

# 盐胁迫下绿豆幼苗的超微弱发光

曹晓兵<sup>1</sup> 李光<sup>1</sup> 廖祥儒<sup>2</sup> 杨海莲<sup>1</sup> 徐景智<sup>1</sup>

(1. 河北大学物理科学与技术学院, 河北保定 071002; 2. 河北大学生命科学学院, 河北保定 071002)

**摘要:** 对不同 NaCl 浓度胁迫下绿豆种子早期萌发时的超微弱发光变化进行了初步研究。结果表明, 随 NaCl 浓度的增加, 绿豆胚根的生长速度(根长)减慢, 生长受到明显抑制, 其超微弱发光的强度显著下降。萌发期间, SOD 活性随着盐浓度的增加而降低, 其活性与生物光子强度有极为密切的关系。这些结果表明生物超微弱发光探测技术有可能成为植物盐胁迫研究的有效工具, 对于进一步理解盐胁迫机理有一定的意义。

**关键词:** 超微弱发光; 盐胁迫; 过氧化物歧化酶(SOD); 萌发; 绿豆

中图分类号: Q632

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)03-0261-04

## Ultraweak Photon Emission in Mung Bean Seedlings under Salt Stress

CAO Xiao-bing<sup>1</sup> LI Guang<sup>1</sup> LIAO Xiang-ru<sup>2</sup> YANG Hai-lian<sup>1</sup> XU Jing-zhi<sup>1</sup>

(1. Physics & Technology College, Hebei University, Baoding 071002, China;

2. College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

**Abstract:** The growth of mung bean radicles decreased with the increase of NaCl concentration in incubation solution, and the detected ultraweak photon emission intensity declined markedly as well. During germination of mung bean seeds, superoxide dismutase (SOD) activity also decreased as NaCl concentration increased. SOD activity was closely related to biophoton intensity. The results show that ultraweak photon emission detection is useful for the study of the plant response to salt stress.

**Key words:** Ultraweak photon emission; Salt stress; Superoxide dismutase (SOD); Germination; Mung bean

盐胁迫首先是对植物生理生化反应的影响, 盐分过高可以影响细胞活性氧清除系统, 引起膜脂过氧化而导致膜泄漏<sup>[1]</sup>。其次, 盐胁迫还能诱导植物一些基因特异表达<sup>[2-4]</sup>。了解植物盐胁迫的反应机理对于提高植物的抗盐性能、增加农作物产量有直接的意义。在盐胁迫研究方法中, 分子生物学方法是有效的工具。在不损伤、不干扰植物生理反应的前提下, 获得其生化反应的信息对于理解植物的生理生化过程是非常必要的。植物超微弱发光是与植物生化反应相联系的低强度生物光子辐射<sup>[5]</sup>, 其携带了大量的生理生化反应的信息<sup>[6]</sup>, 生物在受到外界环境的影响后生物光子的辐射会迅速发生变化<sup>[5,7,8]</sup>, 因此利用生物光子的改变可方便地了解植物在盐胁迫

下的受害程度。植物在逆境条件下的生物发光表现以及其在抗逆鉴定方面的探索已有一些报道<sup>[5,8-10]</sup>。本研究用不同浓度的 NaCl 溶液培养绿豆种子, 观察绿豆的生长状态, 测量和分析植物超微弱发光(UPE)和 SOD 活性与盐胁迫的关系, 并探讨利用超微弱发光技术研究植物盐胁迫机理的可行性。

### 1 材料和方法

**材料及培养** 挑选大小一致的饱满绿豆 (*Phaseolus radiatus* L.) 置于普通滤纸上, 加适量培养液放入 LRH-150B 型生化培养箱, 使其从萌发到长出根毛、子叶都处于盐环境中, 蔽光培养, 温度 27±

收稿日期: 2003-11-10 接受日期: 2004-02-23

基金项目: 河北大学博士基金支持(2002y01)项目资助

2℃。培养液分别为 0.01%、0.3%、1%、1.5%、2%、3%、5% 的 NaCl 溶液。用灭菌水培养的绿豆作对照。

**超微弱发光强度测量** 选取培养时间相同, 长势均匀的绿豆幼苗放入测量杯中, 避光 10 min 后开始测量, 于 1 000 V 高压下用中国科学院生物物理所研制的 BPCL-4 型微弱发光测量仪测量 100 s, 自动计数。测试环境为恒温、避光(盐溶液的发光可忽略不计)。

