

# CO<sub>2</sub> 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\*

李方民<sup>1</sup> 陆治国<sup>2</sup> 王勳陵<sup>1</sup> 岳 明<sup>1,\*\*</sup>

(1 西北大学生命科学学院, 西安 710069)

(2 西北大学物理系, 西安 710069)

**摘 要** 用 20 mW · mm<sup>-2</sup> CO<sub>2</sub> 激光对小麦萌发的种子分别照射 1 min、3 min、5 min、7 min, 待其长至幼苗期, 在光背景(PAR)90 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup> 条件下, 用 3.10 kJ · m<sup>-2</sup> UV-B 照射 7 h · d<sup>-1</sup>, 然后对其丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)以及抗坏血酸(AsA)等含量进行测定. 结果发现, CO<sub>2</sub> 激光预处理可提高小麦 GSH 和 AsA 含量以及 SOD、CAT、POD 酶活性, 降低 MDA 含量, 从而抑制了由 UV-B 辐射引起小麦的脂质过氧化作用, 以处理 5 min 为最适时间.

**关键词** CO<sub>2</sub> 激光; UV-B 辐射; 小麦; 脂质过氧化

**中图分类号** Q631 **文献标识码** A

## 0 引言

随着现代工业的发展, 大量污染气体如氯氟烃(CFCs)和氮氧化物进入平流层, 从而破坏了臭氧层. 臭氧层的破坏直接导致到达地球表面的 UV-B 辐射增强, UV-B 辐射增强已经产生和将要产生严重的生态后果<sup>[1]</sup>. 据报道, 臭氧层每减少 1%, 到达地表的 UV-B 辐射强度增加 2%, 同时将使粮食产量减少 2%<sup>[2,3]</sup>. 因此这一问题已经被列为全球环境变化的重要问题之一. 激光技术在遗传育种、生物刺激效应等方面已进行了大量的研究, 适当剂量的激光辐射可以促进植物的生长, 增强植物的抗逆性<sup>[4,5]</sup>. 目前许多研究大多利用激光为手段, 引起植物或微生物发生诱变作用, 获得优良的遗传特性<sup>[6~8]</sup>. 把激光技术用来修复 UV-B 引起植物所受的损伤, 只报道过关于 He-Ne 激光的一些研究<sup>[9,10]</sup>. 而选用 CO<sub>2</sub> 激光修复 UV-B 引起植物所受的损伤在国内外尚未见报道. CO<sub>2</sub> 激光具有功率高, 处理效果显著的特点. 小麦是我国大部分地区的主要农作物, 受紫外线增强的直接影响, 对其进行研究具有重要的经济价值和应用价值. 本研究试图通过利用 CO<sub>2</sub> 激光对小麦进行预处理后, 再进行 UV-B 辐射处理, 以寻求一种较好的途径来减轻和防护 UV-B 辐射对植物的伤害作用.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

小麦品种为冬小麦小偃 22-2, 西北农林科技大

学提供.

### 1.2 方法

#### 1.2.1 种子萌发

选取籽粒饱满, 大小均一的小麦种子, 培养于盛有湿滤纸的培养皿中, 30 粒/盘, 每组三次重复, 放入 25℃ 恒温箱中萌发, 48 h 后待处理.

#### 1.2.2 CO<sub>2</sub> 激光辐照处理

使用功率密度为 20 mW · mm<sup>-2</sup> CO<sub>2</sub> 激光器, 采用辐照 1、3、5、7 min 的 4 个时间梯度处理小麦萌发的种子, 然后置于昼夜温差为 25℃/18℃ 的光照培养室中, 十天后待处理.

#### 1.2.3 UV-B 辐射处理

紫外 B 发生用紫外灯-B(297 nm), UV-B 辐射剂量为 3.10 kJ · m<sup>-2</sup>, 将紫外灯置于幼苗正上方进行照射, 连续照射 7 h, 光背景值为 90 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>.

共设对照(CK), 激光处理(L), 激光和 UV-B 复合处理(LU)和 UV-B 处理(U)四种处理. 激光处理又分为 4 个处理时间梯度, 整个实验共十组处理, 见表 1.

