

# 高压静电场对老化水稻种子幼苗根系的影响

高伟娜<sup>1,2</sup>, 王贵学<sup>2</sup>, 张鹤<sup>2</sup>, 顾小清<sup>3</sup>

(1 河南科技大学 医学技术与工程学院, 河南 洛阳 471003; 2 重庆大学 应用生物技术研究中心, 重庆 400044;

3 山东省果树研究所 贮藏加工研究室, 山东 泰安 271000)

**[摘要]** 将吸胀萌动后的老化水稻种子随机分为 I~V 5 个处理组, 分别用 250, 300, 350, 400, 450 kV/m 的高压静电场处理 55 min, 然后 30 °C 浸种催芽 24 h, 另外设 CK<sub>1</sub> (未老化水稻种子) 和 CK<sub>2</sub> (老化水稻种子) 2 个对照, 研究高压静电场对老化水稻种子发芽第 4 天幼苗根系生长发育的影响。结果表明, 适宜的高压静电场处理组幼苗的根系活力、可溶性蛋白质含量均极显著高于对照组 ( $p < 0.01$ ); 与其他处理组相比, III, IV, V 处理组蛋白质电泳条带数及条带颜色加深, 说明这 3 个处理组可能影响了老化水稻种子根系中部分蛋白质的表达; 与对照相比, II~V 高压静电场处理组有丝分裂指数极显著增加, 但未见染色体畸变。可见高压静电场处理不仅促进了老化水稻种子幼苗根系的分裂生长, 同时还为其生长提供了充足的营养。

**[关键词]** 高压静电场; 老化水稻种子; 幼苗; 根系活力

**[中图分类号]** S511.041

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2006)11-0083-04

种子在贮藏过程中, 其活力下降(即老化)是不可避免的, 目前提高老化种子活力的方法主要有化学药物浸泡法<sup>[1]</sup>和物理处理法<sup>[2]</sup>。静电场对农作物种子的生物学效应是静电生物学一个重要研究领域, 已有研究表明高压静电场可以提高种子的活力<sup>[3-4]</sup>, 增强种子抗逆性<sup>[5-6]</sup>。李一等<sup>[7]</sup>用高压静电场处理水稻陈种子, 使种子发芽率和幼苗的叶绿素含量提高, 种子浸出液的电导率降低。但有关高压静电场对幼苗根系生长发育影响的研究报道较少。为此, 本试验用电场强度为 250~450 kV/m 的高压静电场处理吸水萌动的老化水稻种子 55 min, 从根系活力、根系可溶性蛋白质含量、根尖细胞有丝分裂指数等方面研究高压静电场对老化水稻种子幼苗根系的影响, 以为提高老化种子活力提供新方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

水稻种子为 II 优 725, 于温度 40 °C、相对湿度 100% 对其老化处理 8 d。

### 1.2 种子处理设备

高压静电场种子处理装置为两块直径为 40 cm 的圆形铁板, 平行放置, 间隔一定距离, 种子放置在下面的铁板上。该装置自行研制。

### 1.3 试验设计

老化水稻种子预先于 30 °C 条件下浸种 24 h, 使种子吸胀萌动后, 随机分为 I~V 5 个处理组, 分别用 250, 300, 350, 400, 450 kV/m 的高压静电场处理 55 min, 然后 30 °C 浸种催芽 24 h, 将 100 粒种子放在铺有两层滤纸的 10 cm 培养皿中, 30 °C 条件下发芽。另外设 2 个对照 CK<sub>1</sub> (未老化水稻种子) 和 CK<sub>2</sub> (老化水稻种子), 对照除不经高压静电场处理外, 其他培养条件皆同处理组。

### 1.4 生理指标的测定方法

**1.4.1 根系活力** 在发芽第 4 天用  $\alpha$ -萘胺法<sup>[8]</sup>测定幼苗根系活力。

**1.4.2 根系中可溶性蛋白质含量** 发芽第 4 天测定幼苗根系中可溶性蛋白质的含量。首先按 Bradford 法绘制标准曲线, 再提取可溶性蛋白质, 计算可溶性蛋白质的含量 (mg/g)<sup>[9]</sup>。可溶性蛋白质按文献[9]的方法进行 SDS-PA GE 电泳, 胶质量浓度为 100 g/L。

