

He-Ne 激光预处理对镉胁迫下 小麦幼苗生理特性的影响

李金亭, 郭晓双, 张元昊, 葛国栋, 王燕培, 侯 贇, 彭娟娟

(河南师范大学 生命科学院, 河南新乡 453007)

摘 要: 用 He-Ne 激光(波长 632.8 nm, 辐射剂量 5.43 mW/mm²)对萌动小麦种子辐照 5 min, 待幼苗长至一叶一心时, 用 150 μmol/L CdCl₂ 溶液进行胁迫处理, 研究 He-Ne 激光预处理对镉(Cd²⁺)胁迫下小麦幼苗生长发育和生理特性的影响。结果显示: He-Ne 激光预处理能显著降低 Cd²⁺ 胁迫下小麦幼苗中丙二醛(MDA)、过氧化氢(H₂O₂)含量及超氧自由基(O₂⁻)产生速率, 显著提高幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸氧化酶(APX)活性, 并使叶片抗氧化物质谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(AsA)含量以及幼苗株高、根长和干重增加。研究表明, He-Ne 激光预处理可有效缓解镉胁迫对小麦幼苗生长的抑制作用, 并通过促进其幼苗中酶类和非酶类抗氧化剂的产生, 有效减少镉胁迫产生的脂质过氧化物含量, 从而提高其耐镉性。

关键词: He-Ne 激光; 小麦幼苗; 镉胁迫; 生理特性

中图分类号: Q945.79

文献标志码: A

Influence of He-Ne Laser Pretreatment on Physiological Characteristics in Wheat Seedlings under Cadmium Stress

LI Jintong, GUO Xiaoshuang, ZHANG Yuanhao, GE Guodong,

WANG Yanpei, HOU Yun, PENG Juanjuan

(College of Life Science, Henan Normal University, Xinxing, Henan 453007, China)

Abstract: The aim of the study is to investigate the effect of He-Ne laser pretreatment of wheat seeds on the seedlings resistance to cadmium stress. The results showed that 150 μmol/L Cd treatment significantly reduced plant height, root length, shoot dry weight, root dry weight, ascorbate acid (AsA) and glutathione (GSH) contents, the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), enhanced the contents of malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂) and the rate of superoxide radical (O₂⁻) generation in the wheat seedlings when compared with the control. However, seeds with He-Ne laser pretreatment for 5 min conferred tolerance to cadmium stress in wheat seedlings by decreasing the contents of MDA and H₂O₂, the rate of O₂⁻ generation and increasing the activities of SOD, POD, CAT, APX and AsA, GSH contents. These results suggest that those changes in MDA, O₂⁻, H₂O₂, anti-oxidative enzymes, and antioxidative compounds are responsible for the enhance cadmium stress resistance observed in the experiments. The results also show that the laser have a positive physiological effect on the growth of cadmium stressed seedlings.

Key words: He-Ne laser; wheat seedlings; cadmium stress; physiological characteristics

收稿日期: 2013-09-09; 修改稿收到日期: 2013-10-17

基金项目: 河南省基础与前沿项目(122300410430, 132300410214); 河南省生物化学与分子生物学重点学科资助

作者简介: 李金亭(1962—), 女, 博士, 教授, 主要从事植物学研究。E-mail: Ljt66882004@126.com

镉(Cd)是污染土壤的重金属元素之一,对作物生长发育和人类健康具有重要影响。土壤中过量的 Cd 极易被作物吸收并进入食物链,从而对人类健康造成极大的伤害^[1]。Cd 可对植物细胞产生毒害作用,抑制植物的光合作用和蒸腾作用,干扰植物正常的新陈代谢,导致植物产生病变、衰老,甚至死亡^[2-3]。因此,研究植物 Cd 毒害的保护措施对农业可持续发展具有重要意义。

