

低强度微波电磁场作用下菠菜和烟草光合细胞叶绿素 荧光动力学过程及光合色素系统的差异*

习 岗 李 英 曹永军 宋 清

(华南农业大学理学院, 广州 510642)

摘 要 在 300MHz 低强度微波电磁场作用下, 菠菜和烟草叶片光合细胞叶绿素荧光动力学过程和光合色素呈现不同的变化. 菠菜的荧光动力学参量 F_0 和 F_{VI}/F_V 减小, F_V/F_0 、 $\Delta F_V/T$ 和 F_V/F_m 升高; 烟草的荧光动力学参量 F_0 升高, F_{VI}/F_V 没有明显变化, F_V/F_0 、 $\Delta F_V/T$ 和 F_V/F_m 降低. 在微波作用下, 菠菜和烟草叶片的光合色素系统的变化也有差异, 菠菜和烟草的叶绿素含量均降低, 但菠菜的类胡萝卜素含量明显升高. 这些结果表明, 低强度微波电磁场使烟草叶片光合机构受到抑制, 光合色素系统受到破坏, 因而光合作用下降; 菠菜则通过光合细胞的光合机构中 PS II 活性中心异质性的转变和光合色素中类胡萝卜素含量的升高来适应微波辐射的环境, 使光合作用维持在较高水平.

关键词 微波; 荧光动力学; 光合色素; 菠菜; 烟草

中图分类号 Q64 **文献标识码** A

0 引言

近年来, 由于无线通讯技术的大量使用, 微波 (300 MHz 以上) 电磁场对生物细胞的非热效应 (Non-thermal Effect) 引起了人们的极大关注^[1]. 然而, 迄今为止, 低强度微波电磁场对植物细胞的影响尚不清楚. 因此, 有必要开展低强度微波电磁场对植物细胞的影响及其作用机理研究. 这方面的研究不但可以为揭示微波对生物细胞的非热效应作用机理提供资料, 还可用于评估日益增强的微波辐射对农业的影响, 为植物细胞的适应性研究及防护机理研究打下基础.

在研究微波电磁场对植物光合细胞的非热效应中, 叶绿素荧光是一个很好的参数, 因为叶绿素荧光发自于植物光合细胞的叶绿体膜上, 它对环境十分敏感. 当环境发生变化时, 荧光动力学参数可以灵敏的反映光合机构的变化^[2]. 因此, 微波辐射下叶绿素荧光及其动力学参量的变化就是光合细胞对微波最灵敏的反应信号, 根据微波电磁场作用下活体叶片叶绿素荧光动力学信息的提取可以判断和识辨微波电磁场是否通过非热效应对光合细胞产生作用, 从而导致光合细胞光合作用的变化. 基于这种考虑, 我们研究了 300 MHz 低强度微波电磁场作用下菠菜和烟草叶片叶绿素荧光动力学过程及其光合

色素的反应, 发现菠菜和烟草叶片叶绿素荧光动力学过程及其光合色素均发生了变化, 并且其变化具有差异性, 表明微波电磁场对不同植物的光合机构有不同的影响.

1 材料与方法

1.1 材料与处理

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烟草, 种植 90 天后, 在功能叶片中段取样. 菠菜样品采自于市售菠菜. 均在同一叶位上取样. 样品经微波电磁场作用后测定叶绿素荧光动力学参数, 微波处理分 0 (不受辐射)、1 mW/cm²、3 mW/cm² 和 5 mW/cm² 4 组, 每组重复测定 3 次. 辐射频率为 300 MHz, 辐射时间为 30 min. 微波电磁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, 系统组成见文献^[3].

