

# 烟草光合细胞 Chla 荧光动力学和超弱发光对低强度射频电磁场的响应\*

习岗 杨初平 宋清

(华南农业大学理学院, 广州 510642)

**摘要** 在 300 MHz 低强度射频电磁场的作用下, 烟草叶片光合细胞 Chla 荧光动力学过程和超弱发光均发生了变化, 荧光动力学参数  $F_0$ 、 $F_v/F_0$ 、 $F_v/F_m$ 、 $\Delta F_v/T$  和  $T_{1/2}$  及超弱发光的光子数对电磁场辐射功率的响应呈现出非线性和“功率窗”特征, 表明低强度射频电磁场对光合细胞具有非热效应. 电磁场的非热效应使得烟草叶片光合细胞的细胞膜受到伤害, PS II 反应中心受损、PS II 潜在活性降低, 光合电子传递过程受阻, 原初光能转换效率下降.

**关键词** 电磁场; 非热效应; 光合细胞; 荧光动力学; 超弱发光

**中图分类号** Q64 **文献标识码** A

## 0 引言

由高频电磁波 (100 kHz ~ 300 MHz) 和微波 (300 MHz 以上) 产生的电磁场称射频电磁场 (Radio frequency electromagnetic field, RFEF). RFEF 的主要来源是电台、电视台、雷达以及移动通讯设备. 实验表明, 当生物体反复接触低强度 RFEF 后, 体温虽无上升, 但也可以造成机体的结构改变和功能紊乱, 即产生所谓的非热效应 (non-thermal effect)<sup>[1,2]</sup>. 由于在现代社会中, 通讯技术被大量使用, 整个地球无时无刻不处在 RFEF 的辐照之中, 因此, RFEF 对生物体系的非热效应引起了人们的极大关注<sup>[3]</sup>. 研究已经确定了 RF 电磁场对生物体系具有非热效应, 发现低强度射频电磁场会对细胞膜的结构与功能<sup>[4]</sup>、细胞的信息传导<sup>[5]</sup>和生物分子的结构<sup>[6]</sup>产生影响. 然而, 迄今为止的研究结果几乎都是在动物体上获得的, 尚未见 RFEF 对植物细胞非热效应的研究. 有鉴于此, 本文通过对低强度 RFEF 作用下烟草叶片光合细胞 Chla 荧光动力学和超弱发光的研究, 希望证明 RFEF 对植物光合细胞具有非热效应, 并由此揭示这种非热效应对植物光合作用乃至对农业的影响.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料培养与处理

黄花大金元烟草品种在华南农业大学生命科学学院玻璃温室内正常水肥条件下栽培种植 90 天后, 从顶部第 9 片叶片中段取样. 样品经 RFEF 辐射后

测定 Chla 荧光动力学和超弱发光, 电磁场处理分 0 (不受电磁场处理)、1 mW/cm<sup>2</sup>、3 mW/cm<sup>2</sup> 和 5 mW/cm<sup>2</sup> 4 组, 每组重复测定 3 次. RFEF 辐射频率为 300 MHz, 处理时间为 15 min.

RFEF 辐射在我们自己研制的射频电磁波生物学效应实验系统中进行. 系统组成见图 1. 在图 1 中, 超高频功率信号源可以输出频率可调、功率可调的超高频电磁波, 在 TEM 小室 (transverse electromagnetic transmission cell, TEM cell) 中形成一个不均匀性小于 ±2 dB 的电磁场, 植物叶片置于其中经受电磁场的作用. TEM 小室内的环境功率流密度由端接式功率计测定, 叶片经 300 MHz 电磁场处理 15 min. 处理的最大环境功率密度分别为 1 mW/cm<sup>2</sup>、3 mW/cm<sup>2</sup> 和 5 mW/cm<sup>2</sup>.

