第 31 卷 第 4 期 华 中 农 业 大 学 学 报 Vol. 31 No. 4
2012 年 8 月 Journal of Huazhong Agricultural University Aug. 2012,410～413

水稻冠根数目多样性与生长素的关系

陈 雅 包 亮 王利凯 赵 磊 余四斌 须 健

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室,武汉 430070

摘要 采用改进的水稻根系鉴定体系考察 42 个生态型水稻的冠根数目,发现水稻冠根数目存在多样性;从中选择 2 个冠根数目极端多和 2 个冠根数目极端少的生态型,利用定点施加生长素极性运输抑制剂 NPA,以冠根数目为指标,分析冠根数目不同的生态型对 NPA 的敏感性,发现 NPA 处理导致冠根数目减少。在低浓度 NPA 处理时,冠根数目多的品种比冠根数目少的品种对 NPA 更敏感;在高浓度 NPA 处理时,不同生态型水稻冠根数目趋于接近。说明在不同根系类型的水稻中,生长素对冠根数目都有着重要的影响。

关键词 水稻根系多样性; 核心种质资源; 冠根; 生长素;1-萘氨甲酰苯甲酸(NPA)

中图分类号 S 511.502.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2012)04-0410-04

植物的根系分为须根系和直根系。水稻作为单子叶模式植物,它的根系系统属于须根系。在水稻根系发育的早期,其根系的形态主要由一条较长的初生根和几条较短的冠根组成,到了水稻根系发育的后期,由于水稻初生根停止生长和逐渐退化,加之冠根数目的不断增多和伸长,水稻的根系就会呈现出由冠根组成的须根系系统[1]。

根是水稻的重要器官,水稻的根系对其水分和营养的吸收有着重要的作用。例如发达的深层根可以让水稻在干旱季节吸收土壤中位于更深层的地下水,使水稻躲避干旱环境的逆境胁迫[2-4]。水稻根系还参与营养信号的反应:在营养缺乏的环境中水稻可通过改变各种根系参数,如增加根系的表面积,使根接触到更多的营养[5-7]。因此,研究水稻的根系对改良水稻对水分和营养的吸收有着极其重要的意义[1]。

水稻具有丰富的遗传多样性。目前仅国际水稻所就保存约 10 万份种质资源,我国也保存有 7 万多份种质资源;这些遗传多样性是和水稻长期的生长环境和人为选择相适应的[8],与之对应的是根系形态的多样性。在冠根发育的过程中,IAA 对水稻冠根(由于水稻根系主要由冠根组成,所以在本文中使用冠根这一指标来描述水稻根系遗传多样性)数目起着重要作用[9-11],但目前关于不同品种水稻对 IAA 的敏感性的报道很少。本研究以 42 份水稻品种资源为试验材料,对根系遗传多样性进行鉴定,并且对冠根数目极端品种与 IAA 的敏感性的关系进行探讨。

1 材料与方法

1.1 水稻材料

供试材料包括华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室余四斌教授保存的水稻核心种质资源 42 份,由上海市农业生物基因中心罗利军教授提供的干旱敏感性水稻珍汕 97(Zhengshan 97)和抗旱性水稻 IRAT109 及由华中农业大学生命科学技术学院赵毓副教授提供中花 11 背景的 DR5∷GUS[12]。

1.2 培养基

基本培养基为 1/2 MS(duchafa),添加 10 g/L 蔗糖(国药)、0.5 g/L MES (duchafa)、10 g/L 琼脂(duchafa)。pH 值为 5.8,配置并灭菌后倾倒在 13 cm×13 cm 方形塑料透明培养皿上。

1.3 种子灭菌及幼苗生长

水稻种子去皮,分装在 10 mL 离心管中,加入适量 75%乙醇摇晃 1 min,弃去乙醇,加入 $HgCl_2$ 摇晃 20 min,弃去 $HgCl_2$,使用灭菌水清洗 3～5 次。

收稿日期: 2011-05-11

基金项目: 国家基础科学与人才培养基金项目(J0730649)和华中农业大学科研启动费(52204-00701)

陈 雅,硕士研究生. 研究方向:水稻根系发育. E-mail: yaya5chen@yahoo.com.cn

通讯作者: 须 健,博士,教授. 研究方向: 植物根系细胞发育生物学、植物干细胞生物学. E-mail: jxu@mail.hzau.edu.cn

将灭过菌的水稻种子横向摆放在含有基本培养基的方形塑料上，每皿 4 粒水稻种子。将培养皿封口后竖直放置，并向后倾斜约 20°使根系能紧贴培养基生长。培养生长温度为 28 ℃，$t_{光照}$ ∶ $t_{黑暗}$ =16 h∶8 h。

