

两个亚种间杂交稻组合的根系生理活性

沈波^{1,2} 王熹²

(¹杭州师范学院 生物科学系, 浙江 杭州 310036; ²中国水稻研究所 农业部水稻生物学重点实验室, 浙江 杭州 310006)

Physiological Activities of Root System in Two Inter-subspecific Hybrid Rice Combinations

SHEN Bo^{1,2}, WANG Xi²

(¹Department of Biological Science, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China; ²Key Laboratory for Rice Biology, Ministry of Agriculture, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China)

Abstract: Inter-subspecific hybrid rice Ⅱ you 2070, Ⅱ you 419 and their restorer lines 2070 and Zhong 419 were used to analyze root system growth, root exudates and amount of root-produced cytokinins during different growth stages. Results showed that hybrid rice combinations had root growth heterosis and strong root exudates, with higher zeatin content and total amount of cytokinins in root exudates than those of their restorer lines. Strong root activity in hybrid rice combinations was related to slow decrement in zeatin content and total amount of cytokinins.

Key words: inter-subspecific hybrid rice; root system; root exudates; cytokinin

摘要:以亚种间杂交组合 Ⅱ 优 2070 及恢复系 2070、Ⅱ 优 419 及恢复系中 419 为材料,分析测定了在不同生育期水稻的根系生长、伤流液量及根源细胞分裂素含量的变化情况,结果表明亚种间杂交组合具有根系生长优势和较强的伤流强度,根系伤流液中玉米素及细胞分裂素总量高于恢复系,杂交组合根系活力强,与玉米素及细胞分裂素总量下降缓慢有关。

关键词:亚种间杂交稻; 根系; 伤流液; 细胞分裂素

中图分类号: Q945.173; S311

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2002)02-0146-05

随着籼粳亚种间杂交稻研究的发展以及生产实践的需要,根系生理研究日益重要,成为当前稻作研究的热点之一。根系活力作为水稻根系生理的重要内容,它的强弱直接影响到地上部分生长发育及产量的构成,尤其是在籽粒灌浆期间根系活力对籽粒充实至关重要^[1~5]。由于观察和取样的困难,人们对水稻根系的认识总是滞后于对地上部的研究和了解^[6,7],对籼粳亚种间杂交稻根系活力的阐述更是较少涉及^[8,9]。本文以两个亚种间杂交稻组合为例,从多个方面研究籼粳亚种间杂交稻的根系生理变化,为籼粳亚种间杂交稻的推广和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试水稻材料为籼粳亚种间杂交组合 Ⅱ 优 2070、Ⅱ 优 419 和它们的恢复系 2070、中 419。大田小区试验于 1998、1999 年在中国水稻研究所试验区进行,小区面积 2 m×4 m,重复 4 次,单本插,常规田间管理。

1.2 根系生长的考察

于移栽时将去底的大塑料桶埋入大田中,Ⅱ 优

2070、2070 移栽苗播种于此桶中,分别在最高分蘖期、幼穗分化期、开花期、乳熟期、黄熟期挖出桶中稻株,小心地洗去泥土,将根分 0~10 cm 和 10~20 cm 两段剪取,烘干后称重。

1.3 伤流液的收集

在水稻生长的始穗期、开花期、乳熟期和黄熟期,选取长势一致的稻株 16~20 丛,下午 3 时在离地面 10 cm 处剪去地上部,套上内装有脱脂棉的已称重的指形袋,第 2 天上午 8 时收集指形袋并称量,然后抽滤获得伤流液,−30℃低温下保存,用于细胞分裂素类物质的测定分析。

