

转ipt 基因水稻种子萌发及苗期耐冷生理研究

段永波², 赵丰兰², 赵德刚^{2,3*} (1. 贵州大学生命科学学院, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州省农业生物工程重点实验室, 贵州贵阳 550025; 3. 贵州大学教育部绿色农药与农业生物工程重点实验室, 贵州贵阳 550025)

摘要 采用28和15℃ 2种处理对转异戊烯基转移酶(ipt)基因水稻EY105株系7、株系19及EY105(CK)种子进行萌发,并对幼苗进行低温(4℃)胁迫试验。结果表明:常温下转基因水稻发芽势及发芽率高于对照,低温处理使转基因水稻与对照均受到抑制,但转基因水稻种子仍有较高发芽势及发芽率。在常温下,转基因水稻生理指标较CK差异不显著,低温处理后叶片可溶性糖含量、可溶性蛋白含量及根系活力均显著高于对照。

关键词 转ipt 基因水稻;低温胁迫

中图分类号 Q945.78 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)06-01591-02

Study on the Seed Germination and Seedling Chilling Tolerance of Transgenic Rice with Isopentenyl Transferase(ipt)

DUAN Yong-bo et al (College of Life Sciences, Guizhou University, Guizhou Key Laboratory of Agricultural Bioengineering, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract The experiment in the stable expression of isopentenyl transferase(ipt) in the transgenic rice EY105 line 7 (T7), line 19 (T19) and the control EY105 were conducted through the seed germination and seedling chilling tolerance under both normal temperature (28℃) and low temperature (15℃). The results were as the follows: the transgenic rice can germinate more efficient at normal temperature and low temperature, although both transgenic rice and control were restrained under low temperature. The physiological index measure didn't show the difference at normal temperature, but soluble sugar content, soluble protein content and root activity were significantly increased under low temperature stress.

Key words Isopentenyl transferase(ipt) transgenic rice; Low temperature stress

倒春寒常造成水稻烂种烂秧,虽然采用温室育秧、旱育秧和两段育秧等技术手段,但贵州尤其是中西部高寒山区倒春寒发生时间长、强度大,使水稻生产受到严重制约^[1]。

异戊烯基转移酶(ipt)是内合成细胞分裂素的关键酶之一,其编码基因在植物细胞内可表达过量的细胞分裂素。外源细胞分裂素处理可以明显提高水稻幼苗抗冷性^[2-4]。笔者以转ipt基因水稻为材料,探讨植物体内表达过量细胞分裂素对种子萌芽及植株抗冷性的影响。在萌发期进行低温胁迫,调查水稻芽长、根长、根数和发芽率等形态指标。苗期低温胁迫后取样测定其叶片可溶性糖含量、可溶性蛋白含量及根系活力等生理指标。

1 材料与试验方法

1.1 试验材料 采用农杆菌介导法获得并能稳定遗传的转基因水稻EY105株系T7、T19及EY105(CK)。

1.2 试验方法

1.2.1 发芽试验。挑选健康饱满的种子经0.1%HgCl₂消毒15 min,用蒸馏水冲洗干净,置于铺有滤纸的培养皿中,每皿100粒。常温28℃及低温15℃ 2种处理,暗中萌发,3次重复。

处理12、24和36 h,萌发时吸干种子表面水分称重,第4天调查发芽势,第10天调查发芽率,测定芽长、根长和根数。

1.2.2 幼苗培育。取试验材料的种子消毒催芽,播种土壤中用Hagland营养液浇灌,25℃光照(4000 lx)培养。

1.2.3 低温胁迫试验。将3叶1心期幼苗放入25℃和4℃人工气候箱进行常温培养及低温胁迫。胁迫3 d后进行生理指标测定。根系活力的测定参照张志良等^[5]的TTC法。可溶性糖含量测定用蒽酮法^[6]。可溶性蛋白质含量测定用考马斯亮蓝染色法^[6]。