1.4 水稻核心种质库冠根多样性考察

42 份水稻核心种质资源种子生长 7 d 后，统计冠根数目。

1.5 不同水稻冠根数目与生长素关系研究

用不同浓度生长素极性运输抑制剂 NPA 定点处理来分析冠根数目不同的生态型对 NPA 的敏感性。IRAT109（ZH5）、珍汕 97（ZS97）、BL8、BL34 生长 48 h 后，在 0.8%琼脂糖添加 NPA（duchafa），配置 NPA 终浓度梯度为 0、1、10、100 μmol/L 的培养基，将这些培养基滴加在水稻幼苗根茎交界处，使其固化在根茎交界处。5 d 后，统计冠根数目。

1.6 NPA 处理与生长素在根茎交界处积累的关系

DR5∷GUS 的表达模式可以指示出生长素在植物体内的积累模式[12]，所以可以通过根茎交界处的 GUS 积累判断生长素的积累模式。通过 GUS 染液染色后切开中花 11（DR5∷GUS）根茎交界处的方法观察 GUS 的积累。中花 11（DR5∷GUS）生长 24 h 后，在 0.8%琼脂糖添加 NPA（duchafa），配置 NPA 终浓度梯度为 0、1、10、100 μmol/L 的培养基，将这些培养基滴加在水稻幼苗根茎交界处，使其固化在根茎交界处。20 h 后抽真空 5 min，GUS 室温染色 20 min。5 d 后，统计冠根数目。

2 结果与分析

2.1 水稻冠根遗传多样性

对 42 份核心种质资源进行水稻冠根数目统计，发现不同品种水稻发育早期冠根数目存在很大变异，冠根平均数目为 2～12，同一生态型水稻冠根数目变异很小。我们将不同生态型水稻的根系分为 3 个类型：冠根数目极端少（平均冠根数目在 6 以下），如 BL8、IRAT109；冠根数目极端多（平均冠根数目在 10 以上），如 BL34、珍汕 97；冠根数目居中（平均冠根数目在 6～10 之间），如 BL21、BL52。经过 2 次重复，对试验结果进行相关性分析，结果 $r=0.728$，$P<0.01$，表明此试验系统拥有较好的可重复性。