1.4 伤流液中细胞分裂素的提取纯化

依据丁静^[10]和沈镇德^[11]的方法进行,略有改动。

1.5 伤流液中细胞分裂素(CTK)的测定

采用高压液相色谱方法(HPLC)测定细胞分裂

收稿日期:2001-12-06;修改稿收到日期:2002-01-28。

基金项目:浙江省“九五”重点攻关项目;杭州市新世纪人才工程培养基金资助项目;杭州师范学院科研基金资助项目。

第一作者简介:沈波(1965—),男,博士,副研究员。

素的含量,仪器为 HP1100 化学工作站,色谱柱为 HP 公司的 ODS C-18 柱,柱长 12.5 mm×4.6 mm, DAD 检测器检测,波长 270 nm,测定条件为:(1)流动相比例:甲醇 60%,水(含 0.2%磷酸)40%,进样量 10 μ L,流动相流量:0.6~0.9 mL/min(0~3 min),0.9 mL/min(3~10 min),停止时间:10 min,此条件用于测定玉米素(Z)、二氢玉米素(diHZ)、二氢玉米素核苷(diHZR)和反式玉米素葡萄糖苷(ZG)。(2)流动相比例:甲醇 90%,水(含 0.7%高氯乙酸)10%,进样量 10 μ L,流动相流量:0.8 mL/min,停止时间:8 min,此条件用于测定异戊烯基腺嘌呤(iP)和异戊烯基核糖基嘌呤(iPA)。

2 结果与分析

2.1 根系的生长状态

以 II 优 2070 及 2070 为材料进行大田无底塑料桶盆栽试验,观察其根系的生长状态。从图 1 可知,II 优 2070、2070 根系干重增长在营养生长期的表现基本一致,不同之处主要在于生殖生长期,II 优 2070 根重的增长保持一定的速度,在乳熟期达到高峰,其后快速下降,幅度很大,而恢复系 2070 根重的下降很早,自幼穗分化期后即表现出根重增长的缓慢减退。根据不同层次根系干重的变化(图 2),可认为稻株的根系以 0~10 cm 的浅层根系为主,数量和干物重要远大于 10~20 cm 深层根系,显示出其在

水稻根系中的主要作用,而变化趋势与总根重的变化一致;对于 10~20 cm 深层根系,其变化起伏不大。另外,在大田伤流液取样的同时,我们也进行了稻株根系生长的考察,其结果与大田无底塑料桶盆栽试验的基本相同。

2.2 根系伤流液量的研究

2.2.1 根系伤流的昼夜节律

图 3 显示了 II 优 2070 及恢复系 2070、II 优 419 及恢复系中 419 在不同生育期切去地上部后连续数天中每 12 h(指每天的 18:00~6:00 和 6:00~18:00)伤流量的变化,从中可以看到:(1)每个品种在切除地上部后的连续 4 d 中仍有相当量的伤流液产生,说明根系伤流的产生有一定的自主性,能独立于地上部。(2)从昼夜节律来看,夜晚的伤流量要高于白天的伤流量,连续数天的测定皆如此,但随着时间的延长,这种差异逐渐减少。(3)从昼夜伤流量来看,亚种间杂交稻伤流量的产生能力在不同生育期均明显强于恢复系,而且随时间推移,其伤流量值的衰减程度也小于恢复系。

2.2.2 始穗后根系伤流强度的变化

在考察了根系伤流昼夜变化之后,我们对始穗后 4 个品种(组合)的根系伤流强度的变化作了系统观察。从图 4 可以看出,亚种间杂交组合与其恢复系的根系伤流强度差异很大,II 优 2070 和 II 优 419 具有较高的伤流液量,其单株伤流液量均高于 2070 和中 419,如 II 优 2070 始穗期的伤流量为 2.25 g,高于 2070 的 1.60 g,II 优 419 为 2.64 g,高于同期中 419 的 2.20 g;而乳熟期时 II 优 2070 和 II 优 419 的

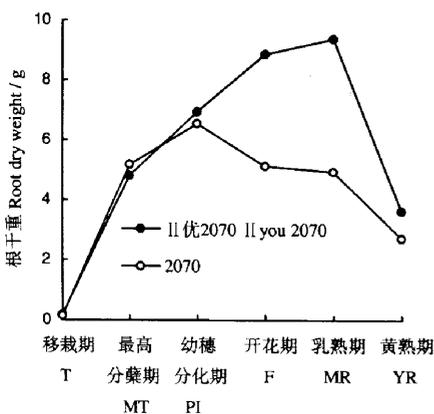


图 1 水稻根系干重的变化动态

Fig. 1. Changes of rice root dry weight.

