杨一凡,徐国辉,王文霞.富氢水对水稻种子萌发的影响及其激素调节机制[J].山西农业大学学报(自然科学版),2025,45(3):10-20.
Yang Y F, Xu G H, Wang W X.Effects of hydrogen-rich water on rice seed germination and its hormonal regulation mechanism[J].Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2025,45(3):10-20.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202411003

富氢水对水稻种子萌发的影响及其激素调节机制

杨一凡[1,2],徐国辉[1*],王文霞[2*]

(1.大连大学 生命健康学院,辽宁 大连 116622;2.中国科学院 大连化学物理研究所,辽宁 大连 116023)

摘　要:[目的]富氢水(Hydrogen-rich water,HRW)是一种安全、绿色、环保的新型植物生长调节剂,本文旨在探究富氢水浸种处理对水稻种子萌发和幼苗生长的影响,为氢气在农业上的应用提供理论依据。[方法]以水稻种子'日本晴'(*Oryza sativa* L. japonica)为试验材料。取饱满的种子分别于25%、50%、75%和100%浓度的富氢水中浸泡8 h,以蒸馏水浸泡8 h为对照处理(CK)。置于恒温控制室,在28 ℃、80%湿度、3000 lx及光暗比16∶8的环境中培养7 d,每日称重补充等量无菌水,通过测量萌发相关形态指标、生长相关生化指标、激素含量及激素通路标志基因表达量探究富氢水影响水稻萌发的作用机制。[结果](1)经不同浓度富氢水溶液浸种处理后,水稻芽长、根长、发芽指数和活力指数均高于蒸馏水处理组(CK),当富氢水溶液浓度为50%时,各指标与CK相比分别显著提高40.71%、10.34%、33.73%和10.74%。(2)与对照组相比,50%富氢水浸种处理组在3 d时可溶性蛋白质、可溶性总糖、葡萄糖、果糖、蔗糖、生长素(IAA)、赤霉素(GA)含量显著性提高,可溶性淀粉含量显著下降。(3)总糖、果糖及蔗糖含量与水稻种子发芽率呈现显著正相关关系,脱落酸(ABA)含量与发芽率显著负相关。[结论]富氢水浸种对水稻种子萌发存在一定的促进作用,50%浓度的效果最佳;富氢水可通过调节水稻的非结构性碳水化合物含量与激素含量,打破种子休眠并提高代谢水平,对水稻生长具有积极作用,在农业领域具有应用价值。

关键词:富氢水; 种子萌发; 植物激素; 非结构性碳水化合物
中图分类号:S511　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2025)03-0010-11

Effects of hydrogen-rich water on rice seed germination and its hormonal regulation mechanism

Yang Yifan[1,2], Xu Guohui[1*], Wang Wenxia[2*]

(*1.School of Life and Health, Dalian University, Dalian 116622, China; 2.Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China*)

Abstract:[Objective]Hydrogen-rich water (HRW) is a safe, green, and environmentally friendly new plant growth regulator. This article aimed to explore the effects of HRW seed soaking treatment on rice seed germination and seedling growth and provide guidance for the application of hydrogen in agriculture. [Method]Using rice seeds (*Oryza sativa* L. japonica)as experimental material, plump seeds were soaked in HRW at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% for 8 h, with distilled water soaking as the control treatment (CK). The seeds were then placed in a thermostatically controlled environment (28 ℃, 80% humidity, 3000 lx, 16∶8 light/dark cycle) for 7 d. The plants were weighed daily and replenishment of sterile water. Germination-related morphological traits, growth-related biochemical indices, hormone levels, and the expression of key genes in hormone signaling pathways were measured to explore the mechanism of the influence of hydrogen-rich water on rice germination. [Results](1)Compared with the CK, HRW soaking significantly increased rice shoot length, root length, germination index,

收稿日期:2024-11-01　　**修回日期**:2025-02-17
基金项目:中国科学院战略重点研究计划(XDA28090307)
作者简介:杨一凡(ORCID: 0009-0007-4863-5370),硕士研究生,E-mail:yangyifan@dicp.ac.cn
*通信作者:徐国辉,副教授,硕士生导师,研究方向:植物资源开发与利用,E-mail:xugh520@163.com;王文霞,副研究员,硕士生导师,研究方向:植物糖生物学,E-mail:wangwx@dicp.ac.cn

and vigor index, with the 50% HRW treatment showing the most pronounced effects-40.71%, 10.34%, 33.73%, and 10.74%, respectively. (2) At day 3, the 50% HRW treatment significantly enhanced soluble protein, total soluble sugar, glucose, fructose, sucrose, auxin (IAA), and gibberellin (GA) contents while reducing soluble starch content. (3) Total sugars, fructose, and sucrose levels were significantly positively correlated with germination rate, whereas abscisic acid (ABA) content showed a significant negative correlation. [Conclusion] Hydrogen-rich water soaking promoted rice seed germination, with 50% concentration being optimal. HRW enhanced germination by regulating non-structural carbohydrate metabolism and hormone balance, breaking seed dormancy and improving metabolic activity. These findings highlighted HRW's potential as an effective agricultural agent for improving rice growth.

Keywords: Hydrogen-rich water, Seed germination, Plant hormones, Non-structural carbohydrates

水稻作为世界主要粮食作物之一,具有重要的经济和社会价值,在保障全球粮食安全方面发挥着关键作用。水稻发芽是其整个生长过程中的关键起点,良好的发芽状况意味着水稻苗能够拥有更强的生命力和适应性[1],从而在后续的生长阶段中更好地抵御病虫害、适应气候变化等不利因素。因此,探究水稻发芽的相关机制,开发促进水稻发芽的绿色制剂,对于提高水稻的产量和保障粮食安全具有重要意义[2]。

在植物种子萌发与生长的过程中,气体的作用不容忽视。其中氢气作为一种特殊的气体,被认为具有促进植物种子萌发[3]、幼苗发育[4]、不定根生长[5]的功效,同时可以增强植物的抗逆能力[6-7]。研究发现在一定条件下氢气能够参与植物的生理生化过程,对植物的生长发育产生积极影响[8]。氢气的主要供给形式是富氢水[9]。宋韵琼等[10]的试验结果表明,用富氢水浸泡小苍兰种球并浇灌小苍兰植株可以显著提高植株的花朵数量并促进花径增长、花球直径增大,此外小苍兰的叶长和叶宽都显著增加。刘兴娟等[11]发现富氢水可以延长兰州百合采后鳞片的贮藏期。朱闯等[12]的研究则表明,富氢水浸泡处理后粳稻的平均芽长比水处理的更长,且发芽潜力和发芽率也显著高于水处理组,意味着富氢水浸泡可能促进水稻发芽、提高水稻产量,但相关的生理机制还不清楚。

