

文章编号: 0258-7025(2007)08-1163-06

半导体激光防护小麦幼苗紫外线-B 辐射损伤的作用

邱宗波^{1,2}, 朱新军¹, 李方民¹, 刘 晓¹, 岳 明¹

(¹ 西北大学西部资源生物与现代生物技术省部共建教育部重点实验室, 陕西 西安 710069)
² 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘要 用半导体激光(3.97 mW/mm²)和相干光及非相干光转换器(专利:CN255523Y)将半导体激光转换为同功率、同波长和同光斑大小的非相干红光辐照小麦种子。通过分析幼苗期叶片 DNA 及生理变化,考察低剂量激光防护紫外线-B(UV-B)辐射损伤小麦幼苗的光效应。半导体激光预处理使10.08 kJ/m² UV-B 辐射损伤小麦幼苗超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性,紫外吸收物含量、可溶性蛋白质含量、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量及根长显著增加,丙二醛(MDA)含量显著降低。而非相干红光则不能。用酶联免疫(ELISA)方法检测小麦叶片 DNA 受 UV-B 辐射损伤产生的环丁烷嘧啶二聚体(CPD)含量,发现半导体激光能显著降低 UV-B 辐射损伤小麦细胞 DNA 中环丁烷嘧啶二聚体的含量,而非相干红光却不能使其降低。说明半导体激光防护 UV-B 辐射损伤小麦幼苗中光效应不起作用。

关键词 医用光学与生物技术;激光生物学;光效应;生理和分子实验;紫外线-B;小麦

中图分类号 Q 631 文献标识码 A

Precaution against Ultraviolet-B-Induced Damage by Pre-Treating with Semiconductor Laser in Wheat Seedlings

QIU Zong-bo^{1,2}, ZHU Xin-jun¹, LI Fang-min¹, LIU Xiao¹, YUE Ming¹

(¹ Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China,
Ministry of Education, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China
² College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007, China)

Abstract The optical effect of laser on protecting wheat from ultraviolet-B (UV-B) damage was tested. A patented instrument, coherent-to-incoherent optical converter, was employed to transform semiconductor laser into incoherent red light. The wavelength, power and spot diameter of incoherent red light are the same as that of semiconductor laser. A semiconductor laser and incoherent red light with wavelength of 650 nm and power density of 3.97 mW/mm² directly irradiated the embryo of wheat seed for 3 min respectively, and when the seedlings were 12 days old they were irradiated by 10.08 kJ/m² UV-B radiation for 12 h in darkness. Changes in the concentration of malondialdehyde (MDA), UV-B absorbance compounds, soluble protein, chl_a, chl_b, the activities of peroxidase (POD), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and the growth parameters of seedlings (root length, root dry weight) were measured to test the optical effect of laser. The results showed that semiconductor laser pretreatment could enhance the SOD, POD and CAT activity, UV-B absorbance compounds, soluble protein, chl_a and chl_b concentration, and root length, while incoherent red light pretreatment could not. When the cells of plant were irradiated by UV-B, concentration of cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs) in wheats leaves was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method, incoherent red light treatment could not eliminate active

收稿日期: 2007-01-29; 收到修改稿日期: 2007-03-19

基金项目: 国家自然科学基金(30370269)资助项目。

作者简介: 邱宗波(1978—), 女, 河南人, 讲师, 博士研究生, 主要从事植物生理生态及分子生物学方面的研究。

E-mail: zongboqiu7711@163.com

导师简介: 岳明(1967—), 男, 新疆人, 教授, 博士生导师, 主要从事激光生物学和环境生物学方面的研究。

E-mail: yueming@nwu.edu.cn (通信作者)

oxygen and prevent lipid peroxidation in wheat. The results also demonstrate that the plant DNA was injured by UV-B radiation and the semiconductor laser irradiance has the capability to protect plant from UV-B-induced DNA damage, while the incoherent red light could not. It is suggested that the potential mechanism is not the optical effect of laser treatment.

