

文章编号: 1001-3806(2004)01-0042-03

He-Ne 激光处理对菘蓝幼苗光合作用的影响

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*)为实验材料, 研究了 He-Ne 激光辐照中药菘蓝种子对幼苗光合色素含量、净光合速率、气孔导度与蒸腾速率、可溶性糖含量及总生物量的影响。研究结果表明, 4 种处理均能不同程度提高菘蓝幼苗光合色素含量、净光合速率水平、气孔导度与蒸腾速率, 可溶性糖含量及总生物量, 比较而言, 5min 的 He-Ne 激光处理效果最好。在此基础上讨论了激光的作用机理及影响幼苗光合作用的机理。

关键词: 菘蓝; He-Ne 激光; 光合作用; 气孔导度

中图分类号: Q945 文献标识码: A

Effects of He-Ne laser treatment seeds of *isatis indigotica* on photosynthesis of seedlings

CHEN Yiping¹, WANG Xunling^{1,2}

(1. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. College of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The effects of He-Ne laser pretreatment on the seed of *isatis indigotica* have been studied in the following aspects, such as content of photoproducts and chlorophyll, biomass, net photosynthetic rate, stomatal conductance and water use efficiency. The results indicated four treatments have improved apparently the content of photoproducts and chlorophyll, stomatal conductance, water use efficiency, level of net photosynthetic rate and so on. Compared with the control, 5min treatment is the best among four treatments. Moreover, the influence mechanism of laser irradiation on seedling photosynthesis has been discussed on the basis of the above results.

Key words: *isatis indigotica*; He-Ne laser; photosynthesis; stomatal conductance

引 言

有关激光在植物上的应用已有许多报道^[1,2], 适量剂量的激光辐射可以提高种子的萌发率^[3], 提高酶的活性、叶绿素的含量以及植物的抗逆性^[4]。而菘蓝(*isatis indigotica*)是我国常用传统中药板蓝根、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, 都具有清热、凉血消斑之功效^[5]。虽然曾对 He-Ne 激光预处理菘蓝种子的生化效应进行了研究^[6], 但是有关激光预处理对菘蓝幼苗光合作用的影响依然未见报道。作者采用 He-Ne 激光($5.23\text{mW}\cdot\text{mm}^{-2}$)预处理菘蓝种子, 对其幼苗的光合作用进行了研究, 试图了解激光预

处理菘蓝种子在光合作用方面的作用效果, 为进一步探讨其作用机理及提高中药产量和改善中药品质提供理论基础。

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, 种子表面经 0.05% 的升汞消毒, 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~ 10 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

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39970126)

作者简介: 陈怡平(1968), 男, 博士研究生, 现主要从事激光生物学及环境生物学的研究。

E-mail: nwuchyp618@eyou.com

收稿日期: 2002-12-16

(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 后, 自然晾干, 然后再用 HeNe 激光分别辐照种子的胚 3min, 5min, 7min, 9min, 剂量为 $5.23 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$ 。方法参考文献 [7]。

1.2.3 叶绿素的提取及含量测定 叶绿素的提取、测定及计算方法参考文献 [8]。

1.2.4 净光合速率、气孔导度与蒸腾速率的测定 用 CI-301SP 光合蒸腾测定仪 (CID 公司生产) 测定苗龄为 25d 菘蓝幼苗的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率和水分利用率。

1.2.5 可溶性糖的提取及测定 可溶性糖的提取及测定参考文献 [9]。

1.2.6 总生物量的测定 苗龄为 25d 的菘蓝幼苗在烘箱 (KW-1) 中烘干 (80°C), 然后在电子天平上称量对照组及各处组的干重。生物量为每 10 株的总量。文中数据均为 3 次实验的平均值。

