

Nghiên cứu sự thích nghi của cây lúa trong điều kiện mặn

Nguyễn Bích Hà Vũ^{1*}, Võ Công Thành²

¹Khoa Khoa học Cây trồng, Trường Đại học Cần Thơ

²Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Ngày nhận bài 6.2.2015, ngày chuyển phản biện 13.2.2015, ngày nhận phản biện 8.4.2015, ngày chấp nhận đăng 14.4.2015

Nghiên cứu sự thích nghi của cây lúa chống chịu mặn nhằm tìm hiểu những biểu hiện cấu trúc tế bào giúp cây mạ thích nghi với điều kiện mặn ở 12,50; 15,63; 18,75 và 21,88 dS/m trong dung dịch dinh dưỡng [1]. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức lô phụ với 2 lần lặp, lô chính gồm 5 nghiệm thức mức độ mặn và lô phụ là 5 giống lúa. Sau 8 ngày thử mặn, tiến hành đo độ mặn của giọt nước hình thành trên lá vào buổi sáng, quan sát lát cắt ngang mẫu lá và rễ, điện di protein ở rễ, bẹ lá và lá cây mạ. Kết quả cho thấy, nồng độ muối trên chóp lá của giống NQB mùa (chịu mặn) thấp hơn các giống còn lại (71,1 dS/m). Quá trình tẩm suberin và lignin ở rễ xảy ra nhanh khi trồng trong điều kiện mặn ở các giống. Đặc biệt ở vùng ngoại bì, sự tẩm suberin và lignin của các giống chống chịu mặn xảy ra ở vị trí 10 mm, trong khi ở giống IR28 là 25 mm. Hơn thế nữa, các giống lúa chống chịu mặn còn tăng tích lũy một số protein có trọng lượng phân tử 135,90 và 31,81 kDa ở bẹ lá và rễ; 115,58 kDa ở bẹ lá và 54 kDa ở lá.

Từ khóa: cấu trúc rễ và lá, chống chịu mặn, sự thích nghi.

Chỉ số phân loại 4.1

RESEARCH ON RICE ADAPTION TO SALT CONDITION

Summary

A research on rice adaption to salt condition from 12.50 to 21.88 dS/m in nutrient solution has been carried out to detect the variations on cell structure of seedlings. The experiment has been arranged under the split-plot design with two replications, in which the plot factor has been used for five salt concentrations, and the split factor has been conducted on five rice varieties. After eight days of testing, the salt concentration of water droplet on the top of leaf has been measured at early morning; cross sections of leaves and roots have been observed; protein extraction in root, leaf ochrea, and leaf laminae of seedlings has been checked by protein electrophoresis. The results have shown that traditional NQB variety (salt tolerance) has the lowest salt concentration of droplet on the top of leaf (about 71.1 dS/m). The process of suberin and lignin formation in root occurs faster in salt condition. Especially, deposition of suberin and lignin has been found at the 10 mm position in the salt tolerance varieties, while it has been at the 25 mm position in the IR28 variety. Moreover, the salt tolerant varieties have also been enhanced the accumulation proteins which are 135.90 and 31.81 kDa in both root and leaf ochrea; 115.58 kDa in leaf ochrea and 54 kDa in leaf.

Keywords: adaption, leaf and root structure, salt tolerance.

Classification number 4.1

Đặt vấn đề

Việt Nam có hai vùng sản xuất lúa chính là Đồng bằng sông Cửu Long (51%) và Đồng bằng sông Hồng (15%) [2]. Tuy nhiên, do ảnh hưởng của biến đổi khí hậu, cùng với sự dâng lên của nước biển thì diện tích đất canh tác lúa của các vùng ven biển đang ngày càng thu hẹp lại. Đồng bằng sông Cửu Long có khoảng 1,7 triệu ha (chiếm khoảng 45% diện tích) chịu ảnh hưởng của nước mặn [3].

