

不同耐淹基因型水稻分蘖期对淹涝胁迫的生理差异

从夕汉^{1,2,3}, 施伏芝^{1,2,3}, 阮新民^{1,2,3}, 罗玉祥^{1,2,3}, 王元奎^{1,2,3}, 罗志祥^{1,2,3*} (1. 安徽省农业科学院水稻研究所, 安徽合肥 230031; 2. 安徽省水稻遗传育种重点实验室, 安徽合肥 230031; 3. 国家水稻改良中心合肥分中心, 安徽合肥 230031)

摘要 [目的]研究不同耐淹基因型水稻分蘖期对淹涝胁迫的生理差异。[方法]以不同基因型的水稻品种 FR13A、9311、IR64 和 OM052 为供试材料,进行 2、4、5、7 d 淹涝胁迫处理并分别恢复 3 和 5 d,研究不同程度淹水对分蘖期水稻生长及生理指标的影响。[结果]随着淹水处理时间的延长,叶绿素含量及地上相对含水量下降;根冠比增加,根长变短;淹水处理诱导了超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的酶活性及丙二醛(MDA)含量上升。在没顶淹水 4 d 时,OM052 的 SOD、POD 和 CAT 的酶活性及 MDA 含量比对照增加分别增加了 50.0%、25.8%、50.5% 和 17.9%。没顶淹水 5 d 后,仅 OM052 和耐淹品种 FR13A 存活。[结论]淹水 5 d 可能是分蘖期水稻淹水胁迫的转折点,OM052 在一定程度上具有较好的耐淹性。

关键词 水稻;淹涝胁迫;生理差异;抗氧化酶活性;丙二醛

中图分类号 S511 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)06-0029-04

Physiological Differences of Different Varieties of Waterlogging-tolerant Rice (*Oryza sativa* L.) to Submergence during Tillering Period
CONG Xi-han^{1,2,3}, SHI Fu-zhi^{1,2,3}, RUAN Xin-min^{1,2,3} et al (1. Institute of Rice, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031; 2. Key Laboratory of Rice Genetics and Breeding of Anhui Province, Hefei, Anhui 230031; 3. Hefei Branch of the National Rice Improvement Center, Hefei, Anhui 230031)

Abstract [Objective] To research the physiological differences of different varieties of waterlogging-tolerant rice (*Oryza sativa* L.) to submergence during tillering period. [Method] Four different varieties of waterlogging-tolerant rice (FR13A, 9311, IR64, OM052) were used as the experimental materials, submergence treatments for 2, 4, 5, 7 d and a subsequent recovery for 3 and 5 d were conducted. Effects of different degrees of submergence on the growth and physiological indexes of rice during tillering period were investigated. [Result] The content of chlorophyll and shoot relative water content were decreased; root-shoot ratio increased; the root length decreased gradually, the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) activity, as well as malondialdehyde (MDA) content, were induced and increased subsequently. Compared with the control, the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), as well as malondialdehyde (MDA) content, of OM052 risen by 50.0% and 25.8% and 50.5% and 17.9% on the 4th day of treatment, respectively. After submergence for 5 d, only OM052 and FR13A survived, which were tolerant varieties. [Conclusion] 5 d might be the turning point for evaluating submergence tolerance at tillering stage, and OM052 had relatively good waterlogging tolerance in certain degree.

Key words Rice; Submergence stress; Physiological differences; Antioxidant enzyme activity; Malondialdehyde

