

文章编号: 1001-3806(2004)05-0494-04

## CO<sub>2</sub> 激光对玉米种子萌发及幼苗生长发育的影响

张建东<sup>1</sup>, 陈怡平<sup>1</sup>, 张晋豫<sup>1</sup>, 王勋陵<sup>1,2</sup>

(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 730000)

**摘要:** 采用功率密度 18mW/mm<sup>2</sup> CO<sub>2</sub> 激光辐照萌动玉米种子, 研究了其对玉米种子萌发及幼苗生长发育的影响。试验结果表明, 不同时间 CO<sub>2</sub> 激光辐照萌动的玉米种子对种子发芽率及其出土后幼苗生长发育状况及幼苗的生理生化代谢均有不同程度促进作用, 其中 30s 处理对幼苗影响不明显, 60s 和 90s 处理对玉米幼苗都有显著的促进作用。

**关键词:** 玉米; 种子萌发; 生长发育; CO<sub>2</sub> 激光

**中图分类号:** S513 **文献标识码:** A

### The effects of CO<sub>2</sub> laser treatment on the grains germination, growth and development of corn

ZHANG Jian-dong<sup>1</sup>, CHEN Yi-ping<sup>1</sup>, ZHANG Jin-yu<sup>1</sup>, WANG Xun-ling<sup>1,2</sup>

(1. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. College of Life Science, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**Abstract:** Using corn as the experiment material, in this experiment 18mW/mm<sup>2</sup> CO<sub>2</sub> laser radiates corn grain so as to test the effect radiation on the corn seed development. The results show that this treatment produces positive effect on corn grain germination, its further development within 15d after germination and physiological metabolism. 30s treatment has no obvious effect. 60s and 90s treatment can have a significant effect on the development of corn seedling.

**Key words:** corn; grains germination; seedling development; CO<sub>2</sub> laser

## 引言

激光作为一种技术, 在遗传育种、生物刺激效应等方面的研究获得了广泛的尝试。激光在提高种子活力、促进生长发育、提高产量等方面已有较多报道<sup>[1~3]</sup>, 适当剂量的激光辐射可以提高种子的萌发率, 提高酶的活性、叶绿素的含量以及植物的抗逆性<sup>[1~7]</sup>。He-Ne 激光功率小, 处理时间长, 不便于大量作业, 而 CO<sub>2</sub> 激光具有功率高、处理效果显著的特点。玉米为我国北方主要农作物, 具有很大的经济价值。虽然有人研究了 He-Ne 激光处理对玉米幼苗抗氧化酶活性及对蛋白质谱带方面的影响<sup>[8,9]</sup>, 但是, 有关 CO<sub>2</sub> 激光预处理对生长发育、生理生化效应未见报道。试验用 CO<sub>2</sub> 激光照射萌发玉米种子, 筛选出最佳刺激剂量为播前处理和诱变

育种提供理论依据及参考指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以陕单 308 号玉米为实验材料, 由杨凌示范区种子公司提供。

### 1.2 方法

1.2.1 CO<sub>2</sub> 激光辐照处理及种子萌发 使用功率密度为 18mW/mm<sup>2</sup> CO<sub>2</sub> 激光以不同辐照时间处理萌动的玉米种子。分别设对照组(ck)、30s 处理组、60s 处理组、90s 处理组。选取籽粒饱满、大小均匀的玉米种子用 25℃ 温水浸泡 5h, 然后用 CO<sub>2</sub> 激光进行处理。CO<sub>2</sub> 激光器波长为 10.6μm (MSHCO<sub>2</sub>-A-C800MM, 西北大学光电研究所制造), 光斑直径为 30mm。处理时用激光器逐粒照射玉米种胚位置<sup>[10]</sup>。

激光处理后将其培养在垫有两层滤纸的培养皿内, 20 粒/皿, 每组 3 个重复, 培养于 25℃ 光照培养箱中, 12h/d 光照, 相对湿度为 75%。萌发后种于试

