

# 紫外光 B 辐射增强对小白菜膜脂质过氧化作用的影响\*

黄少白 章静娟 刘晓忠 戴秋杰 王志霞

(江苏省农业科学院农业生物遗传生理研究所, 南京 210014)

**摘 要** 小白菜品种矮脚黄生长在光照培养室内, 在以  $0.0130 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  (模拟臭氧浓度下降 20% 时的 UV-B 强度) 的紫外光 B (UV-B 280~320nm) 进行 4d 与 7d 的照射处理, 研究 UV-B 对小白菜叶片内的类黄酮和膜脂质过氧化作用的影响。研究表明, UV-B 辐射诱导了小白菜叶片内吸收 UV 的类黄酮化合物的积累。同时 UV-B 辐射降低小白菜叶片内抗坏血酸的含量,  $13.0 \text{ kJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  的 UV-B 辐射显著抑制了小白菜叶片内过氧化氢酶和 SOD 酶的活性。同时 UV-B 辐射导致小白菜叶片内丙二醛的积累。UV-B 辐射对以上生化指标的影响随处理时间的延长而加深。上述结果表明, UV-B 辐射加深了小白菜的膜脂质过氧化作用, 而吸收 UV 的类黄酮的积累并不能完全缓解 UV-B 的伤害。

**关键词** 小白菜 紫外光 B 类黄酮 抗坏血酸 膜脂质过氧化

由于氟利昂和其他化学物质所引起的大气平流层臭氧浓度减少已成为当今人类面临的突出的环境问题。臭氧浓度的减少导致到达地面的太阳紫外线辐射增强。紫外光 B (UV-B 280~320nm) 对植物能产生一系列的生理生化影响<sup>[1,4]</sup>。高等植物对 UV-B 辐射和其他氧化逆境有不同的保护机制<sup>[4]</sup>。这些机制包括避害<sup>[4]</sup>、解毒<sup>[6]</sup>和修复<sup>[15]</sup>。

目前在寻找作为 UV-B 辐射或细胞抗 UV 伤害的生化指标上已做了大量研究。其中最为显著的是类黄酮类化合物<sup>[14]</sup>。植物体在正常代谢以及在环境和渗透胁迫条件下均产生自由基。细胞内的各种反应能产生超氧自由基 ( $\text{O}_2^-$ )、过氧化氢 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 和单线态氧。自由基的积累能攻击植物的细胞膜, 导致膜脂质过氧化的产物丙二醛的积累。在保护细胞膜抵抗空气污染、涝渍和干旱所造成的氧化逆境过程中, 自由基的解毒作用是重要的保护机制<sup>[6]</sup>。抗坏血酸作为非酶活性的自由基清除剂起抗氧化的作用<sup>[13]</sup>。过氧化氢酶和超氧化物歧化酶 (SOD) 是植物清除自由基和过氧化氢抗氧化酶系统中重要的组成部分<sup>[6]</sup>。SOD 酶能使  $\text{O}_2^-$  转变成为  $\text{H}_2\text{O}_2$  而  $\text{H}_2\text{O}_2$  又能被过氧化氢酶分解。经 UV-B 处理后植物体内抗氧化酶诸如 SOD 酶和过氧化氢酶活性的变化开始有报道<sup>[11]</sup>。但目前尚无 UV-B 辐射增强对叶菜类作物膜脂质过氧化影响的报道。本试验将研究 UV-B 辐射增强对小白菜叶片内类黄酮和膜脂质过氧化作用的影响, 旨在阐明 UV-B 对小白菜伤害的可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料

小白菜矮脚黄种子购自本院蔬菜研究所,种子在  $24^{\circ}\text{C}$  下经 24h 发芽后播于塑料钵钵中。植物材料在温室内生长 10d 后,移至室内光照培养室内的不同强度紫外灯下处理 4d 和 7d。

