

外源 NO 供体 SNP 浸种对盐胁迫下水稻幼苗生长的影响

刘开力 凌腾芳 刘志兵 花榕 孙永刚 沈文彪*

南京农业大学生命科学学院, 南京 210095

提要 以 0.2、0.4 和 0.6 mmol·L⁻¹ 的一氧化氮(nitric oxide, NO)供体硝普钠(SNP)浸泡水稻“武育粳3号”种子后, 放在含 NaCl 的琼脂中成苗, 受盐胁迫的水稻幼苗地上部和地下部生长受抑均有一定程度的缓解, 耐盐比率提高, 其中以 0.4 mmol·L⁻¹ 的 SNP 作用最为明显。

关键词 一氧化氮; 水稻; 浸种; 盐胁迫; 幼苗; 生长

Effects of Soaking Seeds in Exogenous Nitric Oxide Donor on Growth of Rice Seedlings Under Salt Stress

LIU Kai-Li, LING Teng-Fang, LIU Zhi-Bing, HUA Rong, SUN Yong-Gang, SHEN Wen-Biao*

College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095

Abstract The seeds of rice cultivar Wuyujing 3 were soaked by 0.2, 0.4 and 0.6 mmol·L⁻¹ SNP, a nitric oxide (NO) donor. The growths of shoot and root of rice seedling inhibited on agar medium containing different concentrations of NaCl were alleviated in a certain scale. The salt tolerance ratio of rice seedlings enhanced. Among them, the effect of 0.4 mmol·L⁻¹ SNP pretreatment was the most obvious.

Key words nitric oxide; rice; soaking seeds; salt stress; seedlings; growth

NO 是生物体中活性很强的极性分子, 也是一种活性氮(reactive nitrogen species, RNS), 具有毒害和保护生物细胞的双重性。最近的研究表明, NO 在植物体内广泛存在, 主要通过一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS, EC 1.14.13.39)和硝酸还原酶(nitrate reductase, NR, EC 1.6.6.1/2)合成, 并与植物的抗病和对各种胁迫的应答, 以及细胞编程性死亡有关^[1, 2]。NO 对植物生长和发育有调控作用, 最早发现的是植物叶片生长受 NO 的调节^[3]。此外, NO 还能促进种子萌发、影响根的伸长^[2, 4, 5]。如以多种 NO 供体处理离体培养的玉米根后, 根尖生长速度与供体的浓度在一定范围内成正相关^[5]。一般认为, 生长受抑是植物对盐渍响应最敏感的生理过程, NO 对盐胁迫下水稻幼苗生长抑制的影响还未见报道, 为此, 本文进行了研究。

材料与方法

实验材料为中晚熟水稻(*Oryza sativa*)品种“武育粳3号”。NO 供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP, 购自Sigma 公司)现用现配, 用蒸馏水配置成 50 mmol·L⁻¹ SNP 母液, 再按实

验所需的浓度进一步稀释。水稻种子经漂浮清洗后, 用 0.2% 的氯化汞表面消毒 5 min, 蒸馏水冲洗干净后, 分别用 0.2、0.4 和 0.6 mmol·L⁻¹ 的 SNP (分别编号为处理 T₁、T₂ 和 T₃) 浸种 48 h, 以蒸馏水处理为对照(T₀), 30℃ 下催芽后选取芽长为 0.5 cm 左右的种子备用。

采用 NaCl 琼脂法^[6]研究外源 NO 供体浸种对盐胁迫下水稻幼苗生长的影响, 具体操作步骤如下: 先配制浓度为 0、75、100、125、150 mmol·L⁻¹ NaCl 的 0.6% 琼脂溶液, 分别装于 100 mL 的玻璃烧杯中, 每个处理至少重复 3 次; 琼脂溶液冷却并稍凝固后, 将选出备用的水稻种子插入上述各种琼脂中, 每个烧杯放置 15 粒种子, 接着将烧杯放入装有水的周转箱中, 盖上玻璃罩, 以保持成苗期间的湿度, 在 30℃ 自然光照条件下培养 5 d 后摄影, 记录和测量株高、发根数和根长^[7, 8]。此外, 分别取上述水稻幼苗的地上部

