

甜瓜幼叶对 UV-B 辐射的响应

吴旭红

(齐齐哈尔大学 生命科学与工程学院 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要: 研究了甜瓜幼苗(正甜-2 和兴农-8)在 UV-B 辐射下叶片 Rubisco、GR 及蛋白水解酶活性和 H_2O_2 、ASA、GSH 含量的变化。结果表明: UV-B 辐射显著提高了 2 个甜瓜品种幼苗 H_2O_2 含量和蛋白水解酶活性, 降低了 Rubisco、ASA、GSH 含量, 兴农-8 尤为明显。ASA 处理能明显促进 UV-B 辐射下 2 个品种叶片 GSH 的合成和 H_2O_2 的清除, 同时显著抑制蛋白水解酶活性的上升及 Rubisco 含量的下降。结果说明: UV-B 辐射诱导 Rubisco 含量的降低可通过高水平 H_2O_2 产生从而加强蛋白水解酶系统的活化而加速了 Rubisco 的降解。

关键词: 甜瓜; UV-B 辐射; Rubisco 含量; H_2O_2 含量; 蛋白水解酶

中图分类号: S 651 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)12-0107-03

近年来, 随着大气平流层臭氧空洞的增大, 造成到达地球表面的 UV-B 辐射量增加。Rubisco、GR 是催化光化学合成和光呼吸早期反应及氮代谢的关键酶。植物叶片在逆境下, ROS 含量的增加可以诱发一系列反应, 现已经证明了 ROS 作为信号分子对 UV-B 辐射应答的重要性。该通过测定 UV-B 辐射和正常情况下甜瓜叶片 H_2O_2 、AsA、GSH 含量及蛋白水解酶活性和 Rubisco 的变化, 用以阐明 UV-B 辐射是否能通过产生更多的 ROS 而因此催化 Rubisco 水解酶系统来加速 Rubisco 的降解, 并且针对抗坏血酸在这一过程中的生理效应进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

甜瓜(*Cucumis melo* L.)种子为兴农 8 号和正甜 2 号, 由齐齐哈尔市农业科研所提供。选取饱满均匀的甜瓜种子(兴农-8, 正甜-2), 0.1% HgCl₂ 消毒 15 min, 用蒸馏水漂洗浸种 6 h 后, 播种在盛有细沙的花盆中, 种子萌芽以后, 每盆保留大小一致的幼苗 20 株。将试验材料分为 3 组: I 为对照组, 每天用 50% 的 Hoagland 浇灌 1 次, 于光照培养箱中 28/20℃, 相对湿度 70%, 光照 12 h 培养。II 组, 正常光照 9 d 后, 在光照的同时用 4 个 20W 的 UV 灯照射。紫外灯悬挂的高度保证植物吸收 0.4 W/m² 的光。III 组, 取每个处理的 1/2 植物每天用 50% 的 Hoagland 处理, 8 d 后在加上 5 mmol/L 抗坏血酸(ASA)。所有试验在完全相同的环境下进行, 3 次重复。

作者简介: 吴旭红(1962-), 女, 本科, 教授, 现从事生物化学和植物营养学研究工作。E-mail: wvg25583681129@sina.com。

收稿日期: 2009-06-20

1.2 H_2O_2 含量的测定

用 Patterson 的方法测量甜瓜叶中的 H_2O_2 含量^[1]。

1.3 AsA、GR 和 GSH 的测定

AsA 和 GSH 测定按照韩雅珊方法^[2], GR 按 Gamble 和 Burke 的方法^[3], 以在 28℃ 下 1 min 氧化 1 nmol-NADP 为 1 个酶活力单位。

1.4 Rubisco 的提取和测定

取 0.5 g 幼叶, 于 5 mL 由 Tris-HCl(50 mmol/L pH 8.0)、甘油(12.5% v/v)和巯基乙醇(5% v/v)组成的介质中制备匀浆, 然后离心 20 min(15 000 rpm), 上清液用来测定 Rubisco 的含量。

1.5 蛋白水解酶的分析

取 0.5 g 幼叶, 加入 5 mL HEPES、DTT(4 mmol/L)和 EDTA(1 mmol/L)组成的提取液, 磨成匀浆后离心 20 min(4 000 rpm), 上清液用做蛋白水解酶的测定。

