

不同光波长下大光金鱼花叶片超微弱发光的光子计数统计

赵占娟^{1,*}, 李光², 杨卫星¹, 闫冰¹

河北大学¹ 医学部, ² 物理科学与技术学院, 河北保定 071002

The Photon Count Statistics of Ultraweak Photon Emission from Different *Columnea gloriosa* Sprague Leaves under Diverse Wave Lengths

ZHAO Zhan-Juan^{1,*}, LI Guang², YANG Wei-Xing¹, YAN Bing¹

¹Health Science Center, ²College of Physics Science and Technology, Hebei University, Baoding, Hebei 071002, China

摘要: 用生物超微弱发光探测技术, 对植物叶片的超微弱发光透过滤波片进行测量, 并用量子光学中的光子计数分布统计方法得到的结果表明, 不同波长下, 大光金鱼花叶片的光子计数分布不同, 但幼叶和老叶的光子计数分布的规律基本相同, 而成熟叶片光子计数分布的规律比较紊乱。

关键词: 超微弱发光; 光子计数统计; 滤波片; 随机设计的单因素的方差分析

超微弱发光是所有生物都具有的一种普遍现象, 它是生物系统中自发辐射的一种极弱的光子流, 其强度为几百个 $h\nu \cdot s^{-1} \cdot cm^{-2}$, 波长范围从红外到紫外呈准连续谱。植物超微弱发光和植物的生命活动(细胞分裂和死亡、癌变、生长调控、氧化代谢)联系紧密, 生物在受到外界环境(如温度、光照、环境胁迫等)的影响后生物光子的辐射会迅速发生变化。谭石慈等(2000)在白菜叶片和叶绿体光诱导的延迟发光光谱的研究中发现, 叶片的延迟发光光谱在 485、560~590、650、685、725~735 nm 附近都有峰出现。张新萍等(2005)在水华鱼腥藻超弱发光光谱研究中也观察到, 水华鱼腥藻的超弱发光光谱在 440 和 575 nm 处有特征峰出现。赵占娟等(2007)在大光金鱼花叶片超微弱发光的光子计数统计中看到, 在可见光光谱中, 植物叶片幼叶及老叶的光子计数分布与泊松分布基本吻合, 而成熟期叶片的光子计数分布则与泊松分布偏离很多。Jung 等(2005)曾用 1 年的时间对 3 名健康实验者的手心及手背的超弱光子数进行测量, 并计算其频率分布, 结果表明: 人手的超弱光子辐射率随季节而变化, 在秋天人手的超弱光子辐射率最低。这些都是生物光子的光谱或在可见光光谱中生物超微弱发光的光子计数的研究。本文在超微弱发光测量仪上加上滤光片从而改装成能分光谱段测量生物光子辐射强度的装置, 并应用此装置测量了大光金鱼花叶片在 400~640 nm 范围内的光子计数分布情况, 以

了解不同光波长下生物光子的光子计数统计规律。

材料与方法

大光金鱼花(*Columnea gloriosa* Sprague)为多年生草本植物, 喜湿润环境, 适宜生长温度为 18~22℃, 从市场购买后在实验室中恒温培育 1 个月用于测定。选具有顶端幼叶、中部功能叶和下部老叶的同一枝条, 用剪刀将叶片从基部剪断后立即放入盛有水的器皿中。在测量前先用去离子水将叶片清洗干净, 再用滤纸吸干叶片表面的水分, 然后将叶片置于样品室中暗适应 200 s, 随即依次加上 10 片滤光片后测量叶片的超微弱发光强度。每次测量时间为 100 s, 记录下光子总数, 连续测量 3 次。每个样品测量前先测一次本底, 再用 3 次测量值的平均数减本底的差的平均数作为自身发光强度的测量值。实验装置采用由中国科学院生物物理所研制的生物超微弱发光测量仪(BPCL-4)进行测量。

光子计数的统计是在一个给定的时间间隔 Δt 内, 记录到 n 个光子($n=0, 1, 2, \dots$)的概率 $P(n, \Delta t)$ 的分布。这是分析生物光子相干特性的有效手段(甘子钊等 1996)。量子力学证明, 一个完全相干的稳定的光子场, 光子计数统计服从泊松分布:

收稿 2007-12-14 修定 2008-04-23

资助 河北科技攻关项目(07276101D-74)。

* E-mail: zhaozhanj@sohu.com; Tel: 0312-4133155

$$P(n, \Delta t) = \frac{\exp(-\langle n \rangle) (\langle n \rangle)^n}{n!}$$

式中, n 是记录的平均光子数。测定时, 选生长势相近、最上部已完全伸展的叶片和下部叶片已有部分发黄衰老的大光金鱼花的枝条为实验材料。从枝条上端已完全伸展的叶片开始计数, 叶位由上而下依次记为 1、2、3……9。测定叶片超微弱发光时叶片的温度维持在 18℃, 于暗室中以 BPCL-4 超弱发光分析仪测定。仪器预热 1 h 以稳定本底。仪器工作电压为 1 000 V, 光子记数时间间隔为 1.00 s。使用的 10 片滤波片, 透过波长分别为: 400、425、440、460、490、535、555、575、620 和 640 nm。

