

文章编号:1004-4213(2011)05-0712-6

He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射拟南芥 抗氧化系统的损伤修复

姜晓燕,高丽美,李永峰,韩榕

(山西师范大学 生命科学学院,山西 临汾 041004)

摘 要:以培养 6 周左右的拟南芥为材料,采用 UV-B 辐射(剂量 $1 \text{ KJ}/\text{m}^2/\text{d}$)和 He-Ne 激光器(波长 632.8 nm ,输出功率 $5 \text{ mW} \cdot \text{mm}^2$,辐照时间 60 s)对材料进行处理,分成 CK(没有经过 UV-B 或激光辐照)组、B(UV-B 辐射)组、BL(UV-B 和激光复合处理)组和 L(激光辐照)组 4 个不同处理组.结果表明:增强的 UV-B 辐射拟南芥幼苗导致 MDA(Malondialdehyde)、超氧阴离子含量升高,GSH(Glutathione)含量降低,PAL(phenylalanine ammonia-lyase)、CAT(catalase)和 APX(ascorbate peroxidase)活性升高,SOD(superoxide dismutase)活性降低.单独 He-Ne 激光处理使 MDA、超氧阴离子含量降低,GSH 的含量升高,SOD、APX、CAT 的活性升高,PAL 的活性降低.UV-B 辐射后再用 He-Ne 激光进行后处理,发现与单独 UV-B 辐照处理相比,MDA、超氧阴离子含量降低,GSH 含量升高,SOD、APX、CAT 的活性升高了,PAL 的活性降低了.因此激光在一定程度上提高了拟南芥叶片抗氧化能力,在此基础上讨论了其可能的形成机理.

关键词:He-Ne 激光;UV-B 辐射;拟南芥;抗氧化系统

中图分类号:Q945

文献标识码:A

doi:10.3788/gzxb20114005.0712

0 引言

大气臭氧层减薄,导致到达地面的太阳紫外线 B 辐射($280 \sim 320 \text{ nm}$)增强,对地球上的植物产生危害,这个问题已经引起了国内外的广泛关注. UV-B 对植物从形态到生理生化以及分子水平上都造成了影响,特别是对植物自身抗氧化系统的影响有很多报道.研究表明,在 UV-B 辐射初期可刺激抗氧化系统物质或酶活性暂时升高,但长时间 UV-B 辐射超过了植物自身的耐受阈值,导致抗氧化系统酶的活性降低,膜脂受活性氧作用产生的有毒物质丙二醛含量升高^[1-4].当植物依靠自身不能清除体内积累的活性氧的时候,人们就想通过外部条件来提高植物对逆境胁迫的抵抗能力,于是出现了利用 CO_2 和 He-Ne 激光等来促进植物的生长发育.赵广琦等^[5]研究增强 UV-B 辐射和 CO_2 倍增复合处理蚕豆和小麦时,发现由 CO_2 提高的抗氧化酶活性和抗氧化物质含量弥补了 UV-B 辐射造成的抗氧化能力减退,使活性氧—抗氧化系统之间不断保持平衡,维持

了植物正常代谢活动,韩榕等^[6]等在研究增强 UV-B 辐射和 He-Ne 激光复合处理小麦幼苗时得到了类似的结果.

本课题组一直以小麦作为受试材料,从形态、生理生化、染色体、DNA 等不同方面研究了 He-Ne 激光对增强的 UV-B 辐射小麦损伤修复的影响,并取得了一定的成果^[6-8].但由于小麦基因组较大,导致一些机理的探明比较困难.拟南芥的基因组是目前已知植物基因组中最小的,只有小麦染色体组长的 $1/80$,生长周期短,自花授粉,基因高度纯和,用理化因素处理突变率高,因此成为遗传、细胞、发育等研究的模式植物.所以本文采用模式植物拟南芥为受试材料,用 He-Ne 激光辐照,对模拟增强 UV-B 辐射下,拟南芥叶片中丙二醛(MDA)、超氧阴离子、还原型谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)的含量或活性作了初步研究,以期探索 He-Ne 激光及 UV-B 辐照对拟南芥抗氧化系统的影响,为 He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射损

