

高静水压诱导水稻产生突变的研究^{*}

李桂双^{1,2}, 白成科², 段俊¹, 彭长连³

(1. 中国科学院华南植物园, 广东广州 510650;

2. 陕西师范大学生命科学学院, 陕西西安 710062;

3. 华南师范大学生命科学学院, 广东广州 510631)

摘要: 以 78 MPa 高静水压力处理已浸泡 10 h 的水稻(*Oryza sativa* L.) 粤香占、粤丰占和测 64 种子 12 h, 成苗后移栽至大田, 对其处理当代和后代的农艺性状进行调查和分析, 结果表明, 处理当代中, 粤香占、粤丰占和测 64 的穗粒数分别增加了 5.2%、1.2% 和 17.0%, 且测 64 达到显著性差异水平; 测 64 处理的生育期延长 10 d, 而粤香占和粤丰占则分别早熟 5 d 和 2 d。在处理的当代和后代中出现了可遗传的突变体, 突变性状中既有质量性状也有数量性状, 其中紫色叶鞘和穗下节伸长属于质量性状突变, 株高、粒长和穗粒数等属于数量性状突变。突变频率因品种不同而存在差异, 表现为: 测 64 > 粤丰占 > 粤香占。通过 4 年 6 代的筛选, 共获得近 100 份包括叶、茎、穗、粒、育性和生育期等性状发生明显变异的突变体, 已稳定的突变株系 22 个, 其中 7 个突变株系的综合性状明显较对照好, 具有良好的应用前景。

关键词: 高静水压; 水稻; 突变

中图分类号: O521.21

文献标识码: A

1 引言

水稻是中国乃至世界上重要的粮食作物之一。从水稻育种的发展进程来看, 育种方法主要围绕着有效地创造丰富的变异群体和准确筛选具有应用价值的优良基因型来进行^[1]。植物诱变育种的多年研究表明, 通过诱发植物的基因突变或打破基因间的连锁, 可以产生性状丰富的突变体^[2], 经过多种育种手段的相互结合, 现已培育了许多在生产上大面积推广的优良品种^[3-4]。高静水压诱变技术作为水稻育种中诱发突变的新方法的探索始于 1998 年^[5], 在此之前, 高压技术主要被应用于食品加工中^[6], 近年来在国际上已经成为深海生物学、分子生物学和生物医学等交叉领域研究中的热点^[7-8], 现有的研究表明, 高压除了影响细胞膜和显微结构等外^[9-10], 还会对淀粉和蛋白质等生物大分子以及 DNA 和 RNA 等遗传物质产生重要影响^[11-13]。我们前期的研究发现高静水压处理能够显著降低水稻种子的发芽率和成苗率, 同时影响到水稻的生理特性, 并可诱导水稻产生可遗传的变异^[5, 14-15]。

本工作对近 4 年来经高静水压诱变水稻后获得的突变体进行了分类和分析, 调查经多代“优中选优”的稳定优良突变株系的农艺性状, 旨在为高压诱变技术在水稻育种上的应用提供理论依据和指导。

2 材料与方法

2.1 高压处理

将精选的水稻粤香占(*Oryza sativa* L. cv. Yuexiangzhan)、粤丰占(*Oryza sativa* L. cv. Yuefeng-

^{*} 收稿日期: 2005-09-04; 修回日期: 2005-10-24

基金项目: 国家自然科学基金(30471002); 广东省自然科学基金重点项目(05103637)

作者简介: 李桂双(1975—), 女, 博士研究生. E-mail: guishuangli@scbg.ac.cn

通讯作者: 段俊, 男, 博士生导师, 主要研究方向为作物遗传育种与生物技术. E-mail: duanj@scib.ac.cn

zhan)和测 64(*Oryza sativa* L. cv. Ce 64)饱满种子浸种 10 h,分成两组,一组用于 78 MPa 的高静水压力处理 12 h,另一组未作处理,常温下浸种 12 h 以作为对照。

2.2 M₁ 代筛选

于 2001 年至 2004 年间分批多次的进行处理和实验,将处理和对照的种子常规催芽,10 d 时统计种子发芽率,播种于中国科学院华南植物园实验用育秧床中,期间统计成苗率,待秧苗四叶期时移栽至实验大田中,株距 18 cm、行距 20 cm,常规水肥管理和病虫害防治,处理当代即 M₁ 代。及时对突变株进行标记和编号,并套袋自交。突变株成熟后进行单株收种和室内考种,对除突变株外的群体混合收种,每穗随机收取穗上部 3~5 粒,晒干后备用。