Rễ là bộ phận của cây tiếp xúc với đất nên chịu ảnh hưởng trực tiếp từ điều kiện bất lợi của môi trường đất. Cây đã biến đổi các cấu trúc giải phẫu để thích nghi với đất mặn, đặc biệt là ở bộ rễ [4]. Sự hình thành và phát triển của vòng Casparian ở rễ có sự khác nhau giữa các

*Tác giả chính: Tel: 0918181475, Email: nguyenchau@tgu.edu.vn

giống lúa. Bằng kỹ thuật hiện đại, các nhà khoa học đã thanh lọc và tuyển chọn được nhiều giống lúa có khả năng chống chịu mặn cao và đang được sản xuất đại trà ở nhiều tỉnh của Đồng bằng sông Cửu Long. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu vẫn chưa quan tâm nghiên cứu về giải phẫu cây lúa trong điều kiện mặn. Vì vậy, đề tài được thực hiện nhằm tìm hiểu những đặc điểm thích nghi về hình thái và cấu trúc của cây lúa trong nhiều điều kiện mặn khác nhau để phục vụ cho công tác chọn giống.

Nội dung nghiên cứu

Hạt lúa được ngâm ủ nảy mầm và thử mặn theo phương pháp của IRRI [5]. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức lô phụ 2 lần lặp lại với 2 nhân tố là mức độ mặn và giống. Lô chính gồm 5 nghiệm thức của mức độ mặn là 0; 12,50; 15,63; 18,75 và 21,88 dS/m. Lô phụ gồm 5 giống: IR28 (nhiễm mặn), CTUS4, Sỏi mùa, NQB-ĐB và NQB mùa (chống chịu mặn).

Sau 8 ngày thử mặn, lát cắt ngang mẫu lá ở đoạn 0-20 cm tính từ chóp lá được thu và ngâm trong javen 15 phút để tẩy nội dung tế bào, rửa lại với nước cất từ 3 đến 4 lần và ngâm vào acetic acid 5 phút để loại bỏ nước javen. Sau đó, rửa lại với nước cất từ 3 đến 4 lần và ngâm mẫu vào thuốc nhuộm son phenyl-luc iod từ 3 đến 5 phút để mẫu bắt màu. Rửa sạch thuốc nhuộm và quan sát mẫu trong giọt glycerin dưới kính hiển vi. Trong khi lát cắt ngang ở rễ được thu ở đoạn 0-30 mm tính từ đỉnh rễ. Cùng thời điểm này, điện di protein trong rễ, bẹ lá và lá cũng được tiến hành theo Sambrook và Russell [6].

Dùng thống kê mô tả để tính các giá trị trung bình và các số đo biến động. Phân tích phương sai ANOVA (phép thử F và Duncan) để so sánh các số liệu trung bình ở mức ý nghĩa 5%.

Kết quả và thảo luận

Đánh giá khả năng chống chịu mặn ở giai đoạn mạ

Bảng 1: kết quả đánh giá khả năng chống chịu mặn

STT	Giống/dòng	Cấp chống chịu mặn			
		12,50 dS/m	15,63 dS/m	18,75 dS/m	21,88 dS/m
1	IR28	7	7	9	9
2	CTUS4	5	5	7	9
3	Sỏi mùa	3	3	5	7
4	NQB-ĐB	5	5	7	7
5	NQB mùa	3	3	5	5

Sau 8 ngày thử mặn, giống NQB mùa có khả năng chống chịu mặn tốt nhất trong các giống đạt cấp 5 ở độ mặn 21,88 dS/m. Kế đến là giống Sỏi mùa có khả năng chống chịu mặn trung bình (cấp 5) ở 18,75 dS/m. Khả năng chống chịu mặn của CTUS4 và NQB-ĐB bằng nhau là cấp 5 ở 15,63 dS/m. Kết quả trên cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Quan Thị Ái Liên [7].

Khảo sát khả năng tiết muối qua lá

Kết quả bảng 2 cho thấy, khi tăng nồng độ muối thì nồng độ mặn của giọt nước tiết qua lá cũng tăng theo. Thêm vào đó, giống có khả năng chống chịu mặn thì lại có nồng độ mặn của giọt nước nhỏ hơn giống nhiễm mặn. Pannaga và CTV cũng cho thấy sự xuất hiện của tinh thể muối ở bẹ lá, phiến lá và tai lá của giống chống chịu mặn ít hơn giống nhiễm mặn [8]. Điều này có thể là do giống chống chịu mặn có khả năng ngăn cản sự hấp thu muối vào cây nên lượng muối tiết qua giọt nước trên lá cũng ít hơn.