**SOD 活性测定** 参照李合生<sup>[11]</sup>的方法。以抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原 50% 的酶量为一个酶活单位(U)。

## 2 结果和分析

### 2.1 对绿豆生长的影响

NaCl 溶液对绿豆种子的萌发和生长有明显抑制作用, 浓度越高, 抑制作用越强。1%、1.5% 的 NaCl 溶液培养的绿豆分别在 70 h 和 82 h 停止生长, 2%、3% 的 NaCl 溶液培养的绿豆先后出现坏死现象, 而当 NaCl 浓度为 5% 时绿豆种子不能萌发。

由图 1 我们可以清楚地看到: 除 0.01% 的 NaCl 溶液可促进绿豆生长外, 其它浓度的盐溶液均抑制绿豆的生长。盐浓度越大, 绿豆生长速度越慢。低浓度盐溶液(0.01%)能促进绿豆的生长可能是因为它提供了种子萌发和生长所需要的合适的盐浓度。

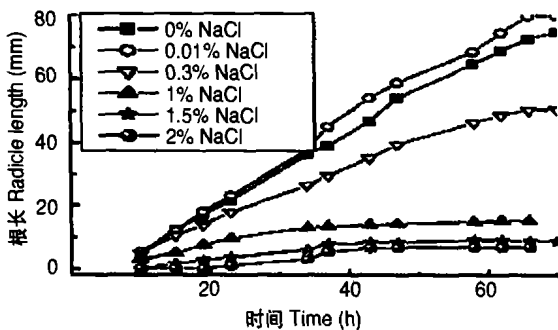


图 1 不同浓度的盐溶液对绿豆根长的影响

Fig. 1 The effect of different salt concentration on radicle length of mung bean ( $0 \leq SD(\text{Radicle length}) \leq 9.65$ )

### 2.2 NaCl 胁迫下绿豆的超微弱发光

绿豆萌发 21 h 后, 测量其超微弱发光强度(UPE)的变化。除 0.01% NaCl 溶液培养的绿豆 UPE 值比对照值稍高外, 其余均随着盐浓度的增高而降低, 但是浓度相近的差异不显著, 这和杨起简<sup>[9]</sup>的结果基本一致, 区别在于本研究中 0.01% NaCl 溶液

培养的绿豆种子的 UPE 值比正常培养的高。这与 0.01% NaCl 培养的绿豆生长速度比对照组快是一致的。由图 2 我们可以清楚地看到盐胁迫对超微弱发光的影响。

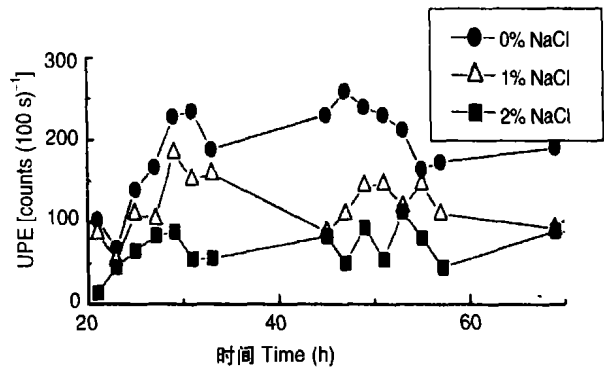


图 2 不同浓度的盐溶液对绿豆超微弱发光的影响

Fig. 2 The effect of different salt concentration on ultraweak photon emission (UPE) of mung bean seedlings ( $0 \leq SD(\text{UPE}) \leq 36$ )

### 2.3 对绿豆 SOD 活性的影响

由图 3 可以看出: 基本上, SOD 活性随着 NaCl 浓度的增加而下降。1% NaCl 使绿豆 SOD 活性出现不规则的变化; 当浓度达到 2% 时, SOD 活性峰值出现得早, 但有时 SOD 活性比 0.3% 和 1% 的还要高, 已经相当的不规则了。这可能是由于过高的盐浓度使植物代谢发生紊乱, 已超出了可调节的范围, 造成了 SOD 活性不正常的改变。

