

紫外线对杉木体胚再生植株的影响

吴 华¹, 闫 姗¹, 陈金慧¹, 郑仁华², 施季森¹, 成铁龙^{1*}

(1. 南京林业大学林学院 林木遗传与生物技术省部共建教育部重点实验室, 江苏 南京 210037; 2. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037; 3. 福建省林业科学研究院 国家林业局南方山地用材林培育重点实验室, 福建 福州 353002)

摘要:为了解紫外线辐射时间对杉木生长的影响,本研究以杉木优良杂交组合的体胚再生植株为材料,用紫外灯模拟自然界 UV-B 辐射对其进行处理,研究 0、1、3、5、7、9 天紫外胁迫下杉木的光合作用效率及生理状态的变化。结果表明:随着紫外线辐射时间的延长,杉木体胚再生植株叶片的叶绿素含量明显降低、叶绿素荧光参数(Fv/Fm、Y II、qP、qN)数值均降低,MDA 含量先降低后增加,POD 活性提高、可溶性蛋白含量明显增加;紫外线辐射 3 天叶片杉木体胚再生植株叶片尖端开始变黄,5—7 天黄化现象加剧,9 天叶片完全失水,干枯死亡,说明长时间紫外辐射会阻碍杉木体胚再生植株的生长发育。

关键词:杉木;紫外线;生理指标;叶绿素荧光参数

中图分类号:S791.27

文献标识码:A

Effect of Ultraviolet Radiation on *Cunninghamia lanceolata* Somatic Embryogenesis Plantlets

WU Hua¹, YAN Shan¹, CHEN Jin-hui¹, ZHENG Ren-hua², SHI Ji-sen¹, CHENG Tie-long¹

(1. College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China; 2. Collaborative Innovation Center of Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 2100037, Jiangsu, China;

3. Fujian Academy of Forestry Sciences, Fuzhou 353002, Fujian, China)

Abstract: To study the effect of ultraviolet radiation on Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook), the somatic embryogenic plants (emblings) regenerated from Chinese fir were used as testing materials. The emblings were treated by different exposure days under ultraviolet light. The results showed that with the prolonging of exposure time under ultraviolet light, the chlorophyll concentration and chlorophyll fluorescence parameters decreased, while the MDA content increased with the activity of POD and soluble protein. It was revealed that the UV radiation could cause a large amount of MDA in leaf which may damage the cell membranes and further decrease the efficiency of photosynthesis of Chinese fir. Stresses may triggered the emblings responding pathway to protect damages by UV radiation through activating POD competence and soluble protein, but failed to save the plants under sever damages in the investigation, POD may excited the activity soluble protein to protect emblings avoiding from damage caused by ultraviolet radiation, but could not being effectively alleviate.

Key words: *Cunninghamia lanceolata*; UV; physiological indicators; chlorophyll fluorescence parameters

收稿日期: 2015-03-07

基金项目: 江苏省高校自然科学基金项目(No. 13KJA220001); 教育部新世纪优秀人才支持计划; 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD); 南京林业大学南方现代林业协同创新中心计划。

作者简介: 吴 华(1989—),女,河南开封人,在读硕士生,研究方向为林木遗传育种。

* 通讯作者: 高级工程师, E-mail: ctielong@126.com.

现代工业的高速发展带来的环境问题不仅影响人类的健康,还影响着植物的正常生长发育,比如氟氯烃等有害气体严重破坏臭氧层,使达到地球表面的太阳紫外辐射增强,从而导致植物光合作用降低,农作物产量降低、植株矮小等^[1-4]。在长期的进化过程中,植物体形成了自身的防御能力,并通过一系列生理生化反应抵抗紫外胁迫,从而保障植物细胞内各种生命代谢活动的正常进行^[5-7]。