表 1 实验所设处理

处理组	激光处理时间/min	UV-B 处理时间/h
CK	/	/
L <sub>1</sub>	1	/
L <sub>2</sub>	3	/
L <sub>3</sub>	5	/
L <sub>4</sub>	7	/
L <sub>1</sub> U	1	7
L <sub>2</sub> U	3	7
L <sub>3</sub> U	5	7
L <sub>4</sub> U	7	7
U	/	7

\*国家自然科学基金资助项目(30370269)

\*\* Tel:029-88302050 Email:yueming@nwu.edu.cn

收稿日期:2005-09-19

### 1.3 测定项目

#### 1.3.1 丙二醛(MDA)含量的测定

利用文献[11]方法测定 532、600 和 450 nm 三个波长下的吸光度。

#### 1.3.2 还原型谷胱甘肽(GSH)含量的测定

按文献[12]的方法,所提取的样品摇匀后于 30℃ 保温 5 min,然后测定 412 nm 波长下的吸光度。

#### 1.3.3 抗坏血酸(AsA)含量的测定

参考 Tonamura1978 的方法<sup>[13]</sup>,在 524 nm 处测吸光度下降速度。

#### 1.3.4 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定

已知 SOD 活性单位以抑制 NBT 光还原的 50% 为一个酶活性单位表示,实验方法见参考文献[14]。

#### 1.3.5 过氧化氢酶(CAT)活性的测定

用参考文献[15]的方法,稍加改进.室温反应的时间为 4 min. 然后测 240 nm 处光吸收值的下降速率. 以光吸收每分钟变化 0.01 为一个酶活力单位。

#### 1.3.6 过氧化物酶(POD)活性的测定

按文献[16]的方法,470 nm 波长下测定吸光度。

## 2 结果与分析

### 2.1 CO<sub>2</sub> 激光和 UV-B 辐射对小麦叶片丙二醛(MDA)含量的影响

由图 1 可以看出,激光单独处理均可适当降低小麦叶片丙二醛含量;UV-B 辐射单独处理下,小麦叶片丙二醛含量约为对照的 165%,差异极显著;在复合处理下,小麦叶片丙二醛含量低于 UV-B 辐射单独处理,但仍高于对照。

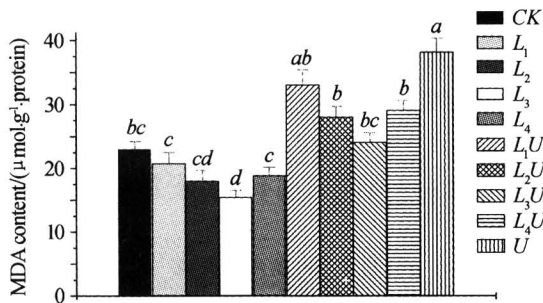


图 1 CO<sub>2</sub> 激光和 UV-B 辐射对小麦叶片丙二醛含量影响  
Fig. 1 Effects of CO<sub>2</sub> laser and UV-B irradiation on the malondialdehyde content of wheat

### 2.2 CO<sub>2</sub> 激光和 UV-B 辐射对小麦叶片还原型谷胱甘肽(GSH)含量的影响

由图 2 可以看出,激光单独处理均可使小麦叶片谷胱甘肽含量显著提高,与对照相比分别提高了 70%、125%、150%、140%;UV-B 辐射单独处理下,

小麦叶片谷胱甘肽含量比对照的低;在复合处理下,小麦叶片谷胱甘肽含量低于激光单独处理,但高于比对照. 复合处理中,L<sub>3</sub>U 的谷胱甘肽含量最高。

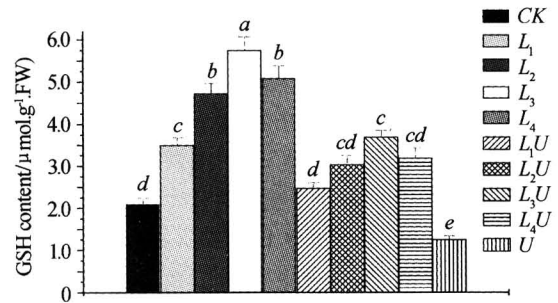


图 2 CO<sub>2</sub> 激光和 UV-B 辐射对小麦叶片还原型谷胱甘肽含量的影响  
Fig. 2 Effects of CO<sub>2</sub> laser and UV-B irradiation on the GSH content of wheat

