

doi:10.3788/gzxb20134206.0705

极低频高压脉冲电场对萌发玉米种子超弱发光的影响

习岗¹, 刘锴¹, 杨运经², 高宇¹

(1 西安理工大学 应用物理系, 西安 710048)

(2 西北农林科技大学 应用物理系, 陕西 杨凌 712100)

摘要:生物超弱发光是来自细胞的电磁信号,在揭示电磁生物学效应的机理研究中具有重要作用.为了研究极低频脉冲电场生物学效应及其机理,采用基于玉米细胞电位波动频率的 1 Hz 极低频高压脉冲电场处理萌发玉米种子,结果发现玉米种子的萌发过程明显加快,根长和芽长均有显著增长.对萌发种子的自发发光和延迟发光的测量结果显示,1 Hz 极低频高压脉冲电场对萌发过程中玉米种子的自发发光和延迟发光积分强度都有明显的促进作用,表明 1 Hz 极低频高压脉冲电场加速了玉米种子萌发过程中的 DNA 合成和细胞代谢.

关键词:超弱发光;脉冲电场;玉米萌发;细胞电位

中图分类号:Q632

文献标识码:A

文章编号:1004-4213(2013)06-0705-5

Effect of Extremely Low Frequency High-voltage Pulsed Electric Field on Ultra-weak Luminescence of Corns during Germination

XI Gang¹, LIU Kai¹, YANG Yun-jing², GAO Yu¹

(1 Department of Applied Physics, Institute of Science, Xi'an University of Technology, Xi'an 710048 China)

(2 Department of Applied Physics, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Biological ultra-weak luminescence is an electromagnetic signal from cells, which plays an important role in revealing the mechanism of electromagnetic biological effects. In order to study the biological effects and mechanism of extremely low frequency pulsed electric field, 1 Hz extremely low frequency high-voltage pulsed electric field based on the potential fluctuation frequency of corn cells was used to treat the corns during germination. The results showed that the germination process of corns was accelerated obviously and both the shoot length and root length of germinating corns were significantly longer than the control. Through the measurement and analysis of spontaneous luminescence and delayed luminescence on corns during germination, it was found that the spontaneous luminescence and delayed luminescence integral intensity of germinating corn were significantly increased under the action of 1 Hz extremely low frequency high-voltage pulsed electric field, which indicated that this specific pulsed electric field promoted the DNA synthesis and cell metabolism of the corns during germination. The coupled resonance of pulsed electric field and cell electric field in corn seeds may be the cause of biological effects of the extremely low frequency high-voltage pulsed electric field.

Key words: Ultra-weak luminescence; Pulsed electric field; Corn germination; Cell potential

基金项目:国家自然科学基金(Nos. 50977079, 51277151)和陕西省教育厅专项科研计划(No. 09JK667)资助

第一作者:习岗(1957—),男,教授,硕士,主要研究方向为生物光学和生物电磁学. Email: xig@xaut.edu.cn

收稿日期:2012-04-16;录用日期:2013-01-10

0 引言

电场生物学效应的研究已有半个多世纪的历史,研究涉及种子萌发、幼苗生长、抗逆性、产量和质量等各个方面,并且深入到了组织、细胞和分子的各个层次。但是,相关研究大多集中在高压静电场和工频电场^[1-7],缺乏频率在50 Hz以下的极低频高压脉冲电场生物学效应研究。因为植物细胞的本征电位波动的频率在1 Hz以内^[8-9],由细胞膜电位形成的植物本征电位波动的变化能够明显影响植物细胞中的呼吸代谢、光合作用、水分吸收和气孔导度变化等核心生理过程^[10-11],所以,采用频率接近于植物细胞本征电位波动频率的极低频高压脉冲电场使植物细胞的电位波动在其作用下发生电位耦合共振,会加强外电场对植物细胞生理代谢的调控作用而产生显著的生物学效应^[12]。