**1.4.3 根尖细胞有丝分裂指数** 用改良石炭酸品红染色液对发芽幼苗根尖染色, 压片法制备根尖细胞染色体<sup>[10]</sup>。在显微镜下观察并拍照, 每个样品至少观察 5~10 个根尖, 每个根尖至少统计 3 000 个细胞, 记录细胞总数和处于分裂期的细胞数, 并按下式

· [收稿日期] 2005-12-19

[基金项目] 教育部重点实验室项目

[作者简介] 高伟娜(1980-), 女, 山东淄博人, 助教, 主要从事生物技术研究。E-mail: weinana0398@163.com

计算根尖细胞有丝分裂指数:  
根尖细胞有丝分裂指数/%= 分裂期细胞数/细胞总数×  
100%

2 结果与分析

2 1 高压静电场对老化水稻种子幼苗根系活力的影响

表1 表明, 老化水稻种子发芽后幼苗根系活力较未老化种子极显著下降( $P < 0.01$ ); 高压静电场处理的老化种子, 其幼苗根系活力较对照CK<sub>2</sub> 提高24.72%~44.15%, 差异极显著( $P < 0.01$ )。

表1 高压静电场对老化水稻种子幼苗根系活力的影响

Table 1 Effects of HV EF on the root vigor of aging rice seeds' gemination

| 处理组<br>Group    | 根系活力/<br>( $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )<br>Root vigor | 较CK <sub>2</sub> 增加率/%<br>Increased<br>percent |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| I               | 145.86±12.75**                                                                   | 24.72                                          |
| II              | 151.16±14.99**                                                                   | 29.25                                          |
| III             | 161.52±25.02**                                                                   | 38.11                                          |
| IV              | 168.59±10.56**                                                                   | 44.15                                          |
| V               | 154.55±23.00**                                                                   | 32.14                                          |
| CK <sub>1</sub> | 154.80±17.18**                                                                   | 32.36                                          |
| CK <sub>2</sub> | 116.95±14.72                                                                     | 0.00                                           |

注: \*\* 与对照CK<sub>2</sub> 相比达到极显著水平( $P < 0.01$ ), 下同。  
Note: \*\* means "highly significant" comparing with CK<sub>2</sub> ( $P < 0.01$ ). The following is same

2 2 高压静电场对老化水稻种子幼苗根系中可溶性蛋白质含量的影响

由表2 可知, 老化水稻种子发芽后根系蛋白质

含量极显著低于未老化水稻种子( $P < 0.01$ ); II~V 处理组幼苗根系中的可溶性蛋白质含量较对照CK<sub>2</sub> 分别提高72.0%, 68.2%, 98.5%, 81.1%, 差异达极显著水平( $P < 0.01$ )。表明适宜的高压静电场处理极显著提高了老化水稻种子发芽初期根系中的可溶性蛋白质含量, 为种子发芽特别是根的生长提供充足的营养。

表2 高压静电场对老化水稻种子幼苗根系中可溶性蛋白质含量的影响

Table 2 Effects of HV EF on the content of soluble protein of aging rice seeds' gemination

| 处理组<br>Group    | 可溶性蛋白质含量/<br>( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )<br>Content of soluble protein |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| I               | 1.33±0.20                                                                      |
| II              | 2.27±0.34**                                                                    |
| III             | 2.22±0.33**                                                                    |
| IV              | 2.62±0.39**                                                                    |
| V               | 2.39±0.36**                                                                    |
| CK <sub>1</sub> | 1.61±0.24**                                                                    |
| CK <sub>2</sub> | 1.32±0.19                                                                      |

2 3 老化水稻种子幼苗根系中可溶性蛋白质的电泳分析

图1 是外加高压静电场处理老化水稻种子发芽第4 天幼苗根系中可溶性蛋白质的SDS-PAGE 电泳图谱。蛋白质Marker 分子量标准曲线方程为:  
 $\lg M_r = -1.0559m_r + 2.0454$  ( $R^2 = 0.9918$ ), 其中, $M_r$  为蛋白质相对分子质量; $m_r$  为蛋白质相对迁移率; $R^2$  为标准曲线拟合的相关系数。