根据现有研究,富氢水处理影响了萌发种子中的可溶性蛋白质、碳水化合物和激素含量[13]。可溶性蛋白质中含有许多种子萌发相关的酶[14],宋瑞娇等[15]发现氢气可以激活淀粉酶活性,并能加速形成还原糖和可溶性总糖,糖在种子萌发阶段可作为营养物质和信号分子参与生长[16]。根据Kushwah等[17]的结果,激素信号通路和糖之间存在直接和间接的相互作用,IAA、GA和ABA是植物种子萌发过程中最重要的3种激素,它们通过相互作用共同调控种子的萌发与生长,并与糖信号一起调节细胞分裂和分化[18]。

本研究旨在探究不同浓度富氢水对水稻种子萌发的影响,通过明确富氢水在水稻种子萌发过程中对其生理生化指标,即可溶性蛋白质、淀粉、糖类及激素含量的具体影响,进一步探究富氢水促进水稻种子发芽的内在机制,为富氢水在农业中的应用提供理论依据。

1　材料和方法

1.1　试验材料

供试材料为水稻'日本晴'(*Oryza sativa* L. japonica),该品种为'山彦'与'幸风'杂交后代,穗较小,属多穗型品种。株型直立,叶片较宽,着粒稀,穗重较差,结实饱满,不易掉粒,谷粒有短芒。

以150 mL/min的速率将氢气(99.99%,v/v)通入250 mL去离子水(pH 7.0,25 ℃)中,持续60 min,此溶液即为饱和富氢水(H_2-rich water,HRW)[19]。之后立即用蒸馏水稀释至25%、50%、75%,不加蒸馏水的为100%浓度。

1.2　试验设计

试验于2023年7月-2024年6月在大连化学物理研究所生物技术部人工气候室中进行。试验共分为3部分,第1部分在2023年7月-2023年10月进行,该试验测定了不同浓度富氢水浸种处理后水稻的萌发相关形态指标,具体为发芽率、芽长、根长、萌发指数与活力指数;第2部分在2024年3月-2024年6月进行,该试验测定了优选浓度富氢水浸种处理后水稻的萌发与生长相关生化指标,具体为可溶性蛋白质、可溶性总糖、可溶性淀粉、葡萄糖、果糖与蔗糖含量;第3部分在2023年12月-2024年2月进行,该试验测定了水稻中3种激素IAA、GA与ABA的含量及标志基因*OsIAA3*、*OsGA3ox1*与*OsABA8ox2*的表达量。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 形态学指标测定及综合评价

取新鲜饱满的水稻种子用75%乙醇溶液浸泡5 min进行表面消毒,再用蒸馏水充分清洗干净。共设置5个处理组,每处理组3个重复,每个重复取30粒种子,分别用20 mL的蒸馏水(CK)、25%富氢水、50%富氢水、75%富氢水、100%富氢水浸种8 h后将种子转移到铺有2层饱和滤纸的14 cm培养皿中,在恒温控制室中以28 ℃、80%湿度、3000 lx及光暗比16∶8的环境中培养7 d,每培养皿每日使用称重法补充等量无菌水。

参考Lekjing等[20]的方法测定水稻种子的发芽率(GR)、发芽指数(GI)。当胚芽长度超过种子长度的一半时,被认定为发芽。对第7 d的水稻幼苗进行芽长与根长的测定:将幼苗平放使其保持自然伸展的状态,用直尺进行3次测量并取平均值,并计算种子活力指数(VI)[21]。运用模糊数学隶属函数法对各项指标进行标准化处理,对测定数据运用模糊数学隶属度公式进行转换,计算隶属函数平均值[22-23]。计算公式如下所示:

$$发芽率(GR)=\left(发芽种子数/供试种子数\right)\times 100\%$$

$$发芽指数(GI)=\sum\left(G_t/T_t\right)$$

$$活力指数(VI)=GI\times 第7\,d幼苗平均芽长$$

$$隶属函数值\left(\hat{X}_{ij}\right)=\left(X_{ij}-X_{jmin}\right)/\left(X_{jmax}-X_{jmin}\right)$$

$$隶属函数平均值\left(\overline{X_i}\right)=\left(\sum_{j=1}^{n}X_{ij}\right)/N$$

式中,G_t为第t日的发芽种子数,T_t为相对应的发芽时间;$\hat{X}_{ij}$为i处理组j性状的隶属函数值,X_{ij}为第i处理组的j性状值,X_{jmin}为所有处理组中j性状的最小值、X_{jmax}为所有处理组中j性状的最大值;$\overline{X_i}$为隶属函数均值,N为用于评价的指标总数。

1.3.2 激素含量测定

根据隶属函数平均值,选取最优浓度的富氢水进行浸种处理,以蒸馏水处理作为对照组,每个处理组设置3个重复,每个重复为300粒水稻种子。浸种结束后,将水稻种子点播在水培盒的发芽栏上。将水培盒置于恒温控制室中培养7 d,培养条件与1.3.1相同,期间每隔1 d利用称重法向水培盒中补充等量无菌水。在培养的第0 d(8 h浸种结束后)、3 d、7 d,每个重复各取100粒水稻种子,研磨成粉作为样品。取60 mg样品加入600 μL激素提取液(异丙醇∶蒸馏水∶浓盐酸=20 000∶10 000∶2),4 ℃震荡30 min,加入1 mL二氯甲烷,4 ℃震荡30 min,13 000 r/min离心5 min,取下层液体,37 ℃挥干,浓缩后的沉淀用1 mL色谱纯甲醇超声溶解[24]。

采用液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)对样品进行检测。液相条件:LC-MS(Qtrap5500),固定相为Hypercarb PGS C18色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相A为0.1%甲酸水溶液,流动相B为乙腈。流动相梯度设置为:0 min,90% A+10% B;25 min,20% A+80% B;26 min,90% A+10% B;35 min,90% A+10% B,流速是1 mL/min。样品进样量为10 μL[25]。质谱条件:电喷雾离子源(ESI),负离子扫描,检测方式为多反应监测(MRM),气帘气压力为30 psi,离子化电压为−4500V,离子源温度600 ℃,喷雾气压力为40 psi,辅助气压力为50 psi。IAA(母离子202;子离子116)、GA(母离子202;子离子116)、ABA(母离子202;子离子116)。

1.3.3 基因相对表达量测定

使用SteadyPure通用型RNA提取试剂盒(Accurate Biotechnology)提取种子样品的总RNA,并通过Scan Drop100(Analytik Jena AG)定量。使用RevertAid第一链cDNA合成试剂盒(Thermo Fisher Scientific)将等量的RNA逆转录成cDNA。稀释后新转录的cDNA用于qPCR基因表达检测。用$2^{-\Delta\Delta CT}$方法检查相对基因表达水平,水稻肌动蛋白基因作为内参[26]。