2.3 M₂ 代筛选

将 M₁ 代的种子浸种催芽,播种并移栽于大田中。突变株系群体 150 株以上,混合收种的群体 2 000 株以上,各对照群体 500 株以上。对来源于 M₁ 代的突变株系的性状进行调查与统计;在 M₁ 代混合收种的后代 M₂ 中继续筛选新的突变体。依照 M₁ 代的方法收种并考种。

2.4 M₃ 代及以后世代中突变体的筛选

M₃ 代及以后世代中筛选突变体均依照 M₂ 代方法进行,及时对特殊性状进行记录。

3 结果与分析

3.1 M₁ 代农艺性状及突变株的筛选

由表 1 可以看出,高静水压对水稻当代群体农艺性状的影响因品种不同而存在差异。与对照相比,高压处理的粤香占、粤丰占和测 64 的穗粒数分别增加了 5.2%、1.2%和 17.0%,其中测 64 处理达到显著性差异水平;粤香占和测 64 的株高显著增加;粤丰占当代群体的千粒重降低了 9.6%;测 64 处理当代的抽穗期推迟,生育期延长 10 d,而粤香占和粤丰占群体则比其对照分别早熟 5 d 和 2 d。

从粤香占 M₁ 代群体中筛选到 1 株早熟和 2 株植株变高的突变株,突变频率为 5%(突变频率指突变株数占群体总株数的百分数,下同);测 64 中筛选到 1 株籽粒长、穗大、株型好的单株,同时筛选到 5 株迟熟 10~15 d 的单株,突变频率为 8%。

表 1 高静水压对水稻当代(M₁)农艺性状的影响
Table 1 Effects of HHP on agronomic traits in M₁ generation

Treatment	Plant height /(cm)	Effective panicles	Grain numbers per panicle	Seed setting percentage/(%)	1 000-grain weight/(g)	Period of duration/(d)
Yuexiangzhan(Ctr)	81.0±6.1	9.6±1.5	142.3±14.0	87.7±0.05	18.13±0.06	115
Yuexiangzhan(HP)	86.4±3.6 ^(a)	12.2±1.6 ^(a)	149.7±19.3	84.2±0.03	18.03±0.03	110
Yuefengzhan(Ctr)	89.0±2.2	11.8±0.9	160.6±18.6	89.3±0.06	21.30±0.09 ^(a)	120
Yuefengzhan(HP)	86.6±3.1	11.0±1.0	162.5±17.2	88.6±0.04	19.26±0.04	118
Ce 64(Ctr)	80.2±0.8	10.8±0.8	209.0±14.4	95.1±2.3	23.50±0.08	108
Ce 64(HP)	91.0±3.2 ^(a)	11.6±1.1	244.6±12.1 ^(a)	95.2±1.1	23.86±0.11	118

Note: (a) Significant difference at the 5% level.

3.2 M₂ 代的表现及性状的分离

经高静水压处理的水稻,在 M₂ 代混合群体中出现了早熟、矮化或籽粒变色等突变体,群体中除突变体之外的植株的主要农艺性状与对照之间未见明显差别,因此,M₂ 世代是筛选突变体的较好世代。在从粤丰占的 M₂ 混合群体(2 000 株)中筛选到株高、生育期、籽粒变色或叶鞘变色等突变体 18 个,突变体出现的频率约 1%;从测 64 的 M₂ 代混合群体(2 000 株)中筛选到植株变高或迟熟的突变体 40 个,突变体出现的频率为 2%。

3.3 各世代筛选的突变体类型

筛选的突变体经过单株收种后种植成突变株系,这些突变株系大部分在下一代(M_3)世代中出现了性状分离,少部分株系在 M_2 世代中表现性状的稳定。在性状分离的突变株系的以后世代中,相继出现了早熟、矮化、增高、不育、长芒、长粒、颖壳颜色(麻色、红色、白色)、叶色、剑叶倾角和分蘖角度等多种性状的突变体。

