

He-Ne 激光对玉米幼苗活性氧代谢的影响

蔡素雯 赵雪淞 卢凤涛

姜晋庆

(西北大学生物系, 西安 710069)

(西北工业大学, 西安 710072)

提要 用功率密度为 2.8 mW/mm^2 , 3.8 mW/mm^2 及 5.4 mW/mm^2 的 He-Ne 激光辐射干种子, 辐射时间均分别为 5, 50 和 500 s。发现经激光辐射干种子的玉米幼苗中, 过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性均增高, 抗坏血酸过氧化物酶(AsAPOD)活性下降, 谷胱甘肽(GSH)含量增加。其综合效果是增强了植物体清除活性氧的能力。

关键词 玉米, 保护酶, 活性氧代谢

目前, 在国内外, 激光技术已广泛用于农业增产研究, 并取得一定成效。特别值得一提的是激光辐射能增强作物的抗逆性^[1]。

关于激光促使作物增产机理研究已有报道, 如激光辐射可提高作物的光合效率, 引起同工酶谱改变, 使作物的 DNA, RNA 和蛋白质含量增高, 根尖细胞有丝分裂频率增加等^[2~5]。但有关激光辐射增强作物抗逆性的机理研究, 至今未见公开报道。

本文着重分析玉米种子经 He-Ne 激光辐射后, 二、三叶期幼苗叶中 POD, CAT, AsAPOD 活性变化以及 GSH 含量的改变, 以探讨激光辐射对植物体内活性氧代谢的影响, 为激光辐射增强作物抗逆性的机理研究积累资料。

1 材料与方法

1.1 材料处理

玉米(*Zea mays* L.)品种为沪丹 3 号和陕单 911。所用 He-Ne 激光器的波长为 632.8 nm。激光直射玉米干种子胚, 距离为 5 cm, 辐射功率密度分别为 2.8 mW/mm^2 , 3.8 mW/mm^2 , 5.4 mW/mm^2 。每种功率密度的辐射时间为 5 s, 50 s, 500 s 三种。辐射过的干种子浸种时间为 24 h。浸种后各组分别播种在铺有两层滤纸的培养皿中, 种在混装有蛭石和沙土的瓷盆中(盆内径为 21.5 cm, 高 17 cm), 每盆 20 株, 每组为两盆。等第一片真叶展开后, 隔天浇 Knop 营养液。

测试分二叶期(苗龄 11 天)、三叶期(苗龄 14 天), 各时期中不同处理的玉米幼苗均同时随机取样。

1.2 测试项目

POD 活性测定按袁朝兴等人的方法^[6], 以 40.1 OD/min (470 nm, 1 cm 光程比色杯, 3 ml 反

应液)代表一个酶活单位。AsAPOD 活性的测定则采用曾韶西等人的方法,用岛津 UV-250 型全波长分光光度计测定 OD_{290} 值的下降,以 $\Delta A_{290} / \text{min} \cdot 0.1 \text{ g F} \cdot \text{W}$ 表示酶活性。用滴定法测定 CAT 活性,CAT 活性以 1 min 内 0.1 g 材料所分解的 H_2O_2 μmol 数表示。GSH 含量的测定采用 DTNB 显色^[7],用最小二乘法处理标准曲线。

2 结果分析

2.1 对玉米幼苗 POD 活性的影响

玉米种子经 $3.8 \text{ mW}/\text{mm}^2$ 和 $5.4 \text{ mW}/\text{mm}^2$ 的 He-Ne 激光辐射后,除 $5.4 \text{ mW}/\text{mm}^2$ 辐射种子的二叶期幼苗的叶和根外,其余各组叶和根中 POD 活性一般高于对照组(表 1)。虽然, $5.4 \text{ mW}/\text{mm}^2$ 组幼苗在二叶期 POD 活性同于或略低于对照,但到三叶期活性上升幅度较大。不同辐射时间之间未见规律性差异。

Table 1 The effect of He-Ne laser irradiation on the POD activity of corn seedling
($\Delta 0.1 \text{ OD} / 0.1 \text{ g F} \cdot \text{W} \cdot \text{min}$)

Power densities (mW/mm^2)	Material (Hu dan No. 3)		Without laser irradiation	Laser irradiation time		
				5 s	50 s	500 s
3.8	Stage of two leaves	Leaves	130.67 ± 2.67	142.67 ± 8.00	136.00 ± 2.67	150.67 ± 2.67
		Root	235.56 ± 22.67	268.98 ± 12.00	191.11 ± 13.33	191.11 ± 8.00
	Stage of three leaves	Leaves	166.67 ± 1.33	233.33 ± 5.34	202.78 ± 2.67	241.67 ± 10.68
		Root	406.00 ± 12.00	273.33 ± 12.00	320.00 ± 18.67	406.67 ± 2.67
5.4	Stage of two leaves	Leaves	70.67 ± 2.67	64.00 ± 2.67	68.89 ± 2.67	53.33 ± 1.33
		Root	104.44 ± 8.00	100.00 ± 5.34	93.33 ± 5.34	106.67 ± 1.33
	Stage of three leaves	Leaves	155.56 ± 8.00	213.33 ± 5.34	237.78 ± 6.67	177.33 ± 2.67
		Root	170.67 ± 2.67	160.00 ± 9.33	266.67 ± 1.33	235.56 ± 10.68

