

# 高静水压诱导水稻变异的初步研究

白成科<sup>1</sup> 李桂双<sup>1,3</sup> 彭长连<sup>1</sup> 段俊<sup>1\*</sup> 徐世平<sup>2</sup> 翁克难<sup>2</sup>

(1. 中国科学院华南植物研究所, 广东 广州 510650; 2. 中国科学院广州地球化学研究所, 广东 广州 510640;

3. 西北农林科技大学农学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**以高静水压处理水稻粤香占、粤丰占、998、999 和毕粳 38 种子后的当代群体 ( $M_1$ ), 以及从中筛选到的突变株粤变长、巨无霸、粤丰压变 1 号-5 号、毕粳为材料, 研究了静水高压对水稻生长发育及其农艺性状的影响, 结果发现: (1) 与对照相比, 粤香占和 998 处理当代群体的株高和有效穗数明显增加, 但株叶形态没有明显变化; 粤丰占、999 和毕粳 38 的处理群体没有明显变化; (2) 粤变长和巨无霸从第二代 ( $M_2$ ) 到第四代 ( $M_4$ ) 性状稳定, 未发现明显分离, 但在株高、有效穗数、穗粒数、粒长和千粒重等方面, 与对照相比明显不同; (3) 在  $M_3$  代, 粤丰压变 1 号-5 号中除粤丰压变 2 号外的株高都发生了分离, 而且粤丰压变 4 号分离出了大粒型和长芒型的植株; (4) 毕粳从  $M_2$  代到  $M_4$  代, 性状稳定, 但其株高、穗长、粒长和穗粒数均比对照显著增加, 结实率和千粒重则明显降低; (5) 经静水高压处理后的粤丰占种子发芽试验中, 出现了双苗和 3 苗现象。这些结果表明静水高压能够影响水稻的生长发育, 并能诱导水稻产生变异。

**关键词:** 水稻; 突变体; 静水压

中图分类号: S511.035.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395 (2002) 02-0132-05

## Preliminary Study of Rice Mutants Induced by High Hydrostatic Pressure

BAI Cheng-ke<sup>1</sup> LI Gui-shuang<sup>1,3</sup> PENG Chang-lian<sup>1</sup>

DUAN Jun<sup>1\*</sup> XU Shi-ping<sup>2</sup> WENG Ke-nan<sup>2</sup>

(1. South China Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. Guangzhou Institute of Geochemistry, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China; 3. Department of Agronomy, Northwest Science-Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China)

**Abstract:** Indica rice (*Oryza sativa* L.) varieties Yuexiangzhan, Yuefengzhan and Japonica rice (*Oryza sativa* L.) 998, 999, Bijing 38, which were treated by high hydrostatic pressure, as well as their mutants (Yuebianchang, Juwuba, Yuefengyabian 1 to 5, and Bixian), were used to study the effect of high hydrostatic pressure on the growth and agronomic traits of rice. The seeds of all varieties were soaked for 10 h at room temperature, then treated under 75 MPa for 12 h after the seeds germinated. The results showed that the plant height, panicle number of  $M_1$  population of Yuexiangzhan and 998 increased obviously compared with the control, but no marked difference was observed in traits of Yuefengzhan, 999, and Bijing 38. Many traits including plant height, panicle number, grain number per panicle, grain length and 1000-grain weight of Yuebianchang and Juwuba from  $M_2$  to  $M_4$  were different from the control, and all of the traits among  $M_2$ ,  $M_3$  and  $M_4$  were stable. Plant height was segregated in  $M_3$  population of Yuefengyabian 1 to 5 except Yuefengyabian 2. Some mutants with larger grain and/or longer awn

收稿日期: 2002-06-27 接受日期: 2002-09-11

基金项目: 国家自然科学基金 (30070426); 科学院重点项目和国家重点基础研究发展规划项目 (G1998010100) 资助

\* 通讯作者 Corresponding author

were found in  $M_4$  population of Yuefengyabian 4. Plant height, panicle length, grain length and grain number per panicle increased significantly in  $M_2$  to  $M_4$  of Bixian compared with Bijing 38, but seed setting

percentage and 1000-grain weight obviously decreased. Twin or trine seedlings were observed from one seed when the treated seed of Yuefengzhan germinated in plate. This results indicate that high hydrostatic pressure not only influences rice growth and development, but also induces mutation.