2 结果与分析

2.1 低温处理对转基因水稻发芽率发芽势的影响 由表1可见,常温下2个转基因水稻株系的芽长均低于对照,其中T19的芽比对照短17.4%,根长度及根数与对照无差异,而转基因水稻的发芽势及发芽率都比对照高。低温处理后转基因水稻及对照的芽和根的生长都受到抑制,芽长受抑制程度均在30%~40%,转基因植株抑制程度稍轻。转基因植株与对照的发芽势及发芽率均受到低温影响,但转基因植株受影响程度显著低于对照。由于目的基因表达强度不同,转基因株系之间也存在一定差异。

表1 低温处理对转基因水稻种子萌芽的影响

处理	品系	芽长 cm	根长 cm	根数	发芽势 %	发芽率 %
常温28	对照	4.76 ± 1.16	15.42 ± 0.84	7.14 ± 1.96	67.11	83.22
	T7	4.42 ± 1.08	13.39 ± 0.62	6.98 ± 1.25	81.83	90.28
	T19	3.93 ± 0.88	15.36 ± 0.44	7.21 ± 0.55	87.76	95.24
低温15	对照	2.93 ± 0.14	13.25 ± 1.17	6.81 ± 1.92	58.91	77.70
	T7	3.02 ± 0.77	14.08 ± 1.12	6.61 ± 1.49	75.31	83.47
	T19	2.61 ± 0.74	14.01 ± 1.02	7.44 ± 1.50	79.58	85.83

2.2 低温胁迫对水稻种子吸水率的影响 由图1可见,常温下水稻萌发时吸水率均为35%左右,在前12 h内吸水速度最快,之后到种子萌发时均缓慢吸水。低温下三者吸水速率均受到明显影响,到萌发时吸水率仅为正常条件下的75%左右,并且不同时间内吸水速率与常温萌发时表现一致,转基

基金项目 贵州省科技攻关项目(黔科合[2002]1134);贵州省基金项目(黔基合计字[2002]3103)。

作者简介 段永波(1981-),男,贵州息烽人,硕士研究生,研究方向:植物分子生物学与基因工程研究。* 通讯作者, E-mail: dqzhao@gzu.edu.cn。

收稿日期 2006-11-22

因水稻及对照受低温影响的程度无显著差异。

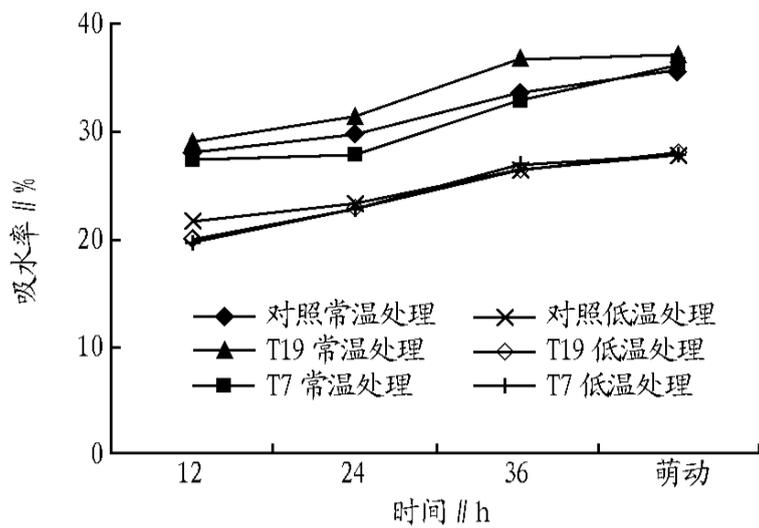


图1 低温胁迫对水稻吸水速率的影响

2.3 低温处理对水稻幼苗叶片可溶性糖含量的影响 可溶性糖作为渗透调节物质,可提高细胞液的浓度,降低冰点温度。因此,在低温条件下植物可溶性糖含量高低与植物的抗冷性之间呈一定线性关系。如图2所示,常温下对照植株的可溶性糖含量与转基因植株相比无明显差异;经低温胁迫后,转基因株系与对照含量均增加,但转基因植株的增加量显著高于对照。