2.2 对玉米幼苗 CAT 活性的影响

经激光辐射干种子后,其二、三叶期玉米幼苗叶及根中,CAT 活性一般均高于对照(表 2)。不同辐射时间之间亦未见规律性差异。

Table 2 The effect of He-Ne laser irradiation on the CAT activity of corn seedling
($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/0.1 \text{ g F. W. min}$)

Power densities (mW/mm ²)	Material (Hu dan No. 3)		Without laser irradiation	Laser irradiation time		
				5 s	50 s	500 s
3.8	Stage of two leaves	Leaves	52.15 ±0.49	69.95 ±0.57	52.27 ±0.21	62.61 ±0.54
		Root	136.93 ±0.36	151.31 ±0.95	157.63 ±0.41	152.71 ±0.94
	Stage of three leaves	Leaves	41.73 ±0.19	50.81 ±0.82	61.89 ±0.51	45.06 ±0.45
		Root	142.55 ±0.84	146.89 ±0.38	133.34 ±0.82	109.11 ±0.69
5.4	Stage of two leaves	Leaves	42.31 ±0.77	67.39 ±1.04	43.99 ±0.44	61.31 ±0.24
		Root	151.07 ±0.77	156.93 ±0.34	163.96 ±0.81	156.93 ±0.34
	Stage of three leaves	Leaves	49.84 ±0.43	49.57 ±0.22	66.18 ±0.46	58.33 ±0.23
		Root	116.95 ±0.66	149.39 ±0.81	173.96 ±0.96	164.75 ±0.41

2.3 对幼苗 AsAPOD 活性的影响

以 2.8 mW/mm², 3.8 mW/mm² 和 5.4 mW/mm² 功率密度的 He-Ne 激光辐射种子, 测试幼苗叶及根中 AsAPOD 活性。发现除 2.8 mW/mm² 辐射 5 s 和 50 s 组的二叶期幼苗叶外, 其余各处理组的叶和根中 AsAPOD 的活性均低于相应的对照组。在相同辐射时间内, 酶活性下降幅度一般有随辐射功率密度的增高而增大的趋势; 对于同一辐射功率, 一般随辐射时间的延长而酶活性下降幅度增大(表 3)。

2.4 对幼苗叶 GSH 含量的影响

玉米幼苗叶中 GSH 含量随着苗龄增加而降低, 经不同功率密度 He-Ne 激光辐射干种子的玉米幼苗叶中 GSH 含量一般高于或接近对照, 特别是 5.4 mW/mm² 辐射的各组含量均高于对照。其增高幅度与辐射时间之间无明显规律性(表 4)。

3 讨 论

玉米种子经 He-Ne 激光辐射后, POD 和 CAT 活性一般均有所上升, 而 AsAPOD 活性下降。在激光作用下, 植物体内产生光照活化效应, 导致生物合成过程水平提高^[1], 蛋白质合成速度加快, 可能是某些酶活性增高的原因之一。另外, 酶的激活或钝化又可通过蛋白质构型变化

或某些片断的切除而实现。由于激光的光效应可以改变酶分子的构象,使某些酶与抑制物分离而提高酶活性^[8];有一些酶,其敏感性化学键、氨基酸及其侧链位于酶分子结构的外层,并且是酶分子的活性基团所必需的结构,当激光光子对它们发生作用时,这种酶就可能被激光所钝化^[9]。AsAPOD 活性下降可能是上述原因造成的。

Table 3 The effect of He-Ne laser irradiation on the AsAPOD activity of corn seedling

($\Delta A_{290} / \text{min } 0.1 \text{ g F. W.}$)

Power densities (mW/mm ²)	Material (shaan dan No. 911)		Without laser irradiation	Laser irradiation time		
				5 s	50 s	500 s
2.8	Stage of two leaves	Leaves	.41±.04	.46±.04	.44±.01	.35±.02
		Root	.37±.02	.30±.02	.31±.02	.34±.01
	Stage of three leaves	Leaves	.53±.06	.51±.02	.48±.02	.41±.02
		Root	.30±.03	.29±.02	.16±.02	.23±.02
3.8	Stage of two leaves	Leaves	.41±.04	.29±.02	.35±.03	.34±.02
		Root	.37±.02	.25±.04	.23±.01	.23±.02
	Stage of three leaves	Leaves	.53±.06	.35±.02	.29±.02	.37±.02
		Root	.30±.03	.22±.02	.23±.02	.17±.02
5.4	Stage of two leaves	Leaves	.54±.02	.39±.03	.34±.05	.38±.05
		Root	.23±.02	.20±.01	.18±.01	.15±.04
	Stage of three leaves	Leaves	.29±.04	.24±.01	.22±.05	.17±.01
		Root	.23±.01	.20±.02	.14±.03	.17±.03