**Key words:** Rice; Mutants; Hydrostatic pressure

高压可以影响蛋白质、核酸等生物大分子的结构,也对酶的活性有影响<sup>[1-4]</sup>。一般认为高压对生物的生长发育起抑制或破坏作用,长期以来主要应用于食品的灭菌和保鲜等方面<sup>[5]</sup>。但也有研究发现,深海区的微生物都是“嗜压”的,需要高压环境才能正常生长发育和繁殖<sup>[6]</sup>。有些在常压下生长的细菌,在一定的压力下培养,可促进其生长和繁殖<sup>[7]</sup>。Welch 等曾报道细菌在高压下除了固有蛋白质活性的提高或抑制外,还可以产生“压力蛋白”,使生物表现出对高压的适应<sup>[8]</sup>。徐世平等利用静水高压对水稻种子进行处理,初步观察到高压能影响水稻的某些生长特性<sup>[9,10]</sup>。本文对高压处理当代和已筛选的突变体进行大田多代种植,统计分析其主要农艺性状的变化,初步探讨了高压对水稻农艺性状影响的可能机制。

## 1 材料和方法

**材料** 供高压处理的粤香占和粤丰占原种由广东省农业科学院水稻研究所提供,古老的农家粳稻品种 998、999 由中国科学院农业项目办公室提供。粤变长和巨无霸是中国科学院广州地球化学研究所在 1999 年晚造,从高压处理的粤香占当代中筛选出的突变株, M<sub>4</sub> 种植于华南植物所实验大田。毕粳是中国科学院地球化学研究所 2000 年早造用 300 MPa 静水压力处理粳稻毕粳 38 种子 10 h 后,从当代群体中筛选的突变株(系), 2001 年晚

造种植在华南植物研究所试验大田(M<sub>4</sub>代)。粤丰压变 1 号-5 号是 2000 年中国科学院地球化学研究所在粤丰占静水高压处理当代中筛选的突变株,在 M<sub>2</sub> 代株系内混合收种, M<sub>3</sub> 代种植于华南植物研究所试验大田。

**高压处理方法** 将水稻种子在室温下浸种 10 h 左右,待其萌动后,在高压容器中以 75 MPa 的静水压力处理 12 h 后卸压。

**种植和考种方法** 将静水高压处理后的种子和突变株系的种子按常规方法催芽育秧,在 4-5 叶期移栽大田,按 6 cm × 6 cm 单株移植,常规大田管理。收获期从处理当代和突变株系群体(500 株)中,取长势一致的 10 株进行考种,对其考种数据做单因素无重复的方差分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 静水高压处理对水稻当代主要农艺性状的影响

在高压处理后的当代群体(800 株)中,取 10 株进行单株考种和统计分析。结果发现粤香占株高和有效穗数方面均比对照显著提高,穗粒数增加,结实率和千粒重下降,但差异不显著(表 1); 998 当代株高、有效穗数和结实率都超过了对照,差异显著(P < 0.05),穗粒数和千粒重有所下降,但未达显著差异; 粤丰占当代除千粒重较对对照明显增加外,其它性状变化不明显。这说明高压处理能够影响水稻当代某些农艺性状。

表 1 高压处理对水稻当代性状的影响  
Table 1 Effect of high hydrostatic pressure on agronomic traits of first generation of rice

	株高 Plant height (cm)	有效穗数 Effective panicles	穗粒数 Grain number per panicle	结实率 Seed setting percentage (%)	千粒重 1000-grain weight (g)
粤香占 Yuexiangzhan (Control)	81.0±6.1	9.6±1.5	142.3±14.0	87.7±0.05	18.13±0.06
高压处理粤香占 Treated Yuexiangzhan	86.4±3.6*	12.2±1.6*	149.7±19.3	84.2±0.03	18.03±0.03
粤丰占 Yuefengzhan (Control)	89.0±2.2	11.8±0.9	160.6±18.6	89.3±0.06	21.30±0.09*
高压处理粤丰占 Treated Yuefengzhan	86.6±3.1	11.0±1.0	162.5±17.2	88.6±0.04	19.26±0.04
998 (Control)	52.2±0.8	15.4±2.3	47.4±3.8	88.1±0.03	28.03±0.02
高压处理 998 Treated 998	55.8±1.9*	17.2±2.6*	44.2±2.6	90.7±0.05*	27.73±0.06
999 (Control)	68.2±1.5	12.7±2.1	77.2±7.5	89.0±0.04	26.20±0.06
高压处理 999 Treated 999	66.9±1.4	10.0±1.2	81.3±10.8	88.0±0.11	26.60±0.02

