文章编号：1000-5773(2003)02-0122-07

静水高压处理对水稻植株生理特性的影响*

李桂双[1,3]，白成科[1]，段 俊[1]，彭长连[1]，翁克难[2]，刘曙东[3]

(1. 中国科学院华南植物研究所，广东广州 510650；
2. 中国科学院广州地球化学研究所，广东广州 510640；
3. 西北农林科技大学农学院，陕西杨凌 712100)

摘要：以 75 MPa 静水高压处理萌动的水稻种子 12 h，成苗后移栽至大田，研究高压处理后植株剑叶光合特性的变化。结果显示，静水高压处理后，粤香占和粤丰占种子的发芽率分别降低了 14.4% 和 16.6%，成苗率分别降至对照的 24.6%和 21.9%，生长明显受抑制，幼苗的株高在 35 天左右才能追赶上对照。高压处理的粤香占剑叶在生育过程中的净光合速率(P_n)和表观量子效率(AQY)的总平均值分别比未处理的对照增加了 9.2%和 12.4%，而粤丰占则分别增加 5.7%和 17.4%。高压处理后两个品种的植株叶片不同生长时期的平均光合色素含量均高于未处理的对照，在生长后期的衰老过程中高压处理植株剑叶的色素含量和 PSⅡ光化学效率 F_v/F_m 下降速率较各自的未处理对照缓慢。高压处理后两个水稻品种的生物量和单株产量分别比对照提高了 8%～27%及 7%～14%。提出高压处理可能作为一种新的选育品种的方法。

关键词：水稻；静水高压处理；生理特性
中图分类号：S129；Q945.11 **文献标识码**：A

1 引 言

高压技术不但在物理学领域的研究应用已非常广泛和深入，而且在生物学领域也被广泛应用，如高压灭菌和高压保鲜等。高压对微生物的影响以及微生物对高压适应的研究已有很长的历史。随着人们在深海 11000 m 处发现嗜压细菌 Barophilic Bacteria[1]和实验室条件下发现微生物细胞在 1680 MPa 极高压力下仍具有代谢活性[2]，使人们开始重新思考生命的起源和进化是否与高压有关。近几年兴起的高压分子生物学也在全球掀起了一次研究高压的热潮。有研究表明，高压不但影响生物组织的细胞膜、显微结构等[3,4]，而且对淀粉[5]、蛋白质等生物大分子和 DNA、RNA 等遗传物质产生影响[6,7]。虽然高压对微生物和生物大分子研究比较深入，但是高压对高等植物影响的研究却刚刚起步。徐世平等利用静水高压处理萌动的水稻种子，结果发现静水高压影响水稻的生长，而且筛选出丰富的变异株[8,9]。应用静水高压技术处理高等植物种子，使其发生变异，进而筛选出一些有应用潜力的突变株系，在国内外尚处于尝试阶段。本研究以静水高压处理的水稻当代群体为主要研究对象，初步探讨了处理后的水稻当代的生长及生理特性的变化，为进一步研究高压诱变育种奠定理论基础。

* **收稿日期**：2002-11-26；**修回日期**：2003-01-21
基金项目：国家自然科学基金(30070426)；中国科学院农业办公室重点资助项目和国家重大基础研究发展项目(G1998010100)
作者简介：李桂双(1975—)，女，硕士研究生.

2　材料与方法

2.1　高压处理

水稻粤香占(Oryza sativa L. cv. Yuexiangzhan)和粤丰占(Oryza sativa L. cv. Yuefengzhan)种子由广东省农科院水稻研究所提供。将水稻种子在室温下浸种 10 h,待其萌动后,在高压处理装置中(包括高压容器、手动试压泵、循环水加热系统和温度、压力测量控制系统,由广州地球化学研究所提供)以 75 MPa 的静水压力处理 12 h 后卸压。以未经高压处理的种子为对照,再以常规方法催芽育秧,秧苗叶片达 4～5 片时种植于中国科学院华南植物研究所试验田中,株距 19 cm,行距 24 cm,常规水肥管理和病虫害防治。实验时以全展的剑叶为实验材料。