3.3.1 熟期突变

熟期是高静水压处理水稻后突变频率出现较高的性状之一。处理当代的粤香占群体较对照平均早熟 5 d,且从中筛选到早熟 15 d 的突变株,但该突变株在 M_2 中早熟略少于 15 d,只有 12 d。在测 64 的处理当代中出现了较对照迟熟 10~15 d 的突变体 5 株,其中 2 个突变体的熟期在 M_2 发生分离,出现比对照迟熟 10 d 的植株,最迟熟的可长达 20 d;3 个突变体的后代株系群体在大田中表现稳定,均较对照迟熟约 10~15 d;混合收种的测 64 在 M_2 中熟期性状分离明显。在粤丰占处理当代和后代群体中都出现早熟突变株,2 个突变株后代发生早熟和迟熟的分离,部分迟熟的植株甚至不能抽穗。

3.3.2 叶的突变

(1) 叶色突变

高静水压处理的粤香占、粤丰占和测 64 的叶色出现了变淡、加深和叶缘紫色三种突变。叶色变淡的株系叶片黄绿色,性状稳定,后代不发生叶色分离,但植株穗小粒少且着粒密度小,此类突变体在处理的粤香占群体中曾多次出现;叶色加深的突变体的叶片深绿,后代中部分表现叶色稳定,部分(4 个)发生叶色分离,分别为对照色、深绿色和中间色,此类突变体在粤丰占的突变株系中尤为明显。叶缘紫色的突变体,其叶色深、叶缘紫、稃尖红,此类突变体是在处理的粤丰占群体中筛选到的。

(2) 叶型突变

水稻经高静水压处理后,在处理后的群体中筛选到多种叶型突变株,其中宽叶型的 3 个、细窄叶型的 1 个、披垂叶型的 1 个(剑叶与主茎间倾角大)、直立叶型的 1 个、短小叶型的以及剑叶为卷叶型的 1 个。具细窄叶型的突变体穗部的着粒密度小、穗粒数少;具有披垂叶型的突变体的茎的分蘖角度大,具有直立叶型的突变株的成熟期推迟,结实率差,有时表现不育。

(3) 叶鞘突变

经高压处理的粤丰占当代和后代中均出现具有紫色叶鞘的突变株,而粤丰占正常叶鞘颜色为绿色。筛选的具有紫色叶鞘的突变株,其紫色性状在幼苗期表现不明显,移栽大田直至抽穗前表现逐渐明显。从粤丰占 M_2 代中筛选到 5 株具有紫色叶鞘的植株,在单株收种后种植的株系中,叶鞘颜色发生了紫色和绿色的分离。在紫色叶鞘株系的高世代(M_5)中分别选取 2 个具绿色和紫色叶鞘的单株,套袋自交,单株收获,分别种植在大田中的 3 个小区中(M_6 代),统计叶鞘颜色的分离情况后发现,其中一个具紫色叶鞘的单株的后代发生了紫色叶鞘和绿色叶鞘的分离,经过卡方测验,紫色叶鞘和绿色叶鞘植株比例是 3:1(见表 2),符合单基因分离规律,另一个具紫色叶鞘的单株后代没有发生叶鞘颜色的分离,这可能与控制紫色叶鞘的基因已纯合有关。具绿色叶鞘的单株后代未见叶鞘颜色的分离,表明叶鞘颜色属于单基因控制的质量性状,紫色对绿色为显性,绿色变为紫色是显性突变所致。

3.3.3 株型突变

经高静水压处理的粤香占和测 64 的当代和后代中均筛选到高秆或矮生等株型变化的突变体,从粤丰占的后代中筛选到高秆、矮秆、散生、半散生、多蘖、高位分蘖和矮生等多种类型突变体,其中 4 个突变体在 M_2 代中的株高向高、矮两个方向发生分离,但不符合质量性状分离规律,属于数量性状的连续分布。

3.3.4 穗部性状突变

(1) 穗型突变

穗型突变指正常的稻穗变成了包茎型穗、直立型穗、披垂型穗、长茎型穗、大穗型穗或着粒密度小的

稻穗,有的顶部颖花退化(“秃顶”)。在粤丰占处理 M_2 代中筛选到 1 株具有长茎型穗的突变株,株高较对照增加 40%,穗下节长度较对照增加 75%,茎秆细、叶色淡,后代不发生分离,此类突变可能属于隐性突变。在穗型变化上粤丰占变化突出,在高静水压处理的粤丰占群体中共筛选到 15 株穗型发生突变的突变体。