杉木为中国长江流域、秦岭以南地区栽培最广、生长快、经济价值高的用材树种,在其生长过程中常受到各种逆境环境的胁迫。熊日荣等^[8]研究发现杉木不同无性系间抵抗逆境胁迫的能力有所差异,曲奕等^[9]利用杉木体胚苗进行了低温胁迫处理,发现杉木体胚再生植株一定程度上可以抵御低温胁迫。而关于紫外胁迫对杉木生长和发育的影响还没有进行过系统的研究。陈金慧等^[10]建立了杉木优良杂交组合的体胚发生体系,可获得具有相同基因型的植株,避免了可能由于基因型不同所引起的实验误差。本试验以同一基因型的杉木体胚再生植株为材料,用紫外灯对杉木体胚再生植株进行不同时间的照射处理,分别测定了胁迫处理条件下杉木叶片叶绿素荧光参数(F_v/F_m , Y_{II} , qP , qN)、MDA 含量、叶绿素含量、POD 活性、可溶性蛋白含量,探讨杉木体胚再生植株在紫外线胁迫下的生理变化及杉木幼苗能承受的紫外辐射的能力,为杉木体胚再生植株在紫外胁迫下的逆境响应机制提供理论依据,对杉木幼苗培育条件提供指导。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

选取株高4~5 cm、叶片长1~2 cm,株高叶片大小一致的杉木体胚再生植株,随机分成A、B两组,每组6株,3组重复。A组:对照组(自然光照射);B组:试验组(自然光+紫外光照射),随机放置。将UV-B灯管(30 W,上海高硼紫外灯管)(280~320 nm),置于植株上方,用紫外辐射强度测试仪(北京师范大学光电仪器厂)测定紫外线辐射强度为 $18 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 。紫外辐射处理时间为每天10 h (8:00—18:00)。分别在第0、1、3、5、7、9天对A、B两组样品进行表型记录,并取相同部位的叶片进行生理指标的测定。

1.2 试验方法

1.2.1 光合效率测定 使用Dual-PAM-100叶绿素

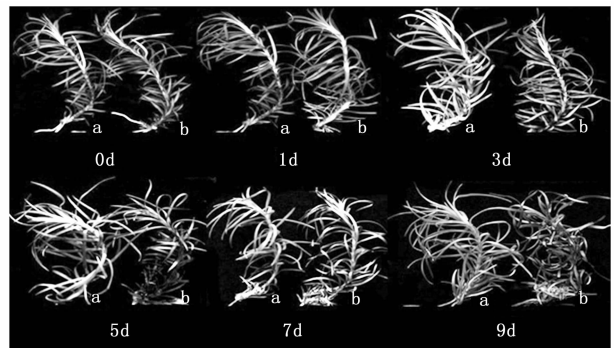
荧光仪进行活体叶绿素荧光的测定。测定前,叶片于暗中适应30 min,先照射测量光($24 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)测初始荧光 F_0 ,再照射饱和脉冲($20\,000 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)测最大荧光 F_m ,打开持续5 min的光化光($209 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)诱导荧光动力学,并每隔20 s打开饱和脉冲测量光适应下的最大荧光(F_m')。光系统II的最大光合效率(F_v/F_m)、光系统II的实际光合效率(Y_{II})、光化学猝灭系数(qP)、非光化学猝灭系数(qN)由仪器自动给出。

1.2.2 生理指标测定 本研究测定了丙二醛、叶绿素含量、可溶性蛋白含量、过氧化物酶活性等生理指标,其中,用硫代巴比妥酸比色法进行丙二醛(MDA)含量的测定^[11];用改良的Arnon法进行叶绿素含量测定^[12];用考马斯亮蓝比色法进行可溶性蛋白含量测定^[13];用愈创木酚法进行过氧化物酶(POD)活性的测定^[14],将每分钟OD值增加1时为1个过氧化物酶活力单位(U),酶活性以“ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ”表示。

2 结果分析

2.1 紫外辐射对杉木植株表型的影响

不同时间的紫外辐射明显影响了杉木体胚再生植株的表型(图1)。在紫外辐射的第一天,植株表型没有明显的变化,在第三天时试验组针叶的尖端开始变黄,叶片颜色轻微地变黄,5—7天试验组黄化现象加剧,9天时试验组杉木植株的针叶已经完全失水变黄,叶片枯萎。