Table 4 The effect of He-Ne laser irradiation on the GSH content of corn seedling leaves

($\mu\text{g/g F. W.}$)

Material Shaan dan No. 911	Power densities (mW/mm ²)	Without laser irradiation	5 s	50 s	500 s
Stage of two leaves	2.8	4.80	5.05	3.78	6.07
	3.8	4.80	4.54	5.39	3.53
	5.4	3.78	4.04	5.45	5.18
Stage of three leaves	2.8	3.53	4.71	3.66	2.68
	3.8	3.53	2.26	3.36	3.53
	5.4	2.51	3.20	2.64	2.94

POD 及 CAT 活性增高促使植物体内呼吸作用加强,促进了新陈代谢,刺激植物生长发育。

POD, CAT 和 AsAPOD 为保护酶,POD, CAT 与 SOD(超氧化物歧化酶)共同消除植物体内的活性氧,由于 POD 与 CAT 活性与作物抗逆性正相关^[10,11],因此,两种酶活性增高有利于增强植物体清除活性氧的能力,从而提高了植物的抗逆性。存在于叶绿体中的 AsAPOD 通过 $\text{NADPH} \rightarrow \text{GSH} \rightarrow \text{抗坏血酸氧化还原系统}$ 清除叶绿体中产生的 H_2O_2 和 O_2 ^[7~9,12,13]。GSH 是存在于植物体内的非酶类自由基净化剂,在清除自由基、保持膜结构完整性等方面起重要作用。

尽管经激光处理后,玉米幼苗中 AsAPOD 活性下降,植物体内自由基清除,可能由于 POD, CAT 活性增高以及 GSH 含量增加而得到补偿。其综合效果表现为激光辐射增强了作物的抗逆性^[1]。根据各项指标分析结果可见,在三组中,5.4 mW/mm² 组对促进玉米幼苗活性氧代谢效果较佳。

致谢 承蒙西北大学苑春慧、崔晓慧同志参加部分测试工作,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 郝丽珍. 激光的生物刺激效应研究. 国外激光, 1990, (9): 5~7
- 2 M. Antonov, S. Vasil, Dimitrè *et al.*. Effect of maize seed laser irradiation on plant photosynthetic activity. B. A., 1986, No. 38567
- 3 胡能书, 王保仁, 吴秀山. 激光辐照水稻的生理生化基础研究. 应用激光, 1981, 1(3): 22~24; 1982, 2(5): 37~40, 49
- 4 S. R. Govil, C. Agrawal, K. P. Ral *et al.*. Growth responses of vigna radiata seeds to laser irradiation in the UV-A region. B. A. 1985, No. 99074
- 5 李玉滨, 郭桂云, 王好友. 氮氛激光处理番茄种子最适剂量的研究. 中国激光, 1990, 17(3): 189~192
- 6 袁朝兴, 丁 静. 水分胁迫对棉花叶片中 IAA 含量、IAA 氧化酶和过氧化物酶活性的影响. 植物生理学报, 1990, 16(2): 179~180
- 7 曾韶西, 王以柔. 低温胁迫对黄瓜子叶抗坏血酸过氧化物酶活性和谷胱甘肽含量的影响. 植物生理学报, 1990, 16(1): 37~42
- 8 K. C. Smith. Programme of the First Meeting of the International Laser Therapy Association, 1990. 130~141. 见关崇文译. 光和生命: 激光辐射治疗的光生物学基础. 国外激光, 1992, (2): 6~9
- 9 朱九明. 激光辐射在细胞遗传学领域的应用. 激光杂志, 1988, 9(1): 8~12
- 10 王振镒, 郭蔼光, 罗淑萍. 水分胁迫对玉米 SOD 和 POD 活力及同工酶的影响. 西北农业大学学报, 1989, 17(1): 45~49
- 11 陈贻竹, B. 帕特森. 低温对植物叶片中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化氢水平的影响. 植物生理学报, 1988, 14(4): 323~328
- 12 X. H. Поцинок 著, 荆家海, 丁钟荣译. 植物生物化学分析方法, 北京: 科学出版社, 1981. 203~207, 209~212
- 13 Nakano Y., Asado K.. Hydrogen peroxide in scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiol*, 1981, 22(5): 867~880

The Influence of He-Ne Laser Irradiation on the Active Oxygen Metabolism of Corn Seedlings

Cai Suwen Zhao Xuesong Lu Fengtuo

(Department of Biology, Northwestern University, Xian 710069)

Jiang Jinqing

(Northwestern Polytechnical University, Xian 710072)

Abstract This paper presents experimental studies in which the drying corn seeds are irradiated by He-Ne laser at power densities of 2.8, 3.8 and 5.4 mW/mm², respectively, and the corresponding irradiating times last 5 s, 50 s and 500 s. As a result, the POD and CAT activities of corn seedling are enhanced while their AsAPOD activity is reduced and their GSH contents are increased. Consequently, the improvement of the active oxygen metabolism for plants the seeds of which have been irradiated can be expected.

Key words corn, protective enzyme, active oxygen metabolism