

水稻耐盐机理的研究

II、不同基因型愈伤组织耐盐性比较

黄农荣** 何远康 卢永根

(农学系)

严小龙

(作物营养与施肥研究室)

摘要 氯化钠胁迫对水稻愈伤组织的生长有明显的影晌,表现为存活率下降、生长量减少以及干/鲜值增加等。然而用上述指标进行比较,具有植株水平耐盐性差异的不同基因型,愈伤组织之间却没有显著差异,表明植株水平的耐盐程度与愈伤组织的耐盐程度之间没有直接联系。在氯化钠胁迫的情况下,耐盐基因型愈伤组织的 K^+ 含量低于盐敏感基因型,而前者的 Na^+ 和 Cl^- 含量却略高于后者。这种趋势与植株水平不一致,暗示了愈伤组织水平对无机离子的吸收可能具有与植株水平不同的机制。

关键词 水稻的耐盐性;愈伤组织;氯化钠胁迫; K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 吸收

植物的耐盐性是一种复杂的性状,它可能涉及到植株、组织以至细胞等多种水平的结构与功能的协调作用^[3-5]。但各种水平在耐盐性中的作用及它们相互间的关系仍未十分清楚。一些研究发现,某些植物如大麦、芒麦草、番茄的栽培种及近缘野生种的组织水平与植株水平耐盐性密切相关^[12],但有些研究则发现,组织水平与植株水平的耐盐性并不一致^[4,10]。出现这些矛盾的原因,一方面可能是不同植物种之间存在差异;另一方面是衡量耐盐性的指标不统一,因为目前还没有找到从本质上阐明植物耐盐性的生理生化指标^[5]。

要获得衡量植物耐盐性的理想指标,首先必须了解植物的耐盐机理。在植株水平,耐盐能力主要取决于渗透调节和无机离子的吸收运输调节^[6-13]。这些过程被认为是非盐生植物植株水平相对耐盐性的生理指标^[6],但它们是否表现在组织和细胞水平,目前还没有明确答案。水稻在这方面的研究较少,应用水稻不同基因型进行离体比较研究则更少。

本试验采用两个具有植株水平耐盐的品种(系)及对应的盐敏感品种为材料,比较它们在不同氯化钠浓度胁迫下的愈伤组织生长状况;无机离子(K^+ 、 Na^+ 、 Cl^-)的离体吸收规律。旨在探讨不同基因型在愈伤组织水平的耐盐机理及其与植株水平耐盐性之间的关系,为水稻耐盐性的遗传改良提供一些理论依据。

· 国家自然科学基金资助项目

** 现在工作单位:广州市农业科学研究所

1992-02-20 收稿

1 材料和方法

1.1 供试材料

由国际水稻研究所 (IRRI) 植物育种系提供的已确定具植株耐盐性的两组籼稻品种 (系): 第1组, Pokkali (耐盐) 与 Peta (盐敏感); 第2组, IR29725-25-22-3-3-3 (简称 IR29725) (中等耐盐) 与 IR5 (盐敏感)。

1.2 方法

上述种子在 MS 培养基^[8]诱导下, 获得的愈伤组织用作耐盐胁迫培养。

以添加 2g/L 酵母抽提物的 MS 为基本培养基, 用氯化钠配制浓度分别为 0 (对照), 0.5, 1.0, 1.5% (W/V) 的盐胁迫培养基, pH 调至 5.8。

将愈伤组织切成小块 (约 $\varnothing=5\text{mm}$), 分别接到各氯化钠浓度的盐胁迫培养基上, 每瓶接 6~7 块, 在 $27 \pm 2^\circ\text{C}$ 下, 每代暗培养 20 天, 连续盐胁迫培养 6 代。