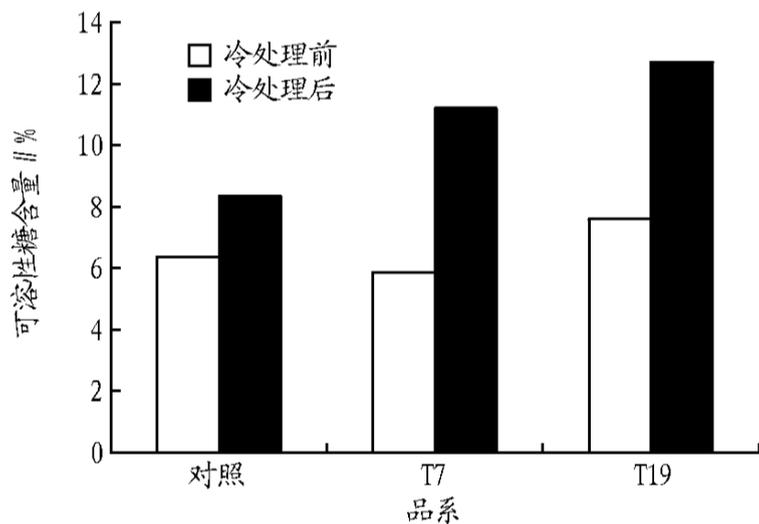


图2 低温对转基因水稻叶片可溶性糖含量的影响

2.4 低温处理对水稻幼苗叶片可溶性蛋白含量的影响 在低温条件下,植物细胞受到伤害促使可溶性蛋白质分解,抗冷性弱的品种分解速率更快。在低温处理前,转基因植株与对照叶片的可溶性蛋白含量无明显差异(图3),在低温处理72 h后,对照植株叶片可溶性蛋白含量降低47.1%,而2个转基因株系则基本未发生显著变化。说明转基因植株叶片可溶性蛋白在低温下稳定,更好地维持了细胞的生理机能。

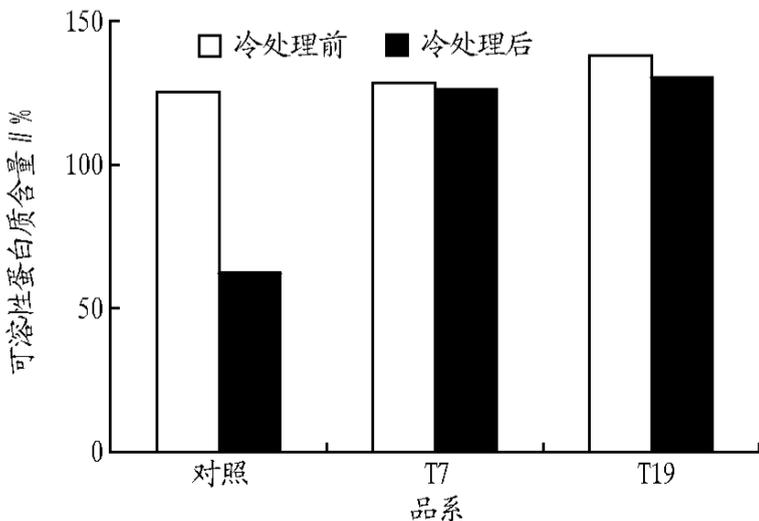


图3 低温对转基因水稻叶片可溶性蛋白含量的影响

2.5 低温处理对水稻幼苗根系活力的影响 根系的活力在一定程度上反应了植株的生长状况。该研究中,低温处理前

株系T7的根系活力与对照无太大差异,而T19则高于对照植株(图4)。低温处理后,对照植株的根系活力增加26.6%,转基因株系T7及T19比处理前增加168.2%及48.3%。低温处理后转基因植株的根系活力明显高于对照,保证了在低温胁迫下植株生理代谢的正常进行。