1.2 叶绿素荧光动力学的测定

叶片叶绿素荧光动力学的测定方法见文献^[4]. 诱导荧光所用的激发光源为 6 只排列成圈的超高亮度兰色发光二极管 ($\lambda = 450 \text{ nm}$). 触发信号由微机发出, 经 A/D 板上的 I/O 电路驱动 LED 发光, 发光光强按前文研究采用 $40 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. 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, 该滤光片只让样品中波长大于 710 nm 的叶绿素荧光通过. 叶绿素荧光动力学参量初始荧光 F_1 用曲线最小二乘法以及快速多点数据平均等方

* 国家自然科学基金 (编号: 50177010), 广东省自然科学基金 (编号: 010297) 资助项目

Tel: 020-85282568 Email: xigangchao@tom.com

收稿日期: 2004-05-31

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 光合色素含量的测定

叶片光合色素叶绿素和类胡萝卜素的测定按照文献[5]介绍的方法, 取功能叶 0.2 g, 加 2 mL 乙醇、少许碳酸钙和石英砂研磨呈匀浆. 95% 乙醇定容到 25 mL, 过滤. 以 95% 乙醇为空白, 在波长 470 nm、646 nm 和 663 nm 下测光吸收值.

1.4 丙二醛(MDA)含量的测定

采用文献[6]中的方法, 取功能叶 1 g, 加少许石英砂, 10 mL 10% TCA 研磨成匀浆. 4000 g 离心 10 min, 上清液为提取液. 在 2 mL 提取液中加入 2 mL 0.6% TBA 溶液, 沸水中煮沸 15 min, 迅速冷却, 离心取上清液, 测 532 nm 和 450 nm 下的 OD 值.

2 结果与分析

2.1 微波电磁场作用下菠菜和烟草叶绿素荧光动力学参量 F_0 的差异

菠菜叶片典型的叶绿素荧光动力学曲线见图 1. 在开始照光的 ns 范围内, 荧光强度迅速上升到 O 相, 然后经过一个微小的拐点达到 I 相, 在 1 s 左右荧光达到最大的 P 相, 此后, 荧光强度逐渐下降. 由图 1 可提取的各荧光动力学参量及其意义参见前文献[4].

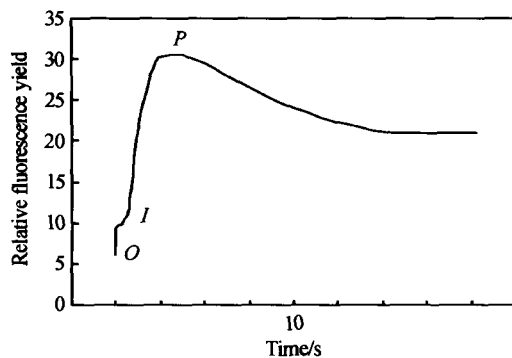


图 1 菠菜叶片的叶绿素荧光动力学曲线

Fig. 1 Chlorophyll fluorescence dynamic curves of spinach

图 1 中 O 相的荧光 F_0 为初始荧光 (Minimal Fluorescence), 它是处于钝化状态的光合机构中 PSII 复合蛋白体中各辅助单元受激充能后发出的荧光. 在微波辐射下, 菠菜和烟草叶绿素初始荧光 F_0 的变化见图 2. 由图 2 可见, 在环境功率密度为 1 mW/cm^2 、 3 mW/cm^2 和 5 mW/cm^2 的低强度微波作用下, 菠菜初始荧光 F_0 较对照减小, 而烟草的初始荧光 F_0 则较对照有所升高, 呈现出相反的变化趋势.