表 2 粤丰占突变体的叶鞘颜色在高世代(M_6)中的分离情况

Table 2 Separation of color of leaf sheath in M_6 progeny of Yuefengzhan mutants

Leaf sheath color of M_5	M_6	Number of plants with purple leaf sheath	Number of plants with green leaf sheath	Separation proportion	$\chi^2(3:1)$	P
Purpl	YF6-1	112	0	—		
	YF6-2	88	0	—		
	YF6-3	72	0	—		
Purpl	YF6-4	70	26	3:1	1.41	0.2~0.3
	YF6-5	69	25	3:1	0.12	0.7~0.8
	YF6-6	72	24	3:1	0.00	0.0
Green	YF6-7	0	96	—		
	YF6-8	0	104	—		
	YF6-9	0	104	—		
Green	YF6-10	0	96	—		
	YF6-12	0	104	—		
	YF6-13	0	96	—		

Note: $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$, YF—Yuefengzhan.

(2) 粒型突变

从高静水压处理的粤丰占后代中,筛选到长粒突变体 2 个、大粒突变体 1 个、长芒突变体(芒长 4~6 cm)10 个和短芒突变体(芒长 1~3 cm)5 个。从处理的粤香占和测 64 群体中均筛选到长粒突变体,其粒长、籽粒长宽比和千粒重均较对照明显增加,见表 3。粤丰占的大粒型突变体的粒长、粒宽和千粒重较对照分别增加 5.6%、28.6%和 85.4%。

表 3 部分突变株系的籽粒性状比较

Table 3 Comparison of grain traits in some mutation lines

Mutation lines	Grain length /(mm)	Grain width /(mm)	Length/Width ratio	1 000-grain weight /(g)
Yuexiangzhan (Ctr)	9.56±0.09	2.69±0.03	3.55±0.05	18.13±0.41
Yuexiangzhan mutants with longer grains	11.65±0.10	2.61±0.02	4.46±0.02	19.34±0.20
Yuefengzhan (Ctr)	9.62±0.08	2.73±0.06	3.42±0.06	21.30±0.17
Yuefengzhan mutants with longer grains	10.16±0.10 ⁽²⁾	3.51±0.08 ⁽¹⁾	2.89±0.04 ⁽²⁾	39.50±0.60 ⁽²⁾
Ce 64 (Ctr)	9.86±0.06	2.52±0.06	3.91±0.04	23.50±0.22
Ce 64 mutants with longer grains	10.85±0.05 ⁽¹⁾	2.50±0.04	4.34±0.06 ⁽¹⁾	23.85±0.16

Note: (1), (2) Significant difference at the 5% and 1% levels, respectively. The same as followed.

(3) 颖壳颜色突变

粤丰占的籽粒颖壳颜色为金黄色,在经高静水压处理后的各世代分离群体中筛选到 7 株麻壳、3 株褐色壳、4 株灰色壳、1 株红色壳、5 株粒端红色(俗称“红嘴”)等粒色发生变化的突变体。

3.3.5 育性突变

供试的水稻品种正常可育,但从经高静水压处理后的群体中发现了 10 株不育株和 45 株部分不育株,且不育株常与抽穗迟或不抽穗等相伴随,部分不育株表现为育性降低或半不育,常与矮生性状相伴随。

3.4 稳定突变株系与优良突变株系的农艺性状

通过 4 年的实验,从近 100 份突变体中筛选到 22 个稳定突变株系,将部分突变株系进行比较后发现,粤香占的突变株系易稳定,部分株系在 M_2 代即可稳定,部分株系在 M_4 代稳定,分离的类型较少,从中筛选到 7 个稳定的突变株系 YX-HP I ~ YX-HP VII (见表 4、表 5),其中突变株系 YX-HP VI 和 YX-HP VII 性状表现优良(见表 5),另外 5 个突变株系的穗粒数均较对照粤香占增加。YX-HP I ~ YX-HP VII 的部分性状尽管优良,但个别的较差性状,如 YX-HP I 千粒重低、YX-HP II 有效穗数少、YX-HP III 贪青晚熟、易倒伏、YX-HP V 株型分散和有效穗数少等限制了突变体的直接利用。粤丰占的突变株系难稳定,其株高、芒长、颖壳颜色和熟期等性状易分离,仅有部分株系在 M_5 和 M_6 相对稳定。通过多代的单株选择,获得 8 个稳定的突变株系(YF-HP i ~ YF-HP viii),其中 4 个突变株系 YF-HP v ~ YF-HP viii 表现优良(见表 5)。另 4 个突变株系的叶片呈披垂状、茎秆细软、株型差,综合性状较差,直接应用于新品种培育中则有一定的难度。在测 64 的处理当代群体中筛选到 5 株迟熟突变体(Ce 64-1~Ce 64-5,见表 4)和 1 株茎秆粗壮、熟色好且籽粒较长的优良单株(测 64 优/Ce 64-Good,见表 5)。与对照相比,迟熟突变株系推迟 13~20 d 成熟,在生育后期遇到高温高湿(早季)和寒露风(晚季)的恶劣天气的情况下,剑叶不早衰,茎秆蜡黄、熟色好,因此,测 64 迟熟突变株系无论是在培育新品种中直接加以利用还是作为新材料间接利用均具有良好的应用价值。