作者简介: 张建东(1978-), 男, 硕士研究生, 研究方向为环境植物学。

E-mail: zjd78@sohu.com

收稿日期: 2003-10-14; 收到修改稿日期: 2004-02-10

验田。

1.2.2 种子萌发率的统计 当发芽结束时统计各组的发芽数,计算其发芽率。

1.2.3 可溶性蛋白的提取及测定 称取 0.5g 玉米叶片(苗龄 15d),加蛋白提取液 2.5mL 研磨成匀浆,离心 15min(8000r/min),取上清液 50 $\mu$ L,加水至 1mL,加考马斯蓝 3mL,混匀后静置 15min,以空白做对照,在 595nm 处测吸光度。根据标准曲线计算蛋白含量。方法参照文献[11]。

1.2.4 可溶性糖的提取及测定 可溶性糖的提取及测定参照文献[11],并作了改进。即称取烘干小麦叶片 0.125g(苗龄 9d),磨碎,加 20mL 质量分数为 80%的乙醇,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。根据标准曲线计算糖含量。方法参照文献[12]。

1.2.5 淀粉含量的测定 在电子天平上称取玉米叶片(苗龄 15d)0.10g,用 5mL 质量分数为 80%的乙醇研磨,转入离心管离心,残渣用 5mL 蒸馏水悬浮洗涤一次,再次离心后的残渣用质量分数为 80%的硝酸钙悬浮,在沸水浴中水浴 10min 低速离心(4000r/min)后将上清液转入 25mL 容量瓶中,残渣用质量分数为 80%硝酸钙重复提取 2 次,合并提取液,定容至 25mL,取提取液 0.5mL,用质量分数为 80%的硝酸钙补充至 4mL,加入 100 $\mu$ L F-1K,摇匀后于 620nm 处测定吸光值,根据标准曲线计算样品含量。方法参照文献[13]。

1.2.6 蛋白酶活性测定 称取 0.5g 玉米叶片(苗龄 15d),加蛋白提取液 2.5mL 在冰浴条件下研磨成匀浆,冷冻离心 15min(8000r/min),取上清液 0.5mL 加入质量分数为 0.5%的酪蛋白 1mL 后 30℃保温 20min,立即加入质量分数为 10%三氯乙酸 1.5mL,摇匀,放置 10min。再加入 0.55mol/L 的碳酸钠 5mL、费林试剂 1mL 后 30℃显色 15min 在 680nm 处测定吸光度。根据标准曲线计算样品含量测定方法参照文献[14]。

1.2.7 淀粉酶活性的测定 称取 0.5g 玉米叶片放入研钵内,加少量石英砂,加入 2mL 质量分数为 1%氯化钠溶液,放置 20min,振荡几次,离心取上清液 0.5mL,加入质量分数为 1%淀粉溶液 1mL,摇匀,在 30℃保温 5min 后,立即加入质量分数为 1%的 3,5-二硝基水杨酸,放入沸水浴中加热 5min,冷却,定容至

25mL 以空白做对照,在 520nm 处测吸光度。根据标准曲线计算样品含量。测定方法参照文献[15]。

1.2.8 游离氨基酸含量的测定 称取 0.5g 玉米叶片放入研钵内,加 5mL 质量分数为 10%的乙酸在研钵中研磨,以蒸馏水稀释至 100mL,摇匀,离心 10min(8000r/min),吸取 1mL,放入 20mL 的具塞试管中,加无氨蒸馏水 1mL,茚三酮 3mL 后置沸水中加热 15min,放入冷水中迅速冷却并不时振荡,直至蓝紫色,用质量分数为 60%的乙醇定容至 25mL,于 570nm 处测吸光度,测定方法参照文献[16]。