我国是一个自然灾害频繁发生的国家,淹涝是主要的自然灾害之一。由于具有突发性、随机性和复杂性等特点,淹涝灾害常给农业生产带来严重危害。水稻是一种半水生植物,我国水稻多分布于淹涝易发生的南方多雨潮湿地区和北方较低洼地带,尤其是洪灾和内涝时有发生的长江中下游和黄河流域^[1]。1950—1990 年全国平均每年受涝面积为 814 万 hm^2 ,1998 年长江发生了自 1954 年以来的又一次全流域性大洪水,全国共有 29 个省(区、市)遭受了不同程度的洪涝灾害,受灾面积 0.212 亿 hm^2 。吕艳艳等^[2]研究淹水处理后 2 个油菜品系的植株形态、可溶性糖和脯氨酸含量的变化差异。结果表明,耐淹品系通过增加可溶性糖及脯氨酸等渗透调节有机物的含量及时启动抗氧化酶系统来恢复淹水伤害的能力显著高于不耐淹品系。徐春梅等^[3]研究了低氧胁迫对水稻幼苗根系功能和氮代谢相关酶活性的影响,发现水稻幼苗可以通过呼吸消耗、氮代谢相关途径的改变,减轻低氧胁迫的伤害。Xu 等^[4]利用水稻品种 FR13A 为供试材料,

在第 9 号染色体上发现 *Sub1A* 是一个控制耐淹的主效位点,为一个乙烯响应因子类基因,使水稻具有耐淹性。目前,对水稻耐淹机理方面的研究已有报道^[5-9],但有关淹涝胁迫对分蘖期水稻生长和生理生化特性的研究相对较少^[10]。鉴于此,该试验通过全真模拟自然条件下淹涝,研究不同淹涝胁迫强度对分蘖期水稻生长和生理生化指标的影响,探索耐淹水稻的生理机制,旨在为我国耐淹水稻品种选育提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料 供试水稻品种为 FR13A、9311、IR64 和 OM052,其中 FR13A 由中国农科院作物研究所提供,其余材料来源于安徽省农业科学院水稻研究所(表 1)。耐淹性强的品种为 FR13A,不耐淹的品种为 9311 和 IR64,OM052 的耐淹性未知。以上材料于 2016 年 5 月 2 日播于安徽省农业科学院水稻研究所国家水稻育种改良分中心(合肥)的网室,6 月 8 日移栽,至分蘖期再移至塑料盆中(长 39.2 cm,宽 30.0 cm,高 19.0 cm)。试验共设 5 个处理:对照(T_0 ,未进行淹水处理,于淹水当天取样);淹水 2 d + 恢复 3 d(T_1);淹水 4 d + 恢复 3 d(T_2);淹水 5 d + 恢复 5 d(T_3);淹水 7 d + 恢复 5 d(T_4)。每个处理设 3 次重复,每盆 1 个品种,栽 3 株,每品种共 45 株。待恢复正常生长(10 d)后,恰遇大雨内涝,利用大田淹水进行淹涝处理,水面距叶片顶部 5~10 cm。将塑料盆从水池中取出,存放树荫下 1 d 后移到自然状态下进行恢复

基金项目 安徽省自然科学基金(1608085QC67);国家重点研发计划课题(2017YFD0100304, 2017YFD0301304);安徽省科技攻关计划项目(1604a0702008);安徽省国际科技合作计划(1704e1002232);安徽省农业科学院种子工程项目(17D0101)。

作者简介 从夕汉(1981—),男,安徽芜湖人,助理研究员,硕士,从事水稻遗传育种与农业生物技术研究。*通讯作者,研究员,硕士,从事水稻遗传育种研究。

收稿日期 2017-05-10

性生长,分别于去水后3、5 d取样。

表1 供试水稻品种信息

Table 1 Correlative information of research materials

编号 Code	材料名称 Name of material	类型 Type	试验地点 Test site	来源 Origin
1	FR13A	籼型恢复系	合肥	中国农业科学院作物研究所
2	9311	籼型恢复系	合肥	安徽省农业科学院水稻研究所
3	IR64	籼型恢复系	合肥	安徽省农业科学院水稻研究所
4	OM052	籼型恢复系	合肥	安徽省农业科学院水稻研究所

1.2 方法

1.2.1 生长指标及地上部相对含水量的测定。从塑料盆中取出植株,每处理取3株,小心洗净根部泥土,用干净纸吸干残留的水分,称量鲜重,测量植株的株高、根长、剑叶长度,在105℃烘箱中杀青20 min,60℃烘干至恒重,称量地上部和地下部的干重,按以下公式计算根冠比和植株相对含水量:

