

水稻在“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统中的耐盐性研究^{*}

I. 生长反应^{*}

成 静¹ 何远康¹ 严小龙² 郑少玲²

(1 华南农业大学农学系, 广州, 510642; 2 华南农业大学植物营养遗传研究室)

摘要 选用具有不同耐盐性的 5 个水稻基因型, 建立“种子植株—愈伤组织—再生植株”研究系统, 比较研究不同基因型系统中 3 个水平对 NaCl 胁迫的不同反应. 结果表明, NaCl 胁迫下, 5 个不同基因型的耐盐性在种子植株水平有显著的差异, 在再生植株水平这种差异性也得到了进一步的证实. 而在愈伤组织, 差异不明显, 甚至与植株水平有相反表现. 在 3 个水平耐盐性相关关系分析中, 种子植株与再生植株有一定的相关关系, 而二者与愈伤组织均无显著相关. 因此进一步证实了水稻愈伤与植株水平的耐盐性不一致, 并对其原因进行了探讨.

关键词 水稻; 盐胁迫; 种子植株; 愈伤组织; 再生植株

中图分类号 S 511.210.1

植物耐盐性改良是当今解决盐碱障碍的重要方法(钟国瑞, 1988), 其中应用组织培养技术在耐盐生理的研究、耐盐品种的选择及筛选等方面已取得一定进展(刘友良等, 1987). 然而在同一种植物的离体培养细胞与整体植株耐盐性的比较研究中却发现两者的耐盐性不一定一致(Smith et al, 1981; Binzel, 1988). 水稻也发现类似的情况(黄农荣等, 1992), 但以往的研究仅是水稻愈伤组织的耐盐性与原种子植株之间耐盐性的比较. 由于现有水稻品种具有非同质性, 使得水稻不同个体存在性状分化变异的可能性, 难于进行相互比较. 因此, 建立一个等基因的“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统, 可相对排除这种非同质性所造成的个体差异.

本实验选用两组基本性状相似, 但耐盐性有显著差异的 5 个水稻基因型作材料, 分别建立“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统, 在 3 个水平分别用 NaCl 胁迫, 通过耐盐指标比较研究三者间耐盐性的关系, 旨在更深一步探讨水稻细胞水平与植株水平的耐盐性的关系, 为利用组织培养技术筛选完整耐盐植株提供一些理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

选用的两组水稻基因型, 每组内的不同基因型基本性状相似. 第一组是由国际水稻研究所(IRRI)提供的已确定耐盐性的 Pokkali(耐盐)、Peta(盐敏感); 第二组是由广东省农科院水稻研究所提供的桂朝 2 号、秋桂矮、珍桂矮, 尚未确认其耐盐性. 两组基因型均为籼稻

(*Oryza sativa* L.).

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, 每个基因型每个处理设置 3 次重复, 每次重复 3 株苗, 随机区组排列. 处理 12 d 后对幼苗进行盐害程度评级(黎立群, 1986)然后收取幼苗地上部, 称鲜重, 随后烘干称干重, 测定相对生物量、相对鲜/干值.

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 mg/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 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相对存活率、相对生物量、相对鲜/干值. 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 次重复. 按随机区组排列. 处理 12 d 后对幼苗进行盐害程度评级(王洪春, 1989), 其余测定指标同 1.2.1.

2 结果与分析

2.1 水稻不同基因型种子植株对盐胁迫的反应

表 1 结果显示, 在所有 3 项指标中, 第一组 Pokkali 的耐盐性都显著高于 Peta; 第二组基因型, 在盐害级值和相对鲜/干值中, 中等盐质量浓度 3 和 6 g/L 时表现出桂朝 2 号和珍桂矮的耐盐性显著高于秋桂矮, 高盐质量浓度 9 g/L 时表现出桂朝 2 号耐盐性显著高于秋桂和珍桂矮. 在相对生物量中, 3 个盐浓度下桂朝 2 号的耐盐性都显著高于秋桂矮、珍桂矮. 由此可判断出第二组品种的耐盐性为桂朝 2 号> 珍桂矮> 秋桂矮.