1.3.4 可溶性蛋白质含量测定

采用考马斯亮蓝法对水稻种子蛋白质含量进行测定[27]。取0.20 g样品粉末置于2 mL离心管,加1 mL蒸馏水,4 ℃振荡2 h,10 000 r/min离心10 min。取5 μL上清,加200 μL考马斯亮蓝,595 nm比色,与标准浓度(0.00~1 500.00 μg/mL)绘制的标准曲线对比,进行定量[28]。

1.3.5 可溶性淀粉含量测定

参照惠会清[29]的方法,取0.10 g样品粉末置于2 mL离心管,加入1 mL蒸馏水,4 ℃振荡2 h,

表1　引物列表

Table 1　Primer list

基因 Gene	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer
OsActin2	TCCGTAAGTACGTGGGGAGT	GCAGACTAGCAGTTGCGGTA
OsIAA3	GTTCATTGGCTTCAGCACCG	CACCAACCAGCATCCAGTCA
OsGA3ox1	AAGATCCGCGAAACGTTGAC	AAGAAGCCTGAGTCCGTGTG
OsABA8ox2	AGCATGACACTCACGCATCA	CCTGGAAGTAGTCCGGGTTG

10 000 r/min离心10 min。取5 μL上清于610 nm进行比色,与标准浓度(0.00～2.00 mg/mL)绘制的标准曲线对比,进行定量。

1.3.6　可溶性总糖含量测定

根据宋奇等[30]的方法,取0.20 g样品粉末,加2 mL 80% 乙醇溶液,水浴90 ℃加热提取10 min,冷却后离心10 min,取1 mL上清于10 mL容量瓶中稀释至刻度线,混匀,取20 μL,加入100 μL硫酸和20 μL 5% 的苯酚,超声10 min,沸水浴5 min,于490 nm比色,与标准浓度(0.00～1.00 mg/mL)绘制的标准曲线对比,进行定量。

1.3.7　葡萄糖、果糖、蔗糖含量测定

参照《食品安全国家标准食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定:GB 5009.8—2023》[31]及L'homme等[32]所用的高效液相色谱法测定种子内的葡萄糖、果糖、蔗糖含量。取粉碎后的样品2 g置于100 mL比色管中,加入50 mL水、5 mL乙酸锌溶液和5 mL亚铁氰化钾溶液,振荡混匀,超声30 min,定容至100 mL。用0.45 μm水系滤膜过滤上清。使用离子色谱仪(940 Professional IC Vario,Metrohnm)进行监测,色谱柱为(DNAPac™ PA100)0.1 mol/L氢氧化钠水溶液(流动相A)和含有0.5 mol/L乙酸钠的0.1 mol/L氢氧化钠水溶液(流动相B)。每个样品的进样量为10 μL,总运行时间为36 min。首先以1 mL/min的流速用100% 的A溶液洗脱8 min,然后以0%～12% 的B溶液梯度洗脱22 min,并在12% 的B溶液下保持6 min。然后用50% 的B溶液冲洗色谱柱5 min,再用100% 的A溶液平衡色谱柱19 min后进行下一次进样。测量峰面积,并与通过绘制面积计数与标准浓度(0.20～10.00 mg/mL)绘制的标准曲线对比,进行定量。

1.4　数据处理与统计分析

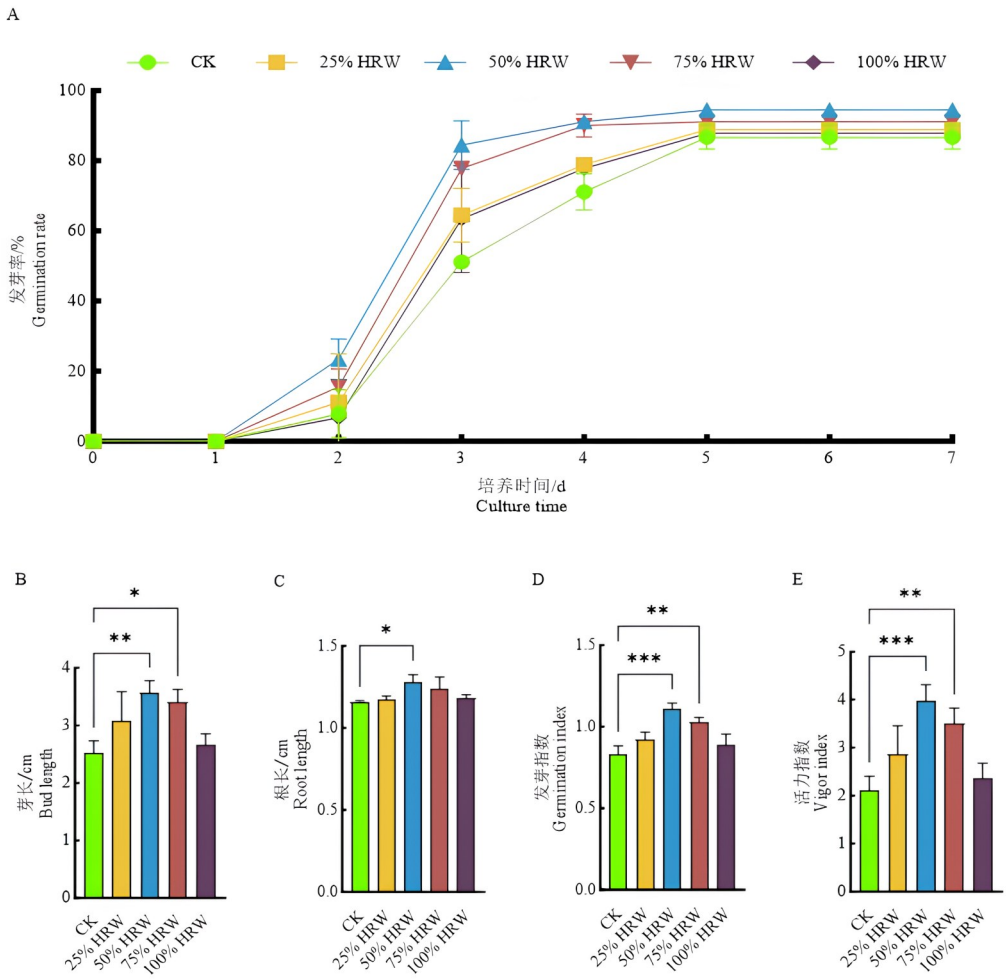
利用Analyst软件分析激素数据,Excel 2022软件进行原始数据的记录和隶属函数综合评价,通过GraphPad Prism 10软件对芽长、根长、发芽指数、活力指数进行单因素方差分析、对其余指标进行双因素方差分析并完成图片绘制。利用Origin 2021软件进行相关性分析并完成图片绘制。

