

盐胁迫下小麦体细胞杂种与亲本小麦幼苗的生长量和 Na⁺、K⁺含量比较

王 军 权太勇* 夏光敏

(山东大学生命科学学院植物细胞工程实验室, 山东 济南 250100)

摘要: 对小麦体细胞杂种 F₁ 株系 I-1-3 和其亲本小麦济南 177 的幼苗在不同 NaCl 浓度处理 6 d 时的生长量和 Na⁺、K⁺ 含量进行了比较。结果表明: 盐胁迫下杂种的生长量明显高于亲本小麦。随着盐浓度的增加, 杂种和亲本的叶、茎和根中 Na⁺ 含量均增加, 但杂种叶与茎的 Na⁺ 含量显著低于亲本, 而根的却高于亲本, 这可能提示杂种根部液泡较亲本有较强的储 Na⁺ 功能。受盐胁迫的杂种叶与茎中 K⁺ 含量显著高于亲本, K⁺/Na⁺ 比值高。杂种的 Na⁺ 净积累速率也高于亲本。可见杂种比亲本小麦有更强的耐盐性。

关键词: 小麦; 高冰草; 体细胞杂种; 耐盐胁迫; Na⁺、K⁺ 含量

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395 (2004) 04-0355-04

Differences in the Growth and Contents of Na⁺ and K⁺ between Somatic Hybrid Wheat and Its Wheat Parent under Salt Stress

WANG Jun QUAN Tai-yong* XIA Guang-min

(Laboratory of Plant Cell Engineering, School of Life Science, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract: The seedlings of somatic hybrid wheat (I-1-3) (*Triticum aestivum* × *Agropyron elongatum*) and its wheat parent (Jinan 177) were treated with different concentrations of NaCl to investigate the growth and Na⁺ and K⁺ contents in leaves, stems and roots. It was shown that the seedling weight of somatic hybrid was higher than that of wheat parent after treatment with salt for 6 days. The Na⁺ content both in hybrid and in wheat parent increased as NaCl concentration increased, but the Na⁺ content in the leaves and stems of the hybrid was significantly lower than that of the wheat parent. On the contrary, Na⁺ content in the roots of hybrid was higher. It implied that the hybrid had more vacuole compartment for sodium than the parent. However, the K⁺ content in the leaves and stems of the hybrid was higher than that in the wheat parent. Net Na⁺ uptake in hybrid was slightly higher than that in parent. It is indicated that the hybrid line possesses higher salt tolerance than the wheat parent.

Key words: Somatic hybrid; Salt tolerance; Na⁺ and K⁺ content; *Triticum aestivum*; *Agropyron elongatum*

盐胁迫是植物主要的非生物胁迫之一, 目前全世界耕地接近一半的灌溉地受到盐碱的威胁^[1]。培育耐盐作物品种是改良和利用盐碱地资源最经济、最有效的措施之一^[2]。本实验室致力于小麦体细胞杂交理论和技术改进方面的研究工作, 尝试将有益的外源基因通过原生质体融合引入小麦。1995-

1996 年在国际上首先得到了以小麦为受体, 高冰草 (长穗偃麦草 *Agropyron elongatum*) 为供体的非对称体细胞杂种植株及后代^[3]。通过对杂种 F₃ 的基因组荧光原位杂交 (GISH) 和简单重复序列 (SSR) 分析, 证明高冰草的核及胞质遗传物质已在杂种细胞中遗传。其中出现了品质优良^[3], 抗逆性强的株

收稿日期: 2003-08-26 接受日期: 2003-12-25

基金项目: 国家自然科学基金 (30070397); 国家 863 项目 (001AA241032) 资助

* 通讯作者 Corresponding author

系^[2]。本文通过对小麦体细胞杂种 I-1-3 F₆ 耐盐株系与亲本小麦幼苗在不同盐浓度下的生长量和 Na⁺、K⁺ 积累量的差异来分析杂种的耐盐机理, 为培育耐盐作物品种提供理论依据。

1 材料和方法

实验材料 小麦(*Triticum aestivum*) 济南 177 和小麦与高冰草(*Agropyron elongatum*) 体细胞杂种 F₆ 株系 I-1-3 的种子。