基金项目:国家自然科学基金(No. 30671061)和山西省自然科学基金(No. 2008011059-1)资助

第一作者:姜晓燕(1984—),女,硕士研究生,主要研究方向为细胞生物学. Email:Jiang_xiaoyan_2008@126.com

导师(通讯作者):韩榕(1962—),男,教授,主要研究方向为细胞生物学和光生物学. Email:hanrong@dns.sxnu.edu.cn

收稿日期:2010-11-15;修回日期:2011-01-06

伤修复的机理提供新的证据,并对植物的防紫外线机理和激光对紫外辐射在农业育种方面作用的认识奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料培养

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) Col-0 生态型种子 4℃ 春化三天后,点种于基质(蛭石:珍珠岩:营养土=2:1:1)中生长的光暗周期为 16 h/8 h,温度(21±2)℃,光照强度 100~120 μmol/m²·s⁻¹,相对湿度 70%~80%左右,待幼苗 6 周龄左右进行处理。

1.2 材料处理

1.2.1 UV-B 辐射处理

紫外 B 组发生用紫外-B 灯(秦牌,宝鸡制造,8 W, 297 nm)模拟增强 UV-B 辐射,将其垂直悬于培养皿的上方,通过调整 UV-B 灯与植物之间的距离来控制 UV-B 辐射的强度,辐射强度 0.82 W/m²,照射 20 min,UV-B 剂量约为 1 KJ/m²·d⁻¹. 采用紫外辐照计(UV-B 型,北师大光电仪器厂)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(FL, USA)进行校正。

1.2.2 大功率激光生物辐照仪

该辐照仪(南京激光仪器厂)波长为 632.8 nm,输出功率 5 mW·mm⁻²,照射时间 60 s. 激光处理安排在夜间进行,以排除杂光影响。

1.2.3 实验设计

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。

1.3 指标的测定

1.3.1 丙二醛含量的测定

参照孔祥生等^[9]的方法略作改动. 称取拟南芥叶片 0.1 g,加 1 mL 10% TCA 研磨至匀浆,4 000 g 离心 10 min. 取全部上清,加入 1 mL 0.6% TBA. 于沸水浴上反应 15 min,迅速冷却后再离心. 取上清液测定 532 nm、600 nm 和 450 nm 下的吸光度。

1.3.2 超氧阴离子含量的测定

参照孙群等^[10]的方法略作改动。

1)标准曲线的制作:取 20 mL 试管 7 支,编号,按表 1 顺序添加试剂。

试剂加完后将各试管置 30℃ 恒温水浴中保温 30 min,显色反应后测定 A₅₃₀. 以 NO₂⁻ 浓度为横坐标, A₅₃₀ 值为纵坐标,绘制标准曲线。

表 1 NO₂⁻ 标准曲线测定反应系统

Table 1 NO₂⁻ determination of standard curve response system

Reagents/ mL	Tube No.						
	1	2	3	4	5	6	7
NO ₂ ⁻ the standard solution	0	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0
Distilled water	2.0	1.8	1.6	1.2	0.8	0.4	0
4-aminobenzene sulfonic acid	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
α-naphthylamine	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Each tube NO ₂ ⁻ μg	0	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10

2)O₂⁻ 的提取并测定:称取拟南芥叶片 0.1 g,加适量 65 mmol/L 的磷酸缓冲液(PH 7.8)研磨匀浆,定容至 2 mL,10 000 rpm 离心 10 min. 取全部上清,加入磷酸缓冲液 1.5 mL,盐酸羟胺 0.5 mL,25℃ 保温 20 min. 保温后与制作标准曲线同样的方法依次加入各种试剂,测定显色液 A₅₃₀(标准曲线 1 号试管调零)。

3)O₂⁻ 含量计算:从标准曲线上查出样品测定液对应 NO₂⁻ 的浓度,换算成 O₂⁻ 的浓度,按式(1)计算 O₂⁻ 含量(μg·g⁻¹FW)

$$O_{2\text{content}} = \frac{X \times V_1 \times n}{FW \times V_s} \quad (1)$$

式中 V₁ 为样品提取液的体积(mL);n 为测定时样品液的稀释倍数;FW 为样品鲜重(g);V_s 显色反应时取样品提取液的体积(mL);X 为从标准曲线上查得样品液 NO₂⁻ 的浓度。