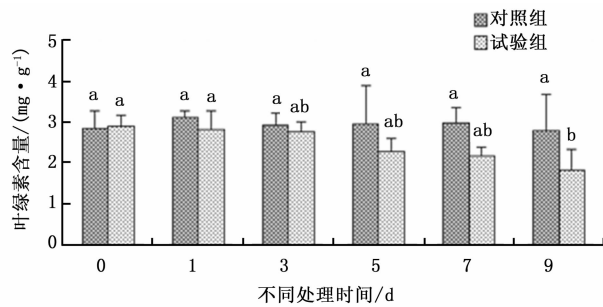
注:a-对照组,b-试验组

图1 第0、1、3、5、7、9 d的杉木体胚再生植株表型

2.2 紫外辐射对杉木植株叶片叶绿素含量的影响

从图2可以看出,紫外辐射降低了杉木的叶绿素含量($P < 0.05$)。在紫外辐射的第一天,试验组植株的叶绿素含量与对照组相比变化不明显,从3 d后叶绿素含量明显地逐步降低,5 d,7 d,9 d时与对

照相比叶绿素含量分别降低了 12.23% ,22.65% ,23.47% ,30.47% 。说明杉木植株叶片的黄化可能是由于紫外辐射降低了植株的叶绿素含量。



注:不同字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。

图 2 紫外辐射下杉木叶绿素含量的变化

2.3 杉木植株叶绿素荧光参数的变化

从图 3 可以看出,随着紫外胁迫时间的延长, Fv/Fm 和 qP 均下降,前 3 d 下降速率缓慢,3 d 后 Fv/Fm 和 qP 下降速率加剧,至 9 d 时试验组的 Fv/Fm 与对照组相比降低了 58.16% ,qP 较对照组降低了 43.69% ;Y II 与对照相比在前 3 d 呈上升趋势,其中 1 d、3 d 时分别上升了 27.28%、14.34%。随后 Y II 下降,5 d、7 d、9 d 分别降低了 7.78%、15.20%、47.11% ;qN 较对照组呈持续下降趋势,且下降速率较快,至 9 d 时试验组比对照组下降了 43.70%。

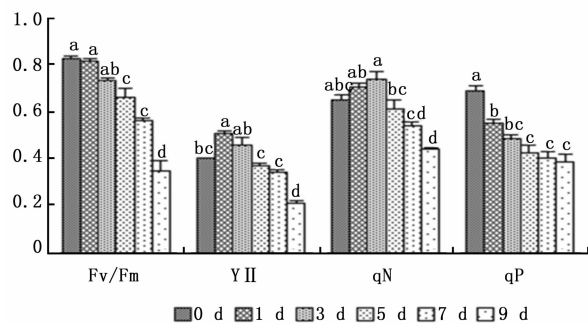


图 3 紫外辐射下杉木叶绿素荧光参数的变化

2.4 MDA 含量的变化

紫外辐射对试验组 MDA 含量影响的整体趋势是先下降后上升(图 4),前 3 d 下降,3 d 时降至最低,比对照组降低了 27.34% ,说明杉木幼苗对紫外线胁迫产生了抵抗作用。3 d 后 MDA 含量开始上升,5 d 时试验组的 MDA 含量比对照组低 7.22% ,7 d 时试验组 MDA 含量比对照组增加了 13.99% ,9 d 时比对照组增加了 23.32%。