根冠比 = 地下部干重/地上部干重;

植株相对含水量 = [(鲜重 - 干重) / 鲜重] × 100%。

1.2.2 叶绿素含量的测定。待剑叶完全伸张开,利用叶绿素含量测定仪/便携式叶绿素 SPAD - 502 plus 对对照(T_0)和各处理(T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4)水稻品种的剑叶上、中、下部位进行叶绿素含量测定,共3次重复。

1.2.3 抗氧化酶活性测定。植物组织匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)活力(U/g组织湿重) = (对照OD值 - 测定OD值) / 对照OD值 ÷ 50% × 反应液总体积(mL) / 取样量(mL) ÷ 匀浆液浓度(g/mL),其中匀浆液浓度(g/mL) = 组织湿重(g) / 匀浆介质体积(mL)。

植物组织匀浆中过氧化氢酶(CAT)活力(U/mg) = (对照OD值 - 测定OD值) × 271 × (1/60 × 取样量) × 待测样本蛋白质浓度(mg/mL),其中271为斜率的倒数。

植物组织匀浆中超氧化物酶(POD)活力(U/mg) = (测定OD值 - 空白OD值) / [12 × 比色光径(1.0 cm)] × 反应液总体积(mL) / 样本量(mL) ÷ 反应时间(30 min) ÷ 待测样本蛋白浓度(mg/mL) × 1 000。

1.2.4 丙二醛(MDA)含量的测定。植物组织匀浆中(MDA)含量(nmol/mL) = (测定OD值 - 对照OD值) / (标准OD值 - 空白OD值) × 标准品浓度(10 nmol/mL) ÷ 待测样本蛋白浓度(mg/mL)。

1.3 数据分析 采用Excel 2007软件对数据进行整理,采用SPSS 19.0软件进行数据统计分析,图表中的数据为3次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 不同耐淹水稻分蘖期在淹涝胁迫后的植株形态及干重和根长比较 分蘖期对4个不同耐淹能力品种(FR13A、9311、IR64、OM052)分别进行 T_0 、 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 处理,研究植株形态以及干重和根长的变化(表2)。结果表明,不同淹水处理下植株形态变化显著,在淹水处理达到5和7 d时,存活的品种只有FR13A和OM052,说明OM052的耐淹性较强。

与对照 T_0 相比,除9311外, T_1 和 T_2 处理下品种的株高呈先增后降的趋势,其中 T_1 处理下FR13A的株高增幅最大,达到8.59%。各处理下剑叶长度的变化与株高一致,FR13A的剑叶长分别增加19.0%和14.2%,增幅最大,其次为IR64和OM052。淹水2和4 d处理下,耐淹性强的品种FR13A和OM052植株根长变短,不耐淹性的品种IR64根长则依次变长,9311的根长变化不明显。与对照相比,在 T_1 和 T_2 处理下FR13A和OM052的鲜重显著增加,增幅分别为25.82%、38.36%以及6.06%、15.82%,FR13A在 T_2 处理下,鲜重增幅最大,而9311鲜重降低。各品种的根系干重和地上部干重的变化趋势与鲜重变化基本一致,呈增加趋势,只有9311根系干重和地上部干重逐渐降低。在 T_1 和 T_2 处理下,FR13A、9311和IR64的根冠比均增加,只有OM052的根冠比比对照低。4个品种在各处理下的地上部相对含水量均降低。结果表明,淹水5 d是鉴定分蘖期水稻耐淹性特性重要依据,耐淹性强和不耐淹的品种为适应淹水胁迫,地上和地下部分生长失调,退水后地上部相对含水量降低。