2 结果与分析

2.1 UV-B 辐射对甜瓜叶片 H_2O_2 水平、蛋白水解酶活力及 Rubisco 含量的影响

对照组 2 个品种幼苗 H_2O_2 的含量相近而且较低, UV-B 辐射后, H_2O_2 含量较对照均迅速增加, 影响如图 1(a)。2 个品种在 UV-B 辐射下 H_2O_2 的含量变化趋势有所不同, 兴农-8 的 H_2O_2 含量随处理时间延长缓慢升高, 7 d 内逐步增长, 而正甜-2 处理 3 d 时 H_2O_2 含量达最高, 5 d 时缓慢下降, 此后变化趋缓, 在辐射 3、7 d 时, 品种间差异达显著水平。

由图 1(b)所示, 对照组 2 种甜瓜叶片蛋白水解酶活性稳中略有上升, 2 种幼苗 UV-B 辐射后蛋白水解酶活性都大幅度升高。UV-B 辐射 7 d 后, 正甜-2 和兴农-8 蛋白水解酶活性比对照组高 1.71~2.19 倍。在 UV-B 辐射下, H_2O_2 的含量随蛋白水解酶活性的升高而升高。

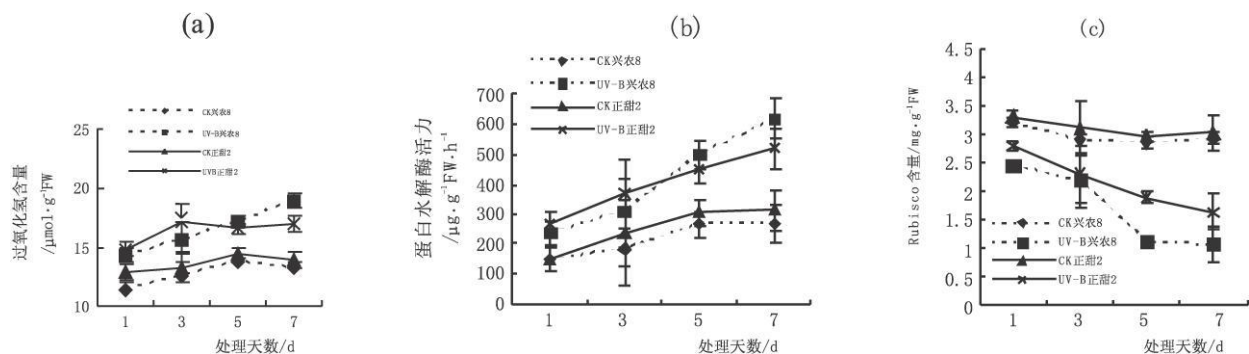


图1 甜瓜幼叶 UV-B 辐射下 H_2O_2 水平、蛋白水解酶活力及 Rubisco 含量的变化
注: (a) H_2O_2 (过氧化氢) 含量; (b) 蛋白水解酶活性; (c) Rubisco (1,5 二磷酸核酮糖羧化酶) 水平。

经统计分析, H_2O_2 含量与蛋白水解酶之间存在着显著的正相关, 相关系数 $r^2 = 0.915$, $y = 0.089x + 11.698$ 。

2 种甜瓜幼苗对照组 Rubisco 相对恒定见图 1(c), 兴农-8 在 UV-B 处理前 3 d Rubisco 含量下降较缓 3~5 d 急剧降低, 5~7 d 含量趋于稳定。正甜-2 UV-B 处理 Rubisco 含量始终低于对照, 但比兴农-8 降幅小, 下降

速率慢, 辐射处理 5、7 d 品种间 Rubisco 达显著水平。

在 UV-B 辐射下, Rubisco 含量随蛋白水解酶的活性的升高持续下降。经过统计分析可知, Rubisco 的含量与蛋白水解酶活性存在显著的负相关, 相关系数 $r^2 = 0.8987$, $y = -134.37x + 798.5$ 。

