

研究报告

A Letter

两份贵州旱稻种质的苗期根系特征与耐旱生理特性测定

翟丹[✉], 林芳瑜[✉], 罗琼[✉]

云南农业大学植物保护学院, 昆明, 650201

✉ 通讯作者: qiongbf@yahoo.com.cn ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 34 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0034

收稿日期: 2012 年 05 月 26 日

接受日期: 2012 年 06 月 07 日

发表日期: 2012 年 06 月 29 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

翟丹等, 2012, 两份贵州旱稻种质的苗期根系特征与耐旱生理特性测定, 分子植物育种(online) Vol.10 No.34 pp.1246-1251 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0034)

引用格式(英文):

Zhai et al., 2012, Determining the Properties of Root and Drought Tolerance of two Guizhou Upland Rice Germplasms in the Seedling Stage, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.34 pp.1246-1251 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0034)

摘要 随着水资源的日益短缺, 水稻抗旱资源的研究和利用对农业生产具有十分重要的意义。本研究以日本晴(粳稻)和 Kasalath(籼稻)为对照, 对贵州的两份旱稻材料 UR023 和 UR0801 的苗期耐旱特性进行了初步研究。UR023 和 UR0801 主根长、不定根数和根干重均明显高于对照材料; 根的横切面结构观察显示, UR023 和 UR0801 的维管束数量较多于对照在水胁迫条件下, UR023 和 UR0801 三叶一心期幼苗的叶片内的游离脯氨酸含量分别增加了 18.65 $\mu\text{g/g}$ 和 17.34 $\mu\text{g/g}$, SOD 酶的活性分别增加了 34.17 U/g 和 77.63 U/g, 与对照日本晴和 Kasalath 有显著性差异。幼苗期存活率测定结果, UR023 和 UR0801 幼苗存活率分别为 78% 和 71.33%, 明显高于对照材料。研究结果表明, UR023 和 UR0801 具有苗期抗旱性的形态和生理特性, 值得进一步开展对其成株期抗旱特性、抗旱基因的鉴定及抗旱机制的研究。

关键词: 旱稻; 抗旱性; 根系性状; 游离脯氨酸含量; SOD 酶活性

Determining the Properties of Root and Drought Tolerance of two Guizhou Upland Rice Germplasms in the Seedling Stage

Zhai Dan[✉], Lin Fangyu[✉], Luo Qiong[✉]

College of plant protection, Yunnan Agriculture University, Kunming, 650201

✉ Corresponding author, qiongbf@yahoo.com.cn ✉ Authors

Abstract With the increasing shortage of water resources, the studies and utilization of rice drought germplasm are of great significance in agricultural production. In this study, Using Nipponbare (*Oryza sativa* L spp. *japonica*) and Kasalath (*Oryza sativa* L spp. *indica*) as the references, the drought characteristics of two upland rice landraces, UR023 and UR0801 collected from Guizhou, were studied. The main root length, adventitious root number and root dry weight of UR023 and UR0801 were significantly higher than that of the control; the observation of root cross-sectional structure showed that UR023 and UR0801 have much more quantities of vascular than that of the controls under water stress conditions, The free proline content in three leaf seedlings of UR023 and UR0801 were determined with the increase of 18.65 $\mu\text{g/g}$ and 17.34 $\mu\text{g/g}$ and SOD enzyme activity with the increase of 34.17 U/g and 77.63 U/g, respectively, which exhibited the significant differences to the controls. Survival rate in the seedling stage was determined in this research, and the results showed that UR023 and UR0801 were 78% and 71.33% of survival rate with significantly higher than that of the controls. In conclusion, the tested germplasms, UR023 and UR0801, possess morphological and physiological characteristics of drought resistance, it would be worth further study of their drought characteristics, identification of drought genes and mechanisms of drought in adult stage.

