

## 钙提高水稻耐盐性的研究\*

晏斌 戴秋杰 刘晓忠 黄少白 王志霞 汪宗立

(江苏省农业科学院农业生物遗传生理研究所, 江苏南京, 210014)

**摘要** 在0.5%NaCl盐胁迫下,适当增加外界Ca<sup>2+</sup>浓度,可显著降低水稻体内Na<sup>+</sup>含量,减少Na<sup>+</sup>由根向地上部的净运输率,并提高植株相对生长率。但Ca<sup>2+</sup>作用大小受介质中Na<sup>+</sup>与Ca<sup>2+</sup>两者之比值的制约,最适Na/Ca比值为20和50。Ca<sup>2+</sup>的减少(即Na/Ca比值=1000)或过多(即Na/Ca比值=5)都导致了水稻盐害进一步加剧。钙还可以明显降低叶片和根系的质膜透性,并提高根质膜ATPase的活性。推测,Ca<sup>2+</sup>对水稻耐盐性的提高很可能是通过保护细胞膜结构和功能的完整性来实现的。

**关键词** 水稻;盐胁迫;Na/Ca比值;质膜透性;质膜ATP酶

植物对NaCl盐胁迫的反应受许多外界因子影响,其中钙被认为具有减缓植物的盐害,从而增强植物耐盐性的作用。这已在大麦<sup>[5,6]</sup>和菜豆<sup>[3]</sup>等植物上看到,介质中Ca<sup>2+</sup>的存在显著减少了体内的Na<sup>+</sup>含量,促进植株的生长。然而,水稻方面对于钙的作用却有着不同的报道,Yeo和Flowers(1985)<sup>[20]</sup>提出Ca<sup>2+</sup>对水稻地上部Na<sup>+</sup>的浓度没有显著的影响,而Muhammed等人(1987)<sup>[16]</sup>的结果表明,外加Ca<sup>2+</sup>能够降低Na<sup>+</sup>在体内的积累。本文以两个耐盐力不同的水稻品种为材料,研究外源钙对盐逆境下水稻幼苗生长、体内Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>含量、质膜透性以及根质膜ATPase活性的影响。

### 1 材料和方法

供试材料为耐盐力不同两个籼稻(*Oryza sativa* L. subsp. *indica*)品种,80-85(耐盐)和83-51(不耐盐)。幼苗在可控光温生长室内,用Espino培养液培养,昼夜温度为28/20℃,苗顶光强为300μmolm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>,每日光照10小时。3叶期(播后约15天左右)开始进行盐胁迫和增或减钙的处理。盐处理采用0.5%NaCl(86mmol/L)的培养液,其Na/Ca比值为228;增钙处理是以不同数量的无水CaCl<sub>2</sub>加入到含0.5%NaCl的培养液中,使溶液的Na/Ca比值分别减小至100、50、20、10和5;减钙处理是将含0.5%NaCl培养液中已有的Ca<sup>2+</sup>减少,使Na/Ca比值增大到1000,以未经盐和钙处理的培养液为对照,在进入处理后第10天取样供测试。

低盐浓度下根系的Na<sup>+</sup>吸收速率试验和计算方法参见晏斌和汪宗立(1992)<sup>[2]</sup>。共使用了3种低盐浓度作吸收溶液:①10mmol/L NaCl,②10mmol/L NaCl+0.2mmol/L CaCl<sub>2</sub>,③10mmol/L NaCl+5mmol/L CaCl<sub>2</sub>。在恒温28±1℃和照光条件下,幼苗吸收10小时,用溶液中Na<sup>+</sup>的消耗量计算根系Na<sup>+</sup>的吸收速率。

钠钾离子浓度 用6400A型火焰光度计测定。

相对生长率(RGR) 计算公式为:

\* 国家自然科学基金资助项目。

收稿日期:1993-11-23,终审完日期:1994-11-09

$$RGR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$$

式中,  $W_1$  和  $W_2$  分别为前后两次取样地上部的干重,  $t_1$  和  $t_2$  为相应取样时间。

$\text{Na}^+$ 由根向地上部的净运输率( $J_{\text{Na}^+}$ )参照 Pitman(1976)<sup>[17]</sup>的计算方法:

$$J_{\text{Na}^+} = \frac{M_2 - M_1}{t_2 - t_1} \cdot \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{W_2 - W_1}$$

式中,  $M_1$  和  $M_2$  分别为前后两次取样地上部  $\text{Na}^+$ 的含量,  $W_1$  和  $W_2$  为相应的干重,  $t_1$  和  $t_2$  则为相应取样时间。

叶片质膜透性 按汪宗立等人(1987)<sup>[11]</sup>方法测定。

根质膜透性 以根系的氨基酸外渗率来表示。根样用蒸馏水洗净吸干, 切成约 1cm 长的根段, 等量置于 25ml 烧杯中, 加 10ml 蒸馏水, 在 32℃ 恒温箱中浸提 3 小时, 取 0.2ml 根外渗液, 按 Reimerdes(1976)<sup>[18]</sup>的方法测定外渗液中的氨基酸含量, 以标准亮氨酸作标准曲线。

根质膜 ATPase 活性 根质膜的提取和质膜 ATPase 活性用 Erdei 等人(1980)<sup>[8]</sup>方法测定, 酶液中的蛋白质按 Lowry 等人(1951)<sup>[14]</sup>方法测定。

## 2 结果

### 2.1 钙对水稻地上部相对生长率的影响

0.5%NaCl(Na/Ca 比值=228)胁迫下, 两个水稻品种 80-85 和 83-51 地上部的相对生长率(RGR)都明显下降, 分别低于各自对照的 33.2%和 39.6%。加入  $\text{CaCl}_2$  之后, 当外界 Na/Ca 比值处在 10—100 之间, 两品种的 RGR 均不同程度地高于不加  $\text{CaCl}_2$ (即 Na/Ca 比值=228)的, 以 Na/Ca 比值为 20 和 50 时, 增幅最明显, 80-85 分别增加了 18.6%和 18.9%, 而 83-51 分别增加了 12.6%和 12.4%。外界  $\text{Ca}^{2+}$ 浓度过低(Na/Ca 比值=1000)或过高(Na/Ca 比值=5)都导致 RGR 进一步下降(图 1)。

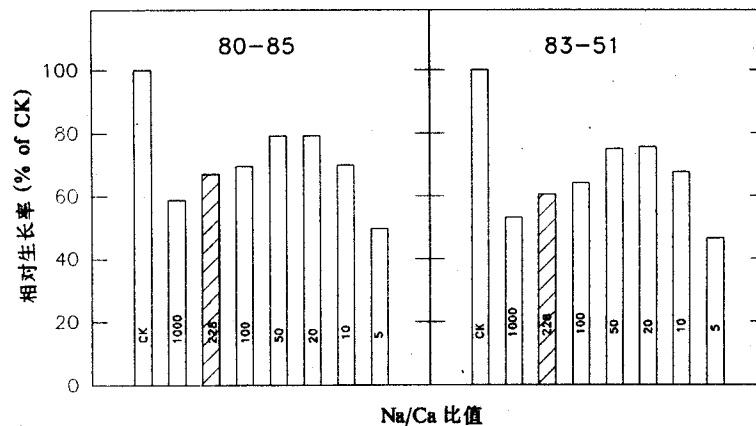


图 1 外界 Na/Ca 比值对水稻地上部相对生长率的影响

Fig.1 Effect of external Na/Ca ratio on the relative growth rate of rice shoots

## 2.2 钙对水稻体内 Na<sup>+</sup>和 K<sup>+</sup>含量的影响

表 1 显示, 盐胁迫下两品种地上部和根部的 Na<sup>+</sup>含量均因外界 Ca<sup>2+</sup>浓度的增加而降

表 1 外界 Na / Ca 比值对水稻 Na<sup>+</sup>和 K<sup>+</sup>含量的影响  
Table 1 Effect of external Na / Ca ratios on the Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> contents