2　结果与分析

2.1　不同浓度富氢水对水稻种子萌发的影响

不同浓度富氢水浸种8 h后水稻幼苗在7 d内的发芽率如图1A所示。富氢水处理后水稻种子的发芽率相对CK组均有不同程度的提升,随着富氢水浓度的增加,发芽率出现先上升后下降的趋势。在培养第3天,25%～100% 富氢水4个处理组的水稻种子发芽率为63.33%～84.44%,发芽率最高的为50% 富氢水处理组,与CK组(51.11%)相比,显著上升了65.21%。在第7天,25%～100% 富氢水4个处理组的水稻种子发芽率为87.78%～94.44%,发芽率最高的为50% 富氢水处理组,与CK组(86.67%)相比,显著上升了8.97%。不同浓度富氢水浸种8 h后水稻幼苗在7 d时的芽长与根长如图1B与图1C所示。25%、50%、75%、100% 富氢水处理组的水稻芽长分别为3.09、3.56、3.41、2.66 cm,与CK组(2.53 cm)相比,分别上升了22.13%、40.71%、34.78%、5.14%;根长分别为1.18、1.2、1.24、1.18 cm,与CK组(1.16 cm)相比,分别上升了1.72%、10.34%、6.90%、1.72%,其中50% 富氢水与CK的芽长与根长均存在显著性差异。图1D与图1E显示了7 d内不同浓度富氢水浸种处理后的发芽指数与活力指数,25%、50%、75%、100% 富氢水处理发芽指数分别为0.92、1.11、1.03、0.89,与CK(0.83)相比,分别上升10.84%、33.73%、24.10%、7.23%;活力指数分别为2.86、3.96、3.50、2.36,与CK组(2.10)相比,分别上升1.72%、10.34%、6.90%、1.72%,其中50% 富氢水、75% 富氢水与CK的发芽指数与活力指数均存

在显著差异($P<0.05$)。



HRW为富氢水,图2、图3、表2与此相同;*表示与CK差异显著($P<0.05$),**表示$P<0.01$,***表示$P<0.001$,****表示$P<0.0001$;图2、图3与此相同

HRW is hydrogen-enriched water; Figure 2, Figure 3, and Table 2 are the same as this. * indicates a significant difference from CK ($P<0.05$),** indicates $P<0.01$,*** indicates $P<0.001$,**** indicates$P<0.0001$; Figure 2 and Figure 3 are the same as this

图1 不同浓度富氢水浸种8 h后水稻种子的萌发变化

Fig.1 Changes of seed germination with soaking in different concentrations of HRW for 8 hours

2.2 不同浓度富氢水处理促进水稻萌发效果的综合评价

富氢水处理对水稻种子萌发产生了多方面的影响,本试验以发芽率、芽长、根长、发芽指数、活力指数这5个指标进行隶属函数值分析(表2)。平均隶属函数值越大,说明该处理方式促进水稻萌发的评价越好。通过对5个浸种方式下水稻表型指标的对比可见,50%富氢水浸种8 h的隶属函数值平均值(1.00)最高,促进水稻萌发效果最好,CK组隶属函数平均值(0.00)最低,促进水稻萌发效果最差,具体表现为50%富氢水>75%富氢水>25%富氢水>100%富氢水>CK。

2.3 富氢水浸种处理后的水稻的萌发与生长相关生化指标变化

根据表型及综合评价结果,本试验选择促进水稻萌发效果最好的50%富氢水处理,测定培养0 d(8 h浸种结束后)、3 d与7 d时水稻种子中的可溶性蛋白质、可溶性总糖、可溶性淀粉、葡萄糖、果糖与蔗糖含量,结果如图2所示。图2A的结果显示富氢水浸种处理后种子中可溶性蛋白质含量更高,在培养0、3、7 d的种子中含量分别为7.68%、8.00%与8.54%,与相同培养天数下CK组的4.26%、5.96%与5.67%相比均达到显著性差异。富氢水处理后的水稻种子可溶性总糖含量表现出

表2　基于5项指标的隶属函数分析

Table 2　Analysis of membership functions based on five indicators

处理 Treatments	发芽率/% Gemermination rate	芽长/cm Bud length	根长/cm Root length	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	隶属平均值 Subordinate average value	排序 Sort
CK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5
25% HRW	0.29	0.54	0.17	0.32	0.41	0.36	3
50% HRW	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1
75% HRW	0.57	0.85	0.67	0.71	0.75	0.75	2
100% HRW	0.14	0.13	0.17	0.21	0.14	0.16	4

相似的趋势,如图2B所示,在培养的第0、3、7天的种子中可溶性总糖含量分别为16.99、40.96、50.17 mg/g,与相同培养天数下CK组的10.26、19.79、30.51 mg/g相比均显著上升。图2C显示种子中可溶性淀粉的含量随着萌发时间逐渐降低,富氢水浸种处理可进一步促进种子中可溶性淀粉含量的降低,在处理后第0、3、7天含量分别为20.43、14.67、5.58 ng/g,显著低于相同培养天数下CK组的28.54、21.79、18.60 ng/g。

图2D显示种子培养初期,富氢水处理组中水稻种子的葡萄糖含量与CK组相比均无显著性差异,而随着时间延长,葡萄糖含量在第3天与第7 d明显增加,分别达到了9.36 ng/g和10.15 ng/g,和CK组相比,提高4.82倍和3.48倍。富氢水浸种后水稻种子中果糖含量也呈现出类似的趋势(图2E),果糖含量在第3 d和第7 d分别增加到了4.28 ng/g和9.70 ng/g,与CK组相比,提高2.71倍和1.44倍。图2F显示,蔗糖含量在蒸馏水浸种处理后逐渐升高,培养3 d时富氢水处理组的蔗糖含量(19.79 ng/g)显著高于蒸馏水处理组的蔗糖含量(5.40 ng/g)($P<0.05$)。