1.2.9 叶面积的测定 用 CID 公司 CF202 叶面积仪测定。

1.2.10 株高及茎粗的测定 出苗 15d 后,统计株高及茎粗。

## 2 结果与分析

### 2.1 CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米种子萌发率的影响

从图 1 可以看出,CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对种子发芽率影响不同。CO<sub>2</sub> 激光处理 30s 的发芽率是 0.94,比对照高 1.1% ( $t_{ck,30s} = 0.92, p > 0.05$ , 差异不显著), CO<sub>2</sub> 激光处理 60s 的发芽率是 0.97,比对照高 4.3% ( $t_{ck,60s} = 12.91, p < 0.05$ , 差异显著), 而 CO<sub>2</sub> 激光处理 90s 的发芽率是 0.98,比对照高 5.3% ( $t_{ck,90s} = 3.21, p > 0.05$ , 差异不显著)。

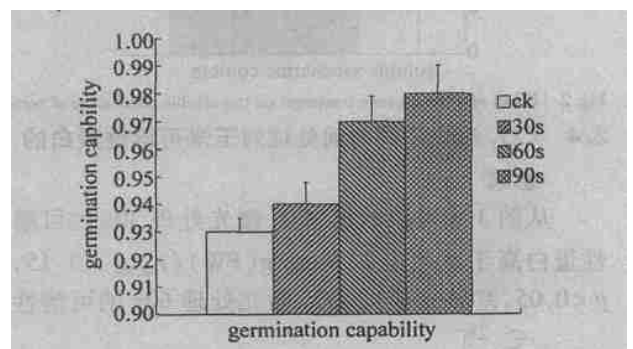


Fig. 1 Effect of different time treatment on the germination capability of corn

### 2.2 CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对 15d 玉米幼苗生长发育的影响

由表 1 可以看出,CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对 15d 玉米幼苗生长发育影响的不同。CO<sub>2</sub> 激光处理 30s 后的株高、茎粗和叶面积分别比对照高 10.2%, 3.3%, 40.8%; CO<sub>2</sub> 激光处理 60s 后的株高、茎粗和叶面积分别比对照高 11.4%, 4.8%, 59.6%; CO<sub>2</sub> 激光处理 90s 后的株高、茎粗和叶面积分别比对照

高 12.3% , 17.9% , 99.6% 。

Table 1 Effects of CO<sub>2</sub> laser different time treatment on the development of 15d seedlings

	ck	30s	60s	90s
height/cm	16.24 ± 2.52	17.89 ± 1.06	18.09 ± 1.44	18.23 ± 1.38
width/cm	0.84 ± 0.05	0.87 ± 0.06	0.88 ± 0.12	0.99 ± 0.13
leaf areas /cm <sup>2</sup>	78.69 ± 13.52	110.83 ± 18.68	125.61 ± 28.02	157.08 ± 28.51

### 2.3 CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米可溶性糖的影响

从图 2 可以看出,CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米叶中可溶性糖也有明显的影响。CO<sub>2</sub> 激光处理 30s 后的玉米叶中可溶性糖含量高于对照组 0.21mg/g(DW) ( $t_{ck,30s} = 2.45$ ,  $p > 0.05$ , 差异不显著),CO<sub>2</sub> 激光处理 60s 后的玉米叶中可溶性糖含量高于对照组 6.94mg/g(DW) ( $t_{ck,60s} = 69.61$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著),CO<sub>2</sub> 激光处理 90s 后的玉米叶中可溶性糖含量高于对照组 7.24mg/g(DW) ( $t_{ck,90s} = 46.05$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著)。

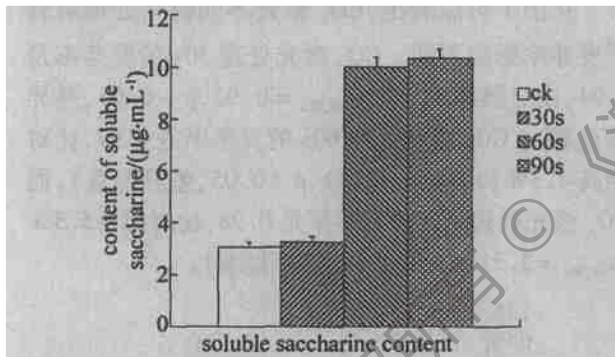


Fig. 2 Effect of different time treatment on the soluble saccharine of corn

### 2.4 CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米可溶性蛋白的影响

从图 3 中可以看出,CO<sub>2</sub> 激光处理 30s 的可溶性蛋白高于对照组 2.94mg/g(FW) ( $t_{ck,30s} = 3.15$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著),CO<sub>2</sub> 激光处理 60s 的可溶性

