

文章编号: 0258-7025(2002)01-0091-04

激光对蚕豆幼苗紫外线-B 辐射 损伤的防护作用

齐 智¹, 岳 明¹, 王勋陵^{1,2*}, 蔡素雯¹

(¹ 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; ² 兰州大学生命科学学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要 用不同剂量的 He-Ne 激光和 CO₂ 激光辐射蚕豆(*Vicia faba* L.) 种子胚, 对其幼苗进行丙二醛(MDA) 和抗坏血酸(AsA) 含量测定。结果发现 He-Ne 激光的效果优于 CO₂ 激光, He-Ne 激光的最佳辐射剂量为 5.43 mW·mm⁻², 最佳辐射时间为 5 min。先用 He-Ne 激光辐射蚕豆种子, 待其长至幼苗时, 在光背景(PAR) 70 μmol·m⁻²·s⁻¹ 条件下, 用 3.03 kJ·m⁻² UV-B 照射 7 h/d, 然后对其超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT) 酶活性以及同工酶谱进行测定。结果发现 He-Ne 激光辐射可提高 SOD、POD、CAT 酶活性; 改变 SOD、CAT 同工酶谱。从而说明, 激光对 UV-B 辐射损伤植物具有一定的防护作用。

关键词 He-Ne 激光, 蚕豆, UV-B, 防护作用

中图分类号 Q 631 文献标识码 A

Protect Effect of He-Ne Laser Pretreatment on Broad Bean Seedling Damage by UV-B Radiation

QI Zhi¹, YUE Ming¹, WANG Xun-ling^{1,2}, CAI Su-wen¹

(¹ School of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069)
(² School of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Abstract The broad bean(*Vicia faba* L.) seeds were irradiated by He-Ne laser and CO₂ laser, then both of MDA and AsA were tested in the stage of their seedlings. The results showed that He-Ne laser was better than CO₂ laser. The best dose of He-Ne laser was 5.43 mW·mm⁻². He-Ne laser pretreated seeds and 3.03 kJ·m⁻² UV-B irradiated seedlings in the condition of PAR 70 μmol·m⁻²·s⁻¹. SOD, POD, CAT enzyme activity, SOD, POD, CAT isoenzymes were measured. The results showed that He-Ne laser could enhance SOD, POD, CAT enzyme activity, changed SOD, CAT isoenzyme bands. It was concluded that laser pretreatment could protect broad bean seedling from UV-B irradiation damage.

Key words He-Ne laser, broad bean, UV-B, protect

随着现代工业释放出的大量污染气体, 特别是氯氟烃(CFCs) 和氮氧化物等气体进入平流层后会导
致臭氧的耗损, 从而破坏臭氧层。臭氧层作为地球的“外衣”主要作用是吸收太阳光中的紫外线(UV)。臭氧层减薄引起到达地球表面的 UV-B 辐射强度增加^[1]。大气中臭氧每减少 1%, 到达地表紫外辐射强度增加 2%。UV-B 辐射已经产生和将要产生严

重的生态后果。曾经预计大约 2000 年会出现 UV-B 辐射高峰, 而且 UV-B 辐射会伴随人类整个下世纪^[2]。据报道, 臭氧层每减少 1%, 将使粮食减少 2%^[3]。因此, 这一问题已被列为全球环境变化的重要问题之一, 而受到世界各国的广泛关注。控制 O₃ 层变薄、揭示 UV-B 对植物的影响以及制定有效的防护对策, 已经成为世界各国面临的一项重大课题。

收稿日期 2000-10-09; 收到修改稿日期 2000-11-17

基金项目 国家自然科学基金(39970126) 资助项目。

作者简介 齐智(1970—) 男, 陕西吴旗人, 博士, 研究方向为激光生物学及分子生物学。E-mail: mnuqizhi@263.net

* 通讯联系人。

目前,人们已提出许多防护 UV-B 的方法,如使用高浓度的 CO_2 、高 PAR 以及喷洒防护剂等方法可以减轻 UV-B 的损伤效应^[4,5]。

由于适量的激光辐射可以提高植物的产率,促进生长,增强植物的抗逆性^[6],所以本研究试图利用激光达到防护 UV-B 辐射伤害的目的。

1 材料和方法

蚕豆(*Vicia faba* L.)品种为临蚕 2 号,经 0.1% HgCl_2 消毒,自然干燥后进行激光照射,处理方法参考文献[6]的方法。所用 He-Ne 激光器的波长为 632.8 nm,光斑直径为 1.5 mm,辐射剂量为 $5.43 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$; CO_2 激光器的波长为 $10.6 \mu\text{m}$,光斑直径为 30 mm,辐射剂量为 $20.1 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$,距离为 36 cm,直射蚕豆种子胚。辐射时间分别为 5 min, 1 min。然后置于 25°C 恒温箱中浸种 36 h,播种在铺有 2 层滤纸的培养皿中催芽。待出芽后,放在光照培养箱中培养,浇以 Knop 营养液。待幼苗长至 15 d 后,进行 UV-B (波峰 297 nm)照射。采用文献[7]的方法进行照射。UV-B 照射剂量分别为 1.02, 3.03 和 $4.52 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$,每天 7h,光背景(PAR)为 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。将 UV-B 灯置于幼苗正上方进行照射。

