

文章编号: 1006-4710(2015)04-0454-06

渗透胁迫下玉米幼苗根系超弱光子辐射的变化与分析

贺瑞瑞, 习岗, 刘锴, 赵燕燕

(西安理工大学 理学院, 陕西 西安 710054)

摘要: 为了揭示渗透胁迫下玉米幼苗根系超弱光子辐射的生物学意义, 研究了-0.1MPa的PEG-6000溶液形成的渗透胁迫下玉米幼苗根系自发光子辐射和外界光激发下的延迟光子辐射。结果表明, 随着玉米幼苗的生长, 根系自发光子辐射呈现出波动的趋势, 渗透胁迫使波动的幅度减小, 根系鲜重和自发光子辐射的变化呈现出明显的正相关。研究还发现, 玉米幼苗根系的初始光子数 I_0 、衰减参数 β 和相干时间 τ 这几个延迟光子辐射动力学参数也都随着玉米幼苗根系的生长呈现出波动的变化趋势。机理分析表明, 根系自发光子辐射可以作为根系细胞呼吸代谢强度的信号, 初始光子数 I_0 的大小表征了根系细胞能态水平的高低, 衰减参数 β 的变化反映了根系细胞中功能分子之间相互作用的变化。

关键词: 玉米; 幼苗根系; 渗透胁迫; 光子辐射; 细胞代谢

中图分类号: Q632

文献标志码: A

The change and analysis of ultra-weak photon emission in maize seedling root system under osmotic stress

HE Ruirui, XI Gang, LIU Kai, ZHAO Yanyan

(Faculty of Science, Xi'an University of Technology, Xi'an 710054, China)

Abstract: In order to reveal the biological significance of ultra-weak photon emission of maize seedling system under osmotic stress, the maize seedling system spontaneous photon emission formed under osmotic stress with -0.1MPa PEG-6000 solution and the delayed photon emission by the outside light exciting are studied. The results indicate that with the maize seedling growth, the root system spontaneous photon emission appears to be fluctuating trend, and osmotic stress can make the fluctuation amplitude reduced, and that the root system fresh weight appears to be in apparent positive correlation with the changes in spontaneous photon emission. It is found via researches that the initial photon number I_0 , decay factor β , and coherence time τ of the maize seedling system and several delayed biophoton emission dynamic parameters appear to have fluctuating change trend with the growth of maize seedling root system. The mechanism analysis indicates that spontaneous photon emission of seedling root can be a signal of cell respiration intensity, and the initial photon number I_0 might represent the cellular energy state level of root, the decay factor β could reflect the change of interactions between functional molecules of root cells.

Key words: maize; seedling root system; osmotic stress; biophoton emission; cellular metabolism

玉米幼苗根系的超弱光子辐射包括根系在暗中的自发光子辐射和外界光诱导下的延迟光子辐射, 这种来自于细胞生命活动的发光是生命体重要的状

态信息, 其有可能提供一种无损的光学检测活体技术, 用来分析和判断细胞活动和状态^[1]。目前, 关于植物叶片超弱光子辐射的研究有很多, 主要涉及植

收稿日期: 2015-04-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31471412, 51277151); 西安理工大学科技创新计划资助项目(2013CX019)。

作者简介: 贺瑞瑞, 女, 硕士生, 研究方向为生物光学与生物电磁学。E-mail: hcruiruijy@163.com。

通讯作者: 习岗, 男, 教授, 研究方向为生物光学与生物电磁学。E-mail: xig@xaut.edu.cn。

物对某些胁迫如渗透、电磁场等^[2-9]的反应和对叶片衰老的评价^[10],而对根系的研究较少。事实上,在植物生长过程中,根系细胞十分活跃,其光子辐射比叶片要强得多,研究根系超弱光子辐射规律及其所隐含的生命信息对于了解根系细胞生理代谢及其功能状态的变化具有重要意义。

渗透胁迫是影响作物生长的主要因素之一,干旱、盐碱和冷害都会导致作物水分亏缺、细胞失水,造成渗透胁迫^[11]。玉米对干旱具有非常敏感的反应且为主要的粮食作物,因此,本文研究和分析了渗透胁迫下玉米幼苗根系超弱光子辐射的变化规律,为从活体细胞层面上揭示渗透胁迫下植物根系细胞代谢、功能状态的变化以及植物的抗逆机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料培养与渗透胁迫