Keywords Upland rice; Drought resistance; Root trait; Free proline content; SOD activity

研究背景

随着当今世界人口、环境、资源问题的日益突出, 水更是严重威胁着人类的生存。水稻又是耗水的第一大户, 每年水稻用水量占全国用水总量 40%

以上。加之在干旱、盐碱和低温等不良的环境中, 对农作物的产量和生长发育有着严重的影响, 同时对作物的种植范围有严重的限制(程继东等, 2006)。中国是一个水资源短缺的国家, 比全球的平均数约

少20%，被联合国列为13个贫水国之一。中国也是最大水稻生产国之一，因此，节水农业生产责无旁贷，水稻抗旱节水，更具重大意义。对于水稻的抗旱特性，不同品种水稻根系性状差异极大，旱稻根基部较粗，根基粗可以作为水稻苗期抗旱性鉴定的一项指标。高勇(1991)提出，一些具有较强抗旱性的水稻和大多数的旱稻，他们的根冠比的比值较大，深根较多，具有较发达的根系，有利于根从土壤深处吸收水分。山仑等(2002)研究认为，干旱胁迫对禾谷类作物生理功能的影响依次是:细胞扩张气孔运动、蒸腾作用、光合作用和光合产物的运输与分配。张大鹏(1989)、孟雷等(1999)研究证明当水稻受到水分胁迫时，其气孔密度会明显增大。李长明等(1993)、朱杭申和黄丕生(1994)研究证明水分胁迫下，水稻在不同生育期SOD、CAT酶活性均有不同程度的增加，只不过不同品种两种酶活性增加的幅度不同，反应了品种间抗旱性的不同。

本研究对两份来自贵州的旱稻材料进行了一

系列苗期耐旱相关的形态和生理特性研究，为进一步抗旱基因的鉴定和水稻抗旱分子育种奠定前期基础。

1结果与分析

1.1幼苗基本性状观察与比较

四个水稻材料利用纸培法在水稻全培养液中，25℃培养15 d后，测量主根长，不定根数，根干重和苗高。UR023主根长14.55±2.35 cm，不定根数104.7±17，根干重5.18±1.28 mg；UR0801主根长14.33±1.27 cm，不定根数79.6±19，根干重4.20±0.7 mg；日本晴主根长4.78±1.75 cm，不定根数23.0±14，根干重2.98±0.67 mg；Kasalath主根长8.52±1.53 cm，不定根数18.0±7，根干重3.24±0.72 mg，苗长13.38±1.22 cm。旱稻URO23和UR0801与日本晴和Kasalath相比，在主根长、不定根数及根干重上都大于对照品种，有明显生长优势，具有一定的幼苗期耐旱性(表1; 图1)。

表 1 不同水稻材料幼苗期基本性状

Table 1 The root traits of different rice materials in seedling stage

水稻品种 Rice materials	主根长(cm) Length of mainroot (cm)	不定根数 Number of adventitious root	根干重(mg) Dry weight of root (mg)
UR023	14.55±2.35	104.7±17	5.18±1.28
URO801	14.33±1.27	79.6±19	4.20±0.7
日本晴 Nipponbare	4.78±1.75	23.0±14	2.98±0.67
Kasalath	8.52±1.53	18.0±7	3.24±0.72

