

## 离子束介导水稻转基因植株后代的维管束和光合速率的研究\*

郑乐娅 吴敬德 吴跃进 童继平

(安徽省农业科学院水稻研究所农业部水稻遗传育种重点开放实验室 安徽合肥, 230031)

**摘要** 对来源于离子束介导的水稻转基因植株第7代的8个株系及原受体品种和两个对照水稻品种的穗颈节下第一节间维管束数量和光合速率进行比较研究。结果表明转基因株系的维管束数量比原受体品种和一个对照品种较多, 且光合效率也较高, 而且转基因株系维管束外周的薄壁细胞无论在数量上还是在形态上都比对照品种既多又大, 所有这些都表明转基因株系不仅明显地区别于原受体品种而且优于原受体品种和对照品种, 同时也暗示  $C_4$  植物玉米的全套 DNA 转入  $C_3$  植物水稻是切实可行的。

**关键词** 离子束介导; 水稻; 维管束; 光合作用; 变异

**中图分类号**: S511 **文献标识码**: A

## Studies on the Vascular Bundles and the Photosynthetic Efficiency of Progenies of Transgenic Rice Obtained through Ion Beam Implantation

ZHENG Le-Ya WU Jing-De WU Yue-Jin TONG Ji-Ping

(Rice Research Institute, Key Lab of Rice Genetics and Breeding of MOA, AAS, Hefei Anhui 230031, China)

**Abstract** The number of vascular bundles of the first internode below the peduncle and the photosynthetic efficiency of 8  $F_7$  transgenic lines obtained through ion beam implantation and the original receptor and other two CKs were studied comparatively. The results showed that the number of the vascular bundles of the transgenic lines was obviously larger than those of the original receptor and one of the CKs, and the photosynthetic efficiency higher. Moreover, the parenchyma cells around the vascular bundle of the transgenic lines were more numerous in number and larger in size than those around those of the CKs. All these indicated that the transgenic lines were really different from and superior than the receptor and the CKs. They also suggested that transferring DNA from  $C_4$  plant maize into  $C_3$  plant rice is feasible.

**Key words** Ion beam implantation; Rice; Vascular bundle; Photosynthetic efficiency; Progeny variation

1993年以来, 安徽省农科院与中科院等离子体物理研究所合作, 在利用离子束注入水稻诱变成功育成一些品种(如晚粳D9055等)的基础上, 利用低能离子束介导法, 将高光效的  $C_4$  植物紫玉米全 DNA 导入光合效率较低的  $C_3$  植物水稻早粳213种胚细胞, 并获得成功(1993, 吴跃进)<sup>[3]</sup>。经过4年7代选择, 尽管大多数后代仍呈“疯狂”分离, 但仍获得一批表型具有明显变异且能较稳定遗传的水稻株系, 这些株系不仅根系发达, 而且在茎秆、颖尖、柱头等部分表现出DNA 供体玉米的紫色性状, 通过用40个随机引物对其中综合农艺性状较好的8个

株系和供体紫玉米及受体早粳213的基因组DNA进行RAPD检测及分析证实, 外源基因确已导入(李红等, 1999)<sup>[18]</sup>。为了从解剖学上和生理学上探讨外源DNA 导入水稻后引起受体形态结构及生理特性变异的特点, 我们对8个水稻株系进行了穗颈节下第一节间维管束的观察分析和叶片光合速率的测定比较。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

试验材料为经过7代选择, 部分基本稳定的转

\* 基金项目: 本研究是国家自然科学基金项目部分内容, 批准号码: 19675001, 学科代码: A 050412。主持人: 吴跃进  
作者简介: 郑乐娅, 女, 1962年出生, 硕士, 安徽省农科院副研究员。从事农业生物技术研究。  
Received on (收稿日期): 2001-02-23, Accepted on (接受日期): 2001-08-05