### 1.2 紫外光 B 的设置和处理

紫外光灯管 (UVB-313 USA) 先预照 100h, 然后用  $0.13\text{nm}$  的醋酸纤维膜 (能通过  $290\text{nm}$  以下的光谱) 作为 UV-B 处理, 而以  $0.13\text{nm}$  聚酯膜 (吸收所有低于  $320\text{nm}$  的光谱) 为对照。植物材料每天照射时间为 8h。在整个试验中, 通过调节紫外灯管与植株顶层的高度来保持紫外光强度。紫外光的发射通过双单束分光仪来测量。该仪器的标准光谱利用低压水银灯泡在  $296.7$   $320.2$  和  $312.9\text{nm}$  处核对, 并以  $200\text{W}$  的碘钨标准灯进行校正。根据 Caldwell<sup>[7]</sup> 对植物有作用的光谱并在  $300\text{nm}$  处校正。此时具有生物学效应的平均 UV-B 辐射强度调节至  $13.0\text{kJm}^{-2}\text{d}^{-1}$  (相当于臭氧层浓度下降 20% 时 UV-B 强度)。钵钵放在具有均匀 UV-B 强度的紫外灯管下, 并利用具有 UVX31 传感器的 UVX 辐射仪检控。样本区内的照射强度的误差低于 1%。

### 1.3 吸收 UV 类黄酮的测定

根据 Lois<sup>[14]</sup> 的方法测定。取小白菜的上部叶片, 剪碎后称重, 并以每克  $10\text{ml}$  的比例加入 80% 的乙醇中, 在  $55^{\circ}\text{C}$  下保持  $30\text{min}$ 。经一定比例稀释后, 在室温下用紫外分光光度计在  $280$   $290$   $300$   $310$   $320\text{nm}$  处测量光谱吸收值。

### 1.4 酶活性的测定

取小白菜的上部叶片, 剪碎称重 (每样  $0.5\text{g}$ ), 以预冷的研钵中用  $8\text{ml}$  含 1% (V/V) PVP 的  $50\text{mM}$  的磷酸缓冲液进行研磨, 匀浆液倒入离心管中, 在  $15000\text{g}$   $4^{\circ}\text{C}$  下离心  $20\text{min}$ 。上清液保存在  $4^{\circ}\text{C}$  下用于酶活性的测定。SOD 酶活性的测定根据 Stewart<sup>[17]</sup> 的方法。酶活性以在  $560\text{nm}$  下抑制 NBT 光还原 50% 的酶用量为一个酶活性单位。过氧化氢酶活性的测定根据 Chance<sup>[8]</sup> 的方法。以  $240\text{nm}$  处光密度改变  $0.01$  为一个酶活性单位。

### 1.5 抗坏血酸和丙二醛的测定

取小白菜的上部叶片, 剪碎称重 (每样  $1.0\text{g}$ ), 在预冷的研钵中用  $10\text{ml}$  5% 三氯乙酸溶液进行研磨, 匀浆液在  $15000\text{g}$   $4^{\circ}\text{C}$  下离心  $20\text{min}$ 。上清液保存在  $4^{\circ}\text{C}$  下用于抗坏血酸和丙二醛的测定。抗坏血酸含量的测定根据 Arakawa 的方法<sup>[12]</sup>, 丙二醛含量的测定根据 Heath 的方法<sup>[9]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 UV-B 辐射增强对吸收 UV 的类黄酮和抗坏血酸含量的影响

从表 1 看出, UV-B 辐射增强使小白菜叶片内吸收 UV 的类黄酮物质增加。处理 4d 条件下, UV-B 使小白菜叶片内在吸收 OD $280\text{nm}$  至 OD $320\text{nm}$  处的类黄酮明显增加, 增加幅度在 60% 左右。同样在处理 7d 的情况下, 吸收 UV 的类黄酮也保持该趋势, 增幅高达 85% 左右。