2 结果与分析

2.1 对菘蓝幼苗光合色素含量的影响

从表 1 可以看出, 不同时间长度 HeNe 激光预处理对叶绿素含量有着不同的影响。3min 预处理

的菘蓝幼苗叶绿素 *a* 含量高于对照组 $0.172 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 3.0412, p > 0.05$, 差异不显著), 叶绿素 *b* 含量高于对照组 $0.024 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 1.830, p > 0.05$, 差异不显著), 总叶绿素含量高于对照组 $0.161 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 4.025, p > 0.05$, 差异不显著); 5min 预处理的菘蓝幼苗叶绿素 *a* 含量高于对照组 $0.312 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 4.475, p < 0.05$, 差异显著), 叶绿素 *b* 的含量高于对照组 $0.053 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 3.533, p > 0.05$, 差异不显著), 总叶绿素含量高于对照组 $0.340 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 8.718, p < 0.05$, 差异显著); 7min 预处理的菘蓝幼苗叶绿素 *a* 含量高于对照组 $0.142 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 3.628, p > 0.05$, 差异显著), 叶绿素 *b* 的含量高于对照组 $0.014 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 1.778, p > 0.05$, 差异不显著), 总叶绿素含量高于对照组 $0.125 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 3.719, p < 0.05$, 差异显著); 而 9min 预处理的菘蓝幼苗叶绿素 *a* 含量与对照组相当 ($t = 0.470, p > 0.05$, 差异不显著), 叶绿素 *b* 的含量仅高于对照组 $0.008 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 0.666, p > 0.05$, 差异不显著), 总叶绿素含量高于对照组 $0.023 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) ($t = 0.1916, p > 0.05$, 差异显著)。

Table 1 Effect of HeNe laser treatment seeds of *isatis indigotica* on photosynthesis and photoproducts of seedlings

	ck	t	f	s	n
net photosynthetic rate/ $(\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	11.75 ± 0.667	12.39 ± 1.146	14.43 ± 0.949	12.91 ± 0.646	12.89 ± 1.580
stomatal conductance/ $(\mu\text{molH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	58.30 ± 2.487	97.90 ± 9.76	130.1 ± 4.05	95.43 ± 13.2	91.86 ± 9.18
water use efficiency/ $(\mu\text{molCO}_2 / \mu\text{molH}_2\text{O})$	2.650 ± 0.140	3.110 ± 0.796	4.60 ± 0.215	3.23 ± 0.158	3.06 ± 0.311
content of chlorophyll <i>a</i> / $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW})$	0.698 ± 0.059	0.870 ± 0.061	1.010 ± 0.328	0.840 ± 0.032	0.698 ± 0.030
content of chlorophyll <i>b</i> / $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW})$	0.230 ± 0.012	0.254 ± 0.016	0.283 ± 0.008	0.244 ± 0.021	0.238 ± 0.007
content of total chlorophyll / $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW})$	0.953 ± 0.048	1.114 ± 0.032	1.293 ± 0.153	1.078 ± 0.058	0.976 ± 0.067
content of soluble saccharides / $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW})$	35.60 ± 6.900	43.80 ± 3.280	44.68 ± 5.04	45.80 ± 6.75	35.30 ± 6.05
biomass/g	0.933 ± 0.591	0.984 ± 0.644	1.096 ± 0.850	1.209 ± 0.573	1.094 ± 0.862

2.2 对菘蓝幼苗光合作用的影响

从表 1 可以看出, 3min 预处理菘蓝幼苗的净光合速率水平高于对照组 $0.64 \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($t = 0.8816, p > 0.05$, 差异不显著), 气孔导度升高 $39.6 \mu\text{molH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($t = 17.010, p < 0.01$, 差异极显著), 水分利用率下降 $0.46 \mu\text{molCO}_2 / \mu\text{molH}_2\text{O}$ ($t = 1.009, p > 0.05$, 差异不显著); 5min 预处理菘蓝幼苗的净光合速率水平高于对照组 $2.68 \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($t = 4.466, p < 0.05$, 差异显著), 气孔导度升高 $71.8 \mu\text{molH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($t = 15.309, p < 0.01$, 差异极显著), 水分利用率下降 $1.95 \mu\text{molCO}_2 / \mu\text{molH}_2\text{O}$ ($t = 2.438, p > 0.05$, 差异显著); 7min 预处理菘蓝幼苗的净光合速率水平高于对照

组 $1.23 \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($t = 2.320, p > 0.05$, 差异显著), 气孔导度升高 $37.13 \mu\text{molH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($t = 13.555, p < 0.01$, 差异极显著), 水分利用率下降 $0.58 \mu\text{molCO}_2 / \mu\text{molH}_2\text{O}$ ($t = 3.222, p > 0.05$, 差异显著); 9min 预处理菘蓝幼苗的净光合速率水平高于对照组 $1.16 \mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($t = 1.708, p > 0.05$, 差异显著), 气孔导度升高 $33.6 \mu\text{molH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($t = 9.880, p < 0.05$, 差异显著), 水分利用率下降 $0.41 \mu\text{molCO}_2 / \mu\text{molH}_2\text{O}$ ($t = 0.5942, p > 0.05$, 差异显著)。

