

He-Ne 激光对玉米幼苗可溶性蛋白合成的影响

蔡素雯 齐 智 马小来

(西北大学生物系 西安 710069)

姜晋庆

(西北工业大学 西安 710072)

提要 用低 He-Ne 激光照射玉米(*Zea mays* L.) 干种子。结果表明, 玉米幼苗中可溶性蛋白和核酸含量增高, SDS-PAGE 谱带数目增加, ^3H -Leu 标记的可溶性蛋白放射活性增加。从而说明, He-Ne 激光辐射能促进玉米幼苗可溶性蛋白的合成。

关键词 He-Ne 激光, 玉米幼苗, 核酸, 可溶性蛋白, ^3H -Leu

低剂量激光照射种子能提高作物产量已逐渐被人们所承认。有关其机理研究已有报道, 多偏重于激光辐射可提高作物体内某些关键酶的活性^[1~3], 引起同工酶谱的改变^[4,5], 促使作物的核酸及蛋白含量增高^[6], 特别是激光与 DNA 相互作用的研究报道逐年增加^[7,8]。

本文通过 He-Ne 激光辐射玉米干种子, 测试二、三叶期幼苗中可溶性蛋白及核酸含量的变化, SDS-PAGE 图谱分析, 以及 ^3H -Leu 渗入可溶性蛋白含量的改变, 探讨激光对作物蛋白质合成的影响, 为激光辐射促进作物增产的机理研究积累资料。

1 材料与方 法

玉米(*Zea mays* L.) 品种为陕单 911, 经 0.1% HgCl_2 消毒, 自然干燥后进行激光照射。所用 He-Ne 激光器的波长为 632.8nm, 光斑直径为 1.5mm, 直射玉米种子胚, 距离为 36 cm, 辐射功率密度为 2.83 mW/mm^2 , 3.95 mW/mm^2 。每种功率的照射时间为 5 s, 50 s, 500 s。处理组连同对照组共 7 组, 每组 20 粒种子, 均置于 25 $^\circ\text{C}$ 恒温箱中浸种 20 h, 然后播在铺有 2 层滤纸的培养皿中催芽。待出芽后, 放在室温下培养, 浇以克诺普(Knop) 营养液。试验分二叶期(苗龄 10 d)、三叶期(苗龄 14 d) 两个时期。 ^3H -Leu 标记采用张慧等的方法^[9]略作修改。用比放射性浓度为 6 mCi/L 的 ^3H -Leu Knop 营养液代替非标记营养液, 培养苗龄 10 d 的玉米幼苗 24 h。然后, 用非标记营养液继续培养 24 h, 其间更换 5 次营养液。

可溶性蛋白含量的测定按考马斯亮兰 G-250 染料结合法^[10]。SDS-PAGE 按袁晓华等^[11]的方法, 用低分子标准蛋白标定蛋白质的分子量, 以岛津 CS-930 双波长薄层色谱扫描仪进行凝胶扫描, 采用小于 0.5% 面积的蛋白带略去不记法记录谱带。用液体闪烁计数器测试可溶性蛋白放射活性^[9]。总核酸含量用紫外分光光度法测定, 总核酸浓度以 0.0629 A_{260}

0.0360A₂₈₀计算, DNA 测定用二苯胺法。

2 结果分析

2.1 对玉米幼苗可溶性蛋白含量的影响

从表 1 可见, 处理组的可溶性蛋白含量均高于对照。3.95 mW/mm² 处理组效果均好于相应的 2.83 mW/mm² 组。在辐射时间上, 无论是 3.95 mW/mm² 组, 还是 2.83 mW/mm² 组, 均以 50 s 效果较好, 其中 3.95 mW/mm² 50 s 组效果最佳。

表 1 He-Ne 激光照射对玉米幼苗可溶性蛋白含量的影响

Table 1 The effect of He-Ne laser irradiation on the soluble protein content of corn seedling (mg/g F. W.)

