

水稻品种对几种逆境的多重耐性及与 ABA 的关系

刘春玲 陈慧萍 刘娥娥 彭新湘 卢少云 郭振飞*

(华南农业大学生命科学学院, 广东广州 510642)

摘要 从一些耐旱和耐冷品种中筛选出几个具多重耐性的品种, 其中大黄谷耐渗透胁迫和盐胁迫, 芝麻糯耐盐和冷胁迫, 桂溪和湘中粳 2 号耐渗透胁迫, 也较耐冷胁迫。以大黄谷、芝麻糯和桂溪为材料, 研究了多重耐性与 ABA 积累的关系。在渗透胁迫、盐胁迫和冷胁迫下, 各水稻品种内源游离 ABA 含量迅速积累, 耐性品种积累的 ABA 量都较敏感品种高, 并且耐性品种 ABA 积累的时间较长。结果表明, 水稻品种对逆境的多重耐性与胁迫条件下内源游离 ABA 积累量有关。

关键词 水稻; 多重耐性; ABA; 渗透胁迫; 盐胁迫; 冷胁迫

中图分类号: Q945, S511 文献标识码: A

Multiple Tolerance of Rice to Abiotic Stresses and Its Relationship with ABA Accumulation

LIU Chun-Ling CHEN Hui-Ping LIU E-E PENG Xin-Xiang LU Shao-Yun GUO Zhen-Fei

(College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract Multiple tolerant varieties of rice to drought and chilling were selected as material in this study according to relative electrolyte leakage and survival rate after treatment by osmotic, salt, or chilling stress. The ABA content in Dahuanggu, Zhimanuo and Guixi under stresses was investigated to study the role of ABA accumulation in multiple tolerance. The results showed that Dahuanggu was tolerant to osmotic and salt stresses, Zhimanuo was tolerant to salt and chilling stresses, Guixi and Xiangzhongxian 2 were tolerant to osmotic and chilling stresses. Endogenous free ABA was accumulated rapidly in the seedlings of the varieties after the stress treatments. Higher levels of ABA were accumulated and maintained longer in tolerant varieties than in susceptible varieties. The results revealed that ABA accumulation was closely related to multiple tolerance of rice to osmotic, salt, and chilling stress.

Key words Rice; Multiple; Osmotic stress; Salt stress; Cold stress

环境胁迫是影响农业生产的一个重要因素。据统计, 非生物胁迫导致作物减产 50% 至 80%^[1]。过去的研究多是单独分析某种胁迫对植物的影响, 但实际上植物在其生长过程中往往要面临多种胁迫的侵袭, 而且许多胁迫都是相关的, 如干旱、盐渍和低温都导致细胞失水, 引起渗透胁迫^[2]。耐旱的小麦、玉米和大豆品种比敏感品种对氧化胁迫的抗性强^[3-5], 我们亦报道过耐旱的水稻品种比敏感品种对百草枯和 H₂O₂ 诱导的氧化胁迫的抗性强^[6]。这表明植物对几种胁迫的抗性机理具有共同的特性,

对此特性的研究将为培育多抗品种提供有力的理论依据。为此我们收集了一些已知耐单一胁迫或敏感的水稻品种, 经预备试验后, 筛选出 5 个耐性差异明显的品种, 进一步观察它们对其他几种胁迫的耐性, 筛选水稻多重耐性品种, 旨在为进一步研究作物耐性的生理生化特性和分子机理打下基础。

ABA 是植物逆境信号转导的信号物质, 在植物对逆境的交叉适应中起重要作用。胁迫下, 植物内源 ABA 含量提高, 诱导植物的基因表达, 合成逆境蛋白, 调节系列生理生化反应, 以适应环境条件的改

*基金项目: 广东省自然科学基金(970024)及农业部“九五”重点高新技术与基础研究项目(03-01-02)资助。

作者简介: 刘春玲, 现工作单位: 广州中医药大学(广州 510405); 并列第一作者: 陈慧萍, 中山大学生命科学学院博士研究生。

*通讯作者: 郭振飞, Tel & Fax: (020) 85282469, E-mail: zhfguo@scau.edu.cn.