2.2　光合速率的测定

用叶圆片氧电极测定光合放氧速率,设置 0、10、25、50、75、100、125、150 和 800 μmol/(m^2 · s)等系列光强,饱和 CO_2,温度为 25 ℃。

2.3　叶绿素荧光测定

选择天气晴朗的日子,于下午 14:00 用脉冲调制荧光仪(PAM101/102/103,Walz,Germany)测定叶片的叶绿素荧光参数 F_v/F_m。

2.4　光合色素含量的测定

以 80%丙酮浸提,UV-V 分光光度计(Lambda 25,Perkin Elmer Inc.,USA)测定 663、645 和 440 nm 波长下的吸收值,按林植芳等[10]的方法计算色素含量。

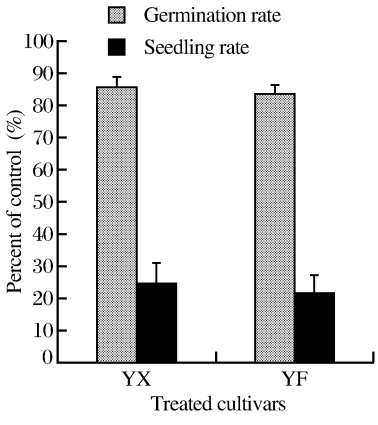
2.5　考种方法

收获前在田间测定各株系的株高,收获时采用 5 点取样法,每个株系分别收割 10 株,风干后考种,考查有效穗数、穗粒数、饱满率、单株生物量和单株产量。

3　结果与分析

3.1　静水高压对水稻种子发芽率、成苗率和生长的影响

从图 1 可以看出,静水高压处理水稻种子以后,粤香占和粤丰占种子的发芽率较未处理的对照分别下降了 14.4%和 16.6%。然而这些种子发芽后,出现很多透明的"玻璃芽",这部分芽几乎不含叶绿素,大部分播种到秧床上不能成活,致使成苗率甚低,高压处理后的粤香占和粤丰占成苗率分别只有未处理对照的 24.6%和 21.6%。高压处理后成活的幼苗生长受到抑制,播种后 25 d 之前的苗高低于对照,之后生长加速,约在播种后 35 d 左右株高已接近对照,见图 2。



(YX:cv. Yuexiangzhan, YF:cv. Yuefengzhan. The same labeling is in Fig. 2～Fig. 6 and Table 1)

图 1 静水高压对水稻种子发芽率和成苗率的影响

Fig. 1　Effect of high hydrostatic pressure on germination rate and seedling rate in rice seed

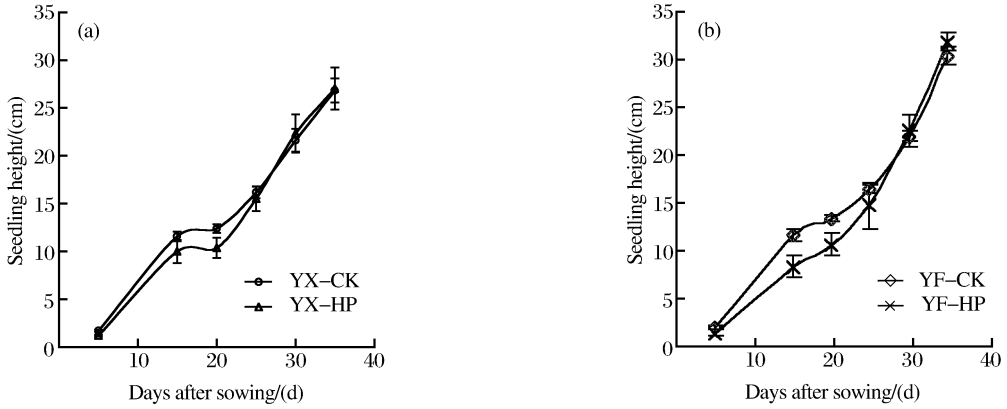
3.2　叶片光合速率和表观量子效率的变化

比较 2 个水稻品种经静水高压处理后剑叶净光合速率和表观量子效率的变化(图 3)。高压处理的粤香占和粤丰占与各自的对照相比,剑叶 P_n 的变化趋势一致,先上升后下降,高压处理后叶片在不同发育时期 P_n 总的平均值分别比对照增加了 9.2%(粤香占)和 5.7%(粤丰占),见图 3(a)、(b)。不同处理间 AQY 也存在明显差异,高压处理粤香占的

