文章编号：1000-5773(2005)03-0241-06

高压对小麦种子发芽和幼苗生长的影响初探*

梁 灵，张正茂，段旭昌，杨公明，李国龙

（西北农林科技大学食品科学与工程学院，陕西杨陵 712100）

摘要：以豫麦18号小麦种子为材料，初步探索了不同压力和时间对不同处理的小麦种子发芽的影响，并对95 MPa压力、不同时间处理下发芽种子幼苗的生长情况进行测定。结果表明：在50～95 MPa压力下，直接真空包装的小麦种子均丧失发芽能力；在不同压力和时间下处理直接加水包装的小麦种子，种子发芽受到显著抑制；将水浸6 h再加水包装的小麦种子在95 MPa压力下处理4 h，能抑制小麦种子的发芽势和发芽率，但抑制强度较弱，也表明水可以有效降低高压对小麦种子的损伤。在95 MPa压力下、不同时间处理的直接加水包装的小麦种子幼苗的平均苗高和幼苗鲜重均大于对照。

关键词：高压；种子发芽；幼苗生长；小麦

中图分类号：S512.11；O521.9 **文献标识码**：A

1 引 言

小麦育种最早是发现自然杂交变异和进行遗传性优良体系的选育，利用人工杂交选育新品种是最普遍和行之有效的方法。在现代育种中，转基因新技术、各种诱变处理育种等技术常被用来创造新材料[1～5]。

利用转基因新技术进行生物育种无疑是现有方法中最直接、最快捷的获得目标性状的有效手段，但该方法被警戒应防护自然资源基础和土壤营养平衡，以保证未来农业体系对环境形成尽可能小的危害[4,5]。徐世平、廖耀平、翁克难等认为，辐射诱变是物理诱变中最有效的方法，该方法是将高能粒子直接作用于DNA靶分子，使其产生各种类型的损伤，因而可以产生多种类型的变异。由于并非所有细胞都同时受到高能粒子的作用，故当代突变的几率不大，相同基因突变的几率就更小，品种提纯需要若干世代[6]。高压诱变是使萌动的种子在高压环境中进行。在高压环境下合成蛋白质和DNA的小分子如氨基酸、核糖核酸、碱基以及酶的化学行为与在常压环境下有所不同，可能导致新“复制”的DNA在结构上产生变化。由于所有细胞都处于相同的高压环境，种植当代就可以产生相对集中的性状变异并迅速稳定。高压诱变在作物育种方面仅在水稻上作过尝试，认为高压不仅能影响水稻的生长发育，而且可以使水稻产生不育系和变异[6～11]。

压力是影响化学反应速度和平衡以及蛋白质构型的基本热力学变量之一[9]。Johnson在20世纪50年代就发现，麻醉后的蝌蚪经大约10 MPa的压力处理后可以复苏[12]。Saltveit等用12 MPa的高压氦气和氮气处理植物组织，发现冷锻炼过的黄瓜子叶、黄瓜胚轴部分和西红柿果皮冷冻伤害的程度加重，膜发生相变导致柔顺性变化，植物冷冻伤害的阈值温度提高2～6 ℃，并认为某些细胞成分可能受到影响[10]。

* **收稿日期**：2004-02-25；**修回日期**：2004-07-12

基金项目：国家重点科技攻关计划(2001BA511B03)；陕西省科技攻关计划

作者简介：梁 灵(1971—)，女，博士，主要从事谷物化学与粮油品质研究. E-mail：ykhll@sina.com

通讯作者：张正茂(1961—)，男，研究员，主要从事旱地小麦育种和小麦品质研究. E-mail：zhengmaoz@sohu.com

本研究利用高压对小麦种子进行处理,以期确定高压对小麦种子处理的合理参数以及对小麦幼苗生长的影响,通过研究高压对小麦生长发育的影响,探索高压诱变进行小麦育种的可能性,为进一步研究高压技术在小麦育种上的应用奠定基础。

2 材料与方法

2.1 材料

选用全国小麦区域实验黄淮冬麦区南片春水组对照品种豫麦18号为实验材料,材料由西北农林科技大学小麦研究所提供。

2.2 方法

2.2.1 实验设计

采用压力和时间两个因素的完全正交实验方案,确定压力和时间对小麦发芽的影响。根据检索的文献资料,分别设50、65、80、95 MPa共4个压力水平,处理时间分别为4、8、12 h。同时设不进行高压处理为对照。

