

文章编号: 1001-3806(2003)06-0544-03

He-Ne 激光预处理菘蓝种子的生化效应研究^{*}

陈怡平¹ 王勋陵^{1,2}⁽¹⁾西北大学生命科学学院,西安,710069)⁽²⁾兰州大学生命科学学院,兰州,730070)

摘要: 以菘蓝 (*isatis indigotica*) 种子为实验材料,研究了不同时间长度的 He-Ne 激光辐照对菘蓝幼苗中 α -淀粉酶活性、谷丙转氨酶活性、谷草转氨酶活性、丙酮酸、可溶性蛋白质和可溶性糖含量的影响。结果表明,4 种处理均能不同程度提高菘蓝幼苗中 α -淀粉酶、谷丙转氨酶和谷草转氨酶的活性。对 α -淀粉酶活性而言,7min 的 He-Ne 激光处理效果最好;而对谷丙转氨酶和谷草转氨酶的活性来说,5min 的 He-Ne 激光处理效果最好。4 种处理均能不同程度提高菘蓝幼苗中可溶性蛋白质、丙酮酸和可溶性糖的含量,比较而言,5min 的 He-Ne 激光处理效果最好。

关键词: 菘蓝; He-Ne 激光; 可溶性蛋白; 可溶性糖**中图分类号:** Q945.1 **文献标识码:** A

The study on biochemistry effects of He-Ne laser pretreated seed of *isatis indigotica*

Chen Yiping¹, Wang Xunling^{1,2}⁽¹⁾ College of Life Science, Northwest University, Xi'an, 710069)⁽²⁾ College of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou, 730070)

Abstract: The effects of He-Ne laser on vigor of α -amylase, GPT, GOT and content of soluble protein and soluble sacchrides of *isatis indigotica* have been studied. The results indicate: four treatments have improved the vigor of α -amylase, GPT and GOT. Moreover, 7min treatment is the best for α -amylase, and 5min treatment is the best for GPT and GOT. Four treatments have improved apparently content, protein content and soluble sacchrides of *isatis indigotica*, 5min treatment is the best among four treatments.

Key words: *isatis indigotica*; He-Ne laser; soluble protein; soluble sacchrides

引 言

有关激光在植物上的应用已有许多报道^[1], 适量剂量的激光辐射可以提高种子的萌发率^[2], 提高酶的活性、叶绿素的含量以及植物的抗逆性^[3]。菘蓝 (*isatis indigotica*) 是我国常用传统的中药板蓝根、大青叶的主要来源。板蓝根和大青叶中含有靛蓝及靛玉红等多种生理活性成分, 具有清热、凉血、消斑之功效^[4]。但是, 有关激光对菘蓝幼苗生长的影响尚未见报道。作者采用 He-Ne 激光 (5.23mW cm^{-2}) 预处理菘蓝种子, 对其幼苗生理的影响进行了研究, 试图了解激光预处理菘蓝种子的作用效果, 为进一步探讨其作用机理及提高中药产量提供理论基础。

^{*} 国家自然科学基金资助项目。

作者简介: 陈怡平, 男, 1968 年 8 月出生。博士研究生。现主要从事激光生物学及分子环境生物学的研究。

收稿日期: 2002-09-16

1 材料与方 法

1.1 材 料

以菘蓝为实验材料, 菘蓝种子为西安交通大学药学院提供。

1.2 方 法

1.2.1 种子萌发 实验设对照组 (ck), 3min 激光处理组 (t), 5min 激光处理组 (f), 7min 激光处理组 (s), 9min 激光处理组 (n)。选取籽粒饱满、大小均匀的菘蓝种子进行激光处理, 然后播种于花盆内, 花盆直径 20cm, 高 25cm。土壤成分比例为腐殖质熟土沙土 = 4:1, 每盆 10 株, 每组 3 个重复, 实验于 2002 年 6 月 ~ 7 月在西北大学生物园内进行。

1.2.2 He-Ne 激光辐照预处理 He-Ne 激光器 (MSHN-A-B450MM, 西北大学光电研究所制造) 波长为 632.8nm, 光斑直径为 1.5mm。菘蓝种子用清水浸泡 3h, 自然晾干, 然后用 He-Ne 激光分别辐照种子的胚 3min, 5min, 7min, 9min, 剂量为 5.23mW cm^{-2} 。参照文献^[5]

