

doi: 10.3788/gzxb20154410.1017002

超弱发光技术评价脉冲电场对玉米萌发期抗旱性的影响

杨运经¹, 刘锴², 杜光源¹, 高宇²

(1 西北农林科技大学 应用物理系, 陕西 杨凌 712100)

(2 西安理工大学 应用物理系, 西安 710048)

摘 要:为了从活体细胞角度阐述脉冲电场对作物萌发期抗旱性的影响及其机理, 采用渗透势为 -0.1 MPa 的 PEG-6000 溶液形成干旱胁迫, 研究了场强为 100 kV/m、脉冲宽度为 80 ms、脉冲频率为 1 Hz 的脉冲电场处理对干旱胁迫下萌发的玉米种子自发发光和延迟发光的影响. 结果表明, 在玉米萌发过程中, 自发发光和延迟发光积分强度逐渐增长, 而在干旱胁迫下降低, 脉冲电场处理使干旱胁迫下萌发玉米种子的自发发光强度和延迟发光积分强度有所回升. 自发发光强度和延迟发光积分强度的变化与玉米萌发抗旱指数和贮藏物质转运率的变化一致, 表明脉冲电场处理提高了玉米萌发期的抗旱性, 萌发玉米自发发光和延迟发光积分强度的变化分别从细胞呼吸代谢和细胞伤害的角度反映了脉冲电场对萌发玉米抗旱性的影响. 研究结果揭示了脉冲电场对作物萌发期抗旱性的影响机理, 可对开发基于脉冲电场的农业物理新技术提供参考.

关键词:超弱发光; 脉冲电场; 细胞代谢; 玉米; 抗旱性; 无损检测

中图分类号: Q689; S129

文献标识码: A

文章编号: 1004-4213(2015)10-1017002-7

Using Ultraweak Luminescence Techniques to Evaluate the Effect of Pulsed Electric Field on Drought Resistance of Corn during Germination

YANG Yun-jing¹, LIU Kai², DU Guang-yuan¹, GAO Yu²

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

(2 Department of Applied Physics, Xian University of Technology, Xi'an 710048, China)

Abstract: In order to clarify and evaluate the effect of pulsed electric field on drought resistance of maize during germination and its mechanism based on living cells, the -0.1 MPa osmotic potential of PEG-6000 solution was used to form drought stress, the effect of pulsed electric field treatment with field strength of 100 kV/m, width of 80 ms, pulse frequency of 1 Hz on spontaneous luminescence and delayed luminescence from germinating corn seeds under drought stress were studied. The results show that the spontaneous luminescence and delayed luminescence integrated intensity gradually increase during the germination process of corn and decrease caused by the spontaneous luminescence, pulse electric treatment makes delayed luminescence integrated intensity of germinating corn under drought stress increase, the changes of the spontaneous luminescence and delayed luminescence integrated intensity are same as the changes of the germination drought index and the storage material transport rate of germinating corn. These results indicated that the treatment of pulsed electric fields improves drought tolerant of germination corn. The changes of the spontaneous luminescence and delayed luminescence integrated intensity of germinating corn reflect the effect of pulsed electric field treatment on the drought resistance of germinating corn from cell metabolism and cell damage respectively. The research results reveal the

基金项目: 国家自然科学基金 (Nos. 51277151, 31471412) 资助

第一作者: 杨运经 (1957-), 男, 副教授, 学士, 主要研究方向为生物物理. Email: yangyunjing01@nwsuaf.edu.cn

收稿日期: 2015-06-08; 录用日期: 2015-07-28

<http://www.photon.ac.cn>

mechanism of pulsed electric field on the drought resistance of germinating crop seeds, and provide a reference for development of agricultural technology based on pulsed electric field.

Key words: Ultraweak luminescence; Pulsed electric field; Cell metabolism; Corn; Drought resistance; Non-destructive testing

OCIS Codes: 170.0170; 170.1420; 160.1435

0 引言

提高并评价作物种子萌发期抗旱性是节水农业研究的重要内容^[1-2],应用电场技术提高作物抗旱性是农业物理的研究方向之一^[3].但是,如何准确评价电场对抗旱性的影响是一个亟待解决的基础问题.在有关研究中,大多是以作物苗长、根长、鲜质量、干质量、幼苗存活率等形态指标或者细胞膜透性、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、叶绿素含量和基因表达等生理生化指标的变化来评价电场的影响^[4-7].形态指标评价消耗材料多,费时费力,并且必须在形态出现变化后才能判断,不适于珍稀物种,不能进行早期诊断;生理生化指标评价的基础数据大都来源于破坏性的试管实验,这种研究方法割裂了细胞各组分之间的相互联系,造成细胞内各组分、各层次之间相互作用信息的丢失,无法反映干旱胁迫中作物细胞发生的动态变化,不能准确评价电场对作物抗旱性的影响.