AQY 除播种后 97～105 d 外，都比对照高；高压处理粤丰占的 AQY 在不同时期都明显比对照高，见图 3(c)、(d)，静水高压处理的粤香占和粤丰占的 AQY 总平均值分别比对照高 12.5%(粤香占)和 17.5%(粤丰占)。高压处理植株的 P_n 和 AQY 分别高于对照，表明经静水高压处理后，存活的水稻植株剑叶的光合功能有了一定程度的改善。

3.3 叶片光合色素含量的变化

粤香占经高压处理后的叶绿素含量在剑叶全展后的不同时期中都高于其未处理对照，在播种后 112 d 时对照和处理的叶绿素含量均达到最大值，随后都迅速下降，且对照的下降速度快于高压处理，显示高压处理能延缓粤香占叶片的衰老，见图4(a)。粤丰占的高压处理与其对照相比，在播种后56～



(CK: Control, HP: High pressure treatment. The same labeling is in Fig. 3～Fig. 6 and Table 1)

图 2 静水高压对水稻幼苗生长的影响

Fig. 2 Effect of high hydrostatic pressure on growth of rice seedlings

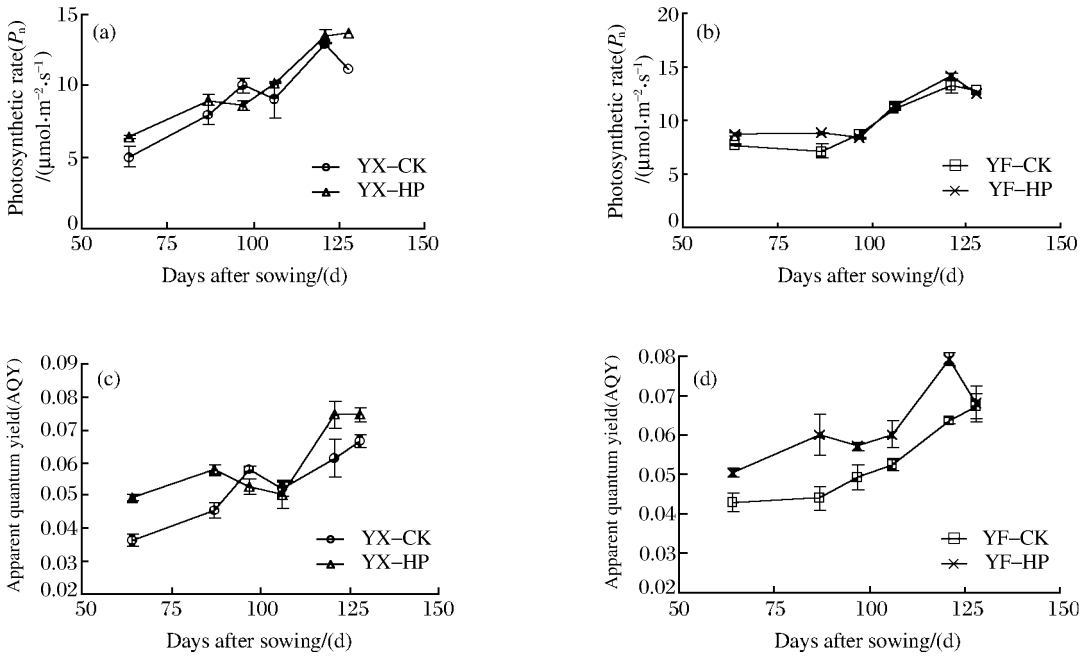


图 3 静水高压对水稻剑叶光合速率和表观量子效率的影响

Fig. 3 Effect of high hydrostatic pressure on photosynthetic rate (P_n) and apparent quantum yield (AQY) in rice flag leaves