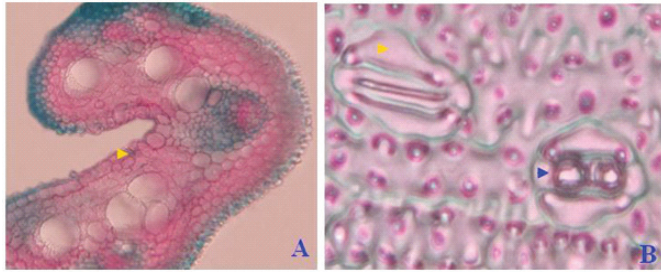
Bảng 2: nồng độ mặn của giọt nước ở lá sau 8 ngày thử mặn

Giống	Nồng độ mặn của giọt nước (dS/m)				Trung bình giống (A)
	12,50 dS/m	15,63 dS/m	18,75 dS/m	21,88 dS/m	
IR28	117,2bc	117,2bc	125,0b	148,4a	126,3a
CTUS4	78,1fg	125,0b	105,5bcd	113,3bcd	105,5b
Sỏi mùa	117,2bc	114,1bc	97,7cdef	105,5bcd	109,4b
NQB-ĐB	97,7cdef	113,3bcd	89,8defg	100cdef	100,2b
NQB mùa	72,7g	101,6cde	79,7efg	71,1g	81,3c
Trung bình mặn (B)	96,6c	114,2a	99,5bc	107,7ab	
F _A					*
F _B					*
F _{AB}					*
CV(%)					9,48

Quan sát lát cắt ngang phiến lá ở đoạn xuất hiện giọt nước mặn thì không tìm thấy tuyến tiết muối như các cây chịu mặn thuộc họ lúa. Tuy nhiên, tại vị trí này xuất hiện nhiều khí khổng (hình 1A). Bên cạnh đó, lớp biểu bì mặt dưới lá nơi xuất hiện giọt nước cho kết quả tương tự ở các giống. Biểu bì mặt dưới lá xuất hiện các khí khổng có hình dạng biến đổi khác hơn bình thường (hình 1B).

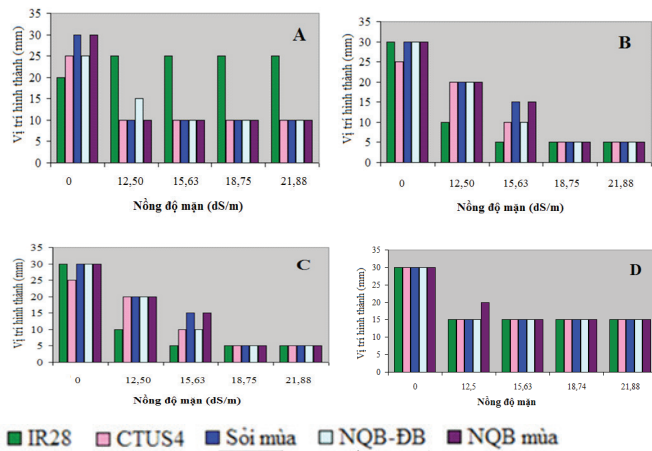
Theo Nguyễn Bá thì giọt nước xuất hiện ở chóp lá vào buổi sáng là do nước được tiết ra ngoài qua thủy khổng, là dạng biến đổi của khí khổng [9]. Một phần lượng muối được hấp thu từ rễ sẽ vận chuyển lên lá, dự trữ và tiết ra ngoài qua khí khổng [10]. Do đó, mỗi buổi

sáng có thể quan sát được những giọt nước ngưng đọng ở chóp lá và mặt dưới lá.