生物超弱发光包括自发发光和外界光诱导的延迟发光,是活细胞发出的生命信息^[8-9].自发发光与生物体内的细胞分裂、细胞死亡、光合作用、生物氧化、细胞内和细胞间的信息传递与功能调节等重要的生命过程密切相关^[10-12],延迟发光与生物系统的功能状态有关,是细胞生理状态的灵敏指标,已被应用于评价植物系统的功能状态和对环境胁迫的检测^[13-15].因此,生物超弱发光的研究为在活体细胞层面分析和判断细胞代谢及其功能状态变化提供了一种非侵入性的光学活检新技术^[16-17].然而,基于超弱发光技术研究电场对作物萌发期抗旱性的影响未见报道.

由于脉冲电场能够改变分子之间的化学键联与蛋白质分子形状和结构^[18],诱发细胞膜可逆电穿孔^[19],并通过电位耦合效应干预细胞呼吸代谢和水分吸收等核心生理过程^[20-22],脉冲电场对作物抗旱性的影响可能更大.本文以玉米为材料,应用超弱发光技术研究了脉冲电场对玉米萌发期抗旱性的影响.

1 材料与方法

1.1 材料培养与干旱胁迫

供试材料为玉米品种万瑞 168 号.选取大小、外观一致的饱满种子,用蒸馏水洗涤,加入质量分数为 0.2% 的 HgCl₂ 消毒、清洗后,均匀放置在铺有两层滤纸的培养皿中,每个培养皿中放置 120 粒玉米种子,共分对照组、干旱胁迫组和干旱胁迫+电场处理组 3 个

组,每组设 3 个重复.在对照组中加入适量蒸馏水(以不淹没种子为准),在干旱胁迫组和干旱胁迫+电场处理组中加入等量的渗透势为 -0.1 MPa 的 PEG-6000 溶液,将各组在 25℃ 环境下恒温避光培养.考虑到种子吸水的影响,每隔 24 h 给对照组补充蒸馏水、在干旱胁迫组和干旱胁迫+电场处理组中补充 PEG-6000 溶液(补充量以不淹没种子为准).

1.2 脉冲电场处理

每天用脉冲电场定时处理干旱胁迫+电场处理组中的种子 30 min.脉冲电场处理系统为自制系统,该系统可输出幅值在 6~20 kV 范围内连续可调,输出频率在 0.1~15 Hz 的极低频高压脉冲,采用文献^[23]中的系统设计原理和输出波形^[23],系统样品室中内置 2 个 60 cm×60 cm 的平行放置的铜板作为电极,待处理的种子放置于 2 个极板中间位置.参照文献^[24],脉冲电场的场强设置为 100 kV/m,脉宽 80 ms,脉冲频率为 1 Hz,场强方向竖直向下.在开始脉冲电场处理后每隔 24 h 从各组中取样进行测量.

1.3 萌发种子发芽率的测量

每隔 24 h 分别记录对照组、干旱胁迫和干旱胁迫+电场处理组中玉米种子的发芽数,计算种子发芽率,取平均值.种子发芽率等于发芽种子数/种子总数,将露白种子定义为已发芽种子.

1.4 种子萌发抗旱指数的测量

按照 Bouslama 的方法计算种子萌发抗旱指数(Gemination Drought Index, GDRI)^[2, 25],即

种子萌发抗旱指数(GDRI) =

干旱胁迫下种子萌发指数/对照种子萌发指数 (1)
种子萌发指数(PI) =

(1.00)nd₂ + (0.75)nd₄ + (0.50)nd₆ + (0.25)nd₈ (2)
其中,nd₂、nd₄、nd₆ 和 nd₈ 分别为萌发 2 天、4 天、6 天和 8 天后的发芽率,1.00、0.75、0.50 和 0.25 分别为相应萌发天数所赋予的抗旱系数.