2.3 对菘蓝幼苗可溶性糖的影响

表 1 中反映了不同时间长度 HeNe 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 $5.4\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})$ ($t = 2.50, p > 0.05$, 差异不显著), 5min 预处理的可溶性糖含量高于对照组 $9.08\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})$ ($t = 2.85, p > 0.05$, 差异不显著), 7min 预处理的可溶性糖含量高于对照组 $10.2\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})$ ($t = 3.15, p > 0.05$, 差异不显著), 9min 预处理的可溶性糖含量高于对照组 $3.4\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}(\text{DW})$ ($t = 0.93, p > 0.05$, 差异不显著)。

2.4 对菘蓝幼苗总生物量的影响

从表 1 可以看出, 不同时间长度的 HeNe 激光处理对大青叶的生物量也有影响。 3min 预处理, 其生物量高于对照组 0.051g ($t = 2.550, p > 0.05$, 差异不显著), 5min 预处理的生物量高于对照组 0.163g ($t = 6.112, p < 0.05$, 差异显著), 7min 预处理的生物量高于对照 0.276g ($t = 13.801, p < 0.05$, 差异显著), 9min 预处理的生物量高于对照组 0.161g ($t = 4.536, p < 0.05$, 差异显著)。

3 讨论

3.1 激光处理的作用机理

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这两种效应^[10]。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^[11]。从实验结果来看, HeNe 激光处理菘蓝种子后, 其幼苗光合作用的能力、可溶性糖和总生物量与对照均有不同的提高。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; 生长阶段是生化代谢的启动阶段^[12]。结合作者的实验来看, 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, 笔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。

3.2 影响幼苗光合作用的机理

以前的研究表明, 激光处理组的 α 淀粉酶、近代 GPT 和 GOT 等酶活性高于对照组^[6], 这说明低熵生物大分子淀粉和蛋白质的降解速度加快, 机体的代谢增强, 熵值增大, 种子萌发速度加快。而种子萌发前是处在非平衡的稳定状态, 种子萌发前激光处理可能促进了机体非平衡稳定态的打破, 导致机体从高度有序向无序的方向发展。由于生物机体是一高度有序的开放系统且处于非平衡状态, 犹如一个流动体系的反应器, 物料有进有出, 反应器中不断地进行着反应, 是非平衡的, 但整个反应器处于定态。机体要维持这一高度有序性, 是以增大环境的熵值为代价^[13]。因为激光处理组机体熵值大于对照组, 所以, 在萌发后的个体发育过程中, 与对照组相比, 激光处理组要从环境吸收较多的能量来维持内熵的平衡, 这样激光处理组的生化代谢和光合作用的进程必然快于对照组, 微观上表现幼苗的光合色素含量、可溶性糖含量、净光合速率、气孔导度水平等生理指标的变化和生物量增加; 很可能更为深远地影响大青叶和板蓝根的产量和品质。研究证明, 虽然不同时间的激光处理对菘蓝种子萌发和苗期生长均促进作用, 但结合前面蛋白质的工作而言^[6], 以 5min 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, 也可以用于中药栽培技术中。

参 考 文 献

- [1] QI Zh, CAI S W, WANG X L. J of Northwest University, 2000, 30(1): 45~ 48.
- [2] KLEBANOV G, KAPITANOV A B, TESSIKIN Y A. Biologicheskies Membrany Moscow, 1998, 2(2): 22.
- [3] 李耀维, 冯文新. 应用激光, 1996, 16(3): 37~ 41.
- [4] 蔡素雯, 齐智, 马小来. 中国激光, 2000, 27(3): 284~ 288.
- [5] 崔征. 生药学. 北京: 中国医药科技出版社, 1999. 130~ 132.
- [6] 陈怡平, 王勋陵. 激光技术, 2003, 27(6): 544~ 546.
- [7] QI Zh, YUE M, HAN R et al. Photochem & Photobio, 2002, 75(6): 680~ 686.
- [8] ZHANG Z Q. Plant physiology laboratory manual. Beijing: Science and Technology Press, 1985. 130.
- [9] 陈怡平, 李丽, 王勋陵. 激光生物学报, 2002, 11(6): 412~ 416.
- [10] 向洋, 丁志宝. 光电子激光, 1997, 8(6): 475~ 478.
- [11] HAN R, YUE M, WANG X L. Chinese Science Bulletin, 2002, 47(10): 818~ 821.
- [12] 周培疆, 胡云楚, 凌杏元 et al. 物理化学学报, 1999, 15(3): 274~ 278.
- [13] 傅献彩, 沈文霞, 姚天扬. 物理化学. 4 版, 北京: 高等教育出版社, 1990. 173.