

文章编号: 0258-7025(2009)10-2619-06

He-Ne 激光和 UV-B 辐射对小麦幼苗核酸酶的影响

张 娟 韩 榕

(山西师范大学生命科学学院, 山西 临汾 041004)

摘要 分别采用 $5 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$ He-Ne 激光辐照、 $10.08 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 增强紫外线-B(UV-B)辐射及二者组合对“晋麦 8 号”小麦幼苗进行处理,5 d 后测定各处理幼苗叶片和根的 RNA 酶(RNase)和 DNA 酶(DNase)活性变化。结果表明,经 UV-B 辐射后,小麦幼苗叶片和根的核酸酶活性均有明显升高,电泳图谱中其酶谱带均没有增加,只是酶活性的升高;复合处理的小麦幼苗其酶活性较之单独 UV-B 辐射的有显著或极显著降低,电泳后的酶谱带也没有减少,只是活性下降。因此认为一定剂量的 He-Ne 激光辐照能抑制 UV-B 辐射后小麦幼苗核酸酶活性的升高。

关键词 生物光学; He-Ne 激光; UV-B 辐射; 小麦; RNA 酶; DNA 酶

中图分类号 Q682 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20093610.2619

Study on the Nuclease of Wheat Seedling under He-Ne Laser and Ultraviolet-B Radiation

Zhang Juan Han Rong

(College of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen, Shanxi 041004, China)

Abstract Wheat seedlings were exposed to He-Ne laser irradiation ($5 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$ power density), enhanced ultraviolet-B (UV-B) radiation ($10.08 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$), and the combination of He-Ne laser irradiation and enhanced UV-B radiation for 5 days. Changes of DNase activity and RNase activity in the leaves and roots of wheat seedlings were measured to test the potential reparative role of He-Ne laser irradiation. The results show that exposing the seedlings to UV-B radiation results in the increase of the nuclease activity of the leaves and roots. The electrophoresis pattern of nuclease shows that enzyme spectrum zones do not increase, whereas enzyme activity increases. After irradiating by UV-B and the He-Ne laser, the nuclease activity of the leaves and roots becomes is lower than their activity under UV-B radiation alone. The electrophoresis pattern of nuclease also shows that enzyme spectrum zones do not decrease, whereas enzyme activity decreases. The results suggest that damage, induced by enhanced UV-B radiation on wheat seedlings, which affects the activity of nuclease in leaves and roots, can be repaired partially by He-Ne laser irradiation.

Key words biotechnology optics; He-Ne laser; UV-B radiation; wheat; RNase; DNase

1 引 言

紫外线-B(UV-B)辐射增强对植物生长发育产生一系列的影响^[1~3]。生物有机体重要组分核酸在UV-B辐射 280 nm 时有吸收峰,从而受到 UV-B 辐射(280~320 nm)的影响。据研究,脱氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)含量的变化在一定程度上与 DNA 酶(DNase),RNA 酶(RNase)活性的变化呈负相关^[4]。目前关于 UV-B 辐射对小麦核酸酶

的影响研究尚少见报道,本文通过核酸酶的研究以明确植物对 UV-B 辐射增强的适应性及其伤害机制和 He-Ne 激光对其修复作用。

2 材料与方法

2.1 材 料

晋麦 8 号,由山西省农业科学院小麦研究所提供。

收稿日期: 2008-11-13; 收到修改稿日期: 2008-12-08

基金项目: 国家自然科学基金(30671061)、山西省自然科学基金(2008011059-1,20041101)资助课题。

作者简介: 张 娟(1982—),女,硕士研究生,主要从事植物细胞学方面的研究。E-mail: sxtu.xb@163.com

导师简介: 韩 榕(1962—),男,教授,博士,主要从事环境植物学方面的研究。

E-mail: hanrong@dns.sxnu.edu.cn(通信联系人)