Received (收稿日期): 2002-05-21, Accepted (接受日期): 2002-10-07.

变^[7-10]。但作物不同耐性品种间 ABA 的变化规律,结果不尽一致,结论仍存在着争议,ABA 与植物多重耐性的关系尚未见报道。本文用筛选出的水稻多重耐性品种研究了 ABA 积累与耐逆性的关系。

1 材料与方法

1.1 材料的培养及处理

供试材料为 5 个已知耐性不同的水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种:大黄谷(耐旱)、湘中粳 2 号(耐旱)、湘糯 1 号(耐冷)、芝麻糯(不耐旱)和桂溪(耐旱)。大黄谷和芝麻糯由中国水稻研究所提供种子,我们在华南农业大学农场繁殖;湘中粳 2 号和湘糯 1 号种子由湖南省水稻研究所提供,桂溪种子由广东省阳西县农业局提供。

水稻种子发芽后,播种于尼龙网上,以木村 B 营养液水培,在生长温度为 25~30 的温室、自然光照下培养至三叶期,进行胁迫处理:渗透胁迫为 23% PEG-6000,以木村 B 营养液配制;盐胁迫为 0.15 mol/L NaCl,以木村 B 营养液配制;冷胁迫为 6 低温。正常生长的对照、渗透胁迫和盐胁迫处理的幼苗培养在 28 的人工气候箱,冷处理的幼苗培养在 6 的人工气候箱,光源为普通直管荧光灯,植株接受的光通量密度(PFD)为 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$,每天光照 14 h,胁迫处理 4 d 后进行测定,所有测定重复 3 次。

1.2 相对电导率的测定

参照李锦树等^[11]的方法进行。将水稻幼苗的第二叶片放入 10 mL 刻度管中,加蒸馏水至满刻度,盖好盖子。室温下浸泡 24 h 后用 DDS-IIA 型电导仪测其电导(R_1),然后沸水煮 15 min,冷却至室温,测电导(R_2),按下式计算相对电导率(%):

$$\text{相对电导率}(\%) = (R_1/R_2) \times 100\%$$

1.3 存活率的测定

材料在胁迫 4 d 后,移至正常条件下恢复生长 1 周,统计存活幼苗数。

存活率(%) = (胁迫后存活的幼苗数/胁迫前的总苗数) $\times 100\%$

1.4 ABA 含量的测定

本试验采用南京农业大学植物激素实验室研制的 ABA 酶联免疫吸附测定试剂盒测定。

2 实验结果

2.1 渗透胁迫对水稻幼苗相对电导率和存活率的影响

胁迫条件下,植物膜受到伤害,电解质渗漏增加,生长受到影响,若长时间遭受严重胁迫,将导致植物的死亡。图 1 中,芝麻糯和湘糯 1 号受伤害程度大大高于其他品种,桂溪和湘中粳 2 号受伤害很小,各水稻品种经渗透胁迫处理后的相对电导率由小到大依次为:桂溪、湘中粳 2 号、大黄谷、湘糯 1 号、芝麻糯。芝麻糯和湘糯 1 号在受渗透胁迫后 80% 以上植株死亡,而其他品种较少死亡。以存活率为指标,各品种经渗透胁迫处理后的存活率由大到小依次为:湘中粳 2 号、桂溪、大黄谷、湘糯 1 号、芝麻糯。结果表明,在这 5 个品种中,湘中粳 2 号、桂溪和大黄谷对渗透胁迫耐性较强,芝麻糯和湘糯 1 号为敏感品种,与这几个品种耐旱性的记录一致。

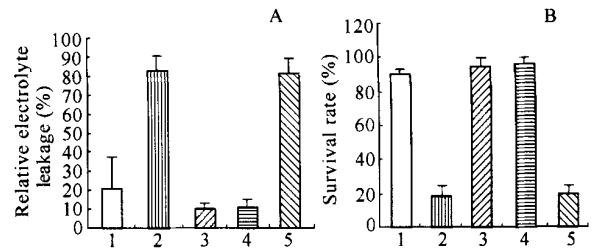


图 1 渗透胁迫对水稻幼苗相对电导率(A)和存活率(B)的影响

Fig. 1 Effects of osmotic stress on relative

electrolyte leakage (A) and survival rate (B) of rice seedlings.