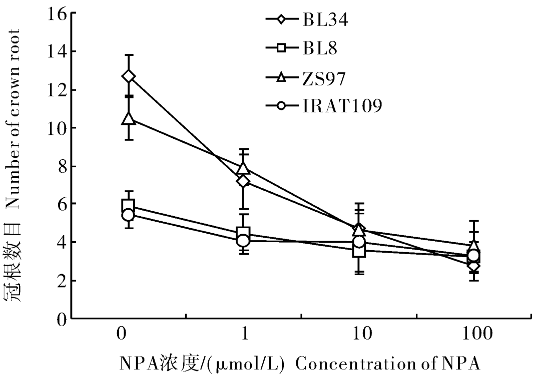

图 1 NPA 处理后冠根数目变化

Fig.1 Crown root number after NPA treatment

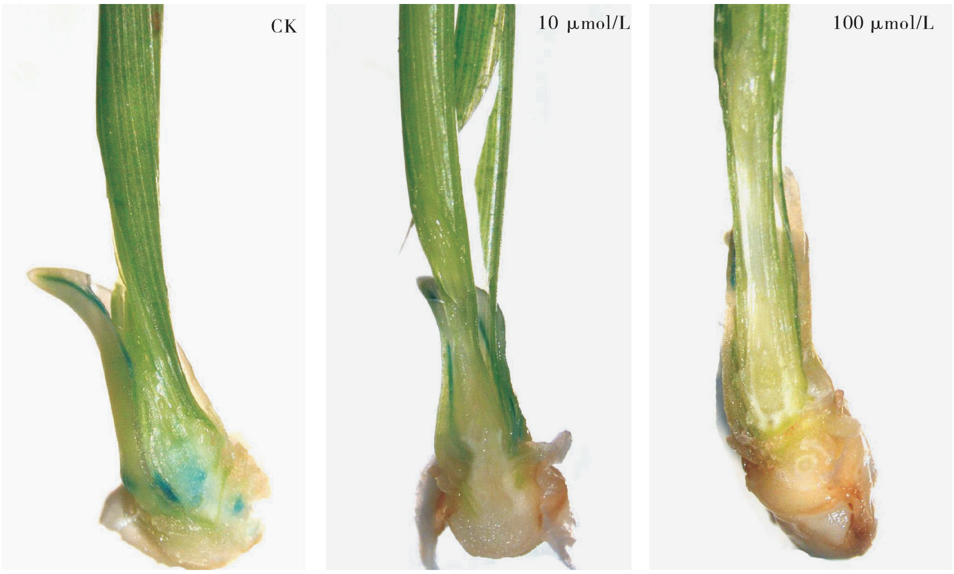

图 2 NPA 处理后中花 11 冠根数目变化

Fig.2 Crown root number of Zhonghua11 after NPA treatment at the shoot-root junction

2.2 不同水稻冠根数目对 NPA 的敏感性

从42份核心种质资源中，挑取冠根数目极端少和极端多的材料各2份，分别为：IRAT109(ZH5)、珍汕97(ZS97)、BL34、BL8，发现 NPA 处理使不同冠根数目生态型的冠根数目减少，而且随着 NPA 浓度增加冠根数目随之下降；随着 NPA 处理浓度的提高，冠根数目多的品种下降的幅度比数目少的品种要快，表明对于 NPA 的处理，冠根数目多的品种比冠根数目少的品种敏感；在 100 μmol/L NPA 处理时所有品种的冠根数目趋向一致(图1)。

2.3 NPA 处理根茎交界处与冠根数目的影响

研究表明：经不同浓度 NPA 处理 20 h 后，使用不含 NPA 的琼脂糖处理的对照染色 20 min 即有强烈的 GUS 表达；用 10 μmol/L 处理的对照，染色 20 min，仅观察到微弱的 GUS 表达；用 100 μmol/L 处理的对照，染色 20 min，观察不到 GUS 积累(图2)。同时通过分析生长 7 d 的中花 11 冠根数目发现，冠根数目随着 NPA 浓度的升高而降低(图3)，这与 GUS 的染色结果相印证，表明根茎交界处生长素含量与冠根数目有着重要的联系。

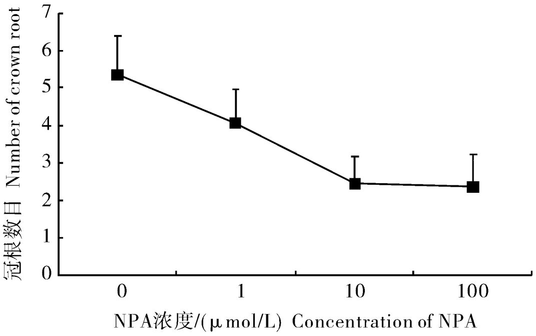

图3 NPA 处理后根茎交界处 DR5∷GUS 染色观察

Fig.3 DR5∷GUS expression after NPA treatment at the shoot-root junction

3 讨 论

本研究建立了一套考察水稻根系表型的稳定方法。以往对水稻根系的研究多采用田间或水培方式，考察时期多为苗期或者抽穗期，这样的考察体系缺陷在于工作量大、受环境因素影响较大、实验结果难以重复[13]。本研究考察水稻根系发育早期，并且植株在温度、光照恒定的培养条件下生长，表型稳定性高、考察表型周期短、不受气候条件的影响。本文中采用的2次重复相关性分析数据表明了此体系的可重复性好，并且此系统是在培养皿上生长，所以可以进行高通量的筛选，从而降低水稻根系表型考察的难度和工作量。

本研究采用定点施加植物生长素极性运输抑制剂的处理方法。据现有的很多研究证明，植株激素在植物体内的分布并不均匀[14-15]，而以往的研究中，大部分激素或者抑制物都是直接添加到培养基中，这样做的缺点是植物受到的作用是全株。而本次研究采用的体系是在冠根萌发的区域——根茎交界处直接添加 NPA，这种做法可以定点抑制生长素在该处的积累，使用 DR5∷GUS 的观察也表明生长素在根茎交界处的积累得到了有效的抑制。这个体系对于冠根形成因素的研究提供了一种很好的方法。