2.2 方 法

2.2.1 处理设置

共设对照组(CK)、紫外线 B 处理组(B)、He-Ne 激光处理组(L)、紫外线 B 和 He-Ne 激光复合处理组(BL)4 组。选取籽粒饱满、大小均匀的小麦种子,经质量分数为 0.1%的 HgCl₂ 表面消毒后,培养于盛有湿滤纸的培养皿内,30 粒/盘,每组 3 次重复,25 ℃培养,种子露白时待处理。每天光照 8 h 后,转入暗处培养 16 h。CK 组与 L 组光照 8 h 后,CK 组转入暗处培养 16 h,L 组在暗处 He-Ne 激光处理 2 min 后进行暗培养,B 组与 BL 组光照与紫外线 B 同时照射 8 h 后,B 组转入暗培养 16 h,BL 组在暗处 He-Ne 激光处理 2 min 后进行暗培养。

2.2.2 UV-B 辐射处理

UV-B 辐射强度为 10.08 kJ·m⁻²·d⁻¹,采用紫外辐照计(UV-B 型,北京师范大学光电仪器厂)对 UV-B 辐射功率密度进行测定。仪器预先用 742 型辐射强度测定仪(Optronics Laboratories Orlando,FL,USA)进行校正。紫外线 B 发生用紫外-B 灯(秦牌,宝鸡制造,30 W,297 nm),将其垂直悬于培养皿的上方,并使用 0.13 mm 醋酸纤维素滤膜将 290 nm 以下的 UV 滤掉,用聚乙烯滤膜将 320 nm 以下的 UV-B 滤掉作为对照。通过调整紫外-B 灯与植物培养皿之间的距离来控制 UV-B 辐射的强度^[5,6]。从种子露白时开始处理,到小麦幼苗长出 2 片真叶,共处理 5 d,设 3 次重复。

2.2.3 He-Ne 激光辐照

大功率 He-Ne 激光生物辐照仪(南京激光仪器厂)波长为 632.8 nm,功率密度为 5 mW·mm⁻²,辐照时间为 2 min。激光处理安排在夜间进行,以排除杂光的影响。从种子露白时开始处理,到小麦幼苗长出 2 片真叶,共处理 5 d,设 3 次重复。

2.3 指标的测定

2.3.1 核酸酶活性的测定

RNase 和 DNase 活性的测定采用外源基质法。称取叶片鲜重 0.5 g,加入 2 mL 预冷的乙酸-乙酸钠缓冲液(量浓度 0.1 mol/L,pH5.5)及少量聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)冰浴研磨,离心(12000 r/min,4 ℃)10 min,得到酶粗提液。

取 200 μL 酶粗提液至 1.5 mL 环氧树脂(EP)管中,加入 200 μL 酵母 RNA(质量浓度 10 mg/mL),混匀后置 30 ℃水浴温育 1 h,再加入质量分数 95%乙醇 800 μL,混匀后立即置于 -20 ℃冰箱终止反应,以沉淀未酶解的 RNA,12 h

后离心(12000 r/min,4 ℃),上清液稀释 15 倍后用紫外分光光度计在 260 nm 处比色。

质量浓度 1 mg/mL 的小牛胸腺 DNA 溶液,用前在 100 ℃水浴加热 10 min 后迅速冷却至室温进行变性处理,后同上。根据与不温育样品(经相同沉淀操作)间光密度(OD)260 差值计算酶活性。以每毫克蛋白质每小时变化 1.0 OD260(37 ℃)为一个酶活力单位(U)。样品粗提液中蛋白质含量的测定按考马斯亮蓝 G250 法^[5]。

