

文章编号: 1007-4627(2011)02-0219-06

# 低能 $N^+$ 离子预处理对水稻 UV-B 辐射的 当代损伤效应的影响\*

赵帅鹏, 黄群策, 陈雪能

(郑州大学离子束生物工程河南省重点实验室, 河南 郑州 450052)

**摘要:** 采用 3 种不同注量的 N 离子对供试材料进行了离子注入预处理, 再用  $10.08 \text{ kJ}/(\text{m}^2 \text{ d}^1)$  增强 UV-B 辐射对其幼苗进行辐照试验, 测定了过氧化物酶(POD)活性、过氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、丙二醛(MDA)含量、还原型谷胱甘肽(GSH)含量和可溶性糖含量的变化。研究表明: 经 N 离子注入预处理的水稻材料受到 UV-B 辐射时其 POD 和 SOD 活性明显升高, 并在注量为  $2.0 \times 10^{17} \text{ ions}/\text{cm}^2$  时活性达到最强; CAT 活性和 MDA 含量明显降低, GSH 含量显著增加, 而可溶性糖的含量则变化程度很小。从这些研究结果可以看出, 经过一定注量离子注入预处理的水稻材料当受到 UV-B 辐射时能产生较强的抗氧化能力和防御能力, 而且抗氧化系统优于碳水化合物系统而先于表达。由此可见, 离子注入预处理对水稻 UV-B 辐射的生物学效应的影响相当明显。

**关键词:** 离子注入; UV-B; POD; SOD; MDA; GSH

**中图分类号:** Q691      **文献标识码:** A

## 1 引言

紫外线(200—400 nm)是一种常见的宇宙射线。根据其波长以及辐射生物效应的不同可分为 UV-A(长波紫外线, 320—400 nm)、UV-B(中波紫外线, 280—320 nm, 亦称增强 UV-B)和 UV-C(短波紫外线, 200—280 nm)<sup>[1]</sup>。近年来, 由于环境的日益恶化和大气层的严重破坏, 臭氧层空洞的形成使得影响地面植物正常生长的 UV-B 到达地面的数量在逐年增加, 这对农作物的生长发育已经构成了严重的威胁, 甚至已经开始影响人类的正常生活<sup>[2]</sup>。UV-B 对农作物辐射损伤已经得到了研究者的广泛证实, 并且取得了一定的研究成果<sup>[3-4]</sup>。但是如何应对这种辐射损伤, 怎样减轻对农作物的损伤程度却鲜有报道。尽管韩榕等<sup>[5]</sup>利用激光来修复经过 UV-B 辐射的小麦种子的生长点而获得了比较有价值的实验结果, 但是这方面可供参考的资料仍然很少。低能离子束作为一种新型的诱变源在植物的诱变育种中已经表现出较强的优越性<sup>[6-7]</sup>, 可是

将低能离子束应用于 UV-B 辐射在水稻方面的研究却少有报道。本试验利用低能 N 离子束对供试材料进行 3 种不同注量的预处理, 并对 UV-B 辐射的损伤效应进行了初步探索, 以期缓解 UV-B 辐射损伤提供新思路, 进而拓展离子束的应用范围, 为遗传育种积累有价值的参考资料。

## 2 材料与方法

### 2.1 供试材料

试验以广泛种植于河南沿黄地区的常规稻——新稻 18 为供试材料。实验材料由河南省新乡农业科学院水稻研究所提供。

### 2.2 试验方法

#### 2.2.1 离子注入

在供试材料中挑选籽粒饱满的成熟种子脱去颖壳, 将其胚朝上插入已准备好的花泥中。然后, 将其置入本实验室从俄罗斯进口的 Titan 脉冲式离子

\* 收稿日期: 2010-10-23; 修改日期: 2010-12-22

\* 基金项目: 河南省科技攻关项目(82300433202)

作者简介: 赵帅鹏(1983—), 男(汉族), 陕西宝鸡人, 博士研究生, 从事离子束生物技术的研究工作;

E-mail: zhaoshuaipeng@163.com

注入机的靶室内进行 N 离子注入。离子注入时设置真空对照(真空处理 3 min)和 3 种不同注量,即  $1.0 \times 10^{17}$ ,  $2.0 \times 10^{17}$  和  $3.0 \times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup>。每个注量设置 3 个重复。在每种注量的每次试验中所采用的成熟种子数为 200 粒。在试验中离子源的注量为 30 keV,离子注入时的真空度是  $5 \times 10^{-2}$  Pa,采用脉冲式注入方式(离子注入频率为 25 Hz),束流为 200 mA。

