

盐碱胁迫对水稻花粉扫描特征和生活力的影响*

王志春** 杨 福 齐春艳

(中国科学院东北地理与农业生态研究所 长春 130012)

摘 要 盐碱胁迫导致水稻结实率降低是盐碱地水稻生产中的主要问题之一。以非盐碱土壤为对照,将不同比例的盐碱土和非盐碱土壤充分混合,设置5个土壤盐碱胁迫梯度,根据苏打盐碱土的特殊性,以土壤碱化度(ESP)为胁迫指标因子,用盆栽实验研究了盐碱胁迫下水稻花粉表面形态特征、花粉生活力和柱头对花粉的接受能力等。结果表明,盐碱胁迫下,水稻花粉表面形态结构表现出明显差异,盐碱胁迫处理的花粉表面凹凸程度较浅,雕纹不明显,相对平滑,而对照(SS₀)花粉粒雕纹较深,SS₄盐碱胁迫下只有孔环没有孔盖。盐碱胁迫对水稻花粉生活力产生了影响,随着盐碱胁迫的增强,水稻花粉在离体培养基上的萌发率呈下降趋势,品种‘吉农大10号’花粉萌发率在SS₄和SS₂处理分别比对照(SS₀)降低34.4%和15.5%,对盐碱胁迫反应比‘吉优1号’更为敏感。盐碱胁迫下,水稻柱头对有萌发力的花粉的接受程度依胁迫强度的增大而降低,在轻、中度盐碱胁迫(SS₁、SS₂)下,‘吉优1号’柱头对花粉的接受能力强于‘吉农大10号’品种,而在重度盐碱胁迫(SS₃、SS₄)下则相反。盐碱胁迫下柱头对花粉的接受能力对水稻结实具有重要意义。图1表5参15

关键词 盐碱胁迫; 水稻; 花粉; 扫描特征; 生活力; 柱头接受能力

CLC S511.01 : Q945.78

Effects of Salinity and Sodicy Stress on Pollen Surface Characteristics and Viability of Rice*

WANG Zhichun**, YANG Fu & QI Chunyan

(Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130012, China)

Abstract The effects of salinity and sodicity stresses on pollen surface characteristics, viability and stigma receptivity of rice were studied under pot experiment conditions by using soil exchangeable sodium percentage (ESP) as the stress indicator. The different stresses were obtained by mixing saline sodic soil with normal soil at different ratios. The results showed that the pollen electron microscopic surface characteristics changed under the salinity and sodicity stresses. The pollen surface was relatively smooth with few carve veins under the different stresses, while more obvious carve veins were observed under no stress by using normal soil. No aperture cover was found under the SS₄ salinity and sodicity stress. The pollen viability was also affected by the stresses. Rice pollen germination rate on the culture medium decreased with the increasing of the salinity and sodicity stresses. The pollen germination rates of rice cultivar Jinongda 10 under low and moderate stresses (SS₁ and SS₂) were reduced by 34.4% and 15.5% compared to the control, respectively, showing this cultivar was more sensitive to the stress than Jiyou 1. Rice stigma receptivity to the germinated pollens decreased with the increasing of the salinity and sodicity stresses. Jiyou 1 showed higher stigma receptivity than Jinongda 10 under the low and moderate stresses (SS₁ and SS₂), while it showed lower than Jinongda 10 under the high stresses (SS₃ and SS₄). Fig 1, Tab 5, Ref 15

Keywords salinity and sodicity stress; rice; pollen; surface scanning characteristics; viability; stigma receptivity

CLC S511.01 : Q945.78

花粉是植物的雄性繁殖器官,花粉生活力与受精结实等植物生殖过程紧密相关。逆境胁迫对水稻花粉形态和生活力的影响已有报道^[1-2]。汤日圣等在高温条件下对水稻花粉生活力及籽粒结实的影响研究中发现,供试品种花粉生活力、花粉萌发率和结实率均随着胁迫温度的升高和时间的延长而

降低,花粉生活力降低是高温导致籽粒结实率大幅度降低的主要生理原因^[3]。然而,已有相关研究多数针对高温胁迫对水稻花粉的影响^[4-5],而对盐碱胁迫下的水稻花粉特征和生活力研究尚未见报道。