以玉米种子(郑单 958 号)作为实验材料。选取长势均匀一致的饱满玉米种子分为两组,用蒸馏水清洗表面,用 HgCl_2 (体积分数为 0.2%) 消毒,再以蒸馏水清洗数遍,放置在培养皿中,加入一定量的蒸馏水,置于 PRX-1000A 型人工培养箱中,在温度、湿度和光照分别为 35°C 、50% 和 3 000Lx 的条件下萌发 48 h。挑选发芽较好的玉米种子分别作为处理组和对照组,每组 200 粒。待所选玉米种子在恒温箱中生长 3 d 后,参照文献^[6]的方法,去除对照组和处理组中的水分,同时处理组中加入渗透势为 -0.1 MPa 的 PEG-6000 溶液,在渗透胁迫后的不同时间取样测量。

1.2 根系鲜质量的测量

从对照组和处理组中各选取长势均匀的玉米幼苗 15 株,分为三组,每组 5 株。剪下根系,用滤纸吸干根系表面液体,用电子天平测量根系质量,测量后分别取平均,并做统计分析。

1.3 自发光子辐射的测量

根系自发光子辐射的测量参照文献^[6],测量时分别选取处理组和对照组中长势均匀的玉米幼苗各 15 株,分为 3 组,剪取根系部分,用滤纸吸干根系表面残留的液体,放入仪器暗室暗处理 5 min,测定各样品玉米幼苗根系的自发光子辐射。每次测量前,均先测定暗室的木底,测量数据减去木底即为样品的超弱光子辐射。每个样品的测量均设置 3 个重复,取平均。

1.4 延迟光子辐射的测量

延迟光子辐射的测量系统和测量原理见文献

[6]。测量时分别选取处理组和对照组的玉米幼苗各 15 株,分为 3 组,实验时剪取根系部分,用滤纸吸干根系表面液体后放入暗室中,用 LED 辐照 30 s 后测量实验样品的延迟光子辐射,每组样品根系重复测量 3 次,取平均。

1.5 统计分析

测量结果的差异显著性采用 SPSS 软件进行分析, $P<0.05$ 为显著水平, $P<0.01$ 为极显著水平。

2 结果与分析

2.1 渗透胁迫下玉米幼苗根系鲜质量的变化

根系鲜质量可以反映根系生长状况和植物的后续生长潜力。图 1 为未经渗透胁迫的对照组与经过渗透胁迫的处理组的玉米幼苗根系鲜质量的变化。由图 1 可见,对照组玉米幼苗根系鲜质量随着幼苗的生长呈现出先增加,再小幅度下降,后增加的变化趋势。与对照组相比较,处理组鲜质量的变化具有相同的趋势,但是,处理组峰值出现的时间比对照组要早,增长幅度一直低于对照组。在胁迫后 2 d、3 d、4 d 和 5 d 时,对照组鲜质量比处理组分别增加了 17.4%、49.6%、33.6% 和 17.2%,差异均达到极显著水平($P<0.01$),表明 -0.1 MPa 的 PEG-6000 溶液形成的渗透胁迫对玉米幼苗根系生长有抑制作用。

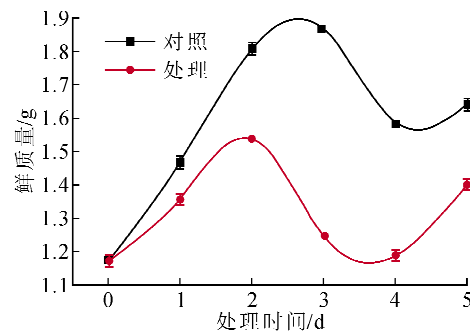


图 1 渗透胁迫对玉米幼苗根系鲜质量的影响
Fig. 1 Effect of osmotic stress on fresh quality of maize seedling roots