1.5 萌发种子储藏物质转运率的测量

按照常规方法^[2],将测量种子发芽率后的各组中所有种子(包括经培养后生长部分及未发芽种子)置于烘箱中,80℃ 烘至恒重,称干重(包括根重、芽重、籽粒重),计算贮藏物质转运率为

贮藏物质转运率(%) =

(芽+根)干重/(芽+根+籽粒)干重×100% (3)

1.6 自发发光的测量

自发发光的测量采用 BPCL 微弱发光测量仪(中

中国科学院生物研究所研制),测量前预热仪器,使系统本底稳定,每个样品测量前先用无水乙醇擦洗样品杯,作杀菌处理,以避免细菌发光对试验造成影响.每次测量时间为60 s,采集数据的时间间隔设置为1s,工作电压为-1 000 V,样品室的环境温度设为25℃.每次测量前都测定1次本底,并减去本底.根据测量系统样品杯容量大小,分别选取对照组、干旱胁迫组和干旱胁迫+电场处理组中的玉米种子各6粒,用滤纸吸表面液体,平铺放入样品室中暗处理10 min,测定6粒种子的自发发光,然后,每隔24 h跟踪测量该6粒玉米种子的自发发光.每组测量设3个重复,取3个重复测量的平均值.用单位时间的光子数表示自发发光强度,单位为counts/s.

1.7 延迟发光的测量与分析

采用文献[26]中的方法每隔24 h跟踪测量各组中6粒玉米种子的延迟发光.激发光源是波长为467 nm的蓝色LED,照光时间为30 s.每次测量前均测1次本底,并减去本底.每组测量均设3个重复,取重复测量的平均值.将每次测量得到的延迟发光曲线拟合后得到延迟发光积分强度^[26].

用种子萌发过程中自发发光的增长率表示种子萌发过程中自发发光的变化程度,定义为

$$R_{SL} = \frac{I_{SL}}{I_{SL}^0} - 1 \quad (4)$$

式中,为自发发光增长率, I_{SL} 为当前的自发发光, I_{SL}^0 为初值(萌发零时)的自发发光.

延迟发光的增长率为

$$R_{DL} = \frac{I_{DL}(T)}{I_{DL}^0(T)} - 1 \quad (5)$$

式中, R_{DL} 为延迟发光的增长率, $I_{DL}(T)$ 为当前的延迟发光积分强度, $I_{DL}^0(T)$ 为初值(萌发零时)的延迟发光积分强度.

1.8 统计分析

采用origin软件对测量值进行拟合,用SPSS软件进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 为显著水平, $P < 0.01$ 为极显著水平.

2 结果与分析

2.1 脉冲电场对干旱胁迫下萌发玉米萌发抗旱指数和储藏物质转运率的影响

由Bousslama等人提出的种子萌发抗旱指数(GDRI)是一个可靠的评价种子萌芽期抗旱性的指标,已被广泛应用于种子萌发期抗旱性评价^[2].为了获取供试玉米品种的GDRI,必须首先测量种子发芽率.表1为对照组、干旱胁迫组和干旱胁迫+电场处理组玉米种子的发芽率,由表1计算得到的GDRI见表2.表2给出了脉冲电场对玉米萌发抗旱指数和储藏物质转运率的影响.储藏物质转运率反映了萌发玉米种子根茎生长情况,也是评价玉米种子萌发期抗旱性的常用指标^[2].由表2可见,干旱胁迫+电场处理组的GDRI比干旱胁迫组要大,相对增长率为19.1%,差异达到了极显著的水平($P < 0.01$);储藏物质转运率也增大了,相对增长率为13.7%,差异极显著($P < 0.01$),表明经过脉冲电场处理的玉米种子的抗旱性提高了.

表1 玉米萌发过程中的发芽率(%)
Table 1 Germination rate of corn(%)

| Germination tome/d | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| CK | 0 | 67.5±3.4 | 80.8±2.4 | 82.5±3.0 | 83.3±3.1 | 86.7±3.2 | 87.5±2.8 | 87.5±2.4 |
| Drought stress | 0 | 24.2±2.2 | 67.5±2.4 | 72.5±2.0 | 74.2±1.5 | 76.7±2.3 | 80.0±2.2 | 83.3±1.2 |
| Drought stress+pulsed electrical field | 0 | 43.2±3.0 | 74.2±2.8 | 77.5±2.1 | 78.3±2.0 | 82.7±1.8 | 85.0±1.8 | 86.5±1.0 |