1: 大黄谷 Dahuanggu; 2: 芝麻糯 Zhimanuo; 3: 桂溪 Guixi;

4: 湘中粳 2 号 Xiangzhongxian No. 2; 5: 湘糯 1 号 Xiangnuo No. 1

2.2 盐胁迫对水稻幼苗相对电导率和存活率的影响

图 2 中,盐胁迫对水稻的伤害在各品种间表现出一定的差异,以芝麻糯和大黄谷受伤害较低,桂溪受伤害较严重,各水稻品种经盐胁迫处理后的相对电导率由小到大依次为:芝麻糯、大黄谷、湘中粳 2

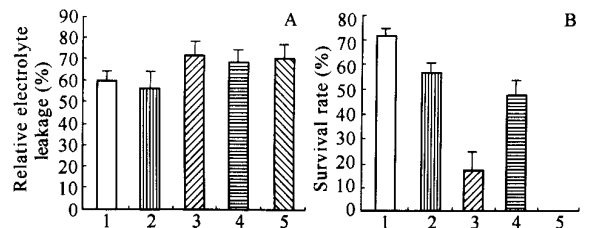


图 2 盐胁迫对水稻幼苗相对电导率(A)和存活率(B)的影响

Fig. 2 Effects of salt stress on relative

electrolyte leakage (A) and survival rate (B) of rice seedlings.

1: 大黄谷 Dahuanggu; 2: 芝麻糯 Zhimanuo; 3: 桂溪 Guixi;

4: 湘中粳 2 号 Xiangzhongxian No. 2; 5: 湘糯 1 号 Xiangnuo No. 1

号、湘糯 1 号、桂溪。以存活率为指标,各品种对盐胁迫的耐性表现出明显的差异,大黄谷、芝麻糯和湘中粳 2 号的存活率较高,湘早糯 1 号最敏感,盐胁迫后全部死亡,而桂溪 80% 以上植株死亡。结果表明,大黄谷、芝麻糯和湘中粳 2 号的耐性较强,而湘糯 1 号和桂溪对盐敏感。

2.3 低温胁迫对水稻幼苗相对电导率和存活率的影响

从图 3 可知,冷胁迫下,不同品种间表现出明显差异,各水稻品种经冷胁迫处理后的相对电导率由小到大依次为:湘糯 1 号、芝麻糯、桂溪、湘中粳 2 号、大黄谷,说明大黄谷受冷害最严重,湘糯 1 号受冷胁迫的伤害最小,芝麻糯和桂溪亦较小受伤害。以存活率为指标,湘糯 1 号和芝麻糯的耐冷性最强,存活率为 100%,桂溪和湘中粳 2 号的存活率也较高,耐冷性中等,大黄谷 90% 以上植株在冷胁迫后死亡,对冷最敏感。

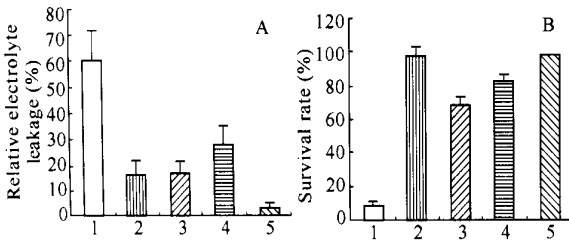


图 3 低温胁迫对水稻幼苗相对电导率(A)和存活率(B)的影响

Fig. 3 Effects of chilling stress on relative

electrolyte leakage (A) and survival rate (B) of rice seedlings.