T—Transplanting stage; MT—Maximum tillering stage; PI—Panicle initiation stage; F—Flowering stage; MR—Milk ripening stage; YR—Yellow ripening stage. The same as in Fig. 2.

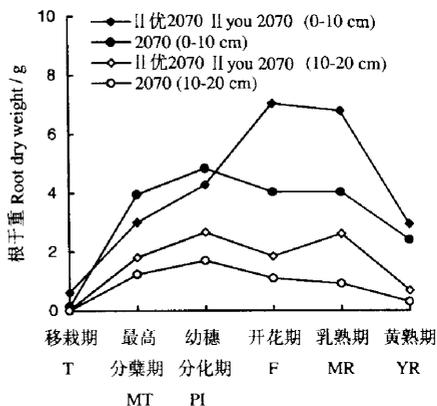


图 2 水稻不同层次根系干重的变化

Fig. 2. Changes of root dry weight at different levels in rice.

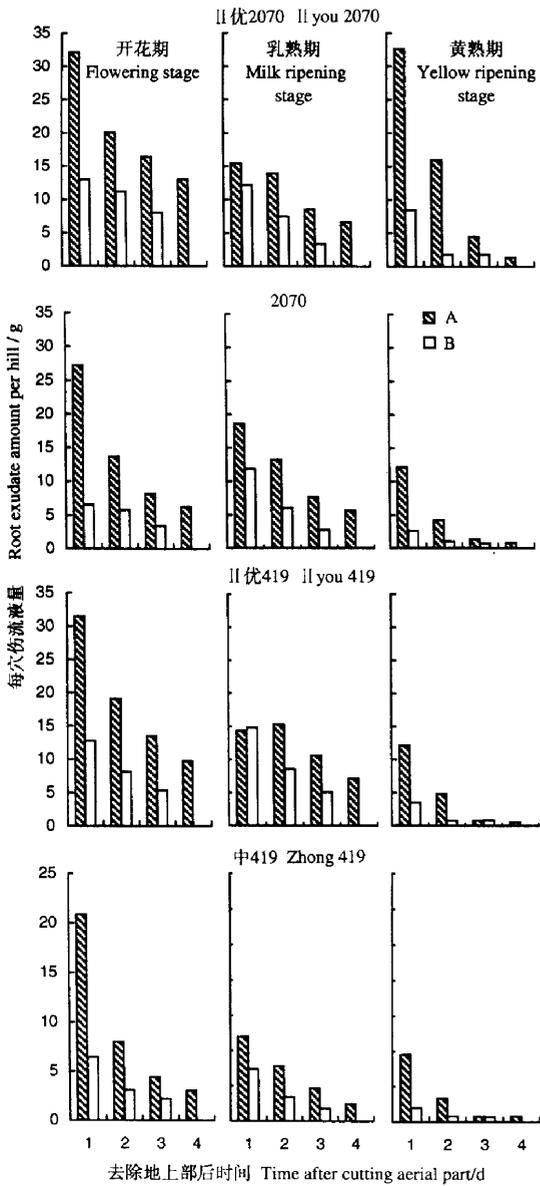


图 3 稻株根系伤流液量的昼夜变化

Fig. 3. Diurnal changes of root exudates in rice.

A—第 1 天 18:00 至第 2 天 6:00; B—第 2 天 6:00 至 18:00。
A—From 18:00 to 6:00; B—From 6:00 to 18:00.