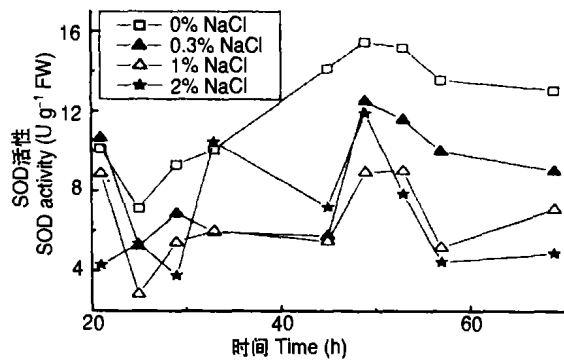


图 3 不同浓度的盐溶液对绿豆 SOD 活性的影响

Fig. 3 The effect of different salt concentration on SOD activity of mung bean seedlings ( $0 \leq SD \leq 3.84$ )

表 1 为不同浓度 NaCl 溶液对绿豆生长状态和生理生化反应的影响。由表 1 可以明显看到: NaCl 浓度越高, 绿豆胚根生长速度越缓慢, 其发光强度和 SOD 活性越低(2% 的某些时间点除外)。这说明 NaCl 盐溶液对绿豆种子萌发和生长有明显的抑制

表1 胚根长度、发光强度以及 SOD 活性随 NaCl 浓度的变化

Table 1 The effects of NaCl concentration on radicle length, ultraweak photon emission (UPE) and SOD activity

萌发时间 Germination time (h)	33				49				69			
NaCl (%)	0	0.3	1	2	0	0.3	1	2	0	0.3	1	2
胚根长 Radicle length (mm)	36.2	26.4	13	3	54	39.4	14.2	6.8	74.8	50.6	15.2	6.8
UPE[counts (100 s) <sup>-1</sup> ]	188.2	176.5	158.2	55.9	239.2	152.9	144.2	93.6	190.2	172.2	91.9	89.6
SOD(U g <sup>-1</sup> FW)	10.05	5.93	5.99	10.44	15.46	12.51	8.93	11.89	13.04	9	7.08	4.88

作用,浓度越高,抑制作用越强。

### 3 讨论

SOD 活性和 UPE 的变化趋势基本一致(图 2, 3)。经统计分析,绿豆的 SOD 活性(x)和 UPE(y)呈极显著正相关  $P < 0.001$ 。回归方程为:  $y = 9.081x - 42.148$ , 相关系数  $r = 0.529$ 。不饱和脂肪酸氧化是植物 UPE 的主要辐射源之一<sup>[6]</sup>。SOD 可以催化超氧阴离子自由基  $O_2^-$  发生歧化反应放出  $O_2$  和  $H_2O_2$ <sup>[11]</sup>,  $O_2$  又可以促进脂肪酸氧化反应的发生,从而使发光增强。所以 SOD 活性越高,UPE 值越大。

在某些时刻 2%NaCl 胁迫下绿豆的 SOD 活性比 0.3%和 1%的高,而 UPE 值却比后两者低,这可能与超微弱发光的另一类辐射源—有丝分裂发光有关<sup>[9]</sup>。2%NaCl 培养的绿豆种子在 21-69 h 根长基本上没有变化,可以说有丝分裂很弱甚至是停止的,而其它浓度培养的绿豆种子有丝分裂一直进行,所以 2%浓度的 UPE 可能主要是由氧化代谢引起的,而其它浓度的 UPE 可能由氧化代谢和有丝分裂共同引起。所以尽管 2%浓度的 SOD 活性高,其 UPE 值仍有可能比 0.3%和 1%的低。由此也间接证明了生物氧化和有丝分裂都是植物超微弱发光的辐射源。Rattemeyer<sup>[12]</sup>和沈恂<sup>[13]</sup>都曾间接证明 DNA 分子或 RNA 合成代谢对超微弱发光有贡献。但是二者对发光的贡献各占多少,在不同的生长阶段,哪一个占主导地位,以及生物光子的功能还有待进一步研究。

盐胁迫导致的生物光子强度的变化不仅依赖于胁迫时盐的浓度,而且也依赖于盐的作用时间,因此生物发光变化反映的是植物对盐胁迫的实时的生理生化反应的变化。光子辐射是与活性氧自由基有关的<sup>[6]</sup>,盐胁迫下植物体内自由基产生和清除的平衡遭到破坏,过量的自由基导致脂质发生过氧化反应<sup>[1]</sup>,破坏了植物正常的生理活动,影响到 SOD 和其它清除氧自由基的酶保护系统的正常进行,并