每次胁迫培养结束, 均分别测定它们相对于对照的存活率和生长量。计算公式如下:

$$\text{存活率 (\%)} = \text{存活块数} / \text{接种块数} \times 100\%$$

$$\text{相对存活率 (\%)} = \text{盐胁迫下的存活率} / \text{无盐胁迫下的存活率} \times 100\%$$

$$\text{鲜重 (克)} = \text{终重} - \text{始重}$$

$$\text{相对生长量 (\%)} = \text{盐胁迫下的鲜重} / \text{无盐胁迫下的鲜重} \times 100\%$$

测定经过连续盐胁迫培养的第六代愈伤组织的干/鲜值, 用万分之一电子天平称各处理的愈伤组织的鲜重, 样品于 70°C 烘箱中烘干, 取出后立即用同一电子天平称其干重, 计算其干/鲜值, 测定干/鲜值后的样品亦同时用于生理指标测定。

愈伤组织中 K^+ 、 Na^+ 含量用火焰光度计法测定^[2]; Cl^- 含量用硝酸银滴定法测定^[1]。

2. 结果与分析

2.1 盐胁迫对不同基因型愈伤组织生长的影响

以愈伤组织的相对存活率 (RSR)、相对生长量 (RG) 和干/鲜值为指标, 测定了盐胁迫对四个基因型愈伤组织生长的影响。

表 1 列出了 1 至 6 代愈伤组织的相对存活率。结果表明, 从第 1 代开始, 各基因型的 RSR 均随着氯化钠浓度的升高而显著降低。不同基因型下降的趋势略有不同。在第 1 组的两个基因型中, Pokkali (植株水平耐盐) 的各代总的来说比 Peta (植株水平盐敏感) 具有较高的 RSR, 但这种差异不很明显, 只在高氯化钠浓度时较为突出; 在另一组的两个基因型中, IR29725 (植株水平中等耐盐) 的 RSR 在各代均略低于 IR5 (植株水平盐敏感), 与第 1 组的情况相反, 反映了愈伤组织水平的耐盐性与原植株水平不完全一致。

表1 盐胁迫培养一至六代愈伤组织相对存活率(%±SD)

| 基因型 培养度 代数 | Pokkali | | | Peta | | | IR29725 | | | IR5 | | |
|------------------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|
| | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 1.5 |
| 一 | 71.7±0.28 | 28.6±0.46 | 16.8±0.38 | 78.9±0.21 | 40.0±0.25 | 10.8±0.25 | 64.2±0.26 | 28.3±0.15 | 5.7±0.08 | 64.4±0.15 | 30.5±0.15 | 6.8±0.13 |
| 二 | 75.6±0.34 | 58.6±0.35 | 20.5±0.25 | 80.2±0.18 | 55.5±0.16 | 20.2±0.34 | 70.3±0.35 | 39.2±0.23 | 0.0 | 70.3±0.24 | 42.3±0.16 | 0.0 |
| 三 | 82.5±0.53 | 75.0±0.33 | 25.5±0.15 | 84.6±0.31 | 60.3±0.15 | 22.5±0.16 | 75.6±0.19 | 48.4±0.31 | — | 77.5±0.31 | 58.8±0.14 | — |
| 四 | 89.7±0.25 | 80.2±0.16 | 29.8±0.25 | 86.7±0.15 | 71.8±0.33 | 23.8±0.15 | 82.3±0.25 | 62.8±0.26 | — | 84.3±0.30 | 75.8±0.22 | — |
| 五 | 91.8±0.48 | 82.8±0.15 | 33.25±0.34 | 89.5±0.44 | 79.5±0.42 | 25.3±0.18 | 85.7±0.17 | 68.4±0.34 | — | 88.2±0.30 | 75.8±0.22 | — |
| 六 | 92.6±0.35 | 85.5±0.31 | 90.8±0.36 | 90.8±0.36 | 80.7±0.28 | 25.5±0.25 | 87.0±0.13 | 70.6±0.52 | — | 89.5±0.26 | 78.9±0.15 | — |

表2列举的是1至6代愈伤组织的相对生长量。结果呈现了与相对存活率相似的趋势,即各基因型的RG均随氯化钠浓度的增加而显著降低。但基因型间差异的情况与RSR略有不同。在第1组的两个基因型中,Pokkali与Peta在各代RG的差异无明显规律;在第2组的两个基因型中,IR29725在1至3代的RG均略低于IR5,但在第4代两者接近,到第5代以后前者大大超过后者,所以二者的差异亦无明显规律性。