1: 大黄谷 Dahuanggu; 2: 芝麻糯 Zhimanuo; 3: 桂溪 Guixi;
4: 湘中粳 2 号 Xiangzhongxian No. 2; 5: 湘糯 1 号 Xiangnuo No. 1

2.4 逆境胁迫条件下不同品种水稻幼苗内源游离 ABA 含量的变化

渗透胁迫下,3 个品种的内源游离 ABA 含量均迅速上升,敏感品种芝麻糯 ABA 含量在第 2 d 达到最高峰,比胁迫前提高了 5.6 倍。随后逐渐下降,到第 4 d 接近正常水平。耐旱品种大黄谷和桂溪内源游离 ABA 含量在第 3 d 达到最大值,分别比胁迫前提高了 9.3 和 12.4 倍,第 4 d 降低至接近正常水平(图 4)。

盐胁迫下,盐敏感品种桂溪幼苗内源游离 ABA 含量逐渐上升,ABA 上升的高峰出现在胁迫后第 2 d,比胁迫前提高了 3.9 倍。随后逐渐下降,到第 4 d 接近正常水平。耐盐的芝麻糯和大黄谷内源游离 ABA 含量上升的高峰出现在胁迫后第 3 d,分别

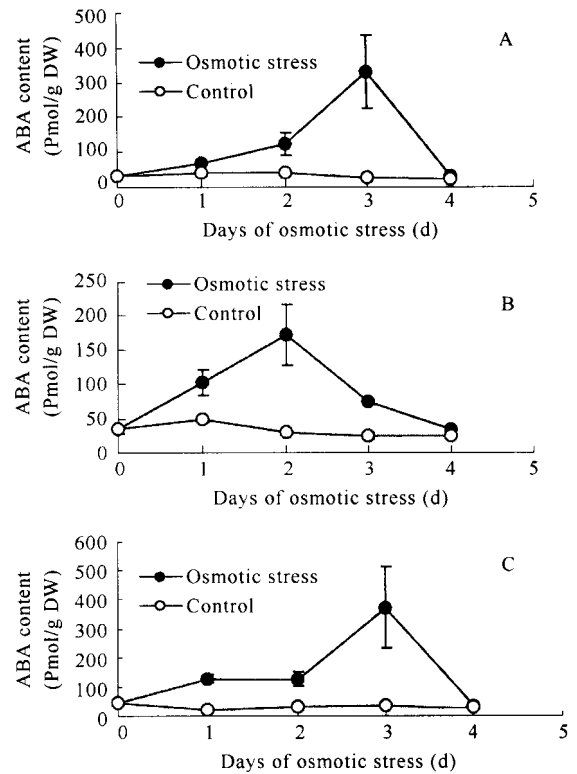


图 4 渗透胁迫下水稻品种幼苗内源游离 ABA 含量的变化

Fig. 4 Changes of endogenous ABA level in rice seedlings under osmotic stress

A: 大黄谷 Dahuanggu; B: 芝麻糯 Zhimanuo; C: 桂溪 Guixi

比胁迫前提高了 10.7 和 7.6 倍。到第 4 d 降低至接近正常水平(图 5)。

冷胁迫下,冷敏感品种大黄谷的内源游离 ABA 含量迅速积累,高峰出现在胁迫后第 2 d,比胁迫前提高了 6.8 倍。随后 ABA 含量逐渐下降,到第 4 d 降至正常水平。耐冷品种芝麻糯和较耐冷的桂溪内源游离 ABA 含量在胁迫下亦迅速积累,ABA 上升的高峰出现在胁迫后第 3 d,分别比胁迫前提高了 9.6 和 8.4 倍,随后急剧下降,到第 4 d 接近正常水平(图 6)。

3 讨论

质膜相对透性反映了植物在胁迫下受伤害的程度^[11]。在水稻苗期,质膜相对透性和存活率两项指标与其抗旱性最相关^[12],本文选用这两个指标,比较了 5 个品种的水稻幼苗的耐逆性,结果表明,湘中粳 2 号、桂溪、大黄谷的耐旱性较强,芝麻糯和湘糯 1 号对干旱敏感;大黄谷和芝麻糯的耐盐性较强,而湘糯 1 号对盐敏感;湘糯 1 号和芝麻糯的耐冷性较强,桂溪和湘中粳 2 号也较耐冷,而大黄谷对冷敏