在处理 4d 的条件下, UV-B 使小白菜叶片内抗坏血酸的含量稍有下降, 降幅为 8%。而

表 1 UV-B 辐射增强对小白菜叶片内吸收 UV 类黄酮的影响

处理时间 (d)	UV-B 强度 ( $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ )	光 谱 吸 收 值				
		OD 280nm	OD 290nm	OD 300nm	OD 310nm	OD 320nm
4	0.0	0.401±0.029	0.375±0.027	0.374±0.027	0.045±0.030	0.447±0.033
4	13.0	0.653±0.019	0.620±0.019	0.616±0.018	0.659±0.020	0.715±0.023
7	0.0	0.329±0.008	0.318±0.007	0.312±0.007	0.328±0.013	0.349±0.010
7	13.0	0.613±0.012	0.583±0.010	0.583±0.010	0.619±0.012	0.657±0.013

在处理 7d 的条件下,小白菜叶片内的抗坏血酸的含量明显减少,下降幅度达 20 % (图 1) 结果表明,抗坏血酸的含量随 UV-B 处理时间的延长而下降。

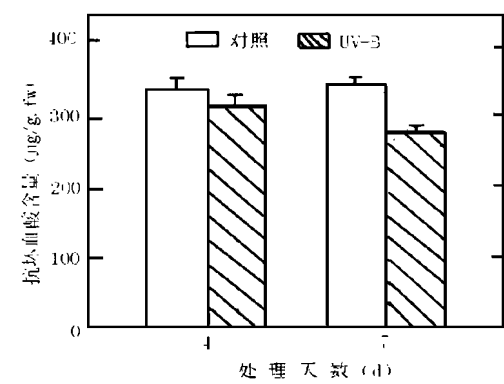


图 1 UV-B 辐射增强对小白菜叶片内抗坏血酸含量的影响

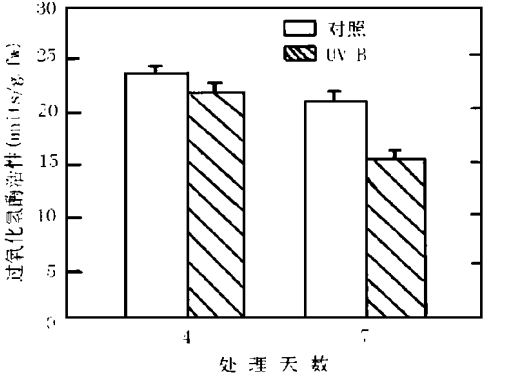


图 2 UV-B 辐射增强对小白菜叶片内过氧化氢酶活性的影响

与酶活性相反,UV-B 使小白菜叶片内的丙二醛含量增加 (图 4)。在 4d 的处理条件下,小白菜叶片内的丙二醛含量增加了 15 %。而在 7d 的处理条件下,其含量增加了 28.6%。

2.2 UV-B 辐射增强对过氧化氢酶和 SOD 酶活性及丙二醛含量的影响

UV-B 使小白菜叶片内的过氧化氢酶和 SOD 酶活性下降 (图 2、3)。在处理 4d 的条件下,UV-B 使小白菜叶片内过氧化氢酶和 SOD 酶活性稍有下降,而在处理 7d 的条件下,小白菜叶片内的过氧化氢酶和 SOD 酶活性的下降更为明显,其下降幅度分别达 25.2% 和 29.7%。

3 讨论

近年来的大量研究表明,植物除了改变形态结构诸如调整叶片角度、增加叶片厚度来适应 UV-B 辐射外,叶片内还能诱导增加吸收紫外线的物质。在黄瓜<sup>[16]</sup>上,UV-B 辐射能诱导吸收 UV 化合物的积累。其他一些报告也证实 UV-B 能诱导植物体内较高的类黄酮水平<sup>[3,14]</sup>。最近的报道表明,UV-B 辐射能使控制类黄酮代谢基因的活性增加<sup>[12]</sup>。本试验的结果也发现 UV-B 辐射能导致小白菜叶片内吸收 UV 类黄酮的积累。有效吸收 UV 和可作为自由基清除剂的类黄酮的积累已成为植物对 UV-B 辐射增强产生的共同防御效应。