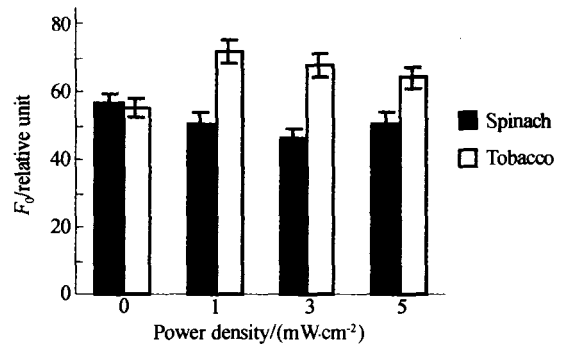


图 2 微波对菠菜和烟草初始荧光 F_0 的影响

Fig. 2 Effect of microwave on minimal fluorescence of spinach and tobacco

2.2 微波电磁场作用下菠菜和烟草叶绿素荧光动力学参量 F_V/F_0 和 F_V/F_m 的差异

叶绿素荧光动力学参量 F_V/F_0 为可变荧光与初始荧光的比值, 它表征了光合反应中心 PSII 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 PSII 原初光能转换效率或最大光化学量子产量. 图 3 给出了微波电磁场作用下菠菜和烟草叶片 F_V/F_0 的差异, 图 4 给出了微波电磁场作用下菠菜和烟草 F_V/F_m 的差异. 由图 3 可见, 与不受处理的对照相比, 1 mW/cm^2 、 3 mW/cm^2 和 5 mW/cm^2 的微波电磁场使菠菜 F_V/F_0 的值有所增加, 并且随辐射功率的增加, F_V/F_0 的值有增加的趋势; 而烟草 F_V/F_0 值的变化趋势和菠菜相反, 微波电磁场使烟

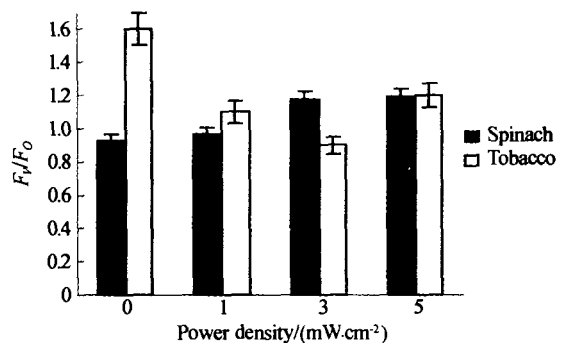


图 3 微波对菠菜和烟草荧光参量 F_V/F_0 的影响

Fig. 3 Effect of microwave on F_V/F_0 of spinach and tobacco

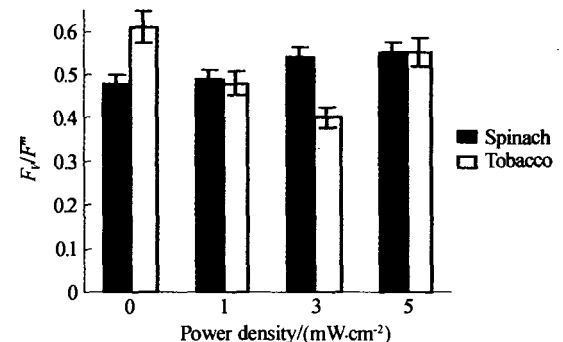


图 4 微波对菠菜和烟草荧光参量 F_V/F_m 的影响

Fig. 4 Effect of microwave on F_V/F_m of spinach and tobacco

草 F_V/F_0 的值明显降低. 图 4 显示, 菠菜和烟草 F_V/F_m 值的变化趋势与 F_V/F_0 的变化相同, 表明微波电磁场使菠菜光合细胞 PS II 的潜在活性提高, 原初光能转换效率提高, 而使烟草光合细胞 PS II 的潜在活性降低, 原初光能转换效率降低.

2.3 微波电磁场作用下菠菜和烟草叶绿素荧光动力学参量 $\Delta F_V/T$ 的差异

在 1 mW/cm^2 、 3 mW/cm^2 和 5 mW/cm^2 微波电磁场作用下, 菠菜和烟草叶绿素荧光动力学参数 $\Delta F_V/T$ 的差异见图 5. 图 5 中, $\Delta F_V = F_m - F_S$, 式中 F_S 为最大荧光 F_S 下降到达亚稳态 S 相的荧光, T 为相应的下降时间, $\Delta F_V/T$ 为可变荧光猝灭速率, 它反映了光合电子传递速率的大小^[7]. 由图 5 可见, 在 1 mW/cm^2 、 3 mW/cm^2 和 5 mW/cm^2 的微波作用下, 菠菜 $\Delta F_V/T$ 的值均比未处理的要高, 而烟草 $\Delta F_V/T$ 的值均比未处理的要低, 呈现出相反的变化趋势. 由于 $\Delta F_V/T$ 反映了光合电子传递速率的大小, 因而图 5 显示的结果表明微波电磁场使菠菜光合电子传递过程加快, 而使烟草叶片光合电子传递速率降低.