Key words medical optics and biotechnology; laser biology; optical effect; physiology and molecular experiment; ultraviolet-B; wheat

1 引 言

人们已提出许多防护紫外线-B(UV-B)的方法,如使用高浓度的 CO₂,高 PAR,使用矿质营养以及喷洒防护剂等方法可以减轻 UV-B 的损伤效应^[1~4]。适当剂量的激光辐射可以促进植物的生长,提高植物对紫外线的抗性^[5],帮助植物对 UV-B 辐射损伤 DNA 的修复作用。韩榕等^[6,7]报道,用 He-Ne 激光辐照小麦可提高其酶活性,对细胞膜损伤具有修复作用,增强抗逆性。齐智等^[8,9]发现激光对 UV-B 辐射损伤植物具有一定的防护和修复作用。李方民等^[10]报道 CO₂ 激光预处理对 UV-B 辐射引起的小麦幼苗脂质过氧化伤害起到一定的防护作用。激光对生物体的作用主要表现为光效应、电磁效应、热效应和压力效应^[11]。至于哪一种效应对 UV-B 辐射损伤植物起防护和修复作用,至今仍不清楚。齐智等^[12]和韩榕等^[6,7]曾用红光来模拟激光的光效应,以此来研究激光的作用机制。但所用红光与 He-Ne 激光的功率、波长和光斑大小都不一致。本文用半导体激光和非相干红光(与半导体激光同功率、同波长、同光斑大小)对小麦种子进行预处理,待幼苗长到 12 天时进行 UV-B 辐射处理。以此来考察半导体激光和非相干红光对 UV-B 辐射损伤小麦幼苗防护中光效应的作用。

2 材料与方 法

2.1 材料培养及处理

由杨凌示范区种子公司提供春小麦(*Triticum aestivum* L.)绵阳 26 号为实验材料。

选取籽粒饱满、大小均匀的小麦种子用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min 后,用自来水冲洗 50 min,自然干燥后进行激光和非相干红光照射。所用半导体激光器和非相干红光的波长为 650 nm,辐射功率密度为 3.97 mW/mm²,距离为 12 cm,直射小麦种子胚,辐射时间为 3 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,40 粒/皿,每组 5 个重复。待出芽后,培养于 25±1 °C 人工气候室内,浇以荷格伦特(Hoagland)营养液,每天 12 h 光照,相对湿度为 70%。待幼苗长至 12 天后,用 UV-B 灯置于幼苗正上方照射 12 h,UV-B 照射剂量为 10.08 kJ/m²。辐射处理按 Feng 等^[13]的方法进行。处理 12 h 后马上取材,进行各项指标测定。半导体激光器与相干光和非相干光转换器(可将半导体激光转换为同功率、同波长、同光斑大小的非相干红光)均由中国科学院西安光学精密仪器研究所制造。具体实验设计参照表 1。

表 1 半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射处理

Table 1 Semiconductor laser pretreatment, incoherent red light pretreatment and UV-B irradiation

Group/Irradiance	UV-B	Semiconductor laser	Incoherent red light
Control (CK)	0	0	0
Incoherent red light (Nc)	0		3.97 mW/mm ²
Semiconductor laser (L)	0	3.97 mW/mm ²	
UV-B (B)	10.08 kJ/m ²	0	0
Incoherent red light+UV-B (NcB)	10.08 kJ/m ²		3.97 mW/mm ²
Semiconductor laser+UV-B (LB)	10.08 kJ/m ²	3.97 mW/mm ²	

2.2 生理生化指标测定

丙二醛(MDA)含量的测定按 Predieri 等的方法^[14]。超氧化物歧化酶(SOD)活性根据 Giannoplitis 等的方法测定^[15]。以每单位时间内抑

制光化还原 50% 的氮蓝四唑(NBT)为一个酶活性单位(U)。过氧化物酶(POD)活性测定参照文献^[16]的方法。过氧化氢酶(CAT)活性测定参照 Cakmak 等的方法^[17]。紫外吸收物含量的测定参照