表2 盐胁迫培养一至六代愈伤组织的相对生长量(%±SD)

| 基因型 培养度 代数 | Pokkali | | | Peta | | | IR29725 | | | IR5 | | |
|------------------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|
| | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 0.5 | 1.0 | 1.5 |
| 一 | 41.8±0.31 | 25.9±0.25 | 8.5±0.13 | 49.6±0.23 | 17.5±0.15 | 5.0±0.05 | 45.6±0.15 | 25.0±0.11 | 6.5±0.08 | 54.1±0.14 | 32.0±0.15 | 7.8±0.12 |
| 二 | 46.8±0.23 | 28.6±0.21 | 7.5±0.04 | 52.3±0.12 | 25.2±0.11 | 6.3±0.03 | 52.3±0.25 | 31.5±0.15 | 0.0 | 57.5±0.18 | 35.5±0.16 | 0.0 |
| 三 | 53.5±0.18 | 30.4±0.14 | 8.3±0.07 | 54.6±0.15 | 31.9±0.18 | 8.5±0.06 | 59.8±0.18 | 37.3±0.21 | — | 64.2±0.25 | 39.6±0.13 | — |
| 四 | 65.9±0.31 | 33.5±0.17 | 8.8±0.09 | 56.9±0.18 | 37.3±0.34 | 9.0±0.05 | 67.4±0.27 | 43.4±0.19 | — | 67.5±0.16 | 40.1±0.09 | — |
| 五 | 72.3±0.23 | 38.0±0.15 | 9.2±0.10 | 59.3±0.25 | 42.9±0.20 | 9.5±0.11 | 80.7±0.23 | 47.8±0.15 | — | 69.8±0.27 | 41.3±0.12 | — |
| 六 | 78.0±0.38 | 43.6±0.21 | 8.9±0.08 | 61.8±0.19 | 44.1±0.23 | 9.8±0.09 | 84.5±0.18 | 49.1±0.32 | — | 70.2±0.19 | 42.9±0.13 | — |

从表 2 还可以看出，各基因型的愈伤组织在不同氯化钠浓度下的 RG 也有随培养代数增加而迅速上升的趋势，但基因型间 RG 上升的趋势无明显差异，反映了愈伤组织水平的耐盐能力与原植株水平的耐盐性无直接的关系。

第 6 代的干/鲜值由图 1 所示。结果表明，四个基因型愈伤组织的干/鲜值均随氯化钠浓度的提高而增大。在第 1 组的两个基因型中，Pokkali 在所有的氯化钠浓度下干/鲜值均低于 Peta。但两个基因型的干/鲜值随氯化钠浓度提高而增大的趋势比较接近，以氯化钠浓度为 0 的干/鲜值作对照，Pokkali 和 Peta 在 0.5% 氯化钠时干/鲜值上升幅度分别为 13.7% 和 18.1%，在 1% 氯化钠时分别为 24.3% 和 24.8%。而第 2 组的 IR29725 与 IR5 在所有氯化钠浓度下干/鲜值差异都不显著。

2.2 不同基因型愈伤组织对盐胁迫的一些生理反应

以 4 个基因型在连续盐胁迫培养阶段的愈伤组织为材料，测定愈伤组织对 K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 的吸收情况，旨在进一步从生理学的角度阐明盐胁迫对愈伤组织的影响，以及不同基因型愈伤组织对盐胁迫的反应。

2.2.1 K^+ 随着氯化钠浓度的提高，所有基因型愈伤组织对 K^+ 的吸收量均有下降，但不同基因型下降的趋势不同，第 1 组的 Pokkali 对 K^+ 吸收下降的幅度较大，以 0% 氯化钠浓度为对照，在 0.5% 和 1% 氯化钠时的愈伤组织 K^+ 含量分别为对照的 76.1% 和 70%。相比之下，Peta 对 K^+ 的吸收量随氯化钠浓度升高而下降的幅度比较小，在 0.5% 和 1% 氯化钠时的愈伤组织 K^+ 含量分别为对照的 93.6% 和 85.5%。第 2 组的两个基因型在氯化钠影响 K^+ 吸收方面呈现相似的趋势 (图 2)。上述结果