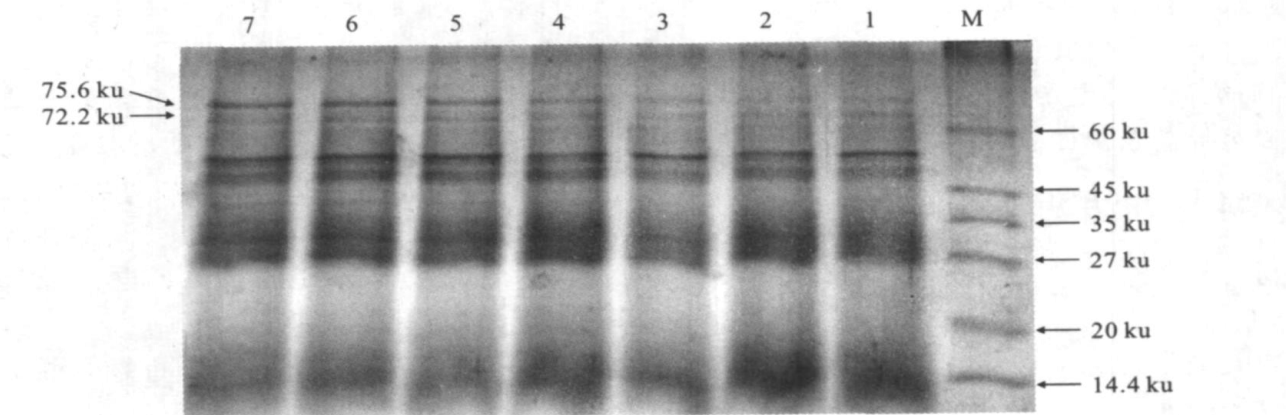


图1 老化水稻种子中可溶性蛋白质的SDS-PAGE 电泳图谱  
M. 蛋白质标准相对分子质量; 1~2 CK<sub>1</sub> 和CK<sub>2</sub>; 3~7. I~V 处理组

Fig. 1 SDS-PAGE map of soluble protein in roots of aging rice seeds' gemination  
M. Protein Marker; 1- 2 CK<sub>1</sub>, CK<sub>2</sub>; 3- 7. Treatment groups I - V respectively

从图1 可以看出, I, II 处理组蛋白质条带与2 个对照相同, III, IV, V 处理组较2 个对照增加了1 条72.2 ku 的条带, 而且75.6 ku 条带较2 个对照颜色

深, 说明III, IV, V 处理组相对分子质量约为75.6 ku 的蛋白表达量较对照高。由此可知, III, IV, V 组高压静电场处理可能影响了老化水稻种子根系中部分蛋

白质的表达。

2 4 高压静电场对老化水稻种子幼苗根尖细胞有丝分裂指数的影响

细胞有丝分裂指数的测定有助于了解细胞增殖的快慢。由表3可知,除I处理组外,其余外加高压静电场处理组的根尖细胞有丝分裂指数均极显著增高,较对照CK<sub>2</sub>提高76.8%~168.4%,尤其是III,IV,V处理组比对照CK<sub>2</sub>提高约2.6倍。由此可见,适宜的高压静电场处理促进了幼苗根尖分生细胞的增殖。II~V高压静电场处理组有丝分裂指数较对照(CK<sub>1</sub>,CK<sub>2</sub>)极显著增加,主要是由于处理组分裂前期细胞数目显著增加所致(图2)。此外,高压静电

场处理后未见染色体畸变。

表3 高压静电场对老化水稻种子幼苗根尖细胞有丝分裂指数的影响

Table 3 Effects of HVEF on the mitotic index of aging rice seeds' root tip cell

| 处理组<br>Group    | 有丝分裂指数/%<br>Mitotic index |
|-----------------|---------------------------|
| I               | 19.70±2.96                |
| II              | 33.06±4.96**              |
| III             | 48.67±7.30**              |
| IV              | 50.16±7.52**              |
| V               | 49.35±7.40**              |
| CK <sub>1</sub> | 20.01±3.00                |
| CK <sub>2</sub> | 18.70±2.80                |