2.3.2 核酸酶的凝胶电泳分析

取 1 g 叶片加入 2 mL 缓冲液(量浓度 0.05 mol/L Tris-HCl,pH 7.5)在研钵中研磨,Tris 为三(羟甲基)氨基甲烷。匀浆后以离心力 13000×g(*g* 为离心力)于 4 ℃条件下离心 20 min,收集上清液备用。先将 30 μL 蛋白的样品提取液与 10 μL 样品缓冲液[量浓度 0.1×10⁻³ mol/L Tris-HCl,pH6.8,质量分数 2% 十二烷基硫酸钠(SDS),体积分数 10% 甘油,质量分数 0.01% 溴酚蓝]放在 80 ℃水浴中加热 10 min,再进行电泳分离。制备分离胶时加入酵母 RNA 作为 RNase 反应底物。胶中底物 RNA 的质量浓度为 0.3~0.4 mg/mL。电泳完成后,将分离胶放在复性缓冲液(质量分数 25%异丙醇,量浓度 0.01 mol/L Tris-HCl,pH 7.5)中浸洗 2~3 次,每次 5~10 min。再将分离胶置于缓冲液(量浓度 0.1 mol/L Tris-HCl,pH 7.5)中,在 37 ℃下进行酶反应 3 h。用质量分数 0.2% 甲苯胺蓝(toluidine blue)溶液染色 60 min,再用自来水脱色,每 30~60 min 换一次水。DNase 凝胶电泳分析方法同上,只是以 DNA 代替分离胶中加入的 RNA,以 DNA 作为 DNase 的反应底物,其余操作相同。用凝胶电泳分析软件对凝胶中酶反应带的透光度和面积测算各样品中总体 RNase 活性和各泳带中不同 RNase 的相对活性。

2.4 分 析

实验设 3 次重复,做 *t* 检验,进行差异显著性比较,其中 $P < 0.05$ 表示差异显著; $P < 0.01$ 表示差异极显著; $P > 0.05$ 表示差异不显著。

3 结 果

3.1 小麦幼苗叶 RNase 活性的变化

UV-B 单独处理 5 d 后,结果如图 1(a)所示。小麦幼苗叶 RNase 活性显著升高($t_{CK,B} = 7.65$, $P < 0.05$);单独激光处理使得小麦幼苗叶 RNase 活性降低,但降低的幅度不明显($t_{L,CK} = 1.80$, $P >$

0.05); 经 He-Ne 激光和 UV-B 复合处理后, RNase 活性较之单独 UV-B 处理明显降低 ($t_{BL,B} = 19.57, P < 0.01$)。说明 He-Ne 激光能减缓小麦幼苗叶由于 UV-B 辐射造成的 RNase 活性的升高, 对其活性有一定的抑制作用。

3.2 小麦幼苗根 RNase 活性的变化

从图 1(b) 中可以看出, 单独 UV-B 处理 5 d 后,

小麦幼苗根中 RNase 活性显著升高 ($t_{CK,B} = 7.39, P < 0.01$); 单独激光处理也使得小麦幼苗根 RNase 活性升高, 但不显著 ($t_{L,CK} = 0.98, P > 0.05$); 复合处理后, RNase 活性较之单独 UV-B 处理其活性降低 ($t_{BL,B} = 3.21, P < 0.05$)。表明 He-Ne 激光能在一定程度上减缓小麦幼苗根由于 UV-B 辐射造成的 RNase 活性的升高。

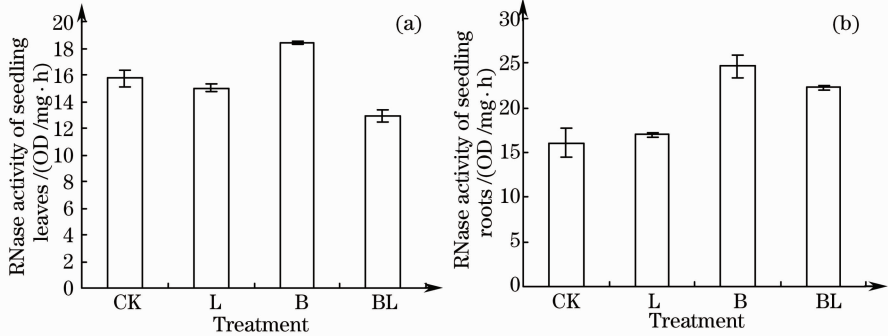


图 1 He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射小麦幼苗 RNA 酶活性的影响

Fig. 1 Effects of He-Ne laser on RNase activity of wheat seedlings exposed to enhanced ultraviolet-B radiation