2.2 淹涝胁迫对分蘖期水稻叶片叶绿素含量的影响 由图1可知,与对照处理 T_0 相比,在 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 处理下,分蘖期FR13A叶片叶绿素含量分别降低了3.55%、5.92%、16.27%和14.79%,OM052在 T_3 和 T_4 处理下,叶绿素含量降幅最大,分别为31.57%和32.07%,9311叶绿素含量由 T_0 处理下的40.6分别降到 T_1 和 T_2 处理下的37.4和34.0。降幅达到7.88%和16.26%。IR64叶片的叶绿素含量也从 T_0 处理时的42.4下降到 T_1 和 T_2 处理时的36.5和35.0,下降幅度分别达到13.92%和17.45%。结果表明,淹水处理下,随着淹水天数的增加,分蘖期水稻剑叶的叶绿素含量降低,耐淹性强的品种降幅小,而敏感型品种降幅大。

2.3 不同耐淹水稻分蘖期叶片SOD、CAT、POD酶活性以及MDA对淹涝胁迫的响应差异 在淹水2 d + 恢复3 d(T_1)和淹水4 d + 恢复3 d(T_2)后,对4个水稻品种叶片中的SOD、CAT、POD酶活及MDA含量进行分析(图2)。与对照相比,在淹水处理下4个品种SOD酶活性都有不同幅度的提高,耐淹品种FR13A的SOD酶活性分别提高了38.10%(T_2)和44.76%(T_3),OM052的SOD酶活性分别提高了38.42%(T_2)和50.02%(T_3),不耐淹品种9311的SOD酶活性明显低。淹水处理前,FR13A和OM052的POD酶活性分别为107.0和104.7 U/mg,明显高于9311和IR64的POD酶

活性,淹水处理后 4 个品种的 POD 酶活性的变化趋势与 SOD 酶活性变化一致。与对照相比,在 T_2 处理下,FR13A 和 9311 的 POD 酶活性增幅最大,分别为 14.6% 和 15.2%, T_3 处理下,9311 和 OM052 的 POD 酶活性增幅最大,分别为 29.6% 和 25.8%。活性氧代谢相关的清除酶 CAT 的酶活性在淹水处理后变化明显,相比对照,FR13A 和 OM052 的 CAT 酶活性在 T_2 和 T_3 处理下的增幅明显高于 9311 和 IR64,分别达到 28.6% (T_2) 和 37.9% (T_3) 以及 37.9% (T_2) 和 50.5%

(T_3)。此外,MDA 含量测定表明,相比对照 T_0 ,淹水处理导致分蘖期水稻叶片中 MDA 含量明显上升,在淹水处理前,耐淹性强的品种叶片 MDA 含量比不耐淹品种低,淹水处理 T_2 下,品种 FR13A、9311、IR64 和 OM052 叶片中 MDA 含量比对照 T_0 分别增长了 7.2%、8.7%、10.4% 及 6.6%;淹水处理 T_3 ,品种 FR13A、9311、IR64 和 OM052 叶片中 MDA 含量比对照 T_0 分别增长了 15.1%、22.2%、19.7% 和 17.9%。

表 2 分蘖期不同淹水处理下的植株形态、干重及根长比较

Table 2 Comparison of plant morphology, dry weight and root length in different submergence treatments during tillering stage