激光作为一种技术已在作物育种、生物刺激效应等方面研究和应用,如适当剂量的 He-Ne 和 CO₂ 激光辐射可以促进植物的生长和新陈代谢^[4-5],增强酶的活性及植物的抗氧化性^[6],提高种子的萌发率以及叶绿素含量等^[7-9]。He-Ne 激光是一种较常用的低功率激光,对有机体有穿透性,在经过组织过程中不断地散射和衰减,可影响到细胞的功能,如促进蛋白的合成及运输,提高膜电位和增加 ATP 的合成等^[10]。已有研究表明,He-Ne 激光处理可保护板蓝根幼苗免受 UV-B 辐射损伤^[11],修复小麦幼苗由于渗透胁迫所造成的抗氧化系统的损伤,降低超氧自由基(O₂⁻)产生的速率,提高 POD 活性和 AsA、GSH 的含量,进而提高其抗逆性^[12]。但适当剂量的激光对植物重金属镉胁迫损伤修复作用的研究国内外尚鲜见有报道。为此,本试验以小麦为受试材料,研究 He-Ne 激光预处理对重金属镉胁迫下小麦幼苗生长发育及生理特性的影响,探讨 He-Ne 激光预处理在增强植物抵抗镉胁迫方面的效应及其生理机制,为寻求提高植物耐镉性措施提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料培养及处理

供试小麦品种为‘豫麦 49-198’(*Triticum aestivum* L. cv. ‘yumai 49-198’),种子由河南省农业科学院提供。选取籽粒饱满、大小均匀的种子,经 0.1% HgCl₂ 消毒 3 min,用蒸馏水反复冲洗 3 次,25 °C 浸种暗催芽,待种子露白后,选择露白一致的种子激光预处理。He-Ne 激光仪(南京激光仪器厂生产)的波长为 632.8 nm,光斑直径为 10 mm,辐射剂量为 5.43 mW/mm²,距离为 36 cm,直射已萌动的小麦种子胚,辐射时间为 5 min,然后播种在铺有 2 层滤纸、直径为 18 cm 的培养皿中,80 粒/皿,每处理 5 次重复,置(25±1) °C 人工气候室内,用 Hoagland’s 营养液进行水培,12 h/d 光照,相对湿度为 70%。待幼苗长至一叶一心时(7 d),根据我们前期的实验结果,用 150 μmol/L CdCl₂ 溶液进行胁迫处

理。实验共设置 4 组:对照(CK)、激光处理(L)、镉胁迫(Cd)、激光和镉胁迫复合处理(L+Cd)。在镉胁迫的第 4 天分别取各处理小麦幼苗叶片和根测定各项指标。

1.2 测定指标及方法

小麦叶片丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)、抗坏血酸(AsA)的含量、O₂⁻产生速率及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等保护酶活性根据 Li 等^[13]的方法测定。

株高和根长每指标随机抽 5 株用刻度尺进行测量。将植株鲜样品材料置 105 °C 烘箱中杀青 10 min,转至 80 °C 烘干至恒重,称取干重(g)。

1.3 数据分析

生理指标测定均重复 3 次,用新复极差(Duncan’s)检验。数据处理用 SPSS 和 Excel 软件完成。

2 结果与分析

2.1 He-Ne 激光预处理对镉胁迫下小麦幼苗生长的影响

由图 1 可知,与对照(CK)相比,经 150 μmol/L Cd²⁺胁迫处理(Cd)4 d 后的小麦幼苗,其株高、根长、地上干重和根干重分别显著下降 9.36%、16.10%、13.56%和 10.89%,而 He-Ne 激光预处理 5 min 可显著提高镉胁迫下(L+Cd)小麦幼苗的株高、根长、地上干重及根的干重,并且单独的激光预处理(L)也能显著促进小麦幼苗的株高、根长、地上干重及根的干重。可见,适宜剂量 He-Ne 激光预处理可显著促进小麦幼苗的生长,有效缓解 Cd²⁺胁迫对小麦幼苗生长受到的抑制。

2.2 He-Ne 激光预处理对镉胁迫下小麦叶片 MDA、H₂O₂ 含量和 O₂⁻产生速率的影响

由图 2 可知,与对照(CK)相比,镉胁迫(Cd)下小麦幼苗叶片的 MDA、H₂O₂ 含量及 O₂⁻产生速率分别显著增加 31.25%、112.29%和 21.43%(*P* < 0.05);而种子经过 He-Ne 激光预处理 5 min 可使镉胁迫下(L+Cd)小麦叶片 MDA、H₂O₂ 含量及 O₂⁻产生速率分别比 Cd 组显著降低 14.29%、12.71%和 24.18%(*P* < 0.05),其中的 O₂⁻产生速率甚至恢复到对照水平,而单独的激光预处理(L)对小麦幼苗脂质过氧化和 O₂⁻产生速率没有显著影响。这说明 He-Ne 激光预处理可显著减轻镉胁迫对小麦幼苗造成的氧化伤害。

