修复后真蕈 MDA 含量的变化

从图 4 可以看出,UV-B 增强条件下真蕈 MDA 含量显著升高 ($P<0.05$),其 MDA 含量随辐射强度的增强而逐渐升高,加重了真蕈膜脂过氧化程度。真蕈 MDA 含量分别达到 0.047 、 0.103 和 $0.122\ \mu\text{mol g}^{-1}\text{FW}$,与对照

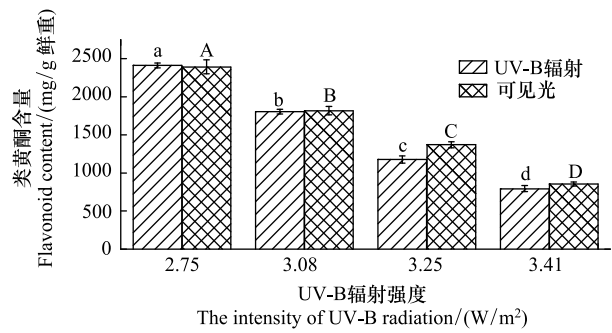


图 2 增强 UV-B 辐射及光修复对真蕈类黄酮含量的影响

Fig.2 Effect of enhanced UV-B radiation and light recovery on total flavonoid content of *B. argenteum*

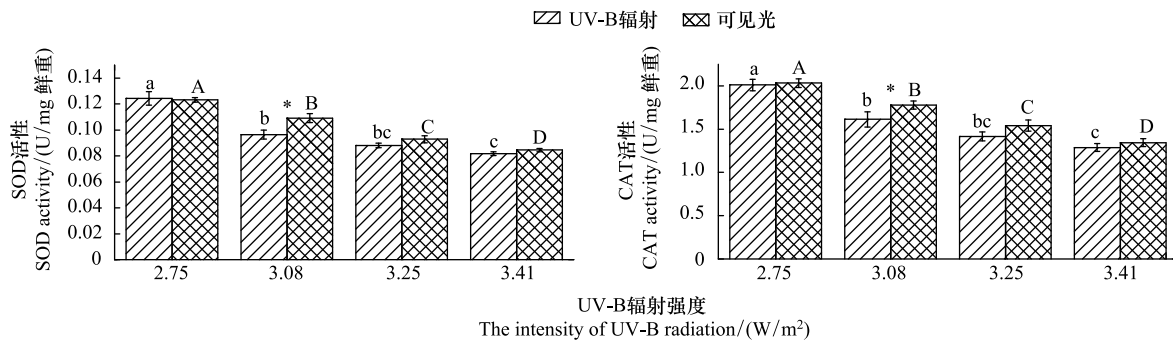


图 3 增强 UV-B 辐射及光修复对真蕈抗氧化酶活性的影响

Fig.3 Effect of enhanced UV-B radiation and light recovery on antioxidant enzyme activity of *B. argenteum*

A 真蕈 SOD 酶活性 Superoxide dismutase (SOD) activity of *B. argenteum*; B 真蕈 CAT 酶活性 Catalase (CAT) activity of *B. argenteum*

相比,显著增加 17.5%、157.5% 和 205% (图 4)。从图中也可以看出,可见光降低了 UV-B 增强下真蕈 MDA 的含量,缓解了 UV-B 带来的膜伤害,MDA 含量分别降低 6.38%、19.42% 和 4.92% (图 4)。T 检验结果表明,通过可见光处理, $3.25\text{W}/\text{m}^2$ UV-B 辐射处理组 MDA 含量显著降低 (图 4, $P<0.05$), 其余均无显著性差异。

3.5 增强 UV-B 辐射及可见光修复后真蕈细胞超微结构的变化

增强 UV-B 辐射及可见光修复后真蕈细胞超微结构的变化如图 5 所示。UV-B 辐射处理 10 d 后,对照组真蕈叶绿体呈椭圆形,形态饱满;类囊体片层结构堆叠整齐,片层结构排列紧密;细胞核膜结构清晰,核质均匀,有 1 个明显的核仁区;细胞壁厚度较为均匀,细胞膜与细胞壁紧紧黏在一起,无间隙 (图 5A)。随 UV-B 辐射强度的增加,真蕈细胞超微结构发生不同的变化,叶绿体肿胀变圆,呈球形;叶绿体膜系统受到不同程度的破坏,基质类囊体片层变得松散,类囊体膜也受到不同程度的破坏;细胞膜与细胞壁交界的地方变得模糊不清,细胞壁内侧变得凹凸不平;细胞器溶解,细胞内出现大量淀粉粒 (图 5C, 5E, 5G)。尤其在 $3.41\text{W}/\text{m}^2$ UV-B 辐射强度下,真蕈细胞受损严重,细胞结构仅剩残留细胞壁、淀粉粒等。去除 $3.08\text{W}/\text{m}^2$ UV-B 辐射后,培养