统计采用完全随机设计的单因素的方差分析, 对样本均数进行多重比较, 检验水准为 $\alpha=0.05$ 。若概率 $P>0.05$, 则认为波长的变化对光子计数分布无显著影响; 反之, $P<0.05$, 则认为波长的变化对光子计数分布有显著影响。

实验结果

1 同一枝条不同叶位叶片超微弱发光强度的光谱分布

将测得的强度数据用滤光片的透过率和带宽进行校正并归一化后做出发光光谱曲线。图 1 是大光金鱼花在衰老过程中的不同叶片的超微弱发光强度的发光光谱, 从中可以看出, 叶片的发育程度不同, 其在不同光波长下发出的光子强度也不同, 但都是在 440、555 或 620 nm 处有较强的峰。不同叶片的超微弱发光强度不同, 但超微弱发光

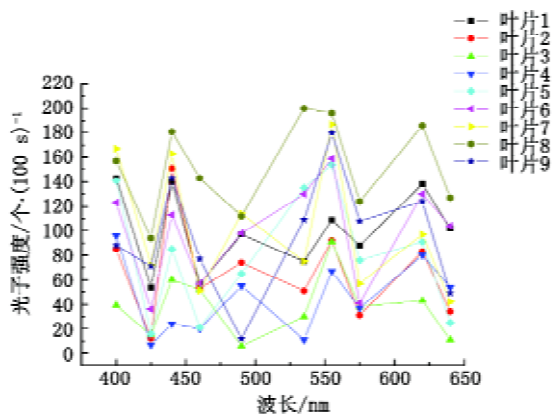


图 1 不同叶位叶片的超微弱发光强度的光谱分布

光谱分布基本不变。把大光金鱼花在衰老过程中的超微弱发光光谱分布特征与杨善元(1985)测得的叶绿素的吸收光谱比较, 发现它们的峰值在光谱中的位置有一定的相似之处, 如叶绿素 a 在有机溶剂中, 在 430 nm 左右有一特征吸收峰, 而大光金鱼花的超微弱发光在 430 nm 左右也有一较强的峰, 这说明大光金鱼花的超微弱发光与叶绿素的生理功能有关, 与叶绿素 a 有一定的内在联系。而大光金鱼花的超微弱发光光谱在 575~620 nm 之间依然有峰值出现, 说明叶片的超微弱发光不能简单归因于叶绿体光合作用的电子传递, 还需进一步研究其光谱特征。

2 不同叶位叶片的光子计数分布随波长的变化

图 2 是叶片 1、3、6、9 的超微弱发光的光子计数分布随波长的变化图形, 其他叶片的计算方法与此类似。图中纵坐标(计数频率)表示在 100 s 内记录的各光子数出现的频率。

为了比较不同叶位叶片的光子计数分布随波长的变化, 采用朱延彬等(1999)以实测数据的方差与拟合泊松分布方差的偏差 $N = |(\delta^2_{\text{实测}} - \delta^2_{\text{拟合}}) / \delta^2_{\text{实测}}| \times 100\%$, 对各叶片的光子计数分布进行计算, 并做出叶片光子计数分布与理论泊松分布的偏差随波长的变化分布图形。从图 3 可以看出, 叶片 1~9 的实验数据对泊松分布的偏差(即 N 值)各不相同, 但基本上老叶(8、9)和幼叶(1、2)的变化规律相同, 都是在 400~440 nm 之间随波长的增加而下降, 到 440 nm 处降到最低值; 在 460 nm 处出现一个峰值, 随后又下降; 在 490~575 nm 之间 N 值随着波长的增加而增加, 到 555 nm 时 N 值又增大到最大, 再次出现一个峰值, 然后又下降; 但在长波段 620~640 nm 处又有增大的趋势。而成熟叶片(3~7)的偏离程度随波长的变化比较紊乱。

3 不同波长下叶片光子计数分布的统计描述

为了说明叶片光子计数分布与理论泊松分布的偏差(N 值)随波长的变化, 我们做了单因素的方差分析(表 1), 结果表明, 叶片 N 值随波长的加大而有改变($P<0.05$)。我们又对各组作了两两比较的结果(表 2)表明, 将各组与 400 nm 比较, 只有 490 和 555 nm 这两个组差异具有统计学意义, 其他组差异无统计学意义; 将各组与 460 nm 比较时, 除了 400 和 555 nm 组差异无统计学意义, 其