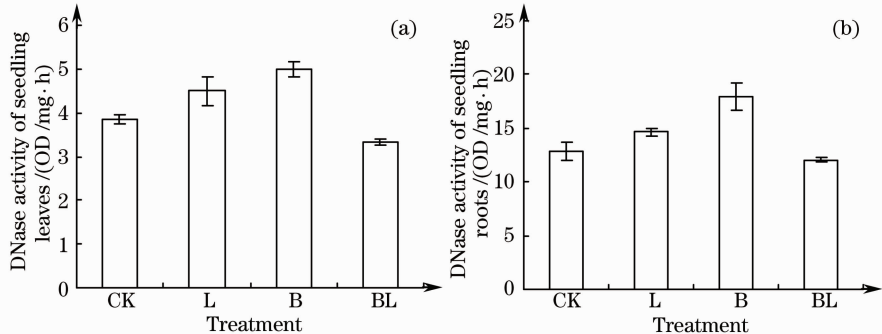


图 2 He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射小麦幼苗 DNA 酶活性的影响

Fig. 2 Effects of He-Ne laser on DNase activity of wheat seedlings exposed to enhanced ultraviolet-B radiation

3.3 小麦幼苗叶 DNase 活性的变化

由图 2(a) 可知, 单独 UV-B 处理可使小麦幼苗叶 DNase 活性显著升高 ($t_{CK,B} = 9.62, P < 0.01$); 单独激光处理使得小麦幼苗叶中其活性升高不显著 ($t_{L,CK} = 3.13, P > 0.05$); 经 He-Ne 激光和 UV-B 复合处理后, DNase 活性较之单独 UV-B 处理显著降低 ($t_{BL,B} = 15.42, P < 0.01$)。表明 He-Ne 激光能很大程度上减缓小麦幼苗叶由于 UV-B 辐射造成的 DNase 活性的升高。

3.4 小麦幼苗根 DNase 活性的变化

图 2(b) 给出经不同处理小麦幼苗根 DNase 的活性变化。单独 UV-B 处理可使小麦幼苗根 DNase 活性显著升高 ($t_{CK,B} = 5.76, P < 0.05$); 单独 He-Ne 激光处理使得小麦幼苗根 DNase 活性也显著升高 ($t_{L,CK} = 3.29, P < 0.05$); 复合处理后, DNase 活性较之单独 UV-B 处理显著降低 ($t_{BL,B} = 7.97,$

$P < 0.05$)。表明 He-Ne 激光能抑制小麦幼苗由于 UV-B 辐射造成的 DNase 活性的升高。

3.5 小麦幼苗叶 RNase 的电泳凝胶图谱

不同处理组小麦叶片 RNase 酶谱如图 3 所示, 其相对迁移率 (R_f) 和积分光密度 (IOD) 见表 1。从图 3 和表 1 可知, 各不同处理组都出现了 2 条 RNase 酶谱带。经 UV-B 处理后, 在 R_f 为 0.72 处谱带的 IOD 值较对照小, R_f 为 0.92 处其酶带颜色较亮, 酶活性升高; 而单独 He-Ne 激光处理与对照相比, 在 R_f 为 0.72 处酶谱带的 IOD 值较对照小, R_f 为 0.92 处其酶带颜色较亮, IOD 值较对照大, 说明酶活性提高了; 而复合处理组与 UV-B 处理组的图谱相比较后发现, 复合处理组在 R_f 为 0.72 和 R_f 为 0.92 处谱带的 IOD 值都小于单独 UV-B 处理组, 酶带颜色变暗, 酶活性降低。

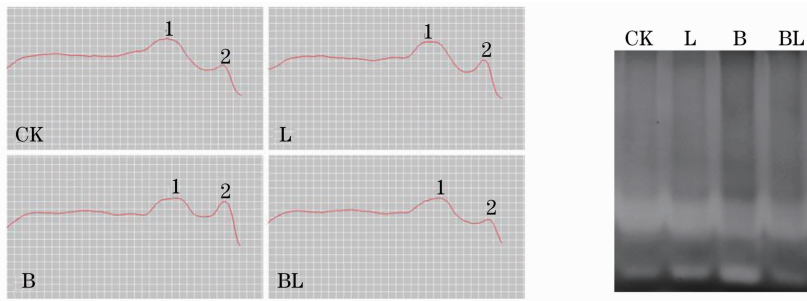


图 3 经不同处理小麦幼苗叶 RNA 酶谱及 IOD 扫描图

Fig. 3 RNase patterns and IOD scanning of wheat seedling leaves after different treatments