2.2 渗透胁迫下玉米幼苗根系自发光子辐射的变化

渗透胁迫对玉米幼苗根系自发光子辐射的影响见图 2。从图 2 可见,未经胁迫处理时(0 d),对照组与处理组的自发光子辐射没有明显差别。在胁迫开始后,随着胁迫时间的推移,对照组的自发光子辐射呈现波动的变化趋势,在 2 d 附近达到一个峰值,渗透胁迫下玉米幼苗根系的自发光子辐射的变化趋势与对照组相似,但是强度比对照组要低。在胁迫后 2 d 和 3 d 时,对照组的光子辐射强度比处理组分别

高 13.2%($P < 0.05$)和 20.4%($P < 0.01$)。比较图 1 和图 2 容易看出,在渗透胁迫下,对照组和处理组的鲜质量和自发光子辐射的变化呈现出明显的正相关,对照组相关方程为 $y = 0.005\ 01x - 1.593\ 22$,处理组相关方程为 $y = 0.005\ 5x - 1.813\ 57$,相关系数分别为 0.913 15 和 0.937 57。

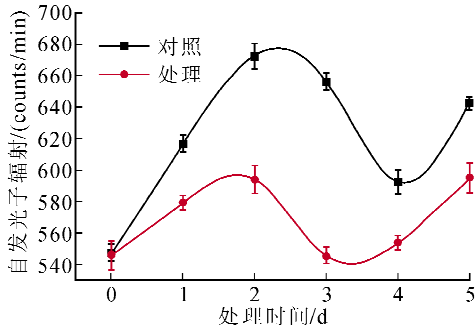


图 2 渗透胁迫对玉米幼苗根系自发光子辐射的影响
Fig. 2 Effect of osmotic stress on spontaneous photon emission of maize seedling roots

2.3 渗透胁迫对玉米幼苗根系延迟光子辐射的影响

图 3 为对照组和处理组玉米幼苗根系的延迟光子辐射。由图 3 可见,玉米幼苗根系细胞在光照停止后衰减过程持续了几十秒的时间。

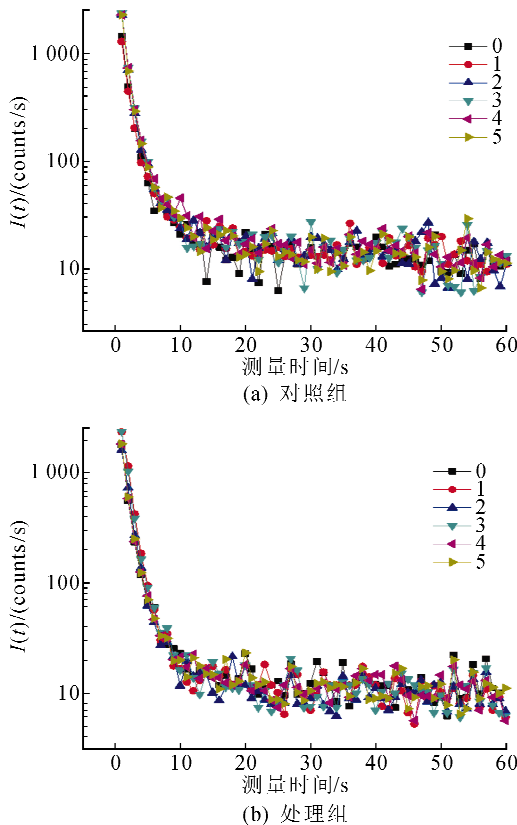


图 3 玉米幼苗根系延迟光子辐射的变化
Fig. 3 Changes of the delayed biophoton emission of maize seedling roots