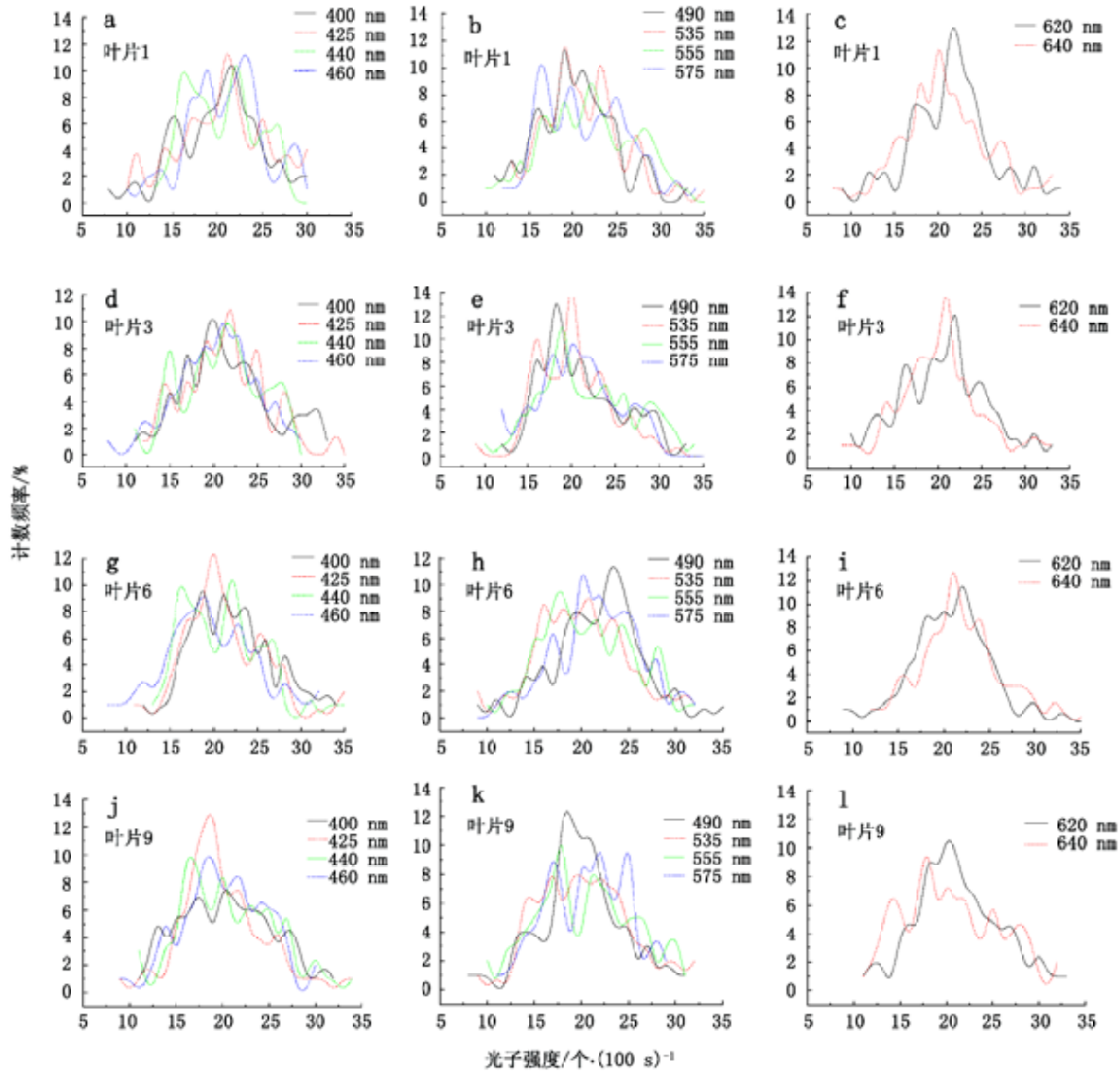


图2 不同叶位叶片超微弱发光的光子计数分布随波长的变化分布

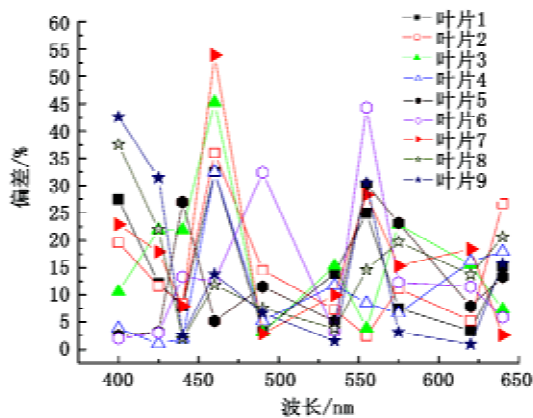


图3 叶片光子计数分布与理论泊松分布的偏差随波长的变化

表1 不同波长的光子计数分布与理论泊松分布偏差的单因素方差分析

波长/nm	N	$\bar{x} \pm s$	F	P
400	9	18.80±15.18		
425	9	13.83±10.35 [#]		
440	9	10.34±8.91 [#]		
460	9	27.05±16.91		
490	9	6.46±4.13 ^{###}	3.101	0.003
535	9	8.01±4.94 ^{###}		
555	9	20.87±14.23 [*]		
575	9	13.53±7.25 [#]		
620	9	10.32±6.15 [#]		
640	9	14.14±8.05 [#]		

与400 nm比较, * $P < 0.05$; 与460 nm比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$; 与555 nm比较, $P < 0.05$, $P < 0.01$ 。

表2 在不同波段中的光子计数分布与理论泊松分布偏差的两两比较

波长 /nm	波长 /nm									
	400	425	440	460	490	535	555	575	620	640
400	—									
425	4.98	—								
440	8.46	3.48	—							
460	8.24	13.22*	16.70**	—						
490	12.34*	7.37	3.88	20.59**	—					
535	10.79*	5.81	2.33	19.03**	1.55	—				
555	2.06	7.04	10.52*	6.18	14.41**	12.85*	—			
575	5.27	0.29	3.19	13.51**	7.07	5.52	7.33	—		
620	8.48	3.50	0.02	16.72**	3.86	2.31	10.54*	3.21	—	
640	4.66	0.31	3.80	12.91*	7.68	6.13	6.73	0.61	3.82	—

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。表中数据为对比组均数之差。

他各组差异均有统计学意义；将各组与 555 nm 波长比较，440、490、535、620 nm 差异有统计学意义，其他组别差异无统计学意义。