power densities	material (shan dan 911)		without laser irradiation	laser irradiation time		
				5 s	50 s	500 s
2.83 mW/mm ²	stage of two leaves	leaves	2.18 ± 0.16	2.34 ± 0.15	2.65 ± 0.09	2.59 ± 0.11
		root	1.09 ± 0.08	1.56 ± 0.08	2.58 ± 0.04	2.34 ± 0.16
	stage of three leaves	leaves	2.21 ± 0.09	2.54 ± 0.16	3.08 ± 0.21	2.96 ± 0.04
		root	1.24 ± 0.21	2.02 ± 0.16	2.89 ± 0.13	2.79 ± 0.10
3.95 mW/mm ²	stage of two leaves	leaves	2.18 ± 0.14	2.79 ± 0.08	3.19 ± 0.10	3.07 ± 0.15
		root	1.09 ± 0.08	2.67 ± 0.15	3.00 ± 0.15	2.98 ± 0.23
	stage of three leaves	leaves	2.21 ± 0.09	3.50 ± 0.04	4.00 ± 0.16	3.91 ± 0.02
		root	1.24 ± 0.22	2.94 ± 0.08	3.14 ± 0.15	3.04 ± 0.05

2.2 对 SDS PAGE 谱带的影响

SDS-PAGE 分析表明(图 1, 图 2), 激光照射引起玉米幼苗可溶性蛋白谱带数目增加。无论是 3.95 mW/mm² 组, 还是 2.83 mW/mm² 组中, 50 s 照射时间的谱带数均多于相应的 5 s, 500 s 组。尤其是 3.95 mW/mm² 50 s 组带数最多。

二叶期处理组叶和根中增加的谱带都分布于高分子量带区, 而三叶期处理组增加的谱带

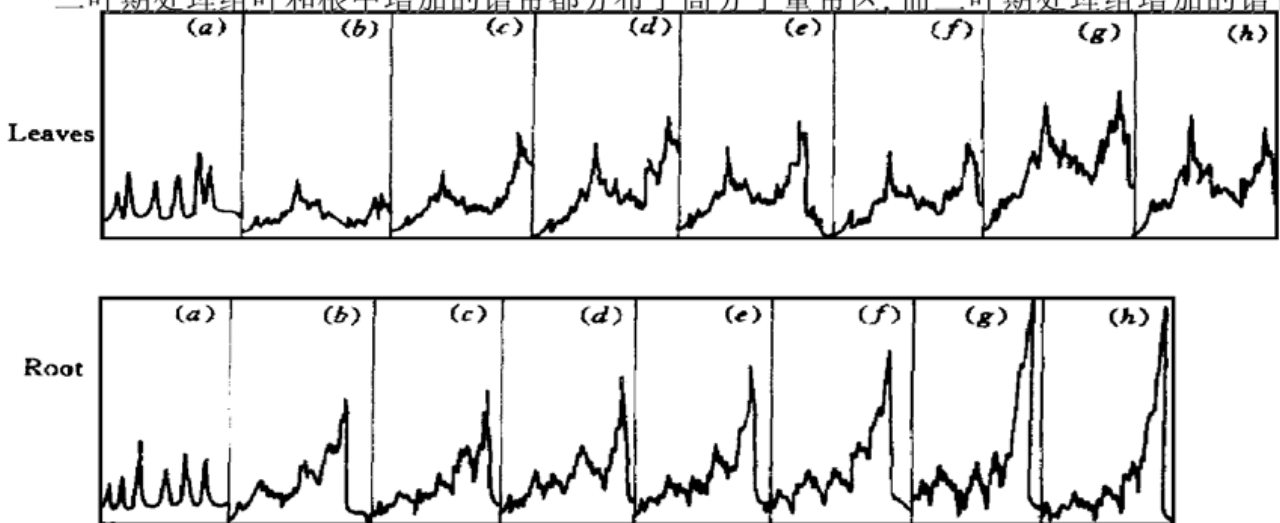


图 1 He-Ne 激光照射对二叶期玉米幼苗 SDS-PAGE 图谱的影响

Fig. 1 SDS-PAGE scanning atlas in stage of second leaves corn seedling

(a) lower molecular standard protein; (b) without laser treatment; (c) 2.83 mW/mm² 5 s; (d) 2.83 mW/mm² 50 s; (e) 2.83 mW/mm² 500 s; (f) 3.95 mW/mm² 5 s; (g) 3.95 mW/mm² 50 s; (h) 3.95 mW/mm² 500 s