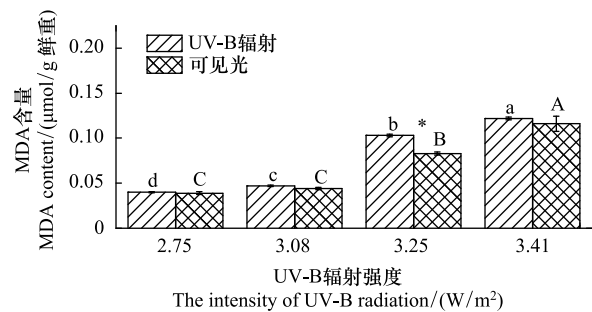


图 4 增强 UV-B 辐射及光修复对真蕈 MDA 含量的影响

Fig.4 Effect of enhanced UV-B radiation and light recovery on MDA contents of *B. argenteum*

在可见光下的真藓细胞超微结构能够恢复正常状态,但也有部分类囊体仍然肿胀,排列不整齐、不紧致(图 5D);受 3.25 和 3.41 W/m^2 UV-B 辐射处理的真藓光修复后叶绿体膨胀、片层结构凌乱(图 5F, 5H)。

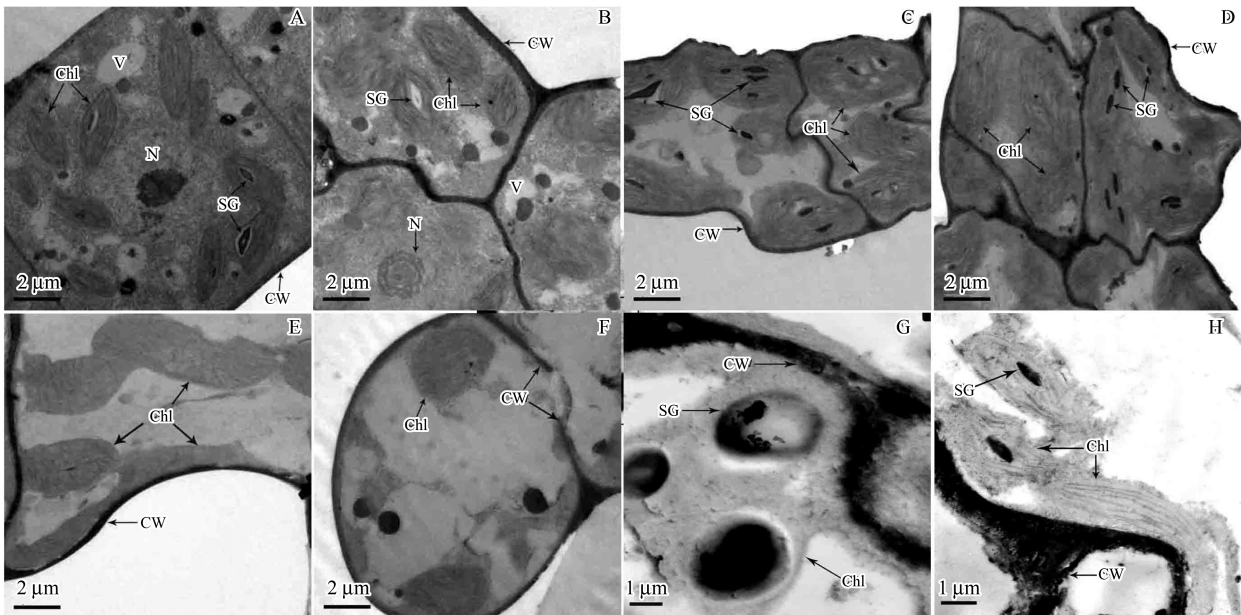


图 5 增强 UV-B 辐射及光修复对真藓细胞超微结构的影响

Fig.5 Effect of enhanced UV-B radiation and light recovery on cell ultrastructure of *B. argenteum*