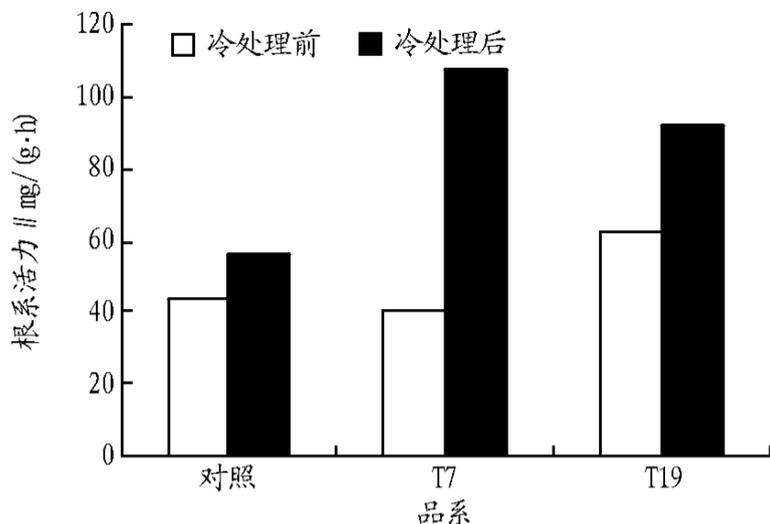


图4 低温对转基因水稻根系活力的影响

3 讨论

种子萌发是衡量种子质量最直接的方法,也是种子检验过程中必需项目。转基因水稻的发芽势和发芽率高于对照,低温胁迫下转基因水稻和对照都受到抑制,但是转基因水稻的发芽势和发芽率仍高于对照。种子在萌发过程中伴随着相关酶的作用及种胚活性物质的代谢,而这一系列的变化均受到温度的影响,转基因水稻有较高的发芽势及发芽率可能是由于萌发过程中*ipt*基因表达并促进了种子发芽。

可溶性糖是细胞重要的渗透保护物质,可增加细胞持水能力,从而降低细胞质的冰点,还可以通过促进ABA的积累来间接合成蛋白,从而提高植物的抗冷能力^[8]。低温下,原生质蛋白质的破坏,细胞释放出水解酶,加速蛋白质分解。水稻植株从常温转入低温后,叶中可溶性蛋白质含量均下降,而以抗冷性弱的粳稻更甚^[9]。该研究中低温胁迫转基因水稻的可溶性糖含量增加率高于对照,可溶性蛋白在低温下更加稳定,保证植株在低温下生理代谢活动正常进行。

常温下转基因水稻芽长、根长、根数等指标与对照相比无显著差异,低温处理后对照植株和转基因植株芽和根均受到抑制,但转基因植株根系活力显著高于对照,使其在低温下仍能更好的生长。

参考文献

- [1] 刘雪梅,陈波,林丽红,等.倒春寒天气对水稻烂秧的影响评估方法[J].贵州气象,2004,24(4):22-28.
- [2] 宗学风,刘大军,王三根,等.细胞分裂素对冷害水稻幼苗膜保护酶、热稳定蛋白和能量代谢的影响研究[J].西南农业大学学报,1998,20(6):573-576.
- [3] 吴珍龄,胡国权,王康.激动素(KI)对冷害水稻的保护作用研究[J].西南农业大学学报,1998,20(4):351-356.
- [4] 梁颖. DA6对水稻幼苗抗冷性的影响[J].山地农业生物学报,2003,22(9):95-98.
- [5] 张志良.植物生理学实验指导[M].3版.北京:高等教育出版社,2002.
- [6] 汤章城.现代植物生理学试验指南[M].北京:科学出版社,1999.
- [7] 王荣富.植物抗寒性指标的种类及应用[J].植物生理学通讯,1985(3):49-55.
- [8] 陈杰中,徐春香.植物冷害及其抗冷生理[J].福建果树,1998,104(2):21-23.
- [9] 康国章,王正询,孙谷畴.植物的冷调节蛋白[J].植物学报,2002,19(2):239-246.