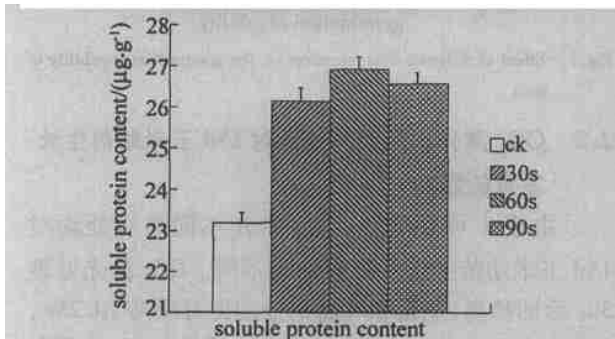


Fig. 3 Effect of different time treatment on the soluble protein content of corn

蛋白质高于对照组 3.73mg/g(FW) ( $t_{ck,60s} = 15.44$ ,

$p < 0.05$ , 差异显著),CO<sub>2</sub> 激光处理 90s 可溶性蛋白高于对照组 3.37mg/g(FW) ( $t_{ck,90s} = 9.31$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著)。

### 2.5 CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米淀粉含量的影响

从图 4 中可以看出,CO<sub>2</sub> 激光处理 30s 的淀粉含量高于对照组 1.91mg/g(FW) ( $t_{ck,30s} = 28.65$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著),CO<sub>2</sub> 激光处理 60s 的淀粉含量高于对照组 9.15mg/g(FW) ( $t_{ck,60s} = 52.54$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著),CO<sub>2</sub> 激光处理 90s 淀粉含量高于对照组 7.53mg/g(FW) ( $t_{ck,90s} = 73.77$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著)。

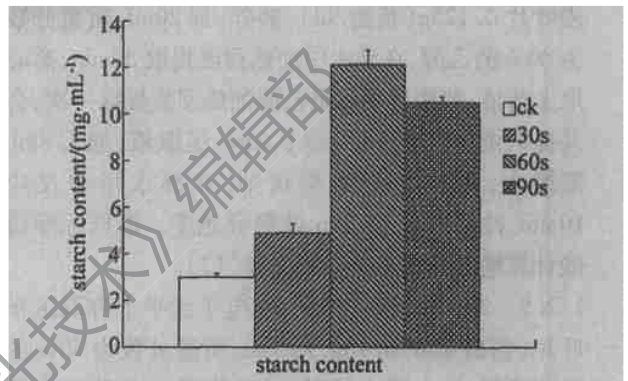


Fig. 4 Effect of different time treatment on the starch content of corn

### 2.6 CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米游离氨基酸含量的影响

从图 5 中可以看出,CO<sub>2</sub> 激光处理 30s 的游离氨基酸含量高于对照组 0.77μg/g(FW) ( $t_{ck,30s} = 15.59$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著),CO<sub>2</sub> 激光处理 60s 的游离氨基酸含量高于对照组 1.59μg/g(FW) ( $t_{ck,60s} = 46.41$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著),CO<sub>2</sub> 激光处理 90s 游离氨基酸含量高于对照组 1.41μg/g(FW) ( $t_{ck,90s} = 25.87$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著)。

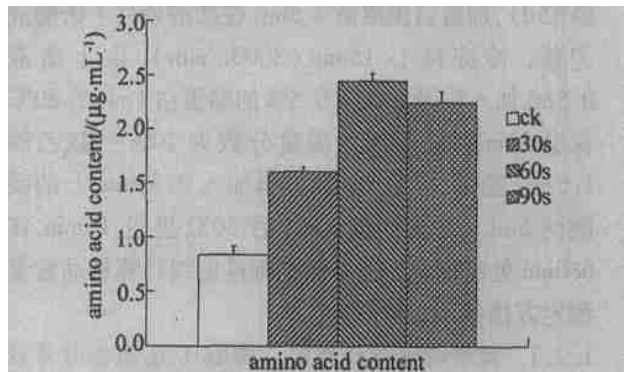


Fig. 5 Effect of different time treatment on the dissociative amino acid content of corn