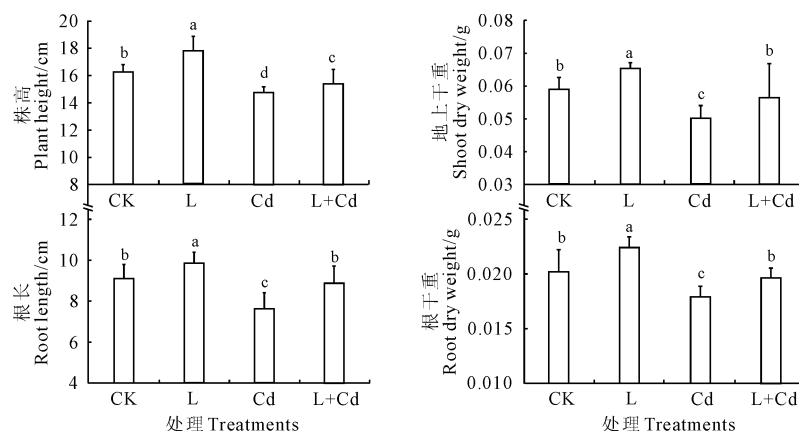


图 1 He-Ne 激光预处理对镉胁迫下小麦幼苗生长的影响

CK. 空白对照; L. He-Ne 激光预处理; Cd. 镉胁迫处理; L+Cd. He-Ne 激光预处理后进行镉胁迫处理;

不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平存在显著性差异(n=5);下同

Fig. 1 Effect of He-Ne laser pretreatment on growth of wheat seedlings under cadmium stress

CK. Control; L. He-Ne laser pretreatment; Cd. Cadmium stress; L+Cd. Cadmium stress after He-Ne laser pretreatment; Means with different normal letters above bars were significantly

different between treatments at 0.05 level(n=5). The same as below

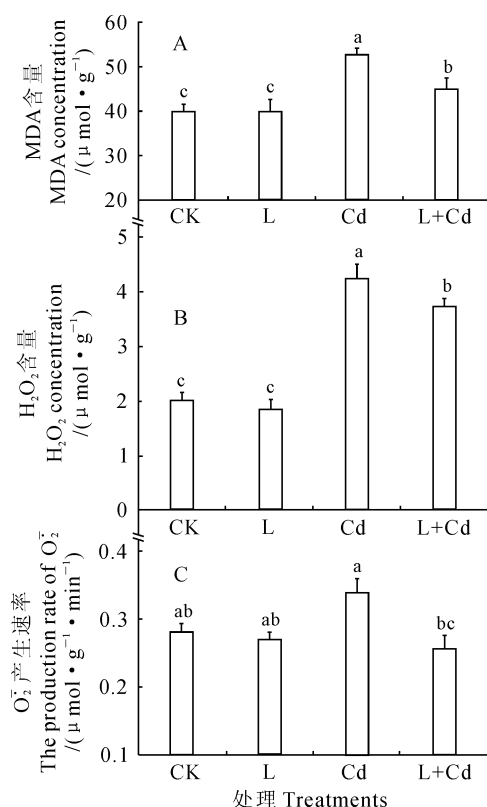


图 2 He-Ne 激光预处理对镉胁迫下小麦叶片中

MDA、H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率的影响

Fig. 2 Effect of He-Ne laser pretreatment on the regulation of MDA, H₂O₂ contents and the rate of O₂⁻ generation in wheat seedlings under Cd stress

2.3 He-Ne 激光预处理对镉胁迫下小麦叶片抗氧化酶活性的影响

SOD、POD、CAT 及 APX 等植物保护酶系统在

逆境中对植物均起着重要的保护作用。由图 3 可知,与对照(CK)相比,镉胁迫(Cd)下小麦叶片 SOD、POD、CAT 及 APX 活性分别显著下降 53.85%、30.95%、50% 和 33.33% ($P < 0.05$);而 He-Ne 激光预处理 5 min 可使镉胁迫(L+Cd)小麦叶片 SOD、POD、CAT 及 APX 活性分别比 Cd 组显著提高 100%、75.86%、120% 和 57.69% ($P < 0.05$),单独进行激光预处理(L)的小麦叶片中 SOD、POD、CAT 及 APX 活性也比对照显著增加。这表明 He-Ne 激光预处理能显著增强小麦幼苗清除氧自由基的能力,从而增强幼苗对镉胁迫的适应能力,有效缓解镉胁迫造成的氧化伤害。