Caldwell 的方法^[18]。可溶性蛋白质含量测定参照 Bradford 的方法^[19]。叶绿素含量测定参照 Arnon 的方法^[20]。将根鲜样品材料置 105 °C 烘箱中杀青 10 min, 转至 80 °C 烘干至恒重, 称得根干重。

2.3 DNA 的提取

DNA 提取用改进的十六烷基三乙基溴化铵 (CTAB) 法, 为避免光修复, 一切操作均在暗淡的红光下进行。所得 DNA 样品的紫外吸收扫描曲线极为平滑, 260 nm 吸收峰呈对称分布, OD260/OD280 值在 1.7~1.9 之间, 表明提取的 DNA 样品具有较高的纯度。

2.4 环丁烷嘧啶二聚体的酶联免疫测定

环丁烷嘧啶二聚体 (CPD) 的酶联免疫法 (ELISA) 测定按照 Mori 等^[21] 的方法并略加修改。单克隆抗体 KTM 53 购于美国 Kamiya 生物医学公司, 它被证明能专一识别单链和双链 DNA 上的环丁烷嘧啶二聚体^[22]。酶联免疫测定的实验步骤参照文献^[23]。用 Bio-Rad550 型酶标仪 (USA) 测定 490 nm 光吸收值。

2.5 统计分析

对所有数据进行方差分析, 处理间的差异显著性用新复极差 (Duncan's) 检验。 $p < 0.05$ 表示各处理在 0.05 水平上的差异显著。整个计算过程在 SPSS 和 EXCEL 软件系统上完成。

3 结果和分析

图 1 为半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射对小麦叶片丙二醛含量的影响。其中 FW

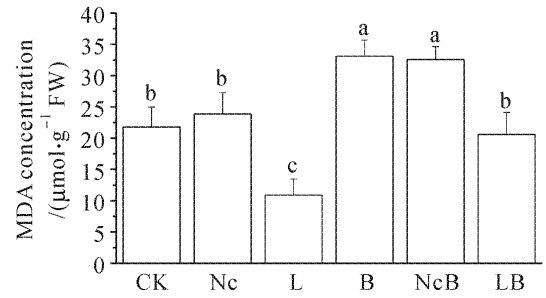


图 1 半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射对小麦叶片丙二醛含量的影响

Fig.1 Effects of semiconductor laser and incoherent red light pretreatment on the concentration of malondialdehyde in wheat leaves exposed to UV-B irradiation

(fresh weight) 为鲜重。从图 1 可以看出, UV-B 辐射处理 (B) 可使小麦叶片丙二醛含量显著增加 ($p < 0.05$), 而经过半导体激光预处理 (LB) 的小麦幼苗其丙二醛含量显著下降 ($p < 0.05$)。说明半导体激光可对 UV-B 损伤小麦幼苗起到一定的防护作用。而预先经过相同功率、相同波长、相同光斑大小的非相干红光处理 (NcB) 的小麦幼苗其丙二醛含量与 UV-B 处理之间没有显著差异。非相干红光处理 (Nc) 的小麦幼苗其丙二醛含量与对照相比无显著差异。说明非相干红光对小麦幼苗膜脂质过氧化的作用影响不大。

半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射对小麦幼苗超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性的影响如表 2 所示。

从表 2 可以看出, 与对照相比, 激光处理可使超

表 2 半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射对小麦幼苗超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性的影响

Table 2 Effects of semiconductor laser and incoherent red light pretreatment on SOD, POD and CAT enzyme activities of wheat seedlings exposed to UV-B irradiation (g⁻¹ FW)

	CK	Nc	L	B	NcB	LB
SOD	64.2±5.9b	61.3±7.1bc	75.9±6.7a	56.4±1.9c	61.8±1.2bc	72.1±0.7a
POD	8.27±0.61bc	9.03±0.51b	9.80±1.92a	7.53±0.50c	7.60±0.57c	8.43±0.23b
CAT	7.62±0.25b	7.12±0.15b	8.75±1.53a	5.76±0.49c	6.07±0.35c	7.58±0.03b

氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性显著增高 ($p < 0.05$), 而 UV-B 处理却使超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性显著下降 ($p < 0.05$)。经过半导体激光预处理的 UV-B 辐射小麦幼苗其超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性显著增加 ($p < 0.05$)。而经过非相干红光预处理的小麦幼苗其超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性

与 UV-B 处理之间没有显著差异。单独非相干红光处理的小麦幼苗其超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性与对照相比无显著差异。说明非相干红光对小麦幼苗超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性影响不大。

图 2 为不同处理对小麦幼苗紫外吸收物含量、可溶性蛋白质含量、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的影

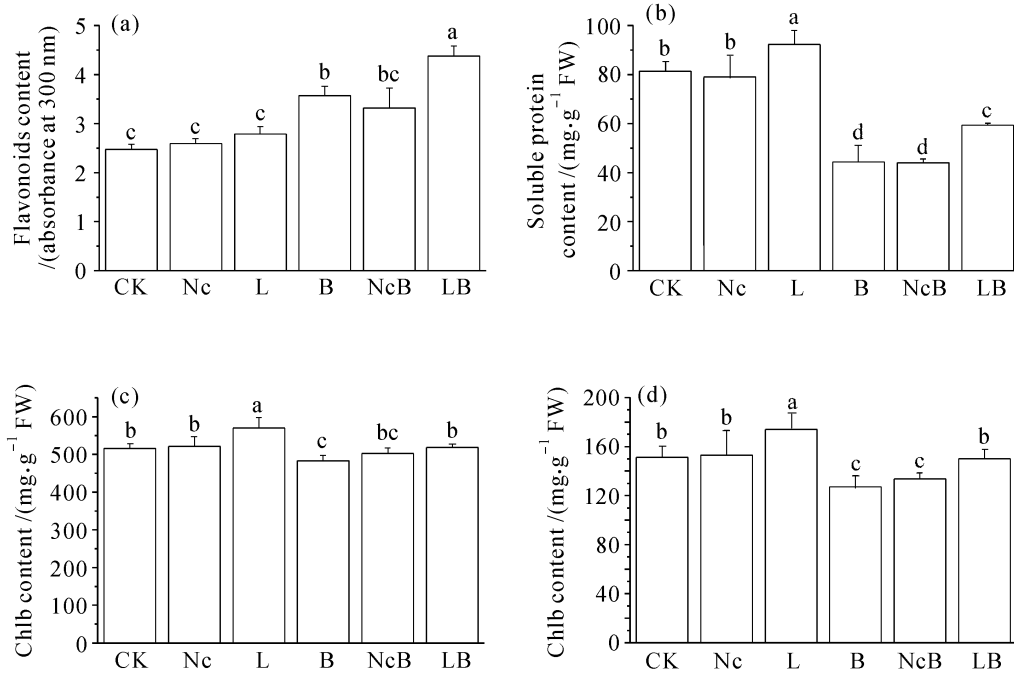


图 2 半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射对小麦幼苗紫外吸收物(a), 可溶性蛋白质(b), 叶绿素 a(c)和叶绿素 b(d)含量的影响

Fig. 2 Effects of semiconductor laser and incoherent red light pretreatment on the concentration of flavonoids (a), soluble protein (b), chl a (c) and chl b (d) in wheat leaves exposed to UV-B irradiation

