

# He-Ne 激光和增强 UV-B 辐射对小麦幼苗根 细胞凋亡的影响

孙永星 陈慧泽 李素花 李晓阳 韩 榕

(山西师范大学生命科学学院, 山西 临汾 041004)

**摘要** 采用  $5 \text{ mW/mm}^2$  He-Ne 激光辐照、 $10.08 \text{ kJ}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$  UV-B 辐射及二者组合对冬小麦“临优 2018”幼苗进行处理, 研究各处理组在不同处理天数下细胞凋亡的变化。研究结果显示, 增强 UV-B 辐射能诱导小麦幼苗根尖出现细胞核向中心聚集, 并形成凋亡小体等细胞凋亡现象。用流式细胞仪对不同处理组细胞凋亡情况进行定量分析, 结果同样证明了增强 UV-B 处理能增加凋亡的细胞数目, 并且在处理第 5 天时变化最为明显。而经 He-Ne 激光和 UV-B 复合处理后, 细胞凋亡数目比单独 UV-B 处理组明显减少, 差异极显著。因此认为 He-Ne 激光在一定程度上缓解了增强 UV-B 辐射对小麦幼苗根细胞凋亡的诱导作用。

**关键词** 生物光学; He-Ne 激光; UV-B 辐射; 小麦; 细胞凋亡; 流式细胞仪

中图分类号 Q942; Q631 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201239.0704001

## Effect of He-Ne Laser and UV-B Radiation Enhancement on Apoptosis in the Roots of Wheat Seedling

Sun Yongxing Chen Huize Li Suhua Li Xiaoyang Han Rong

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

**Abstract** Through the influence of the He-Ne laser irradiation of  $5 \text{ mW/mm}^2$  He-Ne,  $10.08 \text{ kJ}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$  UV-B and the combination of the two on the seeding of winter wheat "Linyou 2018", the modification of apoptosis on the roots of seedling in different treatment days and each group are analyzed. The research results indicate that, the features of apoptosis are found in the roots of wheat seedling after enhanced UV-B irradiation, such as nuclear assembled, apoptotic bodies. Apoptosis in different treatment groups by flow cytometry are quantitative analyzed. The results also show that the number of apoptosis are increased after enhanced UV-B irradiation and the differences are obvious in the 5 th day. With the management of He-Ne laser after UV-B radiation, the number of apoptosis is less than that of the UV-B treatment group and decreases obviously. Therefore, the apoptosis of roots of wheat seedling induced by enhanced UV-B radiation can be remitted partly by He-Ne laser irradiation.

**Key words** biotechnology; He-Ne laser; UV-B radiation; wheat; apoptosis; flow cytometry

**OCIS codes** 170.1420; 140.1340; 040.7190

### 1 引 言

近年来, 臭氧层的损耗造成到达地表的太阳辐射中的紫外线[UV-B(280~315 nm)]辐射增加, 这种变化对生物的生存造成了直接的影响, 导致许多动植物在形态结构、生理代谢和遗传特性等方面发生改变<sup>[1,2]</sup>。而激光作为一种技术在提高植物抗逆

性方面有一定的作用。邱宗波等<sup>[3]</sup>用  $\text{CO}_2$  激光预处理小麦能够诱导内源  $\text{H}_2\text{O}_2$  的产生并提高小麦的抗旱能力; 陈怡平等<sup>[4]</sup>用 He-Ne 激光和 UV-B 复合处理对大青叶热解参数进行了分析, 结果表明激光辐照能够提高生化代谢和光合作用, 部分修复了 UV-B 造成的损伤; 张美萍等<sup>[5]</sup>研究发现, 适当剂量

收稿日期: 2011-11-23; 收到修改稿日期: 2012-01-01

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

作者简介: 孙永星(1987—), 男, 硕士研究生, 主要从事植物细胞学方面的研究。E-mail: syx.123@163.com

导师简介: 韩 榕(1962—), 男, 博士, 教授, 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)

的 He-Ne 激光辐照可降低和部分修复由增强 UV-B 辐射对小麦所造成的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶、 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶的活性,维持其代谢平衡。

