

水稻在“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统中的耐盐性研究^{*}

II. 钠离子累积

成 静¹ 何远康² 严小龙³ 郑少玲³

(1 华南理工大学食品与生物工程学院, 广州, 510641; 2 华南农业大学农学系;

3 华南农业大学植物营养遗传研究室)

摘要 实验选用已知耐盐性的 5 个水稻基因型作材料, 在“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统中就水稻不同基因型钠离子累积与耐盐性的关系作了比较研究. 结果表明: 在种子植株和再生植株水平, 水稻耐盐基因型的地上部钠离子含量大都显著低于其对应的盐敏感基因型. 证实了水稻植株地上部的钠离子含量可作为判别水稻耐盐性的一个生理指标的观点. 但在愈伤组织, 水稻不同基因型的钠离子含量没有明显的差异, 暗示了植株水平与细胞水平的钠离子吸收机理可能不一致.

关键词 水稻; 钠离子; 盐胁迫; 种子植株; 愈伤组织; 再生植株

中图分类号 S 511.210.1

研究结果表明, 水稻的耐盐能力取决于无机离子的吸收运输调节和渗透调节, 以前者更为重要 (Greenway et al., 1980; 郑少玲等, 1992). 其中, 在钠离子吸收与耐盐性关系的研究中, 水稻植株地上部对钠离子的吸收与其耐盐性呈高度负相关 (严小龙等, 1992). 但因以往的一些试验中这种趋势不稳定, 存在水稻品种非同质性的干扰, 因而未被确定作为衡量耐盐性的一个稳定指标 (Flowers et al., 1991). 此外, 在细胞水平, 钠离子吸收与其耐盐性的关系与植株水平不一致, 暗示无机离子的吸收存在着与植株水平不同的机制 (黄农荣等, 1992). 但这些结果尚有待进一步的证实.

本实验选用已知耐盐性的 5 个水稻基因型, 利用“种子植株—愈伤植株—再生植株”系统, 在 3 个水平进行钠离子吸收累积与其耐盐性的比较研究, 旨在对水稻钠离子吸收机理进行进一步比较和探讨.

1 材料与方法

1.1 材料

选用的两组已知耐盐性的水稻基因型, 每组内的不同基因型基本性状相似, 但耐盐性有显著差异. 第 1 组是由国际水稻研究所 (IRRI) 提供的 Pokkali (耐盐)、Peta (盐敏感); 第 2 组是由广东省农科院水稻研究所提供的桂朝 2 号 (耐盐)、秋桂矮 (盐敏感)、珍桂矮 (盐敏感), 两组基因型均为籼稻 (*Oryza sativa* L.).

1997-09-23 收稿 成 静, 女, 26 岁, 硕士

^{*} 国家自然科学基金 (3870047)、广东省自然科学基金 (930843) 资助项目

1.2 试验方法

- 1.2.1 种子植株部分 用 1/2 IRRI 改进营养液(郑少玲等, 1992)培育幼苗, 28 d 后, 幼苗长至 4~5 叶, 对营养液分别作质量浓度为 0、3、6、9 g/L NaCl 4 个盐处理, 每个品种每个处理设置 3 次重复, 每次重复 3 株苗, 随机区组排列. 处理 12 d 后收获幼苗地上部, 烘干称干质量, 用火焰光度法测定钠离子含量(张粹雯, 1984).
- 1.2.2 愈伤组织部分 所用基本培养基为 N6(朱至清等, 1975), 将与种子植株同穗的种子接种于诱导培养基(N6+2 mg/L 2, 4-D+0.5 mg/L 激动素+2.3 g/L 脯氨酸), 暗培养 30 d 后于继代培养基(N6+2 mg/L 2, 4-D+2 g/L 酵母提取物)中扩繁一代, 然后进行盐胁迫培养(N6+2 mg/L 2, 4-D+0.2 mg/L 萘乙酸, 再分别加入质量浓度为 0、3、6、9、12 g/L NaCl), 暗培养 20 d. 共胁迫培养 3 代, 每代都测定愈伤组织钠离子含量. 胁迫 3 代后, 转入分化培养基(N6+2 mg/L 激动素+0.5 mg/L 萘乙酸+2 mg/L 硫酸腺嘌呤)与壮根培养基(N6+0.2 mg/L 吲哚乙酸)中进行再生苗的分化及壮根.
- 1.2.3 再生植株部分 上述的再生苗经过练苗后, 把较健壮具有 4~5 片叶的再生苗按其分化前不同的盐胁迫来源进行相应的盐处理, 每个处理 3 个重复, 按随机区组排列. 处理 12 d 后收获幼苗地上部, 测定同 1.2.1.