7 个优良突变株系的田间综合性状表现良好(见表 5),YX-HP VI 和 YX-HP VII 的株型和粒色与粤香占相似,株高、有效穗数、穗粒数、结实率和千粒重均较粤香占明显增加。粤丰占的优良突变株系的茎秆粗壮,熟色流畅,性状优良。测 64 优的穗大粒多,米粒外观品质优良,生育期延长,剑叶不早衰,茎秆粗壮,熟色好,综合性状优良。这 7 个优良突变株系符合培育“生育期适中、综合性状优良和高产优质”的育种目标,可作为培育水稻新品种的苗头品系,通过进一步的田间品比和区试,有望成为新的品种或品系。

表 4 高静水压诱变水稻稳定突变株系的农艺性状的比较
Table 4 Comparison of agronomic traits in stable mutation lines by HHP treatment

Mutation lines	Plant height /(cm)	Effective panicles	Grain numbers per panicle	Seed setting percentage/(%)	1 000-grain weight/(g)	Period of duration/(d)
Yuexiangzhan(Ctr)	81.0±6.1	9.6±1.0	142.3±21.6	84.66±0.05	18.13±0.05	115
YX-HP I	87.95±5.2	11.1±0.7 ⁽¹⁾	164.75±17.6	82.28±0.10	17.33±0.06	112
YX-HP II	95.3±4.5	6.5±0.9	211.17±23.5 ⁽¹⁾	87.77±0.20	24.23±0.03 ⁽²⁾	106
YX-HP III	99.1±3.5 ⁽¹⁾	7.1±1.1	243.4±26.8 ⁽²⁾	68.39±0.2 ⁽¹⁾	19.52±0.04	120
YX-HP IV	95.4±3.6 ⁽²⁾	7.6±1.2 ⁽¹⁾	175.1±16.0	72.7±0.07 ⁽¹⁾	19.53±0.06 ⁽¹⁾	112
YX-HP V	104.2±3.1 ⁽²⁾	7.4±1.3 ⁽¹⁾	263.5±23.5 ⁽²⁾	76.4±0.07	24.20±0.04 ⁽²⁾	118
Yuefengzhan(Ctr)	100.4±4.0	7.3±0.8	249.2±10.6	92.2±0.6	21.8±0.2	120
YF-HP i	103.8±1.3	8.8±1.9	326.8±25.7 ⁽¹⁾	86.0±3.1	20.90±0.54	125
YF-HP ii	103.4±3.6	11.6±1.7 ⁽¹⁾	278.6±29.0	90.4±1.1	20.50±0.48	122
YF-HP iii	96±2.4	10.8±1.9 ⁽¹⁾	318.2±54.6 ⁽¹⁾	88.2±3.2	19.85±0.28	125
YF-HP iv	101.6±2.6	9.2±1.6	273.8±11.0	90.8±1.4	20.9±0.2	120
Ce 64(Ctr)	70.4±1.5	9.6±0.9	117.2±5.6	88.8±1.9	25.7±0.1	117
Ce 64-1	75.4±1.8	10.4±2.5	192.2±9.6	88.4±0.9	24.7±0.1	130
Ce 64-2	78.0±3.8 ⁽¹⁾	8.4±1.3	233.4±5.0 ⁽²⁾	90.8±1.1	24.3±0.1	132
Ce 64-3	74.8±3.5	9.4±2.1	202±9.1 ⁽¹⁾	91.0±0.5	24.1±0.1	130
Ce 64-4	78.4±4.8 ⁽¹⁾	10.6±2.1	235.2±7.4 ⁽²⁾	91.0±0.9	24.2±0.2	130
Ce 64-5	79.2±1.5 ⁽¹⁾	11.8±3.1 ⁽¹⁾	238.4±5.9 ⁽²⁾	91.3±0.6	23.6±0.4	137

Notes: YX-HP, Yuexiangzhan-high pressure; YF-HP, Yuefengzhan-high pressure. The same as followed.