### 2.7 CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米淀粉酶活性的影响

从图 6 中可以看出,CO<sub>2</sub> 激光处理 30s 的淀粉



酶活性高于对照组  $0.03\mu\text{g/g (FW)}$  ( $t_{\text{ck},30\text{s}} = 4.91$ ,  $p > 0.05$ , 差异不显著), CO<sub>2</sub> 激光处理 60s 的淀粉酶活性高于对照组  $0.78\mu\text{g/g (FW)}$  ( $t_{\text{ck},60\text{s}} = 22.45$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著), CO<sub>2</sub> 激光处理 90s 淀粉酶活性高于对照组  $0.81\mu\text{g/g (FW)}$  ( $t_{\text{ck},90\text{s}} = 21.15$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著)。

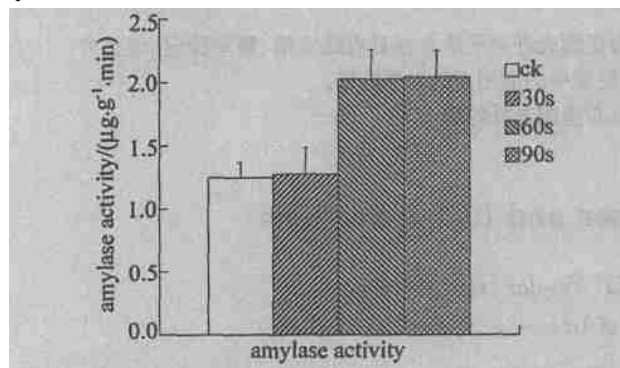


Fig. 6 Effect of different time treatment on the amylase activity of corn

## 2.8 CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米蛋白酶活性的影响

从图 7 中可以看出, CO<sub>2</sub> 激光处理 30s 的蛋白酶活性高于对照组  $0.006\mu\text{g/g (FW)}$  ( $t_{\text{ck},30\text{s}} = 1.07$ ,  $p > 0.05$ , 差异不显著), CO<sub>2</sub> 激光处理 60s 的蛋白酶活性高于对照组  $0.011\mu\text{g/g (FW)}$  ( $t_{\text{ck},60\text{s}} = 3.38$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著), CO<sub>2</sub> 激光处理 90s 蛋白酶活性高于对照组  $0.014\mu\text{g/g (FW)}$  ( $t_{\text{ck},90\text{s}} = 3.78$ ,  $p < 0.05$ , 差异显著)。

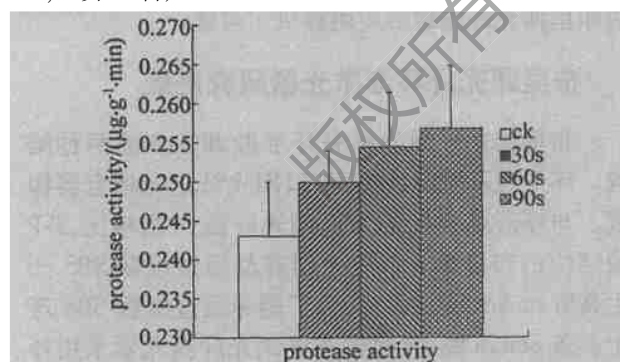


Fig. 7 Effect of different time treatment on the protease activity of corn

## 3 讨论

从实验结果来看, CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理对玉米都有一定的促进作用, 实验中超过 30s 的处理, 玉米的生理生化代谢都有显著的促进作用; 而外在表现为幼苗粗壮, 株高、茎粗和叶面积与对照相比都有大幅度的增加。