表2 玉米萌发抗旱指数和储藏物质转运率

Table 2 The GDRI and the storage material transport rate of germinating corn

| Evaluation index | CK | Drought stress | Drought stress+pulsed electrical field |
|-----------------------------------|-------------|----------------|--|
| GDRI/% | | 70.7±2.4 | 84.2±1.2 |
| Storage material transport rate/% | 3.736±0.135 | 3.111±0.089 | 3.538±0.028 |

2.2 脉冲电场对干旱胁迫下萌发玉米自发发光的影响

生物自发发光是生物体系在生命活动中发出的光,将待测生物样品放置在暗中适应一段时间后测量得到的发光为样品的自发发光.本文测量暗适应10 min后萌发玉米在干旱胁迫过程中自发发光的变化及脉冲电场处理的影响见图1.由图1可见,随着萌发时间的进行,对照组自发发光逐渐增长;在干旱胁迫

24 h时,干旱胁迫组的自发发光出现了一个峰,然后缓慢升高;干旱胁迫+脉冲电场处理组自发发光的变化趋势与干旱胁迫组类似,但是发光强度增大了.在萌发24、48、72、96和120 h时,干旱胁迫+脉冲电场处理组的自发发光强度分别比干旱胁迫组大了12.3%、30.76%、50.26%、36.5%和35.3%,差异均达到了极显著的水平($P < 0.01$).

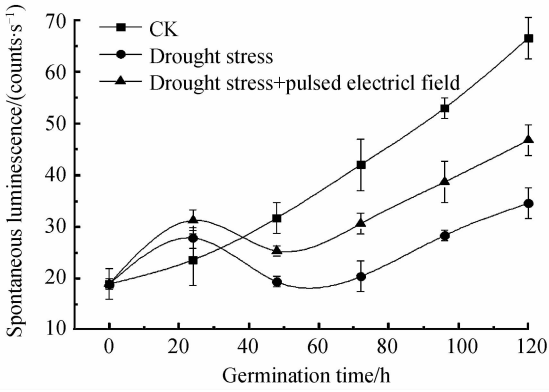


图 1 玉米萌发过程中自发发光的变化

Fig.1 Changes of spontaneous luminescence during germination of corn

玉米种子萌发过程中,干旱胁迫组和干旱胁迫+脉冲电场处理组自发发光的增长率变化曲线见图 2. 由图 2 可见,在萌发 24h 以后,干旱胁迫+脉冲电场处理组的自发发光增长率远远大于干旱胁迫组. 在 72 h 和 96h 时,干旱胁迫+脉冲电场处理组的自发发光增长率比干旱胁迫组的自发发光增长率分别增大 110.1% 和 78.0%,表现出很大的差异.

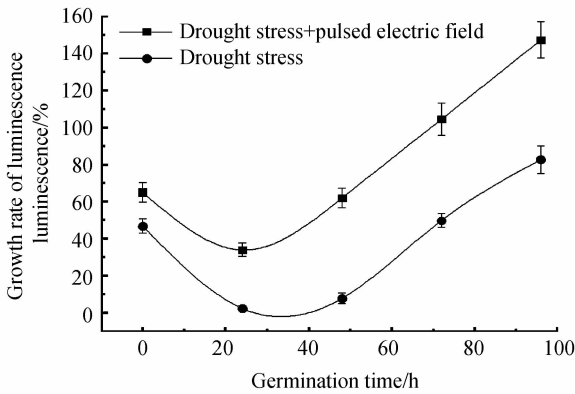


图 2 玉米萌发过程中自发发光增长率的变化

Fig.2 Changes of growth rate of spontaneous luminescence during germination of corn

2.3 脉冲电场对干旱胁迫下萌发玉米延迟发光积分强度的影响

生物延迟发光是生命体系在外来光激发下的持续发光现象,这一发光过程不同于荧光,要持续较长时间,故称延迟发光. 图 3 为萌发过程中各组的延迟发光曲线. 由图 3 可见,各延迟发光曲线随时间逐渐衰减,延续几十秒的时间. 将图 3 中各曲线按照文献[26]的方法拟合后可得各曲线对应的延迟发光积分强度,结果见图 4. 图 4 显示,在玉米种子萌发过程中,干旱胁迫组和干旱胁迫+脉冲电场组的延迟发光积分强度均比对照组要小,但是,干旱胁迫+脉冲电场组的延迟发光积分强度始终大于干旱胁迫组,在萌发 48、72、96 和 120h 时干旱胁迫+脉冲电场组的延迟发光积分强度分别比干旱胁迫组高 11.1%、15.4%、16.1% 和 9.4%.

