

文章编号:1000-582X(2003)09-0111-04

水稻种子对声波刺激的应激效应的实验研究*

府旗中,王珍,孙盼杰

(重庆大学生物工程学院,重庆 400044)

摘要:采用了一套自行研制的声波促进植物生长装置,以声波刺激为加载方式,以优良水稻种子为研究对象,研究了声波刺激对种子发芽率、发芽指数、幼苗高度、鲜重相对增加率以及生根、分根能力、根系活力和质膜通透性的影响作用。研究表明,400 Hz、106 dB 是对水稻种子刺激的最佳频率与声强,这时水稻种子的分根数明显增加,根系发达,质膜通透性降低,抗逆性增强。而一旦频率超过4 kHz、声强超过111 dB 对水稻种子有明显损伤作用,这表明适当的声波刺激对一些植物的生长具有促进作用,同时也验证了新装置的实用性。

关键词:声波刺激;水稻种子;生物学效应

中图分类号:Q25

文献标识码:A

植物生活在自然环境之中,不可避免地会受到各种外界环境因子的刺激,这些刺激对植物的生长发育过程产生不同程度和性质的影响,从而影响植物的产量和质量,进而对人类的生活质量和农业生产力的发展产生正面或反面的作用。研究这些环境因子的作用效果及其机理也就成了科学工作者们期待解决的必然课题,尤其在过去十多年来,环境应激与植物生长关系已越来越受到物理学家、生物学家、各类工程专家的共同关注。1993年细胞生物学家 D. E. Ingber^[1]说:“对于细胞生长说,仅靠生长因子是不够的,尽管有细胞形态发生变化的化学因素调控,其生物学模式(图式)却常常决定于其力学环境,这一点十分重要。”而生物力学的开拓者之一,美国三院院士冯元桢先生曾说过“应力—生长关系是生物力学的活的灵魂”,对植物生物力学的研究也应是如此。

目前国内关于植物感应外界刺激响应已开始从信号转导方面进行研究,刺激源除声波外,还有超声波、生物电磁场、微重力、机械振荡等。邱树毅等人于1999年对超声波在生物工程中的应用进行了详细综述报道,并指出较低强度的超声波可提高2倍的活性,增加膜的通透性和选择性,加速细胞代谢^[2]。国外就应力对植物刺激效应在基因水平上进行了逐步深入的研究,证明了应力影响植物生长发育还与基因表达有

关。迄今为止,已发现了5种与机械刺激相关的基因,它们分别为:TCH1, TCH2, TCH3, TCH4, TCH5,其中TCH1^[3]编码钙调蛋白,对环境刺激起着正调控作用。TCH3^[4]编码一种新的钙离子结合蛋白,功能就是调节靶蛋白的活性。TCH4^[5]是一种木质素内转糖苷酸(XET),能改变植物细胞壁的许多成分,从而引起组织和器官形状的改变。

声波作为交变应力的一种作用形式,其对植物生长的影响在国内外也已取得较好的研究成果,但机理研究还需不断的实验与实践。植物在发芽和生长过程中会发生一系列的生理生化变化,这些生理生化指标变化程度的大小直接反映了其生长速度的快慢。声波的作用会对植物的许多生理生化指标产生重要影响,这种影响表现出来的是促进作用还是抑制作用取决于声波的频率、强度和作用时间,并且对于不同的植物,起促进作用的最佳声频和声强可能各不相同,寻找其最佳声频和声强需要多次的实验研究及验证。文中采用新研制的声波促进植物生长装置对水稻种子进行加载实验,观察并测定声波刺激对水稻种子发芽、生长的一些生理生化指标的影响,初步探讨其作用机理。

1 材料和方法

采用单因子实验设计,选用同一批颗粒饱满的水

* 收稿日期:2003-04-17

作者简介:府旗中(1982-),男,江苏苏州人,重庆大学本科生,主要从事生物制药方向的研究。

稻种子,浸泡 12 h 后放于培养皿中,然后进行处理。实验分为 2 大组,共 10 个小组,每组 50 粒种子。首先,选定某一固定声频 400 Hz,选取声强分别为 96 dB, 101 dB, 106 dB 和 111 dB 进行加载处理,另加 1 个对照组;另一大组,选定某一固定声强为 106 dB,保持扬声器与水稻种子的距离不变,选取声频分别为 200 Hz, 400 Hz, 1 kHz 和 4 kHz 进行加载处理,并附加 1 个对照组,对所有实验组进行刺激,连续作用 2 天,每天作用 2 次,每次刺激 30 min,然后再在无刺激作用下,于 25 ℃ 恒温光照培养箱中培养 5 天。实验重复 3 次。