2.4 He-Ne 激光预处理对镉胁迫下小麦叶片抗氧化物质含量的影响

GSH 和 AsA 是植物体内两种重要的非酶类抗氧化物质,它们参与的 AsA-GSH 循环是植物体内重要的清除活性氧自由基系统。如图 4 所示,与对照(CK)相比,镉胁迫处理(Cd)可使小麦叶片 AsA 和 GSH 含量分别显著降低 25% 和 14.39% ($P < 0.05$),而经 5 min He-Ne 激光预处理可使镉胁迫(L+Cd)小麦叶片 AsA 和 GSH 含量显著分别比 Cd 组增加 38.89% 和 17.73% ($P < 0.05$)。同时,单独激光预处理(L)也使小麦叶片中 GSH 含量比对照显著增加(图 4, A),而对 AsA 含量则无显著性影响(图 4, B)。即 He-Ne 激光预处理也能有效诱导镉胁迫小麦叶片抗氧化物质 GSH 和 AsA 的增加,从而缓解镉胁迫造成的氧化伤害。

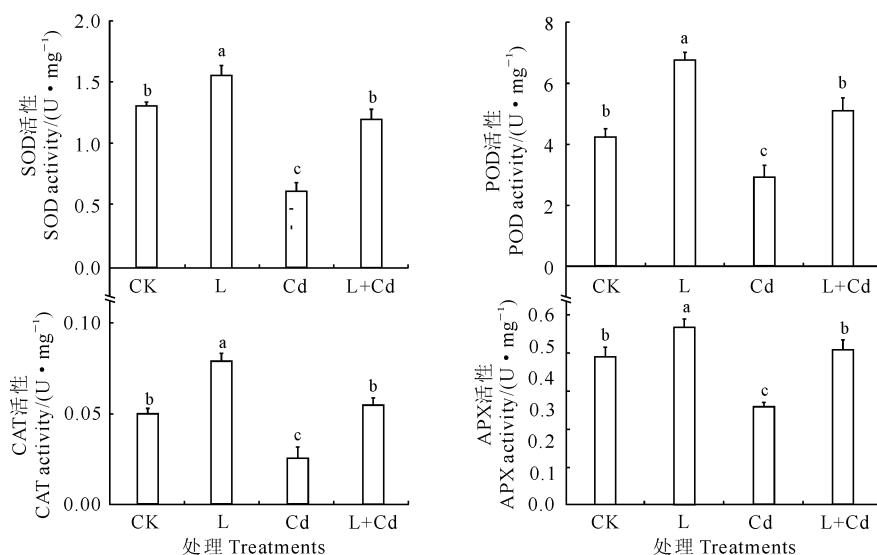


图3 He-Ne 激光预处理对镉胁迫下小麦叶片 SOD、POD、CAT 及 APX 活性的影响

Fig. 3 Effect of He-Ne laser pretreatment on SOD, POD, CAT and APX activities in wheat seedlings under Cd stress

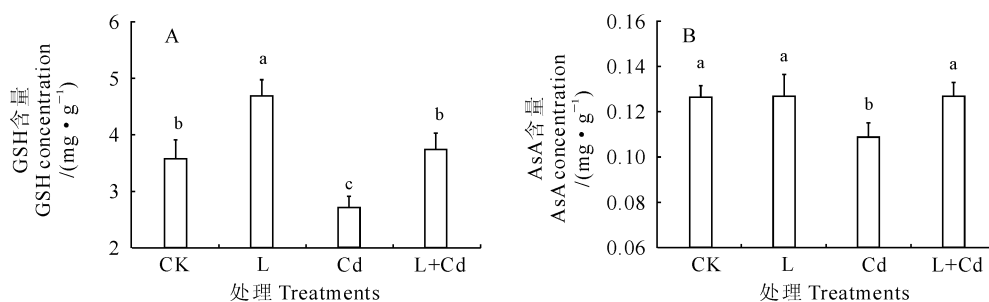


图4 He-Ne 激光预处理对镉胁迫下小麦叶片 GSH 和 AsA 含量的影响

Fig. 4 Effect of He-Ne laser pretreatment on GSH and AsA contents of wheat seedlings under Cd stress