A 2.75 W/m^2 UV-B 辐射处理下细胞超微结构; B 2.75 W/m^2 UV-B 辐射处理后可见光修复下细胞超微结构; C 3.08 W/m^2 UV-B 辐射处理下细胞超微结构; D 3.08 W/m^2 UV-B 辐射处理后可见光修复下细胞超微结构; E 3.25 W/m^2 UV-B 辐射处理下细胞超微结构; F 3.25 W/m^2 UV-B 辐射处理后可见光修复下细胞超微结构; G 3.41 W/m^2 UV-B 辐射处理下细胞超微结构; H 3.41 W/m^2 UV-B 辐射处理后可见光修复下细胞超微结构; Chl: 叶绿体 chloroplast; CW: 细胞壁 cell wall; N: 细胞核 nucleus; O: 嗜银颗粒 osmiophilic granule; SG: 淀粉粒 starch grain; T: 类囊体 thylakoid; V: 囊泡 vesicle

增强 UV-B 辐射及可见光修复对真藓叶绿体超微结构的影响如图 6 所示。UV-B 辐射处理下,真藓叶绿体超微结构发生了较为明显的变化。在对照处理下,细胞内叶绿体的形状表现为形态饱满、结构完整的长椭圆形;基粒片层整齐有序平行排列,同时类囊体片层垛叠整齐;嗜银颗粒较少;整个叶绿体膜系统结构完整,双层膜结构清晰(图 6A)。在增强 UV-B 辐射处理下,叶绿体明显肿胀变大,呈近球形;叶绿体类囊体片层结构松散,部分类囊体结构模糊,类囊体膜结构受到一定程度的破坏;嗜银颗粒增多(图 6C, 6E, 6G)。在 3.41 W/m^2 UV-B 辐射处理下,叶绿体膜系统结构降解;类囊体膜系统降解,基粒片层变得模糊不清,只剩下边缘极度糊化的淀粉粒(图 6G)。去除 3.08 W/m^2 UV-B 在可见光下培养,真藓叶绿体有一个修复过程,叶绿体外形恢复到近椭圆形,基粒片层恢复清晰,排列有序(图 6D)。然而,受 3.25 和 3.41 W/m^2 处理的真藓在可见光下生长,其叶绿体超微结构受损严重,不能恢复至对照。

4 讨论

光合色素含量是影响光合作用的重要因素,是评价光合作用强度的指标之一。作为判断活力与胁迫状况的指标,光合色素在藓类植物研究中得到广泛应用^[19-20]。光合色素含量的变化,既可反映植物光合作用功能的强弱,也可表征逆境胁迫下植物组织、器官的衰老状况^[21]。本实验中,UV-B 辐射导致真藓结皮光合色素降低,其中叶绿素 a 含量下降剧烈(图 1)。相似的研究结果表明 UV-B 辐射胁迫下,锈色泥炭藓和大金发藓叶绿素 a 和类胡萝卜素浓度降低^[8]。UV-B 辐射造成叶绿素含量降低的原因可能是 UV-B 导致叶绿素结构破坏,引起叶绿素分解^[22]。类胡萝卜素不仅是重要的光合辅助色素,而且对叶绿素具有重要的保护作用,在抗 UV-B 辐射中可能起到重要的作用^[23]。随 UV-B 辐射强度的增强,真藓类胡萝卜素含量逐渐降低。当去除 UV-B