1.3.3 GSH 含量的测定

参照李玲等^[11]的方法略作改动. 称取拟南芥叶片 0.1 g,加入 1 mL 经 4℃ 预冷的 50 g/L 的三氯乙酸(含 5 mmol/L Na₂-EDTA),冰浴研磨,于 4℃、12 000×g 离心 20 min. 将所有上清分装到 2 个试管中,分别加入 0.5 mL 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.7). 向其中一支试管中加入 0.5 mL 4 mmol/L DTNB,另一支试管中加入 0.5 mL 0.1 mol/L (pH 6.8). 将两支试管置于 25℃ 保温 10 min. 在 412 nm 处测定显色液的吸光度,分别记作 OD_s 和 OD_c. 根据两管吸光度差值,从标准曲线上查出相应的 GSH 含量. GSH 含量(μmol/g)按式(2)计算

$$GSH = \frac{n \times V}{V_s \times m} \quad (2)$$

式中,n 为由标准曲线查得的溶液中还原型谷胱甘肽物质的量(μmol);V 为样品提取液总体积(mL);V_s 为吸取样品提取液体积(mL);m 为样品质量(g)。

1.3.4 SOD 活性的测定

参照孙群等^[10]的方法略作改动. 称取拟南芥叶

片 0.1 g, 加入 1 mL 预冷的提取介质 (50 mmol/L 磷酸缓冲液 pH7.8 内含 1% 聚乙烯吡咯烷酮) 冰浴研磨至均浆, 于 4 °C、10 000 rpm 离心 15 min, 上清即为酶液. 在试管中加入 1.5 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH7.8), 130 mmol/L Met 溶液, 750 μ mol/L NBT, 100 μ mol/L EDTA- Na_2 , 20 μ mol/L 核黄素溶液各 0.3 mL, 测定管中再加 0.1 mL 上清. 在光下反应 15~20 min. 显色反应后在 560 nm 下测定吸光度. 酶活性 ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$) 按式 (3) 计算

$$\text{SOD}_{\text{activity}} = \frac{(A_0 - A_s) \times V_t}{A_0 \times 0.5 \times \text{FW} \times V_s \times t} \quad (3)$$

式中, A_0 为光下对照管吸光度; A_s 为样品测定管吸光度; V_t 为样品提取液总体积 (mL); V_s 为测定时取粗酶液量 (mL); t 为显色反应光照时间 (min); FW 为样品鲜重 (g).

1.3.5 APX 活性的测定

参照郝金花的方法^[12]. 称取 0.1 g 拟南芥叶片, 用冰浴研磨, 按 1:3 加入预冷的 50 mmol/L K_2HPO_4 - KH_2PO_4 缓冲液 (pH 7.0 含 0.1 mmol/LEDTA- Na_2), 4 °C、12 000 \times g 离心 15 min, 上清液为酶的提取液. 测定时 2 mL 反应混合液中含 50 mmol/L K_2HPO_4 - KH_2PO_4 缓冲液 (pH 7.0), 0.1 mmol/LEDTA- Na_2 , 0.3 mmol/LAsA, 1 mmol/L H_2O_2 和 28 μ L 酶液. 加入 H_2O_2 后立即在 20 °C 下测定 290 nm 下 30 s 的吸光值变化, 以 $\Delta A_{290} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 0.1 \text{g}^{-1} \text{FW}$ 表示酶活性.

1.3.6 CAT 活性的测定

参照孙群等^[10]的方法略做改动. 称取拟南芥叶片 0.1 g, 加入 1 mL 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH7.0), 冰浴研磨至匀浆, 4 °C、15 000 \times g 离心 15 min, 上清即为粗酶液. 取 0.1 mL 酶液, 加入 1 mL 50 mmol/L 磷酸 Tris-HCl 缓冲液 (pH7.0). 在 25 °C 中预热 3 min 后, 加入 0.2 mL 200 mmol/L H_2O_2 溶液, 立即测定 A_{240} . 以 1 min 内 A_{240} 降低 0.1 为一个酶活性单位 (U).

1.3.7 PAL 活性的测定

参照孙群等^[10]的方法略做改动. 称取拟南芥叶片 0.1 g, 加入 1 mL 5 mmol/L 巯基乙醇硼酸缓冲液 (内含 0.1 g/LPVP), 冰浴研磨至匀浆, 4 °C、10 000 rpm 离心 15 min, 上清即为待测酶液. 取全部上清, 加入 1 mL 0.02 mol/l L-苯丙氨酸, 2 mL 0.1 mol/L 硼酸缓冲液 (pH8.8), 置于 30 °C 下保温 60 min, 加 0.2 mL 6 mol/L 盐酸终止反应. 测定 A_{290} , 以每小时 A_{290} 增加 0.01 为一个酶活性单位 (U).