品 种 Variety	外 界 Na / Ca 比值 External Na / Ca ratio	K <sup>+</sup>		Na <sup>+</sup>		K <sup>+</sup> / Na <sup>+</sup>		J <sub>Na<sup>+</sup></sub> (mmol / gDW / d)
		根 Root (mmol / gDW)	地上部 Shoot (mmol / gDW)	根 Root (mmol / gDW)	地上部 Shoot (mmol / gDW)	根 Root	地上部 Shoot	
80-85	CK	0.2982	0.7626	0.0079	0.0136	37.75	56.07	
	1000	0.2614	0.7056	0.7044	1.7678	0.37	0.40	1.84
	228	0.2748	0.7475	0.6872	1.6962	0.40	0.44	1.66
	100	0.2681	0.7559	0.5983*	1.5013*	0.45	1.50	1.42
	50	0.2865	0.8079	0.5582*	1.3321**	0.48	0.61	1.17
	20	0.2882	0.7559	0.5897*	1.3436**	0.49	0.56	1.24
	10	0.2681	0.7258	0.6098	1.5155*	0.44	0.48	1.36
	5	0.2932	0.7626	0.6184	1.5070*	0.47	0.51	1.43
83-51	CK	0.3050	0.7593	0.0107	0.0079	28.50	96.11	
	1000	0.2664	0.6570	0.7072	2.1289	0.38	0.31	2.37
	228	0.2614	0.7006	0.6901	2.0613	0.39	0.34	2.20
	100	0.2648	0.7090	0.6126*	1.8538*	0.43	0.39	1.84
	50	0.2765	0.7258	0.5725*	1.6646**	0.48	0.44	1.56
	20	0.2832	0.7341	0.5840*	1.6550**	0.49	0.44	1.50
	10	0.2983	0.7006	0.6126*	1.8222*	0.49	0.38	1.84
	5	0.2748	0.7207	0.6184	1.8509*	0.44	0.39	1.86

J<sub>Na<sup>+</sup></sub>、Na<sup>+</sup>由根向地上部的净运输率 The rate of net transport of J<sub>Na<sup>+</sup></sub> from root to shoot.

\*, \*\* 处理间分别在 0.05 和 0.01 水平上呈显著性差异 Significant between treatments at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

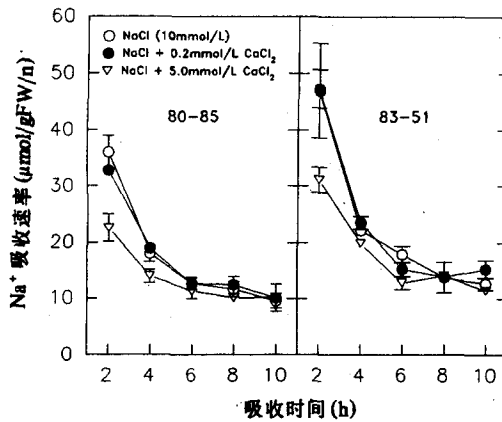


图 2 钙对水稻根系 Na<sup>+</sup>吸收速率的影响  
Fig.2 Effect of calcium on the rate of Na<sup>+</sup> uptake by rice roots

低, 地上部的降幅又大于根部。当 Na / Ca 比值处在 5—100 之间, 地上部的 Na<sup>+</sup>含量都呈 0.05 显著水平下降, 以 Na / Ca 比值为 20 和 50 时降幅最大, 达到 0.01 显著水平。与此同时, Na<sup>+</sup>由根向地上部的净运输率也因 Ca<sup>2+</sup>的加入而减少, 同样以 Na / Ca 比值为 20 和 50 时减少最为明显。K<sup>+</sup>含量在各处理之间则无显著变化。因此, 增加 Ca<sup>2+</sup>的浓度使地上部和根内的 K / Na 比值增大。反之, 减钙处理(Na / Ca 比值 = 1000)则由于增加了 Na<sup>+</sup>在地上部和根部的积累使 K / Na 比值也相应下降。