Hình 1: (A) lát ngang chóp lá, nơi xuất hiện giọt nước, vật kính 40X; (B) biểu bì mặt dưới lá ở vật kính 100X
Mũi tên vàng: khí khổng; mũi tên xanh: khí khổng biến đổi thành hai lỗ thoát nước ở giữa

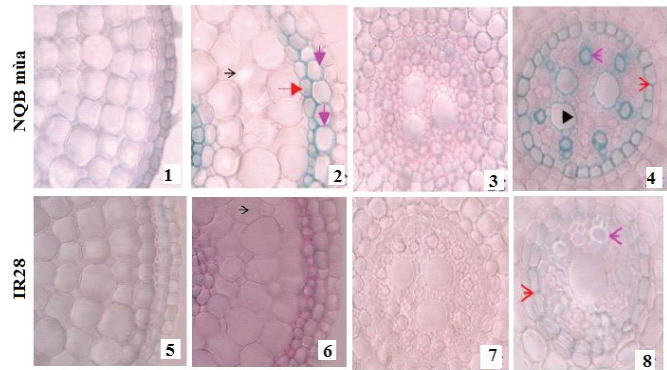
Sự biến đổi cấu trúc bộ rễ để thích nghi điều kiện mặn



Hình 2: vị trí tâm suberin và lignin ở ngoại bì (A), nội bì (B) và mạch gỗ (C) của rễ; (D) vị trí hình thành mô khí ở rễ

Trong điều kiện 0 dS/m, có sự khác nhau ở vị trí tâm suberin và lignin ở các giống lúa. Khi tăng nồng độ mặn lên thì vị trí hình thành suberin và lignin ở rễ giảm xuống (tế bào ngấm suberin và lignin gần đỉnh rễ hơn, hay quá trình suberin và lignin hóa xảy ra nhanh hơn) (hình 2, 3). Đặc biệt ở giống IR28, vị trí hình thành suberin ở ngoại bì vẫn không giảm khi tăng nồng độ mặn. Sự hình thành lớp tế bào ngấm suberin ở ngoại bì làm tăng khả năng chống chịu mặn của cây. Lớp tế bào này giúp ngăn cản sự hấp thu muối vào cây theo con đường apolast. Trong khi sự suberin và lignin hóa ở nội bì giúp hạn chế hấp thu các ion độc theo đường apolast [11]. Thêm vào đó, sự lignin hóa mạch gỗ giúp duy trì cấu trúc toàn vẹn của hệ thống mạch gỗ trong điều kiện mặn. Ngoài việc tăng cường tính bền vững cơ học, nó còn giúp cây giữ được nước trong điều kiện khô hạn [12]. Do đó, nó có khả năng giúp cây chống chịu với stress thâm thấu (thiếu nước) được gây ra bởi mặn.

Sự hình thành lớp suberin sẽ lấp đầy các khoảng gian bào và tăng cường cản trở con đường hấp thu apolast ở rễ. Sự ngăn cản này làm cho các chất và nước muốn hấp thu vào cây thì phải đi xuyên qua tế bào, hay xuyên qua màng tế bào trước khi vào mạch gỗ, vì vậy mà có tính chọn lọc cao hơn. Tính hấp thu có chọn lọc của màng tế bào sẽ làm giảm sự hấp thu Na^+ vào trong cây, giúp cây chống chịu với điều kiện mặn tốt hơn [13]. Một số nghiên cứu khác cũng cho rằng, môi trường mặn và các stress phi sinh học khác cũng cảm ứng hình thành nên những yếu tố ngăn cản con đường hấp thu apolast. Tuy nhiên, quá trình này thường xảy ra chậm và phải mất vài ngày [14, 15].



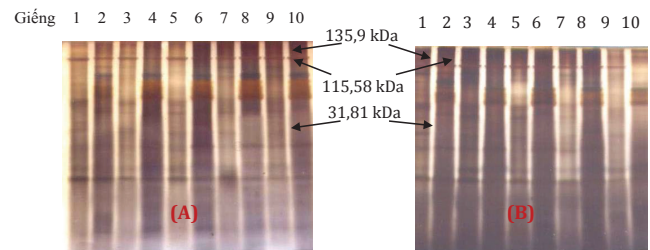
Lớp nội bì

Lớp ngoại bì

Hình 3: lát cắt ngang rễ ở đoạn 15 mm của IR28 và NQB mùa (40X)
1, 3, 5, 7: 0 dS/m; 2, 4, 6, 8: 21,88 dS/m; mũi tên hồng: suberin ở tế bào ngoại bì; mũi tên đỏ: suberin và lignin ở tế bào mạch gỗ; mũi tên đen: mô khí trong vùng vỏ rễ