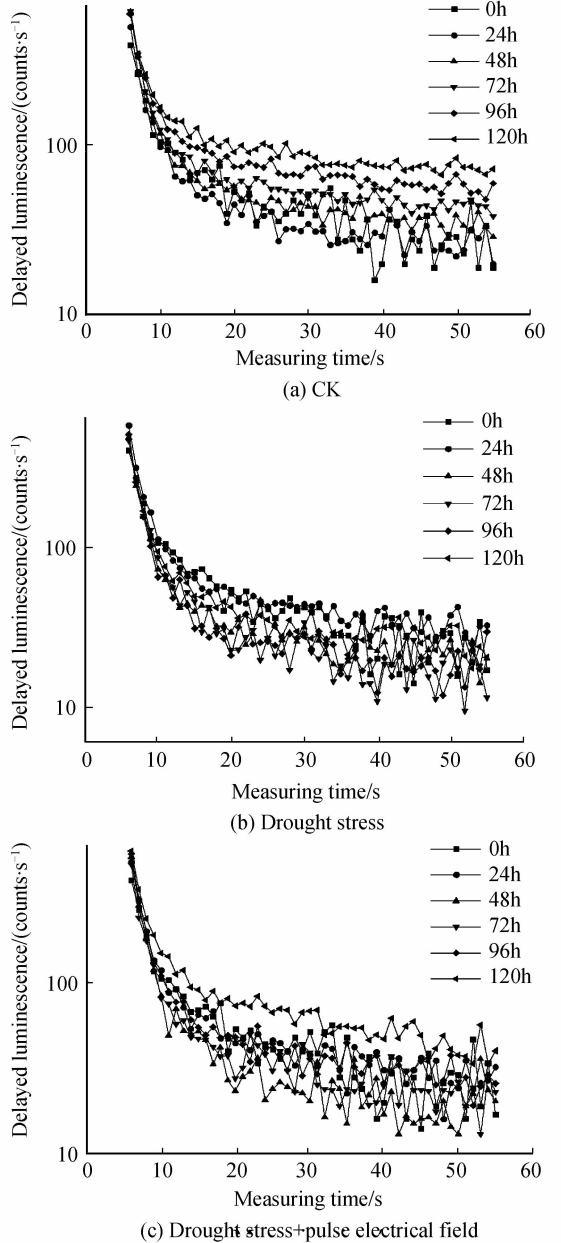


图 3 萌发玉米的延迟发光曲线

Fig.3 Delayed luminescence curve of germinating corn

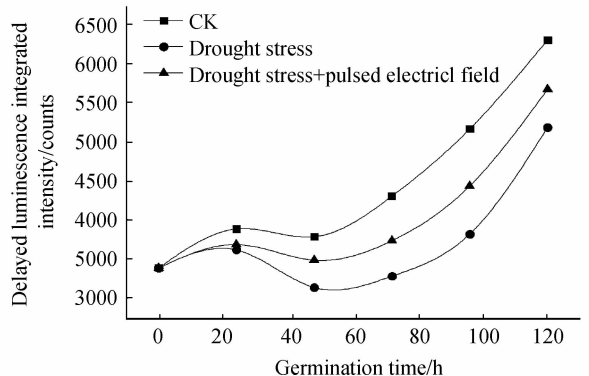


图 4 玉米萌发过程中延迟发光积分强度的变化

Fig.4 Changes of delayed luminescence integrated intensity of germinating corn

在玉米种子萌发过程中,干旱胁迫组和干旱胁迫+脉冲电场处理组的延迟发光积分增长率的变化趋势见图5.由图5可见,在萌发48h以后,干旱胁迫+脉冲电场处理组的延迟发光积分增长率均明显大于干旱胁迫组.在96h时,干旱胁迫+脉冲电场处理组比干旱胁迫组大了142.5%.

