

## 创新机遇

拟南芥叶肉细胞在不同频率的光照下  $H^+$  流速变化叶斌<sup>1,\*</sup>, 李磊<sup>2</sup>

1 旭月生物功能研究院, 北京, 中国, 100080

2 旭月(北京)科技有限公司, 北京, 中国, 100080

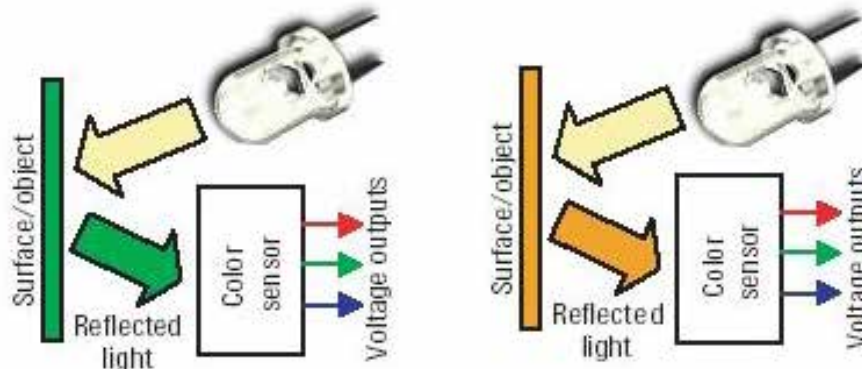
**摘要:** 不同波长的光具有不同的生物学效应, 对植物的形态结构、光合作用等影响不同, 因此便携式多光谱光照处理仪应用而生, 能够提供不同波长的光及固定频率的变化, 为实验提供更丰富的光照条件。本文利用便携式多光谱光照处理仪提供不同波长的光, 以拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 幼苗为材料, 在红、绿、蓝、白、紫五种色光照射处理拟南芥叶肉细胞, 并使用非损伤微测系统进行叶肉细胞的  $H^+$  流速的实时检测。结果显示在蓝、白色光下, 拟南芥叶肉细胞的  $H^+$  的吸收减小, 在红、绿色光下  $H^+$  吸收较强, 在紫色光下呈现吸收减弱的趋势, 表明叶肉细胞中的  $H^+$  流速受到不同色光影响较大。文章的研究为光合作用、以及植物的形态结构学提供研究依据。

**关键词:** 拟南芥;  $H^+$ ; 流速; 非损伤微测技术; 便携式多光谱光照处理仪

光照对植物来说的作用非常大, 在植物的生长发育上, 参与植物光合作用上都起到很大的作用, 所以本次研究也是为了了解不同频率的光对于植物叶片的生理变化的影响。

此次实验选取拟南芥作为检测样品, 拟

南芥生长周期短, 易种植, 其基因库的构建、筛选过程简单快速, 因此选用拟南芥作为研究对象。非损伤微测技术 (NMT) 是一种检测活体样品的技术, 能够实时检测活体样品的离子 / 分子流速, 保证在光照处理的瞬间得到拟南芥叶片细胞的离子流变化。对于



图一: 反射的光的颜色取决于表面反射的颜色和吸收的颜色

收稿日期: 2022-12-23

\* 通讯作者 E-mail: xuyue\_yebin@126.com

电话: 18501056715

光照频率的选择，选取了便携式多光谱光照处理仪，能够提供固定频率、固定时间的光的变化，为实验提供了精准的变量控制。实验中选取了氢离子作为检测指标，氢离子参与光合作用，能够检测出不同频率光的变化对光合作用的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

选取拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 幼苗进行实验，将拟南芥种子进行春化处理 3d，春化后对使用 5% 的次氯酸钠溶液将种子进行消毒处理 1min 后用无菌水清洗 5-6 次，在 1/2 MS 培养基中进行播种，并在光周期为 16 小时光照，8 小时黑暗；光强为  $300-400\mu\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ；光照条件下的温度为  $24^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度为 80%；黑暗条件下的温度为  $20^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 80% 的环境中培养 7d。

### 1.2 不同颜色光处理

便携式多光谱光照处理仪（旭月（北京）科技有限公司）（图二），型号为 PF-L-01，工作电压：9V1A。便携式多光谱光照处理仪提供红、绿、蓝、紫 4 种单色光和白光共 5 种色光光照，5 种色光按照红、绿、蓝、白、紫的顺序以固定频率（60s/色光）进行变化。

