

# 飞秒激光处理对水稻种子发芽和苗期生长的影响

焦顺吉<sup>1</sup>, 韩亚萍<sup>1</sup>, 赵 莉<sup>2</sup>, 宋云飞<sup>3</sup>

(1. 东北林业大学 理学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 哈尔滨工业大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**以水稻品种龙稻 5 号种子为试材, 以波长 800 nm、光斑半径 2 mm、功率 650 mW、频率 1 000 Hz 的飞秒激光分别辐照 3、5、7、9、11 和 13 s 后, 研究飞秒激光辐照处理对水稻种子发芽和苗期生长的影响。结果表明: 飞秒激光辐照处理可以刺激水稻发芽和幼苗的生长, 3~9 s 飞秒激光辐照处理, 水稻发芽势和发芽率增高, 而随着处理时间变长 11~13 s 出现抑制发芽现象。苗期经处理后水稻植株比对照有不同程度增加现象, 在 11 和 13 s 处理株高变化较为明显。经辐照处理后幼苗叶绿素含量增加, POD 酶活性增强, SOD 酶活性减弱。

**关键词:**水稻; 激光诱变; 水稻幼苗; 发芽率; POD 酶

**中图分类号:** S511

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2011)04-0017-03

激光自 1960 年诞生起, 以其优异的方向性、单色性、相干性及能量高度集中等特点, 广泛应用于各个领域<sup>[1]</sup>。激光作为一种新的诱变因素用于作物育种已取得一些进展。1966 年匈牙利人 Mester 首先提出弱激光具有生物刺激作用<sup>[2]</sup>, 而飞秒激光是自 1960 年第一台激光器诞生以来, 激光领域发展起来的最强有力的新工具之一<sup>[3]</sup>。飞秒激光具有脉冲持续时间短、瞬时功率大、聚焦尺寸小的特点, 其在超快、超强和超精细领域有着广阔的应用前景<sup>[4]</sup>。由于是我国最大的商品粳稻米产地<sup>[5]</sup>, 黑龙江省地处高寒稻作区, 在水稻生产中, 冷害是导致水稻减产的最大自然灾害之一<sup>[6]</sup>。该试验利用飞秒激光辐照对水稻种子产生影响, 从而影响水稻发芽育苗, 可避免冷害发生, 对水稻种植可产生积极的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试供水稻品种为龙稻 5 号, 其干种子由黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所提供, 含水量 10%。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试验仪器及辐照方法 激光器为哈尔滨

工业大学提供的钛宝石超快激光器 Tsunami 100 fs; 输出功率 650 mW、频率 1 000 Hz、光斑半径 2 mm; 设置不进行辐照处理的种子 175 粒作为对照组 CK, 辐照处理按处理时间不同分为 6 组, 处理时间分别为 3、5、7、9、11 和 13 s。每组处理 103 粒。

将分组后的水稻种子并排放入自制种盘上, 每 2 粒种子间隔 4 mm, 每个种盘摆放 50 粒种子, 将种盘固定在由计算机控制的载物台上, 载物台可随设定好的程序以设定好的处理时间间隔移动, 照射时将光斑覆盖在种胚部分并按设定好的照射时间移动逐个照射种子。

种子照射处理于 2010 年 6 月 4 日哈尔滨工业大学飞秒激光实验室完成。

**1.2.2 观测项目** 实验室观测: 辐照后的种子和对照种子用蒸馏水浸种 24 h, 再置于铺有吸水纸的培养皿中, 在 25℃ 的恒温箱中暗萌发, 萌发过程中每天观察记载各处理发芽情况, 3 d 后计算发芽势, 5 d 后计算发芽率。稻种的发芽以胚根的长度与种子长度相等, 胚芽长度约以种子长的 1/2 为标准。

**温室播种观测:** 将正常发芽的稻种播种于黑龙江省农业科学院栽培所温室大棚的育秧盘中, 育秧所用营养土按每 100 kg 土加 20 kg 过筛有机肥, 加 300 g 硫酸铵、300 g 碾碎的过磷酸钙和 200 g 过磷酸钾, 充分搅拌均匀而成。待出苗 3 d 后测量出苗率(出苗率/%=大于 3 cm 的苗数/试验种子总数×100)、高度和叶宽, 待幼苗都进入 3 叶期时取各处理幼苗叶片进行叶绿素含量<sup>[7]</sup>、POD 酶和 SOD 酶活性测定。

收稿日期: 2011-03-15

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目(F2006)

第一作者简介: 焦顺吉(1985-), 男, 山东省龙口县人, 在读硕士, 从事激光诱变育种研究。E-mail: jiao1985314@sina.com。

通讯作者: 韩亚萍(1963-), 女, 黑龙江省哈尔滨市人, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事激光诱变育种和生物物理技术及其应用研究。E-mail: hanyaping@nefu.edu.cn。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同剂量的飞秒激光对水稻种子发芽与出苗的影响