2 实验结果

2.1 对丙二醛含量的影响

不同处理对拟南芥幼苗 MDA 含量的影响结果见图 1. 丙二醛是膜脂受活性氧作用产生的物质, 测定其含量可以评价质膜受损程度. 与 CK 组相比, B 组 MDA 含量升高了 34.7%, $P < 0.01$, 差异极显著, 说明 UV-B 辐照后使膜脂受损严重; L 组 MDA 含量降低了 6.79%, $P < 0.05$, 差异显著. BL 组, 其 MDA 含量与 B 组相比降低了 18.77%, $P < 0.01$, 差异极显著, 说明 He-Ne 激光辐照能在一定程度上减轻质膜受到 UV-B 辐照造成的氧化伤害.

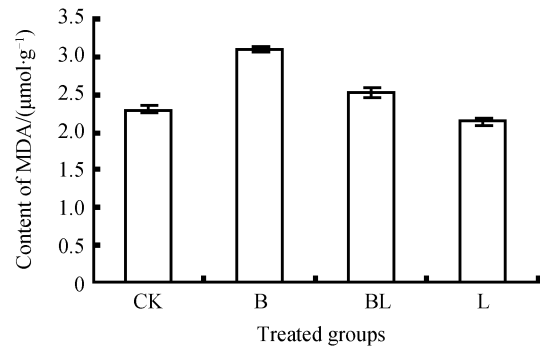


图 1 不同处理对拟南芥幼苗 MDA 含量的影响
Fig. 1 Influence on the content of MDA by different treatments

2.2 对超氧阴离子自由基含量的影响

不同处理对拟南芥幼苗超氧阴离子自由基含量的影响结果见图 2. 超氧阴离子自由基即可直接作用于蛋白质和核酸等生物分子, 也可衍生为羟自由基、单线态氧、过氧化氢及脂质过氧化物自由基等活性氧, 引起对细胞结构和功能的破坏. 与 CK 组相比, B 组 O_2^- 含量升高了 35.56%, $P < 0.01$, 差异极显著; L 组 O_2^- 含量降低了 3.08%, $P > 0.05$, 差异不显著. BL 组, 其 O_2^- 含量与 B 组相比降低了 23.16%, $P < 0.01$, 差异极显著.

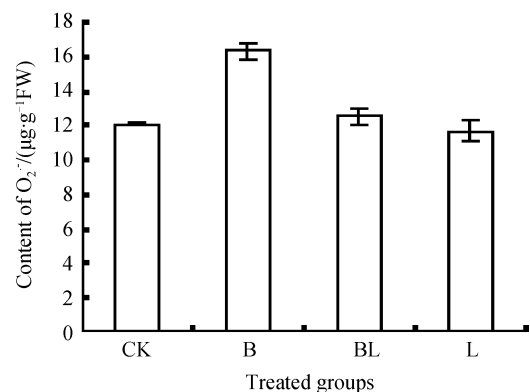


图 2 不同处理对拟南芥幼苗超氧阴离子自由基含量的影响
Fig. 2 Influence on the content of O_2^- by different treatments

2.3 对 GSH 含量的影响

不同处理对拟南芥幼苗 GSH 含量的影响结果见图 3. GSH 不仅可以作为 GR 的底物通过 Halliwell-Asada 途径清除过氧化氢,也可以作为抗氧化剂直接清除活性氧.与 CK 组相比,B 组 GSH 含量降低了 23.43%, $P < 0.05$,差异显著;L 组 GSH 含量升高了 47.60%, $P < 0.01$,差异极显著. BL 组,其 GSH 含量与 B 组相比升高了 12.08%, $P > 0.05$,差异不显著.

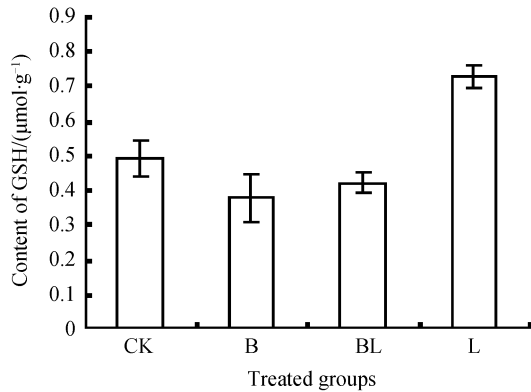


图 3 不同处理对拟南芥幼苗 GSH 含量的影响
Fig. 3 Influence on the content of GSH by different treatments

2.4 对 SOD 活性的影响

不同处理对拟南芥幼苗 SOD 活性的影响结果见图 4. SOD 可以催化氧自由基的歧化反应,生成过氧化氢,过氧化氢又可被 CAT 转化为氧和水.与 CK 组相比,B 组 SOD 活性降低了 7.31%, $P > 0.05$,差异不显著;L 组 SOD 活性升高了 3.3%, $P > 0.05$,差异不显著. BL 组,其 SOD 活性与 B 组相比提高了 13.25%, $P < 0.05$,差异显著.