2.2.2 种子处理方法

对小麦种子分别采用三种方法进行处理,一是干种子直接塑封真空包装;二是干种子直接加水塑封包装,现处理现包装;三是将干种子用水浸泡6 h再加水塑封包装。每袋装小麦种子150 g左右。

2.2.3 高压处理方法

高压设备为西北农林科技大学食品科学与工程学院与包头科发新型高技术食品机械有限责任公司联合研制的高压食品加工装置,型号为15L-800型,高压介质为耐高压油,压力和时间均由机器自动控制,最高压力为800 MPa。高压处理之前,先开机预热机器30 min,待机器稳定后,设置压力和时间,将包装好的种子装入金属网桶,置入高压腔内高压介质中,安装高压阀门,开动仪器,待压力升至设定值时开始记时,高压处理达到设定时间后手动卸压,取出种子,清洗其表面的高压油,做发芽实验。

为了节省材料,减少实验工作量,先将直接真空包装和直接加水包装的小麦种子同时处理,再根据其发芽实验结果,小麦种子萌发生理以及尽可能的得到变异,确定将小麦种子用水浸泡6 h,再加水包装,只在95 MPa压力下处理4 h做发芽实验。同时设对照实验。

2.2.4 发芽实验方法

取直径为10 cm的培养皿,铺2层吸水滤纸,将经高压处理的小麦种子100粒放于培养皿中,加水淹没种子,置于23 ℃的恒温培养箱内12 h,倒出水,再用水冲洗几次,倒净流水,放入恒温培养箱内发芽,每天换一次水,每个处理重复2次。记录发芽数,发芽以长出胚芽为麦粒一半为标准,3 d的发芽平均百分数为发芽势,7 d的发芽平均百分数为发芽率。同时设对照实验。

2.2.5 幼苗生长情况测定

考虑到在一定的范围内,压力越大,变异的可能性越大。为了探索高压对小麦幼苗生长情况是否有影响,只将直接加水包装95 MPa压力下不同时间处理的种子,将发芽7 d后的幼芽移栽于直径为10 cm装满沙子的培养皿中,置于温度约为10～15 ℃的室内生长,考虑到室内光线较暗,白天用1 kW生物灯补光4 h/d。幼苗生长20 d,从沙盘中小心取出全部幼苗,用水冲干净幼苗上的沙粒,用滤纸吸干表面水分;用万分之一天平称重,精确到小数点后4位数;用直尺测量苗长,以麦粒到最长苗尖端为准,精确到小数点后2位数。同时随机取5个对照幼芽做为对照。

3 结果与分析

3.1 高压对小麦种子发芽的影响

3.1.1 高压对直接真空包装的小麦种子发芽的影响

高压处理小麦种子的发芽,依种子的处理方式和高压参数而变化。直接真空包装的小麦种子,经50～95 MPa高压处理4～12 h后,均完全失去了发芽能力。表明在一定高压和一定时间范围内,可以使直接真空包装的小麦种子致死。

3.1.2　高压对直接加水包装的小麦种子发芽的影响

直接加水包装的小麦种子,经高压处理后虽然有发芽,但发芽势和发芽率均很低,而且发芽情况与压力和时间有关。不同压力和时间处理的小麦种子最高平均发芽势和发芽率均为 2.5%,最低平均发芽势和发芽率均为 0.5%,远远低于对照(表 1)。实验结果表明,高压对直接加水包装的小麦种子发芽具有强烈的抑制作用。

表 1　高压处理对小麦种子发芽的影响

Table 1　Effect of high pressure on seed germination of wheat

Test number	Pressure/(MPa)	Time/(h)	Germination power/(%)	Germination rate/(%)
1		4	2.0	2.5
2	95	8	1.5	2.0
3		12	0.5	0.5
4		4	2.0	2.0
5	80	8	1.0	1.0
6		12	0.5	0.5
7		4	1.5	1.5
8	65	8	1.5	1.5
9		12	0.5	0.5
10		4	2.5	2.5
11	50	8	1.0	1.5
12		12	0.5	0.5
CK			85.0	94.0