品种名称 Name of variety	处理编号 Treatment code	株高 Plant height cm	剑叶长 Flag leaf length cm	根长 Root length cm	鲜重 Fresh weight g/株	根系干物质重 Root dry matter weight g/株	地上部干重 Dry weight of above-ground part//g/株	根冠比 Root-shoot ratio	地上部相对含水量 Relative water content of above-ground part//g/株
FR13A	T_0	99.0 c	60.0 c	25.0 a	31.8 c	1.7 b	6.1 c	0.283 a	75.3 a
	T_1	107.5 a	71.4 a	21.5 b	40.0 b	1.4 c	11.3 a	0.124 c	68.3 c
	T_2	103.4 b	68.5 b	20.0 c	44.0 a	2.1 a	12.9 b	0.161 b	65.9 b
9311	T_0	79.5 a	53.5 a	20.0 b	35.0 a	2.5 a	6.9 a	0.370 a	73.1 b
	T_1	78.0 b	52.4 ab	22.5 a	23.3 b	1.6 b	5.5 b	0.280 c	69.7 b
	T_2	57.4 c	52.1 b	17.0 c	14.0 c	0.9 b	3.7 c	0.231 b	67.2 a
IR64	T_0	80.0 c	53.8 c	15.5 c	51.0 b	3.4 b	9.1c	0.369 a	75.6 a
	T_1	85.0 a	55.5 a	18.0 b	37.3 c	1.7 c	9.9 b	0.174 c	68.8 c
	T_2	82.0 b	55.0 b	25.0 a	52.2 a	3.7 a	11.8 a	0.311 b	70.4 b
OM052	T_0	74.0 b	48.0 b	26.0 a	29.7 c	0.9 c	7.0 b	0.133 c	73.3 c
	T_1	78.0 a	49.4 a	18.5 c	31.5 b	1.6 b	7.1 b	0.227 b	72.3 a
	T_2	68.0 c	48.0 b	22.0 b	34.7 a	3.2 a	7.8 a	0.385 a	68.2 b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences ($P < 0.05$)

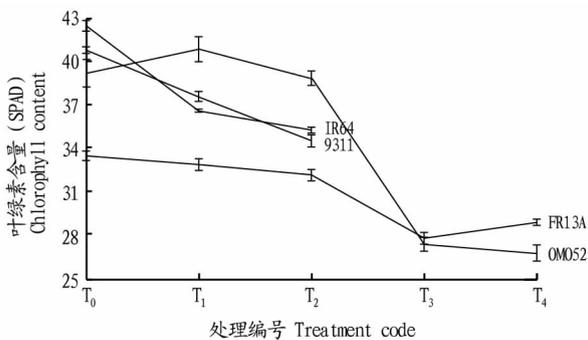


图 1 不同淹水处理对分蘖期水稻剑叶叶绿素含量的影响

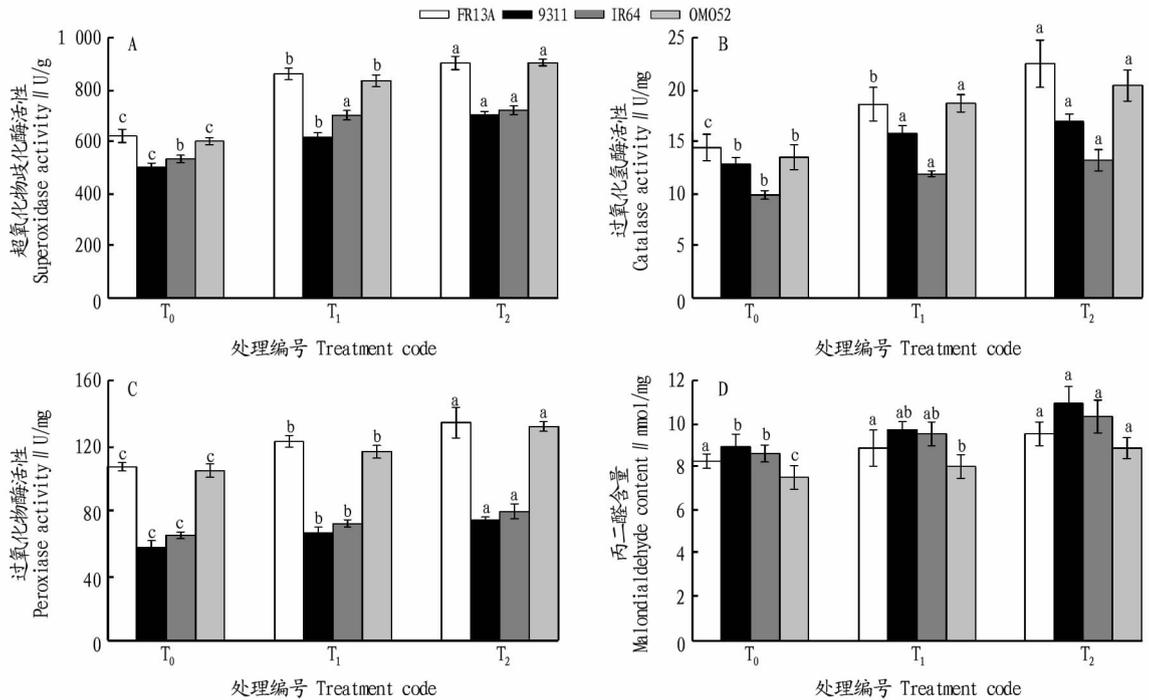
Fig.1 Effects of different submergence treatments on chlorophyll content of rice flag leaves during tillering stage