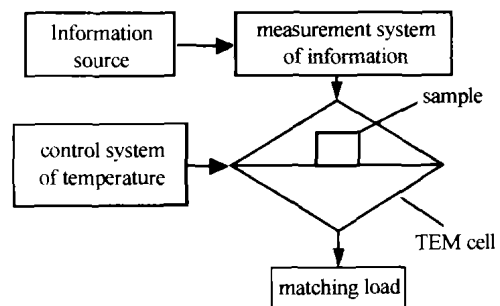


图 1 射频电磁波生物学效应实验系统

Fig. 1 Experimental system for studying biological effect of radio frequency electromagnetic field

### 1.2 Chla 荧光动力学的测定

叶片 Chla 荧光动力学的测定方法见文献 [7]. 诱导荧光所用的激发光源为 6 只排列成圈的超高亮度蓝色发光二极管 ( $\lambda = 450 \text{ nm}$ ). 触发信号由微机发出, 经 A/D 板上的 I/O 电路驱动 LED 发光, 发光光强采用  $50 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$ . 样品发出的荧光经由高灵敏度单片超低噪近红外光电流放大器制成的光传感器传入放大器, 再通过计算机进行分析与计算. 在光传感器的前面覆盖有一片深红色滤光片, 该滤

\*国家自然科学基金资助项目 (编号 50177010)、广东省自然科学基金资助项目 (编号 010297)  
Tel: 020-85282568 Email: xigang@pub.guangzhou.gd.cn  
收稿日期: 2003-06-05

光片只让样品中波长大于 710 nm 的叶绿素荧光通过. Chla 荧光动力学参数偏转荧光  $F_i$  用曲线最小二乘法以及快速多点数据平均等方式计算. 所有荧光参数均由计算机自动测定并打印出结果.

### 1.3 超弱发光的测定

叶片超弱发光用中国科学院生物物理研究所研制的 BPCL 微弱发光测量仪测量, 该仪器由微弱发光测量室、光电转换器、电流-脉冲频率转换电路、高稳定度高压电源和智能化数据测量与记录系统组成. 由叶片发出的光入射到测光灵敏度极高的光电倍增管上, 信号经放大转换后传输给特制接口电路与计算机联通, 计算机内的专用软件对超弱发光进行强度、动力学曲线和发光光谱的测量. 测量时将叶片在暗中适应 30 min 后置于测量室测量叶片超弱发光, 测量值减去本底作为叶片的超弱发光值.

## 2 结果与分析

### 2.1 烟草叶片的荧光动力学曲线及其对 RFEF 的响应

图 2 给出了烟草叶片的荧光动力学曲线及其对 RFEF 的响应. 由于在 Chla 荧光动力学分析中, 动力学曲线的快速上升前沿部分具有重要意义, 为了能够反映出曲线前沿的快速上升情况, 在图 2 的时间标度上采取了不等距分布, 将起始 1 s 内的时间间隔扩大. 图 2 中曲线所隐含的各荧光动力学参数及其意义见文献 [7].

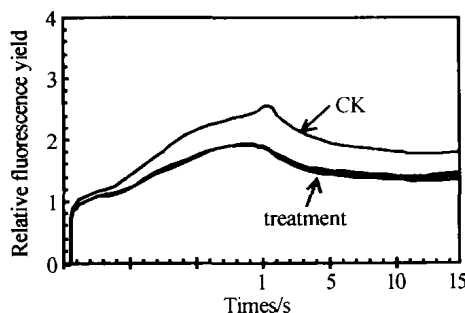


图 2 烟草 Chla 荧光动力学过程对 RFEF 的响应  
Fig. 2 Response of the Chla fluorescence dynamic process of tobacco to electromagnetic field

由图 2 可见, CK (即未受电磁场处理) 和 1 mW/cm<sup>2</sup>、3 mW/cm<sup>2</sup> 及 5 mW/cm<sup>2</sup> 电磁场处理时的 Chla 荧光动力学曲线发生了明显的变化. 曲线的变化可通过荧光动力学参数来定量分析.