2.4 玉米幼苗根系延迟光子辐射动力学分析

由于延迟光子辐射是细胞中处于激发态的功能分子之间的合作效应,这些功能分子之间通过一种非线性耦合方式关联起来,形成了一个具有高度相干性的整体。因此,假定处于激发态的功能分子数 $n(t)$ 服从下述非线性动力学方程^[12]:

$$\frac{dn(t)}{dt} = -\mu n^\gamma(t) \quad (1)$$

式中, $\mu (> 0)$ 和 $\gamma (> 1)$ 是两个常数, t 为弛豫时间。由于延迟辐射强度 $I(t) \propto -dn(t)/dt$, 得到辐射强度 $I(t)$ 为:

$$I(t) = \frac{I_0}{\left(1 + \frac{t}{\tau}\right)^\beta} \quad (2)$$

其中:

$$I_0 = \mu n_0^\gamma \quad (3)$$

$$\beta = \frac{\gamma}{\gamma - 1} \quad (4)$$

$$\tau = \frac{\beta - 1}{\mu n_0^{\gamma - 1}} \quad (5)$$

式中, n_0 为激发光照停止 ($t = 0$) 时,处于激发态的功能分子数。

考虑到时间趋于无穷大时延迟光子辐射趋近于自发光子辐射,将式(2)修改为:

$$I(t) = I_{SL} + \frac{I_0}{\left(1 + \frac{t}{\tau}\right)^\beta} \quad (6)$$

式中, I_0 为初始光子数 (counts/s), τ 为相干时间 (s), β 为衰减参数 (无量纲的纯数), I_{SL} 为单位时间的自发光子辐射, I_0, τ, β 为拟合参数。

将图 3 中各曲线按照式(6)拟合,结果列入表 1 和表 2。由表 1 和表 2 可见,各曲线的拟合优度 R^2 均大于 0.99,说明表 1 和表 2 中参数 I_0, τ 和 β 决定的式(1)准确刻画了图 3 中各延迟光子辐射的动力学特征。

2.5 玉米幼苗根系延迟光子辐射动力学参数的变化

表 1 和表 2 表示了玉米幼苗根系延迟光子辐射的变化,其中延迟光子辐射动力学参数初始光子数 I_0 、衰减参数 β 和相干时间 τ 的变化分别用图 4、图 5 和图 6 表示。

由图 4 可见,随着玉米幼苗的生长,对照组玉米幼苗根系延迟光子辐射的初始光子数 I_0 呈现出整体上平稳的波动状态,处理组在胁迫 1 d 后几乎呈现单调的下降状态,在胁迫 3 d、4 d 和 5 d 时,对照组的 I_0 比处理组分别高出了 22.8%、26.2% 和 27.8%。

表1 对照组玉米幼苗根系延迟光子辐射动力学参数

Tab.1 The kinetic parameters of delayed biophoton emission in root cells of maize seedlings about control group

动力学参数	胁迫时间/d					
	0	1	2	3	4	5
I_0 /(counts/s)	14 404.23	17 082.17	15 052.14	17 320.78	14 824.48	14 785.43
β	2.251 94	2.984 89	3.230 76	3.054 94	3.171 43	2.974 39
τ /s	1.407 93	1.643 75	1.542 90	1.278 76	1.536 65	1.414 56
R^2	99.945	99.858	99.922	99.946	99.925	99.955

表2 处理组玉米幼苗根系延迟光子辐射动力学参数

Tab.2 The kinetic parameters of delayed biophoton emission in root cells of maize seedlings about treated group

动力学参数	胁迫时间/d					
	0	1	2	3	4	5
I_0 /(counts/s)	14 375.28	16 844.96	14 342.51	14 103.17	11 742.97	11 571.82
β	2.278 17	2.730 97	2.850 48	2.497 10	2.734 03	2.522 89
τ /s	1.408 47	1.528 50	1.382 60	1.168 65	1.309 21	1.214 56
R^2	99.951	99.980	99.971	99.951	99.942	99.911

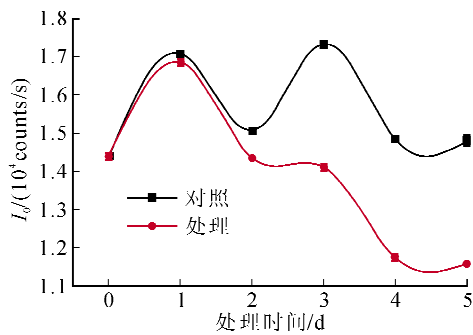


图4 渗透胁迫对延迟光子辐射初始光子数 I_0 的影响
Fig.4 Effect of osmotic stress on initial photon number I_0 of delayed biophoton emission