收稿 2003-09-08 修定 2003-12-11

资助 南京农业大学 2003 年 SRT 项目(0309A04)。

* 通讯作者(E-mail: wbshenh@sohu.com, Tel: 025-8396671)。

和地下部,称鲜重后,放入70℃的烘箱中烘至恒重,称重,计算地上部、地下部和单株的干重,并以耐盐比率($TR = WG X_n / WG X_0$, $WG X_0$ 、 $WG X_n$ 表示不同NaCl处理浓度下的幼苗干重)作为耐盐性指标^[8]。

结果与讨论

1 外源NO对NaCl胁迫下水稻幼苗叶片生长的影响

盐胁迫5 d后,水稻幼苗的生长受到明显抑制,表现为生长速率下降,株高降低,植株受抑程度随着NaCl浓度的增加而增大。单独用SNP浸种处理对正常生长的水稻幼苗的生长则具有一定促进作用。采用SNP浸种可以不同程度地缓解各种浓度盐胁迫对水稻幼苗生长所造成的抑制作用,并与SNP浸种浓度和NaCl胁迫程度有关。例如,0.4 mmol·L⁻¹ SNP可以显著缓解75和100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫对水稻幼苗生长所造成的抑制作用($P <$

0.05,图1和2)。另外,外源NO供体浸种对地上部生物量影响的结果也表明,SNP能不同程度地提高NaCl胁迫下水稻幼苗地上部的鲜重和干重(图3)。

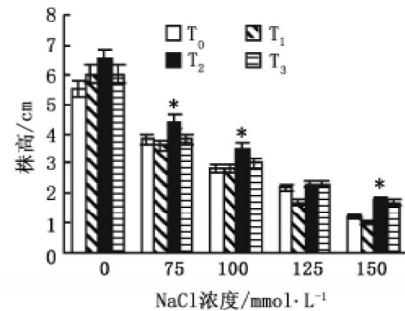


图1 外源NO供体浸种对NaCl胁迫下水稻幼苗株高的影响

Fig. 1 Effect of soaking rice seeds in exogenous nitric oxide donor SNP on height of seedlings under salt stress

*: $P < 0.05$

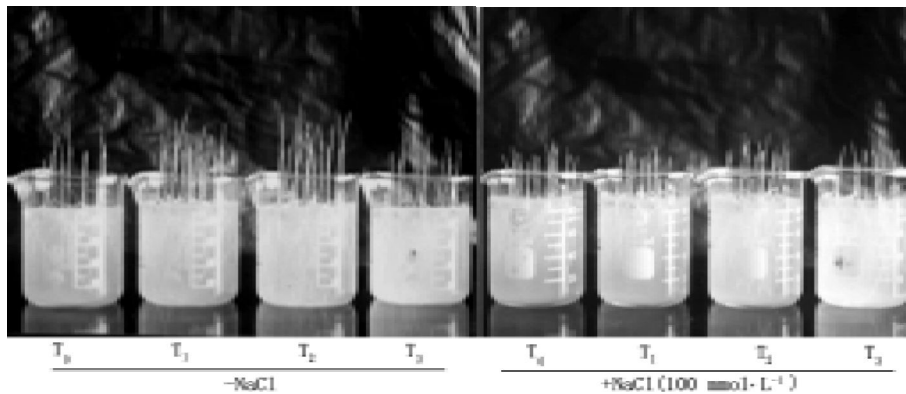


图2 SNP浸种对NaCl胁迫下的水稻幼苗生长的影响

Fig. 2 Effects of soaking rice seeds in exogenous nitric oxide donor SNP on the growth of rice seedlings treated with or without 100 mmol·L⁻¹ NaCl

2 外源NO对NaCl胁迫下水稻幼苗根系生长的影响

水稻幼苗在NaCl胁迫5 d后,其发根同样也受到抑制,发根数减少、根长变短和发根力下降;随着NaCl浓度的增大,发根受抑程度更加明显。SNP浸种能明显缓解NaCl对水稻幼苗根系生长的抑制作用,并同浸种浓度和NaCl胁迫程度有关。低盐浓度(75和100 mmol·L⁻¹)NaCl胁迫下,幼苗发根数和相对发根数随着SNP浓度的增大呈现先增加后减少的现象,即0.4 mmol·L⁻¹ SNP处理的发根最多($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),0.2和0.6 mmol·L⁻¹