#### 2.1.1 Chla 荧光动力学参数 $F_0$ 对 RFEF 的响应

初始荧光  $F_0$  是 Chla 荧光动力学的一个基本参数, 它是处于钝化状态的光合机构中 PS II 蛋白复合体中各辅助单元受激充能后发出的荧光. 烟草叶片  $F_0$  对 RFEF 的响应见图 3. 在图 3 中 1 mW/cm<sup>2</sup>、3 mW/cm<sup>2</sup> 和 5 mW/cm<sup>2</sup> 的电磁场处理均使  $F_0$  较未处理的要高, 其中 1 mW/cm<sup>2</sup> 的处理升高幅度最大,

随着辐射功率密度的升高,  $F_0$  升高的趋势减缓, 但仍高于对照. 表明  $F_0$  对电磁场的响应呈现明显的非线性特征, 具有“功率窗”效应. 在生物学中,  $F_0$  升高反映 PSII 反应中心的失活与破坏<sup>[8]</sup>. 因此, 图 3 表明低强度射频 RFEF 会造成 PSII 反应中心的损伤.

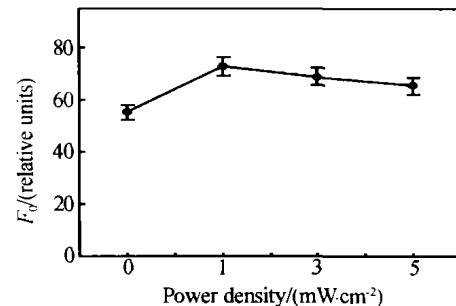


图 3  $F_0$  对电磁场的响应  
Fig. 3 Response of  $F_0$  to electromagnetic field

#### 2.1.2 Chla 荧光动力学参数 $F_v/F_0$ 和 $F_v/F_m$ 对 RFEF 的响应

$F_v/F_0$  为可变荧光与初始荧光的比值, 它表征了 PS II 的潜在活性.  $F_v/F_m$  是可变荧光与最大荧光的比值, 它表征了 PS II 原初光能转换效率或最大光化学量子产量. 由于  $F_v/F_m$  的值与生物学产量直接相关, 因此, 它是 Chla 荧光动力学中一个最重要的参量. 图 4 给出了烟草叶片  $F_v/F_0$  和  $F_v/F_m$  对 RFEF 的响应. 在图 4 中 1 mW/cm<sup>2</sup>、3 mW/cm<sup>2</sup> 和 5 mW/cm<sup>2</sup> 的电磁场处理使  $F_v/F_0$  和  $F_v/F_m$  同步下降, 表明 RFEF 使光合细胞 PS II 的潜在活性降低, 原初光能转换效率降低, 其中, 3 mW/cm<sup>2</sup> 处理引起的下降幅度最大.

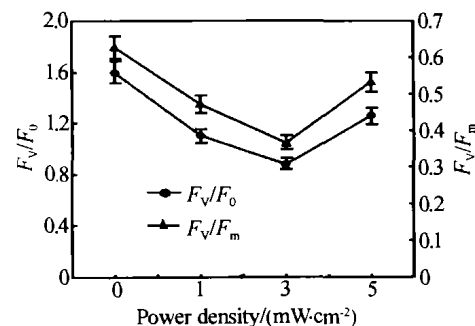


图 4  $F_v/F_0$  和  $F_v/F_m$  对电磁场的响应  
Fig. 4 Responses of  $F_v/F_0$  and  $F_v/F_m$  to electromagnetic field

#### 2.1.3 Chla 荧光动力学参数和对 RFEF 的响应

为了查明 RFEF 导致烟草叶片 PS II 原初光能转换效率下降的原因, 我们测定了烟草叶片 Chla 荧光动力学参数  $\Delta F_v/T$  和  $T_{1/2}$  随辐射功率密度的变化趋势, 结果示于图 5. 在图 5 中,  $\Delta F_v = F_m - F_s$ , 其中  $F_s$  为最大荧光  $F_m$  下降到达亚稳态 S 相的荧光,  $T$  为相应的下降时间,  $\Delta F_v/T$  即为可变荧光猝灭速率.