基因水稻后代株系中综合农艺性状较好的8个株系, 分别为 X<sub>96244</sub> (MR<sub>1</sub>)、X<sub>96245</sub> (MR<sub>2</sub>)、X<sub>96261</sub> (MR<sub>3</sub>)、X<sub>96265</sub> (MR<sub>4</sub>)、X<sub>96268</sub> (MR<sub>5</sub>)、X<sub>96270</sub> (MR<sub>6</sub>)、X<sub>96275</sub> (MR<sub>7</sub>)、X<sub>96281</sub> (MR<sub>8</sub>)。为方便起见, 称这些材料为“玉米稻”。

以水稻早粳213 (E1213)、中粳63 (ZJ63)、杂交稻华安2号 (HA2)、遗传工程稻3号 (GER-3)、明恢63 (MH63) 分别作对照。

## 1.2 方法

1.2.1 穗颈节下维管束观察方法 对玉米稻8个株系进行穗颈节下第一节间维管束的观察, 以水稻原受体品种早粳213 (E1213)、中粳63 (ZJ63)、杂交稻华安2号 (HA2) 分别为 CK<sub>1</sub>、CK<sub>2</sub>、CK<sub>3</sub>。在同等肥力和灌溉条件下的试验田中取材, 每一株系或 CK 观察6株植株, 每天上午九点从田间已预定好的株系内, 选穗子露出剑叶叶鞘约10~15 cm 的植株, 取其单茎1个置于500 mL 大三角烧瓶中浸水备用 (保湿)。采取徒手切片法, 用锋利刀片环切穗下第一节茎秆基部, 切片在保证完整的情况下, 尽可能地薄、平, 均匀一致。醋酸洋红染色后立即置于带显微摄影装置的生物显微镜的低倍物镜下观察, 逐一计数统计并拍照<sup>[12]</sup>。

1.2.2 玉米稻后代光合效率的测定 为选育后期光合能力仍较强, 功能叶不早衰的品系, 我们采用红外线 CO<sub>2</sub> 分析仪 (型号 JHX305, 产地北京), 于水稻的乳熟期 (乳熟期矫正系数 0.67), 对8个玉米稻株系每个供试材料取5张叶片, 进行光合速率的测定。以原受体品种早粳213 (E1213)、遗传工程稻3号 (GER-3) 和明恢63 (MH63) 为 CK<sub>1</sub>、CK<sub>2</sub> 和 CK<sub>3</sub>。

1.2.3 光合速率的计算及统计分析方法见参考文献

献[1][2][11]。

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米稻穗颈节下第一节间维管束的观察与分析

现将对穗颈节下第一节间维管束的观察结果列于表1和图1。

表1表明: 1、同一品种 (株系) 中的不同个体间穗颈节下第一节间的大、小维管束数目相近。

2、不同品种 (株系) 的穗颈节下第一节间的维管束数目差异较大。从大、小维管束总数来说, 所有玉米稻 (平均36.5~51.7) 都超过 CK<sub>1</sub> (原受体品种 E1213, 平均32.2个) 和 CK<sub>2</sub> (ZJ63, 平均29.7个)。与 CK<sub>3</sub> (HA2号, 平均39.3个) 相比, 玉米稻有多 (MR<sub>1</sub>、MR<sub>2</sub>、MR<sub>3</sub>、MR<sub>6</sub>、MR<sub>7</sub>), 也有少 (MR<sub>4</sub>、MR<sub>5</sub>、MR<sub>8</sub>), 但差异均不明显。从大维管束的数目来看, 所有玉米稻穗颈节下第一节间大维管束数目平均18.0~24.2个, 都多于 CK<sub>1</sub> 和 CK<sub>2</sub>, 比 CK<sub>1</sub> 多8~14.2个, 增幅达80.0%~141.7%, 比 CK<sub>2</sub> 多7~13.2个, 增幅达63.6%~119.7%。而大多数玉米稻比 CK<sub>3</sub> 只稍多些, 其中有些株系相差甚少。从小维管束的数目来看, 没有一定的规律, 有多有少, 其中最多的为 MR<sub>1</sub> 平均27.3个, 分别比 CK<sub>1</sub>、CK<sub>2</sub> 和 CK<sub>3</sub> 多5.2个、8.7个和6.3个, 最少的为 MR<sub>4</sub> 平均17.8个, 分别比 CK<sub>1</sub>、CK<sub>2</sub> 和 CK<sub>3</sub> 少4.4个、0.8个和3.2个。同时可以看出, 所有观察材料中, 除 MR<sub>4</sub>、MR<sub>5</sub> 与 MR<sub>7</sub> 是大维管束略多于小维管束外, 其余都是小维管束数多于大维管束数。