图5为渗透胁迫对玉米幼苗根系延迟光子辐射衰减参数 β 的影响。图5显示,在整个胁迫过程中,对照组与处理组的衰减参数 β 均呈现出波动变化,但是,对照组的 β 值一直大于处理组。在胁迫2 d、3 d、4 d和5 d时,对照组的 β 值分别比处理组高出了

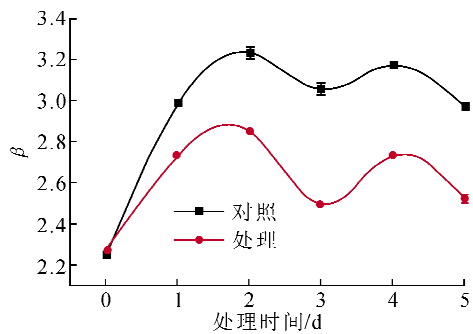


图5 渗透胁迫对延迟光子辐射衰减参数 β 的影响
Fig.5 Effect of osmotic stress on decay factor β of delayed biophoton emission

13.3%、22.3%、16.0%和17.9%。

图6为在胁迫过程中对照组与处理组延迟光子辐射相干时间 τ 的变化趋势。由图6可见,在胁迫过程中,对照组与处理组延迟光子辐射相干时间 τ 也呈现出波动的变化趋势,但是,对照组的 τ 值一直大于处理组,在胁迫2 d、3 d、4 d和5 d时,对照组的 τ 值比处理组分别增大了11.6%、9.4%、17.4%和16.5%。

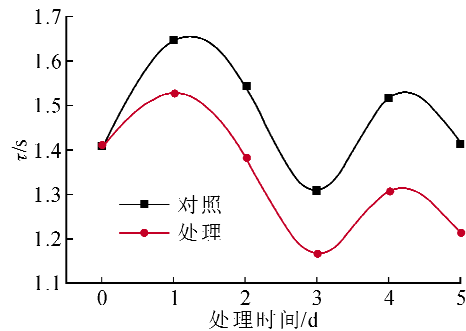


图6 渗透胁迫对延迟光子辐射相干时间 τ 的影响
Fig.6 Effect of osmotic stress on coherence time τ of delayed biophoton emission

3 讨论

有证据表明,根系自发光子辐射主要与根系细胞的呼吸代谢有关^[13]。线粒体呼吸链的电子漏程度以及由呼吸代谢控制的能量转换和代谢活性都会直接影响自发光子辐射强度的变化^[14]。因此,根系自发光子辐射可以作为根系细胞呼吸代谢强度的信号。在本研究中发现,随着玉米幼苗的生长,对照组

玉米幼苗根系的自发光子辐射呈现出逐渐增高的波动性变化趋势(见图2),表明根系细胞的呼吸代谢强度是波动性增长的。由于呼吸代谢直接影响植物体内各种物质的合成与转化^[15],所以呼吸的增强会带来鲜质量的增加,而渗透胁迫时间的延长会导致根系细胞氧化磷酸化解偶联和呼吸速率的下降^[16],造成物质合成的减少,这就解释了图1和图2中根系鲜质量和自发光子辐射呈现正相关的原因。

在延迟光子辐射中,初始光子数 I_0 是激发光停止时的辐射强度,其与激发光强度、样品性质和样品量有关。由式(3)可见,在特定的非饱和光照射下, I_0 只与细胞中处于激发态的功能分子数量有关, I_0 越大,表明系统中处于活性状态的功能分子数越多,系统潜在的能态水平越高。图4表明,随着玉米幼苗的生长,根系的初始光子数 I_0 呈现出波动性的变化,由此推测根系细胞系统的能态水平发生了波动性变化。渗透胁迫2 d以后根系初始光子数 I_0 迅速下降的现象可能与2 d以后根系鲜质量的下降和根系细胞中处于激发态的功能分子数的减小有关。胁迫3 d以后,对照组和处理组根系鲜质量的差异逐渐减小(见图1),但是初始光子数的差异加大(见图4),说明 I_0 的迅速下降是根系细胞中处于激发态的功能分子数减少的缘故。由此看来,持续的渗透胁迫会使根系细胞中处于激发态的功能分子数减少,细胞能态水平降低。

