

新技术讲座

微弱发光分析技术应用实例 (四)

张仲伦

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 植物生理变化往往伴随着发光过程, 探测这种发光过程, 寻求其规律性, 对于农业、林业科学研究具有重要意义. BPCL 型微弱发光测量仪的样品室可以直接测量各种生物 (植物、动物) 体系的发光. 超弱发光测量对于大豆种子生理变化敏感, 有可能作为品种鉴定的手段之一. 微弱发光动力学测量是具有应用前景的新方法, 可用于多种植物的抗逆性研究.

关键词 植物生理, 植物的抗逆性, 微弱发光分析技术, 大气污染指示生物

学科分类号 Q6-33

9 微弱发光分析技术应用实例之四

9.1 大豆种子脂肪氧化酶同工酶缺失体的超弱发光研究^[1,2].

a. 实验方法: 大豆种子由中国农业科学院作物研究所提供美国 Century 品种及其缺失脂肪氧化酶 (Lox) 同工酶等位基因系. 种子先用 40℃ 水浸泡, 放入 25℃ 温箱 8 h 后取出, 再放入铺有湿润滤纸的培养皿中继续培养. 测量时取 10 粒种子完全避光测量 100 s.

b. 大豆种子发芽前后超弱发光强度变化具有规律性 (图 1). Century 品系发光强度变化趋势具有一致性, 吸胀过程光强上升, 完全吸胀后下降, 24 h 降至最低, 发芽后发光强度又明显上升.

c. 不同品系大豆种子未发芽超弱发光强度有明显差异. 在未发芽种子中, Century 品种也比其 Lox 缺失体的超弱发光强度高, 而几种 Lox 缺失体的超弱发光强度依次降低, 其次序为 - Lox1, - Lox2, - Lox3, - Lox1.3, - Lox2.3.

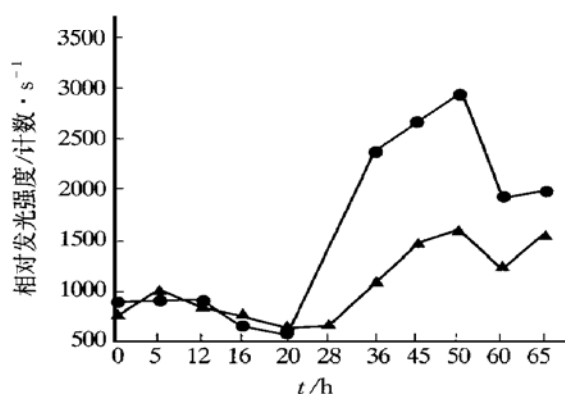


图 1 大豆种子发芽前后超弱发光强度变化

●—●: 缺失 Lox-1; ▲—▲: 正常大豆.

d. 发芽种子去除芽 (芽受损伤) 前后超弱发光强度变化剧烈. 从表 1 可以看到, 无论是发光总值还是在特定波长上, 损伤后大豆种子的发光大大高于损伤前. 从发光总强度上看, 损伤后大豆种子的发光强度是损伤前的两倍以上. Lox 缺失体在蓝光区 (490 nm) 增加略少.

表 1 大豆芽受伤前后发光强度的变化

	Century			- Lox1			- Lox1.3		
	伤后	伤前	Ratio	伤后	伤前	Ratio	伤后	伤前	Ratio
总强度	7892	2744	2.87	7031	2445	2.87	8293	3843	2.16
640 nm	412	135	3.05	174	47	3.70	275	112	2.45
490 nm	866	256	3.38	311	270	1.15	618	370	1.67

e. 超弱发光测量对于大豆种子生理变化敏感, 有可能作为品种鉴定的手段之一。

9.2 蔷薇属植物冷冻前后超弱发光动力学研究.