3、玉米稻后代不同株系间维管束数目也有差异, 大维管束数目最少的是 MR<sub>5</sub>、MR<sub>8</sub> 为18个, 最多的是 MR<sub>1</sub> 为24个, 小维管束数目最少的是

表1 转基因玉米稻和对照穗颈节下第一节间维管束数量的比较

Table 1 Comparison of the number of vascular bundles of the first internode below the peduncle between transgenic rice plants and the receptor or CKs

维管束数 No. of vascular bundle	材料 Material										
	MR <sub>1</sub>	MR <sub>2</sub>	MR <sub>3</sub>	MR <sub>4</sub>	MR <sub>5</sub>	MR <sub>6</sub>	MR <sub>7</sub>	MR <sub>8</sub>	CK <sub>1</sub> E1213	CK <sub>2</sub> ZJ63	CK <sub>3</sub> HA2
X <sub>大</sub>	24.4	23.0	20.0	19.8	18.2	18.8	20.8	18.0	10.0	11.0	18.3
X <sub>小</sub>	27.3	24.0	21.0	17.8	18.3	24.7	20.7	20.8	22.2	18.7	21.0
X <sub>总</sub>	51.5	47.0	41.0	37.7	36.5	43.5	41.5	38.8	32.2	29.7	39.3

注: X<sub>大</sub>: 每个品种 (株系) 6个重复大维管束数的平均数; X<sub>小</sub>: 每个品种 (株系) 6个重复小维管束数的平均数; X<sub>总</sub>: 每个品种 (株系) 6个重复大、小维管束总数的平均数。

Notes: X<sub>b</sub>: The average of big vascular bundles from 6 replications; X<sub>s</sub>: The average of small vascular bundles from 6 replications; X<sub>t</sub>: The average of big and small vascular bundle from 6 replications

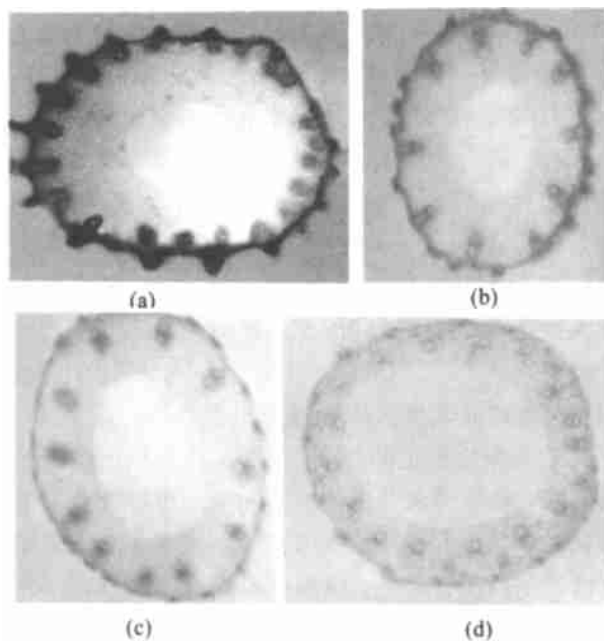


图1 玉米稻与早粳213、中粳63、华安2号穗颈节下第一节间维管束差异

Fig 1 The difference of vascular bundles of the first internode below the peduncle between maize-rice and rice variety-E1213, ZJ63 and HA 2 a: maize-rice b: E1213 c: ZJ63 d: HA 2