讨 论

光子计数的统计分布是分析光子场特性的有效手段，近年来，许多学者对植物叶片的超微弱发光光谱特性进行了研究，但研究不同波长下叶片的光子计数分布不多见。

以大光金鱼花叶片为实验材料，初步分光谱段测试叶片在衰老过程中光子计数统计分布的结果表明，波长不同，叶片的光子计数统计分布也不同。但老叶与幼叶的光子计数分布的变化规律相同，而成熟叶片的光子计数分布的规律紊乱。这可能是由于成熟叶片内部复杂的化学发光比重较大，化学发光的反应对不同波长下叶片的光子计数统计分布会产生影响，故实验数据对泊松分布的偏离变得有些紊乱；而老年与幼年叶片体内的化学反应水平较低，故随波长的变化，其实验数据对泊松分布的偏离变化不大。在 440、575 nm 波长中所有大光金鱼花叶片的光子计数统计与泊松分布的偏离都较小，而大光金鱼花叶片的超微弱发光强度的光谱分布峰值也都在 440 和 555 nm

处。这说明叶片的光子计数统计反映出叶片的超微弱发光与叶绿体的生理功能有关，同时还可能与机体内的氧化代谢、细胞分裂或死亡、生长调节等生命过程也有关，这与甘子钊等人的理论也是一致的(甘子钊等 1996)。

总之，分光谱段测量大光金鱼花叶片超弱发光的结果不仅为有机体内信息传递等理论研究提供参考，也同时为生物学、医学、农业和环境保护等部门提供了新的生物物理学分析技术。

参考文献

- 甘子钊, 韩汝珊, 张学群主编(1996). 生命科学中的物理学: 北京: 北京大学出版社, 166~171
- 谭石慈, 邢达, 唐永红, 李德红(2000). 植物叶片超微弱发光光谱研究. 光子学报, 29 (11): 961~965
- 杨善元(1985). 叶绿素聚集体的延迟发光. 发光与显示, 6 (2): 149~154
- 张新萍, 岳霞丽, 胡先文, 陈建军, 董元彦(2005). 水华鱼腥藻超弱发光光谱研究. 化学与生物工程, (4): 50~54
- 赵占娟, 李光, 闫冰(2007). 大光金鱼花不同叶位叶片超微弱发光的光子计数统计. 植物生理学通讯, 43 (5): 909~912
- 朱延彬, 郭周义, 马俊富(1999). 生物光子场特性的初步研究. 光电子·激光, 10 (2): 63~66
- Jung HH, Yang JM, Woo WM, Choi C, Yang JS, Soh KS (2005). Year-long biophoton measurements: normalized frequency count analysis and seasonal dependency. J Photochem Photobiol B: Biology, 78: 149~154