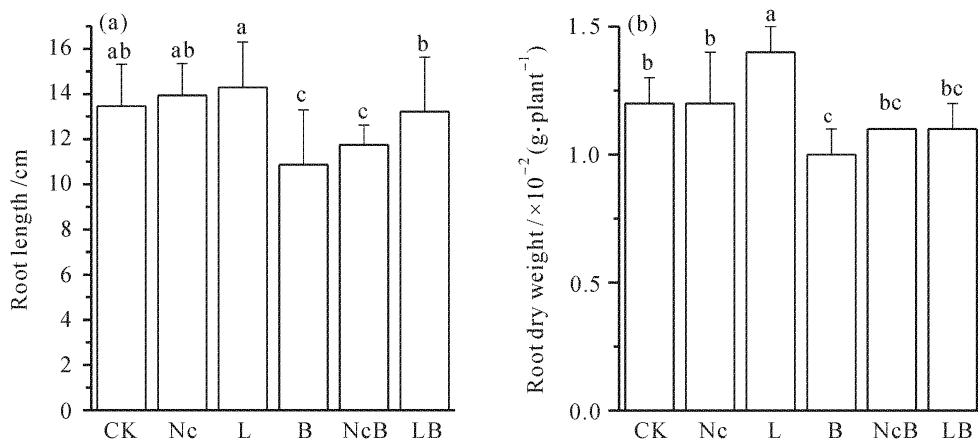


图 3 半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射对小麦幼苗根长和根干重的影响

Fig. 3 Effects of semiconductor laser and incoherent red light pretreatment on root length and root dry weight of wheat seedlings exposed to UV-B irradiation

响。从图 2(a)可以看出,UV-B 辐射处理可使小麦幼苗紫外吸收物含量显著增加 ($p < 0.05$)。预先经过非相干红光处理的小麦幼苗其紫外吸收物含量与 UV-B 处理之间没有显著差异。而经过半导体激光预处理的小麦幼苗其紫外吸收物含量则显著增加 ($p < 0.05$)。半导体激光和非相干红光处理的小麦幼苗紫外吸收物含量略有升高,但与对照相比无显著差异。

从图 2(b)可知,激光处理使小麦幼苗可溶性蛋白质含量显著增加 ($p < 0.05$),而 UV-B 辐射处理

使小麦幼苗可溶性蛋白质含量显著下降 ($p < 0.05$)。预先经过非相干红光处理的小麦幼苗其可溶性蛋白质含量与 UV-B 处理之间没有显著差异。经过半导体激光预处理的 UV-B 辐射小麦幼苗其可溶性蛋白质含量显著增加 ($p < 0.05$)。非相干红光处理的小麦幼苗其可溶性蛋白质含量与对照相比无显著差异。

从图 2(c),(d)可以看出,激光处理使小麦幼苗叶绿素 a 和叶绿素 b 含量显著增加 ($p < 0.05$),而 UV-B 辐射处理使小麦幼苗叶绿素 a 和叶绿素 b 含

量显著下降 ($p < 0.05$)。复合处理中,非相干红光处理的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量与 UV-B 处理无显著差异,而半导体激光预处理可使叶绿素 a 和叶绿素 b 含量显著增加 ($p < 0.05$)。非相干红光处理的小麦幼苗其叶绿素 a 和叶绿素 b 含量与对照相比无显著差异。

图 3 为半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射对小麦幼苗根长和根干重的影响。

从图 3(a)可以看出,UV-B 处理使小麦幼苗根长显著减少 ($p < 0.05$)。复合处理中,非相干红光处理使小麦幼苗根长无显著变化。而半导体激光预处理可使小麦幼苗根长显著增加 ($p < 0.05$)。半导体激光和非相干红光处理的小麦幼苗根长与对照相比无显著差异。从图 3(b)可以看出,与对照相比,激光处理使根干重显著增加 ($p < 0.05$),而 UV-B 处理却使根干重显著下降 ($p < 0.05$)。半导体激光和非相干红光预处理的小麦幼苗其根干重与 UV-B 处理之间没有显著差异。非相干红光处理的小麦幼苗其根干重与对照相比无显著差异。说明激光辐照萌发小麦生长点可提高其幼苗生理生化代谢机能,以及自身抵御胁迫和伤害的能力。但在根的生物量上没有体现,还需要进一步的长期实验研究。

图 4 为各处理组环丁烷嘧啶二聚体含量变化图。从中可以看出,UV-B 辐射使小麦细胞中产生大量的环丁烷嘧啶二聚体 ($p < 0.05$),而预先经过激光照射的小麦幼苗环丁烷嘧啶二聚体含量显著降低 ($p < 0.05$),但仍没有恢复到对照水平上。说明半导体激光对 UV-B 辐射损伤 DNA 起到一定的防护作用;而预先经过相同功率、相同波长、相同光斑大小的非相干红光处理的小麦幼苗其环丁烷嘧啶二聚体含量与 UV-B 处理之间没有显著差异。单独用