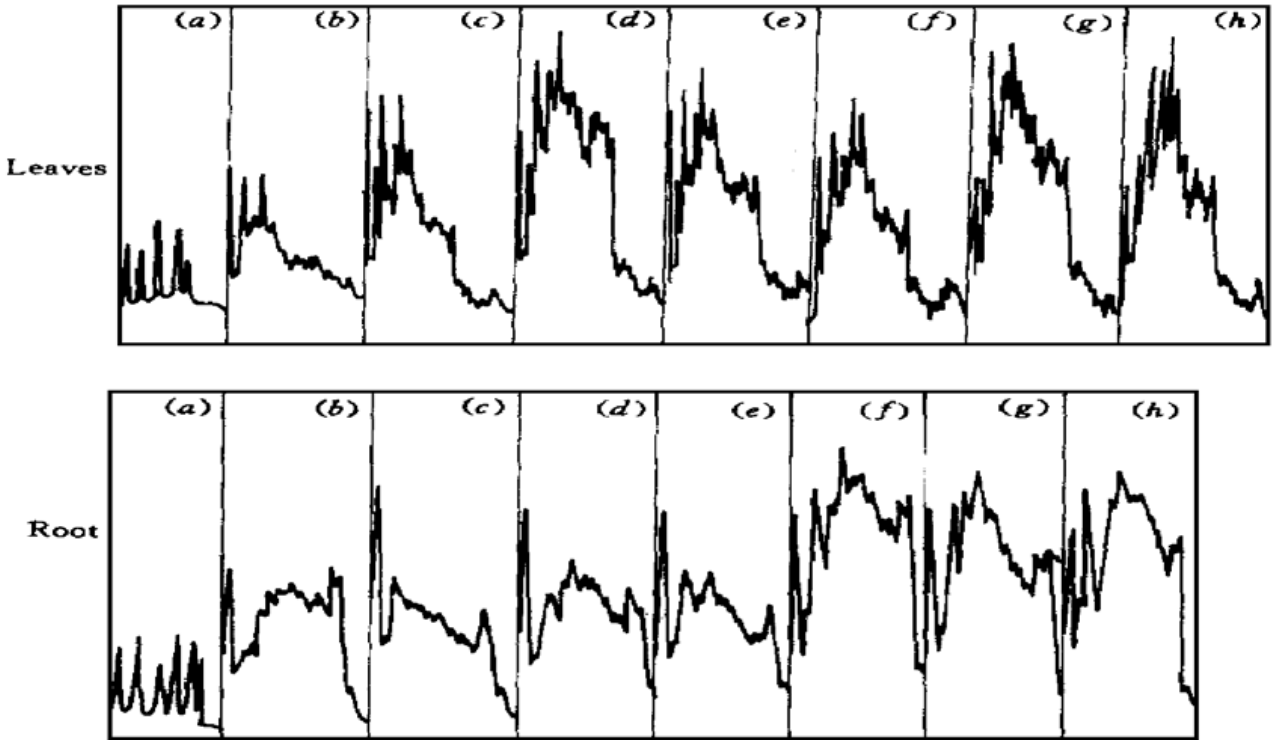


图 2 He-Ne 激光照射对三叶期玉米幼苗 SDS-PAGE 图谱的影响

Fig. 2 SDS-PAGE scanning atlas in stage of three leaves corn seedling

(a) lower molecular standard protein; (b) without laser treatment; (c) 2.83 mW/mm² 5 s; (d) 2.83 mW/mm² 50 s; (e) 2.83 mW/mm² 500 s; (f) 3.95 mW/mm² 5 s; (g) 3.95 mW/mm² 50 s; (h) 3.95 mW/mm² 500 s

分布在低分子量带区。

2.3 对³H Leu 向玉米幼苗可溶性蛋白渗入的影响

放射性活性测定结果表明, 3.95 mW/mm² 组的放射活性均高于 2.83 mW/mm² 各组。两种功率密度组中均以 50 s 组放射活性最高(表 2)。

表 2 He-Ne 激光照射对³H Leu 标记可溶性蛋白放射活性的影响

Table 2 The effect of He-Ne laser irradiation on ³H Leu labeled soluble protein radiactivity of corn seedling (cpm/ g F. W.)

material	power densities mW/ mm ²	without laser	laser irradiation time		
		irradiation	5 s	50 s	500 s
leaves	2.83	556.26 ± 1.28	852.00 ± 2.60	926.00 ± 2.49	892.53 ± 1.89
	3.95		953.06 ± 2.01	1052.80 ± 2.00	981.66 ± 1.39
root	2.83	1556.33 ± 1.95	2222.33 ± 2.02	3002.33 ± 1.61	2751.86 ± 2.09
	3.95		3309.20 ± 2.53	3902.60 ± 1.58	3554.20 ± 2.02