3 结论与讨论

作物耐淹能力受多种因素影响,其中既有外因,如淹水浑浊度、水温、光照,又有内因,如遗传背景、生育期,更受淹水胁迫的处理方法、筛选方法和评价指标的影响^[11]。淹水胁迫会引起作物一系列形态特征、生理和生化的变化,如有氧代谢受抑,光合作用骤减,生长受抑,细胞内活性氧增加等^[12]。张光恒等^[13]以耐淹差异较大的籼稻 TN1 与粳稻春江 06(CJ06)为亲本构建的 DH 群体为试验材料,使用分子连锁图谱进行 QTL 分析,共检测到 16 个与苗期耐淹有关的 QTL。

陈永华等^[14]应用耐淹材料 FR13A 和淹涝敏感材料 IR39595-503-2-1-2 构建 F_2 代群体,通过 SSR 分析,验证了耐淹性状确实由主效基因 *Sub1* 控制。王守立等^[15]分析了水稻不同苗质、品种、种植方式顶受淹后的主要性状及受淹时间与产量的关系,结果表明壮秧的秧苗耐淹性好,常规粳稻比杂交籼稻耐水淹,手插、机插、直播 3 种植方式中,手插秧苗的存活茎蘖数和绿叶数较多,耐淹性较好。以上研究均主要集中在苗期水稻淹涝胁迫。

而水稻分蘖期生长状况是决定水稻有效穗的重要因素,直接影响水稻产量。在该研究中,通过对分蘖期 4 个不同耐淹性水稻进行淹水处理,分析了淹水处理后水稻植株形态、叶片叶绿素含量、MDA 含量及活性氧代谢相关的清除酶(SOD,POD 和 CAT)活性,结果表明淹水处理导致地上部相对含水量降低,根冠比增加,根长变短,耐淹性品种的株高、剑叶变长,没顶淹水 5 d 可能是分蘖期水稻淹水胁迫的转折点。淹水处理明显降低了水稻叶片的叶绿素含量。此外,淹水处理诱导了 SOD、POD 和 CAT 酶活性的上升,叶片中 MDA 含量在淹水处理后也逐渐增加。该研究前期通过杂交水稻品种的耐淹性进行快速筛选,证实了 II 优 52 是一个耐淹性杂交组合^[16],该研究的结果在一定程度上表明 OM052 具有较好的耐淹性,而 OM052 是 II 优 52 的父本,这也与前期研究相一致。



注:不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different lowercases indicated significant differences ($P < 0.05$)

图2 不同淹水处理对分蘖期水稻叶片超氧化物歧化酶(A)、过氧化氢酶(B)和过氧化物酶(C)活性以及丙二醛含量(D)的影响

Fig.2 Effects of different submergence treatments on superoxidase activity (A), catalase activity (B), peroxidase activity (C) and malondialdehyde content (D) of rice during tillering stage