1.1 发芽指数、苗高度、鲜重相对增加率和分根数、根系总长的测定

采用培养皿纸上发芽法进行实验,根据每天的发芽数计算种子的发芽指数^[6]。计算公式是发芽指数 = $\sum(G_t/D_t)$ (G_t :在 t 时间内的发芽数; D_t :相应的发芽天数)。7 天后从每个小组中选取 15 颗种子,采用直接测定法测量苗高度、苗鲜重和分根数、根系总长,并计算出鲜重相对增加率。

$$\text{鲜重相对增加率}(\%) = \frac{M_i - M_{ck}}{M_{ck}} = \frac{\text{实验组鲜重} - \text{对照组鲜重}}{\text{对照组鲜重}} \times 100\%$$

1.2 根系活力的测定

根系活力的测定采用 TTC 法^[7](或称比色法),原理是 TTC 可作为脱氢酶作用的氢受体,而种子中脱氢酶活力的强弱与种子的活力成正相关。实验中用每克根中红四氮唑(TTC,又名 2,3,5-三苯基氯化四唑)的含量来表示活力的大小。

1.3 质膜通透性的测定

质膜通透性的测定采用测定水稻叶片组织外渗液电导率变化^[8]的方法。实验原理是,植物的细胞质膜是一种选择透过性膜,在受到极端温度、干旱、盐渍、重金属和大气污染等不利环境时会使质膜受到不同程度的损伤,使细胞质膜的透性增大,细胞内部分电解质外渗,从而使外渗液电导率增大。用 DDS-II A 型电导仪测定外渗液电导率可以反映质膜受损伤的程度。