97 d 之间的叶绿素含量低于对照,而后高压处理赶上并开始超过了对照,两者在 112 d 都达到最大值,随后对照和处理都迅速下降,但高压处理的下降速度比对照慢,见图 4(b)。

两个品种的类胡萝卜素的含量变化表现出和叶绿素含量变化一致的趋势,粤香占高压处理的类胡萝卜素含量一直比对照高,且后期出现含量迅速下降的时间比对照晚 9 d。而粤丰占对照在前期虽然比高压处理的含量高,但后期时经高压处理的却超过对照,其开始下降的时间也比对照推后 5 d(图 5)。

3.4　水稻叶片的叶绿素荧光特性的变化

如图 6 所示,粤香占和粤丰占的 PSⅡ原初光化学效率(F_v/F_m)受静水高压的影响不明显,但在衰老后期的下降速率较对照缓慢。

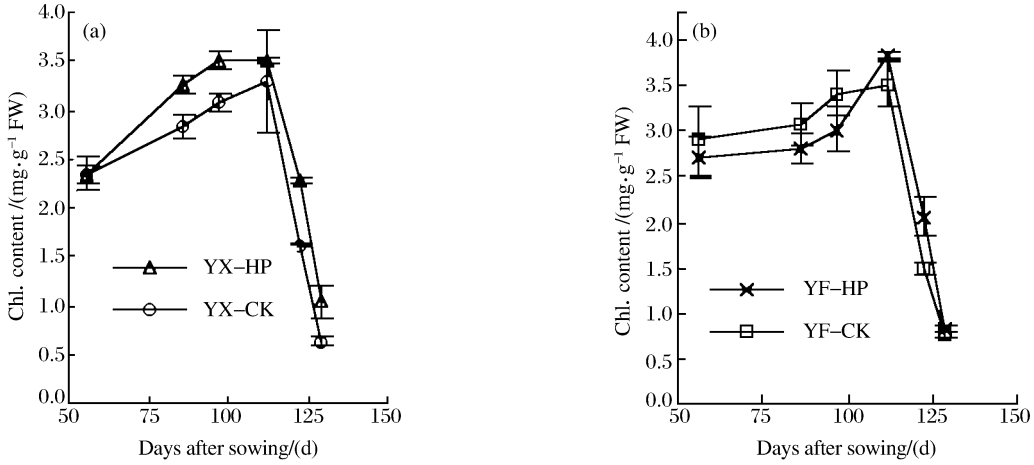


图 4　静水高压对水稻剑叶叶绿素含量的影响

Fig. 4　Effect of high hydrostatic pressure on chlorophyll content in rice flag leaves

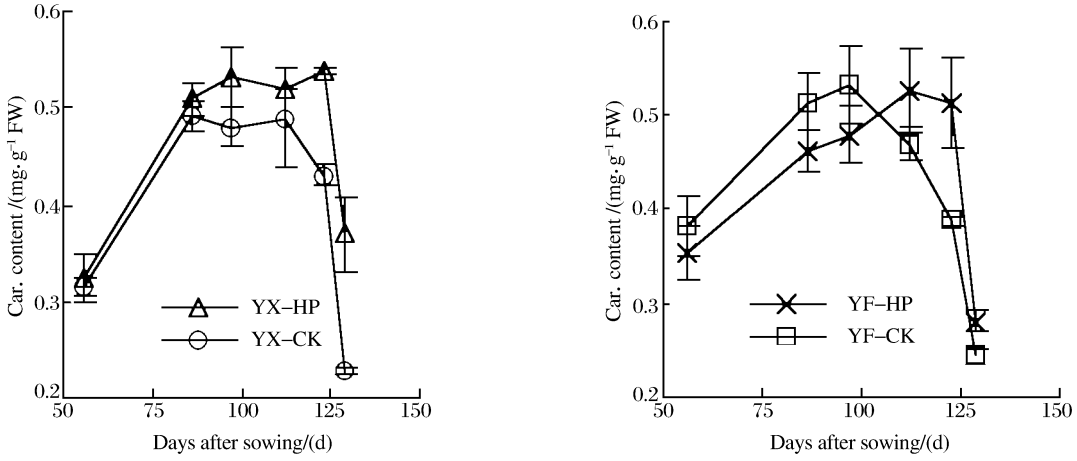


图 5　静水高压对水稻剑叶类胡萝卜素含量的影响

Fig. 5　Effect of high hydrostatic pressure on carotenoid content in rice flag leaves