Bên cạnh đó, vị trí hình thành mô khí (aerenchyma) ở các giống dường như không có khác biệt và khi tăng nồng độ mặn thì vị trí hình thành các mô khí này rút ngắn lại. Khi sống trong môi trường mặn, các tế bào nhu mô ở lớp ngoại bì hòa tan màng tế bào, tạo thành các mô khí nhanh hơn khi không có mặn [16]. Krishnamurthy và CTV cũng nhận thấy rằng, khi cây lúa được xử lý với mặn thì các aerenchyma sẽ được hình thành ở gần đầu rễ hơn cả ở 2 giống Pokkali (chống chịu) và IR20 (nhiễm mặn) [13].

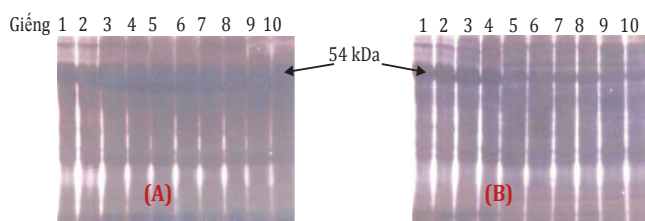
Sự tích lũy protein ở rễ, bẹ lá và lá



Hình 4: phổ điện di protein tổng số (A) NQB mùa và (B) IR28
Ghi chú: Giếng 1, 3, 5, 7, 9 rễ lúa ở các nồng độ tương ứng 0, 8, 10, 12 và 21,88 dS/m
Giếng 2, 4, 6, 8, 10 bẹ lá ở các nồng độ tương ứng 0, 8, 10, 12 và 21,88 dS/m

Quan sát kết quả điện di protein trong rễ và bẹ lá (hình 4) cho thấy, mức độ nhuộm màu của băng protein có khối lượng phân tử 135,90; 115,58 và 31,81 kDa đậm dần khi tăng nồng độ mặn ở các mức 0, 8, 10, 12 và 21,88 dS/m trên giống chống chịu mặn (NQB mùa), kết quả cũng tương tự ở những giống còn lại. Trong khi giống IR28 thì các band này nhạt dần khi tăng nồng độ mặn.

Ở kết quả điện di protein trên lá (hình 5), băng 54 kDa của các giống có khả năng chống chịu mặn (CTUS4, Sỏi mùa, NQB-ĐB, NQB mùa) ăn màu với thuốc nhuộm càng đậm khi tăng nồng độ mặn. Trái lại, band protein của giống IR28 thì lại nhạt dần khi nồng độ mặn tăng.



Hình 5: phổ điện di protein tổng số ở lá (A) NQB mùa và (B) IR28
Ghi chú: giếng 1, 2: 0 dS/m; 3, 4: 12,50 dS/m; 5, 6: 15,63 dS/m;
7, 8: 18,75 dS/m; 9, 10: 21,88 dS/m

Nhiều nghiên cứu cho thấy, sự tăng tích lũy một số chất tan trong tế bào như proline, polyamines, glycine betain, đường, polyols sẽ giúp cây tăng khả năng chống chịu khi trồng trong điều kiện mặn [17]. Taylor và CTV cho rằng, protein đáp ứng với mặn rất phức tạp trong việc làm thay đổi các quá trình trao đổi chất ở điều kiện mặn như loại bỏ gốc oxy hóa tự do, dẫn truyền tín hiệu, phiên mã, dịch mã ADN [18]. Sự thay đổi của các loại protein cũng như những thành phần của tế bào giúp cây thích nghi với điều kiện mặn phụ thuộc vào nồng độ mặn, thời gian xử lý mặn và giống cây trồng [19]. Thêm vào đó, các quá trình trao đổi chất và những loại protein liên kết với khả năng chống chịu mặn của cây vẫn chưa được biết rõ.

Kết luận

Để thích nghi với điều kiện mặn, cây lúa phát triển 3 chiến lược sau:

+ Cây lúa thải một lượng muối qua lá. Giống chống chịu mặn tốt thải muối qua lá thấp hơn giống nhiễm mặn. Ở nồng độ 21,88 dS/m, nồng độ muối của giọt nước trên lá của giống NQB mùa là 71,1 dS/m và giống IR28 là 148,4 dS/m.