在电场生物学效应的研究中,生物超弱发光是研究和评价电场生物学效应的一个重要指标。这是因为生物超弱发光中的自发光与细胞氧化代谢过程密切相关^[13-15],外界光诱导的延迟发光可以作为生物体代谢强度的综合指标^[16-17]。由于生物超弱发光的测量不需要破坏生物系统的组织结构,进而可以直接获取环境胁迫下细胞代谢变化的整体信息。因此,通过对极低频高压脉冲电场作用下生物系统超弱发光的提取和分析可以为研究极低频高压脉冲电场生物学效应的机理提供无损、灵敏和准确的方法。本文研究了极低频高压脉冲电场对玉米种子萌发过程中超弱发光的影响,为极低频高压脉冲电场生物学效应的研究提供实验和理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料培养

玉米(*Zea mays*)郑农7278由西北农林科技大学农学院提供。将扁平饱满的玉米种子用0.2% HgCl₂消毒2 min,洗涤后在蒸馏水中充分吸胀。将大小均匀的种子放在培养皿中,培养皿底部放置一层中速滤纸,加入适量蒸馏水,置于(27±0.2)℃的恒温培养箱中暗中培养,每天定时加入蒸馏水。

1.2 脉冲电场处理

极低频脉冲电场处理系统为自制的系统,该系统可输出幅值高压在6~20kV范围内连续可调、输出频率在0.1~15 Hz的极低频高压脉冲,系统的设计原理见文献^[18]。系统的样品室中内置两个平行放置的铜板作为电极,处理材料置于两个电极之间,高压脉冲在两极之间产生的脉冲电场作用于生物材料上,如图1。图2为用示波器在图1两极板之间经

高压棒(阻抗50 MΩ)及示波器探头衰减4 000倍后测量到的脉冲波形,图中横坐标为时间,分度为200 ms/格;纵坐标为电压,分度为2V/格。

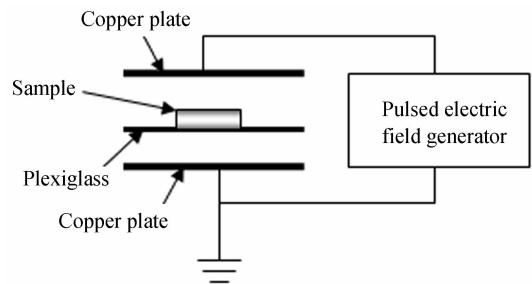


图1 极低频脉冲电场处理系统

Fig. 1 Schematic diagram of pulsed electric field processing system

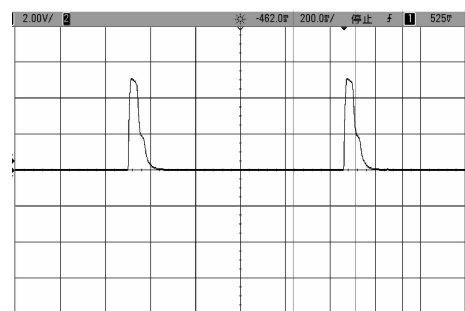


图2 极低频高压脉冲

Fig. 2 Extremely low frequency high-voltage pulse

脉冲电场处理时将露白的玉米种子放置在两个极板中,场强方向向下,每天处理10 h,另取相同种子作为对照组,除不经过脉冲电场处理外,一切条件均相同。处理场强为100 kV/m、脉冲频率为1 Hz、脉宽80 ms。实验中,处理组和对照组各设五个重复。

1.3 鲜质量和形态指标的测量

从种子露白开始,每天定时测量处理组和对照组萌发玉米种子鲜质量,每次测量5粒,设置5个重复,取平均,连续测量5天。在电场处理5天时分别测量对照组和处理组中25株玉米幼苗的根长和芽长,取平均。

1.4 自发发光的测量

从种子露白开始,每天测量萌发玉米种子的自发发光,连续测量5天。自发发光的测量采用BPCL微弱发光测量仪(中国科学院生物物理研究所研制),测量时每次取种子5粒,用滤纸吸干表面水分,暗处理5 min,放入仪器样品室,测定自发发光。测量时间50 s,采集数据间隔为1 s,工作电压-1 000 V,样品室温度保持25℃,测量前测1次本底,并减去本底,每组样品重复五次,取平均。测量时仪器预热1 h,使本底稳定。单位时间的光子数表示自发发光强度(counts/s),用 I_{SL} 表示。