### 2.3 CO<sub>2</sub> 激光和 UV-B 辐射对小麦叶片抗坏血酸(AsA)含量的影响

由图 3 可以看出,激光单独处理均可显著提高小麦叶片抗坏血酸含量,与对照相比,分别增加了 32%、60%、80%、72%;UV-B 辐射单独处理下,小麦叶片抗坏血酸含量比低于照;在复合处理下,小麦叶片抗坏血酸含量高于 UV-B 单独处理,但仍低于对照水平. 复合处理中,同样是 L<sub>3</sub>U 的谷胱甘肽含量最高。

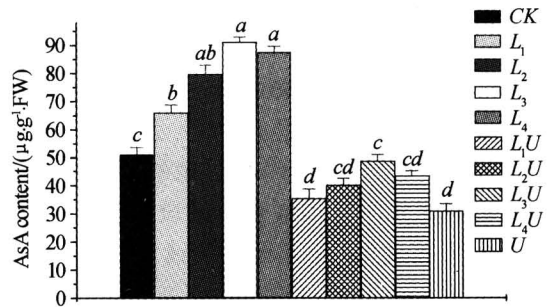


图 3 CO<sub>2</sub> 激光和 UV-B 辐射对小麦叶片抗坏血酸含量的影响  
Fig. 3 Effects of CO<sub>2</sub> laser and UV-B irradiation on the ascorbate acid content of wheat

### 2.4 CO<sub>2</sub> 激光和 UV-B 辐射对小麦叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性的影响

由表 2 可以看出,激光单独处理均可提高小麦叶片 SOD、CAT、POD 酶活性;UV-B 辐射单独处理下,小麦叶片 SOD、CAT、POD 酶活性比对照低;在复合处理下,小麦叶片 SOD、CAT、POD 酶活性高于 UV-B 单独处理,接近于对照水平,其中以 L<sub>3</sub>U 的处理效果最好。

表 2 CO<sub>2</sub> 激光对小麦幼苗 SOD, CAT 和 POD 酶活性的影响 (unit: mg protein)

处理组	SOD	CAT	POD
CK	1.185±0.12c	6.101±0.31c	0.821±0.15b
L <sub>1</sub>	2.085±0.16b	10.594±0.24b	1.006±0.09a
L <sub>2</sub>	2.505±0.13a	14.773±0.33a	1.187±0.11a
L <sub>3</sub>	3.022±0.21a	16.218±0.68a	1.304±0.08a
L <sub>4</sub>	2.720±0.18a	13.527±0.56a	1.205±0.14a
L <sub>1</sub> U	0.840±0.08d	4.968±0.48c	0.454±0.06d
L <sub>2</sub> U	1.075±0.09c	5.226±0.47c	0.609±0.09c
L <sub>3</sub> U	1.703±0.11b	6.343±0.55c	0.683±0.09c
L <sub>4</sub> U	1.260±0.10	5.667±0.29c	0.667±0.11c
U	0.600±0.05d	3.365±0.21d	0.336±0.03e

注:表中同一处理时间所测得同一指标结果中不同字母表示差异显著( $p < 0.05$ )

### 3 讨论

实验结果发现,用 20mW · mm<sup>-2</sup> CO<sub>2</sub> 激光对小麦萌发的种子进行预处理后,可以有效地对 UV-B 辐射增强产生的脂质过氧化伤害进行防护,以处理 5 min 的效果最佳. 这一结果将作为进一步研究 CO<sub>2</sub> 激光防护作用的实验剂量.