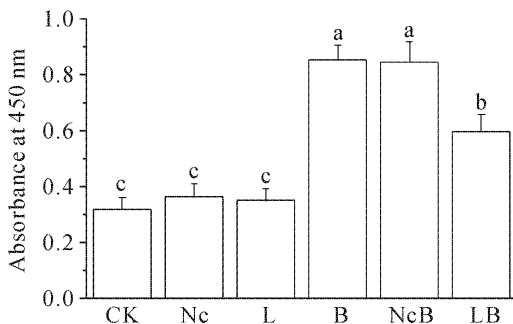


图 4 半导体激光和非相干红光预处理以及 UV-B 辐射对小麦幼苗环丁烷嘧啶二聚体含量的影响

Fig. 4 Effects of semiconductor laser and incoherent red light pretreatment on the concentration of CPD in wheat leaves exposed to UV-B irradiation

激光或非相干红光处理的小麦细胞环丁烷嘧啶二聚体含量与对照之间无显著差异,说明单独的激光和非相干红光处理没有对小麦细胞 DNA 造成伤害。

4 结 论

适当剂量的半导体激光辐照不但影响小麦幼苗的紫外吸收物含量,还影响小麦幼苗的生理生化代谢。而非相干红光则没有这种作用。说明激光在生理生化水平上对 UV-B 辐射损伤具有明显的防护作用,且不是光效应起主要作用。

UV-B 辐射可使小麦幼苗产生大量的环丁烷嘧啶二聚体,而非相干红光处理的小麦幼苗其环丁烷嘧啶二聚体含量与 UV-B 处理之间没有显著差异。说明激光在 DNA 水平上对 UV-B 辐射损伤具有明显的防护作用,且不是光效应起主要作用。

参 考 文 献

- Richard Stolarski, Rumen Bojkov, Lane Bishop *et al.*. Measured trends in stratospheric ozone [J]. *Science*, 1992, **256** (5055):342~349
- S. A. -H. -Mackerness, Liasen Liu, B. Thomas *et al.*. Individual members of the light-harvesting complex II chlorophyll a/b-binding protein gene family in pea (*pisum sativum*) show differential responses to ultraviolet-B radiation [J]. *Physiologia Plantarum*, 1998, **103**(3):377~384
- D. Olszyk, Q. Dai, P. Teng *et al.*. UV-B effects on crops: response of the irrigated rice ecosystem [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1996, **148**(1-2):26~34
- S. B. Agrawal, Dheeraj Rathore. Changes in oxidative stress defense system in wheat (*Triticum aestivum* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) cultivars grown with and without mineral nutrients and irradiated by supplemental ultraviolet-B [J]. *Environmental Experimental Botany*, 2007, **59**:21~33
- 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*, 2000, **A27**(3):284~288
蔡素雯,齐智,马小来等. He-Ne 激光对玉米幼苗可溶性蛋白合成的影响[J]. *中国激光*, 2000, **A27**(3):284~288
- Han Rong, Wang Xunling, Yue Ming. Influence of He-Ne laser irradiation on the damage and repair of wheat seedling by enhanced UV-B radiation [J]. *Chinese J. Lasers*, 2002, **A29** (9):859~863
韩榕,王勋陵,岳明. He-Ne 激光对小麦 DNA UV-B 损伤修复的影响[J]. *中国激光*, 2002, **A29**(9):859~863
- Han Rong, Wang Xunling, Yue Ming. Influence of He-Ne laser irradiation on the excision repair of cyclobutyl pyrimidine dimers in the wheat DNA [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2002, **47**(6):435~438
韩榕,王勋陵,岳明. He-Ne 激光对小麦 DNA 环丁烷嘧啶二聚体切除修复的影响[J]. *科学通报*, 2002, **47**(6):435~438
- Qi Zhi, Yue Ming, Wang Xunling *et al.*. Protect effect of He-Ne laser pretreatment on broad bean seedling damage by UV-B radiation [J]. *Chinese J. Lasers*, 2002, **A29**(1):91~94
齐智,岳明,王勋陵等. 激光对蚕豆幼苗紫外线-B 辐射损伤的防护作用[J]. *中国激光*, 2002, **A29**(1):91~94
- Zhi Qi, Ming Yue, Xunling Wang. Laser pretreatment protects