伤流量分别比各自的恢复系 2070 和中 419 高 57.5% 和 20.9%，反映出亚种间杂交组合的根系活力高于恢复系。此外，从变化趋势看，II 优 2070 和 II 优 419 两组合自始穗至始穗后 14 d (乳熟期)，伤流量有一定程度的增加，保持较高的伤流水平，而始穗

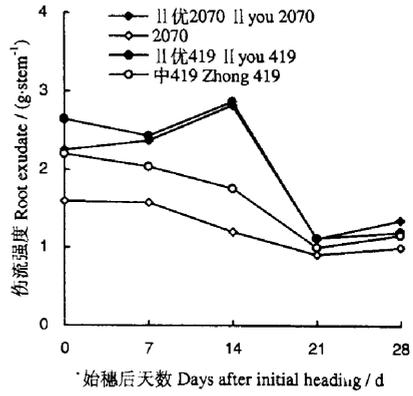


图 4 水稻根系在结熟期伤流液量的变化

Fig. 4. Changes of root exudates in rice after initial heading.

后 14 d (乳熟期) 后，伤流量急剧下降，II 优 2070 和 II 优 419 分别下降了 60.5% 和 60.9%，可见亚种间杂交组合根系活力在始穗后 14 d 开始急剧衰退。

2.3 根系伤流液中的细胞分裂素

按前述“材料与方法”中的试验条件我们建立了根系伤流液细胞分裂素的高效液相色谱分析方法，经多次测试，样品之间差异甚小，重现性较好。在此 HPLC 试验条件下，根据标准品的保留时间，判明所试水稻品种 (组合) 根系伤流液中存在玉米素 (Z)、脱氢玉米素 (diHZ)、脱氢玉米素核苷 (diHZR) 和异戊烯核糖基嘌呤 (iP 和 iPA，两者不能区分) 4 种细胞分裂素，未检测到反式玉米素葡萄糖苷 (ZG)。经计算细胞分裂素的回收率分别为：ZR, 71%；Z, 60.8%；diHZ, 65.2%；diHZR, 92.8%；IP + IPA, 81.3%。

通过对伤流液中细胞分裂素的分析 (表 1, 表 2)，可以看到：(1) 在始穗期，4 个品种 (组合) 的玉米素浓度值范围为 26.05~29.27 pmol/L，明显高于其余生育期。II 优 2070 在始穗后 7 d (开花期) 玉米素的浓度可增加到 30.22 pmol/L，是 2070 的 24 倍，II 优 419 此时是其恢复系的 3.5 倍；其后玉米素的浓度大幅度下降，至黄熟期 (始穗后 25~28 d) 时，II 优 2070 玉米素的浓度仅为 1.17 pmol/L，而 II 优 419 伤流液中已检测不到其含量。玉米素的这种变化趋势是与根系生长、衰老的进程基本一致的，说明玉米素是维持根系生理活性的主要细胞分裂素。(2) 组合及恢复系的根源细胞分裂素的总浓度随生育进程而逐渐下降，这种下降的主导因素是玉米素。

表 1 水稻根系伤流液中玉米素的浓度变化

Table 1. Changes of zeatin concentration in rice root exudates.

组合及其恢复系 Combination and its restorer line	始穗后天数 Days after initial heading/d					
	0	7	14	21	25	28
Ⅱ 优 2070 Ⅱ you 2070	26.05±3.97	30.22±4.25	2.91±0.86	2.68±2.01		1.17±0.92
2070	29.56±2.18	1.24±0.43	2.35±0.33	4.22±2.39		3.45±1.74
Ⅱ 优 419 Ⅱ you 419	29.27±2.23	7.87±2.46	2.30±1.35		nd	
中 419 Zhong 419	28.97±4.81	2.28±0.61	5.68±2.88		1.51±1.14	
nd—未检测到。 nd—Not detected.						

表 2 水稻根系伤流液中细胞分裂素的浓度变化

Table 2. Changes of CTKs concentration in rice root exudates.