中的方法。

1.2.3 淀粉酶活力的测定 取 3~4 叶期苜蓿叶片 0.2g(苗龄 13d),进行淀粉酶的提取及 淀粉酶活力测定,提取方法及标准曲线的制作参考文献

[6],淀粉酶活力 = $\frac{C \times V_t}{W \times V_s \times t}$ [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$], C 为标准曲线上查得的麦芽糖的含量, V_t 为淀粉酶总体积, V_s 为反应所用酶提液的体积, W 为材料鲜重, t 为反应时间。

1.2.4 转氨酶的提取及测定 取 3~4 叶期苜蓿叶片 0.2g(苗龄 16d),进行转氨酶的提取及转氨酶活力测定,提取方法参考文献[6],标准曲线的制作及测定分别按照 GOT KIT(编号:001019)和 GPT KIT(编号:001020)(北京北化康泰临床试剂有限公司提供)。

1.2.5 丙酮酸的提取及测定 取 3~4 叶期苜蓿叶片 0.2g(苗龄 18d),进行丙酮酸的提取及丙酮酸含量测定,方法参考文献[6]。

1.2.6 可溶性蛋白的提取及测定 取 3~4 叶期的苜蓿叶片 5.0g(苗龄 14d),进行可溶性蛋白的提取及测定,方法参考文献[7]。

1.2.7 可溶性糖的提取及测定 可溶性糖的提取及测定参考文献[8],并作了改进。取烘干苜蓿叶片 0.125g(苗龄 19d),磨碎,加 80% 的乙醇 20mL,在沸水中加热回流提取 30min,离心取上清液,残渣再用少量乙醇加热回流提取一次,合并提取液,定容 25mL。取 0.2mL 提取液,加 1.8mL 蒸馏水,再加 6mL 蒽酮试剂,在沸水浴中反应 10min,冷却后在 620nm 处测吸光度。

2 结果与分析

2.1 对苜蓿幼苗 淀粉酶活性的影响

从图 1 可以看出,不同时间长度 He-Ne 激光预处理对苜蓿幼苗的 淀粉酶活力的影响明显不同。3min 预处理,其 淀粉酶活性高于对照组 $0.046 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ($t_{\text{ck,t}} = 0.915, p > 0.05$, 差异不显著);5min 预处理,其 淀粉酶活性高于对照组 $0.146 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ($t_{\text{ck,f}} = 2.106, p > 0.05$, 差异不显著);7min 预处理,其 淀粉酶活性高于对照组 $0.302 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ($t_{\text{ck,s}} = 6.993, p < 0.05$, 差异显著);9min 预处理,其 淀粉酶活性高于对照组 $0.137 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ($t_{\text{ck,n}} = 1.118, p > 0.05$, 差异不显著)。

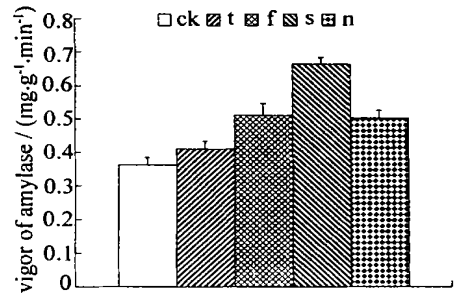


Fig. 1 Effect of He-Ne laser irradiation on vigor of α -amylase

2.2 对苜蓿幼苗 GPT 活性的影响

从图 2 可以看出,不同时间长度 He-Ne 激光预处理对苜蓿幼苗的谷丙转氨酶活力具有明显的影响。3min 预处理,其 GPT 活性高于对照组 $0.79 \text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t_{\text{ck,t}} = 4.29, p > 0.05$, 差异不显著);5min 预处理,GPT 活性高于对照组 $3.61 \text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t_{\text{ck,f}} = 16.168, p < 0.01$, 差异极显著);7min 预处理,GPT 活性高于对照组 $1.65 \text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t_{\text{ck,s}} = 8.745, p < 0.05$, 差异显著);9min 预处理,GPT 活性高于对照组 $0.45 \text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t_{\text{ck,n}} = 3.75, p > 0.05$, 差异不显著)。其中 U 为酶单位,FW 表湿重。