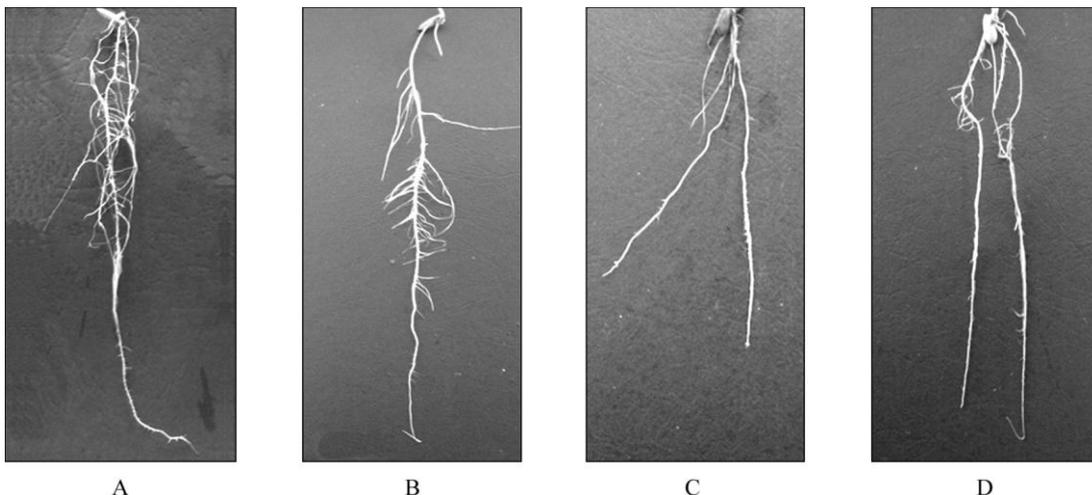


图1 UR023、UR0801、日本晴和Kasalath纸培根系性状

注: A: UR023; B: UR0801; C: 日本晴; D: Kasalath

Figure 1 The root traits of UR023, UR0801, Nipponbare and Kasalath on paper culture

Note: A: UR023; B: UR0801; C: Nipponbare; D: Kasalath

对距离根尖 9 mm 处的根横切面进行观察, 四个材料有明显差异(图 2)。可以观察到 UR023 和 UR0801 有较多的维管束数量(图 2)。在皮层薄壁细胞处 UR023, UR0801 及 Kasalath 根横切面图中出现了大面积的通气组织, 而日本晴的横切图中薄壁细胞处才开始出现通气组织, 通气组织的出现对幼嫩组织的正常生长特别是根系的伸长生长有一定的保护作用。UR023 和 UR0801 外表皮边缘处后壁纤维组织的后壁细胞木质化程度大于对照日本晴和 Kasalath, 具有较高的对根的保护和机械支持作用, 有利于根系在恶劣的环境下继续延伸生长。

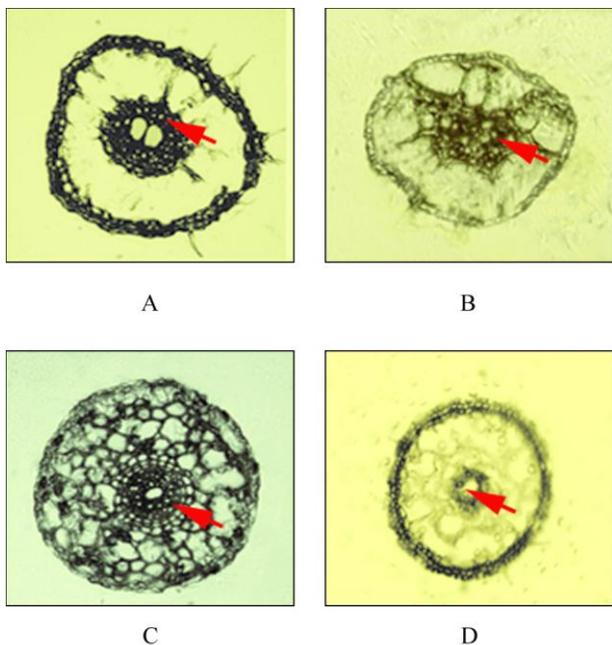


图2 UR023、UR0801、日本晴和Kasalath根结构横切图
 注: 上图中箭头指示维管束; A: UR023; B: UR0801; C: 日本晴; D: Kasalath

Figure 2 The root cross section of UR023, UR0801, Nipponbare and Kasalath

Note: The arrows indicated vascular bundle; A: UR023; B: UR0801; C: Nipponbare; D: Kasalath

1.2 叶片游离脯氨酸的含量比较

对四种水稻材料在水胁迫和水培情况下的幼苗叶片中游离脯氨酸含量进行测定。在非水份胁迫下, 不同品种叶片中游离脯氨酸的含量虽有所不同, 但相差不大, 在 $15\mu\text{g/g}$ ~ $20\mu\text{g/g}$ 之间。在经水份胁迫处理之后, 叶片中游离脯氨酸的含量的变化不同品种间差异明显, UR023叶片内的游离脯氨酸含量增加了 $18.65\mu\text{g/g}$, UR0801增加了 $17.34\mu\text{g/g}$, 日本晴和