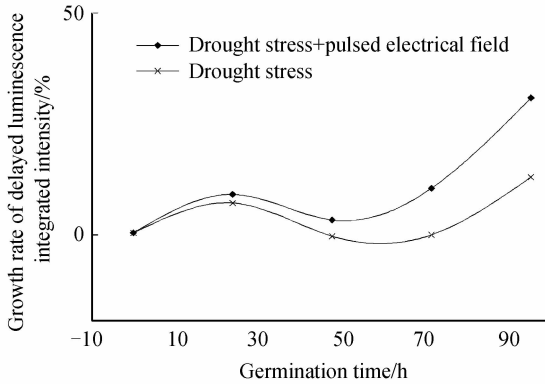


图5 玉米萌发过程中延迟发光积分强度增长率的变化
Fig. 5 Changes of growth rate of delayed luminescence integrated intensity during germination of corn

3 讨论

玉米种子萌发过程中的自发发光主要来自于呼吸代谢^[27].在呼吸代谢中,呼吸电子传递链的电子漏会直接还原氧生成超氧阴离子,后者又可以产生羟自由基,这些自由基经过重组、裂解、歧化等一系列反应生成处于三重激发态的过氧化物,或者单线态氧和激发态羰基,后者经过退激后产生光子辐射^[12,28].因此,呼吸代谢的加速必然导致自发发光的生长,图1中对照组自发发光随着萌发过程的进行逐渐增长就属于这种情况.由于干旱胁迫会引起细胞膜组分的降解和某些酶功能的丧失,导致细胞膜损伤,造成氧化磷酸化解偶联和呼吸速率的下降^[29],这些变化必然会造成自发发光的减少,这就是图1中干旱胁迫下萌发玉米自发发光低于对照的原因.图1中干旱胁迫24h时自发发光高于对照的现象是干旱胁迫造成的活性氧升高所致,干旱胁迫会造成活性氧升高^[29],从而导致自发发光的增强^[17,30].本研究发现,在干旱胁迫下经过脉冲电场处理的玉米种子萌发时的自发发光有所增强,说明脉冲电场处理使得萌发玉米的呼吸代谢增强了.由于萌发24h以后自发发光的生长率可以区分玉米种子萌发期抗旱性的强弱^[31],脉冲电场处理使萌发玉米自发发光的生长率增加,说明脉冲电场处理可以提高玉米萌发期的抗旱性.

生物延迟发光来源于与细胞组织结构性质密切相关的相互协作的电子态激发和衰变,非常长的衰减时间反映了与空间结构序性相关的分子水平^[32].延迟发光衰减越慢,延迟发光曲线下的面积(即延迟发光积分

强度)越大,表明细胞的能量水平和系统的序性越好^[33].由于吸胀2天后玉米种子进入快速生长期,在这个阶段,呼吸代谢加速,储藏蛋白快速分解,新的蛋白大量形成,DNA和RNA合成活跃^[34],因此,延迟发光积分强度快速增长,而干旱胁迫造成的细胞损伤会导致延迟发光积分强度的下降.在图4中,经过脉冲电场处理的萌发玉米延迟发光积分强度有所增加,表明脉冲电场处理缓解了干旱胁迫造成的细胞伤害.由于萌发24h以后种子延迟发光积分强度的增长率也可以区分玉米种子萌发期抗旱性强弱^[26],图5中经过脉冲电场处理的萌发玉米延迟发光积分强度增长率有所提高,则从细胞干旱伤害得到缓解的角度证明了脉冲电场处理可以提高玉米萌发期的抗旱性.

对玉米萌发抗旱指数和贮藏物质转运率变化的研究说明采用超弱发光技术评价脉冲电场对萌发玉米抗旱性的影响是可靠的.容易看出,与GDRI和贮藏物质转运率的传统评价方法相比较,基于超弱发光对种子萌发期抗旱性影响的评价方法除了具有测量简单、区分度高的特点以外,还能够从活体细胞角度反映出萌发玉米的代谢活动对干旱胁迫的响应、适应和伤害的动态变化过程,具有无损、灵敏和可以早期预警的优点.

4 结论

本文研究了脉冲电场对作物萌发期抗旱性的影响及其机理.结果表明:在玉米种子萌发过程中,自发发光逐渐增长,干旱胁迫下自发发光有所下降,自发发光的变化从细胞呼吸代谢的角度反映了环境变化对萌发种子细胞的影响,依据自发发光增长率的变化可以评价玉米种子萌发期抗旱性的强弱.在玉米种子萌发过程中,延迟发光积分强度也呈现出逐渐增加的趋势,干旱胁迫对延迟发光积分强度的增长有抑制作用,延迟发光积分强度的变化从细胞伤害的角度反映了环境变化对萌发种子细胞的影响,萌发种子延迟发光积分强度增长率的变化也可以评价玉米种子萌发期抗旱性.场强100 kV/m,脉宽80 ms,脉冲频率1 Hz的脉冲电场处理使干旱胁迫下萌发玉米种子的自发发光强度和延迟发光积分强度的增长率增加,表明脉冲电场有助于减缓干旱胁迫对萌发玉米细胞呼吸代谢的影响造成的细胞伤害,提高了细胞对干旱的耐受能力.