## 2.3 钙对根系 Na<sup>+</sup>吸收的影响

为观察 Ca<sup>2+</sup>对根系 Na<sup>+</sup>吸收的影响, 采用了对植株无伤害作用的低盐浓度吸收试验。图 2 看到, 两品种幼苗在历时 10 小时的吸收过程

中, 根系  $\text{Na}^+$  吸收速率最初被  $5\text{mmol/LCa}^{2+}$  所明显抑制, 2 小时之后,  $\text{Ca}^{2+}$  的作用逐渐降低。而  $0.2\text{mmol/LCa}^{2+}$  对根系  $\text{Na}^+$  的吸收始终没有影响, 看来,  $\text{Ca}^{2+}$  似乎要达到一定的数量才对根系  $\text{Na}^+$  吸收起到抑制作用。

#### 2.4 钙对质膜透性的影响

盐胁迫下两品种叶片和根系的质膜透性均显著增大。但在加入  $\text{CaCl}_2$  之后, 除  $\text{Na/Ca}$  比值等于 5 时叶片相对电导率有部分升高之外, 两品种根和叶片的质膜透性都不同程度的减少。其中,  $\text{Na/Ca}$  比值等于 20 和 50 时,  $\text{Ca}^{2+}$  的这种效应最为明显, 均达 0.01 显著水平。低钙( $\text{Na/Ca}$  比值 = 1000)则使得叶片和根系的细胞溶质外渗进一步加剧(图 3, 4)。

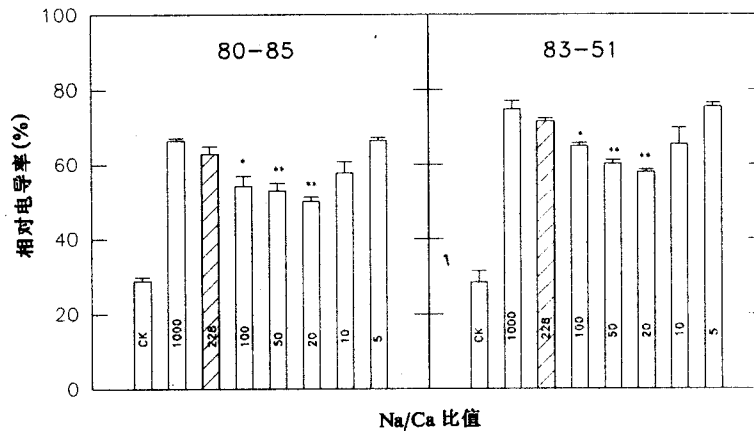


图3 外界  $\text{Na/Ca}$  比值对水稻叶片相对电导率的影响

Fig.3 Effect of external  $\text{Na/Ca}$  ratio on the relative conductivity of rice leaves (\*, \*\*  $\text{Na/Ca}$  比值 228 与处理之间分别达到 0.05 和 0.01 水平显著性差异 Significant between  $\text{Na/Ca}=228$  and treatment at 0.05 and 0.01 levels respectively)