本研究对42个核心种质资源冠根数目进行统计，发掘了一批冠根数目极端的生态型，为将来研究冠根数目的生理、遗传基础和水稻根系改良提供了重要的种质资源。另外通过 NPA 处理冠根数目极端少的2个生态型 BL8、IRAT109(ZH5)和冠根数目极端多2个生态型珍汕97(ZS97)、BL34，发现冠根数目多的生态型对低浓度的 NPA 更加敏感；而且高浓度的 NPA 处理最终使得两类根系极端生态型的冠根数目接近。这表明冠根数目的多少与根茎交界处生长素的含量有着直接的关系，不同冠根数目对于 NPA 处理的敏感性的不同也可能是由于不同品种根茎交界处生长素含量不同所导致的。

参 考 文 献

[1] COUDERT Y，PERIN C，COURTOIS B，et al. Genetic control of root development in rice，the model cereal[J]. Trends Plant Sci，2010，15(4)：219-226.

[2] LUDLOW M M，MUCHOW R C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments[J]. Adv Agro，1990，43：107-153.

[3] FUKAI S，COOPER M. Development of drought-resistant cultivars using physiomorphological traits in rice[J]. Field Crops Res，1994，40(2)：67-86.

[4] RICHARDS R A. Genetic opportunities to improve cereal root systems for dryland agriculture[J]. Plant Prod Sci，2008，11(1)：12-16.

[5] LOPEZ-BUCIO J，CRUZ-RAMIREZ A，HERRERA-ESTRELLA L. The role of nutrient availability in regulating root architecture[J]. Curr Opin Plant Biol，2003，6(3)：280-287.

[6] DE-DORLODOT S，FORSTER B，PAGES L，et al. Root system architecture：opportunities and constraints for genetic improvement of crops[J]. Trends Plant Sci，2007，12(10)：474-481.

[7] 樊剑波，张亚丽，万小羽，等. 水稻根系与氮吸收利用之研究进展[J]. 中国农学通报，2007，23(2)：236-240.

[8] 余四斌，王重荣. 绿色超级稻性状基因的资源发掘[M]//张启发. 绿色超级稻的构想与实践. 北京：科学出版社，2009：161-180.

[9] ZHOU D X，YIN K，XU Z H，et al. Effect of polar auxin transport on rice root development[J]. Acta Bot Sin，2003，45(12)：1421-1427.

[10] INUKAI Y，SAKAMOTO T，UEGUCHI-TANAKA M，et al. Crown rootless1，which is essential for crown root formation in rice，is a target of an auxin response factor in auxin signaling [J]. Plant Cell，2005，17(5)：1387-1396.

[11] XU M，ZHU L，SHOU H，et al. A PIN1 family gene，OsPIN1，involved in auxin-dependent adventitious root emergence and tillering in rice[J]. Plant Cell Physiol，2005，46(10)：1674-1681.

[12] ZHAO Y，HU Y，DAI M，et al. The wuschel-related homeobox gene *WOX11* is required to activate shoot-borne crown root development in rice[J]. Plant Cell，2009，21(3)：736-748.

[13] 严小龙. 根系生物学原理与应用[M]. 北京：科学出版社，2007：102-107.

[14] FAISS M，ZALUBILOVA J，et al. Conditional transgenic expression of the *ipt* gene indicates a function for cytokinins in paracrine signaling in whole tobacco plants[J]. Plant J，1997，12(2)：401-415.

[15] LEYSER O. Auxin distribution and plant pattern formation：how many angels can dance on the point of PIN[J]. Cell，2005，121(6)：819-822.

Auxin and genetic diversity of crown root number in rice

CHEN Ya　BAO Liang　WANG Li-kai　ZHAO Lei　YU Si-bin　XU Jian

National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement，
Huazhong Agricultural University，Wuhan 430070，*China*

Abstract　Using an improved rice root research system，crown root numbers in 42 cultivated rice were analyzed. Results showed that different cultivars have different crown root numbers，ranging from 2 to 12 at average. Two cultivars with extremely few crown roots and 2 cultivars with large numbers of crown roots were selected for further analysis with the polar auxin transport inhibitor NPA. By localized application of NPA at the shoot-root junction of the 4 selected cultivars，we found that NPA appeared to reduce crown root numbers in general. Cultivars with large number of crown roots were more sensitive to low concentration of NPA than cultivars with small numbers. These data indicated that auxin and polar auxin transport determines crown root number in rice.

Key words　rice root system genetic diversity；core collection；crown root；auxin；NPA

（责任编辑：张志钰）