激光处理能够促进种子的萌发, 究其原因是激光对萌动种子的生理活动产生了不同程度的影响,

激光能促使生物体内酶活性提高<sup>[17]</sup>。种子的萌发是利用自身的贮藏物, 通过酶的水解作用转化为简单的可溶性有机物输送到正在生长的幼胚中去。酶活性的强弱和水解作用的强度是种子萌发最重要的因素。正如本实验所测定, 激光能提高淀粉酶和蛋白酶活性, 促进淀粉水解为葡萄糖, 贮藏蛋白水解为氨基酸, 有利于胚细胞的分裂与生长。激光处理后的种子淀粉含量、可溶性蛋白和游离氨基酸浓度高于对照, 这表明激光处理促进了贮藏蛋白和储藏淀粉的分解, 有利于种子的萌发与幼苗生长。

从实验结果来看, CO<sub>2</sub> 激光不同时间处理玉米种子, 60s 和 90s 都有显著提高, 但 60s 和 90s 差异不大, 所以, 在生产实践上以辐照 60s 为好。

## 参考文献

- [1] 骆荣挺, 张铭铄, 徐宝才 *et al.* CO<sub>2</sub> 激光对水稻的生物学效应研究 [J]. 浙江农业学报, 1994, 6(1): 7~12.
- [2] 万贤国. 我国植物激光诱变育种的概况 [J]. 激光生物学报, 1996, 5(3): 865~869.
- [3] 朱以林, 刘学华, 赛小峰 *et al.* 激光诱变选育的莱用大青豆的选育报告 [J]. 安徽农业大学学报, 1997, 25(2): 134~135.
- [4] 高智才, 王海洋, 陈苹 *et al.* 葡萄 He-Ne 激光诱变育种研究 [J]. 激光生物学报, 1997, 6(1): 1009~1011.
- [5] 陈芳远, 胡能书, 梁宏. 中国激光遗传诱变与激光生物学 [M]. 长沙: 湖南长沙大学出版社, 1991. 35~40.
- [6] 李耀维, 冯文新. He-Ne 激光对白术种子萌发与幼苗生长的影响 [J]. 应用激光, 1996, 16: 37~41.
- [7] 齐智, 蔡素雯, 王勋陵. He-Ne 激光对可溶性蛋白合成的影响 [J]. 西北大学学报, 2000, 30(1): 45~48.
- [8] 蔡素雯, 齐智, 马小来. He-Ne 激光辐照对玉米幼苗可溶性蛋白的影响 [J]. 中国激光, 2000, 27(3): 284~288.
- [9] 徐莉, 蔡素雯, 赵桂仿 *et al.* He-Ne 激光辐照对  $\alpha$ -淀粉酶与磷酸化酶影响的研究 [J]. 应用激光, 2002, 22(6): 569~572.
- [10] HAN R, WANG XL, YUE M. The influence of He-Ne laser irradiation on the damage DNA repair of wheat seeding by enhance UV-B Radiation [J]. Acta Photonica Sinica, 2001, 10: 1182~1186.
- [11] 李林, 焦喜芝. 一种用考马斯亮蓝检验蛋白含量的新方法 [J]. 植物生理学通讯, 1980, 6: 52~55.
- [12] 陈怡平, 李丽, 王勋陵 *et al.* He-Ne 激光和 KT 对小麦种子萌发与幼苗生长的影响 [J]. 激光生物学报, 2002, 11(6): 412~416.
- [13] 徐昌杰, 陈文峻, 陈昆松 *et al.* 淀粉含量测定的一种简便方法——碘显色法 [J]. 生物技术, 1998, 8(2): 41~43.
- [14] 北京师范大学生物系生物化学教研室. 基础生物化学实验 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1986. 142~145.
- [15] 王沛洪, 陈毓荃, 马仁懿 *et al.* 生物化学实验指导 [M]. 西安: 陕西科学与技术出版社, 1986. 83~85.
- [16] 王沛洪, 陈毓荃, 马仁懿 *et al.* 生物化学实验指导 [M]. 西安: 陕西科学与技术出版社, 1986. 51~53.
- [17] 王晶, 郭维生. 激光提高酶活性机理探讨 [J]. 中国激光, 1997, 24(8): 765~768.