表 5 高静水压诱变后筛选的优良稳定突变株系的主要农艺性状
Table 5 Agronomic traits of excellent and stable mutation lines selected

Mutation lines	Plant height /(cm)	Effective panicles	Grain numbers per panicle	Seed setting percentage/(%)	1 000-grain weight/(g)	Period of duration/(d)
Yuexiangzhan(Ctr)	95.6±1.3	10.5±2.3	246.8±27.2	86.5±2.3	19.3±0.2	110
YX-HPⅥ	104.4±0.9 ⁽¹⁾	9.7±1.8	223.2±10.8 ⁽¹⁾	93.7±1.8 ⁽¹⁾	22.6±0.5 ⁽¹⁾	114
YX-HPⅦ	106.7±2.8 ⁽¹⁾	10.2±1.6	249.6±29.4	96.9±0.6 ⁽¹⁾	23.0±0.5 ⁽¹⁾	108
Yuefengzhan(Ctr)	79.8±1.5	7.0±1.9	255.6±8.9	91.9±1.0	20.2±0.1	130
YF-HPⅤ	78.7±2.2	7.2±1.0	314.8±12.8 ⁽²⁾	89.0±1.1	22.3±0.5	125
YF-HPⅥ	79.5±3.8	8.8±2.2	295.4±15.0 ⁽¹⁾	93.8±1.2	21.7±0.4	125
YF-HPⅦ	72.5±2.6	8.3±1.3	213.8±15.4	93.9±1.2	23.6±0.3 ⁽¹⁾	122
YF-HPⅧ	75.6±2.2	8.2±1.6	225.4±5.8	90.0±2.1	21.2±0.1	122
Ce 64(Ctr)	70.4±1.5	9.6±0.9	117.2±5.6	88.8±1.9	25.7±0.1	117
Ce 64-Good	81.0±3.5 ⁽¹⁾	9.2±2.0	192.2±9.6 ⁽²⁾	88.4±0.9	22.6±0.5 ⁽¹⁾	125

4 讨 论

4.1 高静水压处理诱导水稻产生变异的特点

近年来我们的研究结果表明,高静水压不但能够影响处理后当代水稻的农艺性状、光合特性,而且能够产生可遗传的突变体^[14-15]。本研究从选育新品种的角度出发,经过 4 年的研究进一步表明,利用高静水压处理水稻种子,处理当代或后代群体能够出现变异性状丰富的突变体,其突变频率因品种而异,最高可达 8%。因此,高静水压处理有望成为一种新的植物诱变育种方法。该方法具有以下特点:

第一,突变体在处理当代和后代中均有出现,主要在 M₂ 代,这与其它理化诱变的特点一致^[2,16]。因此,M₂ 代是筛选突变体的较好世代。

第二,诱变频率较高,但品种间存在差异。前人研究中, γ 射线照射诱导的矮秆和迟熟的突变频率分别为 0.67%和 1.08%,叶绿素缺失的突变频率为 2.84%^[16],较高的迟熟突变可以达到 4.49%^[17]。高空气球搭载中矮秆突变和迟熟突变诱变频率较高,分别为 1.17%和 7.78%^[17],本研究中获得最高诱变频率可达 8%。

第三,高静水压诱导的变异类型丰富,可出现叶鞘颜色、穗下节长度、株高、穗粒数、株叶形态、颖壳颜色、芒的有无(长短)、生育期长短和育性等多种性状的突变,这些突变性状中既有质量性状,也有数量性状。有些综合性状优良的突变体可以通过改良而直接应用于水稻育种中。