2 结果与分析

2.1 不同强度的声波刺激下水稻发芽生长的生理学效应

通过上述实验,当声频固定为 400 Hz,而声强不同时,图 1 表示这种条件下的声波刺激对水稻发芽的生理学效应。

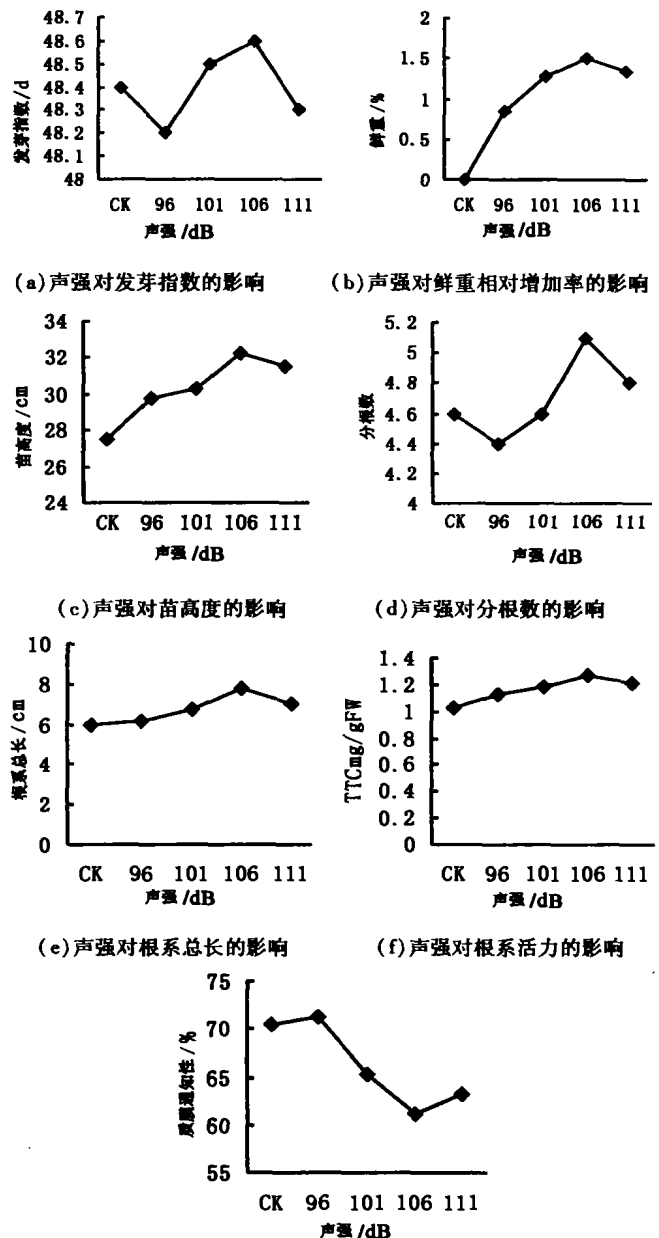


图 1 声强对水稻发芽的生理学效应

2.2 不同频率的声波刺激下水稻发芽及生长的生理学效应

通过上述实验,当声强固定为 106 dB,而声频不同时,图 2 表示这种条件下的声波刺激对水稻发芽的生理学效应。

实验结果图显示出,水稻种子的发芽指数与声波的频率和声强无显著的相关性,表明了声波刺激对水稻种子的发芽指数无明显影响。这可能与所选的水稻种子均为同一批饱满种子有关。

实验结果表明,当声频为 400 Hz,声强为 106 dB 时,水稻苗的苗高度、鲜重相对增加率以及发芽后的生

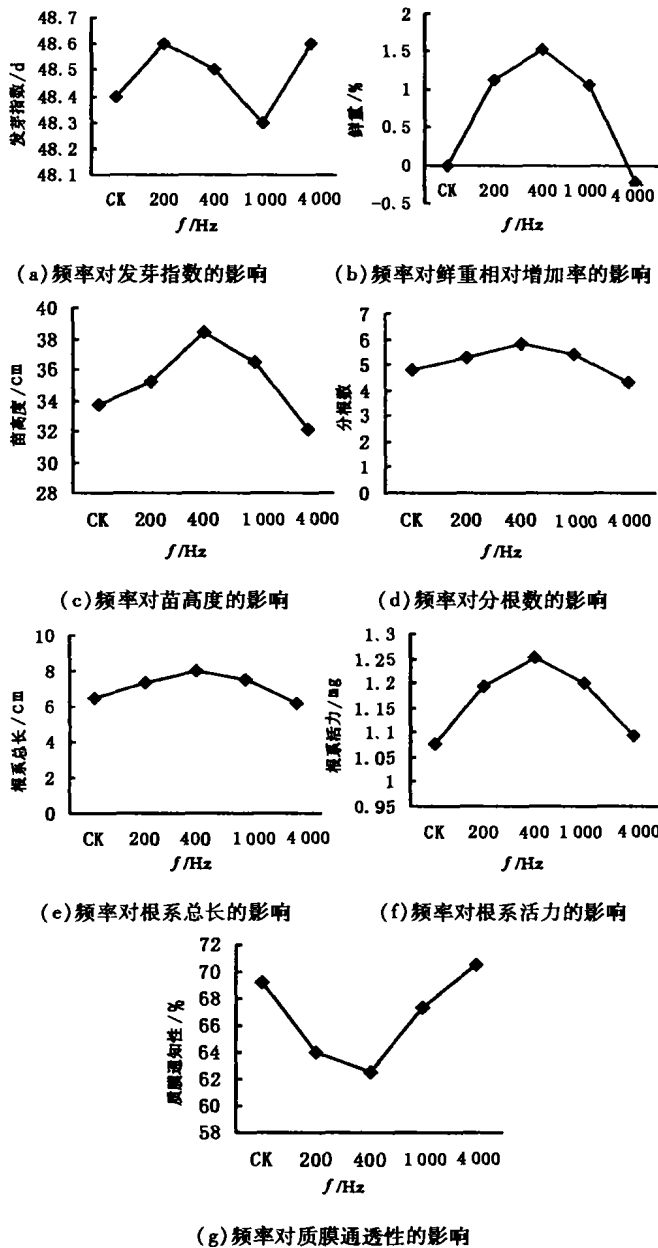


图 2 频率对水稻发芽的生理学效应

根、分根能力均有显著提高,说明适当的声波处理有利于细胞对营养的吸收和能量的转化,细胞增值速率加快,从而使水稻种子的生长速率加快,可预测其蛋白质含量也明显提高。同时也有利于根系的生长,根系发达,可提高育种效率。但当声频过大,尤其是达到 4 kHz 时,过度的声波刺激明显抑制种子的发芽与根系的生长。当声频达到 4 kHz,声强超过 111 dB 时,不再是一种常规意义上的信号刺激,而是一种机械损伤。