参考文献

- [1] 李阳生,李绍清.淹涝胁迫对水稻生育后期的生理特性和产量性状的影响[J].武汉植物学研究,2000,18(2):117-122.
- [2] 吕艳艳,金岩,付三雄,等.不同耐淹油菜品种的耐淹性生理差异[J].植物生理学报,2013,49(9):959-967.
- [3] 徐春梅,陈丽萍,王丹英,等.低氧胁迫对水稻幼苗根系功能和氮代谢相关酶活性的影响[J].中国农业科学,2016,49(8):1625-1634.
- [4] XU K N, XU X, FUKAO T, et al. Sub1A is an ethylene-response-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice [J]. Nature, 2006, 442 (7103): 705-708.
- [5] GONZAGA Z J C, CARANDANG J, SANCHEZ D L, et al. Mapping additional QTLs from FR13A to increase submergence tolerance in rice beyond SUB1 [J]. Euphytica, 2016, 209 (3): 627-636.
- [6] GONZAGA Z J C, CARANDANG J, SINGH A, et al. Mapping QTLs for submergence tolerance in rice using a population fixed for SUB1A tolerant allele [J]. Molecular breeding, 2017, 37 (4): 47.
- [7] CAMPBELL M T, PROCTOR C A, DOU Y C, et al. Genetic and molecular characterization of submergence response identifies Sub1a as a major submergence tolerance locus in maize [J]. PLoS One, 2015, 10 (3): 120385.
- [8] HWANG S T, CHOI D. A novel rice protein family of OsHIGDs may be involved in early signalling of hypoxia-promoted stem growth in deepwater rice [J]. Plant cell reports, 2016, 35 (10): 2021-2031.
- [9] DU H, WU N, CUI F, et al. A homolog of ETHYLENE OVERPRODUCER, OsETOL1, differentially modulates drought and submergence tolerance in rice [J]. Plant journal, 2014, 78 (5): 834-849.
- [10] ANANDAN A, PRADHAN S K, DAS S K, et al. Differential responses of rice genotypes and physiological mechanism under prolonged deepwater flooding [J]. Field crops research, 2015, 172: 153-163.
- [11] 陈永华,赵森,严钦泉,等.不同淹涝胁迫强度对杂交稻和常规稻农艺性状和生化特性的影响[J].中国水稻科学,2006,20(5):512-516.
- [12] 陈永华,严钦泉,肖国樱.水稻耐淹涝的研究进展[J].中国农学通报,2005,21(12):151-153,159.
- [13] 张光恒,曾大力,胡时开,等.水稻苗期耐淹相关性状 QTL 分析[J].作物学报,2006,32(9):1280-1286.
- [14] 陈永华,赵森,柳俊,等.水稻耐淹涝性状的遗传分析和 SSR 标记的研究[J].遗传,2006,28(12):1562-1566.
- [15] 王守立,戴其根,张国良,等.水稻不同品种与秧苗素质耐淹特性的调查[J].扬州大学学报(农业与生命科学版),2008,29(2):67-71.
- [16] 赵启辉.分蘖期淹涝胁迫对水稻农艺和品质性状及生理特性的影响[D].南昌:江西农业大学,2013:39.
- [17] 梁光明,刘阳,孙力军,等.利用免疫球蛋白构建免疫磁珠富集金葡菌条件优化[J].食品与生物技术学报,2013,32(3):265-271.
- [18] 胡莲花.对虾中副溶血性弧菌产毒株的分离识别及抗菌肽的控制效应[D].湛江:广东海洋大学,2012.
- [19] 刘阳.对虾中金葡菌及肠毒素 B 免疫磁快速检测法的建立与应用[D].大连:大连工业大学,2011.
- [20] 黄韵仪,胡莲花,孙力军,等.副溶血性弧菌免疫磁珠偶联条件优化及捕获性能评价[J].微生物学杂志,2012,32(6):7-11.

(上接第4页)

- [14] 喻伟.免疫磁珠的制备及其初步应用[D].武汉:华中农业大学,2010.
- [15] XING J, CHANG Y H, TANG X Q, et al. Separation of haemocyte subpopulations in shrimp *Fenneropenaeus chinensis* by immunomagnetic bead using monoclonal antibody against granulocytes [J]. Fish & shellfish immunology, 2017, 60: 114-118.
- [16] 张凡非,杉山宽治,西尾智裕,等.利用免疫磁珠法分离环境及食品中产生 TDH 副溶血性弧菌的研究[J].中国卫生监督杂志,2004,11(1):7-9.