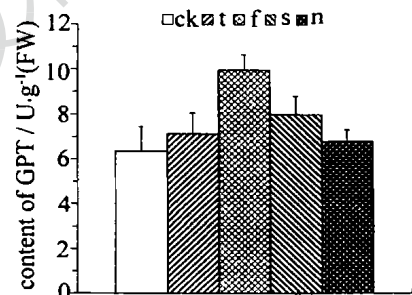


Fig. 2 Effect of He-Ne laser irradiation on content of GPT

2.3 对苜蓿幼苗 GOT 活性的影响

从图 3 可以看出,不同时间长度 He-Ne 激光预

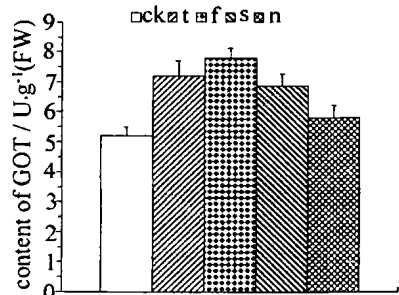


Fig. 3 Effect of He-Ne laser irradiation on content of GOT

处理对苜蓿幼苗的谷草转氨酶活力具有明显的影响。3min 预处理,其谷草转氨酶活性高于对照组 $2 \text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t_{\text{ck,t}} = 7.35, p < 0.05$, 差异显著);5min 预处理,谷草转氨酶活性高于对照组 $2.6 \text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t_{\text{ck,f}} = 10.29, p < 0.01$, 差异极显著);7min 预处理,谷草转氨酶活性高于对照组 $1.68 \text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t_{\text{ck,s}}$

= 5.35, $p < 0.05$, 差异显著); 9min 预处理, 谷草转氨酶活性高于对照组 $0.6U \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,n} = 3.728, p > 0.05$, 差异不显著)。

2.4 对菘蓝可溶性蛋白含量的影响

从图4可以看出, 不同时间长度 He-Ne 激光预处理对菘蓝幼苗可溶性蛋白质合成的具有明显的影响。3min 预处理, 其可溶性蛋白质含量高于对照组 $0.125mg \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,t} = 3.12, p > 0.05$, 差异显著); 5min 预处理的蛋白质含量高于对照组 $0.695mg \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,f} = 14.57, p < 0.01$, 差异极显著); 7min 预处理的蛋白质含量高于对照组 $0.465 mg \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,s} = 12.35, p < 0.01$, 差异显著)。9min 预处理的蛋白质含量高于对照组 $0.30mg \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,n} = 8.10, p < 0.05$, 差异显著)。

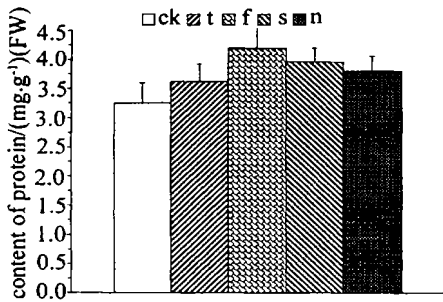


Fig. 4 Effects of He-Ne laser irradiation on content of protein

2.5 对菘蓝丙酮酸含量的影响

从图5可以看出, 不同时间长度 He-Ne 激光预处理对菘蓝幼苗丙酮酸含量具有明显的影响。

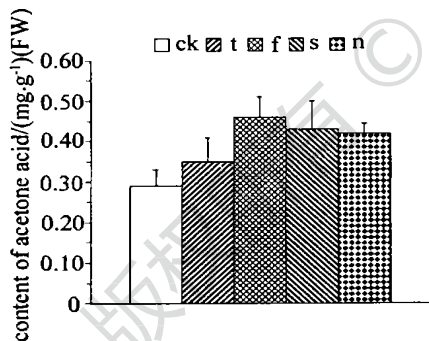


Fig. 5 Effect of He-Ne laser irradiation on content of acetone acid

3min 预处理, 其丙酮酸含量高于对照组 $0.06mg \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,t} = 1.032, p > 0.05$, 差异不显著); 5min 预处理的丙酮酸含量高于对照组 $0.17mg \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,f} = 8.82, p < 0.05$, 差异显著); 7min 预处理的丙酮酸含量高于对照组 $0.014 mg \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,s} = 4.50, p < 0.05$, 差异显著); 9min 预处理的丙酮酸含量高于对照组 $0.013mg \cdot g^{-1}$ (FW) ($t_{ck,n} = 3.83, p > 0.05$, 差异不显著)。