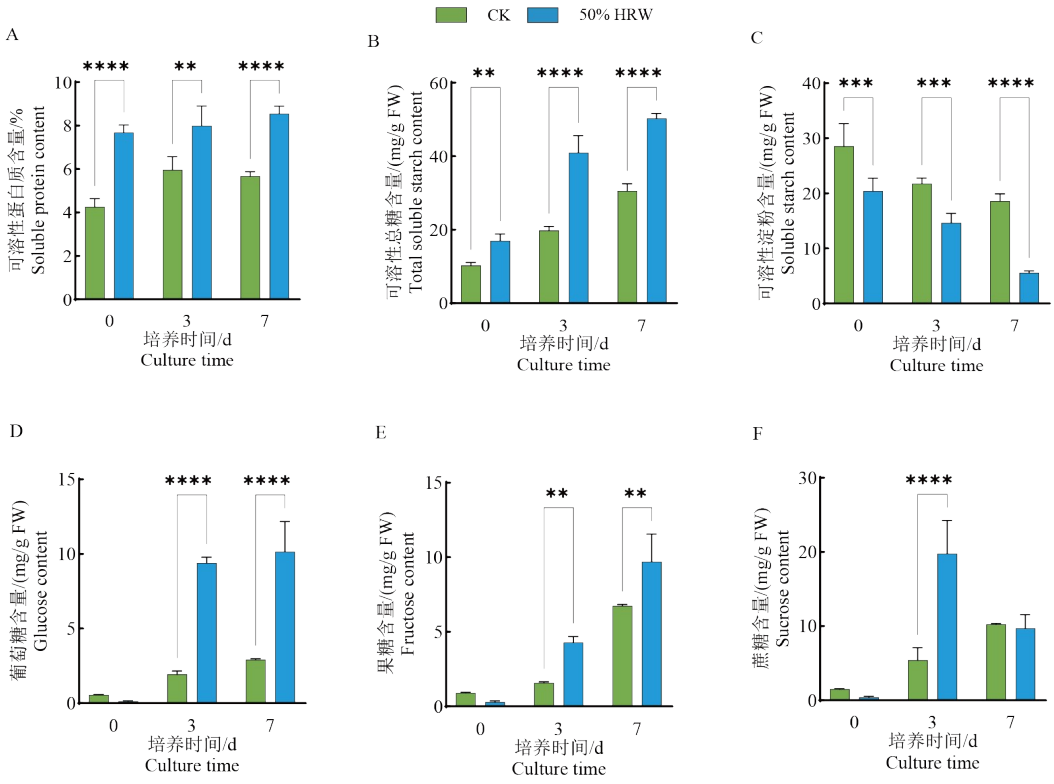


图2　50%富氢水浸种8 h后对水稻的生长相关生化指标的影响

Fig.2　Effects of 8-hour seed soaking in 50% HRW on growth-related biochemical indicators in rice

2.4 富氢水浸种对水稻种子萌发及幼苗生长中激素途径的调控

为探究富氢水促进水稻萌发及幼苗生长的作用机制,本研究测定了水稻幼苗中的IAA、GA、ABA含量,结果如图3所示。水稻种子萌发过程中,IAA的含量略有降低,与之相似的是,IAA合成途径的关键基因*OsIAA3*也呈现下降的趋势。而富氢水处理促进了种子中IAA的积累,在第0天和第3天,IAA含量均显著高于对照,分别是对照的1.27和1.44倍。图3A与图3D显示,富氢水对于*OsIAA3*基因表达也呈现促进作用。图3B与图3E的结果表明,50%富氢水浸种8 h后,对水稻发芽产生积极影响的GA已出现升高的趋势,在第3天,2个处理组之间的GA含量差异达到显著水平,富氢水处理后的水稻幼苗的GA含量为2.22 ng/g,比水处理后的水稻幼苗中相应激素含量更高。而GA合成途径的关键基因*OsGA3ox1*同样也在富氢水浸种处理组中表现出更高的表达量。

根据3C结果,抑制水稻发芽的ABA的含量在浸种结束后的2个处理组之间出现了显著性差异,其中50%富氢水处理后的水稻种子内的ABA含量为0.19 ng/g,比CK组的0.41 ng/g降低了1.16倍,而在3 d和7 d时,2个处理组中水稻种子的ABA含量不再差异显著。为了证实上述观察结果,检测了ABA途径的代谢基因*OsABA8ox2*的表达量,如图3F所示,50%富氢水浸种处理上调了该基因的表达,加速了ABA的分解。

综上,与水浸种处理组相比,50%富氢水浸种处理的水稻种子中IAA与GA的含量显著升高,ABA含量显著下降($P<0.05$),相关的基因表达也发生了明显变化,与激素含量变化情况相似。

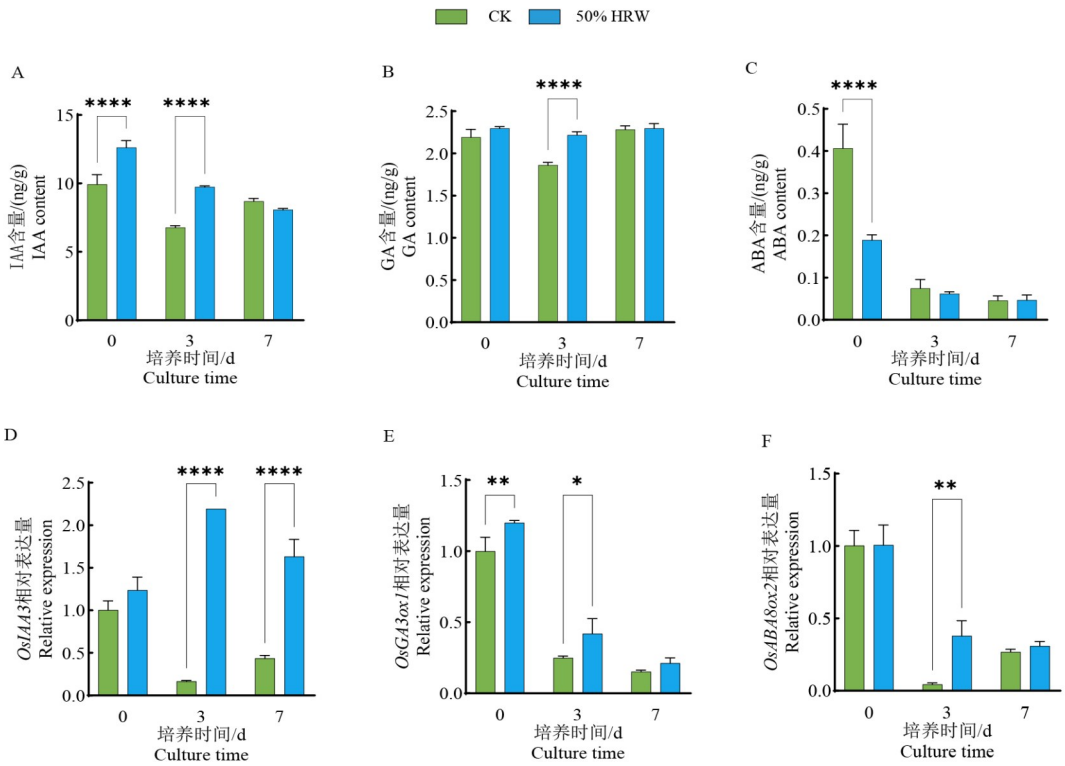
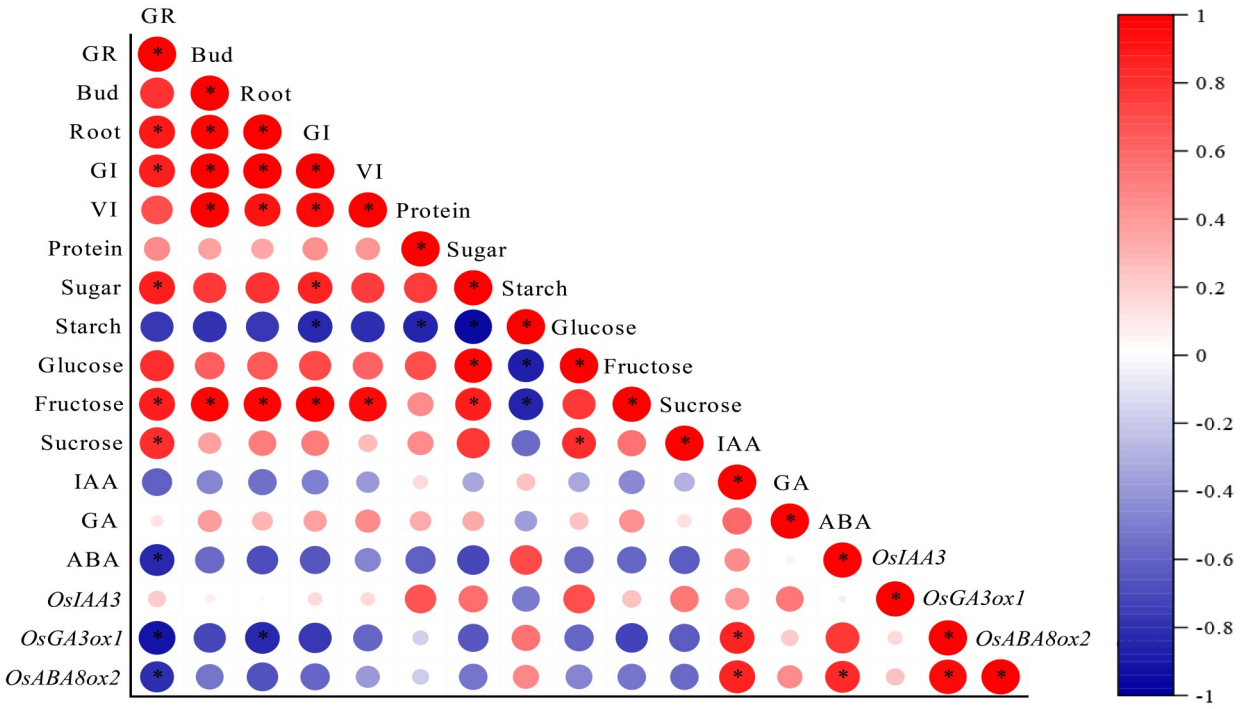