2.5 POD 活性的变化

紫外线照射处理使杉木幼苗的 POD 活性明显增加($P < 0.05$)(图 5),1 d 时试验组 POD 活性增加

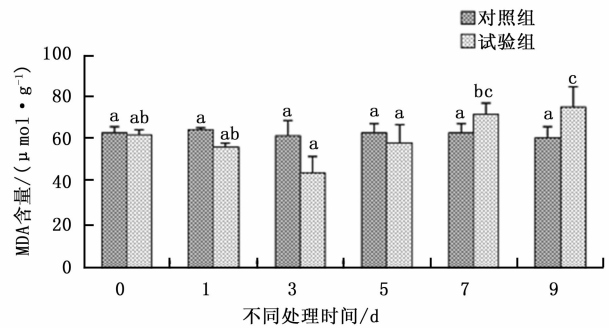


图 4 紫外辐射下杉木 MDA 含量的变化

缓慢,与对照组相比增加了 3.02 $g^{-1} \cdot min^{-1}$,3 d、5 d、7 d、9 d 时增加幅度变大,与对照组相比分别增加了 34.31 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 、36.41 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 、59.58 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 、72.24 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 。

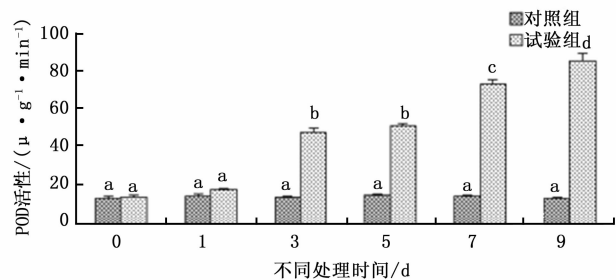


图 5 紫外辐射下杉木 POD 活性的变化

2.6 可溶性蛋白含量的变化

从图 6 可知,紫外胁迫处理使杉木幼苗叶片中可溶性蛋白含量明显增加($P < 0.05$),且随着处理天数的增加而增加,紫外处理 9 d 后叶片可溶性蛋白质含量最高,比对照组增加了 2.975 $mg \cdot g^{-1}$ 。

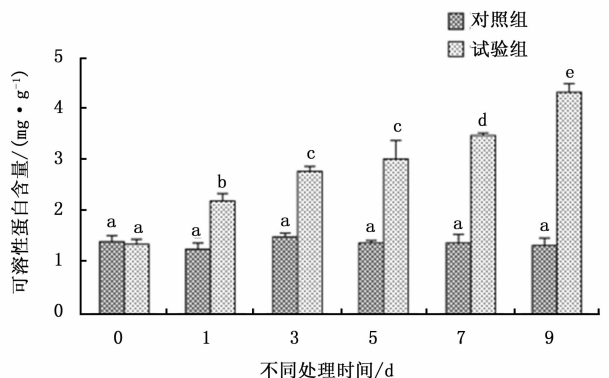


图 6 紫外辐射下杉木可溶性蛋白含量的变化

3 讨论与结论

3.1 紫外胁迫对杉木体胚幼苗的光合效率的影响

叶绿素作为植物叶片内重要的光合色素,其含量受紫外辐射后逐步降低,可能是紫外辐射破坏了

叶绿体类囊体膜^[15-16]。经紫外辐射后,杉木叶片叶绿素含量逐渐降低,最终导致杉木叶片变黄(图 1, 4),影响叶片光合速率,阻碍杉木生长。聂磊^[17]的研究也发现紫外辐射会使柚树的叶绿素含量下降。

光系统 II 的最大光合效率 F_v/F_m 反映了植物潜在最大光能转换效率,当 F_v/F_m 下降时,代表植物受到了胁迫。因此, F_v/F_m 是研究光抑制或各种环境胁迫对光合作用影响的重要指标^[18-19]。从上述研究结果可以看出,紫外辐射使杉木幼苗 F_v/F_m 下降,说明杉木受紫外线胁迫后光合作用受到了严重影响(图 2)。

光系统 II 的实际光合效率($Y(II)$)反映了植物光合机构的实际光能转换效率^[20]。紫外线胁迫引起了杉木叶片 $Y(II)$ 先上升后下降,表明短期胁迫对 $Y(II)$ 有促进作用,但胁迫时间延长将促使 $Y(II)$ 降低,即杉木实际光能转化效率降低(图 2)。