由图 5 可见, 1 mW/cm<sup>2</sup>、3 mW/cm<sup>2</sup> 和 5 mW/cm<sup>2</sup> 的 RFEF 处理下的  $\Delta F_v/T$  均比未处理的要低, 其中 1 mW/cm<sup>2</sup> 处理组的下降幅度最大. 由于  $\Delta F_v/T$  反映了光合电子传递速率的大小, 因而,

$\Delta F_V/T$  的下降表明 RFEF 导致了烟草叶片光合电子传递速率降低, 其中  $1 \text{ mW/cm}^2$  处理组的影响最大.

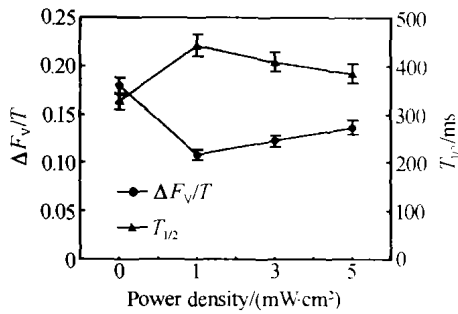


图5  $\Delta F_V/T$  和  $T_{1/2}$  对 RFEF 的响应

Fig. 5 Responses of  $\Delta F_V/T$  and  $T_{1/2}$  to electromagnetic field

图5中的  $T_{1/2}$  为 Chla 荧光从  $F_0$  上升到  $F_m$  的半时间 (ms).  $T_{1/2}$  越大说明 Chla 荧光从  $F_0$  上升到  $F_m$  的时间越长, 因而 PSII 氧化侧电子传递速率就越慢. 图5显示,  $1 \text{ mW/cm}^2$ 、 $3 \text{ mW/cm}^2$  和  $5 \text{ mW/cm}^2$  的 RFEF 处理下的  $T_{1/2}$  均比未处理的要高, 其中  $1 \text{ mW/cm}^2$  处理组的上升幅度最大, 表明 RFEF 使 PS II 氧化侧电子传递受阻. 看来, RFEF 导致烟草叶片光合电子传递速率降低的原因可能在于 PS II 氧化侧的电子传递过程受到了抑制. 由于光合电子传递过程总是与形成 ATP 的光合磷酸化相耦联, 而且非环式电子传递又是以  $\text{NADP}^+$  为最终电子受体, 因此, 电子传递速率的下降不利于形成更多的 ATP 和 NADPH, 从而影响到光合细胞的光能转换效率.

## 2.2 烟草超弱发光对 RFEF 的影响

表1给出了烟草叶片超弱发光与 RFEF 辐射功率密度的关系, 在表1中未经辐射的烟草叶片每秒超弱发光的光子数为27, 各处理组的超弱发光较对照大幅增加, 其中  $1 \text{ mW/cm}^2$  辐射引起的增幅最大, 达到344%. 随着时间的延长, 各处理组的超弱发光逐渐减弱, 约1 min后稳定在自然发光的水平, 见图6. 值得注意的是, 随着辐射功率密度的增加, 超弱发光的增幅有减小的趋势, 超弱发光所显示的这种非线性

表1 烟草叶片超弱发光与电磁场辐射功率的关系

辐射功率密度/( $\text{mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ )	0	1	3	5
光子数/s	27	120	68	62
增长率/(%)		344	152	129

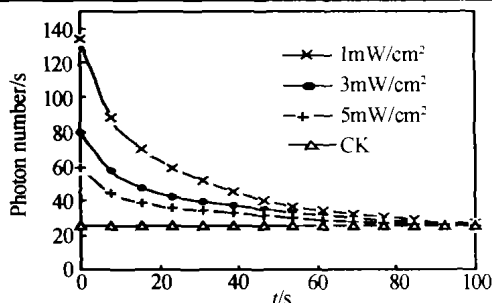


图6 电磁场作用下烟草叶片超弱发光的动力学曲线

Fig. 6 Dynamic curves of ultraweak photon emission in tobacco under electromagnetic field

性效应和“功率窗特征”与图3和图5中荧光动力学参数的响应是一致的.