MR<sub>4</sub>为18个, 最多的仍是MR<sub>1</sub>达27个。

4、将8个玉米稻株系MR<sub>1</sub>~MR<sub>8</sub>的X<sub>大</sub>、X<sub>小</sub>、X<sub>总</sub>分别与CK<sub>1</sub>(原受体品种E1213)的X<sub>大</sub>、X<sub>小</sub>、X<sub>总</sub>作差异显著性测验, 采用LSD法, 均达α<sub>0.01</sub>水平的显著差异; 与CK<sub>2</sub>(ZJ63)的X<sub>大</sub>、X<sub>小</sub>、X<sub>总</sub>作差异显著性测定, X<sub>大</sub>与X<sub>总</sub>的差异达α<sub>0.01</sub>水平显著差异, X<sub>小</sub>相比时除MR<sub>5</sub>外, 其余达α<sub>0.01</sub>显著差异; 与CK<sub>3</sub>(HA 2号)作差异显著性测定时, MR<sub>5</sub>、MR<sub>6</sub>、MR<sub>8</sub>的X<sub>大</sub>与CK<sub>3</sub>的X<sub>大</sub>差异不显著, 其余达α<sub>0.01</sub>显著差异, MR<sub>3</sub>、MR<sub>7</sub>、MR<sub>8</sub>的X<sub>小</sub>与CK<sub>3</sub>差异不显著, 其余达α<sub>0.01</sub>显著差异, MR<sub>1</sub>~MR<sub>8</sub>的X<sub>总</sub>与CK<sub>3</sub>的X<sub>总</sub>均达α<sub>0.01</sub>显著差异。

从显微摄影的图片(图1)来看, 玉米稻后代株系中维管束不仅在数量上与原品种早粳213相差很多, 而且在形态上也有不同, 玉米稻株系的维管束发达, 维管束外围的薄壁细胞生长旺盛, 薄壁细胞多而且大, 茎壁厚, 中空小, 因此, 玉米稻外观上茎秆粗壮, 高大, 叶色浓绿, 根系发达, 与普通水稻品种CK<sub>1</sub>(原受体品种E1213), CK<sub>2</sub>(ZJ63)和CK<sub>3</sub>(HA 2)有明显差异。

表2 供试材料的光合速率

Table 2 Photosynthetic rate of tested materials

材料 Material	MR <sub>1</sub>	MR <sub>2</sub>	MR <sub>3</sub>	MR <sub>4</sub>	MR <sub>5</sub>	MR <sub>6</sub>	MR <sub>7</sub>	MR <sub>8</sub>	CK <sub>1</sub> (E1213)	CK <sub>2</sub> (Ger-3号)	CK <sub>3</sub> (MH63)
H (cm)	26.8	26.5	18.0	23.2	22.4	33.4	21.9	31.0	17.0	26.6	22.5
B (cm)	1.9	1.9	2.1	1.9	2.2	1.9	2.2	2.2	1.7	2.0	1.9
P (μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )	15.63	14.69	12.77	8.71	12.20	12.13	13.55	9.53	6.74	8.71	7.43

注: H: 叶片长度; B: 叶片最大宽度; P: 光合速率。

Notes: H: Length of leaf; B: The largest width of leaf; P: Photosynthetic rate

## 2.2 玉米稻后代光合速率测定的结果与分析

现将乳熟期测得的供试材料的光合速率列于表2。

由上表可知, 8个玉米稻的光合速率变化幅度为8.71~15.63 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 其中, 最高的MR<sub>1</sub>达15.63 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 最低的MR<sub>4</sub>只有8.71 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 其间差异甚大。8个株系平均值为12.40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 都高于3个对照, 与原受体品种早粳213(CK<sub>1</sub>)相比, 提高29.2%~131.8%, 高的超出一倍多, 平均提高84.0%; 与明恢63(CK<sub>3</sub>)相比, 提高为17.2%~110.3%, 平均提高66.9%; 与遗传工程稻(CK<sub>2</sub>)相比, 也提高0.1%~79.5%, 平均提高42.5%。这说明玉米DNA导入水稻, 确能改