UV-B 辐射增强可引起小麦的 MDA 含量明显提高, GSH 含量和 AsA 含量降低, SOD 酶活性下降. 这些结果充分证明了增强 UV-B 辐射对小麦产生了明显的伤害作用. 因为 MDA 是植物细胞膜脂过氧化的产物,其产生越多表明细胞受到的伤害越严重<sup>[17]</sup>. GSH 和 AsA 是植物体内两种重要的非酶类抗氧化剂,它们参与的 AsA-GSH 循环是重要的清除活性氧自由基的系统,而且 GSH 还能启动抗性基因的表达和保护巯基<sup>[18]</sup>. 而 SOD、CAT、POD 则是酶类抗氧化剂,能有效的清除植物体内的活性氧自由基<sup>[9]</sup>. UV-B 辐射增强,引起植物膜脂过氧化产生了活性氧自由基后, GSH、AsA、SOD、CAT 和 POD 便参与了活性氧自由基的清除,从而引起了消耗,导致 GSH 含量和 AsA 含量降低, SOD、CAT 和 POD 酶活性下降.

韩榕等人<sup>[19]</sup>研究发现, He-Ne 激光的辐照能促进小麦细胞修复由 UV-B 辐射造成的损伤. 齐智等人<sup>[20,21]</sup>报道了 He-Ne 激光可以修复 UV-B 辐射引起的伤害和缩短植物自身修复的时间. 本实验中发现,在一定剂量的 CO<sub>2</sub> 激光作用下,结果与 UV-B 辐射作用刚好相反,小麦的 MDA 含量降低, GSH 含量和 AsA 含量明显增高, SOD、CAT 和 POD 酶活性也显著升高. 复合处理下, CO<sub>2</sub> 激光预处理的促进作用,刚好能有效地抑制 UV-B 辐射的伤害作用,起到很好的防护作用. 说明了 CO<sub>2</sub> 激光同样能防护 UV-B 辐射引起的伤害. 在本实验中,以 5 min

的激光预处理的防护效果最好. 本实验从一个方面说明了,激光可以通过对抗氧化系统的酶类和非酶类基因的激活,从而提高了酶的活性和非酶类抗氧化剂的含量,来达到对 UV-B 辐射引起的植物脂质过氧化伤害的防护作用.

### 参考文献

- 1 Stolarski R. Measured trends in stratospheric ozone. *Science*, 1992, **256**: 342~349
- 2 Madronich S R, Mckenzie R L, Caldwell M. Changes in ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Ambio*, 1995, **24**(3): 143~152
- 3 Coohill T P. Action spectra again. *Photochem Photobiol*, 1991, **54**(5): 859~870
- 4 齐智, 蔡素雯, 王勋陵. He-Ne 激光对可溶性蛋白合成的影响. 西北大学学报, 2000, **30**(1): 45~48  
Qi Z, Cai S W, Wang X L. *Journal of Northwest University*, 2000, **30**(1): 45~48
- 5 张建东, 陈怡平, 张晋豫, 等. CO<sub>2</sub> 激光对玉米种子萌发及幼苗生长发育的影响. 激光技术, 2004, **28**(5): 494~497  
Zhang J D, Chen Y P, Zhang J Y, et al. *Laser Technology*, 2004, **28**(5): 494~497
- 6 郭斌, 尉亚辉, 曹炜. He-Ne 激光诱变选育高产白藜芦醇细胞系. 光子学报, 2002, **31**(3): 277~280  
Guo B, Wei Y H, Cao W. *Acta Photonica Sinica*, 2002, **31**(3): 277~280
- 7 王卫卫, 任鹏康, 阎明, 等. He-Ne 激光对-亚麻酸产生菌少根根霉的诱变作用. 光子学报, 2002, **31**(2): 157~161  
Wang W W, Ren P K, Yan M, et al. *Acta Photonica Sinica*, 2002, **31**(2): 157~161
- 8 郭爱莲, 朱宏莉. 紫外、氦氛激光等复合诱变产果胶酶细菌 ZH1 的研究. 光子学报, 2002, **31**(11): 1335~1339  
Guo A L, Zhu H L. *Acta Photonica Sinica*, 2002, **31**(11): 1335~1339
- 9 韩榕, 王勋陵, 岳明, 等. He-Ne 激光对小麦幼苗增强 UV-B 辐射损伤修复的影响. 光子学报, 2001, **30**(10): 1182~1186  
Han R, Wang X L, Yue M, et al. *Acta Photonica Sinica*, 2001, **30**(10): 1182~1186
- 10 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. 中国激光, 2002, **29**(1): 91~94  
Qi Z, Yue M, Wang X L, et al. *Chinese Journal of Laser*, 2002, **29**(1): 91~94
- 11 Predieri S, Borman H A, Krizek D T, et al. Influence of UV-B radiation on membrane lipid composition and ethylene evolution in "Doyenbed Hivol". *Enviro and Exp Bot*, 1995, **35**: 150~160
- 12 Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochem and Biophys*, 1959, **82**(1): 70~77
- 13 Tonamura B. Test reactions for a stopped flow