由于对照的发芽势和发芽率远远大于经高压处理的种子,为了保证高压对小麦种子发芽影响的结果分析的可靠性,去掉对照的影响,分别对不同压力和时间处理的小麦种子发芽势和发芽率做两因素无重复方差分析。结果表明,在 50～95 MPa 压力下处理的小麦种子的发芽势和发芽率之间无显著性差异,在高压处理 4～12 h 内的小麦种子,其不同处理时间对小麦种子的发芽势和发芽率的影响有显著差异(表 2、表 3)。

表 2　不同高压处理的小麦种子发芽势的方差分析

Table 2　The analysis of seed germination power of wheat treated by high pressure

Variation origin	df	SS	MS	F	F_α	
					5%	1%
Among pressure	3	0.0833	0.0278	0.25	4.75	9.78
Among time	2	4.5000	2.2500	20.25(1)	5.14	10.92
Error	6	0.6667	0.1111			
Total variation	11	5.2500				

Note:(1) Show significant diversity.

表 3　不同高压处理小麦种子发芽率方差分析

Table 3　The analysis of seed germination rate of wheat treated by high pressure

Variation origin	df	SS	MS	F	F_α	
					5%	1%
Among pressure	3	0.5625	0.1875	1.8	4.75	9.78
Among time	2	5.3750	2.6875	25.8(1)	5.14	10.92
Error	6	0.6250	0.1042			
Total variation	11	6.5625				

Note:(1) Show significant diversity.

由于高压处理小麦种子的时间因素对发芽势和发芽率的影响经F检验为极显著，故对其进行多重比较，结果为：小麦种子在50～95 MPa压力下分别处理4、8、12 h，不同处理时间对小麦种子的发芽势和发芽率的影响均有显著性差异。经高压处理4 h和12 h的小麦种子的发芽势之间和发芽率之间均有极显著差异；经高压处理8 h和12 h的小麦种子的发芽率之间的差异极显著(表4)。

表4 压力、时间的差异显著性

Table 4 The difference degree of pressure and time

Pressure /(GPa)	Germination power /(%)	Germination rate /(%)	Time /(h)	Germination power /(%)	Germination rate /(%)
95	1.33	1.67	4	2.00 a A	2.13 a A
80	1.17	1.17	8	1.25 b AB	1.50 b A
65	1.17	1.17	12	0.50 c B	0.50 c B
50	1.33	1.50			

Note: The different letters of a, b and c showed that there were significant diversity at 5% level, and A, B and C at 1%.

3.1.3 高压对水浸泡后加水包装的小麦种子发芽的影响

考虑到加水包装直接进行高压处理，小麦种子发芽势和发芽率低，而且在同一时间内、在50～95 MPa压力之间对小麦种子发芽势和发芽率的影响差异不显著，以及各压力下处理4 h的小麦种子发芽势和发芽率较大，故将小麦种子用水浸泡6 h后，加水包装，在95 MPa压力下处理4 h，做发芽实验，同时设对照。实验结果为，高压处理的小麦种子的发芽势和发芽率分别为80.5%和89.5%；对照的发芽势和发芽率分别为85.0%和94.5%。表明小麦种子经水浸泡一定时间后，再进行高压处理能抑制小麦种子的发芽势和发芽率，但抑制强度较弱，也表明，水可以有效降低高压对小麦种子的损伤。

3.2 高压对小麦幼苗生长的影响

加水直接包装的小麦种子，在95 MPa压力下，分别处理4、8、12 h后，做发芽实验，在发芽7 d后，将发芽的麦种均匀移栽于装满沙子的10 cm培养皿中，一个培养皿内最多栽5粒麦种。结果表明，经高压处理的小麦幼苗的平均苗高和鲜重均大于对照(表5)。可以初步确定，高压处理的小麦种子对其幼苗的生长有一定的影响，而且表现出生长旺盛趋势。对不同处理之间的苗高进行单因素非等重复方差分析，结果表明，不同处理及对照之间的差异极显著(表6)。

表5 高压处理对小麦幼苗生长的影响

Table 5 Effect of height pressure on seedling growth of wheat

Test number	Pressure/(MPa)	Time/(h)	Average seedling height/(cm)	Average fresh weight/(g)
1		4	22.74 a A	0.3635
2	95	8	18.20 c B	0.3025
3		12	19.87 b B	0.2675
CK			14.98 c B	0.1177

Note: The different letters of a, b and c showed that there were significant diversity at 5% level, and A, B and C at 1%.