变受体后代的生理机能, 使光合速率明显提高。

将MR<sub>1</sub>~MR<sub>8</sub>8个株系的平均光合速率分别与3个对照的平均光合速率作差异显著性测定可知, 8个株系的平均光合速率显著高于CK<sub>1</sub>(原受体品种E1213)和CK<sub>3</sub>(MH63)达α<sub>0.01</sub>显著差异, 与CK<sub>2</sub>(Ger-3号)相比, 除MR<sub>4</sub>之外, 其余7个株系均显著高于CK<sub>2</sub>达α<sub>0.01</sub>显著差异。

一般来说C<sub>3</sub>植物可在10~40 (C<sub>4</sub>植物可达50~60)下正常进行光合作用, 在40以上时随温度升高, 光合作用下降直至停止<sup>[1,2,8]</sup>。本试验(中午前后停止测试以避免植物光合作用的午休现象)在中等光强, 相对湿度50.8%, 气温28.4, 叶面温度31~36条件下进行, 所获结果是可靠

的。

现将上述表1和表2中玉米稻及原品种早粳213 (E1213)的维管束数和光合速率高低作成相关性图,并计算相关系数,如图2:

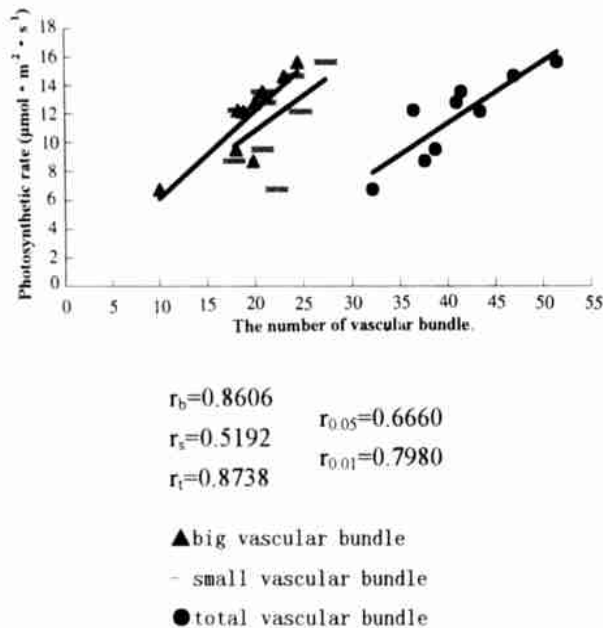


图2 供试材料维管束数目与光合速率的相关性

Fig 2 The relationship between the number of vascular bundle and photosynthetic rate of tested material

由图2可知,玉米稻光合速率的高低与穗颈节下第一节间的大维管束数目的相关系数达0.8606%,呈较明显的正相关,与小维管束数的相关系数为0.5192,无明显相关性;与总维管束数目的相关系数达0.8738,呈较为明显的正相关。

### 3 讨论

对玉米稻与对照穗颈节下第一节间解剖观察,玉米稻的茎秆维管束的数目,特别是大维管束数,不仅比原受体品种早粳213 (E1213)多得多,也比一般常规品种(如CK<sub>2</sub>中粳63)多得多;同时,维管束发达,薄壁细胞多而大,茎壁厚而坚韧。这些玉米稻,似乎与C<sub>4</sub>植物—玉米的维管束发达,维管束大,茎壁厚而坚韧有着相似性,这种茎秆结构的变化,可能是由于玉米全DNA导入后,引起基因重组的结果。同时表现在穗部的变化是玉米稻一次枝梗的增多,据测定玉米稻一次枝梗多达13~15个,而原品种早粳213 (E1213)仅6~9个。据以往研究,稻穗一次枝梗的多少,与穗颈节下节间大维管束多