- cells of broad bean from UV-B radiation damage [J]. *J. Photochemistry Photobiology B*, 2000, **59**(1-3):33~37
- 10 Li Fangmin, Lu Zhiguo, Wang Xunling *et al.*. Protect effects of CO₂ laser pretreatment on wheat seedling lipid peroxidation by UV-B radiation [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2006, **35**(4):561~564
李方民, 陆治国, 王勋陵 等. CO₂ 激光预处理对 UV-B 辐射引起的小麦幼苗脂质过氧化伤害的防护作用[J]. *光子学报*, 2006, **35**(4):561~564
- 11 Yiping Chen, Ming Yue, Xunling Wang. Influence of He-Ne laser irradiation on seeds thermodynamic parameters and seedlings growth of *Isatis indogotica* [J]. *Plant Science*, 2005, **168**:601~606
- 12 Zhi Qi, Ming Yue, Rong Han *et al.*. The damage repair role of He-Ne laser on plants exposed to different intensities of ultraviolet-B radiation [J]. *Photochemistry Photobiology*, 2002, **75**(6):680~686
- 13 Huyuan Feng, Lizhe An, Lingling Tan *et al.*. Effect of enhanced ultraviolet-B radiation on pollen germination and tube growth of 19 taxa in vitro [J]. *Environmental Experimental Botany*, 2000, **43**:45~53
- 14 S. Predieri, H. A. Norman, D. T. Krizek *et al.*. Influence of UV-B radiation on membrane lipid composition and ethylene of evolution in 'Doyenne d' Hiver' pear shoots grown in vitro under different photosynthetic photo fluxes [J]. *Environmental Experimental Botany*, 1995, **35**(2):151~160
- 15 Constantine N. Giannoplitis, Stanley K. Ries. Superoxide dismutase II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings [J]. *Plant Physiology*, 1977, **59**:315~318
- 16 Jingxian Zhang, M. B. Kirkham. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in wheat species [J]. *Plant Cell Physiology*, 1994, **35**(5):785~791
- 17 Ismail Cakmak, Horst Marschner. Magnesium deficiency and high light intensity on enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves [J]. *Plant Physiology*, 1992, **98**:1222~1227
- 18 Martyn M. Caldwell. Solar Ultraviolet radiation as an ecological factor for alpine plants [J]. *Ecological Monographs*, 1968, **38**(3):243~268
- 19 Marion M. Bradford. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, **72**(1-2):248~254
- 20 Daniel I. Arnon. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris [J]. *Plant Physiology*, 1949, **24**:1~15
- 21 T. Mori, M. Nakane, T. Hattori *et al.*. Simultaneous establishment of monoclonal antibodies specific for either cyclobutane pyrimidine dimer or (6-4) photoproduct from the same mouse immunized with ultraviolet-irradiated DNA [J]. *Photochemistry Photobiology*, 1991, **54**(2):225~232
- 22 Shaoshan Li, Markus Paulsson, Lars Olof Björn. Temperature-dependent formation and photorepair of DNA damage induced by UV-B radiation in suspension-cultured tobacco cells [J]. *Journal of Photochemistry Photobiology B: Biology*, 2002, **66**:67~72
- 23 Shaoshan Li, Yan Wang, Xiaojing Wang *et al.*. Cyclobutane pyrimidine dimer accumulation in relation to UV-B sensitivity in rice cultivars [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2000, **42**(6):576~581