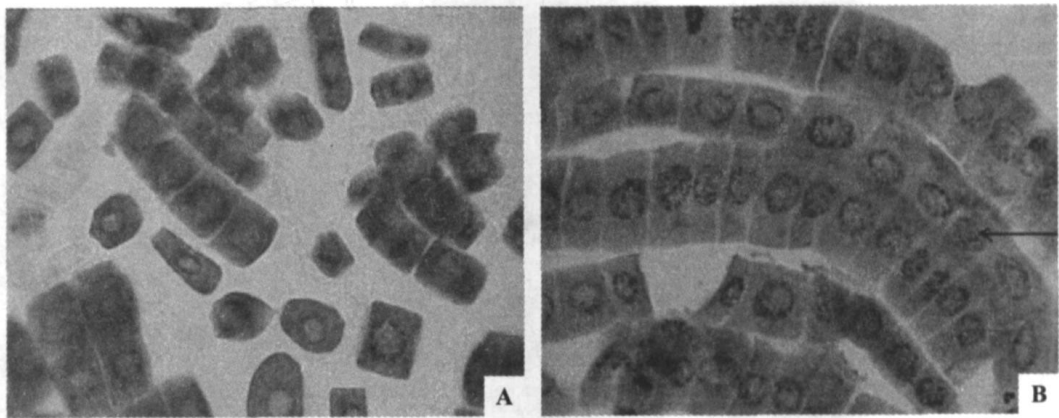


图2 经高压静电场处理后老化水稻种子幼苗根尖细胞显微观察(×1 000)

A. CK<sub>2</sub>; B. 处理IV组; → 分裂前期

Fig. 2 Root tip cell's microscopical pictures of aging rice seeds treated by HVEF (×1 000)

A. CK<sub>2</sub>; B. Group IV; → Prophase

3 讨 论

水稻根系可以泌氧,故通过测定根系对α-萘胺的氧化或根系脱氢酶的活性可以衡量水稻根系活力的高低。测定根系活力的方法有α-萘胺法和TTC法,前期试验证明,使用α-萘胺法方便快捷,而且准确。本试验结果表明,老化水稻种子经高压静电场处理后,其幼苗根系活力较对照极显著提高,可能是静电场能促进种子的萌发吸水,有利于种子萌发生长,相应的促进了根系的生长发育,这与朱冬雪的研究相似<sup>[11]</sup>。

本试验结果表明,与对照CK<sub>2</sub>相比,高压静电场处理后,老化水稻种子幼苗根系中的可溶性蛋白质含量不仅极显著增加(I处理组除外),而且III,IV,V处理组蛋白质电泳条带数及条带颜色加深,这说明适宜的电场处理可能促进了根系中蛋白质的表达,这可能是由于蛋白质是两性电解质,在水溶液中

能电离,并释放出氢离子,而多肽链通过氨基酸侧链的各种作用,氢键、离子键、疏水键进一步折迭而形成立体结构,在电场作用下会引起离子浓度改变、电子密度重新有序分布,从而加速了氢键的形成速度,也加快了蛋白合成速度<sup>[2]</sup>。此外适宜高压静电场处理后,根尖细胞有丝分裂指数极显著增加,说明高压静电场处理促进了细胞的分裂,这与根系中可溶性蛋白含量和根系活力增加相一致。可溶性蛋白质不仅是许多生化反应的基础,与植物组织分裂生长有密切关系,而且还能为组织生长分裂提供充足的营养。本研究中高压静电场处理不仅促进了根系的分裂生长,同时还为其生长提供了充足的营养。

高压静电场处理虽然可以促进种子的发芽及种内贮藏物质的代谢,例如淀粉的水解加快<sup>[6-7]</sup>,但是如果静电场处理剂量过高也有可能会引起植物细胞染色体畸变,达到同辐射诱变相似的结果。有研究<sup>[10,12-13]</sup>表明,用高压静电场(75 kV/m)处理浸湿

的黑麦、蚕豆、豌豆、小麦等种子48 h,可以提高细胞分裂速度,但是电场处理会引起细胞的染色体畸变,其畸变类型有染色体断片、染色体落后、染色体桥、不等分裂、单极纺锤体和多极纺锤体等。这可能是由于高压静电场处理剂量较高所致。高压静电场剂量等于电场强度与处理时间的乘积,本试验中静电场