参考文献

- [1] CHEN Zhao-bo. Research advance and development trends of water use efficiency in plant biology[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, **40**(7): 1456-1462.
陈兆波. 生物节水研究进展及发展方向[J]. *中国农业科学*, 2007, **40**(7): 1456-1462.
- [2] SUN Jun-wei, JI Tian-hui, YANG Zi-guang, et al. Study on identification of the drought resistant in maize seedling emergence stage[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*,

- 2009, **25**(3): 104-107.
- 孙军伟, 冀天会, 杨子光, 等. 玉米萌芽期抗旱性鉴定研究[J]. 中国农学通报, 2009, **25**(3):104-107.
- [3] ZHANG Xin-hua, LI Fu-jun. Application of physical techniques for plant stress resistance [J]. *Plant Physiology Communications*, 2005, **41**(6): 851-854.
- 张新华, 李富军. 物理方法在提高植物抗逆性中的应用[J]. 植物生理学通讯, 2005, **41**(6): 851-854.
- [4] NA Ri, YANG Sheng, HUANG Hong-yun. Responses of stomatal density and distribution in leaves of artemisia sphaerocephala krasch to droughtstress under electric field treatment [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2005, **23**(4): 151-154.
- 那日, 杨生, 黄洪云. 电场处理后白沙蒿气孔密度及分布对沙地干旱胁迫的响应[J]. 干旱地区农业研究, 2005, **23**(4): 151-154.
- [5] CHEN Hua, WU Jun-lin. Different electric field strength treatment of buckwheat seeds and biological effect of buckwheat seedling under drought stress [J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2009, **30**(3): 381-384.
- 陈花, 吴俊林. 不同电场强度处理荞麦种子对其幼苗抗旱性的影响[J]. 农业现代化研究, 2009, **30**(3):381-384.
- [6] LIU Xiang-yu, YANG Ti-qiang, HU Yan-fei, et al. Expression difference of genes in caragana korshinskii young leaves under drought stress by electric field treatment on seeds [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, **34**(12): 2425-2431.
- 刘翔宇, 杨体强, 胡燕飞, 等. 电场处理柠条种子对干旱条件下幼叶基因表达的影响[J]. 西北植物学报, 2014, **34**(12): 2425-2431.
- [7] GAO Yu, XI Gang, YANG Yun-jing, et al. Alleviating effect of extremely low frequency high-voltage pulsed electric field on drought damage of geminating mung beans[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2014, **32**(6): 82-86.
- 高宇, 习岗, 杨运经, 等. 极低频高压脉冲电场对萌发绿豆干旱伤害的缓解作用[J]. 干旱地区农业研究, 2014, **32**(6): 82-86.
- [8] YOSHINAGA N, KATO K, KAGEYAMA C. Ultraweak photon emission from herbivory-injured maize plants [J]. *Naturwissenschaften*, 2006, **93**(1): 38-41.
- [9] 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.
- [10] CIFRA M, POSPISIL P. Ultra-weak photon emission from biological samples: definition, mechanisms, properties, detection and applications [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014, **139**(1): 2-10.
- [11] KATO K, IYOZUMI H, KAGEYAMA C, et al. Application of ultra-weak photon emission measurements in agriculture[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014, **139**(1): 54-62.
- [12] KOMATSU S, HENA A, KAMAL M, et al. Ultraweak photon emission and proteomics analyses in soybean under abiotic stress [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, **1844**(04): 1208-1218.
- [13] YAN Y, POPP F A, ROTHE G M. Correlation between germination capacity and biophoton emission of barley seeds [J]. *Seed Science and Technology*, 2003, **31**(2): 249-258.
- [14] COSTANZO E, GULINO M, LANZANÒ L, et al. Single seed viability checked by delayed luminescence[J]. *European Biophysics Journal with Biophysics Letters*, 2008, **37**(2): 235-238.
- [15] SCORDINO A, MUSUMECI F, GULINO M, et al. Delayed luminescence of microalgae as indicator of metal toxicity [J]. *Journal of Physics D-applied Physics*. 2008, **41**(15): 155-507.
- [16] CHANG J J. Physical properties of biophotons and their biological functions [J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2008, **46**(5): 371-377.
- [17] RASTOGI A, POSPISIL P. Ultra-weak photon emission as a non-invasive tool for the measurement of oxidative stress induced by UVA radiation in Arabidopsis thaliana [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2013, **123**(1): 59-64.
- [18] RADU C, VICTOR D, MONA P, 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.
- [19] WEAVER J C. Electroporation of biological membranes from multicellular to nano scales [J]. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 2003, **10**(5): 754-768.
- [20] KOZIOLEK C, GRAMS T E E, SCHREIBER U, et al. Transient knockout of photosynthesis mediated by electrical signals [J]. *New Phytologist*, 2003, **161**(3): 715-722.
- [21] FROMM J, LAUTNER S. Electrical signals and their physiological significance in plants [J]. *Plant, Cell & Environment*. 2007, **30**(3): 249-257.
- [22] XI Gang, GAO Yu, LIU Kai, et al. Effect of extremely-low-frequency high-voltage pulsed electric field on water absorption of germinating mung beans and its mechanism [J]. *High Voltage Engineering*, 2014, **40**(12): 3762-3767.
- 习岗, 高宇, 刘锴, 等. 极低频高压脉冲电场对绿豆萌发过程中水分吸收的影响及其机理[J]. 高电压技术, 2014, **40**(12): 3762-3767.
- [23] YANG Yun-jing, XI Gang, ZHANG She-qi, et al. Development and application of the instrument of extremely low frequency high-voltage pulsed electric field on biological effects[J]. *Transactions of the CSAE*, 2012, **28**(2): 49-54.
- 杨运经, 习岗, 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.
- [24] ZHANG Xiao-hui, ZHANG Zhi-xia, LI Yan-zhen, et al. Biological effects of pulsed electric field based on multi-shelled dielectric model of spherical cell [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2014, **45**(4): 253-258.
- 张晓辉, 张志霞, 李艳贞, 等. 基于细胞多层介电模型的脉冲电场生物学效应研究[J]. 农业机械学报, 2014, **45**(4): 253-258.
- [25] BOUSLAMA M, SCHAPAUGH W T. Stress tolerance in soybeans. I. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance [J]. *Crop Science*, 1984, **24**(5): 933- 937.
- [26] GAO Yu, XI Gang, LIU Kai, et al. Evaluation method of maize drought resistance during germination based on delayed luminescence [J]. *Chinese Journal of Luminescence*. 2014, **35**(2): 243-250.
- 高宇, 习岗, 刘锴, 等. 基于生物延迟发光评价玉米萌发期抗旱性的方法[J]. 发光学报, 2014, **32**(2): 243-249.
- [27] ZHAO Yan-yan, XI Gang, LIU Kai, et al. Effect of NaN₃ on ultra-weak photon emission during germination of corn[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2015, **44**(4): 0417002.
- 赵燕燕, 习岗, 刘锴, 等. NaN₃对玉米萌发过程中超弱光子