组合及其恢复系 Combination and its restorer line	始穗后天数 Days after initial heading/d					
	0	7	14	21	25	28
Ⅱ 优 2070 Ⅱ you 2070	41.46±3.54	36.65±5.31	8.94±1.26	15.43±3.11		61.56±10.29
2070	39.05±4.35	6.55±1.72	6.65±1.87	10.94±1.59		23.24±7.25
Ⅱ 优 419 Ⅱ you 419	49.72±8.31	24.16±2.74	34.76±7.17		33.42±8.42	
中 419 Zhong 419	32.53±2.65	7.21±1.03	23.46±4.30		11.04±4.66	

恢复系根源细胞分裂素浓度在始穗后 7 d 明显下降,仅为始穗期的 16.8% (2070) 和 22.2% (中 419),而组合在始穗后 14 d 时才开始下降,始穗后 7 d 下降较少,其总量为始穗时的 88.4% (Ⅱ 优 2070) 和 48.6% (Ⅱ 优 419)。(3) 灌浆后期细胞分裂素总量的上升主要归因于 diHZR 等的上升,这与品种(组合)始穗后根源细胞分裂素种类的变化动态有关(资料将另文发表)。可以认为根系伤流液中含有的细胞分裂素的种类与数量的变化是反映根系活力的重要指标。杂交组合根系伤流液中细胞分裂素总量及玉米素含量高于恢复系,杂交组合根系活力强,与细胞分裂素总量及玉米素含量下降缓慢有关。

3 讨论

生育后期是水稻功能叶、根系生理功能由旺盛逐渐衰退的时期,也是水稻籽粒充实、产量形成的关键时期,为此许多学者开始日益注重根系生长及活力的变化,研究了水稻不同节位的根系对产量形成的不同作用^[2]、灌浆期根系活力与地上部叶片的生理活性的关系^[1,4]、温度对水稻根系生长发育及根部细胞分裂素活性变化的影响^[8,12]。王余龙^[13]提出了颖花根活量的概念,用于描述根重活力与结实率的相互关系。Yoshida、Murofushi 等^[14~16]的试验表明水稻根系能合成 4 种玉米素类化合物,但这些细胞分裂素的流量在抽穗至收获期是不同的^[17]。杨建昌等^[5,18]则讨论了水稻结实期籽粒和根系中玉米素与玉米素核苷含量的变化及其与籽粒充实的关系。这

些研究在丰富和加深了人们对水稻根系生理的认识水平的同时,也在为地上部籽粒灌浆生理研究寻求新的理念,但相关研究报道仍很缺乏,尤其是籼粳亚种间杂交稻。

通过本项研究,我们认为两个亚种间杂交组合比恢复系具有明显的根系生理活性优势,这种优势主要表现在:(1)相应的恢复系在幼穗分化期根系生长就趋向减退,而亚种间杂交组合是在乳熟期才开始下降。这种根系生长的优势主要集中反应在 0~10 cm 的浅层根系的生长量上。(2)根系伤流液强度是反应根系活力的一个很好的指标,本项研究表明供试亚种间杂交稻组合不仅具有较强的伤流强度,而且伤流强度下降较晚,组合不似恢复系在花后根系伤流就日渐下降,而在乳熟期才表现出下降趋势,说明组合根系活力在花后能维持较高水平至乳熟阶段,这一变化趋势与光合速率、叶绿素含量及绿叶面积等地上部生理指标在灌浆期间的变化趋势是一致的^[4],此时正是亚种间杂交稻发挥强大的库容优势,进行物质生产的重要时期。(3)根系伤流液中的细胞分裂素能较好地反映根系生理状况,我们不仅看到杂交组合根系伤流液中玉米素及细胞分裂素总量高于恢复系,而且比之相应的恢复系,组合中玉米素及细胞分裂素总量下降缓慢。

参考文献:

- 1 Liang J S(梁建生), Cao X Z(曹显祖). Studies on the relationship between several physiological characteristics of leaf and