图3 50%富氢水浸种8 h后水稻的激素含量及相关标志基因的表达量

Fig.3 Hormone content and the expression of related marker genes in rice after 8-hour soaking seeds in 50% HRW

2.5 水稻种子萌发关键影响因素

对50% HRW浸种8 h处理后7 d内水稻种子的发芽率与生理生化指标进行相关性分析,结果如图4所示。可溶性蛋白质、可溶性总糖、葡萄糖、果糖、蔗糖、GA含量、*OsIAA3*相对表达量与水稻发芽率、芽长、根长、发芽指数、活力指数呈现正相关关系,其中可溶性总糖、蔗糖含量与发芽率显著相关,果糖含量与发芽率、芽长、根长、发芽指数、



GR为发芽率,Bud为芽长,Root为根长,GI为发芽指数,VI为活力指数,Protein为可溶性蛋白质含量,Sugar为可溶性总糖含量,Starch为可溶性淀粉含量,Glucose为葡萄糖含量,Fructose为果糖含量,Sucrose为蔗糖含量,IAA为IAA含量,GA为GA含量,ABA为ABA含量,*OsIAA3*为*OsIAA3*相对表达量,*OsGA3ox1*为*OsGA3ox1*相对表达量,*OsABA3ox1*为*OsABA3ox1*相对表达量。*表示显著相关($P<0.05$)

GR is germination rate, Bud is bud length, Root is root length, GI is germination index, VI is vigor index, Protein is soluble protein content, Sugar is total soluble sugar content, Starch is soluble starch content, Glucose is glucose content, Fructose is fructose content, Sucrose is sucrose content, IAA is IAA content, GA is GA content, ABA is ABA content, *OsIAA3* is *OsIAA3* relative expression, *OsGA3ox1* is *OsGA3ox1* relative expression, and *OsABA3ox1* is *OsABA3ox1* relative expression. * indicated significant correlation($P<0.05$)

图4　50%富氢水浸种8 h后水稻种子萌发与生理生化指标相关分析

Fig.4　Correlation analysis of rice seed germination and physiological and biochemical indexes after soaking seeds in 50% HRW for 8 hours

活力指数显著相关($P<0.05$)。而可溶性淀粉、IAA、ABA含量、*OsGA3ox1*、*OsABA8ox2*相对表达量与水稻发芽率、芽长、根长、发芽指数、活力指数呈现负相关关系,其中可溶性淀粉含量与发芽指数显著负相关,*OsGA3ox1*相对表达量与发芽率、根长显著负相关,ABA含量、*OsABA8ox2*相对表达量与发芽率显著负相关($P<0.05$)。

3　讨论

氢气作为重要的气体调节剂,在多个方面参与了植物生长发育[33]。种子萌发作为植物生长的关键起点,是一个复杂的代谢过程,还影响着后续幼苗的生长[34]。本试验以富氢水作为供给植物外源氢气的载体,首先确认了富氢水浸种处理对于水稻种子萌发有积极作用。结果表明富氢水对水稻种子发芽率的影响与浓度密切相关,随浓度升高呈现先升高后降低的趋势。对于100%富氢水作用减弱的现象,王雨等[35]认为高浓度富氢水充入了过多氢气,导致氧气含量下降,最终引发植物缺氧。

根据表型和综合评价的结果,本研究以50%富氢水进一步探究了富氢水对水稻萌发与生长促进的作用机制。结果显示50%富氢水处理组的水稻种子和幼苗中,可溶性蛋白质含量和可溶性总糖含量显著高于对照组,而可溶性淀粉含量则低于对照组。较高的蛋白质与总糖积累为种子萌发提供了必要的营养和能量,而淀粉的有效转化则保证了能量供应的持续性。这与Huang等[36]结论,氢气可能通过调节糖和淀粉代谢来促进黄瓜种子发芽一致。作物中淀粉、葡萄糖、果糖、蔗糖含量的变化密切相关,淀粉在淀粉磷酸化酶或淀粉酶的作用下分解为葡萄糖,果糖是葡萄糖的同