实验结果还表明,适当频率和强度的声波(400 Hz、106 dB 左右)有利于降低质膜的通透性,从而提高水稻对不利环境的抗性和自我保护能力。声频和声强超过一定范围值时,质膜的通透性增大,抗逆性减弱。也有文献[9]指出 400 Hz 的声频能使细胞膜的流动性增

强,膜脂和膜蛋白分子的相互作用加强,从而使细胞生理活动旺盛,促进植物生长。质膜通透性降低与质膜流动性的增强之间的分子机理是什么还有待进一步研究。

3 讨论

当施加频率为 200 Hz 和 400 Hz 的声波作用时,苗高度、苗鲜重、分根数量、根系总长和根系活力这些生理生化指标均有明显提高,而质膜通透性变低。当频率达到 1 kHz 时,以上指标已开始向相反方向变化,当频率达到 4 kHz 时,表现出明显损害作用。同样,当固定施加的频率为 400 Hz 而改变施加的声强时,在一定强度范围内可促进苗高度、苗鲜重、分根数量、根系总长、根系活力的提高以及质膜通透性的下降;当强度过大时,声波刺激起负面效应。

曾有研究,利用烟草愈伤组织细胞做实验后认为,400 Hz 是非常有意义的频率,这个频率对植物细胞壁的相行为、细胞膜蛋白质的二级结构、细胞膜的流动性均有重要影响^[9-12]。并推测认为,只有交变应力的频率与细胞本身的某些生理频率相吻合时才会发生作用^[12]。实验也发现 400 Hz,106 dB 分别是刺激水稻种子发芽、生长的最适合声频和最适合声强。

本实验中所选择的实验材料均为同一批的饱满的水稻种子,若改用陈年种子做实验,声波刺激对发芽率、发芽指数可能存在影响,因为曾有研究^[13-14]认为一定适当的应力刺激可以促进植物细胞内 SOD(超氧化物歧化酶)和 POD(过氧化物酶)活性的提高、IAA(生长素)氧化酶活性和 MDA(丙二醛)含量的降低,而 SOD 与 POD 是种子自身的抗氧化系统,能够清除因膜脂过氧化产生的自由基,使受损的细胞膜得到一定的修复,IAA 氧化酶活性的降低表明体内 IAA 水平的提高,能够促进植物生长,MDA 则是膜脂氧化的产物,其含量高低可表示种子过氧化的程度。因此有理由相信,如果陈年种子受一定频率和声强的声波处理,能够提高种子的发芽率和发芽指数。并且在实验中发现,经声波处理的水稻种子的发芽速率加快,这也说明了声波刺激有助于种子的发芽。

声波刺激对水稻苗鲜重和苗高度提高有促进作用,是声波影响了水稻细胞的细胞周期,使细胞的增殖速率加快,并且声波以场的能量形式,将能量转移至细胞内,驱动了营养物质的流动,而且还作用于膜物质上,使膜的生理功能发生变化,加快了细胞的合成代谢,从而对水稻种子的发芽、生长起到促进作用。

植物的生根、分根能力及根系活力是衡量植物生

长发育状况的重要指标,它直接关系到根系对矿物质及水分和对一些生理活性物质的合成,因此对根系的研究对于工厂化育苗有重要意义。声波对水稻幼苗根系活力的影响机理可能与细胞内信号传导的第二信使Ca²⁺的浓度有关,许多研究证实Ca²⁺参与了根系发育的过程。孙大业^[15-16]曾报道小麦幼苗根中若缺少Ca²⁺,会造成小麦根生长的持续下降,加入外源Ca²⁺,根毛及根的生长又可以恢复,这充分说明了Ca²⁺对根系活力的影响。实验还显示了钙调素(CaM)在种根生长、根毛发生和生长过程中的重要作用^[16]。