### 2.2.2 处理设置

经离子注入处理的水稻种子种植于郑州大学离子束生物物理实验室的育种网室内,常规管理。待幼苗长出 3 片真叶时进行 UV-B 辐照实验。将试验材料分为 10 组,依次为:未经任何处理的空白对照(CKX)、直接 UV-B 辐射处理(X0)、真空处理 3 min 对照(CKXV)、3 组单独离子注入处理组(X1, X2 和 X3)、真空-UV-B 辐射复合处理组(XVU)以及 3 组离子注入和 UV-B 辐射复合处理组(X1U, X2U 和 X3U)。

### 2.2.3 UV-B 处理

UV-B 辐射强度为  $10.08 \text{ kJ}/(\text{m}^2 \text{ d}^1)$ ,采用紫外辐照计(UV-B 型,北京师范大学光电仪器厂)对 UV-B 辐射功率密度进行测定。紫外线 B 发生用紫外-B 灯(北京鸿达天炬试验设备有限公司制造,40 W,中心波长 313 nm),将其垂直悬于水稻幼苗的上方,并使用 0.13 mm 醋酸纤维素滤膜将 290 nm 以下的 UV 滤掉,用聚乙烯滤膜将 320 nm 以上的 UV 滤掉。通过调整紫外-B 灯与植株叶顶之间的距离来控制 UV-B 辐射的强度。从水稻长出 3 片真叶开始,每天 9:00—15:00 进行辐射,连续辐射 21 d 后取样测定各生理指标,设置 3 个重复。

### 2.2.4 生理指标的测定

#### (1) 同工酶活性的测定

过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性的测定依次采用愈创木酚法<sup>[9]</sup>、氮蓝四唑(NBT)光化学还原法<sup>[8]</sup>和紫外光吸光法<sup>[9]</sup>。

(2) 丙二醛、可溶性糖和还原型谷胱甘肽含量的测定

丙二醛(MDA)、可溶性糖和还原型谷胱甘肽(GSH)含量的测定采用李玲<sup>[10]</sup>和汤章城等<sup>[11]</sup>等的方法进行试验,并稍加修改。

以上各试验的吸光度值均在 TU-1901 型双光

束紫外可见分光光度计上完成。每个样品重复 3 次,取其平均值,用 Origin 7.0 作图,并用 SPASS13.0 软件分析各处理之间及与对照之间的相关性(LSD 方差分析)。

## 3 结果

### 3.1 离子注入和 UV-B 辐射对水稻同工酶活性的影响

图 1 和图 2 反映了经离子束注入处理和 UV-B 辐射处理的供试材料中 POD 和 SOD 活性的变化。从图中可以看出,与 CKX 组的相比,经过不同方法处理的试验材料在 POD 和 SOD 活性方面均表现

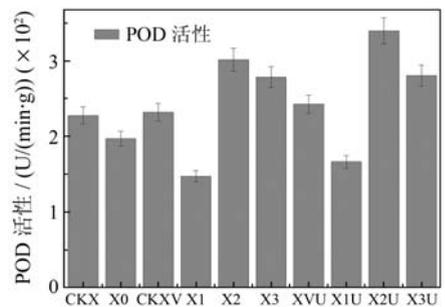


图 1 POD 活性变化

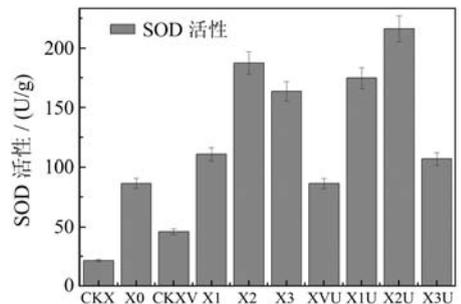


图 2 SOD 活性变化

出较大程度的变化。统计分析表明, X1, X2 和 X3 组与 X1U, X2U 和 X3U 组的 POD 和 SOD 活性与 CKX 组的及 X0 组的之间均存在着极显著差异( $P < 0.01$ )。同时,这两种酶活性在单离子注入处理和 UV-B 辐射复合处理组内各不同注量之间仍然存在着显著差异( $P < 0.05$ )。CKXV 组与 XVU 组的 POD 活性与 CKX 组的之间无显著差异( $P > 0.05$ ),但 SOD 活性与 CKX 组的之间存在着显著差异( $P < 0.05$ )。从不同注量的离子注入来看,与 CKX 组相比, X1, X2 和 X3 组的 POD 和 SOD 活性呈现出先降后升再降的趋势。当经过离子注入预