3.5　与产量有关的性状变化

静水高压处理后,粤香占和粤丰占的有效穗数比对照平均增加 2～3 穗,每穗粒数粤香占比对照明显增加,粤丰占却比对照减少,但饱满粒比率的变化趋势则相反,粤丰占的饱满率高于未处理对照,而粤香占却比其对照降低。两个品种经高压处理后单株生物量都比对照明显增加,粤香占增加了 27.1%,粤丰占增加了 7.8%,单株产量也相应增加 14.0%(粤香占)和 7.7%(粤丰占)。

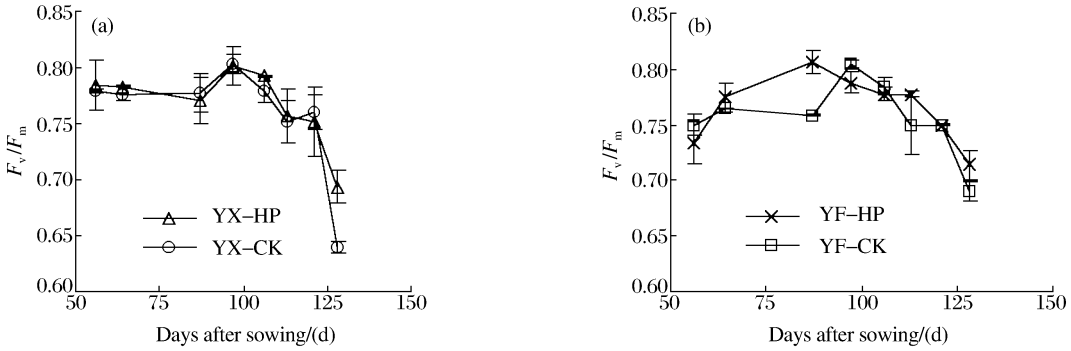


图 6 静水高压对水稻剑叶 F_v/F_m 的影响

Fig. 6 Effect of high hydrostatic pressure on F_v/F_m in rice flag leaves

4 讨 论

Saltvait 等曾报道经高压处理的植物组织细胞膜的结构发生了改变[11]，从而伤害到细胞膜的功能。本研究以静水高压处理萌动的水稻种子后两个品种的发芽率和成苗率显著下降(图 1)，叶绿素合成受到抑制，出现大量玻璃化苗(结果未显示)。成活的幼苗生长在播种后 25 d 之前受到抑制，但约 35 d 左右生长加速并略高于未经高压处理的对照(图 2)。高压对水稻的伤害与已报道的植物低温等逆境伤害导致膜系统的破坏、叶绿素合成受阻等的结果相似[12]，显示静水高压处理对于已萌动的水稻种子是一种逆境胁迫，在此逆境下能存活的部分幼苗中因高压逆境所造成的伤害在其后的生长过程中可以逐渐被修复。一旦修复后，这些经过高压逆境锻炼的植株在后期生长过程中较未处理的对照显示出较为明显的生理优势。首先，剑叶的光合色素如叶绿素和类胡萝卜素含量增加(图 4、图 5)，使叶片能够吸收更多的太阳光能用于同化 CO_2 而形成更多的光合产物。同时，较高的类胡萝卜素含量可增加其对叶绿素的保护作用。其次，高压处理后剑叶 AQY 和 P_n 均较未处理的对照要高(图 3)，显示高压逆境锻炼后叶片的光能利用效率和光合作用固定 CO_2 的速率得以提高，从而奠定了其高生物量和高产量的生理基础。此外，高压锻炼后叶片 PSⅡ光化学效率(F_v/F_m)和光合放氧(图 3、图 5、图 6)在衰老后期下降的速率较未处理的对照慢，光合色素含量出现快降期比对照迟(图 4)等特性，说明其光合功能在生长后期的衰退相对较慢。水稻产量的 80%来自生育后期叶片的光合产物，叶片光合功能的早衰是其产量的主要限制因子之一[13]。高压锻炼后水稻叶片光合功能衰老的延缓可能是其产量和生物量都高于对照(表 1)的另一个生理基础之一。前人的研究表明其它的逆境锻炼也能改善植物的生理功能，如水稻幼苗经低温锻炼后其光合作用的关键酶 Rubisco 的稳定性增强，而且胁迫后转入正常条件下其活性的恢复能力加快，抗冷力明显提高[14]。本研究中经高压逆境锻炼的两个水稻品种叶片的生理功能都得到了改善，生物量和产量都有不同程度的提高。