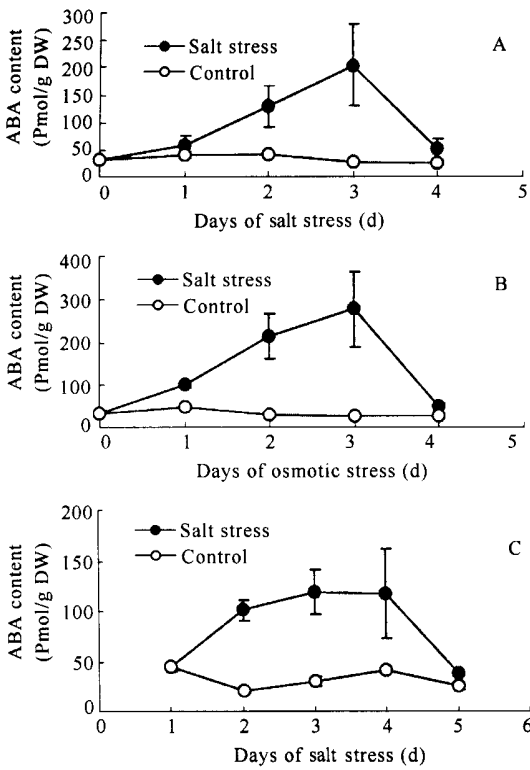


图5 盐胁迫下水稻品种幼苗内源游离 ABA 含量的变化

Fig. 5 Changes of endogenous ABA level in rice seedlings under salt stress

A: 大黄谷 Dahuanggu; B: 芝麻糯 Zhimanuo; C: 桂溪 Guixi

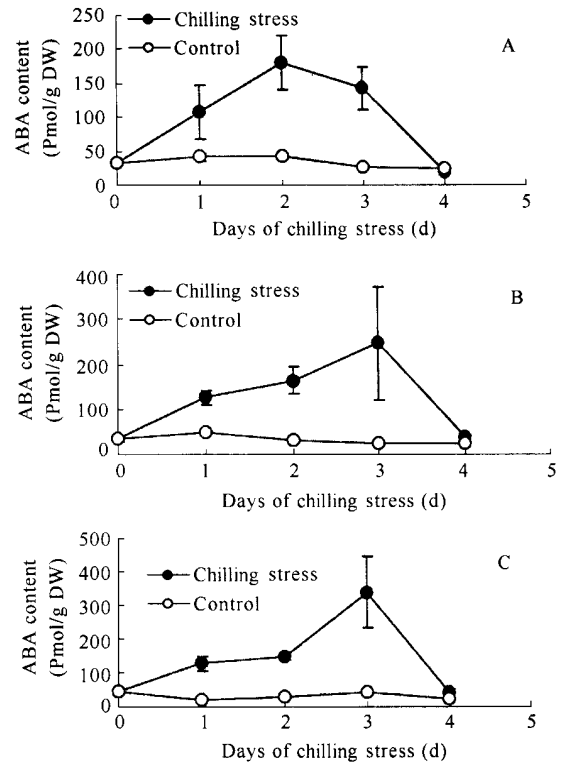


图6 冷胁迫下水稻品种幼苗内源游离 ABA 含量的变化

Fig. 6 Changes of endogenous ABA level in rice seedlings under chilling stress

A: 大黄谷 Dahuanggu; B: 芝麻糯 Zhimanuo; C: 桂溪 Guixi

感。一些作物如玉米、小麦、大豆和水稻等,耐旱性强的品种比敏感品种具有较强的抗氧化胁迫能力^[3-6,13]。本文进一步筛选出几个水稻品种具有对不同逆境的多重耐性,如大黄谷耐旱和盐,芝麻糯耐盐和冷,桂溪和湘中粳2号耐旱,也较耐冷。这些多抗品种的发现,为进一步研究作物的抗逆机理提供了材料。