1.5 延迟发光的测量

从种子露白开始,每天定时测量萌发玉米种子

的延迟发光,连续测量 5 天. 延迟发光的测量采用自制的测量系统,仪器组成和测量方法见文献[19]. 测量时每次取种子 5 粒,用滤纸吸干表面溶液,放入样品室,设置光照时间为 1 min,测量时间为 50 s,采集数据间隔为 1 s,工作电压为-1 000 V,样品室温度保持 25 ℃,测量前后各测 1 次本底,并减去本底. 每组样品重复五次,取平均. 测量前仪器预热 1 h,使本底稳定. 将每次测量得到的种子延迟发光曲线按照式(1)拟合^[20]

$$I(t) = I_{SL} + \frac{I(0)}{(1+t/\tau)^\beta} \quad (1)$$

式中, t 为测量时间(单位:s), $I(0)$ 为初始光子数(单位:counts/s), τ 和 β 为拟合常量, I_{SL} 为自发发光. 延迟发光积分强度(即延迟发光曲线下的面积)由式(2)计算

$$I(T) = I_{SL} T + \frac{\tau I(0)}{\beta - 1} \left[1 - \frac{1}{(1+T/\tau)^{\beta-1}} \right] \quad (2)$$

式中, T 为测量周期.

2 结果与分析

2.1 极低频高压脉冲电场对玉米种子萌发的影响

图 3 为萌发过程中未经过 1 Hz 脉冲电场处理的对照组和处理组的玉米种子鲜质量的变化情况. 从图 3 可以看出,玉米种子鲜质量随着萌发时间迅速增长,在萌发 3 天时处理组鲜质量开始明显高于对照,并且与对照组的差距有逐渐增大的趋势.

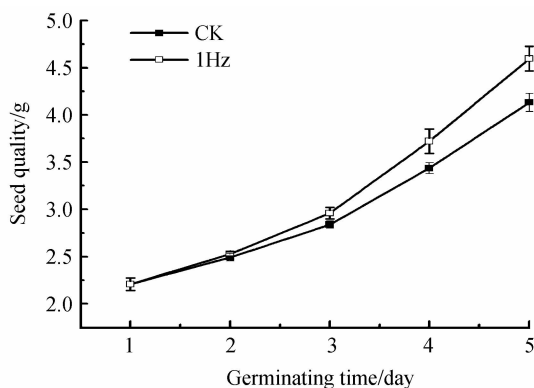


图 3 图 3 脉冲电场对萌发期玉米种子质量的影响
Fig. 3 Effect of pulsed electric field on qualities of corns during germination

表 1 为经过脉冲电场处理 5 天时玉米种子与未经电场处理的对照组芽长和根长的测量结果. 由表 1 可见,处理组种子的芽长和根长明显优于对照组,

表 1 极低频脉冲电场对玉米形态指标的影响

Table 1 Effect of extremely low frequency pulsed electric field on morphological index of corns

Index	Control	Treatment	Growth rate
Bud length/cm	29.0 ± 1.3	43.8 ± 1.4	51.0%
Root length/cm	55.0 ± 6.8	78.0 ± 2.6	41.8%

增长率分别达到了 51.0% 和 41.8%,表明 1 Hz 极低频脉冲电场对玉米幼苗的生长具有明显的促进作用.

2.2 极低频高压脉冲电场对萌发玉米种子自发发光的影响

生物自发发光是生物系统在生命活动中发出的光,其与 DNA 反应和氧化代谢有关^[20-22]. 1 Hz 极低频高压脉冲电场对玉米种子萌发过程中自发发光的影响见图 4. 在图 4 中,随着萌发时间的进行,玉米种子的自发发光逐渐增长,在 1 Hz 脉冲电场作用下,整个萌发过程中的自发发光均高于未受电场处理的对照组,并且处理组和对照组的差异随着萌发进程有增大的趋势,表明极低频高压脉冲电场对萌发玉米种子自发发光具有明显的促进作用.