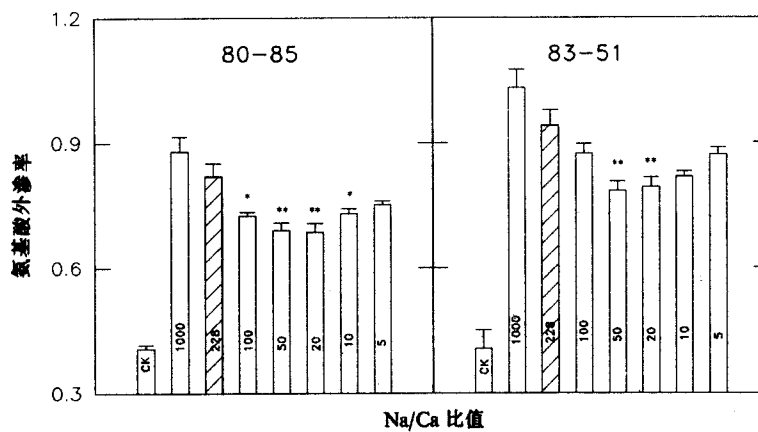


图4 外界  $\text{Na/Ca}$  比值对水稻根系氨基酸外渗率的影响

Fig.4 Effect of external  $\text{Na/Ca}$  ratio on the amino acid leakage of rice roots (\*, \*\*  $\text{Na/Ca}$  比值 228 与处理之间分别达到 0.05 和 0.01 水平显著性差异 Significant between  $\text{Na/Ca}=228$  and treatment at 0.05 and 0.01 levels, respectively)

### 2.5 钙对根系质膜 ATPase 活性的影响

图 5 看到, 在 0.5%NaCl 介质中增加  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度, 两个品种根系的质膜 ATPase 活性均被提高。当 Na/Ca 比值分别为 10、20、50 时, 80-85 的酶活性分别增加了 27.9%、25.1%和 20.2%, 而当 Na/Ca 比值为 5 时, 只增加了 13.6%。83-51 的结果与 80-85 相似。

## 3 讨论

本试验在两个耐盐力不同的水稻品种上都看到, 盐逆境下加  $\text{Ca}^{2+}$  显著减少了幼苗体内  $\text{Na}^+$  的含量(表 1), 促进苗株的生长(图 1)。而 Muhammed 等人(1987)<sup>[16]</sup>只是在耐盐品种 KS282 上观察到此现象, 可见外源钙能够减缓水稻幼苗的盐害, 从而增强水稻的耐盐性。钙对水稻盐胁迫的缓解看来主要在于它改变了体内  $\text{Na}^+$  浓度, 从本试验结果分析,  $\text{Ca}^{2+}$  可能是通过  $\text{Na}^+$  吸收和运输两方面来降低体内  $\text{Na}^+$  的水平。其一, 在加  $\text{Ca}^{2+}$  之后, 地上部和根的  $\text{Na}^+$  含量都显著下降, 即整株的  $\text{Na}^+$  含量较低, 说明根系对  $\text{Na}^+$  的

总吸收量也较低; 同时, 低盐浓度下  $\text{Ca}^{2+}$  还明显降低了根系的  $\text{Na}^+$  吸收速率(图 2), 因此可以说盐胁迫下  $\text{Ca}^{2+}$  能够抑制对根  $\text{Na}^+$  的吸收。其二, 加  $\text{Ca}^{2+}$  之后, 地上部  $\text{Na}^+$  含量的下降程度大于根部, 而  $\text{Na}^+$  由根向地上部的运输率显著降低(表 1), 这就是说  $\text{Na}^+$  输送并积累于地上部的数量因  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的增高而减少。

盐胁迫通常能够导致植物营养元素的亏缺, 尤其在较高的盐浓度下, 植物对  $\text{Ca}^{2+}$  的吸收显著减少<sup>[13]</sup>。Grieve 等人(1987)<sup>[9]</sup>发现, 0.5%(86mmol/L)NaCl 可引起水稻叶片明显缺钙。此时适当增加外界  $\text{Ca}^{2+}$  水平能够弥补植株中因盐胁迫所导致的  $\text{Ca}^{2+}$  损失。而 Yeo 和 Flowers(1985)<sup>[19]</sup>使用的 NaCl 浓度低于 50mmol/L, 在此盐浓度下水稻叶片  $\text{Ca}^{2+}$  含量并不显著减少, 所以加  $\text{Ca}^{2+}$  对水稻耐盐性没有显著影响。这说明  $\text{Ca}^{2+}$  的作用与外界盐浓度有关。此外, 本试验还显示,  $\text{Ca}^{2+}$  的效果也取决于外界 Na/Ca 比值, 当 Na/Ca 比值 20—50 对水稻幼苗最为适合。当 Na/Ca 比值过低, 即  $\text{Ca}^{2+}$  浓度较高时, 则因  $\text{Ca}^{2+}$  毒害而进一步加剧水稻盐胁迫伤害<sup>[19]</sup>。