a. 实验方法: 采用中国农科院蔬菜花卉研究所一级切花月季品种和北京林业大学栽培的蔷薇属植物. 冰箱冷冻温度 -26°C 至 -28°C 30 min, 取出后立即放入测量室测量。

b. 冷冻前后的发光动力学曲线明显不同. 未做冷冻处理的试验植物用日光灯预照后立即测量黑暗状态下的发光动力学曲线, 全部呈准指数衰减曲线. 不同种类及同种类不同部位的植物材料, 衰减速率不同, 花> 叶> 茎. 冷冻处理后动力学曲线有很大变化, 滞后荧光衰减速度加快, 而经过低谷后又开始增强, 经过一定时间到达发光高峰, 然后又逐渐减弱, 出现与未冷冻的材料发光衰减完全不同的情况。

c. 同一品种蔷薇属植物不同器官解冻后发光动力学曲线有差异. 首先滞后荧光衰减速度变化不同, 花的荧光寿命变化最大, 叶次之, 茎更次之. 荧光增强倍率也不相同, 如月季‘雅典娜’花朵增强倍率为153~190倍, 而‘雅典娜’叶与茎的荧光增强倍率远不及花朵高。

d. 不同品种蔷薇属植物解冻后发光动力学曲线明显不同. 分别对9种蔷薇属植物带茎叶簇冷冻30 min后发光动力学曲线的参数进行测定, 其中荧光增强倍率有很大不同. 报春刺玫只有2.1倍, 而黄刺玫达到28.9. 其差别表示于图2.

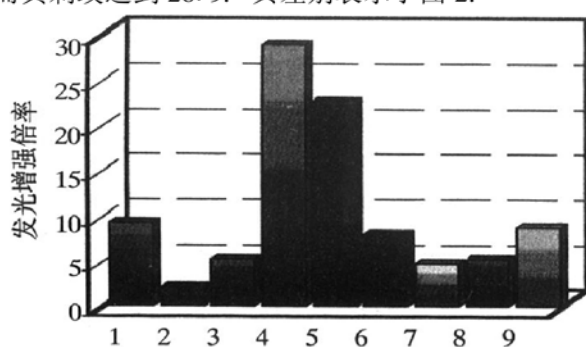


图2 不同品种蔷薇属植物解冻后荧光增强倍率

1: 玫瑰; 2: 报春刺玫; 3: 木香; 4: 黄刺玫; 5: 美蔷薇; 6: 宽刺蔷薇; 7: 疏花蔷薇; 8: 毛叶疏花蔷薇; 9: 弯刺蔷薇。

e. 植物超弱发光动力学测量与植物抗逆性研究. 植物在极限逆境条件下或造成死亡, 或造成细胞解体时有发光增强现象, 利用这个原理可以探索

植物能耐受的临界条件, 确定植物的具体适应极限. 实验表明逆境条件下微弱发光动力学测量是有理论价值和应用前景的新方法, 它快速、灵敏, 可重复试验, 故可用于多种植物的抗逆性研究。

9.3 各种树木叶片超弱发光研究^[3].

a. 实验方法: 选择一枝毛白杨枝条, 用塑料袋包扎, 将 SO_2 气体冲入, 测量时取枝条上中位叶之间的大小相同的叶片, 放入测量室测量. 使用400~750 nm一套干涉滤光片, 置于叶片和光窗之间, 测定叶片的发射光谱。

b. 不同品种树叶叶片发光强度不同 (表2). 测定了11种树木叶片的发光强度, 以BPCL型微弱发光测量仪300 s光强计数表示, 最低的红瑞木为354, 最高的海仙花2256, 毛白杨1678, 由于毛白杨树叶发光较高, 加之抗病性能较强, 故选它做指示生物比较适宜。

表2 不同树叶叶片发光

树种	光强计数	树种	光强计数
毛白杨	1678	核桃	641
红瑞木	354	紫丁香	2159
山楂	590	海仙花	2256
黄金树	810	木芙蓉	1354
银杏	521	金银忍冬	1539
白蜡	860		

c. 经 SO_2 熏气后毛白杨叶片发射光谱有变化. 考虑到发射光谱分析的精确性, 实验在高浓度 SO_2 所导致的叶片急性损伤条件下进行. 图3表示出在正常生理条件下毛白杨叶片发射光谱近似高斯分布, 而用 SO_2 熏气后, 光谱分布显现出多峰特性。