由式(5)可见,相干时间 τ 既受到 β 的影响,还受到处于激发态的初始功能分子数 n_0 的调制。式(6)中的指数项衰减参数 β 决定着延迟光子辐射衰减的快慢,由式(4)可知,其只与样品的性质有关,当处于激发态的功能分子之间的相互作用越大时, β 值越大,延迟光子辐射衰减的愈慢,因此, β 可以表征功能分子之间相互作用的大小^[17]。在图5中,对照组玉米幼苗根系衰减参数 β 随着玉米幼苗的生长呈现出波动的变化,在2 d和4 d附近出现了两个峰,表明此时细胞功能分子之间的相互作用较大。在渗透胁迫下,处理组 β 值波动的幅度比对照组大,其值比对照组要小,说明渗透胁迫下细胞自组织调节能力发生了较大的变化,功能分子之间的相互作用减小了。

至于根系延迟光子辐射来源的详细机理,目前未见研究报道。但是,由于叶片的延迟光子辐射来自于叶片光合细胞中发生的光合电子传递过程^[18],当光照停止时,处于光合电子传递链不同部位的电子回流到光合反应中心 PS II,产生激发态 PS II,后者退激时产生延迟发光^[19]。电子传递链上的各组

分性质不同,贮存和释放电子的能力有所不同,从而电子传递链不同组分回流到 PS II 的时间不同,造成了延迟发光的长时间衰减现象。在根系细胞线粒体中存在着与光合电子传递链类似的呼吸电子传递系统,由此推测根系延迟光子辐射有可能来自于根系细胞呼吸电子传递链上的电子回流,当然,这一推测还有待证实。

4 结 论

1) 随着玉米幼苗的生长,根系自发光子辐射呈现出波动的变化趋势;在-0.1 MPa 的 PEG-6000 溶液形成的渗透胁迫下,玉米幼苗根系的自发光子辐射的变化趋势与对照组相似,但是,强度比对照组要低;根系鲜质量和自发光子辐射的变化呈现出明显的正相关。机理分析表明,根系自发光子辐射可以作为根系细胞呼吸代谢强度的信号。

2) 玉米幼苗根系延迟光子辐射的初始光子数 I_0 、衰减参数 β 和相干时间 τ 都随着根系的生长呈现出波动的变化;在-0.1 MPa 的渗透胁迫1 d后,初始光子数 I_0 单调下降,衰减参数 β 和相干时间 τ 仍然呈现波动的状态,但是数值明显降低。根据 I_0 和 β 的生物学意义推测,持续的渗透胁迫使得根系细胞中处于激发态的功能分子数减少,细胞能态水平降低,功能分子之间的相互作用减小。

参考文献:

- [1] Chang J J. Physical properties of biophotons and their biological functions[J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2008, 46(5): 371-377.
- [2] Iyozumi H, Kato K, Makino T. Spectral shift of ultra-weak photon emission from sweet potato during a defense response[J]. Photochemistry and Photobiology, 2002, 75(3): 322-325.
- [3] Mansfield J W. Biophoton distress flares signal the onset of the hypersensitive reaction[J]. Trends in Plant Science, 2005, 10(7): 307-309.
- [4] Khatoon A, Rehman S, Hiraga S, et al. Organ-specific proteomics analysis for identification of response mechanism in soybean seedlings under flooding stress[J]. Journal of Proteomics, 2012, 75(18): 5706-5723.
- [5] 赵燕燕, 习岗, 刘镭, 等. NaN_3 对玉米萌发过程中超弱光子辐射的影响[J]. 光子学报, 2015, 44(4): 199-204. Zhao Yanyan, Xi Gang, Liu Kai, et al. Effect of NaN_3 on ultra-weak photo emission during germination of corn [J]. Acta Photonica Sinica, 2015, 44(4): 199-204.
- [6] 高宇, 习岗, 刘镭, 等. 基于生物延迟发光评价玉米萌发期抗旱性的方法[J]. 发光学报, 2014, 35(2): 243-