UV-B 辐射增强能导致黄瓜叶片内脂质过氧化的产物丙二醛的积累<sup>[10]</sup>,本试验的结果同样表明 UV-B 辐射增强能导致小白菜叶片内的丙二醛积累。丙二醛的积累与自由基对膜的攻

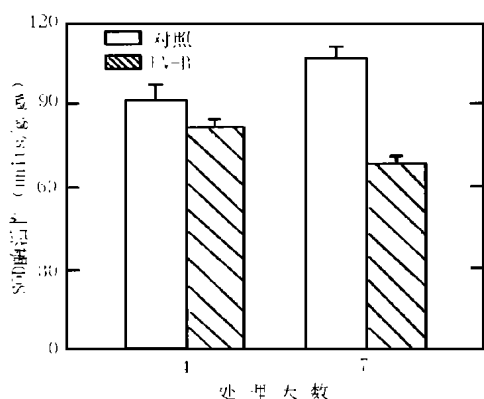


图 3 UV-B辐射增强对小白菜叶片内 SOD酶活性的影响

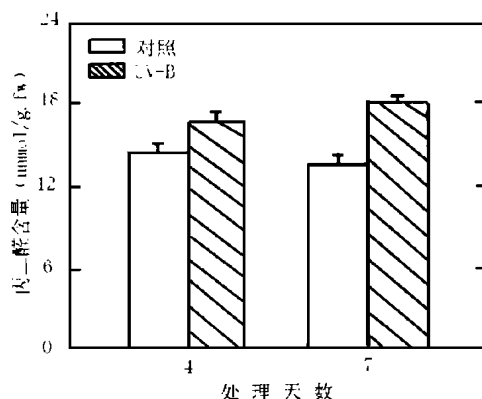


图 4 UV-B辐射增强对小白菜叶片内 丙二醛含量的影响

击有关。过氧化氢酶和 SOD 酶与其它一些抗氧化酶可以降低植物体内  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  的浓度<sup>[6]</sup>。在田间试验中, Booker<sup>[5]</sup>发现 UV-B 或结合臭氧胁迫对大豆叶片内的过氧化氢酶活性的影响不明显。然而,在温室试验中,黄瓜第一叶的过氧化氢酶活性被增强的 UV-B 所抑制。在碘钨灯下, UV-B 辐射增强同样使黄瓜第一叶的 SOD 酶活性下降<sup>[11]</sup>。试验结果表明, UV-B 使小白菜叶片内的过氧化氢酶活性和 SOD 酶活性下降。抗坏血酸具有清除自由基的能力,在植物体内抗氧化过程中起重要作用。一些逆境因子能导致植物体内的抗坏血酸含量下降<sup>[13]</sup>, 本试验同样发现 UV-B 辐射增强能使小白菜叶片内的抗坏血酸含量下降。这说明 UV-B 辐射增强能使小白菜叶片内的抗坏血酸含量下降,抗氧化酶活性下降,从而导致膜脂质过氧化产物丙二醛积累。