- apparatus regulation of 2,6-D and potassium ferricynde by L-ascorbic acid. *Anal Biochem*, 1978, **84**(2): 370~383
- 14 Giannopitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase I: Purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedlings. *Plant Physiol*, 1977, **59**(2): 315~318
- 15 Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity on enhance activities of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol*, 1992, **98**(3): 1222~1227
- 16 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 164~261  
Li H S, Sun Q, Zhao S J, *et al.* The experiment principle and technique on plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press, 2000. 164~261
- 17 唐旭东, 安黎哲, 王勋陵. 增强 UV-B 辐射对蚕豆叶片微粒体膜一些性质的影响. *植物生理学报*, 1998, **24**(2): 171~176
- Tang X D, An L Z, Wang X L. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1998, **24**(2): 171~176
- 18 Kocsy G, Galiba G, Brunold C. Role of glutathione in adaptation and signaling during chilling and cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum*, 2001, **113**(2): 158~164
- 19 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. *科学通报*, 2002, **47**(6): 435~438  
Han R, Wang X L, Yue M. *Chinese Science Bulletin*, 2002, **47**(6): 435~438
- 20 Zhi Q, Ming Y, Rong H, *et al.* The damage repair role of He-Ne laser on plants exposed to different intensities of ultraviolet-B radiation. *Photochem Photobiol*, 2002, **75**(6): 680~686
- 21 Zhi Q, Ming Y, Wang X L. Laser pretreatment protect cells of broad bean from UV-B radiation damage. *Journal of Photochem Photobiol*, 2000, **59**(1-3): 33~37

## Protect Effects of CO<sub>2</sub> Laser Pretreatment on Wheat Seedling Lipid Peroxidation by UV-B Radiation

Li Fangmin<sup>1</sup>, Lu Zhiguo<sup>2</sup>, Wang Xunling<sup>1</sup>, Yue Min<sup>1, \*\*</sup>

<sup>1</sup> College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069

<sup>2</sup> College of Physics, Northwest University, Xi'an 710069

Received date: 2005-09-19

**Abstract** The wheat seeds were irradiated by a 20 mW · mm<sup>-2</sup> CO<sub>2</sub> laser for 1 minute, 3 minutes, 5 minutes and 7 minutes. In the stage of seedlings, 3.10 kJ · m<sup>-2</sup> UV-B was employed to irradiate seedlings for 7 hours under the condition of PAR 90 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>, then the contents of GSH, AsA, MDA and the activity of SOD, CAT, POD enzyme were determined. The results showed that the CO<sub>2</sub> laser pretreatment could increase the contents of GSH and AsA and the activity of SOD, CAT, POD enzyme, but decreased the content of MDA. Thereby the effects of CO<sub>2</sub> laser pretreatment could restrain the wheat seedling lipid peroxidation by UV-B radiation, and it showed that the best treat-time is about five minutes.

**Keywords** CO<sub>2</sub> laser; UV-B radiation; Wheat; Lipid peroxidation



**Li Fang** min was born in Jiangsu, China, on Sep 11, 1976. He obtained the M. S degree in 2003 and will acquire the D. S degree in 2006 from Department of Science of Northwest University. His research focus on Environmental Botany.