ABA在植物抗逆性中的作用已作了大量的研究,但对耐逆性不同的作物品种间 ABA 的变化规律,结果不尽一致,仍存在着争议。例如,杨建昌等^[14]在研究水稻品种抗旱性时发现,在严重水分亏缺下叶片内源 ABA 含量高的品种减产率小,反之则大,因而建议用在严重水分亏缺下 ABA 累积高这一生理特性作为水稻品种抗旱性较好的一个指标。冷胁迫下,抗冷性强的水稻品种所积累的 ABA 含量大于非抗冷品种^[15]。也有相反的报道,在小麦旱胁迫研究中未发现抗性与 ABA 水平之间有任何关系^[16]。Zoran 等比较测定了低温下不同耐冷性品种玉米幼苗的 ABA 含量的变化,发现并不是耐冷品种就积累更多的 ABA^[17]。ABA 积累与植物多重耐性的关系

尚未见报道。本文结果表明,无论是在渗透胁迫、盐胁迫还是冷胁迫下,各个水稻品种内源游离 ABA 含量都迅速积累,并持续上升一段时间,达到高峰后逐渐下降。从不同品种在胁迫条件下内源游离 ABA 含量的变化看,水稻敏感品种内源游离 ABA 含量上升的幅度小于耐性品种,且敏感品种 ABA 上升的时间较短,在胁迫后第 2 d 达到高峰,而耐性品种 ABA 的积累在第 3 d 才达到高峰,并且耐性品种积累的 ABA 量比敏感品种高。例如,芝麻糯耐冷和耐盐,但不耐旱,在冷和盐胁迫下,内源 ABA 积累的高峰在第 3 d,积累的量也比敏感品种的高;但在渗透胁迫下,芝麻糯积累的 ABA 含量比耐性品种的低。同一品种,ABA 积累对不同逆境表现出不同的应答方式,因而表现出不同的耐性。逆境下 ABA 上升幅度较大,积累持续时间较长可能是水稻表现多重耐性的原因之一;ABA 上升幅度较小,积累持续时间较短是它对逆境表现敏感的原因。

干旱、盐胁迫和冷胁迫均导致渗透胁迫^[1,2],不同的植物利用不同的机理来抵抗渗透胁迫,但是所有细胞中,基本的细胞反应似乎是保守的^[18]。近年

来,在分子水平上亦证明植物对干旱、盐和低温胁迫的反应具有许多相同之处。干旱、盐和低温胁迫均诱导了叶绿体类囊体膜 34 kD 蛋白的表达^[19];将 *HVA1* 基因转入水稻后,提高了抗旱性和抗盐渍的能力^[20];一些蛋白激酶基因的表达同时受干旱、高盐和低温的诱导^[21], DRE (dehydration responsive element) 顺式作用元件 TACCGACAT 普遍存在于干旱、高盐或低温胁迫应答基因的启动子中,对这些不同胁迫诱导的基因表达起调控作用^[21]。将 DREB (DRE-binding Protein) 转录因子在拟南芥过量表达后,转基因植物的系列抗性相关基因表达增强,对干旱、高盐和低温的耐性得到增强^[21,22]。本文揭示水稻品种存在多重耐性特性,理论上与上述报道是一致的。另一方面,本文结果也说明植物的抗逆机理很复杂,大黄谷耐旱和盐,但不耐冷;湘早糯 1 号耐冷,但对旱和盐极敏感,芝麻糯较耐盐和冷,但不耐旱,说明不同品种间以及同一品种对不同逆境的耐性机理显然不同,存在多种机制。对这些问题的进一步研究,将有助于揭示植物耐逆性的特殊机理。