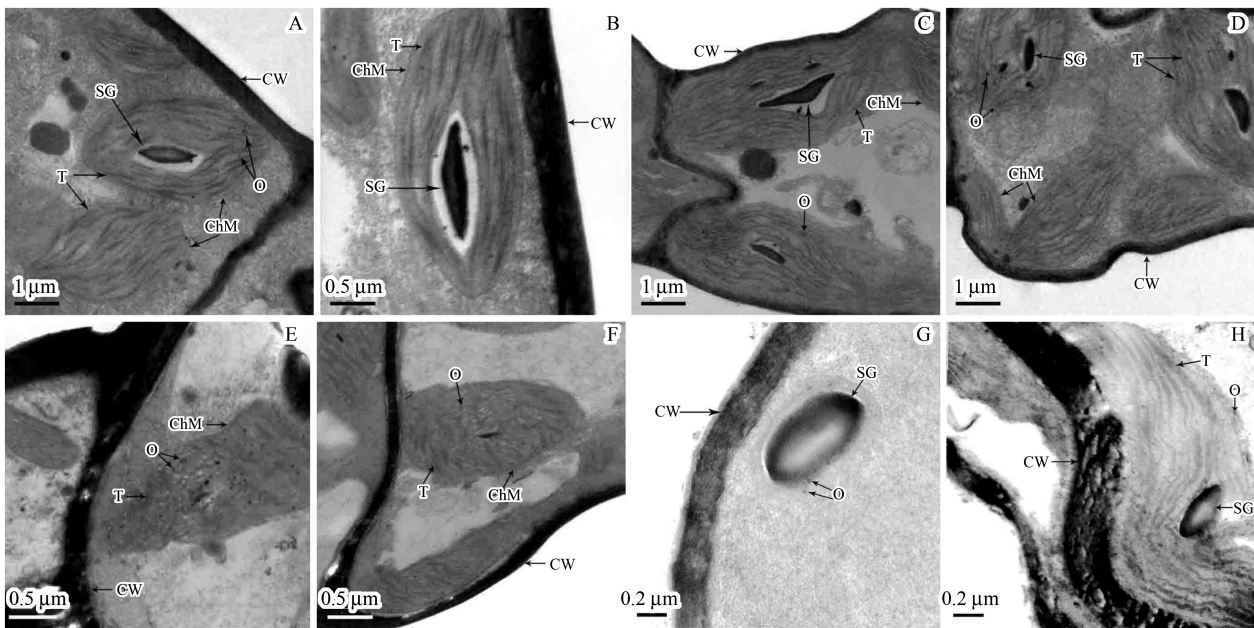


图 6 增强 UV-B 辐射及光修复对真蕨叶绿体超微结构的影响

Fig.6 Effect of enhanced UV-B radiation and light recovery on chloroplast ultrastructure of *B. argenteum*

A 2.75 W/m² UV-B 辐射处理下叶绿体超微结构; B 2.75 W/m² UV-B 辐射处理后可见光修复下叶绿体超微结构; C 3.08 W/m² UV-B 辐射处理下叶绿体超微结构; D 3.08 W/m² UV-B 辐射处理后可见光修复下叶绿体超微结构; E 3.25 W/m² UV-B 辐射处理下叶绿体超微结构; F 3.25 W/m² UV-B 辐射处理后可见光修复下叶绿体超微结构; G 3.41 W/m² UV-B 辐射处理下叶绿体超微结构; H 3.41 W/m² UV-B 辐射处理后可见光修复下叶绿体超微结构; ChM: 叶绿体膜 chloroplast membrane; CW: 细胞壁 cell wall; O: 嗜铁颗粒 osmiophilic granule; SG: 淀粉粒 starch grain; T: 类囊体 thylakoid

辐射,培养在可见光下的真蕨结皮叶绿素和类胡萝卜素含量呈现逐渐上升的趋势(图 1),说明真蕨光合色素在去除 UV-B 辐射后有修复能力。

类黄酮积累是植物对 UV-B 辐射的适应和保护,即形成天然屏障,吸收和阻挡 UV-B 辐射^[24]。大量的研究表明,适量增强的 UV-B 辐射能激发类黄酮物质的积累^[25]。而本研究结果表明增强 UV-B 辐射导致真蕨类黄酮含量持续降低,与对照相比差异显著(图 2),这可能是由于 UV-B 辐射剂量较大或时间较长,真蕨类黄酮合成困难,失去对植物的保护作用。Hui 等^[26]的研究表明,随着 UV-B 辐射的增强土生对齿蕨类黄酮含量呈先增加后降低的趋势。董新纯等^[27]则发现增强 UV-B 辐射诱导苦荞类黄酮含量升高,但随着 UV-B 辐射剂量增大或时间延长,类黄酮含量反而降低。我们发现当去除 UV-B 辐射后,真蕨类黄酮含量呈现增加趋势(图 2)。由于类黄酮是一种自由基清除剂类物质,能够消除 UV-B 辐射产生的自由基,对植物抵御 UV-B 辐射的伤害有利^[28],故以此可说明可见光条件对 UV-B 辐射处理后的真蕨具有修复作用。