表 1 盐胁迫下水稻种子植株各项耐盐指标的基因型差异比较¹⁾

品种	盐害级值 ²⁾			相对生物量 ²⁾			相对鲜/干值 ²⁾		
	3 ³⁾	6	9	3	6	9	3	6	9
Pokkali	2.15b	3.55c	3.75b	0.75a	0.52a	0.29a	0.89a	0.69a	0.68a
Peta	2.70a	4.45a	4.90a	0.55b	0.29b	0.05c	0.67c	0.55b	0.45b
桂朝 2 号	2.07b	3.37c	4.00b	0.76a	0.53a	0.23a	0.79b	0.55b	0.38b
秋桂矮	2.63a	3.87b	4.57a	0.59b	0.26b	0.13b	0.79b	0.55b	0.38b
珍桂矮	2.67a	3.77c	4.60a	0.60b	0.27b	0.14b	0.81a	0.66a	0.49b

1) 盐害级值按地上部受害程度自小到大分 1~5; 表中数字为 3 次重复的平均数; 同列数字后字母相同则表示差异不显著; 邓肯氏测验, $P=0.05$. 2) 耐盐指标. 3) 同行数字均为 NaCl 浓度, 单位为 g/L.

2.2 水稻不同基因型愈伤组织对盐胁迫的反应

表 2 数据表明, 盐害对愈伤组织均具有伤害作用, 随着盐害的增加, 愈伤组织逐渐变干, 褐死, 导致相对存活率、相对生长量、相对鲜/干值降低. 但这种趋势的基因型间差异不显著; 第一组基因型只有相对存活率在盐质量浓度 3、6、9 g/L 下 Pokkali 显著大于 Peta, 在相对生

物量中基因型间无显著差异,而在相对鲜/干值方面,还出现了相反趋势:在质量浓度 3、6 g/L 下差异不显著,在质量浓度 9、12 g/L 下 Peta 的相对鲜/干值显著高于 Pokkali;第二组基因型,只有质量浓度 3 g/L 下秋桂矮的相对存活率显著高于珍桂矮,在质量浓度 6、9、12 g/L 下秋桂矮、珍桂矮的相对鲜/干值显著高于桂朝 2 号外,其余差异都不显著。

表 2 盐胁迫下水稻愈伤组织各项耐盐指标的基因型差异比较¹⁾

品种	相对存活率 ²⁾				相对生物量 ²⁾				相对鲜/干值 ²⁾			
	3 ³⁾	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
Pokkali	0.95ab	0.86a	0.80a	0.44bc	0.72c	0.53c	0.46a	0.18b	0.92ab	0.86a	0.79b	0.71b
Peta	0.87c	0.73b	0.58b	0.36c	0.77bc	0.62bc	0.39a	0.20b	1.00a	0.89a	0.85a	0.79a
桂朝 2 号	0.96ab	0.92a	0.82a	0.53ab	0.83ab	0.69ab	0.46a	0.27ab	0.88b	0.78b	0.71c	0.61c
秋桂矮	0.98a	0.92a	0.78a	0.60a	0.86a	0.78a	0.51a	0.33a	0.91ab	0.88a	0.77b	0.67b
珍桂矮	0.92b	0.87a	0.71a	0.45a	0.87a	0.75a	0.55a	0.28ab	0.90ab	0.84a	0.79b	0.71b

1) 表中数字为 3 次重复 3 代的平均数;同列数字后具有相同字母数值差异不显著;邓肯氏测验, $P=0.05$ 。2) 耐盐指标。3) 同行数字均为 NaCl 浓度,单位 g/L

2.3 水稻不同基因型再生植株对盐胁迫的反应

从表 3 可以看出,随着盐浓度的增加,所有材料都受到越来越严重的伤害,且不同基因型的耐盐能力有明显差异:第一组 Pokkali 除在质量浓度 9 g/L 中的相对生物量外,其耐盐能力从 3 项耐盐指标都体现显著大于 Peta。第二组基因型的耐盐能力,在盐害级值中,在质量浓度 3 g/L 下,桂朝 2 号、秋桂矮显著大于珍桂矮,在质量浓度 6 和 9 g/L 下,桂朝 2 号显著大于秋桂矮和珍桂矮;在相对生物量中,3 个盐浓度下桂朝 2 号都显著大于秋桂矮和珍桂矮;秋桂矮又显著大于珍桂矮,质量浓度 9 g/L 下,桂朝 2 号显著大于秋桂矮、珍桂矮。总体比较可判断出第二组基因型的耐盐性桂朝 2 号 > 秋桂矮 > 珍桂矮。