丙二醛(MDA)的含量测定参照文献[8]的方法;抗坏血酸(AsA)的含量测定参照文献[9]的方法;POD(过氧化物酶)酶活测定参照文献[10]的方法。SOD(超氧化物歧化酶)酶活测定参照文献[11]的方法。过氧化氢酶(CAT)酶活测定参照文献[12]的方法。SOD、POD 和 CAT 均以光吸收每分钟变化 0.01 OD 为一个酶活单位。

同工酶电泳。POD 同工酶电泳参照文献[13]的方法:分离胶 7.5%,采用抗坏血酸-联苯胺染色法。SOD 同工酶电泳参照文献[14]的方法:分离胶 10.0%,染色方法参照文献[15]。SOD 谱带为蓝色背景上的无色透明带。CAT 同工酶电泳参照文献[16]的方法:分离胶 7.5%(含有 0.5% 可溶性淀粉)采用 H_2O_2 -KI 染色法。CAT 谱带为蓝色背景上的无色透明带。

2 结果分析

2.1 激光剂量和类型以及 UV-B 辐射剂量的筛选

由图 1、2 可见,适量的激光辐照蚕豆种子可降低 MDA 和提高 AsA 的含量。He-Ne 激光的最佳剂量为 $5.43 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$, CO_2 激光的最佳剂量为 $20.1 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$ 。同时发现,He-Ne 激光的效果优于 CO_2 激光。

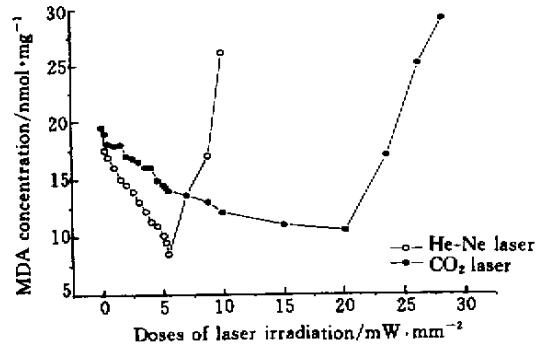


图 1 不同激光剂量及类型对 MDA 含量的影响

Fig.1 Effect of different doses and types of lasers on MDA concentration

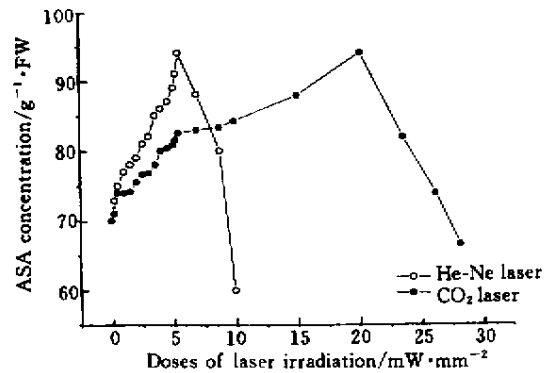


图 2 不同激光剂量及类型对 AsA 含量的影响

Fig.2 Effect of different doses and types of lasers on AsA concentration

由图 3 可见,同对照相比,增强的 UV-B 单独辐射会提高 MDA 的含量,而激光单独辐射则可降低 MDA 的含量。先激光处理,后 UV-B 辐射(L+B)组,其 MDA 的含量明显降低。UV-B 辐射剂量以 $3.03 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ 为宜。

2.2 对 SOD、POD、CAT 酶活性的影响

表 1 为 He-Ne 激光对蚕豆幼苗 SOD、POD 和 CAT 酶活性的影响,由表 1 可知,He-Ne 激光可明显提高 SOD、CAT 和 POD 的酶活性。

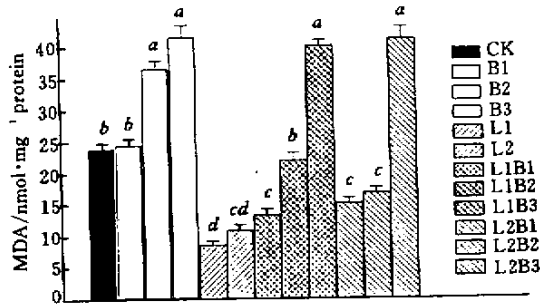


图 3 对蚕豆幼苗 SOD 同工酶谱带的影响

CK 为无激光和 UV-B 辐射处理 ,B 和 L 分别为 UV-B 和激光单独处理 ,L + B 为激光预处理后以 UV-B 辐射处理

Fig.3 Effect of He-Ne laser on SOD isoenzyme bands of broad bean seedling

CK means without laser and UV-B irradiation. B means UV-B irradiation alone. L means laser irradiation alone.