- 辐射的影响[J]. 光子学报, 2015, **44**(4): 0417002.
- [28] RASTOGI A, POSPISIL P. Effect of exogenous hydrogen peroxide on biophoton emission from radish root cells[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, **48**(2-3): 117-123.
- [29] LIU Shuang-ping, ZHOU Qing. Response of respiration during seed germination to environment[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, **17**(5): 1035-1038.
刘双平, 周青. 种子萌发过程中呼吸代谢对环境变化的响应[J]. 中国生态农业学报, 2009, **17**(5):1035-1038.
- [30] POSPISIL P, PRASAD A, MAREK R. Role of reactive oxygen species in ultra-weak photon emission in biological systems[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014, **139**(1): 11-23.
- [31] GAO Yu, XI Gang, LIU Kai, *et al.* Application of spontaneous fluorescence of germinating maize in drought resistance evaluation under water stress[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2014, **43**(2): 0217003.
- 高宇, 习岗, 刘镔, 等. 水分胁迫下萌发玉米的自发发光在抗旱性评价中的应用[J]. 光子学报, 2014, **43**(2): 0217003.
- [32] HO M W, MUSUMECI F, SCORDINO A, *et al.* Delayed luminescence from bovine Achilles' tendon and its dependence on collagen structure[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2002, **66**(3): 165-170.
- [33] 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.
习岗, 刘镔, 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.
- [34] MENG Ling-bo. Proteomic research during maize(*Zea mays* L.) seed germination [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2008.
孟令波. 玉米种子萌发的蛋白质组学研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008.