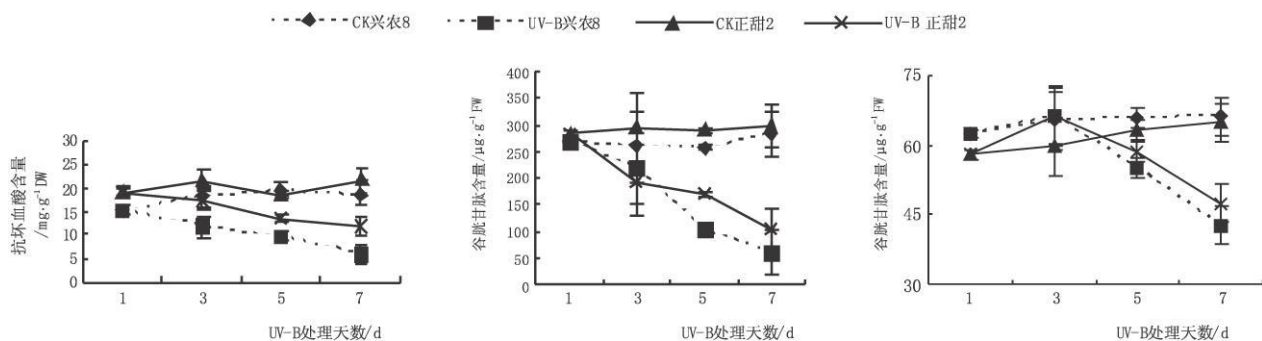


图2 UV-B 辐射下甜瓜幼叶 AsA、GR 和 GSH 含量的变化

2.2 UV-B 辐射对甜瓜叶片 ASA、GR 和 GSH 含量的变化

由图 2 可见, 随辐射时间的延长, ASA 含量呈明显下降趋势, 处理 3 d 时, 正甜 2 和兴农 8 ASA 分别为对照的 80.43%、65.54%, 5 d 时为对照的 73.10%、63.53%, 7 d 已达对照的 56.60%、31.37%。品种间比较正甜 2 较兴农维持了较高的 ASA 含量, 但品种间差异不显著。2 个种甜瓜叶片 GSH 含量都随 UV-B 胁迫处理时间的延长逐渐下降, 正甜 2 在处理 5 d 和 7 d 时 GSH 高于兴农-8, 品种间差异达显著水平 ($P < 0.05$)。GR 活性在胁迫 3 d 时 2 个品种均有增加, 此后随处理时

间的延长呈逐级下降态势, 在处理 5、7 d 时正甜-2 和兴农-8 分别比对照降低了 7.31%、26.99%; 16.48%、35.55%。正甜-2 比兴农-8 具有较高的 GR 活性。

2.3 UV-B 辐射下抗坏血酸(ASA)对 Rubisco 和 H_2O_2 含量以及蛋白水解酶活性的影响

对照组外源 ASA 对 Rubisco 和 H_2O_2 含量以及蛋白水解酶活性无明显影响。但 UV-B 辐射处理 ASA 明显提高了 Rubisco 的含量, 降低了 H_2O_2 的含量和蛋白水解酶的活性, 但对 H_2O_2 含量的下降远比蛋白水解酶下降和 Rubisco 含量上升的影响低。