松嫩平原盐碱地水稻生产中,经常可见盐碱胁迫抑制水稻生长,表现为植株矮小,分蘖减少,生育期延迟,生物量和产量下降等^[6]。测产和产量构成因素分析结果发现,水稻结实率低也是限制盐碱地水稻产量的关键因素。鉴于花粉与植物受精结实密切相关,本实验对盐碱胁迫下水稻花粉形态特征、生活力和柱头对花粉的接受能力等指标进行了测定,以探索盐碱胁迫对水稻生殖生理的影响规律和机理,为水稻抗逆生理研究和盐碱地水稻抗逆栽培提供理论基础。

收稿日期: 2008-11-19 接受日期: 2009-03-04

*国家科技支撑计划项目(No. 2007BAD65B02-6)、吉林省与中国科学院科技合作高技术产业化专项资金项目(No. 2007SYHZ0035)和中国科学院知识创新工程重要方向项目(No. KZCX2-YW-Q06-2)资助 Supported by the National S & T Pillar Program of Ministry of Science & Technology of China (No. 2007BAD65B02-6), the Joint High-tech Industrialization Project of Jilin Province and Chinese Academy of Sciences (CAS, No. 2007SYHZ0035), and the Knowledge Innovation Program of CAS (No. KZCX2-YW-Q06-2)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: wangzhichun@neigae.ac.cn)

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤 实验用盐碱土取自松嫩平原西部中国科学院东北地理与农业生态研究所大安碱地生态试验站(45°35′58″~45°36′28″N, 123°50′27″~123°51′31″E), 为区域内典型盐碱土, 取土深度0~40 cm. 取土前测定pH和电导率(EC). 取土时充分混合, 过筛. 土壤化学性质为: pH值10.34, 电导率($EC_{1:5}$) 1.51 dS m⁻¹, 碱化度(ESP) 93.17%. 对照土壤取自吉林农业大学实验站旱田非盐碱土壤.

1.1.2 供试品种 选择‘吉优1号’(吉林省农业科学院)和‘吉农大10号’(吉林农业大学)两个粳稻品种为供试品种.

1.2 实验处理

盆栽实验于2004年在长春市郊人工防雨棚内进行. 设5个盐碱胁迫梯度处理SS₀(对照)、SS₁、SS₂、SS₃、SS₄(表1), 每个处理设3次重复. 采用上口直径30 cm、下口直径23 cm的无孔塑料盆, 每盆装土12 kg. 实验所用肥料为山东丰源复合肥有限公司生产的通用型复合肥, N、P₂O₅、K₂O各含15%. 每盆施肥9 g. 为补充N肥, 每盆施尿素1 g. 4月20播种, 5月25日插秧. 选取叶龄一致的秧苗, 每盆插4穴, 每穴2株. 灌溉水来自当地民用饮水井, 含盐量0.09%, pH值6.84.

1.3 测定方法

1.3.1 盐碱胁迫下水稻花粉粒扫描电镜观察 将即将开花的颖花若干粒用剪子取下, 迅速保存在FAA(甲醛-醋酸-乙醇)

固定液中固定并抽真空, 立即放入0~4 ℃的冰箱内固定20 h以上. 然后用镊子将颖果从FAA固定液中取出, 经乙醇系列脱水, 脱水结束后样品自然干燥. 干燥后将内、外颖分开, 取出花药放在粘有两面胶的样品台上. 用镊子将花药撕开, 使花粉均匀分布在样品台上, 并编号. 然后经IB-13离子溅射仪喷镀金后, 于日立S-570扫描电镜下观察花粉粒表面特征并照相, 加速电压20 kV, 放大2 500倍.