2.6 对菘蓝可溶性糖含量的影响

从图6反映了不同时间长度 He-Ne 激光预处理对菘蓝幼苗可溶性糖合成的影响。3min 预处理, 其可溶性糖含量高于对照组 $5.4mg \cdot g^{-1}$ (DW) ($t_{ck,t} = 2.50, p > 0.05$, 差异不显著); 5min 预处理的糖含量高于对照组 $9.08mg \cdot g^{-1}$ (DW) ($t_{ck,f} = 2.85, p > 0.05$, 差异不显著); 7min 预处理的糖含量高于对照 $10.2mg \cdot g^{-1}$ (DW) ($t_{ck,s} = 3.15, p > 0.05$, 差异不显著); 9min 预处理的糖含量高于对照组 $3.4mg \cdot g^{-1}$ (DW) ($t_{ck,n} = 0.93, p > 0.05$ 差异不显著)。其中 DW 表干重。

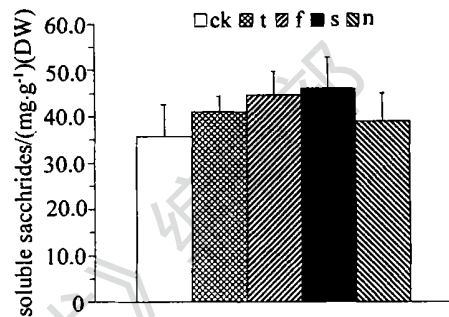


Fig. 6 Effects of He-Ne laser irradiation on content of soluble sacchrides

3 讨论

根据研究报道: 激光对生物体的作用主要表现为光效应、电磁效应、热效应和压力效应。但是低功率的激光特别是可见光范围内的激光产生的热和压力很少, 因此, 激光对生物体的作用主要是光效应和电磁效应^[9]。韩榕等研究证明与激光相同波长的红光对生物体的作用很小, 起作用的是电磁效应^[10]。从文中实验结果来看, He-Ne 激光处理菘蓝种子后, 其幼苗中 α -淀粉酶、GPT, GOT 活性都有所提高, 而且可溶性蛋白质、可溶性糖和丙酮酸含量与对照组相比均有不同程度的提高。这也许不只是激光电磁效应起作用的结果。另据周培疆等对种子萌发生长的微量热研究结果表明, 种子萌发生长热谱图表现出3个生理阶段: 浸透阶段(大约0.5h)是干种子吸水放热过程, 是一物理化学过程; 活化阶段是种子萌发的准备阶段, 是吸热过程; 生长阶段生化代谢的启动阶段^[11]。结合实验来看, 处理的菘蓝种子是浸泡3h后的湿种子, 其浸透阶段已经完成, 已进入活化阶段, 需要热量, 此时给予激光辐射可能满足了热量需要。同时, 湿种子中的水被激光的磁场力磁化, 氢键被破坏, 水的缔合度减小, 水分子变小, 容

(下转第550页)

保证调谐系统工作稳定,须在调谐系统外部实行良好的电磁屏蔽。

在调谐实验中,激光器输出波长的稳定性,取决于光栅零位的复位精度。为了提高复位精度,采用编程控制的双红外零位传感器来对光栅进行零位复位,得到激光波长的波动范围仅为(0.1~0.5)nm,改善了输出激光波长再现性。触发的同步是指光栅转角与所需的激光波长相对应时,实现激光器的触发放电。同步触发技术是利用调谐触发控制器来完成,触发控制器考虑了光栅转角与激光器触发的偏置时间等因素,确定了各支输出激光与光栅位置(步进电机的步数)间的关系。

3 结 论

报道了小型快速调谐 TEA CO₂ 激光器,其快调谐机构可由两种方案来实现。其中,由单片机控制的步进电机驱动传动机构旋转光栅进行调谐的方案,其可行性由实验所证实。这一激光器能够快速、稳定输出不同波长的激光,可作为差分吸收雷达的