References

- [1] Bray E A, Bailey-Serres J, Weretilnyk E. Responses to abiotic stresses. In: B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, eds. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Maryland. 2000. 1158—1203
- [2] Liu Q, Zhang Y, Chen S. Plant protein kinase genes induced by drought, high salt and cold stresses. *Chinese Science Bulletin (科学通报)*, 2000, 45(13): 1153—1157
- [3] Pastori G M, Trippi V S. Cross resistance between water and oxidative stresses in wheat leaves. *J Agri Sci*, 1993, 120:289—294
- [4] Del Longo O T, Gonzalez C A, Pastori G M, Trippi V S. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. *Plant Cell Physiol*, 1993, 120:1023—1028
- [5] Xu C-C(许长成), Zou Q(邹琦), Fan J-L(樊继莲), Zhao S-J(赵世杰), Meng Q-W(孟庆伟). Response of two soybean cultivars with different drought resistance to exogenous H₂O₂. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, 1996, 22:13—18
- [6] Gao Z-F(郭振飞), Lu S-Y(卢少云), Li B-S(李宝盛), Li M-Q(李明启), Li Y-C(黎用朝). Responses of rice seedlings in different drought tolerant cultivars to oxidative stress. *Acta Botanica Sinica (植物学报)*, 1997, 39(8): 748—752
- [7] Zhao K-F(赵可夫), Fan H(范海), Harris P J C. Effect of exogenous ABA on the salt tolerance of corn seedlings under salt stress. *Acta Botanica Sinica (植物学报)* 1995, 37(4): 295—300
- [8] Liang J-S(梁建生), Xiao X-Z(曹显祖), Zhu Q-S(朱庆森). Abscisic acid may involved in the regulation of grain filling in water stressed rice (*Oryza sativa* L.). *Chinese J Rice Sci (中国水稻科学)*, 1996, 10(1): 29—36
- [9] Chandler P, Robertson M. Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance. *Ann Rev of Plant Physiol and Plant Mol Biol*, 1994, 45:113—142
- [10] Davies W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Ann Rev Plant Physiol*, 1991. 42:55—76
- [11] Li J-S(李锦树), Wang H-C(王洪春), Wang W-Y(王文英), Zhu Y-F(朱亚芳). Effect of drought on the permeability and membrane lipid composition from maize leaves. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, 1983, 9:223—228
- [12] Gao J-Y(高吉寅), Hu R-H(胡荣海), Lu Z(路漳), Yang G-L(杨国良). Investigation on the physiological indices of drought resistance in the seedling stage of rice. *Scientia Agricultura Sinica (中国农业科学)*, 1984, (4): 41—45
- [13] Xu C-C(许长成), Fan J-L(樊继莲), Zou Q(邹琦), Zhao S-J(赵世杰), Meng Q-W(孟庆伟). Cross resistance between paraquat and environmental stress in rice leaves. *Acta Agronomica Sinica (作物学报)*, 1996, 22(3): 358—361
- [14] Yang J-C(杨建昌), Weyers J, Zhu Q-S(朱庆森), Peng Z-Y(彭智勇). Effect of water deficit stress on the stomatal frequency, stomatal conductance and abscisic acid in rice leaves. *Acta Agronomica Sinica (作物学报)*, 1995, 21(5): 533—539
- [15] Guo Q(郭确), Pan R-C(潘瑞炽). Effect of ABA on the Resistance of rice seedlings to chilling injury. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, 1984, 10: 295—303
- [16] Quarrie S A, Jones H G. Genotypic variation in leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid concentration in spring wheat subjected to artificial drought stress. *Ann Bot*, 1979, 44:323—332
- [17] Zoran R, Yang G, Ann S, Zhang L. Higher chilling tolerance in maize is not always related to the ability for greater and faster abscisic acid accumulation *J Plant Physiol*, 1998, 153(1-2): 154—162
- [18] Zhu J-K, Hasegawa P M, Bressan B A. Molecular aspects of osmotic stress in plants. *Crit Rev Plant Sci*, 1997, 16:253—277
- [19] Provot G, Massimino J, Peltier G, Rey P. Effects of low temperature, high salinity and exogenous ABA on the synthesis of two chloroplastic drought-induced proteins in *Solanum tuberosum*. *Physiol Plant*, 1996, 97: 123—131
- [20] Xu D P, Duan X L, Wang B Y, Hong B, Ho F H D, Wu R. Expression of a late embryogenesis gene, *HVA1*, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant Physiol*, 1996, 110: 249—257
- [21] Liu Q, Zhao N, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Regulatory role of DREB transcription factors in plant drought, salt and cold tolerance. *Chinese Science Bulletin (科学通报)* 2000, 45(11): 970—975
- [22] Kasuga M, Liu Q, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Improving plant drought, salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nature Biotechnology*, 1999, 17: 287—292