1.3.2 盐碱胁迫下水稻花粉生活力测定 水稻花粉生活力测定分别采用花粉萌发率和I-KI染色^[7]两种方法: (1) 花粉萌发法: 选用20%蔗糖+10% PEG4000+40 mg/L硼酸+3 mmol/L硝酸钙+10 mL/L VB1的液体培养基. 将花粉粒接到该培养基中并置于27~28 ℃培养箱中培养1 h, 在光学显微镜下观察花粉萌发情况并计数. 花粉萌发率=花粉管伸长的花粉粒数/总花粉粒个数×100%. (2) I-KI染色法: 加入I-KI时, 发育良好的花粉因为淀粉大量累积而染色较深, 而败育花粉不能正常积累淀粉, 染色极浅或无色. 花粉生活力=染色较深花粉粒数/观察的花粉粒数总和×100%.

1.3.3 盐碱胁迫下水稻柱头对花粉的接受能力测定 真空去雄, 用对照水稻植株的花粉为各盐碱处理植株授粉, 每处理调查15穗, 每穗30粒, 连续2 d授粉, 记录去雄授粉后的结实率.

2 结果与分析

2.1 盐碱胁迫下水稻花粉表面的扫描特征

从水稻花粉表面的扫描特征(图1)看, 盐碱胁迫下花

表1 供试土壤化学性质
Table 1 Chemical properties of the soil used in the experiment

处理 Treatment	pH	电导率 Electrical conductivity (κ/dS m ⁻¹)	阳离子交换量 Cation exchange capacity (b/cmole kg ⁻¹)	交换性Na ⁺ Exchangeable sodium (b/cmole kg ⁻¹)	碱化度 Exchangeable sodium percentage (P/%)
SS ₀	6.92	0.32	24.50	0.59	2.41
SS ₁	8.31	0.58	22.68	3.10	13.67
SS ₂	8.85	0.50	21.84	5.65	25.67
SS ₃	9.04	0.69	18.96	8.02	42.30
SS ₄	9.22	0.65	19.14	10.17	53.13

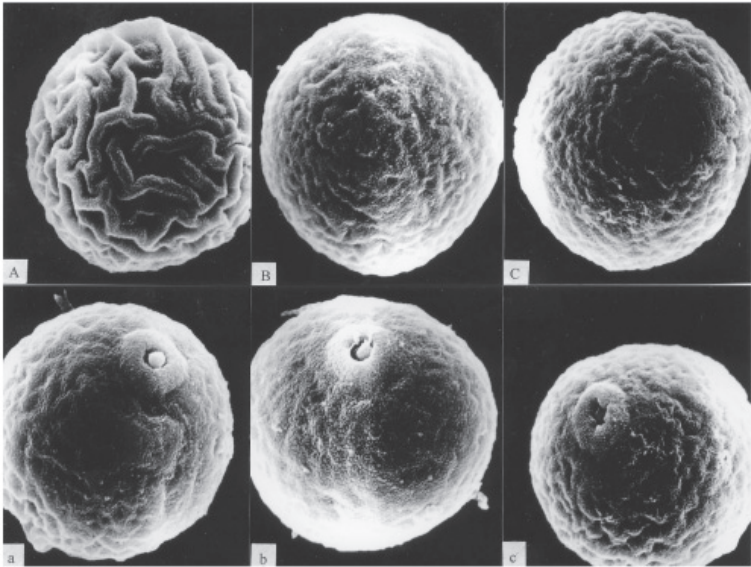


图1 盐碱胁迫下水稻花粉表面的扫描特征(品种‘吉农大10号’)

Fig.1 Rice pollen surface characteristics observed by electron microscopy (Jinongda 10)

A: SS₀处理花粉粒背面; B: SS₂处理花粉粒背面; C: SS₄处理花粉粒背面. a: SS₀处理花粉粒正面; b: SS₂处理花粉粒正面; c: SS₄处理花粉粒正面
A: Back of rice pollen surface in SS₀; B: Back of rice pollen surface in SS₂; C: Back of rice pollen surface in SS₄; a: Front of rice pollen surface in SS₀; b: Front of rice pollen surface in SS₂; c: Front of rice pollen surface in SS₄