250.
Gao Yu, Xi Gang, Liu Kai, et al. Evaluation method of maize drought resistance during germination based on delayed luminescence[J]. Chinese Journal of Luminescence, 2014, 35(2): 243-250.
- [7] 习岗, 赵燕燕, 刘锴, 等. NaCl 胁迫下玉米种子萌发过程中超弱光子辐射的变化[J]. 农业工程学报, 2015, 31(11): 308-314.
Xi Gang, Zhao Yanyan, Liu Kai, et al. Change of ultraweak photo emission of corn during germination under NaCl stress[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(11): 308-314.
- [8] Rastogi A, Pospisil P. Ultra-weak photon emission as a non-invasive tool for the measurement of oxidative stress induced by UVA radiation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2013, 123(1): 59-64.
- [9] 习岗, 贺瑞瑞, 刘锴, 等. 脉冲电场对渗透胁迫下玉米幼苗自发光子辐射的影响[J]. 农业工程学报, 2015, 31(3): 319-324.
Xi Gang, He Ruirui, Liu Kai, et al. Effect of pulsed electric field on spontaneous photon emission of corn seedlings under osmotic stress [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(3): 319-324.
- [10] 习岗, 贺瑞瑞, 刘锴, 等. 应用超弱光子辐射评价菠菜叶片衰老方法可行性[J]. 农业工程学报, 2014, 30(17): 268-275.
Xi Gang, He Ruirui, Liu Kai, et al. Evaluation method of spinach leaf senescence with biological ultraweak photon emission [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2014, 30(17): 268-275.
- [11] 邢旭光, 史文娟, 王全九. 不同覆膜开孔率条件棉花苗期土壤水盐分布特征及出苗率分析[J]. 西安理工大学学报, 2014, 30(1): 96-101,107.
Xing Xuguang, Shi Wenjuan, Wang Quanjiu. Analysis on laws of soil water and salt distribution characteristics and cotton emergence rate in seeding stage under different opening ratios[J]. Journal of Xi'an University of Technology, 2014, 30(1): 96-101,107.
- [12] 顾樵. 生物光子学 [M]. 第二版. 北京: 科学出版社, 2012:30.
- [13] Komatsu S, Kamal A H M, Makino T, et al. Ultra-weak photon emission and proteomics analyses in soybean under abiotic stress[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2014, 1844(7): 1208-1218.
- [14] 张新华, 杨洪强. 植物叶绿体和线粒体的超微弱发光[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(1): 111-114.
Zhang Xinhua, Yang Hongqiang. Ultraweak bioluminescence of chloroplast and mitochondria in plants[J]. Plant Physiology Communications, 2004, 40(1): 111-114.
- [15] 李志霞, 秦嗣军, 吕德国, 等. 植物根系呼吸代谢及影响根系呼吸的环境因子研究进展[J]. 植物生理学报, 2011, 47(10): 957-966.
Li Zhixia, Qin Sijun, Lü Deyu, et al. Research progress in root respiratory metabolism of plant and the environmental influencing factors [J]. Plant Physiology Journal, 2011, 47(10): 957-966.
- [16] Kaul R. Effect of water stress on respiration of wheat [J]. Canadian Journal of Botany, 1966, 44(5): 623-632.
- [17] 习岗, 卢洪, 李少华. H_2O_2 诱导的植物叶片光子辐射的变化及意义[J]. 光子学报, 2009, 38(12): 3250-3255.
Xi Gang, Lu Hong, Li Shaohua. Changes of biophoton emission of plant leaf induced by H_2O_2 and its significance[J]. Acta Photonica Sinica, 2009, 38(12): 3250-3255.
- [18] 杨程, 李鹏民, 张子山, 等. 叶绿素延迟荧光的发生及其在光合作用研究中的应用[J]. 植物生理学报, 2013, 49(12): 1277-1285.
Yang Cheng, Li Pengmin, Zhang Zishan, et al. Arising of chlorophyll delayed fluorescence and its application in photosynthesis research [J]. Plant Physiology Journal, 2013, 49(12): 1277-1285.
- [19] Wang Chenglong, Xing Da, Chen Qun. A novel method for measuring photosynthesis using delayed fluorescence of chloroplast[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2004, 20(3): 454-459.

(责任编辑 周蓓)