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫下水稻种子植株累积钠离子的基因型差异

表 1 结果显示, 随着盐浓度逐渐增加, 种子植株中钠离子含量也逐渐升高. 同一浓度下, 不同基因型存在明显的差异: 第 1 组耐盐品种 Pokkali 的钠离子含量都显著低于盐敏感品种 Peta. 第 2 组耐盐品种桂朝二号的钠离子含量显著低于盐敏感品种秋桂矮、珍桂矮.

表 1 不同 NaCl 浓度下各基因型水稻种子植株钠离子含量(μmol/g)¹⁾

$\rho_{NaCl}/(g \cdot L^{-1})$	Pokkali	Peta	桂朝二号	秋桂矮	珍桂矮
0	44.25c	97.06b	54.34c	88.43b	117.09a
3	573.99c	975.84a	619.97c	783.19b	762.40b
6	1 093.84b	2 066.10a	1 067.14b	1 804.99a	1 890.46a
9	1 519.75b	2 731.10a	1 554.81b	2 406.68a	2 565.70a

1) 表中数字为 3 次重复的平均数; 同一浓度数字右边具有相同字母的数值差异不显著; 邓肯氏测验, $P=0.05$

表 2 不同 NaCl 浓度下各基因型水稻愈伤组织钠离子含量(μmol/g)¹⁾

$\rho_{NaCl}/(g \cdot L^{-1})$	Pokkali	Peta	桂朝二号	秋桂矮	珍桂矮
0	43.22ab	30.06b	31.58b	40.04ab	51.01a
3	355.58a	370.57a	387.02a	384.55a	427.14a
6	524.99c	540.59bc	701.07a	575.85abc	668.69ab
9	765.63a	789.87a	826.58a	746.95a	799.75a
12	1 112.45a	1 147.81a	956.82b	1 094.30ab	1 081.23ab

1) 表中数字为 3 次重复的平均数. 同一浓度数字右边具有相同字母的数值差异不显著. 邓肯氏测验, $P=0.05$

2.2 NaCl 胁迫下水稻愈伤组织累积钠离子的基因型差异

无盐胁迫时, 5 个水稻基因型的愈伤组织钠离子含量都较低, 随着 NaCl 浓度的增加, 愈伤组织钠离子含量逐渐提高. 但愈伤组织累积钠离子的基因型差异不显著, 除在质量浓度为 0 g/L NaCl 时珍桂矮显著高于桂朝二号外, 在各盐处理浓度下两组内的品种都无显著差异 (表 2).

2.3 NaCl 胁迫下水稻再生植株累积钠离子的基因型差异

如表 3 所示, 5 个水稻基因型的再生植株均随盐浓度的增加而逐渐增加其钠离子含量. 在 NaCl 质量浓度为 0 g/L 时, 5 个水稻基因型的再生植株钠离子含量都很低, 且基因型间差异均不显著. 在盐处理后, 再生植株的钠离子含量远高于相应的愈伤组织和种子植株. NaCl 质量浓度为 6.9 g/L 时, 第 1 组耐盐基因型 Pokkali 的钠离子含量显著低于盐敏感基因型 Peta, 第 2 组耐盐基因型桂朝二号的钠离子含量显著低于盐敏感基因型秋桂矮和珍桂矮的钠离子含量.