粉粒表面的正面(有萌发孔的一面)和背面(背向萌发孔的一面)与对照存在明显不同. 对照(SS₀)花粉粒的背面(照片A)有较深的、呈网状突起的雕纹, 而盐碱胁迫处理(SS₂和SS₄)的凸凹程度较浅, 雕纹不明显, 表面相对平滑(照片B、C); 对照花粉粒的萌发孔(照片a)有孔环和孔盖, SS₂盐碱胁迫下球状体向内凹进, 也有孔环和孔盖(照片b), 而SS₄盐碱胁迫下只有孔环却没有孔盖(照片c). 萌发孔是花粉管萌发的起始点, 缺少孔盖的萌发孔的花粉粒可能引起花粉败育. 花粉背面网状雕纹明显, 增加了花粉的表面积, 利于花粉在柱头附着, 而盐碱胁迫下的光滑表面使花粉比较容易脱落. 水稻花粉形态特征的变化, 为盐碱胁迫对水稻生殖过程的影响提供了直观的实验证据, 其机理问题尚有待于深入研究.

2.2 盐碱胁迫对水稻花粉生活力的影响

花粉具有生活力是实现受精结实的前提. 胁迫条件常常会降低植物的花粉生活力. 鉴定水稻花粉生活力的方法有多种, 本实验采用离体花粉萌发和I-KI染色法鉴定花粉的生活力.

2.2.1 离体花粉萌发率 具有生活力的水稻花粉能在离体培养基上萌发, 因此花粉萌发率可以作为反映水稻花粉活力强弱的一个指标^[8]. 从表2可见, 随着盐碱胁迫的增强, 水稻花粉萌发率呈下降趋势, 表明水稻花粉生活力随盐碱胁迫的增强而减弱. 相同盐碱胁迫强度下, ‘吉优1号’和‘吉农大10号’品种间花粉萌发率差异不显著. ‘吉优1号’花粉萌发率在SS₄和SS₂处理分别比对照(SS₀)降低24.6%和13.8%; 而‘吉农大10号’花粉萌发率在SS₄和SS₂处理分别比对照(SS₀)降低34.4%和15.5%, 表明‘吉农大10号’花粉萌发对盐碱胁迫反应更为敏感.

表2 花粉萌发法测定盐碱胁迫下的水稻花粉生活力

Table 2 Rice pollen viability under salinity and sodicity stresses (ESP) measured by pollen germination

处理 Treatment	品种 Cultivar	
	吉优1号 Jiyou 1	吉农大10号 Jinongda 10
SS ₀	67.1a±9.8	65.9a±5.9
SS ₂	58.7ab±3.1	55.7abc±6.0
SS ₄	50.6bc±6.2	43.2c±4.3

$P < 0.05$

2.2.2 花粉I-KI可染率 表3显示, 水稻花粉I-KI可染率随盐碱胁迫的增强而降低. ‘吉优1号’花粉I-KI可染率在SS₄和SS₂处理分别比对照(SS₀)降低8.6%和5.9%; ‘吉农大10号’花粉I-KI可染率在SS₄和SS₂处理分别比对照(SS₀)降低5.9%和0.5%. 但统计分析表明, 同一品种不同盐碱胁迫强度间差异不显著, 相同盐碱胁迫在不同品种间差异也不显著. 鉴于花

表3 I-KI染色法测定盐碱胁迫下的花粉生活力

Table 3 Rice pollen viability under salinity and sodicity stress (ESP) measured by I-KI coloration of pollen

处理 Treatment	品种 Cultivar	
	吉优1号 Jiyou 1	吉农大10号 Jinongda 10
SS ₀	93.3a±4.5	94.3a±2.3
SS ₂	87.8a±7.7	93.8a±0.8
SS ₄	85.3a±3.2	88.7a±2.6

$P < 0.05$

粉I-KI可染率与离体花粉萌发率测定结果误差较大, 因此认为I-KI染色法不宜用于盐碱胁迫对水稻花粉生活力的影响研究.

值得注意的是, 本实验中水稻离体花粉萌发率测定结果与两个品种的测产结果(表4)并未表现为一致性, 其原因可能是尽管盐碱胁迫降低了花粉的萌发率, 但仍有足够有生活力的花粉用于授粉. 盐碱胁迫下水稻结实率下降的其它原因如灌浆期淀粉聚合酶活性等有待于进一步研究. 同时也说明应用花粉萌发率来评价品种的耐盐碱性是不够准确的.