\* 表示在 P<0.05 水平有显著差异 Significant difference at 5% level

## 2.2 高压诱变后稳定突变株系的农艺性状

粤变长、巨无霸、毕籼和粤丰压变 2 号, 经过 4 代种植, 没有发现明显分离现象。与对照粤香占相比, 粤变长的粒长、株高、千粒重和穗粒数明显增加, 有效穗数和结实率却相对减少; 巨无霸的株型高大、生长旺盛, 穗粒数平均增加 121 粒, 籽粒变大, 千粒重增加极显著, 结实率却明显降低; 毕籼与对照毕粳 38 相比, 穗变长 (图版 I: C、E), 穗粒数明显增加, 粒型变长, 株高增加, 千粒重和结实率却明显减少; 粤丰压变 2 号相对对照粤丰占来说, 株高和千粒重明显增加, 其它性状变化不明显 (表 2)。

## 2.3 高压诱变的不稳定突变株后代农艺性状的分离

### 2.3.1 株高

从静水高压处理后的粤丰占群体中得到的 5

个突变株中, 除粤丰压变 2 号外, 其它几个突变株在  $M_3$  代出现了株高的分离 (表 3)。粤丰压变 1 号和 3 号株系内分别出现了向较对照株增高或变矮两个方向的分离, 而 4 号和 5 号都出现了向较对照株高增加的方向分离。

### 2.3.2 粒型

从图版 I: B 和表 4 可以看出, 粤丰压变 4 号在  $M_3$  出现了特大粒型和长芒型的谷粒。在调查的 250 株中, 有芒的共 11 株, 占 4.4%, 芒长从 0.5–4 cm 不等; 大粒型共出现 4 株, 在粒长、粒宽和长宽比上与对照相比, 有极显著差异, 千粒重高达 39.5 g, 较粤丰占增加 50.1%, 大粒型变异株可以作为提高千粒重的种质资源。

### 2.3.3 育性

粤丰压变 5 号, 在  $M_4$  代群体中 (105 株), 出现

表 2 稳定变异株系的主要农艺性状  
Table 2 Main agronomic traits of stable mutation lines

	株高 Plant height (cm)	有效穗数 Effective panicles	穗粒数 Grain number per panicle	结实率 Seed setting percentage (%)	千粒重 1000 -grains weight (g)
粤香占 Yuexiangzhan (C)	81.0±6.1	9.6±1.0	142.3±21.6	84.66±0.05	18.13±0.05
粤变长 Yuebianchang	95.4±3.6**	7.6±1.2*	175.1±16.0*	72.7±0.07*	19.53±0.06*
巨无霸 Juwuba	104.2±3.1**	7.4±1.3*	263.5±23.5**	76.4±0.07	24.20±0.04**
粤丰占 Yuefengzhan (C)	89.0±2.6	11.8±1.0	160.6±12.2	89.3±0.08	21.30±0.02
粤丰压变 2 Yuefengyabian 2	94±1.9*	12.2±1.2	165.3±10.6	88.6±0.04	23.05±0.05*
毕粳 38 Bijing 38 (C)	93.8±3.6	8.3±1.1	125.2±8.6	98.7±0.01	26.80±0.08
毕籼 Bixian	98.8±2.6*	8.0±1.0	207.4±23.5**	87.1±0.02*	21.05±0.05*

C= Control; \* 表示在  $P<0.05$  水平有显著差异 Significant difference at 5% level; \*\* 表示在  $P<0.01$  水平有极显著差异 Significant difference at 1% level; 表 4 同 The same for Table 4

表 3 粤丰占变异株系株高的分离  
Table 3 Segregation of mutant Yuefengzhan in plant height after treatment by high hydrostatic pressure