幼苗的培养及盐处理 种子用 70% 的酒精浸泡 5 min, 用蒸馏水冲洗 5 遍, 均匀摆放于铺有多层吸水纸的容器中(70% 酒精擦洗过, 晾干)。用蒸馏水在暗处培养 2 d, 挑选萌发一致的种子移种到底部有孔(4 目 cm²) 的塑料筐(16 cm × 16 cm) 中, 用少许洗净的砂粒固定。每筐 50 株, 每一处理共 100 株。每天更换 1/4 Hoagland 培养液(pH7.0), 室温(23±5℃), 光照强度约 900 μmol m⁻²s⁻¹。当小麦长至三叶期时, 用 150、200、250、300 mmol/L 盐浓度的 1/4 Hoagland 培养液培养, 每天更换一次培养液, 6 d 后取材料检测, 重复三次。

生长量测定 取 10 株植株用蒸馏水洗净, 吸水纸吸干表面水分, 称量整株鲜重。将材料放入烘箱内 105℃ 杀青 15 min, 65℃ 烘干 48 h, 称量干重, 计算平均值。

Na⁺、K⁺ 含量测定 取 10 株材料, 将材料的根与茎以上部分分开, 烘干(同生长量测定)。称取干燥粉末 30 mg, 用浓硝酸溶解, 过滤定容至 50 ml。用日立 180-80 型原子吸收分光光度计来测定 Na⁺、K⁺ 含量^[6]。

Na⁺ 净累积速率(J_{up}) 的计算 参见 Taleisnik 和 Grunberg 的方法^[7]。 $J_{\text{up}} = [(m_2 - m_1) / (t_2 - t_1)] \times$

$[(\ln R_2 - R_1) / (R_2 - R_1)]$, 其中 m_1 和 m_2 分别为生长时间 t_1 和 t_2 时的全株植物 Na⁺ 的总含量, R_1 和 R_2 分别为 t_1 和 t_2 时根的干重。

2 结果和分析

2.1 不同盐浓度对生长量的影响

图 1 显示随着盐浓度的升高, 济南 177 和 I-1-3 整株鲜重和整株干重都呈下降趋势。鲜重与对照相比分别下降了 35%–50% 和 20%–44%。干重分别下降了 20%–31% 和 3%–23%。150 mmol/L 浓度下 I-1-3 干重只下降不到 3%, 200 mmol/L 下仅下降 8%, 只是在 300 mmol/L 下才有明显的下降, 达到 23%。从下降的幅度比较, 杂种均明显低于济南 177 (P<0.05), 尤其以干重更为突出。总的来说, 200 mmol/L 以下盐处理时, 杂种的生长量只受到轻微的影响。与济南 177 相比, 杂种对盐胁迫有更强的适应性。

2.2 叶与茎中和根中 Na⁺ 含量

图 2 表明, 济南 177 和 I-1-3 经盐处理后叶与茎中和根中的 Na⁺ 含量均明显提高, 叶与茎中 Na⁺ 含量随着盐浓度的增高而升高, 但是在同一浓度下 I-1-3 叶与茎的 Na⁺ 含量要比济南 177 低 (P<0.05), 200 mmol/L NaCl 处理约低 20%。根中 Na⁺ 含量却不同, 150 mmol/L 和 200 mmol/L 处理, 济南 177 和 I-1-3 的 Na⁺ 含量随盐浓度增加而上升, 但高浓度处理, Na⁺ 含量不升反降。300 mmol/L NaCl 处理时根变成褐色, 研磨时发现它们呈现很高的纤维化程度。说明在高盐下, 部分根细胞死亡, 由此导致盐分流失, 使根中 Na⁺ 浓度下降。在不同盐浓度中, I-1-3 根中的 Na⁺ 含量都比济南 177 要高。