表 1 经不同处理小麦叶片 RNA 酶谱的扫描分析(IOD)

Table 1 RNase analysis of wheat seedling leaves after different treatments (IOD)

Band	R_f	CK	L	B	BL
1	0.72	1023	867	924	786
2	0.92	82	153	378	95
sum		1105	1020	1302	881

3.6 小麦幼苗根 RNase 的电泳凝胶图谱

对小麦幼苗根 RNase 酶谱测试结果表明,不同处理组小麦根 RNase 的谱带数没有变化。从图 4 和表 2 中可以看出,UV-B 处理组两个谱带的 IOD

值都变大,酶带变宽,活性升高;单独 He-Ne 激光处理组与对照组相比 IOD 值在 R_f 为 0.72 处增大, R_f 为 0.92 处减小;复合处理组 IOD 值在 R_f 为 0.72 处减小, R_f 为 0.92 处增大,总酶活性较之 UV-B 处理组降低,这可能是生物体为了适应逆境所做的生理调控。说明 He-Ne 激光处理能使得单独 UV-B 处理后小麦幼苗根 RNase 活性有所降低,减缓了 UV-B 对 RNase 活性的促进作用,从而缓解了 RNase 对 RNA 的降解作用。

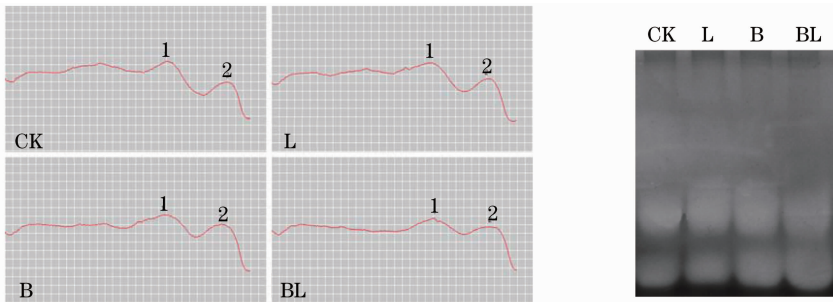


图 4 经不同处理小麦幼苗根 RNA 酶谱及 IOD 扫描图

Fig. 4 RNase patterns and IOD scanning of wheat seedling roots after different treatments

表 2 经不同处理小麦根 RNA 酶谱的扫描分析(IOD)

Table 2 RNase analysis of wheat seedling roots after different treatments (IOD)

Band	R_f	CK	L	B	BL
1	0.72	685	804	1101	708
2	0.92	487	485	689	721
sum		1172	1289	1790	1429

3.7 小麦幼苗叶 DNase 的电泳凝胶图谱

不同处理组小麦幼苗叶的 DNase 酶谱如图 5 所示。从图中可以看出各组均出现一条谱带,酶谱的扫描分析结果表明 R_f 为 0.86 时,CK 组的 IOD 值为 306;与对照相比,UV-B 处理组的 IOD 值高于对照组,为 327,酶带较宽,说明经 UV-B 辐射处理后, DNase 活性升高;经 He-Ne 激光处理,酶带的

IOD 值也略高于 CK 组,为 308,但没有大的差别;BL 组 IOD 值与 B 组的相比有较大幅度减小,为 227,酶带变窄变暗,酶活性降低。

3.8 小麦幼苗根 DNase 的电泳凝胶图谱

图 6 中给出了不同处理组小麦幼苗根的 DNase 酶谱。各组均出现一条谱带,酶谱的扫描分析结果表明 R_f 为 0.86 时,CK 组的 IOD 值为 675;与对照相比,UV-B 组的 IOD 值高于对照组,为 895,酶带较宽,说明经 UV-B 辐射处理后, DNase 活性升高;经 He-Ne 激光处理,酶带的 IOD 值也高于 CK 组,为 695;BL 组 IOD 值与 B 组的相比有较大幅度减小,为 662,酶带变窄,酶活性降低。