细胞凋亡又叫细胞程序性死亡(PCD),是细胞受到内、外因子刺激后发生的由基因调控的生理性死亡行为,对生物体的生长发育有着重要的作用<sup>[6]</sup>。目前对于动物细胞凋亡研究比较充分,植物方面起步较晚。但是已有研究发现,各种逆境胁迫因子,比如各种病原体<sup>[7]</sup>、热激<sup>[8,9]</sup>、臭氧<sup>[10,11]</sup>、UV<sup>[12]</sup>、有毒化学物质<sup>[13]</sup>、高盐胁迫<sup>[14]</sup>等都会造成植物细胞凋亡。目前关于 He-Ne 激光和增强 UV-B 辐射对小麦幼苗根细胞凋亡的研究较少,因此本文采用这两种处理方式,研究不同处理组细胞凋亡的情况,旨在为 UV-B 辐射对植物的伤害机制和 He-Ne 激光对其修复作用积累一定的实验基础。

## 2 材料与方法

### 2.1 供试材料

冬小麦临优 2018 品种,种子由山西省农业科学院小麦研究所提供。选取籽粒饱满,大小均匀的小麦种子,经质量分数为 0.1%  $\text{HgCl}_2$  溶液表面消毒后,培养于盛有湿滤纸的培养皿内,每盘 30 粒,每组重复 3 次,25 °C 培养,种子露白时处理。

### 2.2 处理设置

共设对照(CK)、UV-B 处理(B)、He-Ne 激光处理(L)、复合处理(BL)4 组。各组具体处理方法如表 1 所示。

表 1 各处理组的设置及处理程序

Table 1 Establishment and treatment procedure of different groups

Treatment	Light / (h/d)	UV-B radiation / (h/d)	He-Ne laser radiation / (min/d)	Dark culture / (h/d)
CK	8	—	—	16
B	8*	8	—	16
L	8	—	2	16
BL	8*	8	2	16

\* : Represents light and enhanced UV-B radiation at the same time

#### 2.2.1 UV-B 辐射处理

UV-B 辐射强度为 10.08  $\text{kJ}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。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。UV-B 发生用 UV-B 灯(南京华强电子有限公司,30 W,297 nm),直悬于培养皿的上方,通过调整 UV-B 灯与植物培养皿

之间的距离来控制 UV-B 辐射的强度。

#### 2.2.2 He-Ne 激光辐射处理

使用波长为 632.8 nm,功率密度为 5  $\text{mW}/\text{mm}^2$  的大功率 He-Ne 激光生物辐照仪(南京激光仪器厂),辐照时间为 2 min。激光处理在夜间进行,以排除杂光影响。

### 2.3 方 法

#### 2.3.1 细胞凋亡形态观察

待根生长至 1~2 cm 长时,取根尖经卡诺固定 1 h,用体积分数为 70% 的乙醇冲洗后保存于其中。根尖在 60 °C,物质的量浓度为 1 mol/L 的 HCl 中解离 14 min 后,转入蒸馏水中冲洗 10 min。用质量浓度为 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  碘化丙啶(PI)避光染色 10 min,压片,用荧光显微镜(OLYMPUS, U-RFLT50)镜检观察,并拍照保存。

#### 2.3.2 流式细胞仪分析

参照 Jaroslav Dolezel 等<sup>[15,16]</sup>的方法,略做修改。取不同处理组小麦幼苗根 0.5 g,加入 5 mL 的细胞核缓冲液(物质的量浓度分别为 10 mmol/L  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 50 mmol/L KCl, 5 mmol/L 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES), 0.3 mmol/L 二硫苏糖醇(DTT),和体积分数为 0.25% TritonX-100, pH 7.5,现配现用),在 4 °C 条件下用锋利刀片将其切碎,280 目的尼龙网过滤至离心管中,4 °C 静置孵育 10 min。1000 r/min 离心 10 min,弃上清,沉淀加细胞核提取缓冲液冲洗一次,并经 500 目(25  $\mu\text{m}$ )的尼龙布过滤,此即细胞核悬液。

将细胞核悬液加入碘化丙啶(PI,终质量浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )和 RnaseA(终质量浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),经 PI 染色的样品通过流式细胞仪(BD, FACSCalibur),488 nm 的激光管激发,取至少含  $2 \times 10^4$  个经 PI 染色的细胞核样品转移到流式上样管。CellQuest 软件获取数据,观察细胞的形态、活性以及细胞分群等,并区分出单个细胞。实验条件调节好以后,上机低速收集细胞核,并显示直方图。重复上述过程 3 次,做方差分析(ANOVA),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 结果与分析