光源。利用单片机随意选择激光输出波长,实现了快速调谐 CO₂ 振转能级跃迁谱线,在 10ms 时间内输出两不同波长激光。该系统结构简单,运行可靠,易于实现。尽管实验是在 TEA CO₂ 激光器上实现的,但这种调谐方法亦可以应用于其它光栅调谐的脉冲激光器,如染料、准分子、远红外激光器等。

参 考 文 献

- [1] Carlisle C B, van der Laan J E, Carr L W *et al.* Appl Opt, 1995, 34 (27): 6187 ~ 6200.
- [2] Faxvog F R, Mbcker H W. Appl Opt, 1982, 21 (22): 3986 ~ 3987.
- [3] Crocker A, Jenkins R M, Johnson M. J Phys E: Sci Instrum, 1985, 18 (1): 133 ~ 135.
- [4] Fox J, Ahl J L. Appl Opt, 1986, 25 (21): 3830 ~ 3834.
- [5] Qu Y Ch, Hu X Y, Liu F M *et al.* Infrared Physics & Technology, 2000, 41 (3): 143 ~ 147.
- [6] 于志伟, 曲彦臣, 刘逢梅 *et al.* 激光技术, 2000, 24 (4): 244 ~ 247.
- [7] Tan G R, Yang W X, Wang S J *et al.* Infrared Phys, 1991, 131 (2): 207 ~ 209.
- [8] Qu Y Ch, Liu F M, Hu X Y *et al.* Infrared Physics & Technology, 2000, 41 (3): 139 ~ 142.
- [9] 曲彦臣, 胡孝勇, 刘逢梅 *et al.* 激光与红外, 2000, 30 (3): 160 ~ 163.

(上接第 546 页)

易透过半透膜,从而改善了营养物质的跨膜运输和利用。当水分子恢复缔合度时,放出原来吸收的能量,激发各种酶的活性。从而加速了生长阶段生化代谢的启动。因此,作者认为可能是激光的热效应和电磁效应在预处理过程中起作用。

由于加快生化代谢过程的启动,-淀粉酶、GPT、COT的活性提高,尤其是 GPT、COT的活性,它们催化的转氨基作用使生物体的蛋白质代谢和糖代谢沟通起来,在一定程度上起着调节蛋白质和糖代谢的平衡作用,从而增强了菘蓝幼苗的代谢水平,导致了可溶性蛋白质、丙酮酸和可溶性糖含量的提高。意味着 He-Ne 激光辐照有利于菘蓝生长和发育,可促进中药大青叶和板蓝根产量的提高。

作者的研究证明,虽然不同时间的激光处理均能不同程度地提高 -淀粉酶、GPT、COT 活性及可溶性蛋白质、丙酮酸和可溶性糖含量,但综合而言,

以 5min 的处理效果最好。这一结果将作为今后进一步研究激光对增强 UV-B 辐射损伤菘蓝幼苗修复及防护作用的实验剂量,也可以用于生产实践中。

参 考 文 献

- [1] 陈芳远, 胡能书, 梁 宏 *et al.* 中国激光遗传育种与激光生物学. 长沙: 湖南师范大学出版社, 1991: 2 ~ 5.
- [2] 李耀维, 冯文新. 应用激光, 1996, 16: 37 ~ 41.
- [3] 蔡素雯, 齐 智, 马小来. 中国激光, 2000, 27 (3): 284 ~ 288.
- [4] 崔 征. 生药学. 北京: 中国医药科技出版社, 1999: 130 ~ 132.
- [5] Qi Zh, Yeu M, Han R *et al.* Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology, 2000, 59: 33 ~ 37.
- [6] 汪沛洪. 基础生物化学实验指导. 西安: 陕西科学技术出版社, 1985: 83 ~ 85.
- [7] 李 琳, 焦新之. 植物生理学通讯, 1980, 6: 52 ~ 55.
- [8] 张振清. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 274 ~ 278.
- [9] 向 洋, 丁志宝. 光电子激光, 1997, 8 (6): 475 ~ 478.
- [10] 韩 榕, 王勋陵, 岳 明 *et al.* 光子学报, 2001 (10): 1182 ~ 1186.
- [11] 周培疆, 胡云楚, 凌杏元 *et al.* 物理化学学报, 1999, 15 (3): 274 ~ 278.