

黄洪云. He-Ne 激光辐照小麦种子提高幼苗的抗寒性[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(3): 111-113.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.03.029

# He-Ne 激光辐照小麦种子提高幼苗的抗寒性

黄洪云

(唐山学院, 河北唐山 063000)

**摘要:**分别以 He-Ne 激光辐照剂量为 0.0(空白对照)、2.6、5.2、10.4、20.8、41.6 J/cm<sup>2</sup>, 辐照时间为 1、2、3 min 的条件处理小麦干种子。将处理组幼苗置于 4℃ 进行低温胁迫处理, 以研究小麦幼苗的相对电导率、可溶性蛋白含量、脯氨酸含量、丙二醛含量等各项抗寒性指标及 3 种保护酶(POD、SOD、CAT)活性的变化情况。结果表明, He-Ne 激光预处理小麦种子不仅可显著提高幼苗叶片的脯氨酸含量, 也可提升幼苗的抗低温胁迫能力。与对照组相比, 4℃ 低温胁迫条件下的处理组幼苗具有较高的过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性及可溶性蛋白含量, 而激光处理对幼苗叶片的相对电导率、MDA 含量均有所降低。小麦幼苗各抗寒性指标变化的最大幅值均出现在辐照剂量 20.8 J/cm<sup>2</sup>、辐照时间 2 min 的处理条件下, 可见此条件即为 He-Ne 激光辐照小麦种子提高幼苗抗寒性的最佳处理条件。

**关键词:**He-Ne; 激光; 小麦; 抗寒性指标

**中图分类号:**S512.101 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)03-0111-03

小麦是我国和世界的主要粮食作物, 几乎所有冬小麦的种植都有冷害、冻害发生, 成为小麦生产中最大的自然灾害之一。小麦的整个生长发育过程中均需要适宜的环境温度, 当外界气温、地温明显低于小麦的适宜温度时, 接近或超过其生理状态所能承受的极限最低温就会造成胁迫和伤害<sup>[1]</sup>。目前, 对小麦抗寒性的研究已有可溶性蛋白含量、丙二醛含量、酶的活性等许多度量指标。激光作为新的诱变源, 已有学者采用不同类型和波长的激光辐照作物种子, 成功培育出抗逆性强、高品质、高产的新作物品种, 并对其诱变机理进行了相关报道<sup>[2-4]</sup>。本研究采用不同剂量和时间组合的 He-Ne 激光处理小麦干种子, 测试小麦抗寒性方面的重要指标, 从而得到 He-Ne 激光辐照小麦种子提高幼苗抗寒性的最佳处理条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 种子处理

试验用小麦品种为“京东 8 号”, 挑选大小均匀的小麦种

子并随机分为 5 组, 其中 4 组进行 He-Ne 激光辐照处理, 1 组为空白对照, 每组 100 粒种子, 设 3 个重复。He-Ne 激光波长为 6323.8 nm, 激光辐照小麦种胚, 辐照距离为 10 cm, 激光功率密度为 128 mW/cm<sup>2</sup>, 辐照剂量分别为 2.6、5.2、10.4、20.8、41.6 J/cm<sup>2</sup>, 辐照时间分别为 1、2、3 min<sup>[5]</sup>。

将处理组、对照组的种子于 25℃ 下恒温培养 14 d, 使其浸种、发芽。待小麦生长到三叶期, 置于 4℃ 培养箱中低温胁迫处理 72 h, 取出处理组、对照组的小麦幼苗子叶, 对其相对电导率、可溶性蛋白含量、脯氨酸含量、丙二醛含量、酶活性进行测定。