### 3.1 增强 UV-B 辐射对小麦幼苗根细胞凋亡的诱导

增强 UV-B 辐射处理小麦幼苗根并经 PI 染色后荧光显微镜观察图像如图 1 所示。在未经 UV-B 处理的 CK 组中,正常细胞的细胞核完整呈球形,荧

光成像下其荧光强度较高且内部着色均一,核、质界限分明[图 1(a)]。在 UV-B 处理 1 天后开始形成初期凋亡的细胞[图 1(b)、(c)],细胞核变小[图 1(b)],并逐步向细胞核中心聚集[图 1(c)]。在 UV-B 处理 3 天时,细胞核进一步变小,呈现出不规则形状,有些细胞形成少量的凋亡小体[图 1(d)]。随着 UV-B 处理时间的延长,在第 5 天时,凝聚的染

色质与细胞质成分包裹在一起,形成较多近球状的凋亡小体,并且荧光强度减弱[图 1(e)]。在 UV-B 处理 7 天时,细胞核完全降解成颗粒状的凋亡小体,弥散分布,荧光强度进一步减弱[图 1(f)],部分细胞的细胞核还可能消失呈空泡状。结果表明,增强 UV-B 辐射处理能诱导小麦幼苗根细胞凋亡。

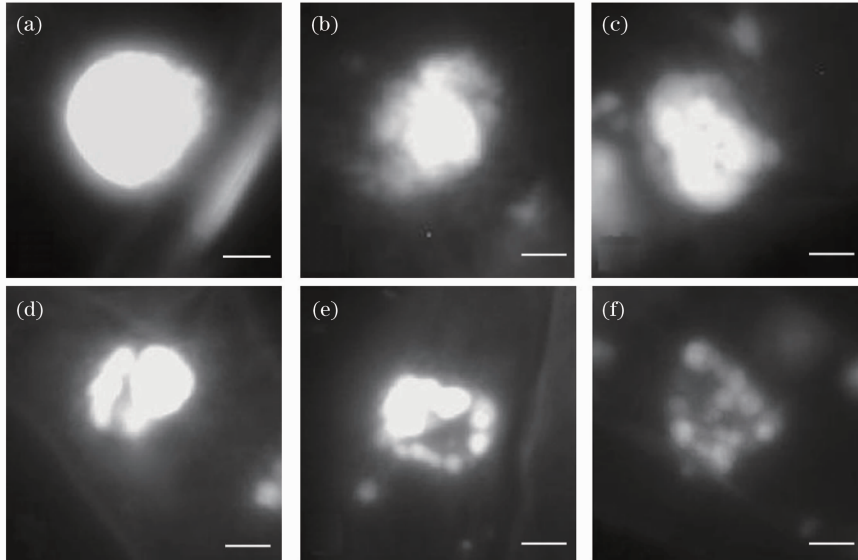


图 1 增强 UV-B 辐射对小麦幼苗根细胞凋亡的诱导

Fig. 1 Apoptosis of wheat seedling roots induced by enhanced UV-B radiation

### 3.2 He-Ne 激光和增强 UV-B 辐射对小麦幼苗根细胞凋亡的流式细胞仪分析

图 2 显示的是用流式细胞仪分析不同处理组  $2 \times 10^4$  个小麦幼苗根细胞凋亡情况,图 2(a)表示的是流式细胞仪细胞凋亡分析图,图 2(b)表示的是细胞凋亡数目[图 2(a), subG<sub>1</sub>]变化图。流式细胞仪是细胞凋亡分析的一个重要手段。它可以使细胞或微粒在液流中流动,逐个通过一入射光束,并用高灵敏度检测器记录下散射光及各种荧光信号,从而得以对粒子进行多参数分析<sup>[17]</sup>。由于细胞凋亡晚期, DNA 发生断裂,所以形成小分子的 DNA 片段,用 DNA 特异荧光标记染料 PI 标记,凋亡的细胞 PI 着染的量就会相应减少,会在正常细胞前出现凋亡峰[图 2(a), subG<sub>1</sub>]。

由图 2 可以看出,随着处理天数的增加,各处理组小麦幼苗根凋亡细胞数目均呈现上升趋势。CK 组和 L 组仅有少量凋亡细胞,在 1、3、5、7 天时分别为 0、81、112、177 和 0、61、95、150,占分析细胞数目的比例为 0%、0.4%、0.56%、0.89%和 0%、0.3%、0.47%、0.75%;B 组和 BL 组则有大量的凋亡细胞产生,分别为 161、280、637、797 和 102、206、351、575,占分析