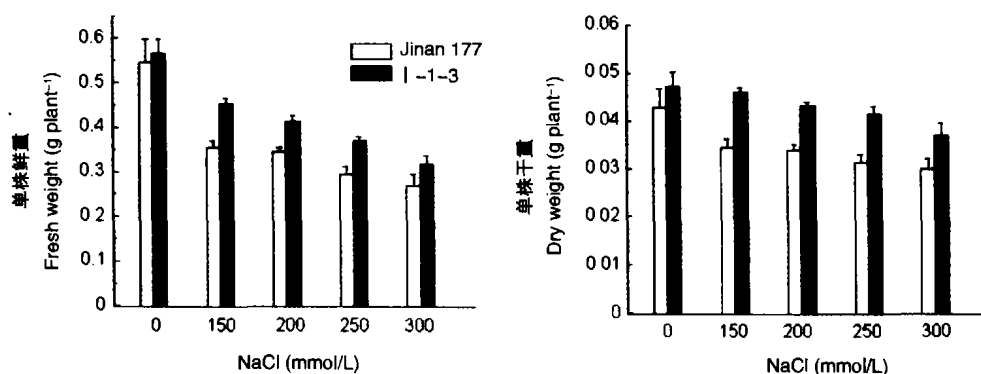


图 1 NaCl 处理 6 d 对济南 177 和 I-1-3 整株鲜重和干重的影响

Fig 1 Effects of different NaCl concentrations on fresh and dry weight of the seedlings of wheat Jinan 177 and somatic hybrid line I-1-3 after treatment for 6 days

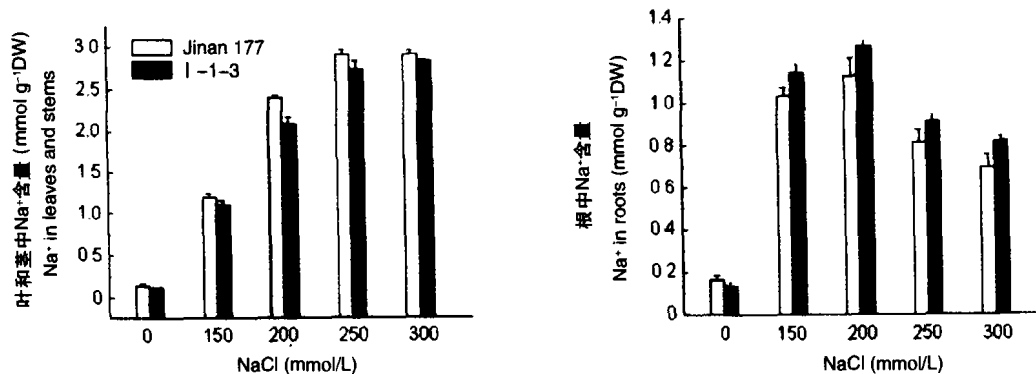


图2 不同盐浓度处理6d后济南177和I-1-3叶与茎中和根中Na⁺含量差异

Fig. 2 Effects of NaCl concentrations on Na⁺ content in leaves and stems, and in roots of the seedlings of wheat Jinan 177 and somatic hybrid I-1-3 after treatment for 6 days

2.3 叶与茎中和根中K⁺含量

亲本和杂种叶与茎中K⁺含量均随着盐浓度的增高而下降,但杂种的下降幅度低于亲本(P<0.05),特别是在200 mmol/L盐浓度下更明显(图3),即杂种比亲本有更好的保持K⁺的能力。和叶与茎保持K⁺的能力相比较,不管是济南177还是I-1-3,根中的K⁺含量在盐胁迫下剧减,杂种K⁺消滅的程度略低于亲本,但差别不明显(P>0.05)(图3)。

2.4 Na⁺的净累积速率(J_{Na})和K⁺/Na⁺比值

表1表示叶与茎中K⁺/Na⁺比值变化。济南177和I-1-3在盐处理下的K⁺/Na⁺比值都出现大幅度的降低;两者比较而言,杂种有较高的K⁺/Na⁺比值,150 mmol/L和200 mmol/L盐浓度下,它比济南177高出20%左右。

表2可见济南177和I-1-3的Na⁺净累积速率随盐浓度的增加而增加,I-1-3的净累积速率略高于济南177,但未达到显著性差异(P>0.05)。

表1 盐胁迫6d后济南177和I-1-3叶和茎中的K⁺/Na⁺比值变化

Table 1 Changes in K⁺/Na⁺ ratio in leaves and stems of seedlings of wheat Jinan 177 and somatic hybrid I-1-3 under NaCl stress for 6 days