	总株数 Total individuals	分离情况 Segregation		
		株高分离范围 (cm) Range of plant height	株数 No. of individuals	占总株数的 % % of total plants
粤丰占(对照) Yuefengzhan (Control)	252	无分离现象, 生长整齐一致, 株高平均在 89.5cm	252	100
粤丰压变 1 号 Yuefengyabian 1	94	78–85	30	32
		90–98.5	75	80
		102–109	9	10
粤丰压变 3 号 Yuefengyabian 3	252	78–85	37	15
		130–140	210	83
		145–165	5	2
粤丰压变 4 号 Yuefengyabian 4	252	98–104	238	94
		110–120	9	4
		120–122	5	2
粤丰压变 5 号 Yuefengyabian 5	105	86–96	99	94
		100–107	6	6

表4 变异株系粒长、粒宽和千粒重  
Table 4 Comparison of grain traits among mutants

	粒长 (mm) Grain length	粒宽 (mm) Grain width	长/宽 Length/width ratio	千粒重 (g) 1000-grain weight
粤丰占 Yuefengzhan (Control)	9.56±0.09	2.69±0.03	3.55±0.05	26.2±0.41
粤丰压变4号 Yuefengyabian 4	9.62±0.10	2.79±0.02	3.45±0.02	26.4±0.05
大粒变异株 Mutant with large grains	10.16±0.10**	3.51±0.08*	2.89±0.04**	39.5±0.60**

\*, \*\* 同表2 The same as in Table 2

了11株不育株(图版I: D), 抽穗期经过碘-碘化钾镜检, 花粉属于圆败不育, 花粉不育率达95%以上, 不育株出现几率高达10.5%, 同时出现了4株结实率在50%~80%且包颈严重的变异株。

### 3 讨论

静水高压处理水稻种子后, 不但水稻前期生长受到影响<sup>[9, 10]</sup>, 而且部分品种的处理当代在有效穗数、株高和结实率等性状方面发生了显著变化(如粤香占和998), 表明静水高压能够影响水稻一生的发育。静水高压处理对水稻种子萌发来说是一种逆境, 虽然从萌发期就解除了这种胁迫, 但其影响却一直维持到生育后期, 从而使有效穗数和株高等主要农艺性状发生明显变化。粤丰占和古老的农家粳稻品种999的高压处理当代, 群体的性状却没有发生明显变异, 这些结果表明, 不同的处理材料, 遗传背景不同, 高压处理的结果也有所不同。

高压诱变后筛选的突变株系, 出现了两种类型, 一种是从M<sub>2</sub>代开始就能够稳定遗传的类型, 如粤变长和巨无霸等, 长粒、穗大、粒多和长势旺等突变性状直到M<sub>4</sub>代都没有发生明显分离; 另一种类型是突变株后代并不稳定, 仍发生分离, 如粤丰占高压处理后得到的突变株系粤丰压变1号和3号-5号, 在M<sub>3</sub>出现了株高、大粒、长芒和不育等多种类型的植株(图版I: B、D)。萌动的水稻种子内部生理代谢活性开始旺盛进行, 细胞处于快速分裂增殖和分化时期, 这时施加一个外来静水高压, 其DNA的复制、转录和翻译过程都可能会受到影响, 同时也可能会诱导或抑制某些基因的表达或基因的突变, 从而诱导水稻产生新的变异, 但其具体机理还不清楚, 有待于进一步深入研究。

无融合生殖材料多具有双胚珠、双胚囊、双胚、双苗或多苗等特性<sup>[11]</sup>, 虽然有些双苗或多苗并不一定来源于无融合生殖<sup>[12]</sup>, 但由于这一现象与无融合生殖密切相关, 易于鉴别, 所以常利用这一线索来

筛选无融合生殖突变体<sup>[13]</sup>, 用于固定杂种优势, 简化繁琐的育种和种子制种程序, 提高经济效益。我们利用静水高压处理水稻粤丰占, 获得了双苗和3苗的突变体(图版I: F), 这有可能成为一种获得无融合生殖材料的新途径。

高压诱导水稻当代或后代出现了丰富的农艺性状变异, 这有利于品种的选育和种质资源的扩大、更新。从作物育种的角度来看, 高压处理水稻有望成为一种新的育种方法。因此, 了解高压影响植物生长发育和遗传的作用机理, 具有非常重要的理论意义和应用前景。

致谢: 在实验材料处理过程中得到了中国科学院广州地球化学研究所律广才老师的帮助, 在文章修改过程中得到了中国科学院华南植物研究所陈贻竹研究员的多次修改并提出了宝贵意见, 在此一并表示感谢!