4.2 高压诱变方法的应用前景

高静水压作为一种新的物理诱变方法,是近几年来中国科学院华南植物园和中国科学院广州地球化学研究所及广东省农科院合作开展的一项创新性工作。在开展这一工作的过程中,一方面进行突变体的筛选和鉴定工作;一方面遵循优中选优的原则,开展高压诱变育种工作。目前已获得 100 多份性状发生明显变异的突变材料。通过多代“优中选优”,已筛选到 7 个综合性状优良的突变株系,它们具有株型较好、穗大粒多、茎秆粗壮、不早衰以及熟色流畅等优点,有望在近年直接培育成新品种或在新品种的培育过程中发挥重要的作用。

植物本身自然突变发生的频率较低(10^{-6}),很多自然突变在物种的长期进化中因竞争力差而遭到淘汰。与自然突变相比,人工诱变发生频率相对较高($10^{-3} \sim 10^{-2}$)^[2]。因此,通过理化方法诱变已成为获得突变体的重要途径。目前通过航空诱变和辐射诱变的方法已经成功地培育出许多优良品种和有研究价值的突变体,突变的性状丰富,诱变频率较高(约 1%~10%),但因航天飞行器和安全辐射源等成本高,限制了有些单位开展这方面的研究工作^[3-4]。化学诱变尽管具有操作简单、可适用的物种丰富和可诱导突变的性状多等优势,但化学诱变剂大多存在着致癌等副作用,对实验人员和环境具有较大的危

害。与辐射诱变、化学诱变和航空诱变相比,高静水压诱变则有其独特的应用优势,它在同样能诱导性状丰富的突变体的同时,还兼具设备简单、成本低、可操作性强以及对人和环境无毒无污染等优点,因此可成为产生新基因源和创造新种质的重要途径之一,并在包括水稻在内的植物育种中发挥重要作用。

尽管高静水压诱导高等植物产生突变的工作已经开展了近6年,但对于选育新品种的工作仍处于理论和实践的探索阶段,因此有必要进一步开展高静水压诱变机理的研究,为该方法在植物育种上的成功应用提供理论依据。

References:

- [1] Min S K, Shen Z T, Xiong Z M, et al. Rice Breeding [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1996. (in Chinese)
闵绍楷, 申宗坦, 熊振民, 等. 水稻育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [2] Xu G R. Plant Mutation Breeding [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1996. (in Chinese)
徐冠仁. 植物诱变育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [3] Wu D X, Shu Q Y, Xia Y W, et al. A Review of Induction Breeding of Rice by Zhejiang University and Current Research Trends [J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 2000, 14(4): 251-254. (in Chinese)
吴殿星, 舒庆尧, 夏英武, 等. 浙江大学水稻诱变育种回顾与研究动态 [J]. 核农学报, 2000, 14(4): 251-254.
- [4] An X L, Cai Y L, Wang J G, et al. Chemical Mutagen and Its Application in Plant Breeding [J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 2003, 17(3): 239-242. (in Chinese)
安学丽, 蔡一林, 王久光, 等. 化学诱变及其在农作物育种上应用 [J]. 核农学报, 2003, 17(3): 239-242.
- [5] Xu S P, Liao Y P, Xiao W S, et al. Effects of High Pressure on the Growth and Development of Rice [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 1999, 13(Suppl): 58-62. (in Chinese)
徐世平, 廖耀平, 肖万生, 等. 高压对水稻生长发育的影响 [J]. 高压物理学报, 1999, 13(增刊): 58-62.
- [6] Zhang S L. The Research Trends and Applications of Technology of High Hydrostatic Pressure in Food Processing [J]. Machinery for Cereals Oil and Food Processing, 2003, 6: 64-66. (in Chinese)
张少兰. 高静压技术的研究进展及其在食品加工中的应用 [J]. 粮油加工与食品机械, 2003, 6: 64-66.
- [7] Woienckhaus J, Köhling R, Thiyagarajan P, et al. Pressure-Jump Small Angle X-Ray Scattering Detected Kinetics of Staphylococcal Nuclease Folding [J]. Biophys J, 2001, 80(3): 1518-1523.
- [8] Panick G, Winter R. Pressure-Induced Unfolding/Refolding of Ribonuclease A: Static and Kinetic Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study [J]. Biochem, 2000, 39: 1862-1869.
- [9] Dring G J. Some Aspects of the Effects of Hydrostatic Pressure on Microorganisms [A]//Skinner S A, Hugo V. Inhibition and Inactivation of Vegetative Microbes [C]. New York: Academic Press Inc, 1976.
- [10] Hara A, Nagahama G, Ohbayashi A, et al. Effects of High Pressure on Inactivation of Enzymes and Microorganisms in Nonpasteurized Rice Wine (Namazake) [J]. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 1990, 64(5): 1025-1030.
- [11] Cano M P, Hernandez A, Ancos B. High Pressure and Temperature Effects on Enzyme Inactivation in Strawberry and Orange Products [J]. J Food Sci, 1997, 62(1): 85.
- [12] Heremans K. High Pressure Effects on Biomolecules [A]//Ledward D A, Johnston D E, Earnshaw R G, et al. High Pressure Processing of Foods [C]. Leicestershire: U K Nottingham University Press, 1995.
- [13] Ezaki S, Hayashi R. High Pressure Effects on Starch: Structural Change and Retrogradation [A]//Hayashi R, Heremans K, Masson P. High Pressure and Biotechnology [C]. Paris: Colloque INSERM John Libbey Eurotext Ltd, 1992, 224: 163.
- [14] Li G S, Bai C K, Duan J, et al. Effect of High Hydrostatic Pressure Treatment on Physiological Characteristics of Rice Plants (*Oryza sativa* L.) [J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 2003, 17(2): 122-128. (in Chinese)
李桂双, 白成科, 段俊, 等. 高静水压处理对水稻植株生理特性的影响 [J]. 高压物理学报, 2003, 17(2): 122-128.
- [15] Bai C K, Li G S, Peng C L, et al. High Hydrostatic Pressure Induced Changes of Chlorophyll Fluorescence Rice Mutant Lines [J]. Chinese Journal of Rice Science, 2003, 17(3): 228-232. (in Chinese)
白成科, 李桂双, 彭长连, 等. 高静水压诱变水稻突变株系的叶绿素荧光特性变化 [J]. 中国水稻科学, 2003, 17(3): 228-232.