Kasalath增加的含量分别为 $9.68\mu\text{g/g}$ 和 $7.72\mu\text{g/g}$ (图3)。表明两早稻材料的耐旱性与其缺水条件下叶片中游离脯氨酸的含量明显增加有关。

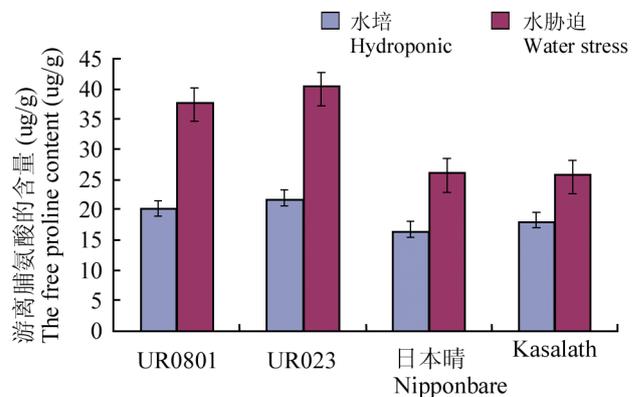


图3 水份胁迫下四个水稻品种苗期叶片中游离脯氨酸的含量
 Figure 3 The free proline content of four rice materials in seedling stage under water stress

1.3 苗期叶片SOD酶活性比较

SOD 酶活性与植物耐旱性成正相关, 对四种水稻品种在水份胁迫处理前后幼苗叶片中 SOD 酶的活性进行了测定。胁迫处理前, UR0801、UR023、日本晴和 Kasalath 叶片内 SOD 酶的活性分别为 58.01 U/g 、 89.67 U/g 、 63.34 U/g 和 78.85 U/g , 胁迫处理后, 四个材料叶片中 SOD 酶的活性都有不同的程度的增加, 且两早稻叶片中的 SOD 酶活性高于对照日本晴和种 Kasalath(图 4), 暗示其较强的耐旱性与缺水条件下叶片中较高的 SOD 酶活性有关。

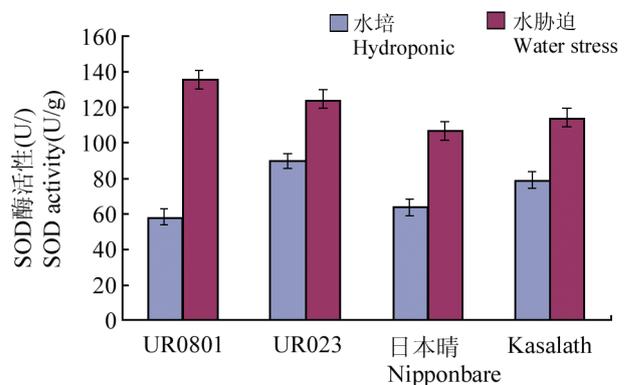


图4 水份胁迫下四个水稻品种苗期叶片中SOD酶活性
 Figure 4 SOD activity of four rice materials in seedling stage under water stress

1.4 水分胁迫下的萌发率和幼苗成活率

为了明确其耐旱的能力, 进一步对其水胁迫条件下的发芽率和幼苗成活率进行了研究。

在正常供水条件下两个旱稻材料萌发率低于对照, 尤其是UR0801, 萌发率只有71.33%, 这可能是因为旱稻材料本来品种的萌发率不高的原因, 而导致生活力(萌发率)下降, 也有可能过多的水分对旱稻材料的种子发芽反而不利。用23% PEG-6000溶液进行水胁迫处理, 日本晴和Kasalath萌发率降低, 而UR023和UR0801不仅没有降低, 还略有上升(表2), 表明两旱稻的萌发正常萌发需水量少, 具有一定的耐旱能力。