叶绿素荧光产量的下降(淬灭)可以由光合作用的增加引起,也可以由热耗散的增加引起。由光合作用引起的荧光淬灭称之为光化学淬灭(qP), qP 反映了植物光合活性的高低;由热耗散引起的荧光淬灭称之为非光化学淬灭(qN), qN 反映了植物耗散过剩光能为热的能力,也就是光保护能力^[21]。本研究中紫外线胁迫使 qP 和 qN 均降低,即杉木光合活性和光保护能力均降低(图 2),说明紫外线胁迫影响了杉木的光合作用。

3.2 紫外胁迫对细胞膜系统及可溶性蛋白含量的影响

紫外辐射会使植物内产生大量活性氧自由基,自由基作用于脂质发生过氧化反应,最终产生 MDA,大量的 MDA 会破坏细胞膜结构,导致叶肉细胞内生理代谢紊乱^[22-23]。高等植物体内存在 POD 等活性氧清除酶类,可以清除活性氧自由基^[24-26]。本实验中,随着紫外辐射天数的增加,杉木幼苗叶片中 MDA 含量先降低后升高(图 3),POD 活性随着紫外辐射时间延长而升高(图 5),这可能是由于处理植株体内的抗氧化机制发生了作用、导致 MDA 含量降低^[27]。但杉木幼苗的这种防御机制有限,最终 MDA 会大量积累从而破坏细胞膜结构。

蛋白质最大吸收波长在紫外线波长(280 ~ 320 nm)范围内,所以紫外辐射对蛋白质含量产生的影响较大^[28]。本实验中,紫外辐射增加了杉木幼苗针叶中可溶性蛋白的含量(图 6),可能是紫外辐射诱导一些与抗性相关基因的表达,从而导致一些新的

与抗性有关的蛋白质产生^[29],如查尔酮合酶(chalcone synthase, CHS)。CHS 是植物类黄酮化合物合成的第一关键酶,类黄酮可以使植物避免遭受紫外线伤害^[30]。所以,杉木体内可溶性蛋白含量上升可能是杉木抵抗紫外胁迫的一种应急反应。

综上所述,长时间的紫外辐射会对杉木体胚再生植株叶片的叶绿素含量、叶绿素荧光参数、MDA 含量、POD 活性、可溶性蛋白质含量产生不同程度的影响,紫外辐射 3 天杉木体胚再生植株叶片开始变黄,光合作用受阻,5—7 天黄化现象严重,9 天杉木体胚再生植株干枯死亡,说明杉木体胚再生植株对紫外辐射敏感,长时间的紫外辐射会阻碍杉木体胚再生植株的生长和发育。因此,在杉木体胚再生植株培育过程中应避免过多的紫外辐射。

参考文献:

- [1] Mckenzie RL, Aucamp PJ, Bais AF, et al. Changes in biologically-active ultraviolet Radiation reaching the earth's surface[J]. Photochemical and Photobiological Science, 2007, 6(3): 218 - 231.
- [2] 郑有军, 刘建飞, 王艳娜, 等. 增强 UV-B 辐射与其它因子符合作用对植物生长的影响研究[J]. 西北植物学报, 2007, 27(8): 1702 - 1712.
- [3] 蔡锡安, 夏汉平, 彭少麟. 增强 UV-B 辐射对植物的影响[J]. 生态环境, 2007, 16(3): 1044 - 1052.
- [4] ZHU Peng-jin, YANG Li. Ambient UV-B radiation inhibits the growth and physiology of *Brassica napus* L. on the Qinghai Tibetan plateau[J]. Field crops Research, 2015, 171: 79 - 85.
- [5] Anclia G, Dobribova, Vassilena Krasteva. Damage and protection of the photosynthetic apparatus from UV-B radiation. I. Effect of ascorbate [J]. Journal of plant physiology, 2013, 170: 251 - 257.
- [6] GAO Qin, ZHANG Li-Xin. Ultraviolet-B-induced oxidative stress and antioxidant defense system responses in ascorbate-deficient *vtcl* mutant of *Arabidopsis thaliana* [J]. J plant Physiol. 2008, 165(2): 138 - 148.
- [7] Zlatko S, Zlatev, Fernando J. C. Plant physiological responses to UV-B radiation [J]. Emirates Journal of Food & Agriculture, 2012. 24(6): 481 - 501.
- [8] 熊日荣. 不同杉木无性系在若干逆境下叶绿素荧光参数的比较分析[D]. 福建: 福建农林大学, 2011.
- [9] 曲 弈, 吴 华, 施季森, 等. 体胚再生植株低温胁迫的响应机制[J]. 林业科技开发, 2014(05): 49 - 52.
- [10] 陈金慧, 周小红, 施季森. 杉木体细胞胚胎发生及植株再生方法, 中国, 201010275858.0 [P]. 2010.
- [11] 高俊风. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 211 - 221.
- [12] 张志良, 霍伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 67 - 69.
- [13] 李合生. 植物生理生化实验理论与技术[M]. 北京: 高等教育出