SNP均有所降低,但仍高于未以SNP浸种的。高盐浓度(125和150 mmol·L⁻¹)NaCl胁迫下,SNP对水稻种子发根的作用则相对不明显(表1)。外源NO浸种对NaCl胁迫下水稻幼苗根长的影响也表现出相同的趋势(表2),而水稻幼苗地下部比地上部对外源NO的敏感性更强一些。

3 外源NO对NaCl胁迫下水稻单株幼苗地下部鲜重、干重以及耐盐性的影响

盐胁迫降低水稻种子发芽率,延缓幼苗生长,外源NO供体SNP浸种,也可以明显增加水

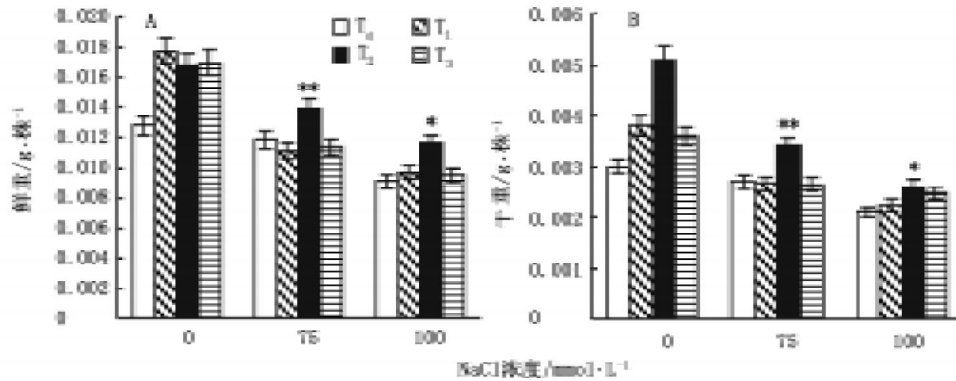


图3 外源NO浸种对NaCl胁迫下单株水稻幼苗地上部鲜重(A)和干重(B)的影响
 Fig. 3 Effects of soaking rice seeds in exogenous nitric oxide donor on the fresh weight (A) and dry weight (B) of per shoot under salt stress
 *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$

表1 外源NO浸种对NaCl胁迫下水稻幼苗发根数的影响
 Table 1 Effect of soaking seeds in exogenous nitric oxide donor on rooting of rice seedlings under salt stress

| NaCl 浓度 /mmol·L ⁻¹ | SNP 浓度 / mmol·L ⁻¹ | | | |
|-------------------------------|-------------------------------|------------------|--------------------|-----------------|
| | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 |
| 0 | 8.0±1.0 (100.0) | 9.3±1.9* (100.0) | 10.3±1.3** (100.0) | 8.9±1.8 (100.0) |
| 75 | 7.8±1.2 (97.5) | 8.6±1.4 (92.5) | 9.3±1.6* (90.3) | 8.2±1.2 (92.1) |
| 100 | 7.3±1.4 (91.3) | 8.1±1.9 (87.1) | 9.6±1.6** (93.2) | 7.9±1.5 (88.8) |
| 125 | 6.3±1.4 (78.8) | 5.8±1.5 (62.4) | 6.1±1.7 (59.2) | 6.2±1.0 (69.7) |
| 150 | 5.2±1.9 (65.0) | 5.8±0.7 (62.4) | 4.6±1.7 (44.7) | 5.3±1.7 (59.6) |

* 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$ (新复极差测验, SSR)。

表2 外源NO浸种对NaCl胁迫下水稻幼苗根长的影响
 Table 2 Effect of soaking seeds in exogenous NO donor on length of rice seedling roots under salt stress

| NaCl 浓度 /mmol·L ⁻¹ | SNP 浓度 / mmol·L ⁻¹ | | | |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 |
| 0 | 5.4±0.4 (100.0) | 7.2±1.7** (100.0) | 8.3±1.9** (100.0) | 6.9±1.0** (100.0) |
| 75 | 5.9±0.7 (109.3) | 6.7±1.2 (93.1) | 7.0±1.1* (84.3) | 6.8±1.5* (98.6) |
| 100 | 4.1±1.3 (75.9) | 5.6±1.9** (77.8) | 5.8±1.6** (69.9) | 5.4±1.0** (78.3) |
| 125 | 2.1±0.9 (38.9) | 1.8±1.0 (25.0) | 2.5±1.4 (30.1) | 3.0±0.9* (43.5) |
| 150 | 0.6±0.3 (11.1) | 0.9±0.3 (12.5) | 0.8±0.3 (9.6) | 1.1±0.4 (15.9) |