细胞数目比例为 0.58%、1.4%、3.19%、3.98%和 0.51%、1.03%、1.75%、2.67%。不同处理组在处理第 5 天小麦幼苗根细胞凋亡数目存在明显差异。与对照(CK)相比,单独 UV-B 处理(B)使细胞凋亡数目明显增加,高于对照 339%,差异极显著( $P < 0.01$ );而单独激光处理(L)使细胞凋亡数目低于对照 16.6%,差异不显著( $P > 0.05$ );经 He-Ne 激光和 UV-B 复合处理(BL)后,比单独 UV-B 处理细胞凋亡数目少了 44.9%,但仍高于 CK 组,差异极显著( $P < 0.01$ )。结果表明 He-Ne 激光能在一定程度上降低了小麦幼苗根由于 UV-B 辐射所造成的细胞凋亡数目的增加。

## 4 讨 论

植物细胞凋亡存在于植物体生长发育过程中,是植物响应各种内外环境信号,由特定基因控制的细胞主动死亡现象。已有研究表明,逆境胁迫下会诱导植物产生细胞凋亡现象。徐明照等<sup>[18]</sup>研究发现,利用 NaCl 溶液作为诱导剂处理生长中的大豆根尖细胞,能够引起细胞凋亡,并使根尖细胞的形态和结构发生变化;在用不同剂量 UV-B 处理 BY-2