2.4 对玉米幼苗核酸含量的影响

处理组的总核酸, DNA 和 RNA 含量(总核酸含量-DNA 含量)一般均高于相应的对照组(表 3, 表 4)。两种功率密度的各组中同样是 50 s 组效果较好, 其中 3.95 mW/mm² 50 s 组核酸含量最高。

从各种测试结果可见, 3.95 mW/mm² 组优于 2.83 mW/mm² 组, 处理时间的效果顺序一

一般为 50 s 优于 500 s 优于 5 s 优于 CK。其中 3.95 mW/mm² 50 s 的效果为最佳。另外, 处理组中根的各种测试结果, 其变化幅度均大于叶, 是由于根对外界刺激比叶敏感所致。

表 3 He-Ne 激光照射对玉米幼苗总核酸含量的影响

Table 3 The effect of He-Ne laser irradiation on nucleic acid content of corn seedling (mg/g F. W.)

power densities	material (shan dan 911)		without laser irradiation	laser irradiation time		
				5 s	50 s	500 s
2.83 mW/mm ²	stage of	leaves	1.04 ± 0.06	1.20 ± 0.05	1.65 ± 0.05	1.34 ± 0.04
	two leaves	root	0.61 ± 0.05	0.73 ± 0.06	1.04 ± 0.03	0.88 ± 0.02
	stage of	leaves	1.31 ± 0.02	1.45 ± 0.02	1.90 ± 0.06	1.60 ± 0.06
	three leaves	root	0.89 ± 0.06	1.12 ± 0.06	1.32 ± 0.07	1.16 ± 0.06
3.95 mW/mm ²	stage of	leaves	1.04 ± 0.06	1.91 ± 0.07	2.28 ± 0.07	2.12 ± 0.07
	two leaves	root	0.61 ± 0.05	1.12 ± 0.03	1.32 ± 0.06	1.15 ± 0.06
	stage of	leaves	1.31 ± 0.02	2.40 ± 0.04	2.57 ± 0.08	2.35 ± 0.07
	three leaves	root	0.89 ± 0.06	1.36 ± 0.05	1.60 ± 0.05	1.45 ± 0.06

表 4 He-Ne 激光照射对玉米幼苗 DNA 含量的影响

Table 4 The effect of He-Ne laser irradiation on DNA content of corn seedling (μg/g F. W.)

power densities	material (shan dan 911)		without laser irradiation	laser irradiation time		
				5 s	50 s	500 s
2.83 mW/mm ²	stage of	leaves	50.20 ± 0.20	58.87 ± 0.22	74.21 ± 0.25	69.82 ± 0.28
	two leaves	root	27.40 ± 0.14	36.04 ± 0.14	52.28 ± 0.16	47.73 ± 0.13
	stage of	leaves	62.25 ± 0.13	69.61 ± 0.15	85.30 ± 0.18	80.37 ± 0.13
	three leaves	root	39.55 ± 0.23	47.22 ± 0.18	63.53 ± 0.16	58.93 ± 0.24
3.95 mW/mm ²	stage of	leaves	50.20 ± 0.20	79.61 ± 0.29	89.57 ± 0.18	84.82 ± 0.22
	two leaves	root	27.40 ± 0.14	58.71 ± 0.14	67.04 ± 0.14	63.33 ± 0.13
	stage of	leaves	62.25 ± 0.13	90.09 ± 0.10	100.25 ± 0.22	95.67 ± 0.29
	three leaves	root	39.55 ± 0.23	69.03 ± 0.18	78.29 ± 0.15	74.29 ± 0.16

3 讨 论

可溶性蛋白是存在于细胞中的由多种酶系构成的非膜结合蛋白体系, 激光照射能提高可溶性蛋白的合成速率与其能促进 POD, CAT^[1], 硝酸还原酶^[2] 和酯酶^[3] 等酶活性增高相一致。由于某些关键酶活性的提高, 增强了作物代谢水平, 有利于作物生长、发育, 促进作物产量提高。