## 3 讨论

要研究 RFEF 对植物光合细胞的非热效应, 必须在植物体内寻找一套精确灵敏的指标, 通过其在 RFEF 作用下的响应来判断 RFEF 是否对植物具有非热效应. 植物光合细胞叶绿素荧光动力学参数和超弱发光可以作为这样的指标, 因为叶绿素荧光动力学发生于叶绿体膜上的光合电子传递过程, 而电子传递对 RFEF 非常敏感, 即使低强度 RFEF 不造成膜结构的变化, 光合电子传递过程也可能发生改变, 由此导致荧光动力学参数的变化. 因此, RFEF 下 Chla 荧光动力学参数的变化就是光合细胞电生物过程对 RFEF 最灵敏的反映信号, 根据 RFEF 下活体叶片 Chla 荧光动力学信息的提取就可以判断和识别 RFEF 是否可以通过非热效应对光合细胞产生作用. 而超弱发光则是一种来自于植物体内的主动的电磁信号, 它与植物体内的许多生理过程有关, 可以作为植物生理生化变化的极其灵敏的物理指标<sup>[9]</sup>. 本实验的研究发现在低强度 RFEF 的作用下烟草叶片光合细胞 Chla 荧光动力学参数中的  $F_0$ 、 $F_V/F_0$ 、 $F_V/F_m$ 、 $\Delta F_V/T$  和  $T_{1/2}$  均发生了变化, 并且随着环境功率密度的增大, 它们的变化呈现出明显的非线性效应和“功率窗”特征,  $F_0$ 、 $\Delta F_V/T$  和  $T_{1/2}$  在  $1 \text{ mW/cm}^2$  的环境功率密度下反应最大, 而  $F_V/F_0$  和  $F_V/F_m$  在  $3 \text{ mW/cm}^2$  环境功率密度下反应最大. 由于非线性效应和“功率窗”特征是非热效应的基本特点<sup>[5]</sup>, 而且上述荧光动力学参数的变化是在  $5 \text{ mW/cm}^2$  以下的 RFEF 作用下发生的, 一般认为  $10 \text{ mW/cm}^2$  以下的电磁场所产生的生物学效应属于非热效应, 因为在此功率下, 生物体系不会产生明显的温度变化<sup>[10]</sup>. 因此, 本研究揭示的 RFEF 对植物光合细胞 Chla 荧光动力学的影响是 RFEF 的一种非热效应. 看来, RFEF 通过非热效应使烟草光合细胞 PS II 反应中心受到损伤、PS II 潜在活性降低、原初光能转换效率下降, 下降的原因可能在于光合电子传递过程受阻. 这种 RFEF 使烟草叶片光合细胞原初光能转换效率下降的作用不利于叶绿体把所捕获的光能转化为化学能, 从而会影响到光合碳同化过程, 因为在通常的情况下光合碳同化的基本限制因子被认为是 ATP 和 NADPH 供应不足.

在本实验中发现光合细胞的超弱发光对 RFEF 的响应也具有非线性和“功率窗”效应, 因而从另一个角度也证实了 RFEF 对植物光合细胞具有非热效应. 关于植物超弱发光的机理研究表明, 植物细胞产生超弱发光的本质是由于体内不饱和脂肪酸的氧化作用产生了过氧化自由基, 自由基在复合时形成

处于三重激发态的过氧化自由基,后者在退激时产生超弱发光<sup>[9]</sup>. 因此,超弱发光越强说明产生的自由基越多. 过多的自由基会首先攻击细胞膜,使细胞膜因过氧化而受到损伤. 由于光合电子传递过程发生在细胞膜上,细胞膜的变化会引起 Chla 荧光动力学过程的变化. 因此,植物细胞的超弱发光和 Chla 荧光动力学可能具有一定的相关性,本实验揭示的植物细胞超弱发光和 Chla 荧光动力学对 RFEF 响应的一致性也证实了这一点.