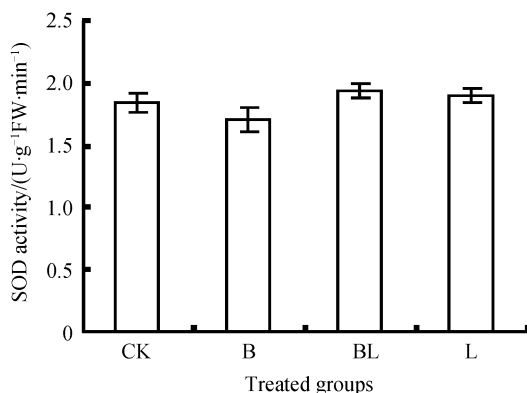


图 4 不同处理对拟南芥幼苗 SOD 活性的影响
Fig. 4 The effect on activity of SOD by different treatments

2.5 对 APX 活性的影响

不同处理对拟南芥幼苗 APX 活性的影响结果见图 5. APX 能催化 H₂O₂ 与 ASA 反应,清除细胞产生的过氧化氢.与 CK 组相比,B 组 APX 活性升高了 59.73%, $P < 0.01$,差异极显著;L 组 APX 活性升高了 323.56%, $P < 0.01$,差异极显著. BL 组,

其 APX 活性与 B 组相比提高了 100%, $P < 0.01$,差异极显著.

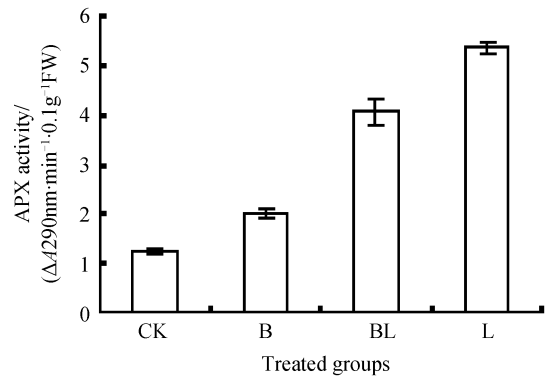


图 5 不同处理对拟南芥幼苗 APX 活性的影响
Fig. 5 The effect on activity of APX by different treatments

2.6 对 PAL 活性的影响

不同处理对拟南芥幼苗 PAL 活性的影响结果见图 6. PAL 是植物体内苯丙烷代谢途径的关键酶,控制着多种次生酚类化合物、类黄酮等抗逆境物质的合成.与 CK 组相比,B 组 PAL 活性升高了 3.74%, $P < 0.01$,差异极显著;L 组 PAL 活性降低了 10%, $P < 0.01$,差异极显著. BL 组,其 PAL 活性与 B 组相比降低了 9.4%, $P < 0.01$,差异极显著.

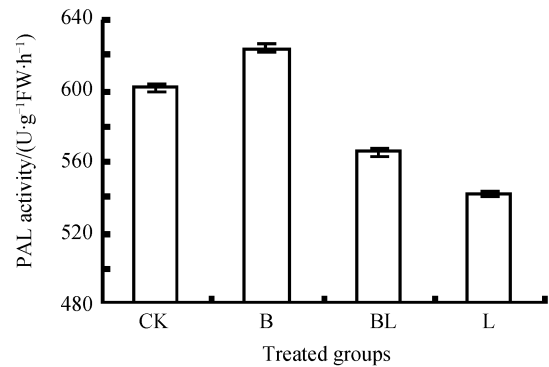


图 6 不同处理对拟南芥幼苗 PAL 活性的影响
Fig. 6 The effect on activity of PAL by different treatments