抗氧化酶系统作为植物体内重要的活性氧自由基消除系统,在植物抵抗氧化胁迫中起重要作用^[29]。但该抵抗能力是在一定范围内的,当环境胁迫达到一定程度后,抗氧化酶系统失去保护能力。在本研究中,增强 UV-B 对真蕨 SOD 和 CAT 活性呈现降低趋势(图 3),这可能是由于真蕨接受 UV-B 辐射强度过强或时间过长,真蕨已经损伤严重,失去自身调节能力,使其不能修复生理代谢^[30]。Wang 等^[31]对 UV-B 增强条件下玉米 (*Zea mays* L.) 花粉 SOD 和 CAT 活性的研究证实了我们的结论。当将受 UV-B 辐射处理的真蕨处于可见光下,细胞抗氧化酶活性得以增强(图 3),用以消除过量的活性氧自由基,使 UV-B 胁迫带来的氧化伤害保持在较低的水平^[32]。

MDA 含量的高低表示细胞膜的过氧化程度,是评价胁迫程度的生理指标之一^[33]。本试验结果表明,增强 UV-B 使真蕨 MDA 含量显著上升,且随着辐射强度的增加而逐渐升高(图 4),即真蕨膜脂过氧化程度加深,通透性增加,细胞受到了较大程度的伤害。这与郝文芳等^[34]对胡枝子的研究结果一致。去除 UV-B 辐射

后,真藓 MDA 含量呈降低趋势,而在 3.41 W/m^2 UV-B 辐射处理时,MDA 含量降低幅度减小(图 4),说明高强度 UV-B 辐射处理后,真藓损伤严重,MDA 修复能力降低。MDA 含量变化与叶绿素含量变化呈负相关,这与蒋明义等^[35]提出的叶绿素漂白与 MDA 产生同时发生的观点一致,说明植物叶绿素的降解与膜脂过氧化的增强密切相关。

完整的细胞结构是植物体完成各项生命活动的基础。大量研究表明,叶绿体是重要的光合器官,也是最易受到 UV-B 辐射损伤的亚细胞结构^[36]。本研究发现,UV-B 辐射对真藓结皮细胞超微结构造成了一定程度的破坏,表现为叶绿体肿胀变圆,细胞器溶解消失,膜系统降解等(图 5, 6)。表明在 UV-B 辐射胁迫下,真藓叶绿体超微结构受到一定程度的损伤。俞泓伶^[37]采用透射电镜技术研究了海洋微藻——小球藻叶绿体超微结构对 UV-B 辐射的响应变化,结果表明 UV-B 辐射处理导致小球藻叶绿体呈球形皱缩,基粒片层稀疏,类囊体膜系统排列不清,膜系统溃解。Buchanan 等^[38]的研究表明,在增强 UV-B 辐射处理下,叶绿体膜结构的损伤导致叶绿体蛋白的稳定性降低,加速叶绿素的降解,从而引起叶绿体结构的损伤,这与我们对真藓光合色素的测定结果一致。去除 UV-B 辐射后,培养在可见光下的真藓细胞超微结构部分能够恢复正常状态(图 5, 6),有利于提高真藓光合作用能力。

我们的研究表明可见光可以部分修复增强 UV-B 对真藓生理特性及细胞超微结构引起的损伤。可见光对真藓 UV-B 损伤修复机制可能与 DNA 损伤修复机制有关。UV-B 辐射在 DNA 中形成损伤产物嘧啶二聚体(CPDs)的积累,而 CPDs 的积累导致 DNA 损伤增加^[39],从而影响植物的生理生化特性。对于三洋藓(*Warnstorfia sarmentosa*)、针叶离齿藓(*Chorisodontium aciphyllum*)等的研究表明在 UV-B 辐射条件下,CPDs 的积累没有明显增加,DNA 没有明显的损伤,说明这些藓类植物对紫外辐射有较强的抗性^[40-41]。关于 UV-B 增强和可见光对真藓 DNA 分子机制的影响及修复机理还有待进一步深入研究。

5 结论

综上所述,增强 UV-B 辐射对真藓光合色素、类黄酮含量、抗氧化酶活性、MDA 含量及细胞超微结构均造成不同程度的伤害。其伤害程度随 UV-B 辐射强度的增加而增大。当去除 UV-B 辐射后,培养在可见光下的真藓生理特性及细胞超微结构均有所恢复,说明可见光可修复 UV-B 增强对真藓的损伤。这对我们进一步理解真藓对 UV-B 辐射的耐受机理具有重要理论意义。