3 讨论

激光对生物体的作用主要表现为热效应、压力效应、光效应和电磁等效应。低功率的激光特别是可见光范围的激光,其产生的热和压力很少。研究表明,激光的光效应对植物损伤没有修复作用,激光辐射对生物体的影响主要表现为电磁效应^[14]。电磁效应能引起组织细胞渗透压及吸水能力的改变^[15]。由于激光辐射能引起细胞内一系列的生理生化过程的变化,经过适量激光辐射预处理的种子在发育过程中必须从环境中吸收更多的能量^[16]。因此,激光预处理 5 min 可促进植物的新陈代谢,使本研究中小麦幼苗的株高、根长及其生物量显著增加($P < 0.05$),这与 Podlesny 等^[9]的报道是一致的。

Cd 不是氧化还原活泼金属,但它诱导植物细胞直接产生活性氧(ROS),从而对植物造成氧化损伤^[17]。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物,被

认为是重金属诱导的氧化应激生物标志物^[18]。本研究表明,镉胁迫下(Cd)小麦幼苗叶片 MDA、 H_2O_2 含量及 O_2^- 产生速率显著增加,说明镉胁迫能诱导小麦幼苗的氧化损伤。镉胁迫下小麦幼苗中 H_2O_2 含量和脂质过氧化水平的急剧增加使植物体的抗氧化防御系统出现障碍,从而导致其氧化损伤的增加。但种子经过 5 min He-Ne 激光预处理后再用 $150 \mu\text{mol/L Cd}^{2+}$ 胁迫小麦幼苗,则叶片中 MDA、 H_2O_2 含量及 O_2^- 产生速率显著降低。这与 Qiu 等^[12]报道的 He-Ne 激光对渗透压诱导的小麦 MDA 和 H_2O_2 含量的变化相类似。Chen 等^[14]的研究也表明 He-Ne 激光辐射处理能使低温胁迫下小麦幼苗中 MDA 含量显著下降。因此,He-Ne 激光预处理可通过减少自由基的积累,从而有效地防止 Cd 诱导的氧化损伤。

SOD、CAT 和 POD 是植物体内清除活性氧和自由基的重要酶类。Chen 等^[19]研究表明,CO₂ 激

光处理可提高低温胁迫下小麦中 SOD 和 POD 活性,缓解活性氧对细胞的伤害。微波预处理也可加强 Cd 胁迫下小麦幼苗的抗氧化防御系统活性,提高植物抵抗 Cd 胁迫的能力^[5]。本实验结果表明,Cd 胁迫下小麦叶片 SOD 活性显著降低,影响了氧自由基的清除;而 He-Ne 激光预处理 5 min 能使 Cd 胁迫下小麦叶片 SOD 活性显著增高,表明激光预处理可以提高镉胁迫下植物体内抗氧化酶活性。据报道,植物的耐镉性与 SOD 活性及 GSH 和 AsA 含量的增加直接相关^[18]。SOD 处于抵御活性氧伤害细胞的第一道防线,它能催化 O_2^- 歧化生成毒性较小的 H_2O_2 , H_2O_2 进一步通过 CAT、POD 和 APX 的协调互作以及 AsA、GSH 参与的 AsA-GSH 循环转化为对细胞无害的 H_2O 和 O_2 ^[20]。本研究结果表明,He-Ne 激光预处理能提高镉胁迫下小麦幼苗 APX、CAT、POD 活性和 GSH 含量,而且其活性变

化趋势是一致的,它们共同抵御和清除体内产生的活性氧,维持细胞内 H_2O_2 和 O_2^- 的平衡。这与 Chen 等^[19]报道的 CO_2 激光处理低温胁迫下小麦能使 POD 和 CAT 活性显著增加的结果是一致的。而且,在 He-Ne 激光预处理的小麦叶片中,这些保护酶在清除活性氧的过程中对 Cd 诱导的氧化应激抗性是相互偶联的。由于 He-Ne 激光预处理的小麦叶片中 SOD、POD、CAT、APX 活性的提高和 GSH 含量的增加,植物体内产生的有害自由基才能被快速清除,从而有效阻止了 MDA 的产生和脂质过氧化,使植物细胞免受镉胁迫的伤害。