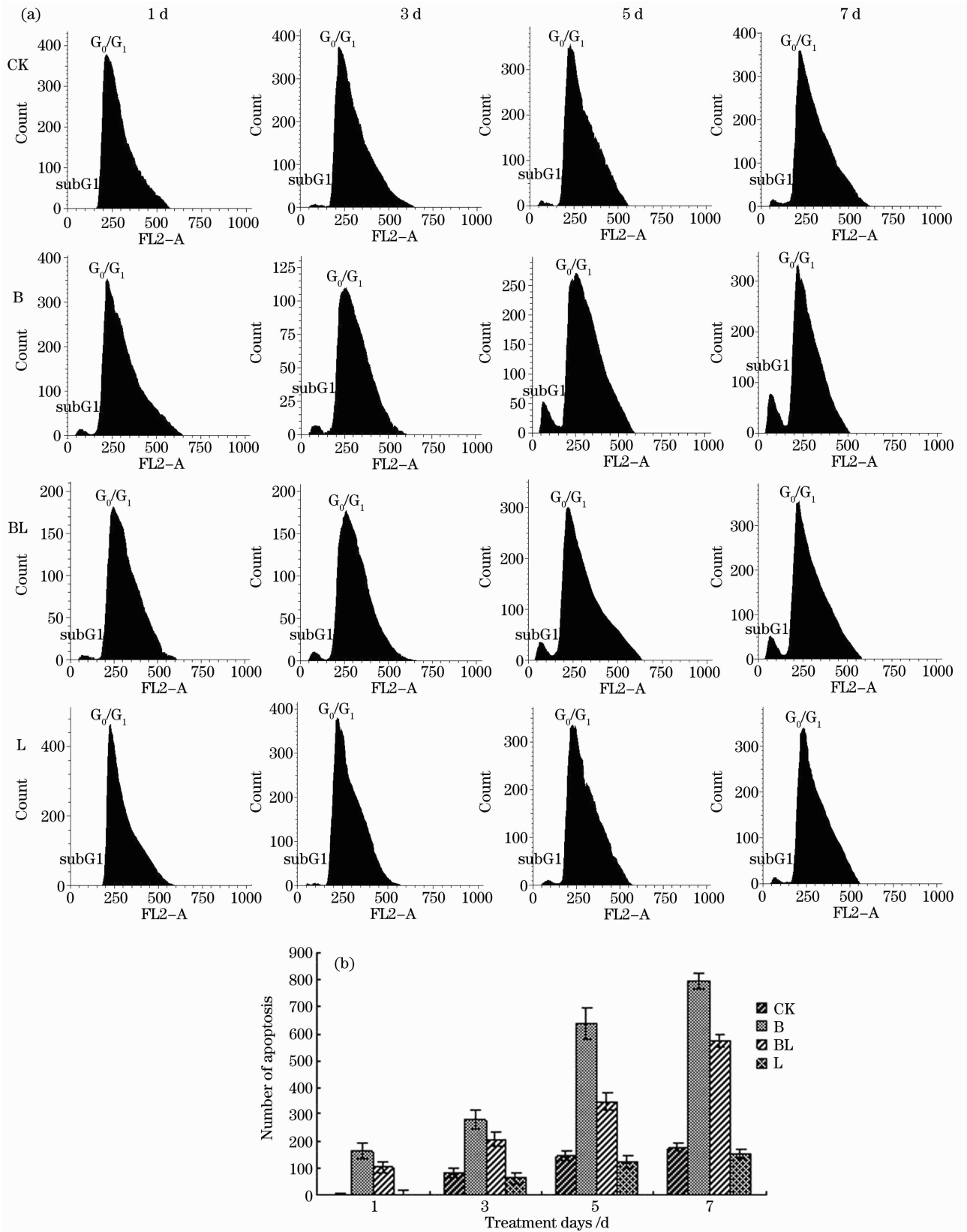


图 2 He-Ne 激光和增强 UV-B 辐射对小麦幼苗根细胞凋亡流式细胞仪分析

Fig. 2 Analyses of He-Ne laser on apoptosis of wheat seedling roots exposed to enhanced UV-B radiation by flow cytometry

烟草细胞时也发现了胞质中空、细胞萎缩变小、染色质在细胞核周围凝集浓缩和凋亡小体等细胞凋亡的现象,而且随着 UV-B 剂量的增大和处理时间的延长,细胞凋亡的数目也随之增多,在 283 kJ/m<sup>2</sup> 处理 6 h 时达到最大,有 18.6% 的细胞开始凋亡<sup>[19]</sup>,而 UV-C(254 nm)也同样能够诱导拟南芥叶片原生质体细胞核降解等形态变化<sup>[12]</sup>。在本研究中,随着 UV-B 辐射处理时间的延长,小麦幼苗细胞核的荧光开始减弱,形成近球状或颗粒状的凋亡小体,直至细胞核降解或者完全消失,形成空泡状细胞等明显细胞凋亡现象,这与 Marubashi 等<sup>[20]</sup>所描述的细胞凋亡形态变化一致。因此,增强的 UV-B 辐射可能是作为一种诱发因子来诱导小麦幼苗根细胞凋亡的。

研究中还发现,用 He-Ne 激光和增强 UV-B 辐射复合处理小麦幼苗根后,与单独 UV-B 处理组相比,凋亡的细胞数目有所减少,并且在第 5 天存在明显差异,细胞凋亡数目少了 44.9%。说明 He-Ne 激光能够减缓 UV-B 辐射对小麦幼苗根细胞所造成的损伤。邱宗波等<sup>[21]</sup>研究 He-Ne 激光处理水分胁迫下小麦幼苗生理特性的影响时发现,He-Ne 激光可通过提高根系活力、抗氧化酶活性和脯氨酸含量来显著增强小麦幼苗的抗旱性。郝金花等<sup>[22,23]</sup>的研究结果也说明 He-Ne 激光能够提高植物自身的生理代谢能力来抵御逆境胁迫。激光对生物体的影响主要是热、机械(压力)、光、电磁场和刺激等几方面的效应<sup>[24]</sup>。低功率的激光特别是可见光范围的激光,其产生的热和压力很少,因此主要表现为光效应和电磁效应<sup>[25]</sup>。一定剂量的 He-Ne 激光可能通过磁场效应使酶或蛋白质发生顺磁性的改变激活其活性<sup>[26]</sup>,从而提高抗逆能力。

目前,关于植物细胞凋亡的机理还不是十分清楚。有学者认为,活性氧(如 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、O<sub>2</sub><sup>-</sup>、OH<sup>-</sup> 和 NO)的代谢与植物细胞凋亡密切相关<sup>[27,28]</sup>。活性氧作为一种信号分子,它能够诱导线粒体释放出细胞色素 C,触发和动物细胞类似的半胱氨酸酶类信号级联放大途径,从而激活核酸内切酶来促进凋亡小体的形成<sup>[29]</sup>。但是,也有学者研究发现植物激素 GA 以及乙烯等也能够诱导细胞凋亡<sup>[30]</sup>。因此,关于 He-Ne 激光和增强 UV-B 辐射对小麦幼苗根细胞凋亡产生的原因还有待进一步的研究。

## 5 结 论

本文发现增强 UV-B 辐射能够诱导小麦尖产生

凋亡小体等细胞凋亡的现象,并且凋亡小体的数目在处理第 5 天时,变化最为明显,而 He-Ne 激光则对增强 UV-B 辐射所造成的凋亡小体数目增加的现象有一定的缓解作用,能够提高植物的逆抗性。