表 3 不同 NaCl 浓度下各基因型水稻再生植株钠离子含量 ($\mu\text{mol/g}$)¹⁾

$\rho_{\text{NaCl}}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	Pokkali	Peta	桂朝二号	秋桂矮	珍桂矮
0	154.04a	217.46a	149.46a	208.04a	204.70a
3	1 750.30a	2 068.98a	2 387.74a	1 494.82a	204.09a
6	2 710.40b	3 944.36a	2 431.96b	3 451.44a	3 265.77a
9	3 299.35b	4 119.67a	3 001.95b	4 167.44a	4 015.47a

1) 表中数字为 3 次重复的平均数. 同一浓度数字右边具有相同字母的数值差异不显著. 邓肯氏测验, $P=0.05$

从表 4 中看出, 种子植株或再生植株的钠离子含量与愈伤组织中的钠离子含量在任何盐浓度下都没有明显的相关性, 而种子植株与再生植株在高盐浓度 (质量浓度为 6.9 g/L 的 NaCl) 时钠离子含量有显著的相关关系.

表 4 种子植株、愈伤组织及再生植株中钠离子含量的相关关系¹⁾

材料类型	$\rho_{\text{NaCl}}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	愈伤组织	再生植株
种子植株	3	0.133	0.089
	6	0.198	0.949 *
	9	-0.216	0.954 *
愈伤组织	3	—	0.748
	6	—	-0.459
	9	—	0.611

1) 当 $n=5-2=3$ 时, $P_{0.05}=0.878$ 显著相关 (*); $P_{0.01}=0.959$, 极显著相关 (**)

3 讨论

3.1 水稻不同基因型在“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统中的钠离子累积情况的差异

水稻不同基因型在“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统中钠离子的累积情况, 再生植株的钠离子含量普遍高于种子植株和愈伤组织的钠离子含量, 其中愈伤组织的钠离子含量最低. 出现这样的现象可能的解释为: 在植株水平, 无机离子的吸收调节包括植株整体的耐盐机制和细胞的耐盐机制, 且前者起主要作用, 这可从基因型之间钠离子含量的差异在植株水平显著而在细胞水平不显著上得到证实. 但在愈伤组织, 只能发挥细胞的耐盐机制, 如离子分隔, 就只能把钠离子分隔在细胞内的某些部位 (如液泡), 这样, 其钠离子含量就必须维持较低的水平较种子植株的低, 而再生植株的钠离子含量较种子植株的高, 可能是由于在

盐胁迫下, 植株通过细胞膜或别的整体机制排斥钠离子要消耗大量的能量, 如果细胞本身能忍耐较高的盐浓度, 植株就可节约这些能量用于补偿别的盐害损伤(徐云岭等, 1990), 这对植株是有利的. 由于再生植株是从愈伤组织分化而来的, 而愈伤组织经过3代的盐胁迫后, 细胞的适应能力得到很大的提高, 可以在高浓度的盐溶液中, 保持酶系统和膜结构发挥正常的功能(徐云岭等, 1989). 分化成植株后, 再生植株的细胞可能仍保持了一部分这种能力, 使整体细胞忍耐盐害的能力提高, 再加上有机整体的耐盐机制作用, 使钠离子在再生植株中可以累积到一定程度. 然而以上解释仅仅是一种推测, 这涉及到水稻植株水平和细胞水平的耐盐机理, 以及基因的表达和调控等尚未清楚的问题. 因此, 真正的原因需要进一步探讨.