利用便携式多光谱光照处理仪对拟南芥叶肉细胞进行实时循环的光照处理。

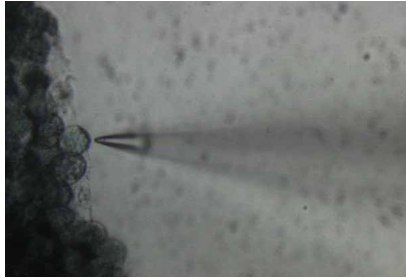


图二：便携式多光谱光照处理仪

### 1.3 拟南芥叶肉细胞 $\text{H}^+$ 流速测定

利用非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT），使用非损伤微测系统第七代产品 NMT Physiolyzer®（NMT 活体生理检测仪，美国扬格公司，[youngerusa.com](http://youngerusa.com)）进行流速数据的检测。取拟南芥待测叶片，确定叶片中的一小块待测区域，撕去下表皮，暴露出叶肉组织。准备一只培养皿，加入测试液（0.1 mM KCl, 0.1 mM  $\text{CaCl}_2$ , 0.1 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.5 mM NaCl, 0.3 mM MES, 0.2 mM  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , pH 6.0），将制备好的叶片组织，下表面朝下，让其漂浮在测试液上，下表面充分接触测试液，静置 15min 后，弃去测试液。小心取出叶片组织，将叶片组织固定在培养皿中，加入 5ml 新鲜测试液，上样检测。在显微镜镜下找到目标检测区域，将  $\text{H}^+$  流速传感器置于距离叶肉细胞表面约  $5\mu\text{m}$  处，开始检测（图三）。每个样品检测 5~10 分钟，期间使用便携式多光谱光照处理仪进行不同颜色光的处理，每组检测 5 个重复。通过 imFluxes V2.0 软件（YoungerUSA LLC, Amherst, MA 01002, USA）直接读取  $\text{H}^+$  流速数据，流速单位是  $\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，正值代表外排，负值代表吸收。

（责任编辑：李雪霏）



图三：便携式多光谱光照处理仪

## 1.4 数据分析

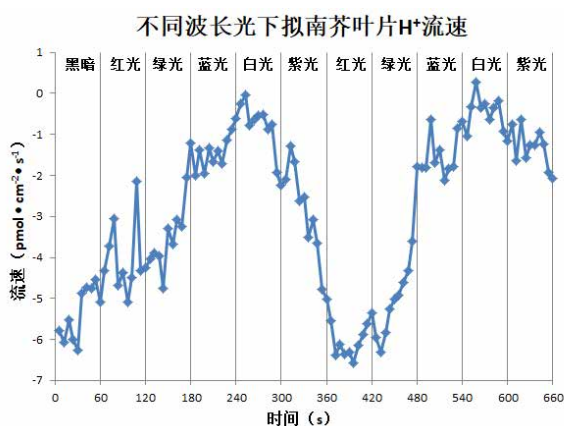
$H^+$  流速数据使用流速云 (IF100, 卫水土 (北京) 科技有限公司, <http://nmtia.org.cn/imfluxes>) 软件进行处理及分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同色光对拟南芥叶肉细胞 $H^+$ 流速的影响

实验结果显示 (图四), 按照红、绿、蓝、白、紫的顺序以固定频率 (60s/色光) 进行处理下, 在蓝光、白光下, 拟南芥叶肉细胞的  $H^+$  的吸收趋势减小, 在红光、绿光下  $H^+$  吸收增大, 在紫色光下呈现吸收减弱的趋势。第二次同波长同频率的循环下, 均为此现象。

注: 流速的正值代表外排, 负值代表吸收, 实验结果中得到的数据为负值, 均为吸收的趋势。



图四 不同波长光下拟南芥叶肉细胞  $H^+$  流速

## 2.2 讨论

文章中所探讨的不同波长光是研究者所关注的, 在本文中植物叶片受到不同波长光照处理时,  $H^+$  吸收与光的波长密切相关。但仅仅是波长的固定变化, 还是不能够满足科研人员的需求, 对于光频率的调整, 对于不同波长的顺序, 以及更多波长的光等等, 都是科研人员对实验的需求。

便携式多光谱光照处理仪对于光强并没有做成可调节式的产品, 实验中光照强度是不可或缺的参数之一, 便携式多光谱光照处理仪也在光强的功能上进行完善, 期待最新版本的产品能够帮助科研人员解决更多的问题。

### 参考文献

- [1]. 不同色光对植物生长的影响 - 光对植物生长的影响探究 (<https://wenku.baidu.com/view/833ed955112de2bd960590c69ec3d5bbfd0ada94.html>)
- [2]. 胡阳, 江莎, 李洁, 等. 光强和光质对植物生长发育的影响 [J]. 内蒙古农业大学学报 (自然科学版). 2009(04): 296-303.
- [3]. 王晓阳, 等. 治疗肿瘤有希望的选择——光动力学疗法 [J]. 中国激光医学杂志. 2008(04), 300-301.
- [4]. 非损伤微测技术及其在植物光合作用研究中的潜在应用
- [5]. 李学刚, 冯华, 李飞. 脑胶质瘤光动力治疗及光敏剂引导手术的研究与临床应用进展 [J]. 中南大学学报 (医学版). 2018, 43(4), 360-367.
- [6]. 使用 Arduino 开发板点亮 RGB 全彩 LED 灯 (<https://www.yiboard.com/thread-1013-1-1.html>)