参考文献(References):

- [1] 李新荣, 张元明, 赵允格. 生物土壤结皮研究: 进展、前沿与展望. 地球科学进展, 2009, 24(1): 11-24.
- [2] 张元明, 王雪芹. 荒漠地表生物土壤结皮形成与演替特征概述. 生态学报, 2010, 30(16): 4484-4492.
- [3] Eldridge D J, Leys J F. Exploring some relationships between biological soil crusts, soil aggregation and wind erosion. Journal of Arid Environments, 2003, 53(4): 457-466.
- [4] Li X R, Zhou H Y, Wang X P, Zhu Y G, O'Conner P J. The effects of sand stabilization and revegetation on cryptogam species diversity and soil fertility in Tengger Desert, Northern China. Plant and Soil, 2003, 251(2): 237-245.
- [5] 饶本和, 吴沛沛, Dauta A, 李敦海, 刘永定. 温室条件下 UV-B 辐射对蓝藻结皮生长和超微结构的影响. 环境科学学报, 2011, 31(3): 649-657.
- [6] 回嵘, 李新荣, 贾荣亮, 赵昕, 刘立超. 隐花植物对 UV-B 辐射响应和适应机制的研究进展. 干旱区地理, 2012, 35(4): 623-630.
- [7] Belnap J, Phillips S L, Smith S D. Dynamics of cover, UV-protective pigments, and quantum yield in biological soil crust communities of an undisturbed Mojave Desert shrubland. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 2007, 202(8): 674-686.
- [8] Gehrke C. Impacts of enhanced ultraviolet-b radiation on mosses in a subarctic heath ecosystem. Ecology, 1999, 80(6): 1844-1851.
- [9] Kitzing C, Pröschold T, Karsten U. UV-induced effects on growth, photosynthetic performance and sunscreen contents in different populations of the green alga *Klebsormidium fluitans* (Streptophyta) from Alpine soil crusts. Microbial Ecology, 2014, 67(2): 327-340.
- [10] Li X R, He M Z, Zerbe S, Li X J, Liu L C. Micro-geomorphology determines community structure of biological soil crusts at small scales. Earth Surface Processes and Landforms, 2010, 35(8): 932-940.
- [11] 贾荣亮, 李新荣, 谭会娟, 贺郝钰, 苏洁琼, 刘扬. 沙埋干扰去除后生物土壤结皮光合生理恢复机制. 中国沙漠, 2010, 30(6):