+ Sự tẩm suberin và lignin được tìm thấy ở gần đầu rễ hơn trong điều kiện mặn. Riêng ở ngoại bì, các giống

chống chịu mặn có sự tẩm suberin và lignin ở gần đầu rễ hơn so với giống IR28.

+ Tăng hàm lượng một số protein như 135,90 kDa, 31,81 kDa ở rễ và bẹ lá; 115,58 kDa ở bẹ lá; 54 kDa ở lá.

Tài liệu tham khảo

- [1] Yoshida S, Forno D.A, Cock J.H and Gomez K.A (1976), *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*, IRRI, Las Banos, Laguna, pp.83.
- [2] Pham Quang Ha and Nguyen Van Tuat (2010), *Rice production and climate change in Vietnam*, IAE.
- [3] Reiner W, Hien N.X, Hoanh C.T and Tuong T.P (2004), "Sea Level Rise Affecting the Vietnamese Mekong Delta: Water Elevation in the Flood Season and Implications of Rice Production", *Climatic Change*, **66**, pp.89-107.
- [4] Cai X, Tong C, QingYuan Z, Lei X, LeQing Q, XueJun H and JinXing L (2011), "Development of Casparian strip in rice cultivars", *Plant signaling & behavior*, **6(1)**, pp.59-65.
- [5] IRRI (1997), "Screening rice for salinity tolerance", *IRRI discussion paper*, No.22, IRRI, P.O. Box 993, Manila 1099, Philippines.
- [6] Sambrook J and D.W Russell (2006), "SDS-Polyacrylamide Gel Electrophoresis of Proteins", *Molecular Cloning*, Vol.3.
- [7] Quan Thị Ái Liên, Võ Công Thành và Nguyễn Thị Huyền Nhung (2012), "Đánh giá khả năng chịu mặn và phẩm chất của giống lúa Sỏi, Một bụi hồng và Nàng quýt biển", *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, số 24a, trang 281-289.
- [8] Pannaga K et al (2009), "The role of root apoplastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.)", *Planta*, **230(1)**, pp.119-134.
- [9] Nguyễn Bá (2007), *Giáo trình thực vật học*, Nxb Giáo dục.
- [10] Singh R.K (2006), "Breeding for Salt Tolerance in Rice", *Plant breeding course*, IRRI.
- [11] Yeo A.R and Flowers T.J (1984), "Machensims of salinity resistance in rice and their role as physiological criteria in plant breeding In salinity tolerance in plants", *Wiley-Interscience*, New York, pp.151-170.
- [12] Hà Thị Lệ Anh (2006), *Giáo trình hình thái giải phẫu thực vật*, Tủ sách Đại học Cần Thơ.
- [13] Krishnamurthy P, Ranathunge K, Franke R, Prakash H.S, Schreiber L and Mathew M.K (2009), "The role of root apolastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.)", *Planta*, **230(1)**, pp.119-134.
- [14] Reinhardt D.H and Rost T.L (1995), "Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedling roots", *Environ. Exp. Bot*, **35**, pp.563-574.
- [15] Shannon M.C, Grieve C.M and Francois L.E (1994), "Whole plant response to salinity", In: Wilkinson R.E. (ed) *Plant-environment interactions*, Marcel Dekker, N.Y, pp.199-244.
- [16] Lee M.H, et al (2013), "Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress", *Plant Physiology and Biochemistry*, **70**, pp.325-335.
- [17] Gupta B and Huang B (2014), "Review: Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological biochemical and molecular characterization", *International J. of Genomics*, Vol.2014, pp.18.
- [18] Taylor N.L, Tan Y.F, Jacoby R.P and Millar A.H (2009), "Abiotic environmental stress induced changes in the Arabidopsis thaliana chloroplast, mitochondria and peroxisome proteomes", *J. Proteomics*, **72**, pp.367-378.
- [19] Liu Y, Du H, He X, Huang B and Wang Z (2011), "Indentification of differentially expressed salt-responsive proteins in roots of two perennial grass species contrasting in salinity tolerance", *J. of Plant Physiology*, **169(2)**, pp.117-126.