表明，氯化钠胁迫抑制愈伤组织对 K^+ 的吸收，其中，耐盐基因型受抑制程度高于盐敏感基因型。这与它们的植株在氯化钠胁迫时对 K^+ 吸收的情况不一致。一些试验发现，植株受一定氯化钠浓度胁迫时，耐盐基因型对 K^+ 的吸收能维持较高的水平，而盐敏感基因型对 K^+ 的吸收迅速下降^[6,13]。

2.2.2 Na^+ 无氯化钠胁迫时，四个基因型愈伤组织的 Na^+ 含量都非常低，随着氯化钠浓度的增加，愈伤组织 Na^+ 含量显著提高，但不同基因型之间存在差异 (图 3)。第 1 组的两

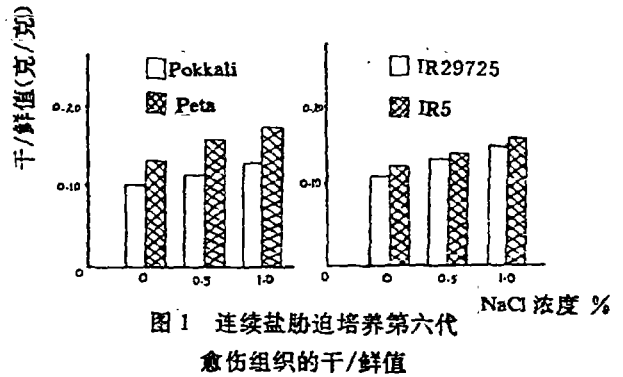


图 1 连续盐胁迫培养第六代愈伤组织的干/鲜值

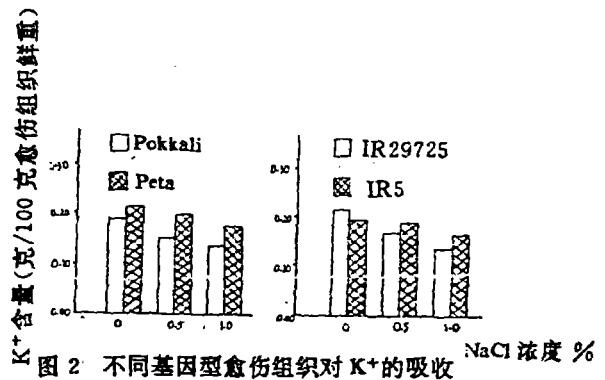


图 2 不同基因型愈伤组织对 K^+ 的吸收

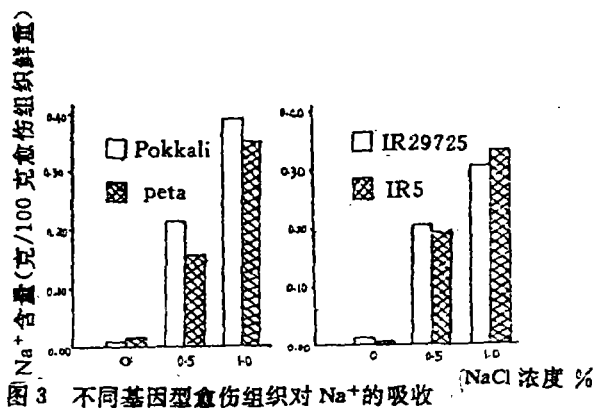
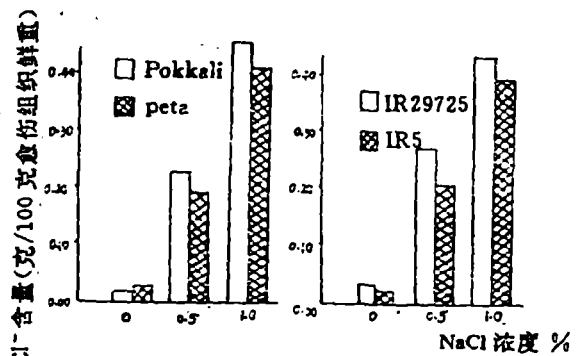