细胞质膜是对环境刺激最为敏感的部位,是由蛋白质、脂质和碳水化合物构成的超分子体系,其主要功能包括能量转换、物质运输和信息传递以及承担着蛋白质和酶系统的代谢过程。细胞质膜是一种选择透过性膜,对物质的透过性大小直接影响着植物体对有害物质进入的抵抗能力和对恶劣环境的抗性大小。一定频率和强度的声波处理可在一定程度上修复细胞质膜在不利环境中造成的损伤,在酶和细胞消化的过程反应中,提高代谢酶系的活力,保证细胞原生质的代谢稳定和正常^[13,17],减小对物质的通透性,从而增强抗逆性。在确保植物体不受恶劣环境侵害的前提下,适度增加膜的选择通透性可以增强生物膜及细胞壁的物质传递,从而促进细胞的生长。

可见,一定频率和强度的声波处理确实可以强化植物的一些生理生化指标,促进植物的生长发育。

参考文献:

[1] INGBER D. Integrins as mechanochemical transducers[J]. *Curr Opin Cell Biol*,1991,3:841-848.
 [2] 邱树毅,姚汝华,宗敏华. 超声波在生物工程中的应用

[J]. *生物工程进展*,1999,(3):45-48.
 [3] PERERA I Y, R E ZIELINSKI. Structure and expression of the Arabidopsis CaM calmodulin gene[J]. *Plant Mol Biol*, 1992, 19; 649-664.
 [4] JAFFE M J. Thigmomorphogenesis: the effect of mechanical perturbation on plant[J]. *Plant Growth Regul*, 1993,313-324.
 [5] BRAAM J. Arabidopsis TCH4 regulated by hormones and the environment encodes axylglucan endotransglycosylase [J]. *Plant Cell*,1995,7:1555-1556.
 [6] GU ZH. Inquiry on method of seed vigour test: Physiologic measure of seed germination[J]. *Seed*,1982,3:11-16 (in Chinese).
 [7] 山东农学院,西北农学院. 植物生理学实验指导[M]. 济南:山东科学技术出版社,1980.
 [8] 中国科学院上海植物生理研究所,上海植物生理学会编. 现代植物生理指南[M]. 北京:科学出版社,1999.
 [9] 蔡国友. 应用圆二光谱研究交变应力对烟草细胞膜蛋白结构的影响[J]. *光子学报*,2000,4(4):289-292.
 [10] 沈子威. 应用傅里叶红外光谱研究强声波作用下植物壁蛋白质二级结构变化[J]. *光子学报*,1999,7(7):600-602.
 [11] 李涛. 流式细胞术分析强声波对植物细胞周期的影响[J]. *生物物理学报*,2001,3(1):195-198.
 [12] 孙克利,席葆树. 交变应力作用下烟草细胞热力学相行为的研究[J]. *生物物理学报*,1999,9(3):579-583.
 [13] 刘贻尧. 声波对菊花愈伤组织生长影响的实验研究[D]. 重庆:重庆大学,2001.
 [14] 赵虎成. 声波刺激影响菊花愈伤组织生长的机理研究[D]. 重庆:重庆大学,2001.
 [15] 孙大业,郭艳林. 细胞信号转号[M]. 北京:科学技术出版社,1993.
 [16] 邢树平,李兴国,张宪省,等. Ca²⁺对小麦种根及其根毛生长发的影响[J]. *植物生理学报*,1998,15(2):41-45.
 [17] 阳小成. 环境应力对中华猕猴桃组织培养过程生物学效应的初步研究[D]. 重庆:重庆大学,2002.

Biological Effect of Sound Field Stimulation on Paddy Rice Seeds

FU Qi-zhong, WANG Zhen, SUN Pan-jie

(College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract:The authors adopt the apparatus for sound enhancing plant growth manufactured by themselves. The sound effect of Paddy Rice seeds is researched on the germination rate, germination index, height of stem, increase rate of fresh weight, rooting ability, activity of root system and the penetrability of cell membrane. The study not only validates that sound field stimulation can certainly promote the growth of plant, but also indicates the practicability of the apparatus.

Key words:sound field stimulation; paddy rice seed; biological effect

(编辑 陈移峰)