处理的最大剂量为 $412.5 \text{ (kV} \cdot \text{h)/m}$ ,远远小于薛小桥等<sup>[12]</sup>试验中的处理剂量( $3\ 600 \text{ (kV} \cdot \text{h)/m}$ ),所以本试验中高压静电场处理只是提高了细胞的分裂速度,而未引起染色体的畸变。有关引起种子根尖细胞染色体畸变静电场处理的临界剂量,还需进一步试验研究。

**致谢:** 重庆大学高电压与电工新技术教育部重点实验室的廖瑞金教授、李剑副教授和吕江硕士为高压静电场种子处理装置的研制提供了很大帮助,在此表示感谢!

### [参考文献]

- [1] 唐祖君,宋明. PEG-CaCl<sub>2</sub>和维生素C对大白菜种子活力的影响[J]. 西南农业大学学报, 1999(5): 430-432
- [2] 那日,冯璐. 我国静电生物学效应机理研究新进展[J]. 物理, 2003, 32(2): 87-93
- [3] Soja G, Kunsch B, Gerzabek M, et al. Growth and yield of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) and corn (*Zea mays* L.) near a high voltage transmission line[J]. Bioelectromagnetics, 2003, 24: 91-102
- [4] Moon J, Chung H. Acceleration of germination of tomato seed by applying AC electric and magnetic fields[J]. Journal of Electrostatics, 2000, 48(1): 103-114
- [5] 吕剑刚,杨体强,苏恩光,等. 电场处理小麦种子对幼苗生长抗盐性的影响[J]. 内蒙古大学学报: 自然科学版, 2001, 32(6): 707-710
- [6] 侯建华,杨体强,那日,等. 电场处理油菜种子在干旱胁迫下萌发及酶活性的变化[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(1): 40-44
- [7] 李一,叶家明. 高压静电场对水稻种生物学效应的研究[J]. 湖南农业大学学报, 1996, 22(5): 421-426
- [8] 山东农学院. 植物生理学实验指导[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1980: 85-87
- [9] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 453-455
- [10] 谢菊芳,廖贡献,张菁. 高压静电场对植物细胞的影响[J]. 中南民族学院学报, 2000, 19(3): 9-12
- [11] 朱冬雪,窦家本,刘平. 不同静电场对水稻种子萌发吸水及幼苗根系活力的影响[J]. 贵州农业科学, 1997, 25(3): 38-40
- [12] 薛小桥,张菁,刘翠君. 高压静电场诱发小麦根尖染色体畸变的分析[J]. 湖北大学学报, 1999, 21(3): 283-286
- [13] Stacey M, Stickley J, Fox P, et al. Differential effects in cells exposed to ultra-short, high intensity electric fields: cell survival, DNA damage, and cell cycle analysis[J]. Mutation Research, 2003, 542: 65-75

## Effect of high voltage electrostatic field on the sprout roots of aging rice seeds

GAO Wei-na<sup>1,2</sup>, WANG Gui-xue<sup>2</sup>, ZHANG He<sup>2</sup>, GU Xiao-qing<sup>3</sup>

(1 School of Medical Technology and Engineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China;

2 Center of Applying biotechnology, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

3 Laboratory of Processing & Storage, Shandong Institute of Pomology, Tai'an, Shandong 271000, China)

**Abstract:** In this paper the effect of HVEF on the growth and development of rice sprout roots on the fourth day of germination was studied. The wet aging rice seeds were divided into five groups (I - V) stochastically, and were treated by HVEF with doses 250, 300, 350, 400, 450 kV/m for 55 min, then the seeds were dipped for 24 h at 30 °C, and with CK<sub>1</sub> which was not aging seeds and CK<sub>2</sub> which was aging seeds as control groups. The results showed that in the appropriate treated groups, the root vigor, the content of soluble protein of roots were significantly higher than those of the control groups ( $P < 0.01$ ). The numbers of piece and colour of electrophoresis map in III, IV, V groups were more enhance than those of other groups. So the expression of the roots' partial soluble protein in the III- V groups was possibly affected by the treatment. The mitotic index of root tip cells in II- V groups was significantly higher than that of the control groups, and without the aberrance of chromosome in treatment groups. So HVEF not only promoted the cell division and the growth of aging rice sprout roots, but supplied ample nourishment for its growth.

**Key words:** high voltage electrostatic field (HVEF); aging rice seed; sprout; root vigor