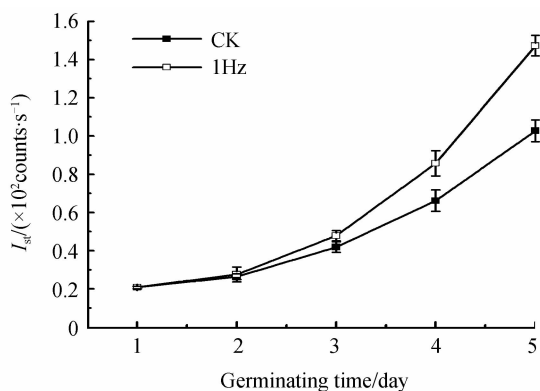
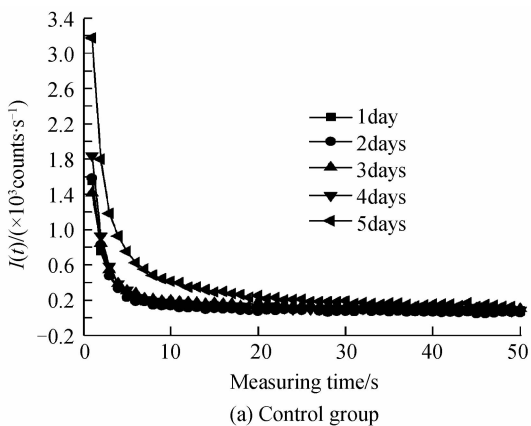


图 4 脉冲电场对玉米萌发过程中自发发光的影响
Fig. 4 Effect of pulsed electric field on spontaneous bioluminescence of corns during germination

2.3 极低频高压脉冲电场对萌发玉米种子延迟发光的影响

生物延迟发光是生物系统在外界光刺激下发出的光,由于其发光过程会持续一段时间,故称为延迟发光^[23]. 图 5 为对照组和 1 Hz 极低频高压脉冲电场处理组的五次重复测量中的一组种子萌发过程中的延迟发光,按照式(2)计算后得到的各延迟发光积分强度 $I(T)$ 的变化如图 6. 由图 6 可见,从萌发 2 天开始,脉冲电场处理组的 $I(T)$ 均明显高于对照组.



(a) Control group

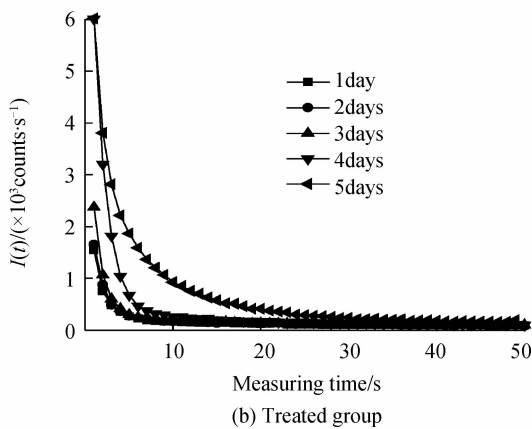


图5 对照组与处理组玉米种子萌发过程中的延迟发光
Fig. 5 Delayed luminescence of corns during germination of control group and treated group

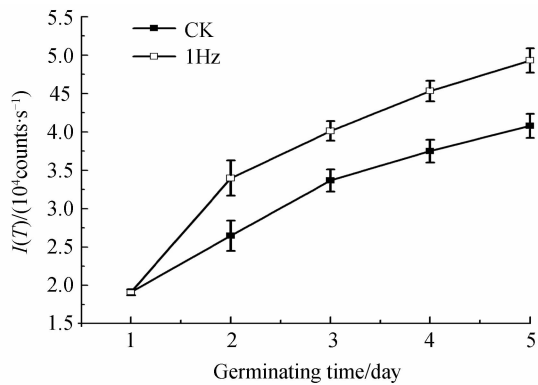


图6 玉米萌发过程中延迟发光积分强度的变化
Fig. 6 Changes of integrated intensity of DL during germination of corns