## 参 考 文 献

- 1 Maura Lodovici, Silvia Caldini, Lucia Morbidelli *et al.*. Protective effect of 4-coumaric acid from UVB ray damage in the rabbit eye[J]. *Toxicology*, 2009, **255**(1-2): 1~5
- 2 Liu Xiao, He Junfang, Ji Qianru *et al.*. Effects of ultraviolet-B radiation on plant light energy transfer process [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2010, **39**(9): 1582~1587  
刘 晓, 贺俊芳, 姬倩茹 等. 增强 UV-B 辐射对植物光能传递过程的影响[J]. *光子学报*, 2010, **39**(9): 1582~1587
- 3 Qiu Zongbo, Shi Jing, Zhang Mengmeng *et al.*. Effect of hydrogen peroxide on CO<sub>2</sub> laser pretreatment induced drought tolerance in wheat seedlings[J]. *Chinese J. Lasers*, 2010, **37**(8): 2170~2176  
邱宗波, 史 静, 张梦梦 等. 过氧化氢在 CO<sub>2</sub> 激光预处理提高小麦耐旱性中的作用[J]. *中国激光*, 2010, **37**(8): 2170~2176
- 4 Chen Yiping, Sun Benhua. Influence of laser on DTA thermal parameters of folium isatidis exposed to UV-B radiation[J]. *Laser Technology*, 2006, **30**(4): 395~397  
陈怡平, 孙本华. He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射大青叶 DTA 热解参数的影响[J]. *激光技术*, 2006, **30**(4): 395~397
- 5 Zhang Meiping, Shan Yongjie, Wang Xiaohua *et al.*. Influence of He-Ne laser radiation on the ATPase activity of wheat seedling by enhanced ultraviolet-B radiation[J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36**(9): 2455~2459  
张美萍, 陕永杰, 王小花 等. He-Ne 激光对增强紫外线-B 辐射小麦叶片胞质 ATP 酶活性的影响[J]. *中国激光*, 2009, **36**(9): 2455~2459
- 6 Zhao Hongmei, Wang Huiyang. Apoptosis induced by Cd<sup>2+</sup> in root tips and endocuticle cells of onion [J]. *Northern Horticulture*, 2011, (6): 146~148  
赵红梅, 王慧阳. 镉离子诱导洋葱根尖及表皮细胞凋亡的影响研究[J]. *北方园艺*, 2011, (6): 146~148
- 7 J. T. Greenberg, N. Yao. The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions [J]. *Cellular Microbiology*, 2004, **6**(3): 201~211
- 8 P. F. McCabe, C. J. Leaver. Programmed cell death in cell cultures[J]. *Plant Mol. Biol.*, 2000, **44**(3): 359~368
- 9 Tian Ruihua, Zhang Guiyou, Yan Changhui *et al.*. Involvement of poly (ADP-ribose) polymerase and activation of caspase-3-like protease in heatshock-induced apoptosis in tobacco suspension cells[J]. *FEBS Lett.*, 2000, **474**(1): 11~15
- 10 K. Overmyer, M. Brosche, R. Pellinen *et al.*. Ozone-induced programmed cell death in the Arabidopsis radical-induced cell death mutant[J]. *Plant Physiology*, 2005, **137**(3): 1092~1104
- 11 S. Pasqualini, C. Piccioni, L. Reale *et al.*. Ozone-induced cell death in tobacco cultivar Bel W3 Plants. The role of programmed cell death in lesion formation[J]. *Plant Physiol.*, 2003, **133**(3): 1122~1134
- 12 Antoine Danon, Patrick Gallois. UV-C radiation induces apoptotic-like changes in Arabidopsis thaliana[J]. *FEBS Lett.*, 1998, **437**(1-2): 131~136
- 13 Y. L. Sun, Y. Zhao, X. Hong *et al.*. Cytochrome C release and caspase activation during menadione-induced apoptosis in plants [J]. *FEBS Lett.*, 1999, **462**(3): 317~321
- 14 E. A. Andronis, K. A. Roubelakis-Angelakis. Short-term salinity stress in tobacco plants leads to the onset of animal-like PCD hallmarks in planta in contrast to long-term stress[J].