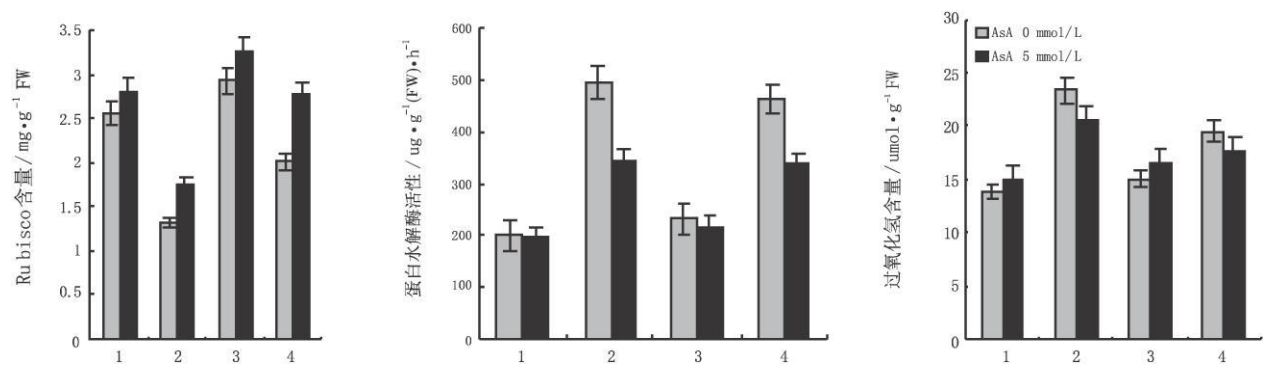


图3 UV-B 辐射下抗坏血酸(ASA)对 Rubisco 和 H₂O₂ 含量以及蛋白水解酶活性的影响
注: 1: CK 兴农 8; 2: UV-B 兴农 8; 3: CK 正甜 2; 4: UV-B 正甜 2

3 结论

以上研究表明, 在 UV-B 辐射下, ROS 含量增加, H₂O₂ 含量的增加导致了蛋白水解酶活性的升高, 从而引起了 Rubisco 降解的加快, 试验中还发现, GR 活性在 UV-B 辐射初期升高, 进一步辐射则降至较低水平, 而 ASA 和 GSH 含量则随辐射时间延长逐渐下降, 这必然又会导致细胞内 H₂O₂ 的产生和积累之间的平衡遭到破坏而导致 H₂O₂ 的进一步累积。

GR 的早期升高推测是细胞内为适应 H₂O₂ 生成的一种调节性反应, 但在持续辐射下, H₂O₂ 的过量生成超越了防御系统清除能力而使其降低。在 UV-B 辐射下, 甜瓜利用 ASA 降低了 H₂O₂ 含量和蛋白水解酶活性, 明显提高了 Rubisco 的含量和 GR 活性, 抗氧化剂处理可有效增加 UV-B 辐射下甜瓜幼苗叶片光化学合成和氮代谢。品种间比较正甜-2 能在胁迫处理下维持较高的

而 ASA、GSH 含量和较高的 GR、Rubisco 活性, 较低的 H₂O₂ 含量和蛋白水解酶活性, 故其抗 UV-B 胁迫能力优于兴农-8。但是, ASA 对 H₂O₂ 含量的影响比对蛋白水解酶活性和 Rubisco 含量的影响程度要低, 推测应有其它途径间接的在 UV-B 辐射下使蛋白水解酶活性升高, 而不是完全依赖 H₂O₂ 的含量的变化, 这些机制有待于进一步研究。

参考文献

[1] Patterson B D, Mackae E A, Ferguson IB Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV) [J] . Anal Biochem, 1984 139: 487-492.
[2] 韩雅珊. 食品化学实验指导 [M] . 北京: 中国农业大学出版社, 1992: 81-83.
[3] Camble P E, Burke J J. Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system I. Alteration in glutathione reductase activity[J] . Plant Cell Physiol, 1984 25: 1247.

Respond of UV-B Radiation in Leaves of Melon

WU Xu-hong

(Qiqihaer University Life Science and Engineering College, Qiqihaer, Heilongjiang 161006, China)

Abstract: Studied Melon seedlings (Zhengtian-2 and Singnong-8) under the condition of UV-B radiation, the content changes in Rubisco, GR and proteolytic activity and H₂O₂, ASA, GSH in leaves. The results showed that the UV-B radiation significantly increased the two varieties of melon seedlings H₂O₂ content and proteolytic activity and reduced Rubisco, ASA, GSH, content, particularly Singnong-8. ASA treatment can significantly promote GSH synthesis and the removal of H₂O₂ in two varieties of leaves under the condition of the UV-B radiation, at the same time, significantly inhibit the rise of proteolytic activity and the decline in Rubisco content. UV-B-induced decreased in Rubisco amount may be that activation of proteolytic system was reinforced through increase of and increases of H₂O₂ level to speed up the decomposition of Rubisco.

Key words: Melon; UV-B radiation; Rubisco; H₂O₂; Proteolytic activity