激光可促使可溶性蛋白合成速率增高, 与激光作用于 DNA 直接相关。激光通过对 DNA 的直接作用引起染色体的改变^[8], 出现染色体断片、染色体桥以及双核细胞等^[3]。由于 DNA 的改变, 通过转录将信息传到 RNA, 进一步转译出新的蛋白。RNA 含量的提高, 亦反映出玉米幼苗基因表达的调控发生改变。而激光辐射使幼苗 SDS-PAGE 谱带数目增加, 提示了有新的蛋白合成。可溶性蛋白含量增加直接与新蛋白的合成及可溶性蛋白合成速率增高相关。可溶性蛋白含量与抗寒性之间存在正相关^[12], 植物抗寒性的提高可能涉及特异蛋白质形成^[13]。He-Ne 激光照射使玉米幼苗可溶性蛋白含量增加, POD, CAT 活性增高^[1], 一定程度上反映了幼苗抗寒性的增强, 也是提高作物产量的因素之一。

致谢 西北大学秦振栋教授对本工作给予大力支持和帮助,马捷、张健同志参加部分测试工作,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 Cai Suwen, Zhao Xuesong, Lu Fengtuo *et al.*. The influence of He-Ne laser irradiation on the active oxygen metabolism of corn seedlings. *Chinese J. Lasers* (中国激光), 1994, **A21**(9): 767~ 771 (in Chinese)
- 2 A. Putnova, J. Sebanek, J. Minarand *et al.*. The effect of laser irradiation of dry seeds on the activity of nitrate reductase in pea roots. *B. A.*, 1989, No. 124145
- 3 Guo Guiyun, Wang Youhao, Li Yubin *et al.*. Preliminary test on tomato seeds irradiating with He-Ne laser. *Natural Sciences J. of Harbin Normal University* (哈尔滨师范大学自然科学学报), 1990, **6**(4): 59~ 64 (in Chinese)
- 4 Chen Zhenggu, Liu Xiaogang, Xu Chenling *et al.*. Studies on laser irradiated tea anther culture and analysis on its peroxidase isozyme. *Laser Biology* (激光生物学), 1995, **4**(2): 630~ 635 (in Chinese)
- 5 Xu Meifen. Biological effects of lasers in wheat. *Applied Laser* (应用激光), 1995, **15**(3): 131~ 134 (in Chinese)
- 6 S. R. Govil, D. C. Agrawal, K. P. Ral *et al.*. Physiological responses of vigna radiata L. to nitrogen and argon laers irradiation. *Plant Physiol.*, 1991, **34**(1): 72~ 76
- 7 Cao Enhua. Action of laers on DNA. *Laser Biology* (激光生物学), 1993, **2**(3): 289~ 295 (in Chinese)
- 8 Xiang Yang. *Laser Biology*. Changsha: Hunan Science and Technology Publishing House, 1995. 73~ 226 (in Chinese)
- 9 Zhang Hui, Wang Peihong. Tracer research for the protein synthesis and separatment in the osmotic stressed leaves of wheat. *Plant Physiology J.* (植物生理学报), 1985, **11**(3): 260~ 267 (in Chinese)
- 10 Li Ling, Jiao Xinzhi. A new method of applying to coomassie brilliant blue-G250 to test the content of protein. *Plant Physiology Communications* (植物生理通讯), 1980, (6): 52~ 55 (in Chinese)
- 11 Yuan Xiaohua. *Plant Physiological and Biochemical Test*. Beijing: Beijing Education Publishing House, 1983. 57~ 60 (in Chinese)
- 12 Wang Rongfu. The kinds of plant hardiness criteria and their application. *Plant Physiology Communications* (植物生理通讯), 1987, (3): 49~ 55 (in Chinese)
- 13 Luo Zhengrong. Relationship between plant hormones and cold resistance. *Plant Physiology Communications* (植物生理通讯), 1989, (3): 1~ 5 (in Chinese)

The Effect of He-Ne Laser Irradiation on Soluble Protein Synthesis of Corn Seedling

Cai Suwen Qi Zhi Ma Xiaolai

(Department of Biology, Northwest University, Xi'an 710069)

Jiang Jingqing

(Northwest Polytechnic University, Xi'an 710072)

Abstract This paper presents experimental studies in which the drying corn (*Zea may L.*) seeds were irradiated by He-Ne laser at lower power. The measurement result showed that the soluble protein and nucleic acid contents in the corn seedling were enhanced after using laser irradiated drying seeds, while their SDS-PAGE spectra bands number and ³H-Leu labeled soluble protein radioactivity were increased. According to this, it could show that soluble protein synthesis of corn seedling could be promoted by He-Ne laser radiating drying seeds.

Key words He-Ne laser, corn seedling, soluble protein, nucleic acid, ³H-Leu