分异构体,而蔗糖是由葡萄糖与果糖组成的二糖[37]。本试验发现50%富氢水浸种处理后水稻种子中的葡萄糖、果糖、蔗糖含量均高于CK组,这为淀粉在种子萌发过程中的转化提供了物质基础。同时,这些糖类是细胞呼吸、物质合成等生理活动的重要能量来源,有助于促进种子萌发和早期生长[38]。上述试验结果进一步验证了富氢水可通过调节种子萌发过程中碳水化合物的代谢,提高能量供给以促进种子萌发与幼苗生长。

IAA、GA和ABA在水稻种子发芽过程中起着重要的调节作用[18,39]。适当浓度的IAA能够促进细胞伸长和分裂,从而为种子发芽提供必要的生长动力。而GA可以打破种子的休眠状态,激发种子的发芽潜能。ABA则在种子休眠和逆境适应中发挥关键作用,其含量的变化会影响种子发芽的时机和速度。通过对富氢水浸种处理后0~7 d的水稻种子及幼苗中IAA、GA与ABA的含量及通路标志基因进行测定,发现50%富氢水浸种处理将促进水稻种子及幼苗中的IAA与GA的积累,并降低ABA含量,更快打破种子休眠,进入萌发与生长阶段。也有相似的研究表明,富氢水可能通过影响这些植物激素的合成或信号传导,进而推进种子发芽进程[40-41]。

本试验明确了富氢水对水稻种子萌发和生长的积极影响,并与可溶性蛋白质、可溶性总糖、可溶性淀粉、葡萄糖、果糖、蔗糖、IAA、GA与ABA的含量及标志基因*OsIAA3*、*OsGA3ox1*与*OsABA8ox2*的表达量变化建立了关联,但有些地方还需要进一步探讨。结合现有的研究结论,在富氢水处理下,水稻[42]、黄瓜[36]、冬瓜[3]的发芽率与蒸馏水对照组相比均显著提高,但还需要对更多水稻品种及其它作物进行研究,以确定富氢水在促进种子萌发方面是否具有广泛的适用性。其次,本试验只考虑了种子萌发阶段,还需开展富氢水处理后水稻分蘖期、拔节期、孕穗期、抽穗开花期、灌浆期的形态观察以及种子产量统计,探索富氢水的长期效果。

4 结论

本研究通过富氢水浸种处理水稻种子,明确了富氢水促进水稻萌发的生理分子机制,以探索富氢水应用于农业生产的合理方式。结果表明水稻种子发芽率与富氢水浓度相关,50%、75%富氢水浸种处理的发芽率显著高于CK组。进一步研究显示,50%的富氢水处理可通过提高水稻种子萌发过程中可溶性蛋白质含量,促进淀粉的转化,增加葡萄糖、果糖、蔗糖的含量,为种子生理活动提供更充足的营养物质储备和提高能量供给水平,从而促进水稻种子萌发和幼苗生长。此外,本研究还揭示了富氢水促进种子萌发和幼苗生长的分子机制,即富氢水可通过IAA和GA合成的上调与ABA的降解,促进水稻种子萌发与幼苗生长。

参 考 文 献

[1]Chao S, Mitchell J, Shu F K. Factors determining genotypic variation in the speed of rice germination[J]. Agronomy, 2021, 11(8):1614.

[2]徐春春,纪龙,陈中督,等. 中国水稻生产发展的绿色趋势[J]. 生命科学,2018,30(10):1146-1154.
Xu C C, Ji L, Chen Z D, et al. Trends of green development of rice production in China[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2018,30(10):1146-1154.

[3]Chang J J, Li J W, Li J L, et al. The GA and ABA signaling is required for hydrogen-mediated seed germination in wax gourd [J]. BMC Plant Biology, 2024, 24(1):542.

[4]Cao Z Y, Duan X L, Yao P, et al. Hydrogen gas is involved in auxin-induced lateral root formation by modulating nitric oxide synthesis [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(10):2084.

[5]Zhu Y C, Liao W B. A positive role for hydrogen gas in adventitious root development[J]. Plant Signaling & Behavior, 2016, 11(6):e1187359.

[6]Jin Q J, Zhu K K, Cui W T, et al. Hydrogen gas acts as a novel bioactive molecule in enhancing plant tolerance to paraquat-induced oxidative stress via the modulation of heme oxygenase-1 signalling system[J]. Plant, Cell & Environment, 2013, 36(5): 956-969.

[7]Wang Y, Duan X L, Xu S, et al. Linking hydrogen-mediated boron toxicity tolerance with improvement of root elongation, water status and reactive oxygen species balance: a case study for rice[J]. Annals of Botany, 2016, 118(7):1279-1291.

[8]Hancock J T, LeBaron T W, May J, et al. Molecular hydrogen: is this a viable new treatment for plants in the UK?[J]. Plants, 2021, 10(11):2270.

[9]Zhao G, Cheng P F, Zhang T, et al. Hydrogen-rich water prepared by ammonia borane can enhance rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings tolerance against salinity, drought or cadmium[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 224:112640.

[10]宋韵琼,丛峰松,李朝阳,等. 富氢水预处理对小苍兰切花瓶插寿命及其抗氧化系统的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2018,36(1):1-6,13.

Song Y Q, Cong F S, Li C Y, et al. Effects of hydrogen-rich water pretreatment on vase life and antioxidant system in cut Freesia [J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University (Agricultural Science), 2018, 36(1): 1-6, 13.

[11]Liu X J, Fang H, Huang P P, et al. Effects of hydrogen-rich water on postharvest physiology in scales of Lanzhou lily during storage[J]. Horticulturae, 2023, 9(2): 156.

[12]Zhu C, Yang L, Nie P, et al. Effects of hydrogen-rich water on the nutritional properties, volatile profile and texture of germinated brown rice [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2022, 57(12): 7666-7680.

[13]李雅晨,郑艳梅,宋雯佩,等. 富氢水在植物生长发育及逆境胁迫响应中的作用研究进展[J]. 园艺学报, 2024, 51(7): 1489-1500.
Li Y C, Zheng Y M, Song W P, et al. Research progress on the role of hydrogen-rich water in plant growth and development and stress response [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(7): 1489-1500.

[14]Kannangara C G, Woolhouse H W. Changes in the enzyme activity of soluble protein fractions in the course of foliar senescence in *Perilla frutescens* (L.) britt [J]. New Phytologist, 1968, 67(3): 533-542.

[15]宋瑞娇,冯彩军,齐军仓. 富氢水对干旱胁迫下大麦种子萌发的影响[J]. 新疆农业科学, 2022, 59(1): 79-85.
Song R J, Feng C J, Qi J C. Effects of hydrogen-rich water on barley seed germination under drought stress [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2022, 59(1): 79-85.