2.7 对 CAT 活性的影响

不同处理对拟南芥幼苗 CAT 活性的影响结果见图 7. CAT 属于血红蛋白酶,含有铁,它能催化过

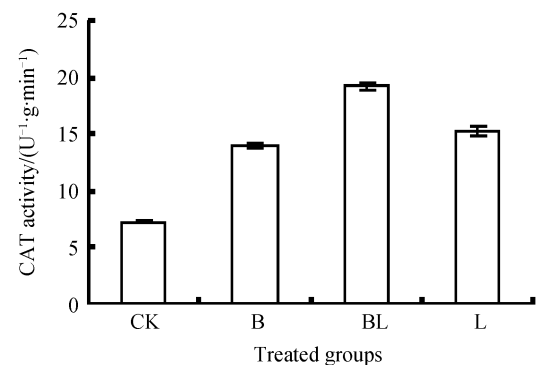


图 7 不同处理对拟南芥幼苗 CAT 活性的影响
Fig. 7 The effect on activity of CAT by different treatments

氧化氢分解为水和分子氧,其活性与植物的代谢强度及抗病能力有一定关系.与 CK 组相比,B 组 CAT 活性升高了 91.33%, $P<0.01$,差异极显著;L

组 CAT 活性提高了 109.4%, $P<0.01$,差异极显著. BL 组,其 CAT 活性与 B 组相比提高了 37.43%, $P<0.01$,差异极显著.

表 2 He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射拟南芥中抗氧化物质活性或含量的影响

Table 2 Effect of the activity or content antioxidants in arabisopsis exposed to enhanced ultraviolet-B radiation by He-He laser

	CK	B	BL	L
MDA content/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	2.298 \pm 0.064	3.095 \pm 0.032	2.514 \pm 0.071	2.142 \pm 0.044
O ₂ ⁻ content/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW})$	12.076 \pm 0.094	16.370 \pm 0.470	12.580 \pm 0.473	11.704 \pm 0.648
GSH content/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	0.494 \pm 0.054	0.378 \pm 0.070	0.424 \pm 0.029	0.729 \pm 0.034
SOD activity/ $(\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1})$	1.838 \pm 0.084	1.704 \pm 0.101	1.929 \pm 0.058	1.899 \pm 0.054
APX activity/ $(\Delta\text{A}290\text{nm} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 0.1 \text{g}^{-1} \cdot \text{FW})$	1.265 \pm 0.043	2.020 \pm 0.101	4.001 \pm 0.251	5.357 \pm 0.110
PAL activity/ $(\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1})$	601.574 \pm 1.913	624.046 \pm 1.977	565.403 \pm 1.664	541.395 \pm 1.646
CAT activity/ $(\text{U}/\text{g} \cdot \text{min}^{-1})$	7.307 \pm 0.156	13.980 \pm 0.274	19.213 \pm 0.261	15.300 \pm 0.458

注:数据以平均数 \pm 标准差表示 Note: Data showed above is means \pm SD

3 讨论

大量研究表明,逆境会引起植物体内活性氧代谢紊乱,自由基积累,首先会伤害细胞膜,引起膜脂质过氧化,产生丙二醛.而膜对细胞来说非常重要,在膜上有信号受体、物质运输的载体、活化底物的酶类等重要结构,膜的受损直接使细胞的结构及生理生化功能受到影响,细胞内的核酸和蛋白质等大分子物质的结构和功能也被破坏,严重时导致细胞死亡.而植物体内有酶性(包括 SOD、POD、CAT、APX、PAL 等)和非酶性(包括 ASA、GSH、Pro)两大抗氧化系统,使植物体内活性氧的代谢达到一个动态平衡,以保证植物能正常生长.但是增强的 UV-B 辐射使活性氧的产生速率超过了清除能力,导致活性氧在体内累积,对植物造成了伤害.

郭炜^[13]等研究表明,盐芥、拟南芥、柴胡、小麦、中间偃草麦、簇毛麦六种材料受 UV-B 辐射后超氧阴离子和 Pro 含量都明显升高,POD 的活性在 UV-B 辐射开始也是呈上升趋势;而随着 UV-B 辐射时间的延长拟南芥 APX、GR、SOD 的活性下降^[14]. UV-B 辐射后再进行激光辐照发现崧蓝幼苗中 MDA 含量下降了,SOD、POD、CAT 酶活性得到了不同程度的恢复^[15]. 齐智^[16]等研究也表明蚕豆经 UV-B 和激光复合处理后酶活性提高,且增加了 SOD 同工酶 2 条带,CAT 同工酶 1 条带,推测激光很可能引起植物抗氧化基因的激活,但对 APX 同工酶谱没有影响;同时发现,UV-B 单独处理蚕豆幼苗明显降低了 PAL 的活性,激光单独辐照却使酶活性显著提高,UV-B 辐射后再用激光处理明显提高了酶的活性,与本研究结果不同,这可能与材料或辐照剂量不同有关.