3 讨论

脉冲电场对生物的影响比静电场和一般的变化电场要复杂和剧烈得多,因为脉冲电场除了能在细胞内产生感生电流影响细胞活动外,还可能通过诱导电荷与偶极子的平移和旋转运动,改变化学反应速率、分子之间的化学键联与蛋白质分子形状和结构等直接或间接的若干机制影响生物系统^[4].更为重要的是,在一定剂量的脉冲电场持续冲击下,细胞跨膜电势差会发生连续和短暂的变化,这种变化会影响定位于膜上的离子通道而使细胞通透性发生改变;同时,细胞膜还可能产生短暂的可逆电穿孔,使细胞通透性增加^[24].因此,脉冲电场作用更有利于水分和氧气等元素迅速渗入种子细胞,启动细胞代谢和酶的合成.研究发现,玉米本征电位波动功率谱主要分布在1 Hz以下^[9],理论模拟表明,强度为100 kV/m、脉宽为ms级的脉冲电场作用可以使细胞外膜发生可逆电穿孔而促进种子萌发过程中的水分吸收(结果另报),所以,本文研究100 kV/m、1 Hz和ms级脉宽的高压脉冲电场对萌发玉米种子的影响.

研究结果发现,随着玉米种子萌发过程的进行,经过100 kV/m、频率为1 Hz、脉宽为80 ms的极低频脉冲电场处理的萌发种子鲜重与未经处理的对照组相比较逐渐呈现出差异,处理组种子的芽长和根长都明显优于未经脉冲电场处理的对照组,在5天时相对增长率分别达到了51.0%和41.8%(见表1),这个结果明显高于Costanzo^[6]采用的强度为3.6 kV/m和1.8 kV/m、频率为50 Hz的交变电场使得大豆幼苗的长度分别增加8%~12%的水平.

上述极低频脉冲电场对玉米种子萌发的影响机理可以从萌发种子超弱发光的变化有所了解.由于萌发种子的自发发光中相当一部分来自于DNA分子的合成反应^[21],因此,种子萌发过程中自发发光强度的增大实际上反映了种子中DNA反应增强.图4显示,随着萌发过程的进行,经过脉冲电场作用的处理组和对照组玉米种子的自发发光同步增长;但是,处理组的自发发光与对照组相比较有明显提高,说明脉冲电场促进了玉米幼苗生长过程中的DNA合成反应.由于在种子萌发过程中,随着种子吸水膨胀,DNA合成反应逐渐启动,导致各种水解酶(α -淀粉酶、蛋白酶等)的大量产生和各种生物分子的合成,种子鲜重增加,而图3显示脉冲电场对萌发过程中种子鲜重的影响与对自发发光强度的影响是一致的,这从另一个方面说明了极低频脉冲电场促进了萌发玉米种子中的DNA合成和细胞生长.

对于生物延迟发光的生物学意义,一般认为生物延迟发光来源于多模光子辐射与处于激发态的各种生物分子间的集体相干效应^[17].在相同的外界光激发下,延迟发光积分强度愈大,表明处于激发态的分子越多,细胞光子存贮能力越强,细胞代谢越旺盛,因此,延迟发光积分强度常作为细胞代谢强度的物理指标^[25].在图6中,随着萌发时间的延长,玉米种子的延迟发光积分强度逐渐呈现出单调升高的趋势,表明在幼苗生长阶段细胞代谢强度逐渐升高.从萌发2天开始,经过脉冲电场作用的处理组延迟发光积分强度明显高于对照,说明脉冲电场的作用提高了萌发玉米的代谢强度.由此可知,频率为1 Hz的极低频高压脉冲电场可能从DNA合成和细胞代谢两个方面对萌发玉米种子产生影响.