[16]Sami F, Siddiqui H, Hayat S. Interaction of glucose and phytohormone signaling in plants [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 135: 119-126.

[17]Kushwah S, Laxmi A. The interaction between glucose and cytokinin signaling in controlling *Arabidopsis thaliana* seedling root growth and development[J]. Plant Signaling & Behavior, 2017, 12(5): e1312241.

[18]Luo B J, Xu J X, Ding Y F, et al. Effects of endogenous hormone balance on dormancy and germination of tiller bud[J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(9): 1619.

[19]蔡江涛. UV-B辐射下富氢水(HRW)对大豆芽苗菜下胚轴生长、异黄酮合成的影响及机理研究[D]. 南京:南京农业大学, 2014.
Cai J T. Effects and mechanism of hydrogen-rich water (HRW) on the hypocotyl elongation and isoflavones biosynthesis of soybean sprouts under UV-B irradiation [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.

[20]Lekjing S, Venkatachalam K. Effects of germination time and kilning temperature on the malting characteristics, biochemical and structural properties of HomChaiya rice [J]. RSC Advances, 2020, 10(28): 16254-16265.

[21]Islam M A, Shorna M N A, Islam S, et al. Hydrogen-rich water: a key player in boosting wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling growth and drought resilience[J]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 22521.

[22]刘春阳,孙全文,赵月平,等. 利用灰色关联度和隶属函数法评价5个'张杂谷'饲草谷子品种的营养价值[J]. 草地学报, 2024, 32(5): 1522-1528.
Liu C Y, Sun Q W, Zhao Y P, et al. Evaluation of the nutritional value of five millets(*Setaria italica* beauv.)varieties using grey relational analysis and membership function method [J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(5): 1522-1528.

[23]赵俊福,何晗颖,张明泽,等. 基于"3414"试验的切花芍药氮磷钾推荐施肥量研究[J]. 中国土壤与肥料, 2024(5): 70-77.
Zhao J F, He H Y, Zhang M Z, et al. Study on the recommended fertilization amount of N, P, K for cut herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) based on "3414" experiment [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2024(5): 70-77.

[24]Khan M I R, Kumari S, Nazir F, et al. Defensive role of plant hormones in advancing abiotic stress-resistant rice plants [J]. Rice Science, 2023, 30(1): 15-35.

[25]Xie J L, Yang F, Xu X, et al. Salicylic acid, jasmonate, and ethylene contribute to rice defense against white tip nematodes *Aphelenchoides besseyi*[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 12: 755802.

[26]Zhang Y, Li X Y, Zhang S Y, et al. Quantitative loop-mediated isothermal amplification detection of Ustilaginoidea virens causing rice false smut [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(12): 10388.

[27]孙星学,柳参奎. 水稻可溶性糖蛋白的纯化与鉴定研究[J]. 植物研究, 2006, 26(2): 187-192.
Sun X X, Liu S K. Purification and identification of rice soluble glycoproteins [J]. Bulletin of Botanical Research, 2006, 26: 187-192.

[28]Nayak D K, Sahoo S, Barik S R, et al. Association mapping for protein, total soluble sugars, starch, amylose and chlorophyll content in rice[J]. BMC Plant Biology, 2022, 22(1): 620.

[29]惠会清. 用分光光度法确定碘和淀粉显色反应的定量测定条件[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(1): 60-61, 74.
Hui H Q. Determining condition of chromogenic reaction between iodine and amylum quantitatively by means of spectrophotometer[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2008, 18(1): 60-61, 74.

[30]宋奇,杨杰,鲁瑶,等. 基于硫酸-苯酚法的可溶性糖高通量测定方法及其应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(5): 1480-1487.
Song Q, Yang J, Lu Y, et al. High-throughput method for determining soluble sugar based on sulfuric acid-phenol method and its application [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(5): 1480-1487.

[31]中华人民共和国国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定:GB 5009.8—2023[S].
National Health and Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standards Determination of fructose, glucose, sucrose, maltose and lactose in food: GB 5009.8-2023[S].

[32]L'homme C, Peschet J L, Puigserver A, et al. Evaluation of

fructans in various fresh and stewed fruits by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection[J]. Journal of Chromatography A,2001,920(1-2):291-297.

[33]Yang L,Han H C,Sun L,et al. The advances,challenges,and perspectives on electrocatalytic reduction of nitrogenous substances to ammonia:a review[J]. Materials,2023,16(24):7647.

[34]宋松泉,唐翠芳,程红焱,等. 种子萌发调控的研究进展[J]. 中国科学:生命科学,2024,54(7):1226-1253.
Song S Q,Tang C F,Cheng H Y,et al. Research progress in regulation of seed germination[J]. Scientia Sinica (Vitae),2024,54(7):1226-1253.

[35]王雨. 富氢水缓解过量硼对水稻种子萌发的抑制[D]. 南京:南京农业大学,2015.
Wang Y. Hydrogen-rich water alleviates excess boron-induced the inhibition of rice seed germination[D]. Nanjing:Nanjing Agricultural University,2015.

[36]Huang P P,Li C X,Liu H W,et al. Hydrogen gas improves seed germination in cucumber by regulating sugar and starch metabolisms[J]. Horticulturae,2021,7(11):456.

[37]李文阳,闫素辉,王振林. 小麦灌浆期蔗糖的合成、降解及与淀粉积累的关系[J]. 华北农学报,2011,26(3):146-149.
Li W Y,Yan S H,Wang Z L. The relationship between sucrose metabolism and starch accumulation during grain filling in winter wheat[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica,2011,26(3):146-149.

[38]何亚飞,李霞,谢寅峰. 植物中糖信号及其对逆境调控的研究进展[J]. 植物生理学报,2016,52(3):241-249.
He Y F,Li X,Xie Y F. Research progress in sugar signal and its regulation of stress in plants[J]. Plant Physiology Journal,2016,52(3):241-249.

[39]Wright Z J,Bartel B. Hormonal control of underwater germination in rice[J]. Developmental Cell,2024,59(11):1361-1362.

[40]Wu Q,Su N N,Huang X,et al. Hydrogen-rich water promotes elongation of hypocotyls and roots in plants through mediating the level of endogenous gibberellin and auxin[J]. Functional Plant Biology,2020,47(9):771-778.

[41]Nakamura A,Umemura I,Gomi K,et al. Production and characterization of auxin-insensitive rice by overexpression of a mutagenized rice IAA protein[J]. The Plant Journal,2006,46(2):297-306.

[42]Xu S,Zhu S S,Jiang Y L,et al. Hydrogen-rich water alleviates salt stress in rice during seed germination[J]. Plant and Soil,2013,370(1):47-57.

(编辑:郭玥微)