- 版社,2001:216-220.
- [14] 路文静,李弈松. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国林业出版社,2012:169-233.
- [15] 张莉娜,安黎哲,冯虎元,等. 增强 UV-B 辐射和干旱对春小麦光合作用及其生长的影响[J]. 西北植物学报,2010,30(5):981-986.
- [16] 师生波,尚艳霞,朱鹏锦,等. 增补 UV-B 辐射对高山植物美丽风毛菊光合作用和光合色素的影响[J]. 草地学报,2010,18(5):607-614.
- [17] 陈隆升,陈永忠,彭邵锋,等. 油茶对低磷胁迫的生理生化效应研究[J]. 林业科学研究,2010,23(5):782-786.
- [18] 白志英,李存东,赵金锋. 干旱胁迫对小麦代换系叶绿素荧光参数的影响及染色体效应初步分析[J]. 中国农业科学,2011,44(1):47-57.
- [19] 褚建民,孟 平,张劲松,等. 土壤水分胁迫对欧李幼苗光合及叶绿素荧光特性的影响[J]. 林业科学研究,2008,21(3):295-300.
- [20] SUN Zhi-Yang, JI Kong-Shu. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence of four hybrid tulip clones[J]. North-West for University, 2010, 25(4):35-39.
- [21] 王 兆,刘晓曦,郑国华. 低温胁迫对彩叶草光合作用及叶绿素荧光的影响[J]. 浙江农业学报,2015,27(1):49-56.
- [22] 黄亚成,秦云霞. 植物中活性氧的研究进展[J]. 中国农学通报,2012,28(36):219-226.
- [23] 孙业民,马 兰,李朝周. 不同类型酸胁迫对云杉叶细胞膜及其保护系统损伤机制的比较[J]. 林业科学,2012,48(6):56-61.
- [24] 吴建勋,张姗姗. Cr、Co、Pb 单一胁迫对浮萍 SOD、POD、MDA 的影响[J]. 中国农业通报,2013,29(15):188-194.
- [25] 尹永强,胡建斌,邓明军. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展[J]. 中国农学通报,2007,23(1):105-109.
- [26] Fedinai I, Hidma J, Velitchkova M, *et al.* UV-B induced stress responses in three rice euhivars [J]. *Biologia Plantarum*, 2010, 54(3):571-574.
- [27] 聂 磊,刘鸿先,彭少麟. 增强 UV-B 辐射对柚树苗生长和生理特性效应研究[J]. 生态科学,2001,20(3):31-38.
- [28] 罗丽琼 陈宗瑜. 紫外线-B 辐射对植物 DNA 及蛋白质的影响[J]. 生态学杂志,2006,25(5):572-576.
- [29] 刘 敏,李荣贵,范 海,等. UV-B 辐射对烟草光合色素和几种酶的影响[J]. 西北植物学报,2007,27(2):291-296.
- [30] 郭欣慰,黄丛林,吴忠义,等. 植物类黄酮生物合成的分子调控[J]. 北方园艺 2011(04):204-207.