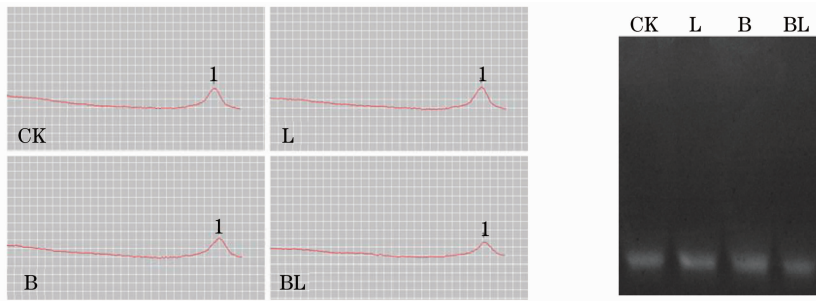


图 5 经不同处理小麦幼苗叶 DNA 酶谱及 IOD 扫描图

Fig. 5 DNase patterns and IOD scanning of wheat seedling leaves after different treatments

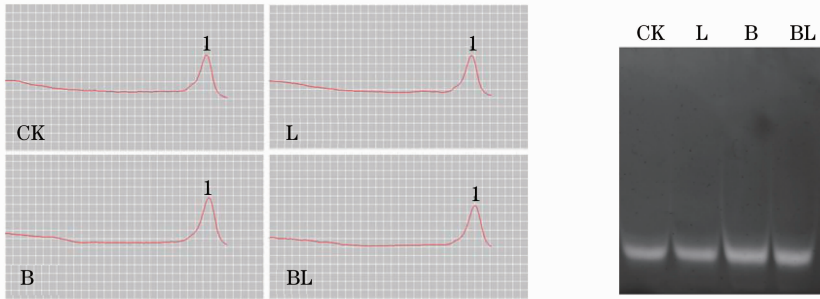


图 6 经不同处理小麦幼苗根 DNA 酶谱及 IOD 扫描图

Fig. 6 DNase patterns and IOD scanning of wheat seedling roots after different treatments

4 讨 论

早期有关植物组织中核酸水解酶活性变化的研究仅局限于测定样品中总体的核酸水解酶活性或核酸降解速率^[8]。干旱胁迫和水胁迫对核酸水解酶的研究已很多^[9,10]。研究植物激素对植物体或外植体生长过程中核酸代谢及其与核酸酶之间关系的工作也很多^[11],而对不同水解酶的特性则缺乏了解。本文采用分光光度法和凝胶电泳法分别对 He-Ne 激光和 UV-B 辐射过的小麦幼苗 DNase, RNase 活性进行了初步研究,并分析了 He-Ne 激光和 UV-B 辐射对两种水解酶活性变化的影响,以期进一步探索核酸酶在 He-Ne 激光对 UV-B 辐射后的小麦幼苗修复中的作用。

前期研究表明,UV-B 辐射使小麦幼苗核酸含量和可溶性蛋白质含量下降^[12~14],核酸等大分子急剧降解是植物器官衰老的主要特征之一^[15,16]。本研究中核酸酶活性有所增加,可能是前期研究中核酸总量下降、可溶性蛋白质含量下降的原因之一。核糖核酸酶在植物体内主要用于降解核糖核酸,核酸是基因表达的模板和工具,蛋白质是基因表达的产物,因而核糖核酸酶活性与蛋白质含量相关。研究表明,UV-B 辐射后 RNA 总量下降,DNA 总量也在下降。因此,核糖核酸酶活性的上升不仅可反映

核酸水平的下降,也可反映蛋白质的降解。凝胶电泳分析发现,UV-B 辐射并没有产生新的核酸酶,核酸酶活性的升高可能是 UV-B 辐射使得核酸酶重新合成,也可能是由存在的前体原酶激活的,还可能是 UV-B 辐射诱导了膜蛋白中色氨酸的光氧化,导致膜结构的破坏,使 DNase 和 RNase 从细胞的区隔中释放出来,致使 DNase 和 RNase 酶活性上升。