总结本实验的结果可以认为,RFEF 通过非热效应使光合细胞的细胞膜受到损伤,光合电子传递过程受阻,细胞原初光能转换效率下降,从而对光合作用造成不利影响.

#### 参考文献

- 1 Repacholi M H. Low-level exposure to radio frequency electromagnetic fields: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics*, 1998, **19**(1): 1 ~ 19
- 2 Thuroczy G. Simultaneous response of brain electrical activity and cerebral circulation to microwave exposure in rats. *Reviews on Environmental Health*, 1994, **10**(2): 135 ~ 148
- 3 陈国璋,陈惠晓. 谈谈生物电磁学研究热点. 物理, 1998, **27**(3): 151 ~ 155  
Chen G Z, Chen H X. *Physics*, 1998, **27**(3): 151 ~ 155
- 4 Philippova T M, Novoselov V I, Alekseev S I. Influence of microwaves on different types of receptors and the role of peroxidation of lipids on recept-protein shedding. *Bioelectromagnetics*, 1994, **15**(2): 183 ~ 192
- 5 Byus C V, Kartum K, Pieper S, et al. Increased ornithine decarboxylase activity in cultural cells exposed to low-energy modulated microwave fields and ester tumor promoters. *Cancer*, 1988, **48**(15): 4222 ~ 4226
- 6 Lai H, Singh N P. Acute low intensity microwave exposure increase DNA single strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics*, 1995, **16**(2): 207 ~ 210
- 7 习岗,杨初平,宋清,等. 香蕉叶片 Chla 荧光动力学参量对激发光强的反应. 光子学报, 2001, **30**(9): 1041 ~ 1044  
Xi G, Yang C P, Song Q, et al. *Acta Photonica Sinica*, 2001, **30**(9): 1041 ~ 1044
- 8 Demming B, Bjorkman O. Comparison of effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O<sub>2</sub> evolution in leaves of higher plants. *Planta*, 1987, **171**(2): 171 ~ 184
- 9 习岗. 植物超弱发光及其在农业上的应用. 物理, 1994, **23**(9): 548 ~ 552  
Xi G. *Physics*, 1994, **23**(9): 548 ~ 552
- 10 赵东红,李建宏,张双全. 低功率微波辐射对离体人红细胞膜的损伤效应. 环境科学进展, 1998, **6**(4): 70 ~ 74  
Zhao D H, Li J H, Zhang S Q. *Advances in Environmental Science*, 1998, **6**(4): 70 ~ 74

## The Responses of Chlorophyll Fluorescence Dynamics and Ultraweak Photoemission in Photosynthesis Cell of Tobacco to Low Level Radio Frequency Electromagnetic Field

Xi Gang, Yang Chuping, Song Qing

South China Agriculture University, Guangzhou 510642

Received date: 2003-06-05

**Abstract** Under the action of low level radio frequency electromagnetic field of 300 MHz, Chlorophyll fluorescence dynamics process and ultra weak photoemission in leaf of tobacco change. The responses of the fluorescence dynamics parameters  $F_0$ ,  $F_V/F_0$ ,  $F_V/F_m$ ,  $\Delta F_V/T$ ,  $T_{1/2}$  and the number of ultra weak photoemission to the radiating power of electromagnetic field seem to be the characters of non-linear and power window. These results show that there is non-thermal effect of electromagnetic field on photosynthesis cell of tobacco. The effect makes the damage of membrane of photosynthesis cell in leaf of tobacco, the barricade of transmit process of electron in photosynthesis, the decrease of potential active and photochemical efficiency of PS II.

**Keywords** Electromagnetic field; Photosynthesis cell; Non-thermal effects; Tobacco

**Xi Gang** was born in 1957. He graduated from the physics major of Xi'an university of technology in 1982, won the M. S. degree of biophysics from Northwestern Agricultural University in 1991. Now, he is working as a professor in South China Agricultural University, and majoring in biophysics.