表 3 盐胁迫下水稻再生植株各项耐盐指标的基因型差异比较¹⁾

耐盐指标 NaCl 浓度/(g·L ⁻¹)	盐害级值			相对生物量			相对鲜/干值		
	3	6	9	3	6	9	3	6	9
Pokkali	2.31b	2.77b	3.7b	0.93a	0.50b	0.33b	0.84a	0.52b	0.41b
Peta	3.20a	4.18a	4.67a	0.58b	0.35c	0.33b	0.47c	0.34d	0.24c
桂朝 2 号	2.59b	2.72b	3.55b	0.76a	0.69a	0.54a	0.37b	0.61a	0.49a
秋桂矮	2.72b	4.03a	4.93a	0.70b	0.49b	0.32b	0.71b	0.55b	0.40b
珍桂矮	3.27a	4.08a	4.67a	0.60a	0.41b	0.30b	0.56c	0.46c	0.37b

1) 盐害级值按地上部受害程度自小到分 1~5 级;表中数字为 3 次重复的平均数;同列数字后字母相同同时表示差异不显著。邓肯氏测验, $P=0.05$ 。2) 耐盐指标。3) 同行数字均为 NaCl 浓度,单位 g/L

2.4 “种子植株—愈伤组织—再生植株”系统中 3 个水平的耐盐性相关关系

从表 4 来看,各浓度下愈伤组织各耐盐指标与种子植株各耐盐指标的相关系数都很小,且缺乏明显的规律性。

表 5 的结果与表 4 的相似,即各浓度下愈伤组织与再生植株各耐盐指标的关系缺乏明显的规律性。

表 4 盐胁迫下种子植株与愈伤组织各耐盐指标的相关系数¹⁾

NaCl 浓度/(g·L ⁻¹)	愈伤组织耐盐指标	种子植株耐盐指标		
		盐害级值	相对生物量	相对鲜/干值
3	相对存活率	-0.472	0.533	0.625
	相对生物量	0.407	-0.355	0.051
	相对鲜/干值	0.685	-0.755	-0.841
6	相对存活率	-0.915 [*]	0.285	-0.357
	相对生物量	-0.179	-0.605	-0.139
	相对鲜/干值	0.672	-0.670	-0.901 [*]
9	相对存活率	-0.740	0.117	0.427
	相对生物量	0.117	0.160	-0.182
	相对鲜/干值	0.581	-0.584	0.332

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(**)

表 5 盐胁迫下再生植株与愈伤组织各耐盐指标的相关系数¹⁾

NaCl 浓度/(g·L ⁻¹)	再生植株耐盐指标	愈伤组织耐盐指标		
		相对存活率	相对生物量	相对鲜/干值
3	盐害级值	-0.609	0.532	0.340
	相对生物量	0.558	-0.561	0.412
	相对鲜/干值	0.719	-0.277	-0.492
6	盐害级值	-0.483	0.504	0.703
	相对生物量	0.74	0.070	-0.855
	相对鲜/干值	0.925 [*]	0.886 [*]	-0.720
9	盐害级值	-0.560	0.282	0.514
	相对生物量	0.466	-0.243	0.783
	相对鲜/干值	0.965 ^{**}	0.411	-0.952 [*]

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(**)

表 6 盐胁迫下再生植株与种子植株各耐盐指标的相关系数¹⁾

NaCl 浓度/(g·L ⁻¹)	种子植株耐盐指标	再生植株耐盐指标		
		盐害级值	相对生物量	相对鲜/干值
3	盐害级值	0.813	-0.817	-0.779
	相对生物量	-0.827	0.848	0.862
	相对鲜/干值	-0.599	0.650	0.721
6	盐害级值	0.648	-0.741	-0.886 [*]
	相对生物量	-0.986 ^{**}	0.734	0.582
	相对鲜/干值	-0.867	0.825	0.781
9	盐害级值	0.941 [*]	-0.570	-0.731
	相对生物量	-0.812	0.377	0.781
	相对鲜/干值	-0.923 [*]	0.415	0.481

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(**)

表6显示,各浓度下再生植株与种子植株的部分耐盐指标具有较高的相关系数,其他一些指标之间的相关系数,尽管未达显著水平,但也有一定的规律性,其中盐害级值与相对生物量、相对鲜/干值呈负相关,其余呈正相关。

3 讨论

3.1 建立“种子植株—愈伤组织—再生植株”研究系统的重要意义

要研究植株水平与愈伤组织水平耐盐性的关系,建立“种子植株—愈伤组织—再生植株”研究系统是很有必要的。系统的3个水平都出自同一世代,性状分化变异的可能性较小,可排除非同质性的干扰;同一性状在3个水平具有各自的反应,可通过在三者之间相互比较,对这种性状从细胞到整体,从分化到再生进行更深入更系统更全面的研究。这一研究系统不仅可用于耐盐性的比较,还可进行耐盐机理以及其它性状的研究。