### 参考文献

- [1] Gross M, Jaeniche R. Proteins under pressure—The influence of high hydrostatic pressure on the structure, function and assembly of proteins and protein complexes [J]. *Eur J Biochem*, 1994, 221: 617-630.
- [2] Samrasinghe S D. High resolution NMR study of pressure induced unfolding of lysozyme [J]. *Biochemistry*, 1992, 31:7773-7778.
- [3] Heremans K, Smeller L. Protein structure and dynamics at high pressure [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1386: 353-370.
- [4] Lange R, Balny C. UV-visible derivative spectroscopy under high pressure [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1595: 80-93.
- [5] Farr D. High pressure technology in the food industry [J]. *Trends Food Sci Techn*, 1990, 1:14-16.
- [6] Yayanos A A. *Current Perspectives in High Pressure Biology* [M]. London: Academic Press, 1987. 17-32.
- [7] Madan P, Barbara S, William B D, et al. Mechanisms of induction of germination of *Bacillus subtilis* spores by high pressure [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(6):3172-3175.
- [8] Welch T J, Farewell A, Neidhardt F C, et al. Stress responses of *E. coli* elevated hydrostatic pressure [J]. *J Bacteriol*, 1993,

175:7170-7177.

- [9] Xu S P (徐世平), Liao Y P (廖耀平), Weng K N (翁克难), et al. Pressure induced rice mutation and effects of high hydrostatic pressure on the growth and development of rice [J]. *Chin J High Pressure Phys* (高压物理学报), 2001, 15(4):241-248. (in Chinese).
- [10] Xu S P (徐世平), Liao Y P (廖耀平), Xiao W S (肖万生), et al. Effects of high pressure on the growth and development of rice [J]. *Chin J High Pressure Phys* (高压物理学报), 1999, 13 (suppl): 58-62. (in Chinese)
- [11] Li Y Q (黎垣庆), Yuan L P (袁隆平). Studies on genetics of twin seedlings in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Acta Agro Sin* (农业工程学报), 1990, 16 (2): 176-181. (in Chinese).
- [12] Hanna W W, Powell J B. Stubby head, an induced facultative apomict in pearl millet [J]. *Crop Sci*, 1973, 13: 726-728.
- [13] Rao P N, Ranganadham P, Nirmala A. Polyembryony in pearl millet, *Pennisetum typhoide* [J]. *Crop Sci*, 1968, 8:771-773.