处理的试验材料施加 UV-B 辐射(X1U, X2U 和 X3U 组)时,两种酶活性在单独离子注入处理的基础上均有不同程度的升高( $1.0 \times 10^{17}$  和  $2.0 \times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup>)或者降低( $3.0 \times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup>),但在注量为  $2.0 \times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup>(X2U 组)时活性均达到最强。由此可以看出,对供试材料进行离子注入预处理可以在一定程度上提高抵御 UV-B 辐射的能力。

图 3 反映了经离子注入处理和 UV-B 辐射处理后供试材料的 CAT 活性的变化。统计分析表明,除处理组 X3 外,供试材料经不同方法处理后的 CAT 酶活性与 CKX 组之间均存在着显著差异( $P < 0.05$ );同时, X1, X2 和 X3 组及 X1U, X2U 和 X3U 组与 X0 组之间、CKXV 组与 XVU 组处理之间均亦存在着显著差异( $P < 0.05$ )。从图中可以看出,不同注量的单独离子注入使得 CAT 活性呈现出“先降后升再降”的趋势,经过 UV-B 辐射复合处理后的 CAT 活性随注量增大则表现出“肩型”减弱的趋势,且低于 X0 和 CKX 组的。此外, XVU 组的真空-UV-B 辐射复合处理使得其 CAT 活性低于 CKXV 和 CKX 组。

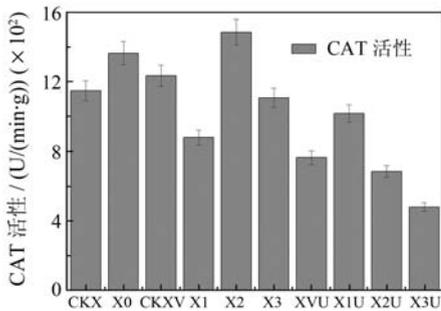


图 3 CAT 活性变化

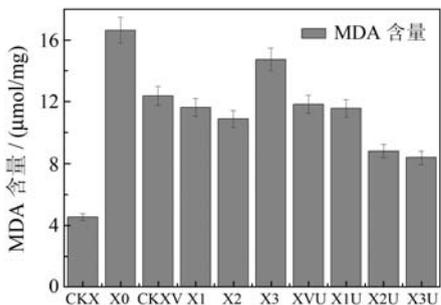


图 4 MDA 含量的变化

### 3.2 离子注入和 UV-B 辐射对水稻 DMA 含量的影响

不同注量的离子注入处理与 UV-B 辐射复合处

理下,供试材料的 DMA 含量变化如图 4 所示。统计分析表明,经不同方法处理后的 MDA 含量与 CKX 组之间存在着极显著差异( $P < 0.01$ )。同时,CKXV 组与 XVU 组之间无显著差异( $P > 0.05$ )。从图中可看出,与 X0 组相比,其余各处理组的 DMA 含量均有不同程度的降低( $P < 0.05$ );与不同注量的单独离子注入(X1, X2 和 X3 组)相比,UV-B 辐射复合处理(X1U, X2U 和 X3U 组)可使 MDA 含量得到不同程度的降低,当注量为  $3.0 \times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup> 时 MDA 的含量最低。

### 3.3 离子注入和 UV-B 辐射对水稻 GSH 含量的影响

不同注量的离子注入和 UV-B 辐射复合处理对供试材料的 GSH 含量的影响如图 5 所示。从统计分析来看,各处理组与 CKX 组之间的 GSH 含量存在着显著差异( $P < 0.05$ )。同时, X1, X2 和 X3 组以及 X1U, X2U 和 X3U 组内不同注量时的 GSH 含量亦存在着显著差异( $P < 0.05$ )。从图中可以看出,与 X0 组相比,单独的离子注入和 UV-B 辐射复合处理均能不同程度地提高 GSH 含量。单独的离子注入时, GSH 含量随着离子注量的增加而不断上升,而经 UV-B 辐射复合处理时, GSH 含量呈现出“先升后降”的趋势,并在注量为  $2.0 \times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup> 处达到最大值。此外,与 CKXV 组相比, XVU 组的 GSH 含量有所提高,但是,与 X0 组的无显著性差异( $P > 0.05$ )。