### 1.2 测试项目及方法

采用电导法测定相对电导率<sup>[6]</sup>。当植物组织受到逆境伤害时, 质膜因功能受损或结构被破坏而透性增大, 细胞内的盐类、有机物将不同程度渗出, 从而引起组织浸泡液的电导率发生变化。通过测定外渗液电导率的变化, 可反映出质膜的受损程度和所测材料抗逆性的大小, 受损越重则外渗越多, 电导率值也越大。采用碘基水杨酸提取比色法测定脯氨酸含量; 采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定可溶性蛋白含量<sup>[7]</sup>; 采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量<sup>[8]</sup>; 采用 NBT 光化还原法测定 SOD 的活性<sup>[9]</sup>; 采用碘量法测定过氧化氢酶(CAT)活性<sup>[9]</sup>; 采用愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性<sup>[10]</sup>。以上

收稿日期: 2014-11-26

基金项目: 河北省唐山市科学技术研究与发展第二批指导计划(编号: 12120204h)。

作者简介: 黄洪云(1979—), 女, 河北唐山人, 硕士, 实验师, 主要从事生物物理研究。E-mail: lzyhhy0922@163.com。

[10] 韩柱强, 高国庆, 韦鹏霄, 等. 利用 SSR 标记分析栽培种花生多态性及亲缘关系(英文)[J]. 作物学报, 2004, 30(11): 1097-1101.

[11] 唐荣华, 庄伟建, 高国庆, 等. 珍珠豆型花生的简单序列重复(SSR)多态性[J]. 中国油料作物学报, 2004, 26(2): 20-26.

[12] 李海燕, 曹敏建, 蒋春姬. 引进花生品种比较试验[J]. 花生学报, 2007, 36(4): 29-32.

[13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 56-106.

[14] 齐维强. 基于积温的日光温室番茄生长发育规律研究[J]. 华

中农业大学学报, 2004, 35(2): 53-57.

[15] 刘军, 高丽红, 黄延楠. 日光温室两种茬口下番茄干物质及氮磷钾分配规律研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(9): 1347-1351.

[16] Ottaiano E, Camussi A. Phenotypic and genetic relationships between yield components in maize[J]. Euphytica, 1981, 30: 601-609.

[17] 郑福贵, 刘晓冰. 作物产量潜力的 5P 理论及其研究范畴[J]. 农业系统科学与综合研究, 2001, 17(3): 175-176, 179.

试验均取3次重复测量的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 激光处理对叶片相对电导率的影响

在冷胁迫条件下,不同激光处理剂量、处理时间下种子的相对电导率均呈先升高、后降低、再升高的变化曲线(图1)。激光处理时间分别为1、2、3 min的条件下,处理剂量为2.6、5.2 J/cm<sup>2</sup>时激光处理对电导率的影响呈正效应;处理剂量为10.4、20.8、41.6 J/cm<sup>2</sup>时则呈负效应。电导率最低点均出现在处理剂量为20.8 J/cm<sup>2</sup>时,其中处理时间为1、2、3 min时,电导率的最大下降幅度分别为12.3%、15.1%、13.7%。由此可见,在处理剂量为20.8 J/cm<sup>2</sup>、处理时间为2 min时,叶片相对电导率的下降幅度最大,且3个处理时间均达显著水平。

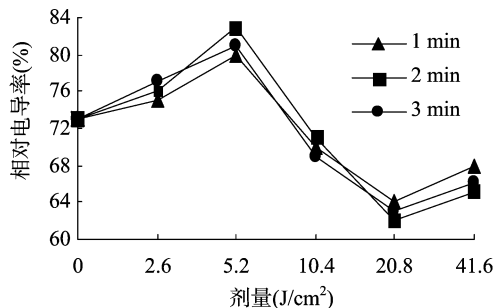


图1 不同激光处理剂量和时间对相对电导率的影响

### 2.2 激光处理对叶片可溶性蛋白含量的影响

不同处理剂量、处理时间下,叶片可溶性蛋白含量均呈相同变化趋势,且曲线的走向与图1相反(图2)。处理时间为1、2、3 min时,可溶性蛋白含量的增加幅度均在处理剂量为20.8 J/cm<sup>2</sup>时达最大,分别为5.8%、10.5%、4.5%。由此可见,处理剂量为20.8 J/cm<sup>2</sup>、处理时间为2 min时,叶片可溶性蛋白含量的增加幅度最大,并达显著水平,其他2个处理时间下均未达到显著水平。