## 图版说明

### 图版 I

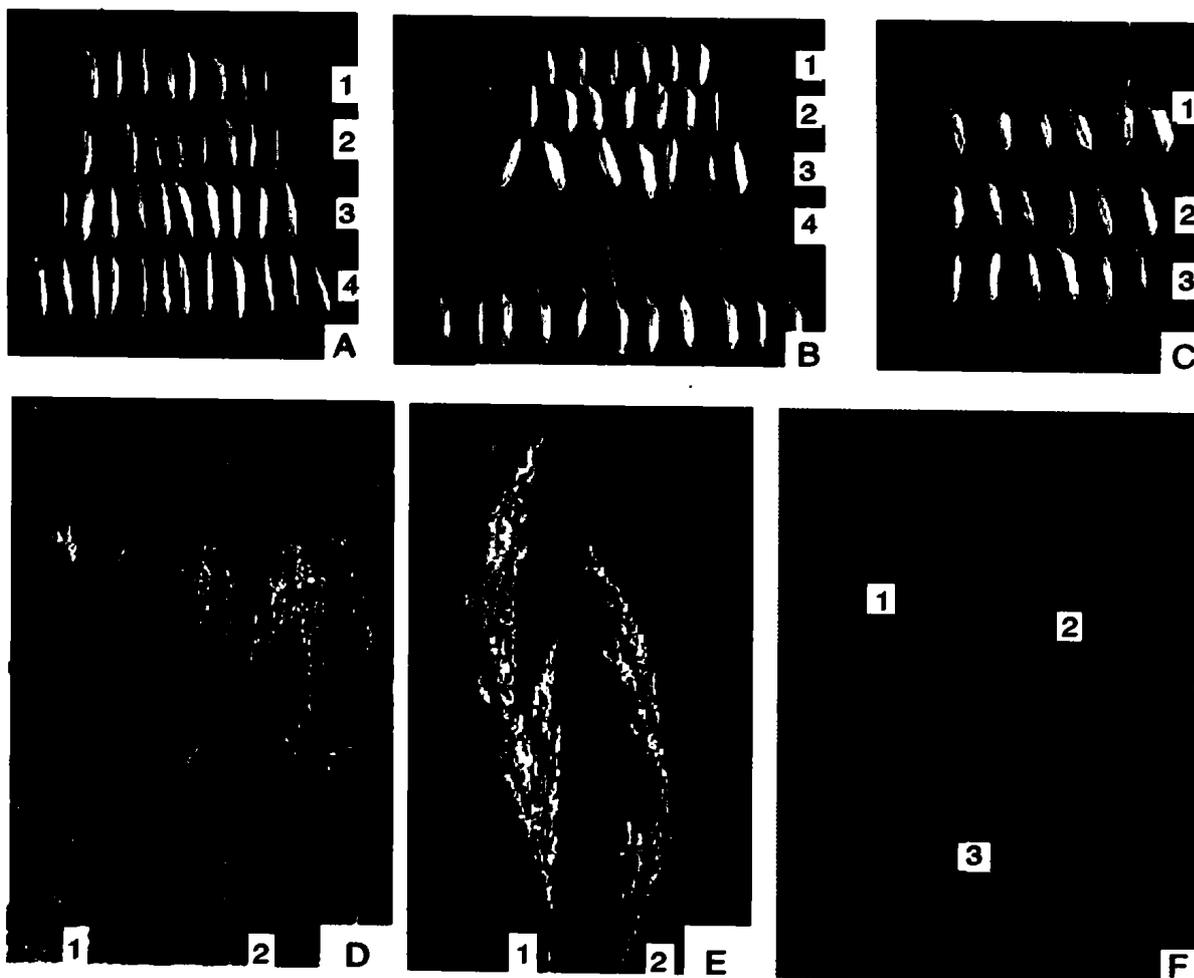
- A. 高静水压诱变的稳定突变株系的粒型变化, 1. 粤香占; 2. 粤香占处理; 3. 巨无霸; 4. 粤变长
- B. 粤丰压变 4 号  $M_3$  出现的突变株粒型, 1. 粤丰占; 2. 粤丰压变 4 号; 3. 大粒型; 4. 长芒型

- C. 毕粳 38 压变的籼型突变株的粒型变化, 1. 毕粳 38; 2. 毕粳  $M_2$ ; 3. 毕粳  $M_4$
- D. 粤丰压变 5 号  $M_3$  代出现的不育株, 1. 不育株; 2. 粤丰压变 5 号
- E. 毕粳 38 压变的毕粳穗型变化, 1. 毕粳; 2. 毕粳 38
- F. 粤丰占静水高压出现的双苗和三苗, 1. 单苗; 2. 双苗; 3. 三苗

## Explanation of plate

### Plate I

- A. Change of grain form of stable mutant induced by high hydrostatic pressure. 1. Yuexiangzhan (Control); 2. The treated "Yuexiangzhan" ( $M_1$ ); 3. Juwuba; 4. Yuebianchang.
- B. Grain form of mutant found in  $M_3$  of Yuefengyabian 4. 1. Yuefengzhan (Control); 2. Yuefengyabian 4; 3. Large-grain form; 4. Long-awn form.
- C. Grain form of indica-tendentious mutant in Bijing38 population. 1. Bijing38; 2.  $M_1$  of Bixian; 3. Bixian.
- D. Male sterile germplasm found in  $M_3$  of Yuefengyabian 5. 1. Male sterile germplasm; 2. Yuefengyabian 5.
- E. Change of spike type of Bixian in Bijing38 population. 1. Bixian; 2. Bijing38
- F. Twin seedlings and three seedlings observed in "Yuefengzhan" seed treated by high hydrostatic pressure. 1. Single seedling; 2. Twin seedlings; 3. Three seedlings.



See explanation at the text