激光对生物体的效应主要表现为热、压力、光和电磁场等几方面。低功率激光特别是可见光范围的激光产生的热和压力很少,因此,He-Ne 激光对生物体效应主要表现为光和电磁场效应^[17,18]。光生物调节作用是单色光或激光对生物系统功能的刺激或者抑制作用,不会引起生物系统的损伤。本研究中 He-Ne 激光对生物体的调节作用属于光生物调节。随着研究的深入,人们发现中等强度激光的作用机理通常是通过活性氧来介导的^[19~21]。UV-B 照射后,小麦幼苗体内产生大量的活性氧自由基,而活性氧自由基可直接修饰蛋白质,影响蛋白、酶及生物分子的结构,使蛋白质或酶的关键位点氨基酸被修饰,从而导致酶活性的变化。中等强度的 He-Ne 激光增强了植物体清除活性氧的能力,提高了植物的抗逆性,从而对 UV-B 辐射核酸酶活性的升高有抑制作用。

5 结 论

增强的 UV-B 辐射可对生物体各个方面造成危害,其中核酸酶活性也发生了变化,不论核糖核酸酶还是脱氧核糖核酸酶都在不同程度上有所升高,从而导致核糖核酸和脱氧核糖核酸不同程度的降解。中等强度的 He-Ne 激光可以缓解增强 UV-B 辐射造成的核酸酶活性的升高,进一步影响核酸的量。

参 考 文 献

- 1 Wu Xingchun, Lin Wenxiong, Guo Yuchun *et al.*. Advance in research on the response of plants to the increased ultraviolet-B radiation[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2001, **9**(3): 52~55
吴杏春, 林文雄, 郭玉春等. 植物对 UV-B 辐射增强响应的研究进展[J]. *中国生态农业学报*, 2001, **9**(3): 52~55
- 2 Tang Lina, Lin Wenxiong, Liang Yiyuan *et al.*. Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on soluble protein and nucleic acid in rice leaves[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2004, **12**(1): 40~42
唐莉娜, 林文雄, 梁义元等. UV-B 辐射增强对水稻蛋白质及核酸的影响研究[J]. *中国生态农业学报*, 2004, **12**(1): 40~42
- 3 Qiu Zongbo, Zhu Xinjun, Li Fangmin *et al.*. Precaution against ultraviolet-B-induced damage by pre-treating with semiconductor laser in wheat seedlings[J]. *Chinese J. Lasers*, 2007, **34**(8): 1163~1168
邱宗波, 朱新军, 李方民等. 半导体激光防护小麦幼苗紫外线-B 辐射损伤的作用[J]. *中国激光*, 2007, **34**(8): 1163~1168
- 4 Yang Li, Guo Aiguang, Wang Peihong. Research on the nucleic acid contents and nuclease activated for leaves of wheat albescent line during the albescent period [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2001, **10**(2): 32~35
杨 莉, 郭嵩光, 汪沛洪. 小麦返白系叶片核酸含量及核酸酶活性研究[J]. *西北农业学报*, 2001, **10**(2): 32~35
- 5 He Junmin, Hu Jie, She Xiaoping. Effects of NaCl stress on changes in the ultraviolet-B radiation-induced cyclobutyl pyrimidine dimer and ultraviolet absorbing compound contents in mung bean [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2007, **33**(5): 441~448
贺军民, 胡 洁, 余小平. NaCl 胁迫对 UV-B 辐射诱导的绿豆环丁烷嘧啶二聚体和紫外吸收物质含量变化的影响[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2007, **33**(5): 441~448
- 6 H. Feng, L. An, L. Tang *et al.*. Effect of enhanced UV-B radiation on pollen germination and tube growth of 19 taxa in vitro [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2000, **43**(1): 45~53
- 7 Jiang Weibo. Changes of RNase activities during senescence of parsley leaves [J]. *Plant Physiology Communications*, 2002, **38**(6): 567~568
姜微波. 欧芹叶片衰老过程中的核糖核酸酶类型与活性变化[J]. *植物生理学通讯*, 2002, **38**(6): 567~568
- 8 C. J. Brady. *Nucleic Acid and Protein Synthesis* [M]. San Diego: Academic Press, 1988. 147~179
- 9 Guo Aiguang, Zhang Hui, Wang Baoli *et al.*. Effect of drought stress on the RNase activity and de novo synthesis in wheat leaves [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 1994, **8**(2): 75~79
郭嵩光, 张 慧, 王保莉等. 干旱胁迫对小麦叶片核糖核酸酶活