综上所述, UV-B 辐射增强能导致小白菜的膜脂质过氧化作用加深,而吸收 UV 类黄酮的积累并不能完全缓解 UV-B 的伤害。

## 参 考 文 献

- 1 黄少白,戴秋杰. 紫外光 B 增强对农作物生长的影响. 世界农业, 1994, 12: 21~ 22
- 2 A rakawa N, Tsutsum i K, Sanoeda NG et al A rapid and sensitive method for determination of ascorbic acid using 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline. *Agri Biol Chem*, 1981, 45: 1289~ 1290
- 3 A rakawa O. Photoregulation of anthocyanin synthesis in apple fruit under ultraviolet-B and red light. *Plant Cell Physiol* 1988, 29: 1385~ 1389
- 4 Beggs CJ, Schneider-Ziebert U, Wellman E. UV-B radiation and adaptive mechanisms in plants. In: Worrest RC, Caldwell MM, ed. *Stratospheric Ozone Reduction, Solar Ultraviolet Radiation and Plant Life* (Vol 8). Springer-Verlag New York NY, 1986: 235~ 250
- 5 Booker FLM, Miller JE. Effect of ozone and UV-B radiation on pigments, biomass and peroxidase activity in soybean. In: Berglund RL, ed. *Tropospheric Ozone and Environment* (Vol 6). New York: Academic press, 1992: 489~ 503
- 6 Bowler C, Montagn C, Van Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol* 1992, 43: 83~ 116
- 7 Caldwell MM. Solar ultraviolet irradiation and the growth and development of high plants. In: Giese AC

- ed Photophysics (Vol V I) New York: Academic Press, 1971, 131~ 177
- 8 Chance B, M aehly A C, A ssay of catalase and peroxidase. In: Colow ick S P, K aplan N O, ed. Methods of Enzymology (Vol II). New York: Academic Press, 1955, 764~ 775
  - 9 Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys, 1968, 125: 189~ 198
  - 10 K raner G F, Noman H A, K rizek D T, et al. Influence of UV -B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membranal lipids of cucumber. Phytochemistry, 1991, 30: 2101~ 2108
  - 11 K rizek D T, K raner G F, U padhyaya A, et al. UV -B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium /deluxe lamps. Physiol Plant, 1993, 88: 350~ 358
  - 12 Kubasek W L, Shirley M, M cK illop A. Regulation of flavonoid biosynthetic genes in germinating Arabidopsis. Plant Cell, 1992, 4: 1229~ 1236
  - 13 Loew us F A. Ascorbic acid and its metabolic products. In: Preiss J, ed. The Biochemistry of Plants (Vol 14), 1988, 85~ 107
  - 14 Lois R. Accumulation of UV -absorbing flavonoids induced by UV -B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. Planta, 1994, 194: 498~ 503
  - 15 M eLennan A. The repair of UV light-induced DNA damage in plant cells. Mutat Res, 1987, 181: 1~ 7
  - 16 M urali N S, Teraura A H, Randall S K. Response differences between two soybean cultivars with contrasting UV -B radiation sensitivities. Photochem Photobiol, 1988, 48: 653~ 657
  - 17 Stewart R R C, Bew ley J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean. Plant Physiol, 1980, 65: 245~ 248

## Influence of Supplemental Ultraviolet-B Radiation on Lipid Peroxidation of Chinese Cabbage

Huang Shaobai Zhang Jingjuan Liu Xiaozhong Dai Q iujie Wang Zhixia  
(Institute of Agronomic Genetics & Physiology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014)

**Abstract** Chinese cabbage cultivar A ijiaohuang was grown in an indoor experiment treated by 0 0 13 0 (simulating 20% ozone depletion)  $\text{kJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$  of ultraviolet-B (UV -B) for 4 and 7 days to study the effect of supplemental UV -B radiation on flavonoids and lipid peroxidation in the leaves of Chinese cabbage. Accumulation of UV -absorbing flavonoids in the leaves of Chinese cabbage was induced by UV -B radiation. Enhanced UV -B radiation reduced ascorbic acid content in the leaves of Chinese cabbage. It was also found that 13 0  $\text{kJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$  UV -B inhibited catalase and superoxide dismutase activities and increased malondialdehyde content in the leaves of Chinese cabbage. These effects induced by UV -B radiation was enhanced with the time course of treatment. The results above suggested that supplemental UV -B radiation enhanced lipid peroxidation of Chinese cabbage and the accumulation of UV -absorbing flavonoid could not alleviate the damage of UV -B radiation.

**Key words** Chinese cabbage; Ultraviolet-B; Flavonoids; Ascorbic acid; Lipid Peroxidation