表 1 静水高压对两个水稻品种产量性状的影响

Table 1 Effect of high hydrostatic pressure on yield characters in two rice cultivars

Materials	Effective panicles	Numbers of grain per panicle	Percent of full seed (%)	Biomass per plant /(g DW)	Yield per plant /(g)
YX−CK	8.5±1.05	177.3±16.09	94.5±0.02	37.30±8.54	22.54±3.56
YX−HP	11.8±0.83(1)	217.8±15.05(2)	88.4±0.07	47.40±4.51(2)	25.70±2.22(1)
YF−CK	8.3±1.03	258.0±14.87	93.1±0.03	49.81±2.91	29.72±2.56
YF−HP	10.0±2.28(1)	191.2±9.12(2)	97.2±0.01	53.71±1.06	32.00±3.25(1)

Note: (1) and (2) indicate significant difference at 5% and 1% level($n=10$), respectively.

不同水稻的生理特性和产量特性对高压的响应有所差异,而且从不同的处理当代中可以发现一些形态和产量性状完全不同于对照的变异株系,有些变异甚至可以在后代中稳定遗传(结果另文发表)。因此,静水高压处理有可能为农业育种提供一条新的途径,进一步深入而系统研究植物对静水高压响应的生理和遗传机制具有重要的理论和实践意义。

本试验在处理材料过程中得到中国科学院广州地球化学研究所高温高压实验室律广才老师的帮助,论文撰写过程中得到了华南植物所林植芳教授的指导和帮助,特此致谢!

References:

[1] Chiaki K, Lina L, Yuichi N. Extremely Barophilic Bacteria Isolated from the Mariana Trench, Challenger Deep, at a Depth of 11,000 Meters [J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64: 1510－1513.

[2] Sharma A, James H S, George D C, et al. Microbial Activity at Gigapasscal Pressures [J]. Science, 2002, 295: 1514-1516.

[3] Dring G J. Some Aspects of the Effects of Hydrostatic Pressure on Microorganisms [A]. Skinner S A, Hugo V. Inhibition and Inactivation of Vegetative Microbes [C]. New York: Academic Press Inc, 1976.

[4] Hara A, Nagahama G, Ohbayashi A, et al. Effects of High Pressure on Inactivation of Enzymes and Microorganisms in Nonpasteurized Rice Wine (Namazake) [J]. Nippon Nogeik Kaishi, 1990, 64(5): 1025－1030.

[5] Ezaki S, Hayashi R. High Pressure Effects on Starch: Structural Change and Retrogradation [A]. Balny C, Hayashi R, Heremans K, et al. High Pressure and Biotechnology [C]. Colloque INSERM: John Libbey Eurotext Ltd, 1992, 224: 163.

[6] Cano M P, Hernandez A, Ancos B. High Pressure and Temperature Effects on Enzyme Inactivation in Strawberry and Orange Products [J]. J Food Sci, 1997, 62(1): 85.

[7] Heremans K. High Pressure Effects on Biomolecules [A]. Ledward D A, Johnston D E, Earnshaw R G, et al. High Pressure Processing of Foods [C]. Leicestershire: Nottingham University Press, 1995. 208.