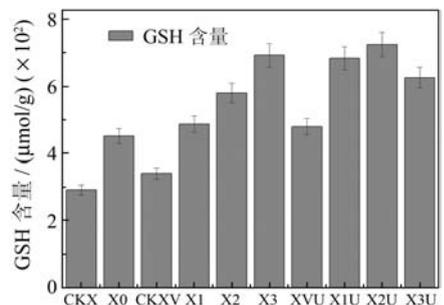


图 5 SGH 含量变化

### 3.4 离子注入和 UV-B 辐射对水稻可溶性糖含量的影响

图 6 显示了不同注量的离子注入与 UV-B 辐射复合处理对水稻可溶性糖含量的影响。统计分析表明,除 X3U 组外,不同方法的处理组与 CKX 组之间存在着显著性差异( $P < 0.05$ )。在各处理组之间,

X0 组、X3 组与 X2U 组之间无显著性差异 ( $P>0.05$ ); CKXV 组与 X2 组之间亦无显著性差异 ( $P>0.05$ )。从图中的变化可以看到, 尽管 X1, X2 和 X3 组及 X1U, X2U 和 X3U 组的可溶性糖含量随着注量的增加而表现出“先降后升”的变化趋势, 但是与 CKX 组相比, 这种变化非常小。另外, 与 CKXV 组相比, XVU 组的可溶性糖含量提高了 ( $5.23\pm 0.08$ )%。

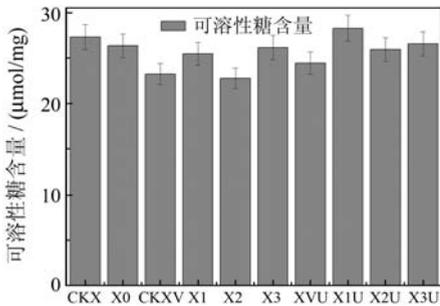


图 6 POD 可溶性糖含量变化

## 4 分析与讨论

本试验以 3 种不同注量下单独离子注入处理和 UV-B 辐射复合处理的水稻幼苗为供试材料, 借助紫外分光光度法对其几种重要的生理指标进行了考察, 探索性地研究了离子束技术在缓解 UV-B 辐射损伤方面的重要作用, 其讨论如下:

(1) UV-B 辐射对不同注量下抗氧化酶系统的影响。当受到 UV-B 辐射时, 植物体内会产生大量的自由基 ( $\text{OH}^-$ ), 这些自由基会诱发脂质过氧化, 破坏细胞膜系统, 影响细胞系统的正常功能。MDA 是脂质过氧化的主要产物之一, 其含量的多少直接反映了膜系统的破坏程度。要保证细胞系统的正常功能, 维持细胞内自由基的动态平衡, 有效的抗氧化酶系统 (SOD, CAT 和 POD) 对此起着重要的作用<sup>[12-13]</sup>。在本实验中, 当供试材料受到单独的离子注入处理和 UV-B 辐射复合处理时, POD, SOD, CAT 和 MDA 的含量都有不同程度的变化。然而, 与其它处理组相比, 供试材料经过不同注量的离子束预处理后再受到 UV-B 辐射时, 其细胞内 CAT 活性和 MDA 含量均有明显的降低 (图 3 和图 4), 而 POD 活性和 SOD 活性却有明显的提高, 并在注量为  $2.0\times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup> 时活性达到最强 (图 1 和图 2)。我们推测, 当对供试材料进行一定注量的离子