* 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$ (新复极差测验, SSR)。

稻幼苗地下部的生物量。如图4所示, NO可以提高NaCl胁迫下水稻单株幼苗地下部的鲜重、干重, 尤其是干重, 并与SNP浓度和NaCl胁迫程度有关。0.4 mmol·L⁻¹ SNP的作用相对较为明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。此外, NO还能提高NaCl胁迫下水稻幼苗的耐盐比率(表3), 抗氧化酶活性和

还原性物质水平提高, 合成更多具有渗透调节功能的亲水性物质, 如脯氨酸、糖类和多胺等, 从而保护细胞中的功能蛋白质, 使膜系统免遭氧化破坏, 维持细胞正常的生理活动, 最终提高植物的耐盐性(待发表资料)。

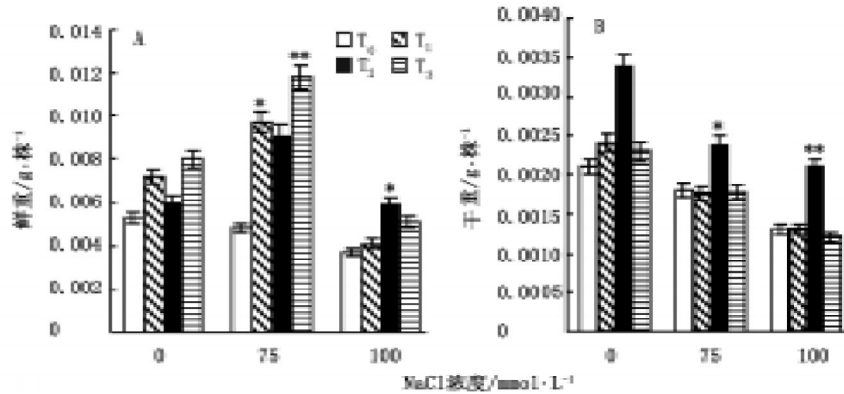


图4 外源NO浸种对NaCl胁迫下水稻单株幼苗根系鲜重(A)与干重(B)的影响
Fig.4 Effects of soaking rice seeds in exogenous nitric oxide donor on the fresh weight (A)
and dry weight(B) of per root under salt stress

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$

表3 外源NO浸种对NaCl胁迫下水稻幼苗耐盐比率的影响

Table 3 Effect of soaking seeds in exogenous nitric oxide donor on the salt tolerance ratio of rice seedlings

| NaCl 浓度 / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ | SNP 浓度 / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ | | | |
|---|--|-------|--------|------|
| | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 |
| 0 | 1.00 | — | — | — |
| 75 | 1.01 | 1.06* | 1.14** | 1.00 |
| 100 | 1.01 | 1.03 | 1.01 | 1.05 |

* 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$ (新复极差测验, SSR)。

参考文献

- Neill SJ, Desikan R, Hancock JT. Nitric oxide signalling in plants. *New Phytol*, 2003, 159: 11~35
- Zhang H, Shen WB, Xu LL. Effect of nitric oxide on the germination of wheat seed and its reactive oxygen species metabolisms under osmotic stress. *Acta Bot Sin*, 2003, 45: 901~905
- Leshem YY, Haramaty E. Plant aging: the emission of NO and ethylene and the effect of NO-releasing compounds on growth of pea (*Pisum sativum*) foliage. *Plant Physiol*, 1996, 148: 258~263
- Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta*, 2000, 210: 215~221
- Gouvêa CMCP, Souza JF, Magalhães CAN et al. NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segment. *Plant Growth Regul*, 1997, 21: 183~187
- 柯玉琴, 潘廷国. 鉴定水稻发芽种子成苗过程中耐盐性的NaCl琼脂法. *植物生理学通讯*, 2001, 37(5): 432~434
- 韩朝红, 孙谷畴, 林植芳. NaCl对吸胀后水稻的种子发芽和幼苗生长的影响. *植物生理学通讯*, 1998, 34(5): 339~342
- 阮松林, 薛庆中. 盐胁迫条件下杂交水稻种子发芽特性和幼苗耐盐生理基础. *中国水稻科学*, 2002, 16: 281~284