	NaCl concentration (mmol/L)				
	0	150	200	250	300
Jinan 177	15.1 (100)	1.35 * (8.94)	0.61 * (4.04)	0.50* (3.31)	0.47 (3.11)
I-1-3	14.8 (100)	1.58 * (10.68)	0.75 * (5.06)	0.57* (3.95)	0.51 (3.44)

*表示显著性差异(P<0.05) Numbers followed by an asterisk are significant at p=0.05. 括号内数据表示以对照为基数的百分比值 Numbers in parentheses are % of the control.

表2 盐胁迫6d后济南177和I-1-3 Na⁺净吸收速率 (mmol g⁻¹ Root DW d⁻¹)

Table 2 Net Na⁺ uptake (mmol g⁻¹ Root DW d⁻¹) in seedling leaves of wheat Jinan 177 and somatic hybrid I-1-3 under NaCl stress for 6 days

	NaCl concentration (mmol/L)				
	0	150	200	250	300
Jinan 177	0.096	1.489	3.043	3.553	3.763
I-1-3	0.107	1.516	3.086	3.658	3.873

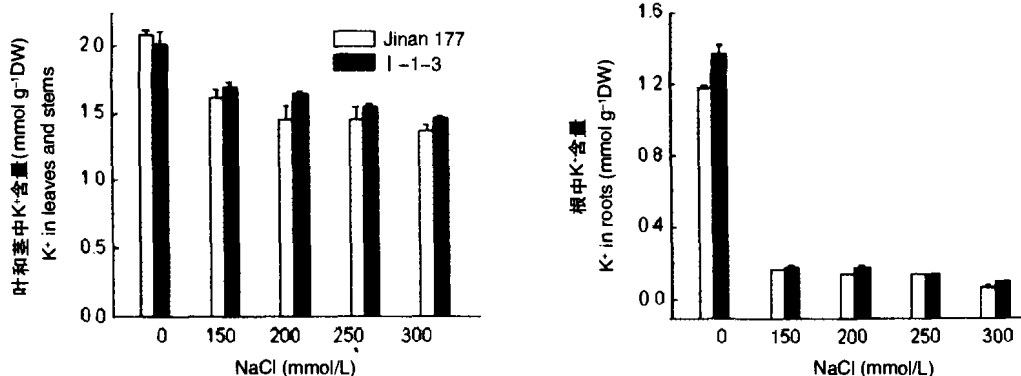


图3 不同盐浓度处理6d后济南177和I-1-3叶与茎中和根中K⁺含量差异

Fig. 3 Changes in K⁺ content in leaves and stems, and in roots of the seedlings of wheat Jinan 177 and somatic hybrid I-1-3 treated with NaCl for 6 days

3 讨论

小麦为甜土作物,只在低浓度盐的条件下表现耐盐性,不同品种耐盐性不同。研究表明小麦的耐盐性与小麦保持地上部分相对低的 Na^+ 浓度和维持较高的 K^+/Na^+ 比值相关^[8]。本实验结果亦表明,盐处理下的杂种 I-1-3 地上部分 Na^+ 含量明显低于亲本济南 177,以维持较高的 K^+/Na^+ 比值。