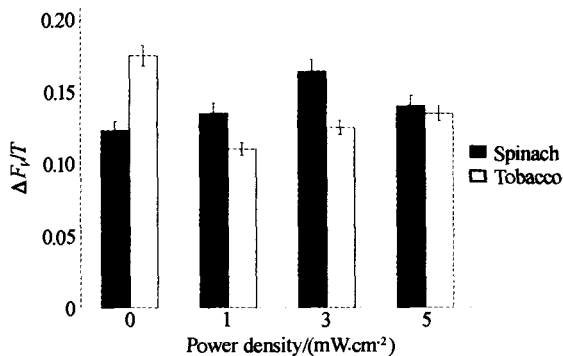


图 5 微波对菠菜和烟草荧光参量 $\Delta F_V/T$ 的影响

Fig. 5 Effect of microwave on $\Delta F_V/T$ of spinach and tobacco

2.4 微波电磁场作用下菠菜和烟草叶绿素荧光动力学参量 F_{VI}/F_V 的差异

在叶绿素荧光动力学分析中, $F_{VI} = F_I - F_0$, F_{VI}/F_V 的大小表征了光合机构中 PS II 无活性中心的相对含量, 它反映了 PS II 活性中心的异质性. 图 6 给出了 1 mW/cm^2 、 3 mW/cm^2 和 5 mW/cm^2 的微波电磁场对菠菜 F_{VI}/F_V 的影响. 由图 6 可见, 各处理组的 F_{VI}/F_V 值均比未受处理的对照组要低, 表明微波电磁场使菠菜叶片光合机构中 PS II 无活性中心的相对含量减小. 我们在实验中发现, 烟草叶片的 PS II 无活性中心的相对含量没有明显变化. 看来, 微波辐射使菠菜发生了 PS II 无活性中心向有活性中心的转变.

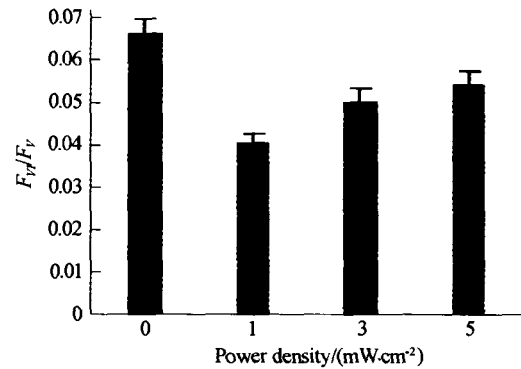


图 6 微波对菠菜荧光参量 F_{VI}/F_V 的影响

Fig. 6 Effect of microwave on F_{VI}/F_V of spinach

2.5 微波电磁场作用下菠菜和烟草光合色素差异

对菠菜和烟草中叶绿素含量的测定结果表明, 在 1 mW/cm^2 、 3 mW/cm^2 和 5 mW/cm^2 的微波电磁场作用下, 菠菜和烟草叶片的叶绿素含量均较对照有所减少(见图 7), 然而, 菠菜和烟草光合色素中的类胡萝卜素含量对微波电磁场有不同反应. 随辐射功率的增加, 菠菜的类胡萝卜素呈现降后升的变化, 当环境功率密度为 5 mW/cm^2 时, 菠菜类胡萝卜素含量的增幅达 54%. 烟草的类胡萝卜素含量则一直低于对照, 见图 8.