对于极低频高压脉冲电场影响种子萌发过程中超弱发光的原因,本文推测一方面是由于生物体系的介电常量在低频时有非常高的值($10^5 \sim 10^7$),在高频时降低为 10^2 ^[26],很强的电极化使得生命体系对极低频电场表现出很高的敏感性;另一方面玉米本征电位波动功率谱主要分布在1 Hz以下^[9],频率为1 Hz的极低频高压脉冲电场可以通过与植物细

胞自身电位的耦合共振而对细胞的 DNA 合成和细胞代谢产生明显影响,从而造成种子萌发过程中超弱发光的增强.至于不同作用参数下极低频高压脉冲电场对萌发种子超弱发光影响的差异性及其机理本课题组正在研究中.

4 结论

1)强度为 100 kV/m、频率为 1 Hz 的极低频高压脉冲电场处理能够明显促进玉米种子的萌发过程,在宏观形态上获得了稳定的生物学效应.

2)在玉米种子萌发过程中自发发光逐渐增长,1 Hz 极低频高压脉冲电场对萌发种子的自发发光有明显的促进作用,表明 1 Hz 的极低频高压脉冲电场加速了种子萌发过程中 DNA 合成.

3)玉米种子萌发过程中延迟发光积分强度逐渐升高,1 Hz 极低频高压脉冲电场的作用使萌发玉米种子的延迟发光积分强度增大,表明 1 Hz 脉冲电场对萌发玉米种子的细胞代谢强度有促进作用.