3.2 水稻不同基因型在“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统的3个水平中对盐胁迫的反应

盐胁迫下,水稻不同基因型在“种子植株—愈伤组织—再生植株”系统中的3个水平均受到不良影响,这种不良影响的大小在种子植株和再生植株水平具有明显的基因型差异,且这种基因型差异在2个水平下大致相同。但在愈伤组织,基因型差异不明显,甚至相反。在3个水平的耐盐性相关关系分析中也表现愈伤组织与植株水平耐盐性无直接联系。这进一步表明了水稻不同基因型植株水平与愈伤组织的耐盐性不一致。

以上的结果,可能是由于下列几种原因综合所致。首先,植株水平与细胞水平的耐盐机理不一样,即植株整体的耐盐性并不都能在细胞水平上表达。植株水平的耐盐性是植物整体调节作用的结果。可以说植物的耐盐性至少存在着两种机理:一种是植株整体的机理,另一种是细胞水平的机理(周荣仁等,1989)。当两种机理作用的表现一致或某一植物的耐盐性主要取决于细胞的耐盐机制时,其植株与离体培养细胞的耐盐性就可能一致,反之则可能不一致。其次,愈伤组织在低水平的选择压力下有利于形成生理适应性细胞(周荣仁等,1989),而那些较易形成生理适应性的细胞及品种,就会被认为具有较强的耐盐性。再次,真正具有耐盐性的细胞系其耐盐性也不一定能在再生植株上表达。

3.3 水稻不同基因型再生植株水平与其它两个水平耐盐性的相关性及其差异

试验结果显示,再生植株水平与种子植株水平的耐盐性具有一定的相关性。但亦发现二者存在少许的差异:秋桂矮在再生植株水平的相对生物量、相对鲜/干值中耐盐性都较种子植株有所提高,使其接近愈伤组织的耐盐性。这种接近可能是由于愈伤组织在盐胁迫培养中,使某些品种的细胞耐盐机制得到较大的提高,且这种提高能在再生植株中得到表达,从而在整体上提高了这些品种的耐盐性。

基于以上的结果,作者认为:①在应用组培技术筛选完整耐盐植株时(不包括筛选高盐诱变的突变体或细胞系),应注意耐盐指标的选择,需要寻找能反映耐盐性遗传潜力的筛选指标。②利用一些直观地反映愈伤组织生长状况的耐盐指标,进行组织培养技术比较水稻品种的耐盐性不大可靠。③通过组培技术进行盐胁迫的组织锻炼,可以提高某些水稻品种的耐盐性。

参 考 文 献

- 王洪春. 1989. 作物抗逆性鉴定的原理与技术. 北京: 北京农业大学出版社, 262~263
- 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花粉培养基. 中国科学, (5): 484~490
- 刘友良, 毛才良, 汪良驹. 1987. 植物耐盐性研究进展. 植物生理学通讯, (4): 1~7
- 周荣仁, 杨燮荣, 余叙文. 1989. 利用组织培养研究植物耐盐机理与筛选耐盐突变体的进展. 植物生理学通讯, (5): 11~19
- 钟国瑞. 1988. 水稻耐盐性与品种选育的进展. 水稻文摘, 7(3): 1~4
- 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
- 黎立群. 1986. 盐渍土基础知识. 北京: 科学出版社, 144~150
- Binzel M L. 1988. Cellular mechanisms of salinity tolerance in plants. Dissertation Abstracts International, 49 (3): 59
- Smith M K, McComb J A. 1981. Effect of NaCl on the growth of whole plants and their corresponding callus cultures. Aust J Plant Physiol, 8(2): 267~275

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

Cheng Jing¹ He Yuankang¹ Yan Xiaolong² Zheng Shaoling²

(1 Dept. of Agronomy, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642;

2 Lab of Plant Nutritional Genetics, South China Agric. Univ.)

Abstract

Five rice genotypes with similar general characters but different salt tolerance were used to establish a “seed plant—callus—regenerated plant” system in which differential responses to NaCl stress were respectively compared at the three cultural levels. The results showed that there were significant genotypic differences in salt tolerance for both the seed plant and the regenerated plant. High correlation in salt tolerance between the above two levels was also observed. In callus, however, there was no significant genotypic difference nor correlation with that of the other two levels. These results lead to the conclusion that salt tolerance at cellular level and at plant level is not consistent in rice.

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