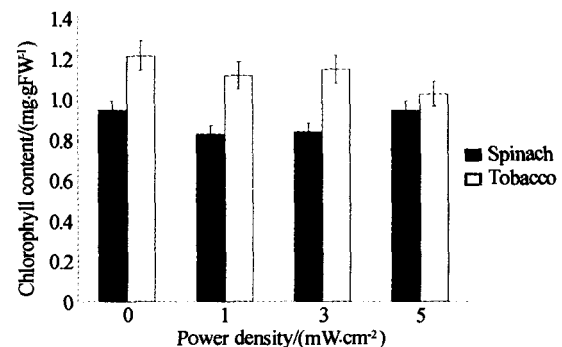


图 7 微波对菠菜和烟草叶绿素的影响

Fig. 7 Effect of microwave on chlorophyll of spinach and tobacco

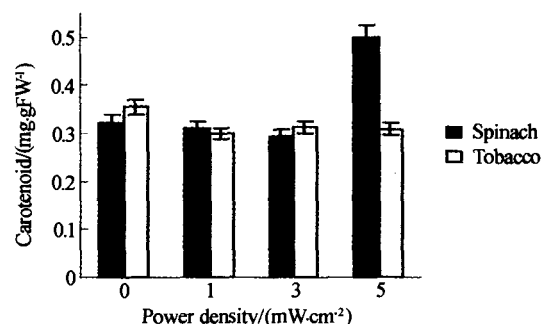


图 8 微波对菠菜和烟草类胡萝卜素的的影响

Fig. 8 Effect of microwave on carotenoid of spinach and tobacco

2.6 微波电磁场作用下菠菜和烟草 MDA 的差异

MDA 是膜脂过氧化作用的产物, 常用作衡量

膜脂氧化的指标. 为了探讨微波辐射下菠菜和烟草叶绿素减少的原因, 我们测定了菠菜和烟草叶片MDA的变化. 结果表明, 微波电磁场作用下, 菠菜和烟草叶片MDA含量较对照都有所增加(见图9). 与图7比较可知MDA含量的升高与叶绿素含量的下降呈负相关, 表明MDA含量的升高可能是叶绿素含量下降的原因.

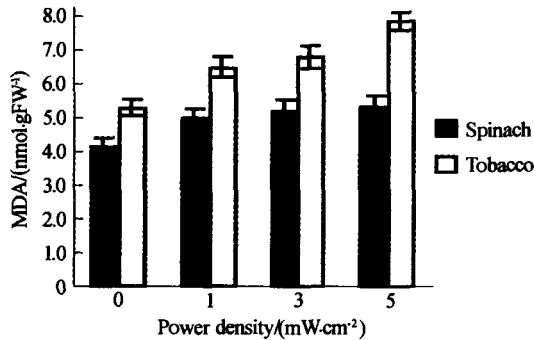


图9 微波对菠菜和烟草MDA含量的影响

Fig. 9 Effect of microwave on MDA content of spinach and tobacco

3 讨论

在300 MHz低强度微波电磁场作用下, 菠菜和烟草光合细胞叶绿素荧光动力学过程和光合色素含量呈现不同的变化. 菠菜初始荧光 F_0 较对照减小, 而烟草的初始荧光 F_0 则较对照有所升高. 由于 F_0 是处于钝化状态的光合机构中PSII复合蛋白体中各辅助单元受激充能后发出的荧光, 它与叶绿素浓度有关^[8]. 实验揭示, 菠菜叶片初始荧光 F_0 的变化与叶绿素含量的变化呈正相关, 表明菠菜初始荧光 F_0 的减少是由于菠菜叶绿素含量的下降所致. 而对烟草而言, 微波电磁场作用下, 烟草叶绿素含量也减少了, 但其 F_0 并未减少, 反而增加. 烟草叶绿素含量的减小会造成 F_0 的降低, 而光合机构的破坏又使其增高^[9]. 因此, 烟草的初始荧光 F_0 的升高是因为光合机构受到破坏所致, 本实验中发现的微波下烟草荧光动力学参数 F_V/F_0 的下降就表明了烟草叶片PSII的潜在活性减小. 此外, 由 $\Delta F_V/T$ 和 F_V/F_m 的变化可知, 微波电磁场抑制了光合机构中光合电子传递速度, 使原初光能转换效率下降. 有报道指出, 叶绿素含量降低与MDA的产生是相关的, 膜脂过氧化可能是叶绿素降解的原因^[10], 本实验的结果也证明了这一点. 我们的研究发现, 微波造成烟草叶片MDA含量升高, 细胞膜膜脂过氧化, 因此, 烟草叶片细胞膜膜脂过氧化可能是烟草叶片叶绿素含量降低及光合机构受到破坏的原因之一.