图 3 不同基因型愈伤组织对 Na^+ 的吸收

个基因型中, Pokkali 的愈伤组织 Na^+ 含量在 0.5% 和 1% 氯化钠下均高于 Peta; 第 2 组的 IR29725 和 IR5, 它们的愈伤组织在相同氯化钠浓度下的吸收 Na^+ 量比较接近。上述结果表明, 在氯化钠胁迫下, 耐盐基因型的吸收 Na^+ 量高于盐敏感基因型, 而中等耐盐基因型的吸收 Na^+ 量与盐敏感基因型接近。这种现象与植株水平不同, 较多试验指出, 在非盐生植物中, 耐盐植株的吸收 Na^+ 量往往低于盐敏感植株^[6,13]。

2.2.3 Cl^- 4 个基因型愈伤组织对 Cl^- 的吸收呈现与 Na^+ 相似的趋势, 即耐盐基因型吸收 Cl^- 量普遍高于盐敏感基因型 (图 4)。结果表明, 本试验愈伤组织对 Cl^- 的吸收与植株水平对 Cl^- 的吸收情况不同, 在植株水平, 耐盐植株的吸收 Cl^- 量往往低于盐敏感植株^[5]。



3 讨论

3.1 水稻不同基因型愈伤组织的耐盐性与植株水平耐盐性的关系

植株水平显著的耐盐性差异没能在愈伤组织水平上得到明显的反应。Pokkali 与 Peta 是一对植株水平耐盐性差异显著的品种^[9], 但在愈伤组织水平以相对存活率, 相对生长量和干/鲜值等指标衡量, 它们的耐盐性均无显著的差异。另一组的 IR29725 和 IR5 在愈伤组织水平的耐盐性亦无显著差异, 在某些指标上甚至还出现与植株水平相反的趋势。

对于两种水平耐盐性不一致的现象, 主要有如下可能的解释: 植株水平的耐盐性是由植物整体调节作用的结果, 这种调节作用取决于根、茎、叶等多种器官和不同细胞组织的协调作用^[6,13]。当耐盐基因型的愈伤组织用作离体研究时, 尽管存在着耐盐的遗传潜力, 但由于器官和组织的不健全而无法表达, 以致无法显示出与盐敏感基因型的差异。有时, 植株水平的耐盐性亦决定于细胞水平的调节功能, 如细胞内的离子分隔, 渗透调节等^[11,6,12]。细胞水平耐盐能力的发挥也有赖于植株的整体功能, 例如能量供应、激素调节等。所以, 离体培养的愈伤组织或细胞系往往由于其所需要的条件不能满足而无法进行正常的功能表达。

基于这种理论基础和本试验的结果, 初步认为, 愈伤组织水平的耐盐程度与植株水平的耐盐程度之间没有直接的关系。这个初步结论有两方面的意义: 第一, 在细胞或愈伤组织水平筛选到相对耐盐的细胞系或愈伤组织并不意味着以后在植株水平耐盐性也能得到表达, 所以, 筛选出来的耐盐细胞或愈伤组织要经过分化成苗并进行多代鉴定后才能下结论; 第二, 细胞或愈伤组织的筛选过程中, 有植株水平耐盐性遗传潜力的基因型由于处于离体的环境而无法表达耐盐能力, 因而不被选中。这就需要寻找能反映耐盐性遗传潜力的筛选指标。有人建议从生理生化角度去寻找能反映耐盐性实质的指标才有实用价值^[5]。

3.2 水稻不同基因型愈伤组织吸收 K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 的生理反应

关于在植株水平对 K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 等几种离子的吸收, 目前的结论是, 在盐胁迫下, 相对耐盐的基因型能吸收并维持较高的 K^+ 水平, 但对 Na^+ 和 Cl^- 有一定的排斥作用; 盐敏感基因型吸 K^+ 量较少而 Na^+ 和 Cl^- 较多进入植株内^[11]。本试验的结果显示愈伤组织对 K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 的吸收呈现与植株水平不一致的趋势。在盐胁迫下, 耐盐基因型的愈伤组织 K^+