且导致了对细胞的进一步损伤,比如:某些蛋白质的降解、叶绿素分子的结构破坏等,甚至盐胁迫后期导致基因的特异表达产生盐胁迫蛋白<sup>[10,14]</sup>。因此植物的超微弱发光与其代谢生理反应密切相关。发光分析的优越在于可以在不损伤和不干扰植物生理反应的情况下,较早地了解生物系统内部的生化反应的状况,而不必进行大量的生化分析。研究方法的改进和突破对于研究植物盐胁迫机理有一定的实际意义和促进作用<sup>[8,15]</sup>。

### 参考文献

- [1] Qiu G Y(丘冠英), Peng Y X(彭银祥). Biophysics [M]. Wuhan: Wuhan University Press, 2000. 211-214.(in Chinese)
- [2] Li Y X(李银心), Chang F Q(常凤启), Du L Q(杜立群), et al. Genetic transformation of watercress with a gene encoding for betaine-aldehyde dehydrogenase (BADH) [J]. Acta Bot Sin(植物学报), 2000, 42(5):480-484.(in Chinese)
- [3] Shu W G(舒卫国), Chen S Y(陈受宜). Gene expression and signal transduction in plants under osmotic stress [J]. Adv Bioeng(生物工程进展), 2000, 20(3):3-7.(in Chinese)
- [4] Wang Y(王颖), Du R Q(杜荣蓉), Zhao S R(赵素然). The effect of different NaCl treatment condition induced salt-stress protein [J]. J Nankai Univ(南开大学学报), 1997, 30(4):14-20.(in Chinese)
- [5] Yang Q J(杨起简), Zhou H(周禾), Pogocyan C I, et al. Study on superweak luminescence of pea seedling under the different Na-salt stress [J]. Acta Laser Biol Sin(激光生物学报), 2001, 10(4): 266-268.(in Chinese)
- [6] Wang W J(王维江), Han J Y(韩俊英). Advance in the study of ultra-weak bioluminescent mechanisms and detecting methods [J]. J Guangdong Techn Univ(广东工业大学学报), 2000, 17(1):49-54. (in Chinese)
- [7] Gu Q(顾樵). The ultraweak photon emission from biological systems [J]. Quanta(量子电子学), 1987, 5(2):97-108.(in Chinese)
- [8] Zhou H(周禾), Yang Q J(杨起简). A study on the superweak luminescence of different plant seeds at the stage of germination [J]. Acta Biophys Sin(生物物理学报), 1996, 12(1):157-160.(in Chinese)
- [9] Yang Q J(杨起简). A study on relations between superweak luminescence of several plants under germination and their ability of resistance to the unfavorable conditions [J]. Prog Biochem

- Biophys(生物化学与生物物理进展), 1993, 20(4):315-317.(in Chinese)
- [10] Ohya T, Kurashige H, Okabe H, et al. Early detection of salt stress damage by biophotons in red bean seedling [J]. *Jpn J Appl Phys*, 2000, 39:3696-3700.
- [11] Li H S(李合生), Sun Q(孙群), Zhao S J(赵世杰), et al. *The Experimental Principles and Techniques of Plant Physiology and Biochemistry* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2001. 167-169.(in Chinese)
- [12] Rattemeyer, Popp F A, Nagl W. Evidence of photon from DNA in living systems [J]. *Naturwissenschaften*, 1981, 68:572-573.
- [13] Mao D Z(毛大璋), Shen X(沈恂), Zhang Y J(张月敬), et al. Effects of metabolic inhibitors on the ultraweak photon emission from germinating mung bean seeds [J]. *Acta Biophys Sin(生物物理学报)*, 1988, 4(2):116-120.(in Chinese)
- [14] Shu L Z(束良佐), Liu Y H(刘英慧). Effects of silicon on membrane lipid peroxidation and protective systems in the leaves of maize seedlings under salt stress [J]. *J Xiamen Univ(厦门大学学报)*, 2001, 40(6):1295-1300.(in Chinese)
- [15] Xing D(邢达), Tan S C(谭石慈), Tang Y H(唐永红), et al. Observation of biophoton emission from plants in the process of defense response [J]. *Chin Sci Bull(科学通报)*, 1999, 44(21): 2299-2302.(in Chinese)