综上所述,He-Ne 激光预处理能提高镉胁迫下小麦叶片抗氧化酶 SOD、POD、CAT、APX 的活性及非酶抗氧化剂 GSH 的含量,显著降低叶片 MDA、 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生速率,使小麦幼苗根长、株高及生物量显著增加,从而增强小麦幼苗的耐镉性。

参考文献:

- [1] WAGNER G J, DONALD L S. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health[J]. *Advances in Agronomy*, 1993, 51: 173–212.
- [2] XU J, YIN H X, LI X. Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. [J]. *Plant Cell Reports*, 2009, 28(2): 325–333.
- [3] MOUSSA H R, EL-GAMAL S M. Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat[J]. *Biol. Plant*, 2010, 54(2): 315–320.
- [4] PERVEEN R, JAMIL Y, ASHRAF M, et al. He-Ne laser-induced improvement in biochemical, physiological, growth and yield characteristics in sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. *Photochem. and Photobiol.*, 2011, 87(6): 1 453–1 463.
- [5] QIU Z B, LI J T, ZHANG Y J, et al. Microwave pretreatment can enhance tolerance of wheat seedlings to $CdCl_2$ stress[J]. *Ecotox. Environ. Safety*, 2011, 74(4): 820–825.
- [6] QI Z, YUE M, WANG X L. Laser pretreatment protects cells of broad bean from UV-B radiation damage[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2000, 59: 33–37.
- [7] LI X Y (李小阳), CHEN H Z (陈慧泽), HAN R (韩 榕). Effects of He-Ne laser irradiation on the seeds germination and seedling growth of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2012, 32(1): 131–135 (in Chinese).
- [8] PERVEEN R, ALI Q, ASHRAF M, et al. Effects of different doses of low power continuous wave He-Ne laser radiation on some seeds thermodynamic and germination parameters, and potential enzymes involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. *Photochem. and Photobiol.*, 2010, 86(5): 1 050–1 055.
- [9] PODLEŠN J, STOCHMAL A, PODLEŠNA A, et al. Effect of laser light treatment on some biochemical and physiological processes in seeds and seedlings of white lupine and faba bean[J]. *Plant Growth Regulation*, 2012, 67(3): 227–233.
- [10] 韩 榕. He-Ne 激光对小麦增强 UV-B 辐射损伤的修复效应及机理[D]. 西安: 西北大学, 2002.
- [11] CHEN Y P. *Isatis indigotica* seedlings derived from laser stimulated seeds showed improved resistance to elevated UV-B [J]. *Plant Growth Regulation*, 2008, 55(1): 73–79.
- [12] QIU Z B, LI J T, YUE M. The damage repair role of He-Ne laser on wheat exposed to osmotic stress[J]. *Can. J. Plant Sci.*, 2010, 90(5): 691–698.
- [13] LI J T, QIU Z B, ZHANG X W, et al. Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress[J]. *Acta Physiol. Plant*, 2011, 33(3): 835–842.
- [14] CHEN Y P, YUE M, WANG X L. Influence of He-Ne laser irradiation on seeds thermodynamic parameters and seedlings growth of *Isatis indigotica* [J]. *Plant Sci.*, 2005, 168(3): 601–606.
- [15] GARCIA R F, ARZA P L. Influence of a stationary magnetic field on water relations in lettuce seeds. Part 1: Theoretical considerations [J]. *Bioelectromagnetics*, 2001, 22(8): 589–595.
- [16] HERMANDEZ A C, DOMINIQUEZ P A, CRUZ O A, et al. Laser in agriculture[J]. *Int. Agrophys.*, 2010, 24: 407–422.
- [17] HARMINDER P S, DAIZY R B, GURPREET K, et al. Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots[J]. *Environ Exp. Bot.*, 2008, 63(1–3): 158–167.
- [18] MOHAMMAD M I, EIJI O, YASUAKI S, et al. Exogenous proline and glycine betaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells[J]. *J. Plant Physiol.*, 2009, 166(15): 1 587–1 597.
- [19] CHEN Y P, JIA J F, YUE M. Effect of CO_2 laser radiation on physiological tolerance of wheat seedlings exposed to chilling stress[J]. *Photochem. Photobiol.*, 2010, 86(3): 600–605.
- [20] PANDA P, NATH S, CHANU T T, et al. Cadmium stress-induced oxidative stress and role of nitric oxide in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Acta Physiol. Plant*, 2011, 33(5): 1 737–1 747.