激光作为一种新技术,已广泛应用于生物学领域,激光对生物体的作用主要表现为刺激、抑制、损

伤及诱变等效应.一般认为激光的生物学效应包括光效应、电磁效应、热效应和压力效应.激光能使生物大分子发生变化,引起核酸与蛋白质的变性,以及酶的激活或失活,其影响方式主要有异够化、激发电子和光解离^[17].适当剂量的 He-Ne 激光辐照可降低和部分修复由于增强 UV-B 辐射对拟南芥造成的损伤,从而增强了植物的生长及代谢水平.

4 结论

本研究中,增强的 UV-B 辐射导致拟南芥幼苗超氧阴离子的产生速率大于清除速率,其含量显著高于正常对照组,MDA 含量明显升高,说明膜受活性氧伤害严重;PAL、CAT 和 APX 活性提高,这可能是植物为减轻或抵御体内活性氧积累对其的伤害,从而通过提高抗氧化酶的活性来直接或间接清除体内活性氧.本实验中 He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射拟南芥幼苗进行后处理,发现与单独 UV-B 辐照处理相比,PAL 的活性降低了,GSH 含量升高,SOD、APX、CAT 的活性升高了,其中 MDA、超氧阴离子含量降低了,这与 He-Ne 激光提高了 GSH 的含量以及抗氧化酶的活性有关.

本文选用拟南芥作为受试材料研究 He-Ne 激光和增强 UV-B 辐射对拟南芥抗氧化的影响,为从分子方面研究抗紫外做了铺垫,激光照射后能否直接从基因水平上产生修复效应,主要通过实时荧光定量 PCR 来检测差异基因片段,然后把差异片段导入小麦受体细胞基因组中让其表达,对于转基因小麦进行增强 UV-B 照射,从形态和生理生化水平上检测 UV-B 辐射对其影响效应的大小.

参考文献

- [1] CHEN Hao. UV-B radiation on the impact of growth and physiological and biochemical characteristics [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2009: 1-42.
陈浩. UV-B 胁迫对烟草生长发育及生理生化特性影响的研究