表4 盐碱胁迫对水稻籽粒产量的影响

Table 4 Effect of salinity and sodicity stresses (ESP) on rice grain yield

处理 Treatment	吉优1号 Jiyou 1		吉农大10号 Jinongda 10	
	籽粒产量 Grain yield (m/g pot ⁻¹)	比对照降低 Decreased to control by (P/%)	籽粒产量 Grain yield (m/g pot ⁻¹)	比对照降低 Decreased to control by (P/%)
SS ₀	116.1±8.2	—	132.1±4.7	—
SS ₂	61.3±11.1	47.2	72.8±1.0	44.9
SS ₄	25.6±0.9	78.0	28.3±2.3	78.6

2.3 盐碱胁迫对水稻柱头接受花粉能力的影响

将各盐碱胁迫处理的植株去雄, 用对照正常植株的花粉为各处理的植株授粉(♀S×♂N), 所有处理的植株结实率与对照相比均表现下降, 但两个品种下降的比率不同(表5). ‘吉农大10号’各处理杂交组合的结实率比对照分别下降14.2%、33.1%、38.5%和48.2%; ‘吉优1号’各处理杂交组合的结实率比对照分别下降8.4%、24.5%、40.1%和49.0%. 杂交组合结实率可以很好地代表处理植株柱头对花粉的接受能力. 结果表明, 在轻、中度盐碱胁迫(SS₁、SS₂)下, ‘吉优1号’柱头对花粉的接受能力强于‘吉农大10号’, 而在重度盐碱胁迫(SS₃、SS₄)下, ‘吉农大10号’柱头对花粉的接受能力强于‘吉优1号’, 由此认为, 盐碱胁迫对结实的影响不完全与花粉生活力有关, 还与柱头对花粉的接受能力有关, 盐碱胁迫下水稻柱头对有萌发力的花粉的接受程度随胁迫强度的增大而降低, 因此可以说柱头对花粉的接受能力对结实具有重要意义. 值得注意的是, 在研究盐碱胁迫下柱头对花粉的接受能力时, 首先要确定适度的盐碱胁迫强度范围.

表5 盐碱胁迫下水稻去雄授粉后的结实率(r/%)

Table 5 Effect of salinity and sodicity stresses (ESP) on seed setting rate (r/%) of rice pollinated by control plants

杂交组合 Cross group	吉优1号 Jiyou 1		吉农大10号 Jinongda 10	
	去雄授粉后 的结实率 Seed setting rate	与对照杂交 组合相比的 结实率 Seed setting rate to control	去雄授粉后 的结实率 Seed setting rate	与对照杂交组合 相比的结实率 Seed setting rate to control
SS ₀ ×SS ₀	52.7±11.2	100	62.4±9.2	100
SS ₁ ×SS ₀	48.3±10.3	91.6	53.6±8.6	85.8
SS ₂ ×SS ₀	39.8±9.8	75.5	41.8±10.7	66.9
SS ₃ ×SS ₀	31.6±12.3	59.9	38.4±8.2	61.5
SS ₄ ×SS ₀	26.9±7.2	51.0	32.1±9.4	51.4

去雄授粉后的结实率为15穗的平均值(±S.E.M) Seed setting rate of rice pollinated after castration is the mean of 15 spikes

3 结论

盐碱胁迫是农业生产中的一种主要非生物胁迫类型^[9]。盐碱胁迫对植物营养生长、代谢过程、产量影响已有不少研究^[10-13]，但缺乏盐碱胁迫下植物生殖生理方面的信息。Abdullah 观察到水稻在盐胁迫下花器官 Na⁺ 含量增加，而 K⁺ 含量降低^[14]。陈安和报道了高温处理对杂交水稻花粉形态和生活力存在影响^[1]。徐海波等研究认为，温度胁迫处理后花粉在培养基上的萌发率、柱头上的萌发率及柱头上的花粉数可以用来衡量高温胁迫后水稻花粉的育性，而 I-KI 可染率难以真实反映水稻花粉的育性^[15]。本研究结果表明，盐碱胁迫下水稻花粉的扫描特征发生了变化，水稻花粉生活力随盐碱胁迫的增强而降低，离体花粉在培养基上的萌发率呈下降趋势。盐碱胁迫下水稻柱头对有萌发力的花粉的接受程度随胁迫强度的增大而降低，因此认为柱头对花粉的接受能力对结实具有重要意义。水稻花粉的 I-KI 可染率在盐碱胁迫和高温胁迫下的研究结果类似，在研究盐碱胁迫对水稻花粉生活力的影响时不推荐使用 I-KI 染色法。盐碱胁迫下水稻花粉扫描特征变化与生殖生理过程相关性及其内在机理问题尚有待深入研究。