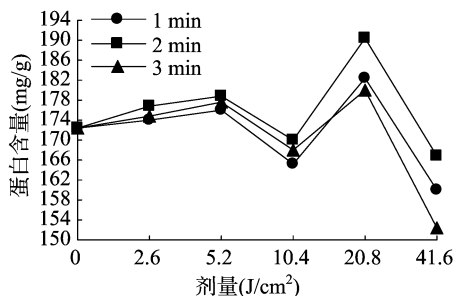


图2 不同激光处理剂量和时间对可溶性蛋白含量的影响

### 2.3 激光处理对叶片脯氨酸含量的影响

不同处理条件下,叶片的脯氨酸含量均呈先升高、后降低、再升高、再降低的振荡型变化曲线(图3)。在处理时间为1、2、3 min时,与对照组相比只有处理剂量为5.2 J/cm<sup>2</sup>时叶片的脯氨酸含量下降,其他处理剂量下均上升,上升幅度于处理剂量为20.8 J/cm<sup>2</sup>时达到最大,分别为17.9%、27.9%、13.9%,且均达到显著水平。

### 2.4 激光处理对叶片丙二醛含量的影响

不同处理条件对叶片丙二醛含量的影响均不同(图4)。

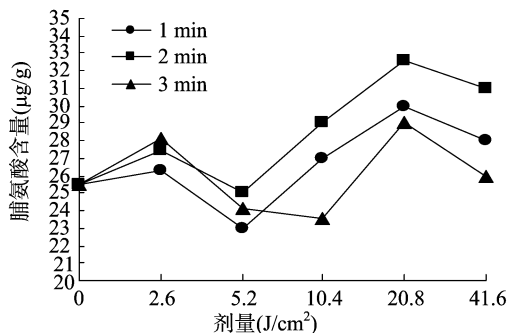


图3 不同激光处理剂量和时间对脯氨酸含量的影响

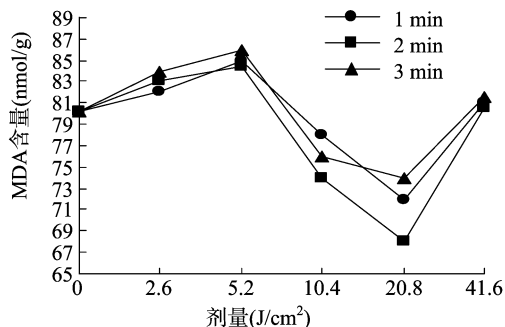


图4 不同激光处理剂量和时间对MDA含量的影响

在各处理时间下,处理剂量为2.6、5.2 J/cm<sup>2</sup>时叶片的MDA含量高于对照组,但未达到显著水平;处理剂量为10.4、20.8、41.6 J/cm<sup>2</sup>时MDA含量低于对照组,且各处理时间的最低点均出现在20.8 J/cm<sup>2</sup>剂量下。处理时间为1、2、3 min时最大降幅分别为10.3%、15.3%、7.8%,并于处理剂量为20.8 J/cm<sup>2</sup>、处理时间为1、2 min时与对照差异达到显著水平。

### 2.5 激光处理对叶片酶活性的影响

不同处理剂量、处理时间下,激光处理对SOD、POD、CAT 3种自由基清除酶活性影响的曲线均呈先减小、后增大、再减小的变化趋势(图5至图7)。不同激光辐照时间下,SOD、CAT活性的最低点均出现在剂量5.2 J/cm<sup>2</sup>;POD活性的最低点出现在剂量2.6 J/cm<sup>2</sup>。在各处理时间下,3种酶活性的最高点均出现在剂量20.8 J/cm<sup>2</sup>。处理时间为1、2、3 min时,SOD的增加幅度分别为39.0%、60.0%、30.0%;POD的增加幅度分别为79.5%、130.8%、53.8%;CAT的增加幅度分别为34.9%、46.8%、27.0%。处理剂量为20.8 J/cm<sup>2</sup>时,各处理时间下对3种酶活性的影响均达到显著水平,效果最显著的处理剂量、处理时间分别为20.8 J/cm<sup>2</sup>、2 min。