- 1299-1304.
- [12] 兰书斌, 刘永定, 胡春香. 不同有机溶剂萃取生物结皮中叶绿素 a 效率的比较研究. 中国沙漠, 2009, 29(3): 524-528.
- [13] Huang J F, Blackburn G A. Optimizing predictive models for leaf chlorophyll concentration based on continuous wavelet analysis of hyperspectral data. International Journal of Remote Sensing, 2011, 32(24): 9375-9396.
- [14] Atanassova M, Georgieva S, Ivancheva K. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 2011, 46(1): 81-88.
- [15] 晏斌, 戴秋杰. 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, 1996, 22(4): 373-378.
- [16] Maehly A C, Chance B. The assay of catalases and peroxidases. Methods of Biochemical Analysis, 1954, 1: 357-424.
- [17] Cornelissen G, Gustafsson Ö, Bucheli T D, Jonker M T O, Koelmans A A, Van Noort P C M. Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerogen in sediments and soils; Mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation. Environmental Science & Technology, 2005, 39(18): 6881-6895.
- [18] 王钧, 邬卉, 薛生国, 吴雪娥, 刘平. 锰胁迫对杠板归细胞超微结构的影响. 生态学报, 2014, 34(4): 798-806.
- [19] 龚双姣, 马陶武, 李菁, 刘应迪. 镉胁迫下三种藓类植物的细胞伤害及光合色素含量的变化. 应用生态学报, 2010, 21(10): 2671-2676.
- [20] 张静, 张元明. 模拟降雨对齿肋赤藓 (*Syntrichia canineris*) 生理特性的影响. 中国沙漠, 2014, 34(2): 433-440.
- [21] 魏海英, 方炎明, 尹增芳. 铅和镉污染对大羽藓生理特性的影响. 应用生态学报, 2005, 16(5): 982-984.
- [22] 方兴, 钟章成. 增强 UV-B 辐射和氮对谷子叶光合色素及非酶促保护物质的影响. 生态学报, 2012, 32(23): 7411-7420.
- [23] 屠燕萍, 俞泓伶, 谢志浩. 三角褐指藻和小角毛藻对 UV-B 辐射增强的生理生化响应. 生态科学, 2013, 32(4): 474-479.
- [24] 方兴, 钟章成, 闫明, 宋会兴, 胡世俊. 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. 生态学报, 2008, 28(1): 284-291.
- [25] Yao X, Chu J, He X, Ba C. Protective role of selenium in wheat seedlings subjected to enhanced UV-B radiation. Russian Journal of Plant Physiology, 2011, 58(2): 283-289.
- [26] Hui R, Li X R, Jia R L, Liu L C, Zhao R M, Zhao X, Wei Y P. Photosynthesis of two moss crusts from the Tengger Desert with contrasting sensitivity to supplementary UV-B radiation. Photosynthetica, 2014, 52(1): 36-49.
- [27] 董新纯, 赵世杰, 郭姗姗, 孟庆伟. 增强 UV-B 条件下类黄酮与苦芥逆境伤害和抗氧化酶的关系. 山东农业大学学报, 2006, 37(2): 157-162.
- [28] Ávila V, Bertolotti S G, Criado S, Pappano N, Debattista N, García N A. Antioxidant properties of natural flavonoids: quenching and generation of singlet molecular oxygen. International Journal of Foods Science and Technology, 2001, 36(1): 25-33.
- [29] 刘文, 巩健, 张承仁, 赵风云. 紫外和干旱胁迫对转基因水稻生理和抗氧化酶的影响. 种子, 2011, 30(9): 14-17.
- [30] 韩雯, 韩榕. 不同时间的 UV-B 辐射对拟南芥幼苗生长的影响. 植物学报, 2015, 50(1): 40-46.
- [31] Wang S W, Xie B T, Yin L N, Duan L S, Li Z H, Eneji A E, Tsuji W, Tsunekawa A. Increased UV-B radiation affects the viability, reactive oxygen species accumulation and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) pollen. Photochemistry and Photobiology, 2010, 86(1): 110-116.
- [32] 饶本强, 李华, 吴沛沛, 李敦海, 刘永定. 干燥-再吸水条件下爪哇伪枝藻生理特性和超微结构特征. 西北植物学报, 2011, 31(6): 1164-1173.
- [33] 李琳, 薛林贵, 张红光, 赵燕, 王鑫. 外源过氧化氢对 UV-B 胁迫下蓝藻生理的影响. 生态科学, 2014, 33(4): 691-697.
- [34] 郝文芳, 赵洁, 蔡彩虹, 孙娇, 王龙飞, 杨东风. 3 种胡枝子抗氧化酶和渗透调节物质对干旱和增强 UV-B 辐射的动态响应. 环境科学学报, 2013, 33(8): 2349-2358.
- [35] 蒋明义, 杨文英, 徐江, 陈巧云. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用. 植物学报, 1994, 36(4): 289-295.
- [36] Allen J F, De Paula W B M, Puthiyaveetil S, Nield J. A structural phylogenetic map for chloroplast photosynthesis. Trends in Plant Science, 2011, 16(12): 645-655.
- [37] 俞泓伶. UV-B 辐射增强对海洋微藻生长、生理生化特征和超微结构的影响[D]. 宁波: 宁波大学, 2012.
- [38] Buchanan B B, Gruissem W, Jones R L. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. New York: Wiley, 2000: 1158-1203.
- [39] Lud D, Moerdijk T C W, Van De Poll W H, Buma A G J, Huiskes A H L. DNA damage and photosynthesis in Antarctic and Arctic *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske under ambient and enhanced levels of UV-B radiation. Plant, Cell and Environment, 2002, 25(12): 1579-1589.
- [40] Boelen P, De Boer M K, De Bakker N V J, Rozema J. Outdoor studies on the effects of solar UV-B on bryophytes: overview and methodology. Plant Ecology, 2006, 182(1): 137-152.
- [41] Lud D, Schlensog M, Schroeter B, Huiskes A H L. The influence of UV-B radiation on light-dependent photosynthetic performance in *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske in Antarctica. Polar Biology, 2003, 26(4): 225-232.