- bleeding rate of roots in hybrid rice. *J Jiangsu Agric Coll* (江苏农学院学报), 1993, 14(4): 25—30. (in Chinese with English abstract)
- 2 Ling Q H(凌启鸿), Ling L(凌 励). Studies on the function of roots at different node positions and their relation to the yield formation in rice plants. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1984, (5): 3—11. (in Chinese with English abstract)
 - 3 Huang N R(黄农荣), Zhang X(张 旭). The relationships between root activities and above on the ground of indica rices. *J Tropical & Subtropical Bot* (热带与亚热带植物学报), (Suppl II): 37—43. (in Chinese with English abstract)
 - 4 Shen B(沈 波), Wang X(王 熹). Changes of root exudates of indica-japonica hybrid rice and its relation to leaf physiological traits. *Chinese J Rice Sci* (中国水稻科学), 2000, 14(2): 122—124. (in Chinese with English abstract)
 - 5 Yang J C(杨建昌), Peng S B(彭少兵), Gu S L(顾世梁), *et al.* Changes in zeatin and zeatin riboside content in rice grains and roots during grain filling and the relationship to grain plumpness. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2001, 27(1): 35—42. (in Chinese with English abstract)
 - 6 Pan X H(潘晓华), Wang Y R(王永锐), Fu J R(傅家瑞). Advance in the study on the growth physiology in rice of root system (*Oryza sativa*). *Chinese Bull Bot* (植物学通报), 1996, 13(2): 13—20. (in Chinese)
 - 7 He F L(何芳祿), Wang M Q(王明全). Growth physiology in rice of root system. *Plant Physiol Comm* (植物生理学通讯), 1980, (3): 21—26. (in Chinese)
 - 8 Wu Y X(吴岳轩), Wu Z Q(吴振球). Effect of soil temperature on root growth and metabolic activity of inter-subspecific hybrid rice. *J Hunan Agric Coll* (湖南农学院学报), 1995, 21(3): 218—224. (in Chinese with English abstract)
 - 9 Wu Y X(吴岳轩), Wu Z Q(吴振球). Effect of sowing date on the morphological development and physiological activities of the root system of intersubspecific hybrid rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1996, 22(2): 178—183. (in Chinese with English abstract)
 - 10 Ding J(丁 静), Shen Z D(沈镇德). Cytokinins in root exudates of cotton plants. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 1985, 11(3): 249—259. (in Chinese with English abstract)
 - 11 Shen Z D(沈镇德), Shao D S(邵大森), Ding J(丁 静). The application of high performance liquid chromatography to the analysis of cytokinins. *Plant Physiol Comm* (植物生理学通讯), 1984, (5): 45—48. (in Chinese with English abstract)
 - 12 Buu R H(卜瑞雄), Chu C(朱 钧). Effect of temperature on the tillering and the endogenous cytokinin activities in rice roots. *J Agric Assoc China* (中华农学会报), 1983, 123: 1—12. (in Chinese with English abstract)
 - 13 Wang Y L(王余龙), Cai J Z(蔡建中), He J S(何杰升), *et al.* The relationships between spikelet-root-activity and grain filling and ripening in rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1992, 18(2): 81—88. (in Chinese with English abstract)
 - 14 Yoshida R, Oritani T. Kinetin-like factors in the root exudate of rice plant. *Plant Cell Physiol*, 1983, 24(1): 87—92.
 - 15 Murofushi N, Inoue A, Watanabe N, *et al.* Identification of cytokinins in root exudates of the rice plant. *Plant Cell Physiol*. 1985, 24(1): 87—92.
 - 16 Yoshida R, Uritani T. Cytokinin glucoside in roots of the rice plant. *Plant Cell Physiol*, 1972, 13: 337—343.
 - 17 Soejima H, Sugiyama T, Ishihara K. Changes in cytokinin activity and mass spectrometric analysis of cytokinins in root exudates of rice plant. *Plant Physiol*, 1992, 100: 1724—1729.
 - 18 Yang J, Peng S, Visperas R M, *et al.* Grain filling pattern and cytokinin content in the grains and roots of rice plants. *Plant Growth Regulation*, 2000, 30(3): 261—270.