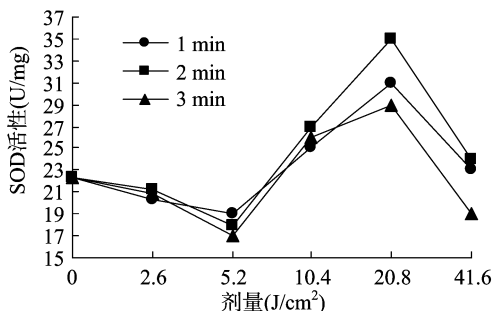


图5 不同激光处理剂量和时间对SOD活性的影响

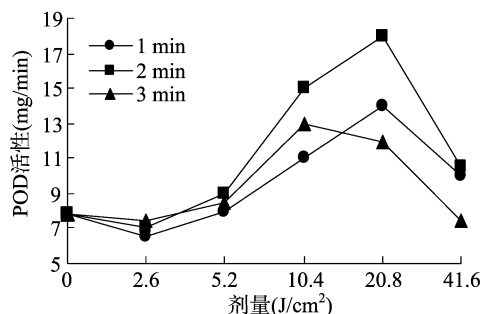


图6 不同激光处理剂量和时间对 POD 活性的影响

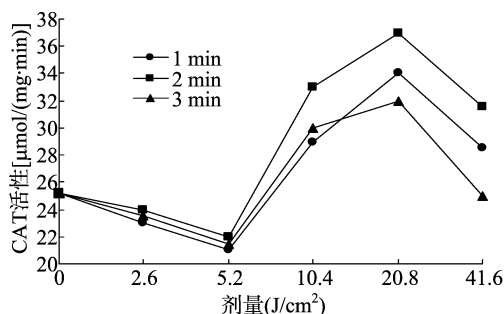


图7 不同激光处理剂量和时间对 CAT 活性的影响

### 3 结论与讨论

处理时间相同而处理剂量不同时,与植株抗寒性相关的各项指标的最大变化幅值均出现在剂量  $20.8 \text{ J/cm}^2$ ;处理剂量相同而处理时间不同时,低处理剂量下的处理时间越长,越利于各项生理生化指标的变化,因此低剂量时 3 min 的辐照效果较明显。由各组数据曲线可知,辐照时间 3 min 下随着辐照剂量的增加,与植物抗冷害相关的各项指标的变化趋势却不利于增强植物的抗逆性,相比之下最好的处理效果出现于 2 min 的处理时间。由此可见,He-Ne 激光辐照小麦种子提高植株抗寒性的最佳处理条件为:处理剂量  $20.8 \text{ J/cm}^2$ 、处理时间 2 min。

当小麦叶片受到低温胁迫后,细胞膜结构遭到破坏且透性增大,使细胞内的电解质外渗,导致小麦组织浸泡液的电导率增大。所测得的电导率越大,植物叶片的抗寒性越弱,植物组织所受到伤害越大;电导率越小,植物叶片的抗寒性越强,植物组织所受到伤害越小<sup>[11]</sup>。以适宜作用剂量、作用时间的 He-Ne 激光辐照小麦干种子,可降低小麦幼苗叶片浸出液的相对电导率,因为激光作用使细胞膜功能受损或结构被破坏,导致细胞膜透性增大,电解质外渗增强,从而使浸出液电导率增大;而剂量为  $20.8 \text{ J/cm}^2$  的激光辐照使浸出液电导率降低,是由于激光对细胞膜系统的修复作用<sup>[12]</sup>。可溶性蛋白含量与植物的抗寒能力关系密切,低温胁迫条件会使植物体内的可溶性蛋白含量降低,而一定剂量的 He-Ne 激光辐照可有效提高叶片的可溶性蛋白含量,从而提高有机体的抗寒能力。