表6 不同高压处理小麦苗高方差分析

Table 6 The analysis of seedling height of wheat treated by high pressure

Variation origin	df	SS	MS	F	F_α 5%	F_α 1%
Among time	3	153.6219	51.2073	12.825(1)	3.7083	6.5523
Error	10	39.9267	3.9927			
Total variation	13	193.5486				

Note: (1) Show significant diversity.

进一步多重比较可得,在 95 MPa 压力下处理 4 h 的苗高与处理 8、12 h 及对照的苗高之间达到极显著性差异;在 95 MPa 压力下处理 12 h 的苗高与处理 8 h 及对照的苗高之间的差异显著;在 95 MPa 压力下处理 8 h 的苗高与对照的苗高之间的差异不显著(表 5)。经高压处理的幼苗鲜重均大于对照,而且随着处理时间的加长,幼苗平均鲜重呈降低趋势,表明高压处理小麦种子对其幼苗的生长发芽,在 4 h 内能促进幼苗的生长,但超过 4 h 幼苗的生长可能会减缓。

4　小结与讨论

高压处理小麦种子对其发芽有抑制作用,抑制作用的强弱程度不仅因高压过程中种子的处理方式而不同,而且与高压参数有关。已有研究表明,极端高压可以使细胞结构,主要是膜的结构受到破坏,压力肯定能对蛋白质三级和四级结构产生作用,而且不同的蛋白质对压力的响应有很大的不同[12,13]。直接真空包装的小麦种子,在 50～95 MPa 压力下处理 4～12 h 均不能萌发。可能是由于真空包装缺少气体,小麦种子呼吸作用比较微弱,在受到高压而且缺氧的情况下,种子内的蛋白质,特别是酶变性致死,而导致种子死亡。

加水包装的小麦种子,在 50～95 MPa 压力下处理 4～12 h 有个别发芽。虽然有足够水分和少量气体供种子萌动,但在种子开始吸水时,就受到高压,这不但会使种子内促进种子萌动的酶类活性受到抑制,而且可能使蛋白构象发生变化,细胞膜透性增大,影响离子通道,使微管解聚以及引起钙从膜类脂质中流失等[12,13]从而使种子发芽力降低,所以只有个别种子发芽。

水浸 6 h 的小麦种子,在 50～95 MPa 压力下处理 4 h,其发芽势和发芽率均较高。是由于种子在水浸 6 h 时已充分吸足了水分,而且已开始萌动,萌动的作物种子内部生理代谢活性开始旺盛进行,细胞处于快速分裂增殖和分化时期,呼吸作用大大增强,生命力很旺盛,即使在高压下,种子发芽受抑制也不会很大,只是部分没有萌动的种子受抑制较大。但是,在细胞处于快速分裂增殖和分化时期,施加一个外来压力,其 DNA 的复制、转录和翻译过程都可能受到影响,同时也可能会诱导或抑制某些基因的表达或基因的突变,从而诱导作物产生新的变异,这还有待于进一步研究。

高压使小麦幼苗生长力增强。因为植物的生长发育过程是一个复杂的合成-代谢过程,受多种物理、化学因素的影响。小麦种子在受到高压处理时,其细胞以及蛋白质结构和组成发生变化,胚乳淀粉性质也有所变化。另外,压力可能导致“压力诱导”蛋白的形成。这些变化可能使幼苗生长过程中代谢作用增强,生长旺盛以及发生一些变异。“压力冲击”诱导蛋白不仅已经通过双向聚酰氨凝胶电泳同时在 mRNA 水平也获得证实[13]。受压小麦的上述生理变化是否与压力诱导蛋白的形成有关还需作进一步的研究。

References:

[1] Liu W, Song Y F, Zhou Q X, et al. Effect of Chlorobenzene-Stress on Seeds Germination and Seedling Growth of Wheat [J]. Agro-Environmental Protection, 2001, 20(2): 65－68. (in Chinese)
刘　宛,宋玉芳,周启星,等. 氯苯胁迫对小麦种子发芽和幼苗生长的影响 [J]. 农业环境保护,2001,20(2):65－68.