[8] 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.

[9] Xu S P, Liao Y P, Xiao W S, et al. Effects of High Pressure on the Growth and Development of Rice [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 1999, 13(Suppl): 58－62. (in Chinese)
徐世平,廖耀平,肖万生,等. 高压对水稻生长发育的影响 [J]. 高压物理学报,1999,13(增刊):58－62.

[10] Lin Z F, Li S S, Lin G Z, et al. Superoxide Dismutase Activity and Lipid Peroxidation in Relation to Senescence of Rice Leaves [J]. Acta Bot Sin, 1984, 26: 605－615. (in Chinese)
林植芳,李双顺,林桂珠,等. 超氧化物歧化酶和脂质过氧化与水稻叶片衰老的关系 [J]. 植物学报,1984,26:605－615.

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

[12] Liu Z Q, Wang H C. Plant Cold Hardiness and Low Temperature Resistance Techniques [M]. Beijing: Academic Book Press, 1990. 33－48. (in Chinese)
刘祖祺,王洪春. 植物耐寒性及防寒技术 [M]. 北京:学术书刊出版社,1990. 33－48.

[13] Zhang R X, Dai X B, Xu X M, et al. Photosynthetic Function of Leaf and the Potential Photosynthetic Productivity of Crops [J]. J Nanjing Normal University (Natural Science), 1999, 22(3): 376－386. (in Chinese)
张荣铣,戴新宾,许晓明,等. 叶片光合功能期与作物光合生产潜力 [J]. 南京师大学报(自然科学版),1999,22(3):

376－386.

[14] Zhao J, Wang Y R, Li M R, et al. The Effect of Cold-Hardeding on Rubisco in Rice Seeding Leaves [J]. Acta Phytophysiol Sin, 1997, 23(2): 123－129. (in Chinese)
赵 军, 王以柔, 李美茹, 等. 低温锻炼对水稻幼苗叶片中 Rubisco 的影响 [J]. 植物生理学报, 1997, 23(2): 123－129.

Effect of High Hydrostatic Pressure Treatment on Physiological Characteristics of Rice Plants (Oryza sativa L.)

LI Gui-Shuang[1,3], BAI Cheng-Ke[1], DUAN Jun[1]
PENG Chang-Lian[1], WENG Ke-Nan[2], LIU Shu-Dong[3]

(1. *South China Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou* 510650, *China*;
2. *Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou* 510640, *China*;
3. *Department of Agronomy, Northwest Science-Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling* 712100, *China*)

Abstract: Seeds of two rice (Oryza sativa L.) cultivars, Yuexiangzhan and Yuefengzhan, were soaked for 10 h, and then were treated by 75 MPa high hydrostatic pressure for 12 h. Germination rates decreased to 85.6% (Yuexiangzhan) and 83.4% (Yuefengzhan) relative to the untreated, and seedling rates were only 24.6% (Yuexiangzhan) and 21.9% (Yuefengzhan). Plant growth was inhibited in both treated cultivars during the early growth stage of seedling, but could exceed that of the contrast after sowing of 35 d. The seedlings of the treated and untreated were transplanted in the field after sowing of 35 d. Photosynthetic characteristics were compared between the treated and untreated during flag leaf development (55～130 d after sowing). The average values of net photosynthetic rate (P_n) and apparent quantum yield (AQY) in treated cultivars increased by 9.2% and 12.4% (Yuexiangzhan), 5.7% and 17.4% (Yuefengzhan), relative to the untreated, respectively. The total average photosynthetic pigment content was higher in both treated cultivars than their untreated during different growth stage. During leaf senescence, both F_v/F_m and pigment content decreased slowly or lately in two treated cultivars than the untreated. Consequently, the biomass and grain yield increased by 8%～27% and 7.6%～14% in both treated cultivars. Several mutated strains with different morphological and yield characteristics could be selected from treated rice plants. The results suggested that high hydrostatic pressure treatment is possible served as a new method of breeding in the future.

Key words: rice; high hydrostatic pressure treatment; physiological characteristics