- Planta*, 2010, **231**(2): 437~448
- 15 Jaroslav Dolezel, Johann Greilhuber. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry[J]. *Nature Protocols*, 2007, **2**(9): 2233~2244
- 16 Hsiao Chinglee, Tsai Yunlin. Isolation of plant nuclei suitable for flow cytometry from recalcitrant tissue by use of a filtration column[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2005, **23**(1): 53~58
- 17 Jia Yongrui. Flow Cytometry[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009. 3~4  
贾永蕊. 流式细胞术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009. 3~4
- 18 Xu Mingzhao, Guo Ning, Zhu Beibei. Cytological effect on apoptosis of root tip cell of soybean induced by NaCl[J]. *Soybean Science*, 2010, **29**(1): 61~63  
徐明照, 郭宁, 朱贝贝. NaCl 诱导大豆根尖细胞凋亡的细胞学效应[J]. *大豆科学*, 2010, **29**(1): 61~63
- 19 Dmytro I. Lytvyn, Alla I. Yemets, Yaroslav B. Blume. UV-B overexposure induces programmed cell death in a BY-2 tobacco cell line[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, **68**(1): 51~57
- 20 W. Marubashi, T. Yamada, M. Niwa. Apoptosis detected in hybrid between *nicotiana glutinosa* and *N. repanda* expressing lethality[J]. *Planta*, 1999, **210**(1): 168~171
- 21 Qiu Zongbo, Li Jinting, Yue Ming. Influence of He-Ne laser irradiation on physiological characteristics in wheat seedlings under water stress[J]. *Acta Bot. Boreai.-Occident. Sin.*, 2008, **28**(5): 995~1000  
邱宗波, 李金亭, 岳明. He-Ne 激光对水分胁迫下小麦幼苗生理特性的影响[J]. *西北植物学报*, 2008, **28**(5): 995~1000
- 22 Hao Jinhua, Ma Xiaoli, Wang Xiaohua *et al.*. Effects of He-Ne laser on antioxidant systems of wheat seedlings exposed to ultraviolet-B radiation [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2007, **25**(4): 350~355  
郝金花, 马晓丽, 王小花等. He-Ne 激光对 UV-B 辐射小麦幼苗抗氧化系统的影响[J]. *武汉植物研究*, 2007, **25**(4): 350~355
- 23 Wang Xiaohua, Hao Jinhua, Han Rong. The alleviating effects of He-Ne laser on membrane lipid peroxidation in wheat seedling exposed to enhanced ultraviolet-B irradiation [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2008, **17**(3): 317~322  
王小花, 郝金花, 韩榕. He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射下小麦幼苗膜脂过氧化的缓解作用[J]. *激光生物学报*, 2008, **17**(3): 317~322
- 24 Xiang Yang. Study on the mechanism of laser variation and biological effect[J]. *J. Optoelectronics • Laser*, 1994, **5**(2): 87~90  
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): 87~90
- 25 Han Rong, Wang Xunling, Yue Ming. The influence of He-Ne laser irradiation on unscheduled DNA synthesis in the wheat seeds damaged by enhanced UV-B radiation [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2003, **29**(4): 633~636  
韩榕, 王勋陵, 岳明. He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射损伤小麦 DNA 非按期合成的影响[J]. *作物学报*, 2003, **29**(4): 633~636
- 26 Y. P. Chen, M. Yue, X. L. Wang. Influence of He-Ne laser irradiation on seeds thermodynamic parameters and seedlings growth of *Isatis indogotica*[J]. *Plant Science*, 2005, **168**(3): 601~606
- 27 M. Delledonne, I. Mirgia, D. Ederle *et al.*. Reactive oxygen intermediates modulate nitric oxide signaling in the plant hypersensitive disease-resistance response [J]. *Plant Physiol. Biochem.*, 2002, **40**(6-8): 605~610
- 28 M. Delledonne, J. Zeier, A. Marocco *et al.*. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response [J]. *PNAS*, 2001, **98**(23): 13454~13459
- 29 Liu Genlin. Cytochrome C and the programmed cell death in plants[J]. *Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology*, 2007, **43**(5): 34~39  
刘根林. 细胞色素 C 与植物细胞编程性死亡[J]. *江苏林业科技*, 2007, **43**(5): 34~39
- 30 D. Orzaez, A. Granella. The planthomologue of the defender against apoptotic death gene is down-regulated during senescence off lower petals[J]. *FEBS Lett.*, 1997, **404**(2-3): 275~278

栏目编辑: 韩峰