[2] Wang A X, Fu N. Advance of Creating Plant Seeds Resources Using Gene Engineering [J]. Science Chinese, 1998, 11:55－58. (in Chinese)
王傲雪,付　宁. 基因工程创造植物种子资源的研究进展 [J]. 科学中国人,1998,11:55－58.

[3] Shen R D, Li X W, Peng Y S, et al. Studies on the Effects of Gradient Magnetic Field to Seed of Winter Wheat [J]. Acta Laser Biology Sinica, 1999, 8(3):190－193. (in Chinese)
沈人德,李晓薇,彭运生,等. 剃度磁场对冬小麦种子萌发影响的机理研究 [J]. 激光生物学报,1999,8(3):190－193.

[4] He Z H, Zhang A M. Advance of Wheat Breeding in China [M]. Beijing: China Science Technology Press, 2002. (in Chinese)
何中虎,张爱民. 中国小麦育种研究进展 [M]. 北京:中国科学技术出版社,2002.

[5] Cline M N, Esfeld M A. Hybridization: Bringing New Energy to Wheat [J]. Cereal Food World, 1998, 43(1):5－10.

[6] Xu S P,Liao Y P,Weng K N,et al. Pressure Induced Rice Mutation and Effects of High Hydrostatic Pressure on the Growth and Development of Rice [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics,2001,15(4):241－248. (in Chinese)
徐世平,廖耀平,翁克难,等. 水稻压致变异和高压对水稻生长发育的影响 [J]. 高压物理学报,2001,15(4):241－248.

[7] Bai C K,Li G S,Peng C L,et al. Preliminary Study of Rice Mutants Induced by High Hydrostatic Pressure [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany,2003,11(2):132－136. (in Chinese)
白成科,李桂双,彭长连,等. 高静水压诱导水稻变异的初步研究 [J]. 热带亚热带植物学报,2003,11(2):132－136.

[8] Gross J R. Proteins under Pressure, the Influence of High Hydrostatic Pressure on Structure, Function and Assembly of Proteins and Protein Complexes [J]. Eur J Biochem,1994,221:617－630.

[9] Johnson F H,Flagler E A. Hydrostatic Pressure Reversal of Narcosis Tadpoles [J]. Science,1950,112:91－92.

[10] Saltveit M M Jr. Effect of High Pressure Gas Atmospheres and Anaesthetics on Chilling Injury of Plants [J]. J Exp Bot,1993,44(265):1361－1368.

[11] Nordmeier E. Effects of Pressure on the Helix-Coil Transition of Calf Thymus DNA [J]. J Phys Chem,1992,96:1494－1501.

[12] Jaenicke R,Jannasch H W. Current Perspectives in High Pressure Biology [M]. London: Academic Press,1987. 252－175.

[13] Jaenicke R,Bernhardt G,Lude M,et al. Pressure Induced Alteration in the Protein Pattern of the Thermophilic Archaebacterium Methanococcus Thermolithotrphcics [J]. Appl Environ Microbiol,1998,54:2375－2380.

Effect of High Pressure on Seed Germination and Seedling Growth of Wheat

LIANG Ling,ZHANG Zheng-Mao,DUAN Xu-Chang,
YANG Gong-Ming,LI Guo-Long

(*College of Food Science and Technology,Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry,Yangling* 712100,*China*)

Abstract: Using the wheat seed of Yumai No. 18 as material, the effect of high pressure on seed germination and seedling growth of wheat was preliminary studied, and seedling growth of wheat that treated under 95 MPa pressure in various time was investigated. Results showed that, in 50～95 MPa pressure, all vacuum-packed seeds could not germinate; the germination of seeds that packed in water was inhibited significantly; the germination power and germination rate of seeds soaked for 6 h and packed in water were slightly inhibited. These indicated that water could alleviate the harm of high pressure to wheat seed. The average seedling height and seedling fresh weight of wheat seeds treated by 95 MPa pressure in various time both exceed CK.

Key words: high pressure; seed germination; seedling growth; wheat