为了测定其苗期耐旱性, 经过两次停水(水胁迫)—复水处理后调查幼苗成活率。UR023、UR0801、日本晴和Kasalath的苗存活率分别为78%、71.33%、57.67%和52.33%(表3), UR023和UR0801幼苗成活率明显高于对照日本晴和Kasalath, 进一步证明两旱稻材料UR023和UR0801具有较强的苗期耐旱性。

2 讨论

2.1 幼苗根系基本形态特征

植物的根系是植物从土壤中吸收水分和营养的重要组织, 根系越发达, 越复杂, 越有利于植物从土壤里吸收水分。一个深的具有延伸性的根系系统的建立, 是植物耐旱性的重要体现。在相同的培养环境下, 旱稻URO23和UR0801与日本晴和Kasalath相比无论是主根长, 不定根数, 根干重都有较明显的生长优势, 所以具有较强的从土壤深处吸收水分的能力, 从而有较强的耐旱能力。

根中导管是水分运输的重要通道, 导管在维管束中, 所以根细胞中维管束的数目从某种程度上反映了根运输水分的能力。水稻根皮层薄壁细胞经过细胞延长、次生壁物质积累、细胞自溶、活细胞解体、条状细胞带形成这一系列的变化后形成通气组织, 属于溶生性通气组织。溶生性通气组织的形成降低根部老组织的呼吸消耗, 缓减老幼组织间对同化物的竞争, 对保证幼嫩组织的正常生长特别是根系的伸长生长有一定的作用。水稻根外皮层边缘处

表2 水胁迫下四种水稻品种的萌发率

Table 2 The germination rate of four rice materials

水稻品种 Rice materials	水胁迫(%) Under water stress (%)			CK (%)		
	I	II	III	I	II	III
UR023	92	96	90	94	88	90
UR0801	76	72	74	76	68	70
日本晴 Nipponbare	94	94	98	100	100	98
Kasalath	94	98	98	100	98	100

表3 水胁迫下四个水稻品种幼苗存活率

Table 3 The survival rate of four rice materials in seedling stage

水稻品种 Rice materials	水胁迫(%) Under water stress (%)			水培(%) Hydroponics(%)		
	I	II	III	I	II	III
UR023	81	79	74	100	95	99
UR0801	76	70	68	95	100	97
日本晴 Nipponbare	54	60	59	93	96	100
Kasalath	50	58	49	97	98	92

的厚壁纤维组织,在通气组织形成过程中始终保持完整性,对根具有保护和机械支持作用。厚壁细胞木质化程度越严重,对根的保护作用越明显。UR023和UR0801的维管束数量比对照日本晴和Kasalath多,维管束越多,导管越多,根系中出现通气组织较早,厚壁细胞木质化程度较严重,有利于植物根系更好的伸长并从土壤中吸收水分,而具有耐旱性。

2.2 苗期叶片生理生化特性

游离脯氨酸作为渗透调节物质在水分胁迫条件下的作用主要是用以保持原生质与环境的渗透平衡,能够增加蛋白的可溶性,减少可溶性蛋白的沉淀,防止水分散失,保持膜结构的完整性。UR023和UR0801的耐旱能力与缺水条件下叶片内具有较高的游离脯氨酸有关。

在正常情况下,植物细胞内活性氧水平很低,活性氧的产生与清除是处于动态平衡的,不会损伤细胞,当植物受到水分胁迫时,破坏了这种动态平衡会,从而导致活性氧大量的积累,造成细胞多种严重氧化损伤。SOD酶可以清除过量的活性氧,使其含量保持在无害的域值之内。两早稻SOD酶的活性均高于对照日本晴和Kasalath,表明其苗期耐旱性与叶片中较高的SOD酶活有关。

UR023和UR0801在常规的发芽条件下萌发率没有对照日本晴和Kasalath的萌发率高,可能因为日本晴和Kasalath在经过长期的种植和人为选择下萌发率已达到较高水平,UR023和UR0801采自贵州山地自然生长状态的早稻,未经过任何驯化和选择,萌发率相对会低一些。在水分胁迫环境中,日本晴和Kasalath的萌发率明显下降,而UR023和UR0801的发芽率不但没有下降,还略有增加,这可能是UR023和UR0801适应了缺水条件,过多的水分对其萌发反而有抑制作用,或在少水的情况下具有比日本晴和Kasalath更强的吸水能力以保证种子萌发,表现出一定程度的耐旱性。