- 力及合成的影响[J]. *核农学报*, 1994, **8**(2): 75~79
- 10 Wang Wanli, Zhang Xiuying, Lin Zhiping. The effect of water stress on the activity of ribonuclease (RNase) in the leaves of sorghum and other crops [J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1986, **12**(1): 16~25
王万里, 章秀英, 林芝萍. 水分胁迫对高粱等作物叶片中核糖核酸酶活力的影响[J]. *植物生理学报*, 1986, **12**(1): 16~25
 - 11 Zhang Jinglan, Xu Guifang, Tang Dingtai *et al.*. Changes of ribonuclease in cotyledon segment of phaseolus radiatus L. during dedifferentiation [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1984, **26**(4): 381~385
张静兰, 徐桂芳, 唐定台等. 绿豆子叶脱分化过程中核糖核酸酶的变化[J]. *植物学报*, 1984, **26**(4): 381~385
 - 12 Hao Jinhua, Ma Xiaoli, Han Rong. Damage repair effects of He-Ne laser on wheat seedlings exposed to enhanced ultraviolet-B irradiation [J]. *Acta Bot. Boreali-Occident. Sin.*, 2007, **27**(1): 62~67
郝金花, 马晓丽, 韩 榕. He-Ne 激光对小麦幼苗增强 UV-B 辐射损伤的修复研究[J]. *西北植物学报*, 2007, **27**(1): 62~67
 - 13 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
 - 14 Hao Jinhua, Ma Xiaoli, Wang Xiaohua *et al.*. Repair effects and damage of cell of wheat seedlings exposed to enhanced ultraviolet-B radiation by He-Ne laser [J]. *Chinese J. Lasers*, 2007, **34**(11): 1594~1599
郝金花, 马晓丽, 王小花等. He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射小麦细胞损伤及修复效应[J]. *中国激光*, 2007, **34**(11): 1594~1599
 - 15 W. J. Lipton. Senescence of leafy vegetables [J]. *Hort Science*, 1987, **22**(5): 854~859
 - 16 R. E. Paull. Postharvest senescence and physiology of leafy vegetables [J]. *Postharvest News and Information*, 1992, **3**(1): 11~20
 - 17 Xiang Yang. Study on the mechanism of laser variation and biological effect [J]. *J. Optoelectronics. Laser*, 1994, **5**(2): 87~89
向 洋. 激光诱变及生物学作用机制研究[J]. *光电子·激光*, 1994, **5**(2): 87~89
 - 18 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, 马小米等. 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
 - 19 Hou Yaping, Liu Chengyi, Liu Songhao. Cellular rehabilitation mechanism of photobiomodulation [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2008, **17**(4): 559~563
侯亚萍, 刘承宜, 刘颂豪. 光生物调节作用的细胞康复机理[J]. *激光生物学报*, 2008, **17**(4): 559~563
 - 20 Liu Jianlong, Liu Jianjun, Yang Liansheng. Study on the breeding of alkaline amylase producing strain by ultraviolet and He-Ne laser compound mutation [J]. *Chinese J. Lasers*, 2006, **33**(1): 138~142
刘建龙, 刘建军, 杨连生. 碱性淀粉酶菌株紫外线和 He-Ne 激光复合诱变的研究[J]. *中国激光*, 2006, **33**(1): 138~142
 - 21 Xu Chaoyang, Tan Shichi, Xing Da. Effect of He-Ne laser irradiation on $[Ca^{2+}]_i$ and immunocompetence in macrophages [J]. *Chinese J. Lasers*, 2004, **31**(2): 253~256
徐朝阳, 谭石慈, 邢 达. He-Ne 激光照射巨噬细胞对胞内钙浓度及其免疫性的影响[J]. *中国激光*, 2004, **31**(2): 253~256