L + B means laser pretreatment broad bean seeds then UV-B irradiating broad bean seedling

表 1 He-Ne 激光对蚕豆幼苗 SOD ,POD 和 CAT 酶活性的影响(unit : mg protein)

Table 1 Effect of He-Ne laser irradiation on SOD , POD and CAT enzyme activities of broad bean seedlings

	Without laser and UV-B	UV-B alone	Laser alone	Laser and UV-B
SOD	1.746 ± 0.04	1.295 ± 0.07	3.065 ± 0.11	2.123 ± 0.09
POD	82.710 ± 3.55	67.150 ± 3.77	175.120 ± 7.45	115.690 ± 5.67
CAT	26.470 ± 1.24	18.270 ± 0.85	49.290 ± 1.32	33.610 ± 1.48

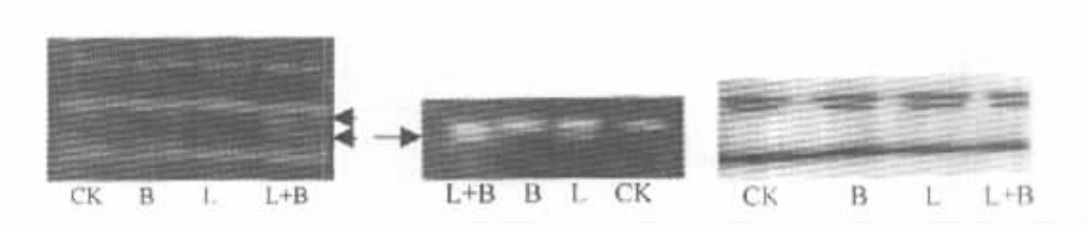


图 4 对蚕豆幼苗 SOD ,CAT 和 POD 同工酶谱带的影响

(CK 为无激光和 UV-B 辐射处理 ,B 和 L 分别为 UV-B 和激光单独处理 ,

L + B 为激光预处理后 UV-B 辐射处理。箭头示新带)

Fig.4 Effect of He-Ne laser on SOD ,CAT and POD isoenzyme bands of broad bean seedling

CK means without laser and UV-B irradiation. B means UV-B irradiation alone. L means laser irradiation alone. L + B means laser pretreatment broad bean seeds then UV-B irradiating broad bean seedling. An arrowhead (←) means a new band compared to other bands

2.3 同工酶电泳

由图 4 可知 ,激光处理蚕豆种子 ,待其长自幼苗时 ,进行 UV-B 处理。结果发现 ,SOD 同工酶谱增加了 2 条带 ,CAT 同工酶谱增加了 1 条带(即 L + B) ,POD 同工酶电泳谱带表明 ,不管是 UV-B 还是激光单独辐射 ,或是激光预处理然后进行 UV-B 辐射(即 L + B) ,POD 同工酶电泳谱带均无变化。

3 讨 论

为确定激光防护紫外线-B 辐射伤害植物的最佳剂量 ,本实验以丙二醛(MDA)和抗坏血酸(AsA)为指标 ,对 He-Ne 激光和 CO₂ 激光的不同剂量进行

筛选测定 ,结果表明 He-Ne 激光在 0.5 ~ 5.43 mW · mm⁻² ,CO₂ 激光在 1.5 ~ 20.1 mW · mm⁻² 的剂量范围内均对 UV-B 对植物伤害有防护作用 ,其中以 He-Ne 激光 5.43 mW · mm⁻² ,CO₂ 激光 20.1 mW · mm⁻² 为最佳。这一结果将作为今后进一步研究激光防护作用的实验剂量。

UV-B 增强可引起植物细胞内 MDA 含量明显升高^[17] ,超氧化物歧化酶(SOD) ,过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性下降^[5,8] ,这与本文实验结果相一致。这些结果充分证明了增强 UV-B 对植物产生了明显的伤害作用。因为 MDA 是植物细胞膜脂过氧化的产物 ,其产生越多指示细胞受到伤害越重。