3.2 水稻不同基因型钠离子的累积及其与耐盐性的关系

在植株水平, 钠离子含量这一间接鉴定的生理生化指标能否作为水稻的耐盐性鉴定方法尚存在争论(严小龙等, 1992; 汪宗立等, 1986; Flowers et al, 1991). 从本实验的结果来看, 在种子植株水平, 两组耐盐基因型 Pokkali、桂朝二号的钠离子含量均显著低于其盐敏感基因型 Peta、秋桂矮和珍桂矮. 可见, 钠离子含量可作为反映基因型间耐盐性差异的指标, 这一结果支持了前人(严小龙等, 1992; 汪宗立等, 1986)关于水稻地上部的钠离子累积可以作为水稻耐盐性的一个生理指标的观点. 而且, 在再生植株水平, 也得到了同样的结论, 由于同一基因型的再生植株基本上是从同一个体的愈伤组织分化而来的, 大大减少了水稻品种非同质性的干扰, 因而, 在再生植株水平上得出的这个结论更进一步证实了水稻地上部钠离子的累积与水稻耐盐性具有的高度负相关性. 但在愈伤组织, 却没有发现这一规律. 水稻不同基因型愈伤组织的钠离子含量在国内外两组基因型中差异都不显著, 可见, 水稻不同基因型愈伤组织的钠离子累积与其耐盐性没有相关的关系, 暗示了水稻植株水平与愈伤组织的钠离子吸收可能具有不同的机制. 至于这不同的机制是怎样运行的, 特别是愈伤组织这方面的工作有待于今后利用“种子植株—愈伤组织—再生植株”研究系统进行更进一步的研究.

参 考 文 献

- 朱至清, 王敬驹, 孙敬三, 等. 1975. 通过氮源比较试验建立一种较好的水稻培养基. 中国科学, (5): 487~490
- 汪宗立, 刘晓忠, 王志霞. 1986. 水稻耐盐性的生理研究: (I) 盐逆境下水稻品种间水分关系和渗透调节的差异. 江苏农业学报, 2(3): 1~11
- 张粹雯. 1984. 土壤农业化学常规分析方法. 北京: 科学出版社, 216~217
- 严小龙, 郑少玲, 连兆煌. 1992. 水稻耐盐机理的研究: (I) 不同基因型植株水平耐盐性初步比较. 华南农业大学学报, 13(4): 6~11
- 郑少玲, 严小龙, 连兆煌. 1992. 水稻耐盐机理的研究: (III) 不同基因型对 NaCl 吸收和运转的动力学比较. 华南农业大学学报, 14(4): 19~25
- 徐云岭, 余叔文. 1989. 植物盐胁迫蛋白. 植物生理学通讯, (2): 12~16
- 徐云岭, 余叔文. 1990. 植物适应盐逆境过程中的能量消耗. 植物生理学通讯, (6): 70~73
- 黄农荣, 何远康, 卢永根, 等. 1992. 水稻耐盐机理的研究: (II) 不同基因型愈伤组织耐盐性比较. 华南农业大学学报, 13(4): 12~18
- Flowers T J, Yeo A R. 1991. Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryza sativa* L.) varieties. New Phytol, 88: 363~373
- Greenway H, Munns R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Ann Rev Plant Physiol, 31: 149~190

SALT TOLERANCE OF DIFFERENT RICE GENOTYPES IN A “SEED PLANT—CALLUS—REGENERATED PLANT” SYSTEM

II. Na^+ ACCUMULATION

Cheng Jing¹ He Yuankang² Yan Xiaolong³ Zheng Shaoling³

(1 Dept. of Bioengineering, South China Univ. of Tech., Guangzhou 510641; 2 Dept. of Agronomy, South China Agric. Univ.; 3 Lab. of Plant Nutritional Genetics, South China Agric. Univ.,)

Abstract

Five rice genotypes with known degree of salt tolerance were used to investigate Na^+ accumulation and salt tolerance of different rice genotypes in a “seed plant-callus-regenerated plant” system. The results indicated that in the shoot of the seed plant and the regenerated plant, Na^+ accumulation of the salt tolerant rice genotypes was significantly lower than that of salt sensitive rice genotypes. There was a significant correlation between Na^+ content in the seed plant and that in the regenerated plant. It is concluded that Na^+ content of rice shoot could be used as a physiological index of salt tolerance. In Callus, no significant difference in Na^+ content was found among different rice genotypes, and Na^+ content in the callus was not correlated with that in the seed plant or regenerated plant, indicating that different mechanism of Na^+ absorption may be involved in the whole plant level and the cellular level.

Key words rice (*Oryza sativa* L.); Na^+ accumulation; salt stress; seed plant; callus; regenerated plant