钙在维持细胞膜完整性, 以及调节离子运输等方面有重要作用, 由此很容易将钙在盐逆境下的行为与其特有的功能联系起来, 并提出  $\text{Ca}^{2+}$  是通过降低质膜透性来减少  $\text{Na}^+$  进入细胞的<sup>[12]</sup>。Cramer 等(1985)<sup>[4]</sup>和 Lynch 等(1988)<sup>[15]</sup>分别在棉花和玉米上观察到  $\text{Na}^+$  置换出质膜上的  $\text{Ca}^{2+}$ , 从而破坏了膜的正常结构。如果增加介质中  $\text{Ca}^{2+}$  的数量, 就有可能减少或阻止  $\text{Na}^+$  对  $\text{Ca}^{2+}$  的替换。水稻上是否存在这一现象有待进一步验证, 但我们在水稻上提供的事实支持了前人有关  $\text{Ca}^{2+}$  稳定膜系统的观点, 因为在两个耐盐力不同的水稻品种上,  $\text{Ca}^{2+}$  都可以显著降低叶片和根系的细胞溶质外渗(图 3, 4), 这一结果可归结于  $\text{Ca}^{2+}$  对细胞膜结构与功能完整性的保护效应。此外, 本试验看到  $\text{Ca}^{2+}$  还能明显提高盐胁迫下水稻根质膜 ATPase

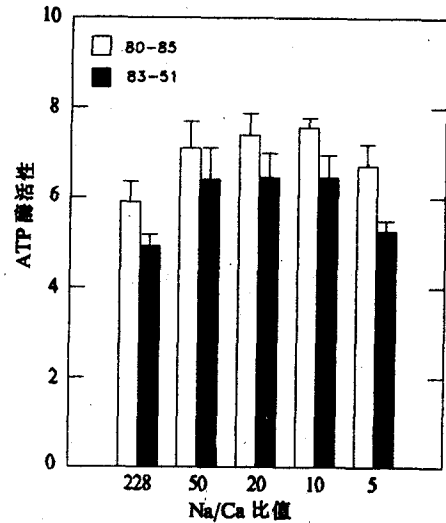


图 5 外界 Na/Ca 比值对水稻根质膜 ATPase 活性的影响  
Fig.5 Effect of external Na/Ca ratio on the plasma membrane ATPase activity in rice roots

的活性(图 5)。可知离子的跨膜运输受膜上的 ATPase 所驱动, 盐逆境下水稻根质膜 ATPase 受到明显抑制, 其活性变化与根部的  $\text{Na}^+$  吸收有关, ATPase 活性的升高伴随着  $\text{Na}^+$  吸收被减少, 而  $\text{Ca}^{2+}$  作为植物的第 2 信使与钙调素结合可以激活 ATPase<sup>[7]</sup>。因此, 我们的结果启示  $\text{Ca}^{2+}$  可能通过调节质膜 ATPase 来影响植物的  $\text{Na}^+$  吸收和运输。