鉴定苗期抗旱性的重要指标就是反复干旱幼苗存活率,反复干旱幼苗存活率与品种抗旱性高度正相关,抗旱性强的品种存活率高。UR023和UR0801幼苗成活率明显比对照日本晴和Kasalath高,具有较强的苗期抗旱性。

3 材料和方法

3.1 材料

早稻材料UR023(籼稻品种)和UR0801(籼稻品

种),由贵州农科院植保所杨学辉老师提供;对照材料日本晴(粳稻品种)和Kasalath(籼稻品种),课题组保存。

3.2 实验方法

3.2.1 幼苗基本特性调查

纸培法(赵笃乐等,2001)培养日本晴、Kasalath、UR023和UR0801幼苗,培养15 d后,将幼苗从纸上取下,用刻度尺测量种子主根长度,细数不定根数量,称量根干重。

3.2.2 幼苗根细胞结构

水稻种子消毒,垂直发芽。水稻种子在全培养液(Shouichi et al., 1976)里进行垂直培养7 d。在根部离根尖9 mm处进行根横切面观察。

3.2.3 萌发期抗旱性鉴定

取水稻种子50颗,放在培养皿中,加入15MI 23% PEG-6000溶液,加盖,避免水分蒸发;对照组加入15 mL蒸馏水。重复3次。25℃条件下培养,第10天(216 h)调查种子萌发数(张灿军等,2005),计算种子的萌发率。

3.2.4 苗期抗旱性鉴定

取种子100颗,发芽,播种。4叶1心定苗,第一次停水,当所有品种叶片卷成针状,上午仍处于萎焉状态,少数品种出现整株“枯死”时,复水。120 h小时后计算存活率;然后第二次停水,到达同样的程度时,第二次复水,120 h后计算存活率。最后计算幼苗反复存活率(王育红等,2005)。3次重复。

3.2.5 水胁迫下苗期叶片气孔特性变化

水稻品种发芽播种,3叶1心定苗,对照组正常浇水,实验组停水15d,取叶片进行离体直接观察,调查叶表面单位面积内气孔密度和气孔大小。

3.2.6 苗期游离脯氨酸的含量

水稻品种发芽播种,3叶1心定苗,对照正常浇水,实验组停水15d,取幼苗全部叶片,利用茚三酮测定水稻苗期叶片中游离脯氨酸的含量变化(程继东等,2006)。

3.2.7 苗期SOD酶活性的测定

水稻品种发芽播种,3叶1心定苗,对照正常浇水,实验组停水15d,取幼苗全部叶片,用氮蓝

四唑(NBT)法测定苗期叶片中 SOD 酶活性的变化。

作者贡献

翟丹是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 翟丹完成数据分析, 论文初稿的写作; 林方瑜参与实验设计, 试验结果分析; 罗琼是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。