参考文献

- [1] NAI Ri, FENG Lu. Mechanism of the biological effects of electrostatics[J]. *Wuli*, 2003, **32**(2): 87-93.
那日,冯璐.我国静电生物学效应机理研究新进展[J].物理,2003, **32**(2): 87-93.
- [2] BAO Siqingaowa, MA Zhan-xin, YANG Ti-qiang. Comprehensive evaluation on the effectiveness of the influences of electric field on crop seeds[J]. *Transactions of the CSAE*, 2008, **24**(3): 25-30.
包斯琴高娃,马占新,杨体强.电场对作物种子影响有效性的综合评价方法[J].农业工程学报,2008, **24**(3): 25-30.
- [3] DIETRICH K. Impact of non-thermal processing on plant metabolites[J]. *Journal of Food Engineering*, 2003, **56**(2): 131-134.
- [4] CRAMARIUC R, DONESCU V, POPA M, et al. The biological effect of the electrical field treatment on the potato seed; agronomic evaluation [J]. *Journal of Electrostatics*, 2005, **63**(6-10): 837-846.
- [5] DANIELA I, DORINA C, ALINA R. The influence of the electrostatic stress on cell proliferation in plants[J]. *Journal of Electrostatics*, 2007, **65**(7): 408-413.
- [6] COSTANZO E. The influence of an electric field on the growth of soy seedlings[J]. *Journal of Electrostatics*, 2008, **66**(7-8): 417-420.
- [7] GUIXUE W, JUNLI H, WEINA G, et al. The effect of high-voltage electrostatic field (HVEF) on aged rice (*Oryza sativa* L.) seeds vigor and lipid peroxidation of seedlings[J]. *Journal of Electrostatics*, 2009, **67**(5): 759-764.
- [8] ZHANG X H, YU N M, MENG X L, et al. Power spectrum analysis of Maize based on wavelet de-noising[C]. The 2nd international conference on information science and engineering, 2010: 419-422.
- [9] ZHANG Xiao-hui, YU Ning-mei, XI Gang, et al. Changes in the power spectrum of electrical signals in maize leaf induced by osmotic stress[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2012, **57**(4): 413-420.
- [10] KOZIOLEK C, GRAMS T, SCHREIBER U. Transient knockout of photosynthesis mediated by electrical signals[J]. *New Phytologist*, 2003, **161**(3): 715-722.
- [11] FROMM J, LAUTNER S. Electrical signals and their physiological significance in plants [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2007, **30**(3): 249-257.
- [12] XI Gang, YANG Yun-jing, LIU Kai, et al. Effect of extremely low frequency pulsed electric field based on potential fluctuations in plant on growth of mung bean[J]. *High Voltage engineering*, 2012, **38**(1): 199-204.
刁岗,杨运经,刘锴,等.基于植物电位波动的极低频脉冲电场对绿豆幼苗生长的影响[J].高电压技术,2012, **38**(1): 199-204.
- [13] HIDEHIRO I, TOSHIYUKI I, WANG G X, et al. Spontaneous ultraweak photon emission from rice (*Oryza sativa* L.) and paddy weeds treated with a sulfonylurea herbicide[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2007, **89**(2): 158-162.
- [14] HIDEG E, BJORM L O. Ultraweak light emission, free radicals, chilling and light sensitivity [J]. *Physiol Plant*, 1996, **8**(2): 23-228.
- [15] HAVAUX M. Spontaneous and thermoinduced photon emission: new methods to detect and quantify oxidative stress in plants[J]. *TRENDS in Plant Science*, 2003, **8**(9): 409-413.
- [16] YU Y, POPP F A, SIBYLLE S. Further analysis of delayed luminescence of plants[J]. *Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2005, **78**(3): 235-244.
- [17] 顾樵.生物光子学[M].北京:科学出版社,2007: 26-30.
- [18] YANG Yun-jing, XI Gang, ZHANG She-qi, et al. Development and application of pulsed electric field instrument with extremely low frequency and high-voltage for biological effects[J]. *Transactions of the CSAE*, 2012, **28**(2): 49-54.
杨运经,刁岗,张社奇,等.极低频高压脉冲电场生物学效应仪的设计与应用[J].农业工程学报,2012, **28**(2): 49-54.
- [19] LI Shao-hua, XI Gang, FAN Lin-lin, et al. Changes of ultraweak photon emission of wheat seed during germination and its significance under osmotic stress [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2011, **40**(2): 282-288.
李少华,刁岗,樊琳琳,等.渗透胁迫下萌发小麦种子超弱光子辐射的变化及其意义[J].光子学报,2011, **40**(2): 282-288.
- [20] XI Gang, LIU Kai, ZHANG Xiao-hui, et al. Dynamic analysis of ultra-weak photon radiation of soybean callus induced by UV-B radiation[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2010, **39**(8): 1449-1454.
刁岗,刘锴,张晓辉,等.UV-B诱导的大豆愈伤组织超弱光子辐射的动力学分析[J].光子学报,2010, **39**(8): 1449-1454.
- [21] MAO Da-zhang, SHEN Xun, ZHANG Yue-jing, et al. Effects of metabolic inhibitors on the ultraweak photon emission from germinating mung bean seeds [J]. *Acta Biophys Sin*, 1988, **4**(2): 116-120.
毛大璋,沈恂,张月敬,等.代谢抑制剂对萌发绿豆超弱发光的影响[J].生物物理学报,1988, **4**(2): 116-120.
- [22] YOSHINAGA N, KATO K, KAGEYAMA C. Ultraweak photon emission from herbivory-injured maize plants [J]. *Naturwissenschaften*, 2006, **93**(1): 38-41.
- [23] XI Gang, LI Shao-hua, ZHANG Yan. Analysis of delayed luminescence dynamic processes of spinach leaves stressed by H₂O₂[J]. *Chinese Journal of Luminescence*, 2010, **31**(6): 952-956.
刁岗,李少华,张艳. H₂O₂胁迫下菠菜叶片延迟发光动力学过程的分析[J].发光学报,2010, **31**(6): 952-956.
- [24] FEDERICO G G, LARS W, ANTONIO V, et al. Exploring metabolic responses of potato tissue induced by electric pulses [J]. *Food Biophysics*, 2008, **3**(4): 352-360.
- [25] XI Gang, YAN Yun-jing, LI Shao-hua, et al. Double-exponential model of ultraweak photon emission of soybean callus and its significance [J]. *Chinese Journal of Luminescence*, 2011, **32**(1): 87-93.
- [26] GABRIEL C, GABRIEL S, CORTHOUT E. The dielectric properties of biological tissues; I. Literature survey[J]. *Physics in Medicine and Biology*, 1996, **41**(11): 2231-2249.