菠菜叶片对微波电磁场的反应与烟草有所不同. 菠菜叶片的 F_V/F_0 、 $\Delta F_V/T$ 和 F_V/F_m 均较对照要

高, 表明微波电磁场使菠菜的PSII潜在活性增强、光合电子传递速率加快、原初光能转换效率提高. 由 F_V/F_0 的变化可知, 菠菜光合机构中PSII无活性中心的相对含量减小. 对光合色素而言, 在低强度微波作用下, 菠菜的叶绿素含量虽然有所降低, 但类胡萝卜素含量却明显升高(烟草则有所降低), 类胡萝卜素含量的升高有助于弥补叶绿素含量的降低. 因此, 菠菜叶片PSII活性中心异质性的变化和类胡萝卜素含量的升高可能是菠菜对微波电磁场的一种保护性反应, 这些变化使菠菜的光合作用维持在较高水平. 看来, 微波电磁场使烟草叶片光合机构受到抑制, 光合色素系统受到破坏; 菠菜则通过光合细胞中PSII活性中心异质性的转变和光合色素中类胡萝卜素含量的升高来适应微波辐射的环境.

参考文献

- 1 习岗, 杨初平, 宋清. 异常环境电磁场对生物影响的研究进展. 应用与环境生物学学报, 2003, 9(2): 203~206
Xi G, Yang C P, Song Q. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2003, 9(2): 203~206
- 2 习岗, 张振瀛. 植物抗逆性研究的物理学方法. 物理, 1997, 26(3): 162~166
Xi G, Zhang Z Y. *Physics*, 1997, 26(3): 162~166
- 3 习岗, 侯建强, 王海彬, 等. 射频电磁波生物学非热效应实验系统的研制. 华南农业大学学报, 2003, 24(4): 92~96
Xi G, Hou J Q, Wang H B, et al. *Journal of South China Agricultural University*, 2003, 24(4): 92~96
- 4 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
- 5 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 134~137
Li H S. *The Principle and Technology of Physiological and Biochemical Experiment of Plant*. Beijing: China Higher Education Press, 2000. 134~137
- 6 张志良. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2003. 274~277
Zhang Z L. *The Guidance of Plant Physiological Experiment*. Beijing: China Higher Education Press, 2003. 274~277
- 7 林世清, 许春辉, 张其德, 等. 叶绿素荧光动力学在植物抗性生理学、生态学和农业现代化中的应用. 植物学通报, 1992, 9(1): 1~16
Lin S Q, Xu C H, Zhang Q D, et al. *Chinese Bulletin of Botany*, 1992, 9(1): 1~16
- 8 Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, 42(2): 313~349
- 9 Demming B, Björkman O. Comparison of effect of

excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O_2 evolution in leaves of plants. *Planta*, 1987, **171**(2):171~184

10 蒋明义, 杨文英, 许江, 等. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿

素降解的活性氧损伤作用. *植物学报*, 1994, **36**(4):289~295

Jiang M Y, Yang W Y, Xu J, et al. *Acta Botanica Sinica*, 1994, **36**(4):289~295

The Difference of Chlorophyll Fluorescence Dynamics Process and the System of Photosynthetic Pigment in Leaf of Spinach and Tobacco Under the Action of Low Level Microwave Electromagnetic Field

Xi Gang, Li Ying, Cao Yongjun, Song Qing
South China Agriculture University, Guangzhou 510642

Received date: 2004-05-31

Abstract Under the action of low level microwave electromagnetic field of 300MHz, the changes of chlorophyll fluorescence dynamics process and photosynthetic pigment in leaf of spinach and tobacco are different. When the fluorescence dynamics parameters F_0 and F_{VI}/F_V of spinach decrease, $\Delta F_V/T$ and F_V/F_m increase. The fluorescence dynamics parameter F_0 of tobacco increases, while $\Delta F_V/T$ and F_V/F_m decrease. There is a difference between photosynthetic pigment of spinach and tobacco. The content of chlorophyll in leaf of spinach and tobacco decrease, but the content of carotenoid in leaf of spinach increase. These results show that low level microwave electromagnetic field leads to the decrease of potential active of reaction center PS II and the photochemical efficiency of PS II in leaf of tobacco. Spinach can keep the photosynthesis in leaf through the change of heterogeneity of PS II and the increases of carotenoid.

Keywords Microwave; Chlorophyll fluorescence dynamics; Photosynthetic pigment; Spinach; Tobacco



Xi Gang was born in 1957, graduated from the physics major of Xian University of Technology in 1981, won the M. S. degree of biophysics in 1991. Now, he is working as a professor in South China Agriculture University and majoring in biophysics. Over 40 academic papers have been published.