而 SOD, POD 和 CAT 则是一些抗氧化系统的酶类, 当 UV-B 引起膜脂过氧化产生了自由基后, 它们便参与了自由基的清除, 因消耗而会使酶活性下降。可是, 当在一定剂量的激光作用下, 结果出现逆转, MDA 含量下降, SOD, CAT 和 POD 的活性升高。这表明激光在防止植物细胞膜损伤上发挥了作用。激光的作用到底是激光增强了细胞膜的抗氧化能力, 还是预先与 UV-B 作用后提高了 SOD, CAT 和 POD 等酶的活性, 这尚需进一步深入研究。但从 SOD 和 CAT 同工酶谱中增加了新的谱带来看, 激光很可能是引起植物抗氧化基因的激活。因为在单独 UV-B 处理后并未改变同工酶谱带, 只有在激光与 UV-B 共同处理时才出现新的谱带。SOD 和 CAT 酶带的增加, 应归于激光的作用, 从而可以认为激光是通过抗氧化系统酶类基因的激活提高酶的活性, 达到防护 UV-B 辐射伤害植物的作用。

参 考 文 献

- 1 R. Stolarshi. Measured trends in stratospheric ozone [J]. *Science*, 1992, **256** :342 ~ 349
- 2 S. Madronich, R. L. Mckenzie, M. M. Caldwell. Changes in ultraviolet radiation reaching the earth' s surface [J]. *Ambio.*, 1995, **24** :143 ~ 152
- 3 T. P. Coohill. Action spectra again [J]. *Photochem. Photobiol.*, 1991, **54** :849 ~ 870
- 4 S. A. Mackerness, L. S. Liu. Individual members of the light-harvesting complex II. Chlorophyll a/b binding protein gene family in pea show differential responses to ultraviolet-B radiation [J]. *Physiol. Plant.*, 1996, **103** (3) :377 ~ 384
- 5 D. Olszyk. UV-B effect on crops : response to the irrigated rice ecosystem [J]. *Plant. Physiol.*, 1996, **148** :26 ~ 34
- 6 Cai Suwen, Qi Zhi, Ma Xiaolai *et al.*. The effect of He-Ne laser irradiation on soluble protein synthesis of corn seedling [J]. *Chinese J. Lasers* (中国激光), 2000, **A27** (3) :284 ~ 288 (in Chinese)
- 7 M. Yue, Y. Li, X. L. Wang. Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on plant nutrients and decomposition of spring wheat under field conditions [J]. *Environ. and Exp. Bot.*, 1998, **40** :187 ~ 196
- 8 S. Predieri, H. A. Borman, D. T. Krizek *et al.*. Influence of UV-B radiation on membrane lipid composition and ethylene evolution in " Doyenbed Hivol " [J]. *Environ. and Exp. Bot.*, 1995, **35** :150 ~ 160
- 9 B. Tonamura. Test reactions for a stopped flow apparatus regulation of 2,6-D and potassium ferricyanide by L-ascorbic acid [J]. *Anal. Biochem.*, 1978, **84** :370 ~ 383
- 10 Yuan Zhaoxing, Ding Jin. Effect of water stress on IAA, IAAPOD and POD activity in cotton leaves [J]. *Acta Photophysiologicala* (植物生理学报), 1990, **16** (2) :37 ~ 42 (in Chinese)
- 11 C. N. Giannoplitis, S. K. Ries. Superoxide dismutase I : Purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedlings [J]. *Plant. Physiol.*, 1997, **59** :315 ~ 318
- 12 I. Cakmak, H. Marschner. Maynesiam deficiency and high light intensity on enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves [J]. *Plant. Physiol.*, 1998 :12222 ~ 12227
- 13 He Zhong-xiao, Zhang Shu-zhen. The Protein Electrophoresis Technology [M]. Beijing : Science Technology Press, 1999. 356 ~ 367 (in Chinese)
- 14 Wang Zhen-yi. The effect of water stress on SOD and POD activity and isoenzyme of corn [J]. *Northwest Agri. Univer J.* (西北农业大学学报), 1989, **17** (1) :45 ~ 48 (in Chinese)
- 15 C. Beauchamp, L. Fridovich. Superoxide dismutase : Improved assays and an assay applicable to acryl amide gels [J]. *Anal. Biochem.*, 1971, **44** :276 ~ 287
- 16 Xue Ying-long. A Handbook of Plant Physiology [M], 1982. 323 ~ 352 (in Chinese)
- 17 Tang Xudong, An Lizhe, Wang Xunling. Effect of increased UV-B radiation on microsomal membrane properties in broad bean leaves [J]. *Acta Photophysiologicala* (植物生理学报), 1998, **24** (2) :171 ~ 176 (in Chinese)