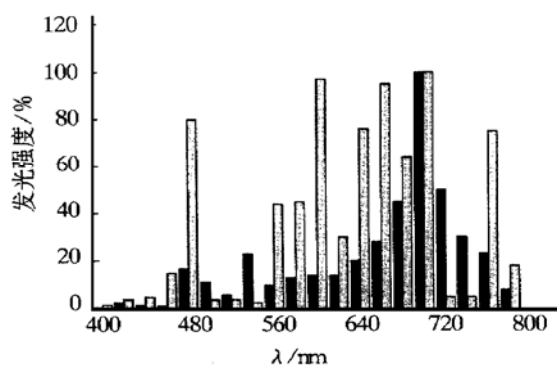


图3 二氧化硫对杨树叶发射光谱的

■: 对照; ▨: SO_2 .

参 考 文 献

- 1 徐文英, 付翠真, 丁安林, 等. 大豆脂肪氧化酶同工酶缺失体的苗期叶片超弱发光研究. 大豆科学 (Xu W Y, Fu C Z, Ding A L, *et al.* Soybean Science), 1995, **14** (3): 209~ 213
- 2 苏 震, 徐文英, 张仲伦, 等. 大豆种子脂肪氧化酶同工酶缺失体的超弱发光研究. 大豆科学 (Su Z, Xu W Y, Zhang Z L, *et al.* Soybean Science), 1997, **16** (3): 245~ 251
- 3 Ma Y Q, Zhang Z L, Su Z, *et al.* SO₂-induced change of spectrum in low-level chemiluminescence from leaf of *Populus tomentosa*. Bull. Environ Contamination and Toxicology, 1995, (55): 136~ 141

Ultra-weak Chemiluminescence Analytical Technology Principle and Application. ZHANG Zhong-Lun (*Institute of Biophysics, The Chinese*

Academy of Sciences, Beijing 100101, China).

Abstract The plant physiological variety is often accompanied by luminescence process. It has a very important purport that to detect the process and to seek its rule for agriculture and forest. Various biological system (plant and animal) can be detected in sample chamber of BPCL ultra-weak luminescence analyzer. The measurement is sensitive for physiological variety of soybean seed and is a way of to identify breeds. It can be used to research of plant adversity-resistant.

Key words plant physiology, chemiluminescence analytical technology

小经验介绍

凝胶干胶的实验台制作法

目前, 制作聚丙烯酰胺凝胶干胶的方法很多, 大多数都是将凝胶干燥在玻璃板或凝胶支持膜上制得. 下面介绍一种不用玻璃板, 只用一张玻璃纸的简单经济、效果也好的凝胶干燥方法.

1. 将脱色后背景清楚的凝胶浸泡在 20% 的甘油中, 过夜.
2. 将一张长度约为凝胶长度 2.5 倍, 宽度比凝胶宽 3 cm 的玻璃纸在水中浸泡 10 min.
3. 取出玻璃纸平铺于实验台上 (实验台只要干净平整即可), 同时抚平去泡.
4. 将经 20% 甘油浸泡过夜的凝胶平铺于玻璃纸上端, 然后将下端的玻璃纸轻拉, 使其平铺于胶面上, 同时抚平去泡.

5. 用吸水纸轻压玻璃纸边缘, 以除去多余的液体, 30 min 后, 用胶带纸紧贴凝胶四周边缘.

6. 室温自然干燥 2 d 左右. 胶干后, 撕去胶带纸, 按凝胶大小剪去多余的玻璃纸, 即制成凝胶干片.

用此法制作干胶方便、经济且比玻璃板制干胶容易去除气泡. 制作的干胶光亮、平整.

注意事项:

(1) 在用吸水纸吸液体时, 将玻璃纸未剪开一端中的残留液体用手向两边轻抚, 以便吸水纸将其吸干.

(2) 胶带纸紧贴凝胶四周边缘时, 注意不要贴上凝胶, 以防揭胶带纸时撕裂干胶.

[张晓楠 张延凤 (第四军医大学中心实验室, 西安 710032)]