高盐胁迫引起植物体内离子失衡,继而引发高渗胁迫及氧化胁迫。植物在应答反应过程中通过产生大量的低分子量的可溶性物质如脯氨酸来维持体内的渗透势,或者通过 Na^+/H^+ 反向运输蛋白排 Na^+ ,降低胞质内 Na^+ 的浓度^[1,9]。有研究表明,耐盐性强的小麦在盐胁迫下表现为拒 Na^+ 作用,以保持叶内相对低的 Na^+ 浓度。可能机制之一是以牺牲 K^+ 的吸收来减少 Na^+ 进入体内^[10,11]。通过液泡膜上 Na^+/H^+ 反向转运蛋白在液泡内积累 Na^+ 也可能是小麦在盐胁迫应答中采取的策略^[12]。另外,有证据表明耐盐品种小麦可溶性物质含量增加与耐盐性有关^[13]。本实验中杂种叶内保持了低的 Na^+ 含量,其 Na^+ 净积累速率与亲本没有显著性差异,说明两者叶的拒 Na^+ 作用是相似的。也不排除杂种叶肉细胞通过 Na^+/H^+ 反向运输蛋白在液泡内积累 Na^+ 的可能。盐处理的杂种鲜重和干重明显高于亲本小麦,可能与胞质内可溶性物质增加有关,起到稀释胞质内 Na^+ 浓度,保持水分,减少盐害的作用。150 mmol/L 和 200 mmol/L 的 NaCl 处理,杂种根的 Na^+ 含量高于亲本小麦,也高于地上部分的 Na^+ 含量,说明杂种根部液泡可能有较强积累 Na^+ 的能力,这在一定程度上减缓了地上部分的盐害。杂种的抗盐性究竟是因为根中液泡积累 Na^+ 的作用引起还是与细胞内可溶性物质的积累有关值得进一步研究。

参考文献

- [1] Zhu J K. Plant salt tolerance [J]. Trends Plant Sci, 2001, 6:66-71.
 [2] Xia G M (夏光敏), Chen S Y (陈穗云), Xiang F N (向凤宁), et

- al. Study on salt-tolerance of F_2 hybrids originated from somatic hybridization between wheat and *Agropyron elongatum* [J]. Shandong Agri Sci (山东农业科学), 2001, (6):12-14. (in Chinese)
 [3] Xia G M (夏光敏), Xiang F N (向凤宁), Zhou A F (周爱芬). Fertile hybrid plant regeneration from somatic hybridization between *Triticum aestivum* and *Agropyron elongatum* [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1999, 41 (4):349-352. (in Chinese)
 [4] Zhao T J (赵同金), Quan T Y (权太勇), Xia G M (夏光敏), et al. Glutenin and SDS sedimentation analysis of the F_2 somatic hybrids between *Triticum aestivum* L. and *Agropyron elongatum* [J]. J Shandong Univ (Nat Sci) (山东大学学报自然科学版), 2003, 38 (3):112-116. (in Chinese)
 [5] Xiang F N, Feng B M, Xia G M. Agronomic trait and protein component of F_2 hybrid originated from intergeneric somatic hybridization between *Triticum aestivum* and *Agropyron elongatum* [J]. Acta Bot Sin, 2001, 43(3):232-237.
 [6] Wang B S (王宝山), Zhao K F (赵可夫). Comparison of extractive methods of Na and K in wheat leaves [J]. Plant Physiol Comm (植物生理学通讯), 1995, 31 (1): 50-52. (in Chinese)
 [7] Talelsnik E, Grunberg K. Ion balance in tomato cultivars differing in salt tolerance. I. Sodium and potassium accumulation and flux under moderate salinity [J]. Physiol Plant, 1994, 92: 528-534.
 [8] Schachtman D P, Mumms R. Sodium accumulation in leaves of *Triticum* species that differ in salt tolerance [J]. Aust J Plant Physiol, 1992, 19:17-23.
 [9] Waditee R, Hibino T, Nakamura T. Overexpression of a Na^+/H^+ antiporter confers salt tolerance on a freshwater cyanobacterium, making it capable of growth in sea water [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99 (6):4109-4114.
 [10] Chen D M (陈德明), Yu R P (俞仁培). Salt tolerance and ionic trait of different wheat cultivars under salt stress [J]. Acta Pedol Sin (土壤学报), 1998, 35(1):88-94. (in Chinese)
 [11] Munns R, Husain S, Rivelli A R. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits [J]. Plant Soil, 2002, 247:93-105.
 [12] Guo F Q (郭房庆), Tang Z C (汤章城). Difference in Na^+ , K^+ accumulation in the salt-tolerant mutant and the wild type of wheat during exposure to NaCl stress [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1999, 41(5):515-518. (in Chinese)
 [13] Wang M G (王鸣刚), Jia J F (贾敬芬), Xie F (谢放). Biochemical analysis of salt-tolerant cell line and their progeny of wheat [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin (西北植物学报), 1999, 19(2):310-314. (in Chinese)