注入处理时, 细胞内的某些抗氧化酶系统失去了原有的平衡, 依据注量的大小, 各种酶系统需要在不同程度上达到新的平衡状态; 当注量过大时, 原有的平衡性可能遭到彻底打破, 甚至破坏了整个酶系统。当细胞受到 UV-B 辐射时, 新建立的酶系统可能被破坏, 需要重新达到酶系统的平衡性, 故不同注量下供试材料抵御 UV-B 辐射的能力表现出不同程度的差异, 但在注量为  $2.0\times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup> 的预处理供试材料中, 其 SOD 和 POD 的活性同时达到了较强, MDA 含量达到了较低。CAT 活性降低的原因可能是离子注入在一定程度上破坏了 CAT 酶系统的平衡性 (图 3), 当施加 UV-B 辐射时其酶系统遭到了进一步的破坏, 故其活性表现出逐渐降低的变化趋势。这进一步说明, CAT 酶系统维持系统平衡的能力要弱于 POD 和 SOD 酶系统。由此可见, 合适注量的离子注入预处理在一定程度上提高了水稻中大部分抗氧化酶系统抵御 UV-B 辐射的能力。

(2) UV-B 辐射使得不同注量下 GSH 含量和可溶性糖含量存在不同程度的差异。GSH 是植物体内重要的非酶类抗氧化物, 由它参加的抗坏血酸-谷胱甘肽循环代谢过程对拟制植物体内的活性氧的形成, 促使细胞内自由基达到动态平衡有着重要的作用<sup>[14]</sup>。在本试验过程中, 离子注入处理和 UV-B 辐射处理使得供试材料的 GSH 含量都有不同程度的变化。单独离子注入处理材料的 GSH 含量要高于未经离子注入处理材料; 当施加 UV-B 辐射时, 尽管单独 UV-B 辐射材料的 GSH 含量有所升高, 但是经不同注量离子注入预处理材料的 GSH 含量总体上较高, 均高于单独 UV-B 辐射材料, 且在注量为  $2.0\times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup> 时处于较大值 (图 5)。这可能是由于离子注入使得 GSH 合成酶得以启动, 当受到 UV-B 辐射胁迫时其合成酶的活性增强, 加快了 GSH 的合成速度, 拟制了活性氧的形成, 这与抗氧化酶系统的表现相一致。这也进一步说明, 一定注量的离子注入预处理使得水稻对 UV-B 辐射损伤的防御能力得到了增强, 对其伤害有一定的保护能力。另外, 作为碳水化合物的重要组成部分——可溶性糖是植物体内主要的渗透调节物质, 在细胞的渗透调节过程中起着重要作用<sup>[15]</sup>。在本实验中, 单独的离子注入和 UV-B 辐射对供试材料中可溶性糖的含量产生了一定的影响, 但是这

种影响并不是非常明显(图6);同时,在有些处理组之间的可溶性糖含量无显著性差异。这说明碳水化合物系统对离子注入和 UV-B 辐射的胁迫作用并不是非常敏感。由此可见,经过离子注入预处理后的水稻材料受到 UV-B 辐射时其抗氧化系统优于碳水化合物系统而先于表达。

综上所述,从以上对供试材料主要生理指标的分析来看,尤其从对细胞膜系统受辐射损伤程度有直接反映的 MDA 含量的变化来看,尽管 UV-B 辐射能够对水稻幼苗产生一定的辐射损伤,但是合适注量的离子注入预处理在一定程度上可以提高水稻中主要酶类和非酶类的抗氧化能力,缓解 UV-B 的辐射损伤。此外,本试验只是对离子注入预处理的当代材料进行了 UV-B 辐射损伤的初步研究,对于这种抗性效果的影响是否由基因突变引起,是否可以稳定遗传给后代,这有待于对其子代的抗逆遗传性进行深入探索。

## 参考文献 (References):

- [1] Caldwell M M, Bornman J F, Flint S D, *et al.* Journal of Photochemistry and Photobiology, 1998, **BC46**: 40.
- [2] Cai Xian, Xia Hanping, Peng Shaolin. Ecology and Environment, 2007, **16**(3): 1044(in Chinese).  
(蔡锡安, 夏汉平, 彭少麟. 生态学报, 2007, **16**(3): 1044.)
- [3] Wang Shuyu, Wang Xunling. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 1997, **17**(5): 12(in Chinese).  
(王书玉, 王隍陵. 西北植物学报, 1997, **17**(5): 12.)
- [4] An Lizhe, Feng Huyuan, Wang Xunling. Acta Ecologica Sinica, 2001, **21**(2): 249(in Chinese).  
(安黎哲, 冯虎元, 王勋陵. 生态学报, 2001, **21**(2): 249.)
- [5] Han Rong, Yue Ming, Wang Xunling. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2002, **22**(2): 263(in Chinese).