植物处于冷害胁迫条件时,其体内的游离脯氨酸起着维持细胞结构、调节渗透压等保护作用,使植株表现出抗冷害

性。适宜作用剂量、作用时间的激光处理可使植株叶片积累更多的脯氨酸,使水势大幅降低,从而增强植物细胞的渗透调节能力,使植株的抗冷害能力更强。MDA 是膜脂氧化的最终产物,MDA 含量是衡量质膜受损程度的标准。He-Ne 激光可影响叶片细胞膜系统结构和功能的完整性,从而大幅降低叶片的 MDA 含量,并降低膜脂过氧化作用,以维护质膜的完整性,减轻低温条件对质膜的伤害,使植株具有更强的抗冷害能力。SOD、POD、CAT 是植物细胞防御系统中重要的保护酶类,可清除超氧物阴离子自由基,在冷害胁迫条件下,3 种酶的活性增加越多,植株的防冻害能力越强<sup>[11]</sup>。He-Ne 激光辐照一方面可直接影响植物蛋白、酶作用物复合体及其生物分子结构,从而促进酶的合成,以使酶活发生改变;另一方面可通过酶直接作用于细胞 DNA,使 DNA 发生改变转录将信息传给 RNA,增强转录活动,从而产生新的酶或其他蛋白质分子,以增强酶的活性和蛋白含量,提高植物的抗冷害性<sup>[13]</sup>。条件适宜的激光处理可使植株叶片 3 种保护酶的活性大幅提高,在处理剂量  $20.8 \text{ J/cm}^2$ 、处理时间 2 min 时, SOD、POD、CAT 酶活性的最大增幅分别为 60.0%、130.8%、46.8%。低温胁迫条件下,植物细胞的代谢失调会产生大量的活性氧自由基,而激光辐照作用使 3 种酶的活性大幅增强,从而提高植物体清除自由基的能力。因此,最佳处理条件的激光辐照能有效提高植株的抗寒性。

### 参考文献:

- [1] 孙宝启,郭天财,曹广才. 中国北方专用小麦[M]. 北京:气象出版社,2004:196-197.
- [2] 许梅芬. 激光对小麦的生物学效应的研究[J]. 应用激光,1995, 15(3):131-134.
- [3] 黄光明,刘承宜,刘颂豪. 激光剂量与其生物效应之间的关系[J]. 激光生物学报,1998,7(2):11-13.
- [4] 吴俊林. 弱激光辐照油松种子生物效应与生物细胞膜的渗透性[J]. 应用激光,2001,21(3):191-192,150.
- [5] 张 宾,段智英,杨 苗. He-Ne 激光辐照对小麦陈种子萌发影响的研究[J]. 天津农业科学,2011,17(2):110-112.
- [6] 郝再彬,苍 晶,徐 仲. 植物生理学实验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004:101-104.
- [7] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein synthesis in tortulia turalis[J]. Plant Physical,1991,95:648.
- [8] Health R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Arch Biochem Biophys,1968,125:189-198.
- [9] 田廷亮,扶惠华. 植物生长物质及其应用[M]. 北京:科学技术文献出版社,1995:291-296.
- [10] 朱广廉,钟海文,张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社,1990:175-178.
- [11] 张亚琳,衣 莹,林 凤,等. 低温胁迫对小麦族物种抗寒生理的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2012,43(4):406-410.
- [12] 武秀荣,安 毅. 激光对玉米陈种子萌发的生物效应[J]. 激光生物学报,2002,11(4):251-253.
- [13] 向 洋. 激光诱变及生物学作用机制研究[J]. 光电子·激光,1994,5(2):87-89,80.