References

- 1 Chen AH (陈安和). Observation of pollen shaps of hybrid rice cultivar under high temperature with scanning E. M. *J Yuzhou Univ Nat Sci* (渝州大学学报自然科学版), 1990, **1**: 32~38
- 2 Zhang B (张彬), Rui WY (芮雯奕), Zheng JC (郑建初), Zhou B (周博), Yang F (杨飞), Zhang WJ (张卫建). Responses of pollen activity and seed setting of rice to high temperature of heading period. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, **33** (7): 1177~1181
- 3 Tang RS (汤日圣), Zheng JC (郑建初), Zhang DD (张大栋), Jin ZQ (金之庆), ChenLG (陈留根), Huang YH (黄益洪), Shi CL (石春林), Ge DK (葛道阔). Effects of high temperatures on pollen vitality and seed setting of different rice varieties. *Jiangsu J Agric Sci* (江苏农业学报), 2006, **22** (4): 369~373
- 4 Li ZX (李训贞), Liang MZ (梁满中), Zhou GQ (周广洽), Chen LB (陈良碧). Effect of environment condition on pollen vigor and seed set during flowing time of rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2002, **28** (3): 417~420
- 5 Wang Z (王忠), Lu HC (陆汉超), Gu YJ (顾蕴洁), Gao YZ (高煜珠). Temperature of ear-storing on flower-opening and pollen viabilities of rice. *J Jiangsu Agric Coll* (江苏农学院学报), 1993, **14** (1): 17~20
- 6 Liang ZW (梁正伟), Yang F (杨福), Wang ZC (王志春), Chen Y (陈渊). Effect of the main growth characteristics of rice under saline-alkali stress. *Ecol & Environ* (生态环境), 2004, **13** (1): 43~46
- 7 Biology Department of East China Normal University (华东师范大学生物系). *Experimental Manual of Plant Physiology*. Beijing, China (北京): People's Education Press, 1980
- 8 Zhang GL (张桂莲), Chen LY (陈立云), Zhang ST (张顺堂), Liu GH (刘国华), Tang YB (唐文邦), Li MH (李梅华), Lei DY (雷东阳), Chen XB (陈信波). Effects of high temperature stress on pollen characters and anther microstructure of rice. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2008, **28** (3): 1089~1097
- 9 Zhu J. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*, 2001, **6** (2): 66~71
- 10 Grieve CM, Poss JA, Donovan TJ, Francois LE. Salinity effect on growth, leaf-ion content and seed production of *Lesquerella fendleri* (Gray) S. Wats. *Ind Crops & Prod*, 1997, **7**: 69~76
- 11 Li JH (李加宏), Yu RP (俞仁培). Salt uptake of crops and the prediction of salt injuries to crops. *Acta Pedol Sin* (土壤学报), 1998, **35** (3): 352~358
- 12 Wang D, Shannon MC. Emergence and seedling growth of soybean cultivars and maturity groups under salinity. *Plant & Soil*, 1999, **214**: 117~124
- 13 Essa TA. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. *J Agron & Crop Sci*, 2002, **188**: 86~93
- 14 Abdullah Z, Khan MA, Flowers TJ. Causes of sterility in seed set of rice under salinity stress. *J Agron & Crop Sci*, 2001, **187**: 25~32
- 15 Xu HB (徐海波), Wang GM (王光明), Wei M (隗溟), Zhou WB (周文彪). Correlation analysis of the characters of pollen grains and seed setting of rice under high temperature of stress. *J Southeast Agric Uni* (西南农业大学学报), 2001, **23** (3): 205~207