- (韩榕, 岳明, 王隍陵. 西北植物学报, 2002, **22**(2): 263.)
- [6] Huang Qunce. Nuclear Physics Review, 2007, **24**(1): 59(in Chinese).  
(黄群策. 原子核物理评论, 2007, **24**(1): 59.)
- [7] Huang Qunce, Liang Qiuxia, Li Guoping. Nuclear Physics Review, 2009, **26**(1): 76(in Chinese).  
(黄群策, 梁秋霞, 李国平. 原子核物理评论, 2009, **26**(1): 76.)
- [8] Zhang Zhiliang. Plant Physiology Experiment and Instruction, (The Third Edition). Beijing: Higher Education Press, 2003, 160—165(in Chinese).  
(张志良. 植物生理学实验指导(第三版). 北京: 高等教育出版社, 2003, 160—165.)
- [9] Zou Qi. Plant Physiology. Beijing: China Agriculture Press, 2000, 163—166(in Chinese).  
(邹琦. 植物生理学. 北京: 中国农业出版社, 2000, 163—166.)
- [10] Li Ling, Li Nianhui, Jiang Sumei, *et al.* Plant Physiology Module Experiment and Instruction. Beijing: Science Press, 2009, 80—82(in Chinese).  
(李玲, 李娘辉, 蒋素梅, 等. 植物生理学模块实验指导, 北京: 科学出版社, 2009, 80—82.)
- [11] Tang Zhangcheng, Wei Jiamian, Chen Yin, *et al.* Modern Plant Physiology Experiment Guide. Beijing: Science Press, 2004, 149—150(in Chinese).  
(汤章城, 魏家绵, 陈因, 等. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 2004, 149—150.)
- [12] Lan Zhouchen, Gao Hongwang, Song Hong, *et al.* Journal of Integrative Plant Biology, 2009, **51**(2): 194.
- [13] Fedina I, Hidema J, Velitchkova M, *et al.* Biologia Plantarum, 2010, **54**(3): 571.
- [14] Wu Jincheng, Liang Jie, Chen Jianqin. Scientia Silvae Sinicae, 2009, **45**(11): 15.
- [15] Zhang Juan, Wang Xiaohua, Hao Jinhua, *et al.* Acta Laser Biology Sinica, 2008, **17**(5): 577(in Chinese).  
(张娟, 王小花, 郝金花, 等. 激光生物学报, 2008, **17**(5): 577.)

# Influence of Low Energy N<sup>+</sup> Ions Pre-treatment on Damage Effects of UV-B Irradiation on M<sub>1</sub> Rice \*

ZHAO Shuai-peng<sup>1)</sup>, HUANG Qun-ce, CHEN Xue-neng

(Provincial Key Laboratory of Ion Beam Bio-engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

**Abstract:** The seedlings of rice (xindao18) were exposed to UV-B (10.08 kJ/(m<sup>2</sup> d<sup>-1</sup>)) irradiation follo-

\* Received date: 23 Oct. 2010; Revised date: 22 Dec. 2010

\* Foundation item: Key Technology R&D Program of Henan Province(82300433202)

1) E-mail: zhaoshuaipeng@163.com

wing the pretreatment with three different implantation dosages of low-energy  $N^+$  ions. Changes in the levels of the superoxide (POD), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and soluble sugar were measured. The result showed that the UV-B irradiation on the seedlings of rice pretreated with low-energy ions implantation could lead to increase activities in POD and SOD, and the maximum appeared on the dose of  $2.0 \times 10^{17}$  ions/cm<sup>2</sup>. Meanwhile, it made the content of GSH increased, and caused the activity of CAT and the content of MDA to be decreased. But there was no obvious change in soluble sugar. It was suggested that the rice pretreated by low energy ion implantation could enhance the antioxidation capacity and defensive ability when irradiated by UV-B, and the antioxidation system could be induced earlier than carbohydrate system. Therefore, the biological effects of UV-B irradiation on rice pretreated by low energy ion implantation were quite obvious.

**Key words:** ion implantation; UV-B; POD; SOD; MDA; GSH