

水稻非生物逆境苗期表型鉴定

Phenotypic Identification of Abiotic Stress at Rice Seedling Stage

宗伟, 都浩, 马斯琦, 熊立仲*

作物遗传改良国家重点实验室, 华中农业大学, 武汉

*通讯作者邮箱: lizhongx@mail.hzau.edu.cn

引用格式: 宗伟, 都浩, 马斯琦, 熊立仲. (2018). 水稻非生物逆境苗期表型鉴定. *Bio-101* e1010179. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010179.

How to cite: Zong, W., Du, H., Ma, S. Q. and Xiong, L. Z. (2018). Phenotypic identification of abiotic stress at rice seedling stage. *Bio-101* e1010179. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010179. (in Chinese)

实验原理: 通过人工模拟自然界中的非生物逆境生存条件, 比较转基因植株和对照植株在表型及生理上表现出对非生物逆境的响应差异, 从而探索目标基因在非生物逆境中的功能。

实验材料: 独立的转基因植株和对照植株各三个家系。若转基因植株为突变体材料, 转基因植株为杂合后代分离的纯合家系, 对照材料为相应的阴性家系。若转基因植株为超量表达或 RNAi 材料, 则准备三个超量表达单拷贝家系或 RNAi 家系和相应的对照家系。

关键词: 水稻, 苗期, 非生物逆境, 表型

材料与试剂

1. 小桶 (高 30cm, 直径 20cm)
2. 粘土和河沙 (1:1 混合)
3. 水稻种子
4. 工业用盐 (NaCl) (小规模试验可用实验室分析纯试剂)
5. 复合肥

仪器设备

1. 遮雨透光棚
2. 人工冷库室 (0-10 °C)

3. 人工气候箱 (0-50 °C)

实验步骤

一、苗期干旱表型鉴定

1. 将种子浸种催芽，挑选长势一致的 2-3 cm 左右的芽小心移栽到小桶 (每桶对半种转基因家系苗和对照苗，各 12-20 棵)。
2. 待苗子长大 4 叶期时把表面水小心倒去后，或停止浇水，拍照记录，随后每天同一时间按单株观察记载卷叶天数，当对照不可逆全卷后 (早上观察叶仍然卷，视空气温度和湿度而定)，复水考察表型并拍照、统计存活率。

二、苗期耐盐表型鉴定

1. 在小桶中，种植转基因苗 15-20 棵，对照苗 15-20 棵培养大小一致的健康苗。
2. 待苗子长大 4 叶期时把表面水小心倒干后，浇灌 50 mM NaCl 溶液，3-4 天后换成 100 mM NaCl 溶液，再过 3-4 天后换成 200 mM NaCl 溶液。
3. 处理过程中拍照记录并按单株观察记载卷叶或萎焉出现的时间。每桶的对照分别记载并与同桶的转基因株系比较。在对照苗几乎全部萎焉后考察成活率和单株绿叶面积。此外，还可以测定盐敏感指数 [(正常生长鲜重 - 胁迫生长鲜重)/正常生长鲜重]、 Na^+/K^+ 浓度等判断表型。

备注：沙土中高盐胁迫后苗子很难做恢复观察；水培实验方法同上，胁迫期向水培液中加入 NaCl，恢复时换正常的水培液。

三、苗期耐低温表型鉴定

1. 在小桶中，种植转基因苗 15-20 棵，对照苗 15-20 棵培养大小一致的健康苗。正式试验应设 3 次重复，并设置非胁迫对照。
2. 待苗子长大 4 叶期时进行低温胁迫 (生长箱 2-6 °C 低温) 约一周。观察记载叶片萎焉的时间，每桶的对照与同桶的转基因株系比较。在对照苗几乎全部萎焉后恢复正常生长一周，考察单株绿叶面积和鲜重，家系的成活率和平均低温敏感指数 [(正常生长鲜重 - 胁迫生长鲜重)/正常生长鲜重]。

四、苗期耐高温表型鉴定

1. 在小红桶中，种植转基因苗 15-20 棵，对照苗 15-20 棵培养大小一致的健康苗。正式试验应设 3 次重复，设置非胁迫对照。
2. 待苗子长大 4 叶期时进行高温胁迫 (生长箱 40-45 °C 高温)，胁迫一至两天后，在对照苗几乎全部萎焉后恢复正常生长一周恢复正常生长，考察单株绿叶面积和鲜重，家系的成活率和平均高温敏感指数 [(正常生长鲜重 - 胁迫生长鲜重)/正常生长鲜重]。

注意事项

1. 干旱处理和盐处理时，小桶中土壤选用 1:1 均匀混合的粘土和河沙土，装土之前需拌加适量底肥 (复合肥)。
2. 尽量挑选长势一致的健康苗进行移栽，可以多种植几盆，处理时挑选植株长势一致的小桶。
3. 浇水时不要冲击土壤，维持土壤表面平整。
4. 随机区组设计，3 次重复。
5. 不同水稻品种对各种胁迫程度的耐受性不同，因此需要做预实验来衡量。