- [16] Xu J L, Xi Y A, Jiang X C, et al. Study on the Mutagenic Effects of Space Condition on Rice [J]. Chinese Journal of Space Science, 1996, 16(Suppl): 89-93. (in Chinese)
徐建龙, 奚永安, 蒋兴村, 等. 空间条件对水稻诱变效应的研究 [J], 空间科学学报, 1996, 16(增刊): 89-93.
- [17] Xu J L. Biological Effects of Space Mutagenic Factors on Different Genotypic Japonica Rice [J]. Acta Agrivulturae Nucleata Sinica, 2000, 14(1): 56-60. (in Chinese)
徐建龙. 空间诱变因素对不同粳稻基因型的生物学效应研究 [J]. 核农学报, 2000, 14(1): 56-60.

Research on Mutation in Rice (*Oryza Sativa* L.) Induced by High Hydrostatic Pressure

LI Gui-Shuang^{1,2}, BAI Cheng-Ke², DUAN Jun¹, PENG Chang-Lian³

(1. South China Botanic Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

2. College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Shaanxi Xi'an 710062, China;

3. College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Seeds of three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars, Yuexiangzhan, Yuefengzhan and Ce 64, were soaked for 10 h, and then were treated by high hydrostatic pressure (78 MPa) for 12 h. The seedlings of high-pressure treatment and control were transplanted in the field after sowing of 30 d. Mutation type of characters and selection of excellent varieties were investigated. The results indicated that: (1) In M_1 generation, grain numbers per panicle of Yuexiangzhan, Yuefengzhan and Ce 64 treated by high hydrostatic pressure (HHP) increased by 5.2%, 1.2% and 17.0%, respectively. Ce 64 delayed 10 d but Yuexiangzhan and Yuefengzhan advanced 5 d and 2 d in period of duration. (2) There were quality and quantity traits among the mutation traits by HHP. For instance, dominant mutation in leaf sheath made green leaf sheath become purple leaf sheath, while recessive mutation in the node length below panicle made node length of treatment longer than that of control. Mutation in plant height, awn length and grain numbers per panicle belonged to mutation of quantity traits. (3) Mutation frequency and the time from mutant to stable mutation lines varied among species. Mutation frequency of Ce 64 in M_1 generation was 8% while that of Yuefengzhan and Yuexiangzhan was 1‰ and 5‰, respectively. (4) Currently one hundred mutants were found in the field. Twenty-two mutants had no significant separations and seven of them displayed remarkable advantages in comprehensive traits than their control.

Key words: high hydrostatic pressure; rice; mutation