少成正相关<sup>[5]</sup>,所以从穗部一次枝梗的观测,也与我们直接解剖穗颈节下节间维管束数目观测的结果相符。而较多的一次枝梗,穗大粒多,使得植株光合产物的“库”容量增加,造成玉米稻的大穗优势,几乎与杂交稻相差无几,但却省去杂交稻制种的繁锁工作。同时,从光合速率测定的结果可知,在乳熟期玉米稻后代8个株系的光合效率均高于对照,8个株系的平均光合速率为 $12.40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,比原品种早粳213 (CK<sub>1</sub>)提高84.0%,比光效较高的遗传工程稻3号 (CK<sub>2</sub>)提高42.5%,比常规中粳明恢63 (CK<sub>3</sub>)提高66.9%,可见,即使在乳熟期,玉米稻株系仍保持较强的光合速率,为后期的籽粒充实提供充足的养分。另外,从我们的实验结果来看,水稻穗颈节下第一节间的大维管束数似乎与其光合速率呈较明显的正相关。实验证明,采用合适的基因工程技术,应用外源C<sub>4</sub>植物全DNA导入C<sub>3</sub>植物水稻之中,可打破物种界限,避免远缘杂交的不亲合性,以改善C<sub>3</sub>植物水稻的光合“源”与“库”的关系,使其单叶光合速率得到较大提高,有可能选育优良品种或育种中间材料,提高育种成效<sup>[13-17]</sup>,这是水稻高光效育种中值得探讨的途径。

### References

- [1] Pan Ruizhi Dong Yude *Plant Physiology and Experimental Handbook*. Beijing: High Education Publishing House 1980, 80~95
- [2] Wang Yongrui *Rice Physiological Breeding*. Beijing: Science and Technology Publishing House 1995. 23~26, 27~65
- [3] Yu Zengliang *Discussion about Ion Beam Biological Technique*. Hefei: Science and Technology Publishing House of Anhui 1998. 223~234, 250~268
- [4] Ming Shaokai *Rice Breeding*. Beijing: China Agricultural Publishing House 1996. 246~311
- [5] Yuan Longping Cheng Hongxing *Hybrid Rice Breeding and Cultivation*. Changsha: Hunan Science and Technology Publishing House 1998. 222~259
- [6] Compiling Group of Maize Genetics and Breeding *Maize Genetics and Breeding*. Beijing: Science Publishing House 1979. 1~11
- [7] Da Yeyi *The Difference of Photosynthetic Efficiency and Dry Matter Production among Indica Rice Varieties*. Beijing: Agricultural Publishing House 1998
- [8] Liu Zhengqi *Study on Photosynthetic Physiological Characters of Rice*. Beijing: China Agricultural Publishing House 1982, (5): 33~39
- [9] Pan Jiaju *General Discussion about Crop Breeding*. Beijing:

- China Agricultural Publishing House 1994. 1~ 11
- [10] Nanjing Agricultural University. *Field Trial and Statistical Method*. Beijing: Agricultural Publishing House, 1981. 4~ 22
- [11] Zhu Zheng. *Plant Chromosome and Chromosome Technology*. Beijing: Science Publishing House 1982, 60~ 80, 170~ 173
- [12] Jiao Demao. The Approach to Gene Engineering and Physiological Breeding with High Photosynthetic Efficiency in Rice (*Oryza sativa*). *Prospects of Rice Genetics and Breeding for the 21st Century*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Publishing House 1999. 239~ 241
- [13] Hong Yahui, Dong Yanyu. Studies on the Introduction of Sorghum Total DAN into Rice. *Changsha Journal of Hunan Agricultural University*, 1999, 25(2): 87~ 92
- [14] ChenWengfu. *Physiological Basis of Super High-yielding Rice Breeding*. Shenyang: Liaoning Science and Technology Publishing House, 1995. P23~ 240
- [15] Maurice S. B. Ku. High-level expression of Maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants. *Nature Biotechnology*, 1999. 17 January
- [16] Furbank R. T., Taylor W. C., Regulation of photosynthesis in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants: a molecular approach. *Plant Cell*, 1995, 7: 797 ~ 807
- [17] Zhao Yan, Hong Yahui. Anatomy of the Vascular Bundles and Gas Chambers of Rice Introduced with Sorghum DNA. *Changsha Journal of Hunan Agricultural University*, 1999, 25 (1): 9~ 12
- [18] Li Hong, Wu Lifang, Song Paojun. RAPD Analysis of Hereditary and Variation of Maize Rice Developed by Ion Beam Mediated Transfemeng Maize DNA into Rice, *Acta Laser Biology Sinica*, 1998. 8(4): 261~ 265