- [D]. 合肥:安徽农业大学,2009:1-42.
- [2] LONG Yun, LIN Yun, ZHONG Zhang-cheng, *et al.* Effect of UV-B irradiation and acid rain on photosynthetic rate and antioxidant enzyme activities of maize seedlings [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, **29**(9): 4957-4966.
龙云,刘芸,钟章成,等.酸雨和 UV-B 对玉米幼苗光合速率和抗氧化酶活性的影响[J].生态学报,2009,**29**(9):4957-4966.
- [3] ZHANG Xin-yong, GUO Hua-chun, DAI Hua-feng. Effect of supplement ultraviolet-b on the related protective enzymes in the leaves of chromatic potato [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2009, **29**(5): 0968-0974.
张新永,郭华春,戴华峰.增强 UV-B 辐射对彩色马铃薯叶片中相关保护酶活性的影响[J].西北植物学报,2009,**29**(5):0968-0974.
- [4] LIU Qing-hua, ZHONG Zhang-cheng. Effect of UV-B on ROS metabolism and membrane system [J]. *Journal of China West Normal University*, 2007, **28**(2): 149-153.
刘清华,钟章成.紫外线-B 辐射对银杏活性氧代谢及膜系统的影响[J].西北师范大学学报,2007,**28**(2):149-153.
- [5] ZHAO Guang-qi. The combined effects of enhanced UV-B irradiation and doubled CO₂ on the growth and physioecology of broa bean and wheat [D]. Xi'an: Northwestern University, 2003: 1-82.
赵广琦.增强 UV-B 辐射和 CO₂ 倍增的复合作用对蚕豆、小麦生长和生理生态的影响[D].西安:西北大学,2003:1-82.
- [6] HAN Rong. Mechanism and repair effect of Wheat seedlings exposed to enhanced ultraviolet-B radiation by He-Ne laser [D]. Xi'an: Northwestern University, 2002: 1-81.
韩榕. He-Ne 激光对小麦增强 UV-B 辐射损伤的修复效应及机理[D].西安:西北大学,2002:1-81.
- [7] ZHANG Juan, HAN Rong. The influence of he-ne laser irradiation on the damage of cell chromosome in wheat by enhanced UV-B radiation [J]. *Journal of ShanXi Teachers University*, 2008, **22**(2): 67-70.
张娟,韩榕. He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射小麦细胞染色体损伤的影响[J].山西师范大学学报,2008,**22**(2):67-70.
- [8] GUO Jun-yu, ZHANG Qin, HAN Rong. Effects of He-Ne laser on chloroplast of wheat seedling exposed to enhanced UV-B radiation [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2009, **29**(2): 204-208.
郭君瑜,张琴,韩榕. He-Ne 激光对增强 UV-B 辐射小麦幼苗叶绿体的影响[J].植物研究,2009,**29**(2):204-208.
- [9] 孔祥生,易现峰.植物生理学实验技术[M].北京:中国农业出版社,2008:257-259.
- [10] 孙群,胡景江.植物生理学研究技术[M].杨凌:西北农林科技大学出版社,2006.
- [11] 李玲等.植物生理学模块实验指导[M].北京:科学出版社,2009:100-102.
- [12] HAO Jin-hua, MA Xiao-li, HAN Rong, *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,韩榕等. He-Ne 激光对 UV-B 辐射小麦幼苗抗氧化系统的影响[J].武汉植物学研究,2007,**25**(4): 350-355.
- [13] GUO Wei. Evaluation of UV damage at DNA level in several plant protoplasts using SCGE and UV resistant physiological indicators detecting [D]. Jinan: Shandong University, 2008: 1-93.
郭炜.紫外辐射导致植物细胞 DNA 损伤的彗星电泳检测及生理指标的测定[D].济南:山东大学,2008:1-93.
- [14] WEI Jin-feng, GHU Jing-gong, ZHANG Qing-de, *et al.* Effect of ultraviolet radiation on the antioxidant enzymes and the membrane systems of arabidopsis thaliana leaves [J]. *Journal of Henan University*, 2009, **39**(5): 501-504.
魏金凤,郭敬功,张清德等. UV 辐射对拟南芥叶片抗氧化酶系统和膜系统的影响[J].河南大学学报,2009,**39**(5): 501-504.
- [15] LI Ran, YANG Wei, WANG Yu-jie. Physiological response of Isatis indigotica seedlings subjected to elevated UV-B to laser radiation [J]. *Applied Laser*, 2009, **29**(2): 158-160.
李冉,杨薇,王玉洁.崧蓝幼苗对激光和增强 UV-B 辐射的生理响应研究[J].应用激光,2009,**29**(2):158-160.
- [16] QI Zhi. Repair and protection on enhanced UV-B on broad bean seedlings by He-Ne laser [D]. Xi'an: Northwestern University, 2001: 1-63.
齐智.激光对增强的 UV-B 辐射蚕豆幼苗损伤的防护及修复作用[D].西安:西北大学,2001:1-63.
- [17] XIANG Yang, DING Zhi-bao. The inquiry in effect mechanism of laser biology [J]. *Optoelectronics · Laser*, 1997, **8**(6): 476-478.
向洋,丁志宝.激光生物学作用机理探讨[J].光电子·激光,1997,**8**(6):476-478.

Ramage Repair for Enhanced Ultraviolet-B Radiation on Antioxidant System of Arabidopsis by He-Ne Laser

JIANG Xiao-yan, GAO Li-mei, LI Yong-feng, HAN Rong

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

Abstract: Taking Arabidopsis trained about six weeks as the material, UV-B radiation (1 kJ/m²/d) and He-Ne laser irradiation (wavelength 632.8 nm output power 5 mW · mm², irradiation time 60 s) were used to process the material. The Arabidopsis were divided into four treatment groups including CK (not treated), L (He-Ne laser), B (UV-B), and BL (UV-B + He-Ne laser). The experimental results show that enhanced UV-B increases the contents of MDA, O₂⁻ and the activities of PAL, CAT, APX, while SOD activity and the content of GSH decrease. But He-Ne laser irradiation reduces the contents of MDA and O₂⁻, the PAL activity, and increases SOD activity, APX activity, CAT activity, the content of GSH. In contrast to B group, both enhanced UV-B and He-Ne laser have similar results which indicated by He-Ne laser irradiation. The results prove that laser can improve the ability of antioxidant system in Arabidopsis.

Key words: He-Ne laser; UV-B radiation; Arabidopsis; Antioxidant systems