2.1.1 不同剂量飞秒激光对水稻种子发芽的影响 结果表明,发芽率、发芽势和发芽指数与飞秒激光的辐照时间长短关系密切(见表1)。辐照时间较短时,对发芽率等有一定刺激效应,但随着照射时间的增加,发芽率等急剧下降,表现明显的致死效应。由表1可知:3~9 s的辐照处理对种子表现为刺激促进作用,其中辐照5和9 s时,发芽势和发芽指数相对较低,因此,以辐照3和7 s为宜。当辐照时间达到11 s以上开始表现为抑制作用,其中13 s处理达到了半致死效应。

表1 飞秒激光对水稻种子发芽的影响

处理/s	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数
CK	93.14	83.43	43.67
3	99.01	98.02	48.33
5	98.06	87.38	46.50
7	97.12	96.15	49.83
9	96.23	90.57	48.00
11	71.57	54.90	34.67
13	55.45	28.71	25.67

2.1.2 不同剂量飞秒激光对水稻种子出苗的影响 待出苗后第3天测出苗率,出苗以苗长超过3 cm为标准。播种后30 d测量苗高和叶宽。由表2可知,飞秒激光辐照后出苗率比对照增加。3~11 s的辐照剂量飞秒激光能提高水稻种子的出苗率。而13 s处理则对水稻出苗产生抑制。飞秒激光辐照对水稻幼苗的生长也具有促进作用,由表2可知5~13 s处理水稻苗高明显高于对照,并且随着辐照时间增长苗高逐渐呈增高趋势。辐照处理对叶面宽度影响不大。

表2 飞秒激光对水稻苗期生长的影响

处理/s	出苗率/%	株高/cm	叶宽/mm
CK	95.88	20.82	3.36
3	99.01	20.39	3.27
5	99.02	23.26	3.32
7	98.04	23.19	3.31
9	97.14	23.85	3.37
11	97.33	25.18	3.53
13	91.80	26.07	3.43

### 2.2 飞秒激光对水稻苗期叶绿素含量及 POD 酶活性和 SOD 酶活性的影响

#### 2.2.1 飞秒激光对水稻苗期叶绿素含量的影响

由表3可知,经飞秒激光处理后水稻苗期叶片的叶绿素含量增加,尤其以11和13 s处理尤为明显,叶绿素参与光合作用,经飞秒激光辐照处理后的水稻幼苗叶片叶绿素含量增长,表明处理刺激了水稻幼苗的光合作用。

表3 飞秒激光对水稻苗期叶绿素含量的影响

处理/s	叶绿素 a/mg·g <sup>-1</sup>	叶绿素 b/mg·g <sup>-1</sup>	叶绿素总量/mg·g <sup>-1</sup>
CK	40.54	12.18	52.72
3	44.70	13.07	57.74
5	41.31	12.26	53.57
7	46.66	13.85	60.51
9	42.47	13.64	58.12
11	51.09	15.58	66.67
13	53.04	16.63	70.04

#### 2.2.2 飞秒激光对水稻苗期 POD 酶活性的影响

POD 的作用具有双重性,一方面表现为保护效应,另一方面表现为伤害效应,是植物衰老到一定阶段的产物。由图1可知,经过飞秒激光辐照后,水稻幼苗的 POD 活性明显提高,并且在0~7 s内随着辐照时间的增加 POD 酶活性逐渐增大,在11~13 s时 POD 酶活性开始下降,但仍明显高于对照。9 s处理的 POD 活性与其它辐照处理产生差异。由于试验材料同处于幼苗期,所以 POD 酶活性上升是由于激光处理激发了水稻幼苗的保护效应,随时间增加而增强,13 s后下降则可看出 POD 的保护效应由于激光刺激的增强达到极限而减弱。

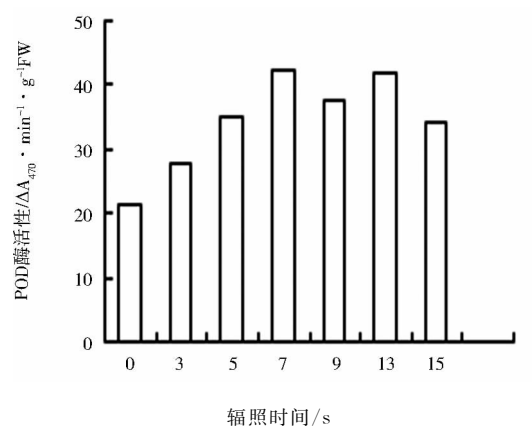


图1 飞秒激光辐照对水稻苗期 POD 活性的影响

#### 2.2.3 飞秒激光对水稻苗期 SOD 酶活性的影响

由图2可知,经过飞秒激光辐照后水稻幼苗的 SOD 酶活性总体上下降很多,除9 s处理外基本上随辐照时间的增强 SOD 值呈现下降趋势。9 s处理的 SOD 值与其它辐照处理相比产生差异。