致谢

本研究由国家自然科学基金(31160223)资助。作者感谢贵州农科院植保所杨学辉老师提供实验所用的早稻材料。感谢两位匿名的同行评审人的评审建议和修改建议。

参考文献

- Cheng J.D., An Y.L., Sun R.F., Liu L.P., and Zhang Q.C., 2006, Progress on drought, salt gene types and their acting mechanisms, *Huabei Nongxuebao (Acta Agriculturae Boreali-Sinica)*, 21: 116-120 (程继东, 安玉麟, 孙瑞芬, 刘力萍, 张启辰, 2006, 抗旱、耐盐基因类型及其机理的研究进展, *华北农学报*, 21: 116-120)
- Gao Y., 1991, Investigation on the identification indices of drought resistance in rice, *Liaoning Nongye Kexue (Liaoning Agricultural Sciences)*, (1): 16-20 (高勇, 1991, 水稻抗旱性鉴定指标探讨, *辽宁农业科学*, (1): 16-20)
- Li C.M., Liu B.G., and Ren C.F., 1993, Studies on drought resistance mechanism in rice, *Xi'nan Nongye Daxue Xuebao (Journal of Southwest Agricultural University)*, 15(5): 409-413 (李长明, 刘保国, 任昌福, 1993, 水稻抗旱机理研究, *西南农业大学学报*, 15(5): 409-413)
- Meng L., Li L.X., Chen W.F., Xu Z.J., and Liu L.X., 1999, Effect of water stress on stomatal density, length, width and net photosynthetic rate in rice leaves, *Journal of Shenyang Agricultural University*, 30(5): 477-480 (孟雷, 李磊鑫, 陈温福, 徐正进, 刘丽霞, 1999, 水分胁迫对水稻叶片气孔密度、大小及净光合速率的影响, *沈阳农业大学学报*, 30(5): 477-480)
- Shan L., Deng X.P., and Kang S.Z., 2002, Current situation and perspective of agricultural water used in semiarid area of China, *Shuili Xuebao*, 9: 27-31 (山仑, 邓西平, 康绍忠, 2002, 我国半干旱地区农业用水现状及发展方向, *水利学报*, (9): 27-31)

Shouichi Y., Douglas A.F., James H.C., and Kwanchai A.G., eds., 1976, Laboratory manual for physiological studies of rice, The International Rice Research Institute, Laguna, Philippines, pp.62-64

Wang Y.H., Yao Y.Q., Zhang C.J., Lv J.J., Zhang J., Wang C.H., and Li J.H., 2005, Study on drought-resistance identification methods and evaluation index of dry-land rice—Evaluation of drought-resistance of dry-land rice in seeding stage, *Ganhan Dique Nongye Yanjiu (Agricultural Research in The Arid Areas)*, 23(4): 134-137, 164 (王育红, 姚宇卿, 张灿军, 吕军杰, 张洁, 王聪慧, 李俊红, 2005, 旱稻抗旱性鉴定方法与指标研究——IV 旱稻苗期抗旱性, *干旱地区农业研究*, 23(4): 134-137, 164)

Zhang C.J., Wang Y.H., Yao Y.Q., Lv J.J., Wang C.H., Zhang J., and Li J.H., 2005, Study on drought-resistance identification methods and evaluation index of dry-land rice—Technical criterion for identification and evaluation of drought-resistance, *Ganhan Dique Nongye Yanjiu (Agricultural Research in The Arid Areas)*, 23(3): 37-39 (张灿军, 王育红, 姚宇卿, 吕军杰, 王聪慧, 张洁, 李俊红, 2005, 旱稻抗旱性鉴定方法与指标研究——II 抗旱性鉴定评价技术规范, *干旱地区农业研究*, 23(3): 37-39)

Zhang D.P., 1989, Studies of stomata on the rice plant leaf blade II. Dynamic morphogenesis of stomata under varied ecological conditions, *Fujian Nongxueyuan Xuebao (Journal of Fujian Agricultural College)*, 18(3): 302-307 (张大鹏, 1989, 水稻叶片气孔的研究 II. 不同生态条件下的气孔动态, *福建农学院学报*, 18(3): 302-307)

Zhao D.L., Wang H.Q., and Li X.J., 2001, Study on storability and testing method in germination capacity of coated upland rice grains, *Zhongzi (Seed)*, 2: 9-11 (赵笃乐, 王化琪, 李小静, 2001, 旱稻包衣种子耐储性及发芽力检测方法研究, *种子*, 2: 9-11)

Zhu H.S., and Huang P.S., 1994, Water stress in soil and activated oxygen metabolism in rice, *Nanjing Nongye Daxue Xuebao (Journal of Nanjing Agricultural University)*, 17(2): 7-11 (朱杭申, 黄丕生, 1994, 土壤水分胁迫与水稻活性氧代谢, *南京农业大学学报*, 17(2): 7-11)