### 参 考 文 献

- 1 汪宗立、刘晓忠、王志霞, 1987, 江苏农业学报, 3(2), 1—9.
- 2 晏斌、汪宗立, 1992, 中国水稻科学, 6(1), 27—32.
- 3 Akhavan-Kharazian, M., W. F. Campbell, J. J. Jurinak et al., 1991, Arid Soil Research and Rehabilitation, 5, 9—19.
- 4 Cramer, G.R., A. Lauchli, V.S. Polito, 1985, Plant Physiol., 79, 207—211.
- 5 Cramer, G.R., E. Epstein, A. Lauchli, 1990, Physiol.Plant, 80, 83—88.
- 6 Cramer, G.R., E. Epstein, A. Lauchli, 1991, Physiol.Plant, 81, 197—202.
- 7 Dieter, P. and D. Marme, 1981, FEBS Letter, 125, 245—248.
- 8 Erdei, L. and P.J.C. Kuiper, 1980, Physiol.Plant, 49, 71—77.
- 9 Grieve, C.M. and H. Fujiyama, 1987, Plant and Soil, 103, 245—250.
- 10 Gray-Bobo, C.M., 1970, Nature, 228, 1101—1102.
- 11 Hanson, J.B. 1983, In D.D. Randall(ed.), Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology, Missouri, Columbia, 1—24.
- 12 Leopold, A.C. and R.P. Willing, 1984, In, Staples R.C. and G. H. Toenniessen, (eds.), Salinity Tolerance in Plants. New York, 67—76.
- 13 Levitt, J., 1980, Responses of Plants to Environmental Stress. 2nd Edition, Vol. II, Academic Press, New York, 365—390.
- 14 Lowry, O.H., N.T., Rosenbrough, A.C., Earr et al., 1951, J. Biol. Chem., 193, 265—275.
- 15 Lynch, J. and A. Lauchli, 1988, Plant Physiol., 87, 351—356.
- 16 Muhammed, S., M., Akbar, H.U., Meue, 1987, Plant and Soil, 104, 57—62.
- 17 Pitman, M.G., 1976, In Lutge L. and M.G. Pitman(eds.), Transport in Plants. Spriner-verlag: Berlin, Encycl. Plant Physiol. Vol.IIB, 95—120.
- 18 Reimerdes, E.H. and H. Klostemeyer, 1976, In Lorand L.(ed.), Methods in Enzymology. New York, 45, 26—28.
- 19 Yamanouchi, M., Y., Shimada S., Yoshida, 1983, Jap. J. Siol Sci. Plant Nutr. 54, 499—504.
- 20 Yeo, A.R. and T. J. Flowers, 1985, New Phytol., 99, 81—90.

## The Study on Increasing Salt Resistance of Rice by Calcium

Yan Bin Dai Qijie Liu Xiaozhong Huang Shaobai Wang Zhixia Wang Zongli

(Institute of Agrobiological Genetics and Physiology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, 210014)

**Abstract** Salt stress is the main constrains for rice production in coast low areas. This study was conducted to determine whether exogenous Ca ameliorated the harmful effects of NaCl (0.5% or 86mmol/L) on  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  contents and growth of two rice varieties, 80—85 (salt tolerant) and 83—51 (salt sensitive). The seedlings were grown in the greenhouse for 15 days and then stressed with cultural solutions containing various Na / Ca ratios. The addition of  $\text{CaCl}_2$  to NaCl solutions significantly minimized  $\text{Na}^+$  content in the plants and the rate of  $\text{Na}^+$  net transport from root to shoot, and increased relative growth rate. However,  $\text{K}^+$  content wasn't significantly affected by exogenous  $\text{Ca}^{2+}$ . Ameliorative effects of calcium varied with external Na / Ca ratios. Higher ratio (1000) and lower ratio (5) both aggravated the salinity injury. The optimum Na / Ca ratios which reduced the damage were 20 and 50. In addition, the presence of  $\text{Ca}^{2+}$  in low NaCl concentration (10 mmol/L) decresed apparently the rate of  $\text{Na}^+$  uptake by rice roots. Supplemental  $\text{Ca}^{2+}$  in saline mediums significantly reduced membrane permeability of the roots and leaves, and enhanced plasmalemma ATPase activity of the roots. The results suggested that  $\text{Ca}^{2+}$  could protect the integration of membrane structure and function under salt stress.

**Key words** Rice; Salt stress; Na / Ca ratio; Membrane permeability; Plasmalemma ATPase