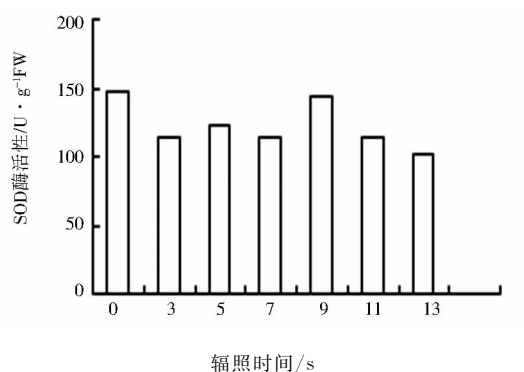


图2 飞秒激光辐照对水稻苗期 SOD 活性的影响

### 3 结论与讨论

从试验结果可以看出,经辐照后水稻种子的发芽率和发芽指数有不同程度提高。短时间飞秒激光辐照即 3、5、7 和 9 s 可以作为提高种子发芽率发芽指数的辐照参数,其中以 3 和 7 s 为宜,效果较明显。通过飞秒激光短时间辐照能够提高种子活力,从而得到更健壮的幼苗,这对确定播种量以及缩短水稻育苗时间具有一定的意义。经过飞秒激光辐照后,水稻幼苗叶绿素 a、b 明显提高,表明幼苗光合速率提高,能量干物质积累加快,外在表现为幼苗高度和叶宽增加,幼苗生长速度变快。而经过飞秒激光辐照幼苗 POD 酶逐渐增高 SOD 酶逐渐减少,此时水稻幼苗保护效应被刺激激发,

抗性增大,水稻幼苗生长期间的抵抗能力增强。

此外在试验中发现辐照 13 s 使种子发芽接近半致死;辐照 9 s 时在 POD 酶和 SOD 含量变化柱形图中是 SOD 酶和 POD 酶含量的突变点,并不在预期变化范围内,推测 9 s 处理可能造成了水稻幼苗的基因突变,使得 SOD 酶、POD 酶含量变化异常。所以 13 和 9 s 可以作为激光诱变的参考时间。

综合分析可以得出,飞秒激光辐照水稻种子可以刺激水稻种子发芽和幼苗的生长。

### 参考文献:

- [1] 高映宏,左颖.激光在现代农业及生物学中的应用[J].天津农学院学报,2002,9(1):55-59.
- [2] 郝丽珍,侯喜林,王萍,等.激光在农业领域应用研究进展[J].激光生物学报,2002,11(2):149-154.
- [3] 狄建科,周明,杨海峰,等.飞秒激光与生物细胞作用机理及应用[J].激光生物学报,2008,17(2):270-277.
- [4] 王亚伟,刘莹,卜敏,等.飞秒激光与生物组织作用原理及其应用[J].激光与红外,2008,38(1):7-10.
- [5] 陈凤霞.影响黑龙江稻米质量安全的因素分析及应对措施[J].东北农业大学学报(社会科学版),2009,7(2):55-58.
- [6] 孙世臣,邹德堂,刘化龙,等.寒地水稻种质资源萌发期耐冷性鉴定评价[J].东北农业大学学报,2007,38(2):145-148.
- [7] 郝再斌.植物生理实验[M].哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004.

## Effect of Femtosecond Laser Treatment on Rice Seed Germination and Seedling Growth

JIAO Shun-ji<sup>1</sup>, HAN Ya-ping<sup>1</sup>, ZHAO Li<sup>2</sup>, SONG Yun-fei<sup>3</sup>

(1. Science College of Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150010; 2. Life Science College of Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150010; 3. Harbin Institute of Technology, Harbin, Heilongjiang 150010)

**Abstract:** The rice seeds of Longdao No. 5 were selected as experimental materials. The seeds of Longdao No. 5 were exposed by femtosecond laser at the wavelength of 800 nm, spot radius of 2 mm, power 650 mW and frequency of 1 000 Hz for 3 s, 5 s, 7 s, 9 s, 11 s and 13 s, separately. The effect of femtosecond laser irradiation on rice seed germination and seedling growth were studied. The results showed that the germination and the seedling growth of rice were stimulated by exposing the rice seeds with femtosecond laser. 3~9 s femtosecond laser irradiation increased the rice germinating viability and germination rate. The inhibition of sprouting happened with the 11~13 s femtosecond laser irradiation. The height of the rice plant was increased by exposing the rice seeds especially when the seeds were exposed for 11 s and 13 s. The chlorophyll content, the POD activity increased and the SOD activity decreased after the irradiation treatment.

**Key words:** rice; laser induced; rice seedlings; germination rate; POD enzyme