含量显著低于盐敏感基因型愈伤组织,而前者的 Na^+ 和 Cl^- 却普遍略高于后者,对这种现象还未找到满意的解释。根据 Joschke 提出的 K^+/Na^+ 交换模型^[7],我们推测耐盐基因型的细胞原生质膜可能具有较强的主动运输功能,由 H^+ 泵调节的 K^+/Na^+ 交换过程较为活跃,因此,受氯化钠胁迫时,排出细胞外的 K^+ 较多,而进入细胞内 Na^+ 和 Cl^- 增加。植株水平的离子吸收具有整体控制功能。因而不会出现这种情况。当然,造成上述现象的真正原因还有待进一步详细探讨。

参 考 文 献

- 1 中国土壤学会农业化学专业委员会编. 土壤农业化学常规分析方法. 北京: 科学出版社, 1984, 216~217
- 2 吉田昌一等著(北京农业科学院作物研究所资料情报组译). 水稻生理实验手册. 北京: 科学出版社, 1975, 36~38
- 3 周荣仁 杨燮荣 余叙文等. 利用组织培养选择烟草耐盐愈伤组织变异体并分化出再生植株. 实验生物学报, 1986, 19(3): 279~291.
- 4 Binzel M L. Cellular mechanisms of salinity tolerance in plants. Dissertation Abstracts International, B 1988; 49(3): 596
- 5 Epstein E. & D W Rains. Advance in salt tolerance. Plant and Soil, 1987, 99: 17~29
- 6 Greenway H & R Munns. Mechanisms salt tolerance in nonhalophytes. Ann Rev Plant Physiol, 1980, 31: 149~190
- 7 Jeschke W D. K^+-Na^+ exchange at cellular membrances, intracellular compartment of cations and salt tolerance. In Salinity tolerance in plants. Wiley Interscience, 1984, 37~61 .
- 8 Murashige T. & F. Skoog. A revised medium for rapid growth and biassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 1962, 15: 473~497
- 9 Senadhora D. Personal communication. IRRI, 1988
- 10 Smith M K. & J A Mccomb. Use of callus cultures to detect NaCl tolerance in cultivars of three species of pasture legunes. Aust J Plant Physiol, 1981, 8: 437~442
- 11 Stavarek S J. et al. Cell culture technipues; Selection and physiological studies of salt tolerance. In Salinity tolerance in plants. Wiley Interscience, 1984, 321~334 .
- 12 Tal M. Physiological genetics of salt resistance in higher plants; Studies on the level of the while plant and isolated organs, tissues and cells. In Salinity tolerance in plants. Wiley Interscience, 1984, 301~320
- 13 Yeo A R. et al. Mechanism of salinity resistance in rice and their role as physiological criteria in plant breeding. In Salinity tolerance in plants. Wiley Inter science, 1984, 151~170

STUDIES ON SALT TOLERANCE MECHANISM OF RICE
I. COMPARISON OF SALT TOLERANCE OF CALLI IN DIFFERENT GENOTYPES

Huang Nongrong He Yuankang Lu Yonggen

(Department of Agronomy)

Yan Xiaolong

(Research Lab of Crop Nutrition and Fertilizer)

Abstract Sodium chloride stress had a great impact on the growth of rice calli which was reflected by the decrease in survival ratio and relative growth and increase in dry/fresh ratio of the calli with increasing sodium chloride concentrations. No significant differences, however, were found among calli of different genotypes that markedly differed in salt tolerance at the whole plant level, indicating that there is no direct relationship between salt tolerance at the callus level and at whole plant level. Under sodium chloride stress, the K^+ content in the calli of the salt tolerance genotypes was lower than that of the salt sensitive genotypes, but the former had higher Na^+ and Cl^- contents than the latter. This pattern was different from the whole plant level, implying that different mechanisms of ion absorption might be involved at the callus level.

Key words Rice salt tolerance; Sodium chloride stress; Callus; Absorption of K^+ , Na^+ and Cl^-