

初论杂交稻粒间顶端优势*

王 熹 陶龙兴 徐仁胜 田淑兰

(中国水稻研究所农业部水稻生物学重点实验室, 浙江杭州 310006)

提 要 本文旨在论证杂交稻“粒间顶端优势”现象。研究结果表明杂交稻一穗中强势粒对弱势粒的灌浆有抑制作用。去除强势粒, 弱势粒灌浆即可明显改善。外源 IAA 可部分代替强势粒对弱势粒灌浆的抑制作用, 其表现类似水稻主茎与分蘖间的顶端优势现象。HPLC 分析籽粒内源 IAA 的结果表明强势籽粒中内源吲哚乙酸水平差异明显, 这种差异似与强弱势粒对营养器官(剑叶)的内源 IAA 吸收能力及籽粒合成吲哚乙酸的能力有关。

关键词 杂交水稻; 粒间顶端优势; 优势粒群; 劣势粒群; 内源 IAA

Apical-grain Superiority in Hybrid Rice

WANG Xi TAO Long-Xing XU Ren-Sheng TIAN Shu-Lian

(Key Lab of Rice Biology, MOA, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China)

Abstract Apical-grain superiority in hybrid rice was discussed in this paper. It was demonstrated in the experiment that the superior grains inhibited the filling of the inferior spikelets within a panicle. The filling status would be significantly improved by removing of the superior grains. This apical-grain superiority of superior grains over inferior spikelets could partly be demonstrated by application of the exogenous IAA, similar to the phenomenon of the apical dominance of the main stem to the tillers. The significant difference of the IAA lever between superior grains over inferior spikelets was determined by HPLC analysis. This difference may be related to the IAA up-taking ability from flag leaf, and to the IAA synthesis of the spikelets themselves.

Key words Hybrid rice; Apical-grain superiority; Superior grains; Inferior spikelets; Endogenous IAA

20 世纪 70 年代, 中国稻作科学家首先成功地研究与推广了品种间三系杂交水稻, 显著提高了水稻产量; 90 年代又利用广亲和基因选配三系或二系亚种间杂交稻, 后者更具大穗特性(每穗颖花达 200~ 300 个), 更高的产量潜力^[1-3], 有可能使稻谷产量达到 12~ 15 t/hm²; 但相对较低的结实率限制了产量的进一步提高^[4, 1, 5, 3]。研究表明, 一穗中劣势粒常表现低结实率与低千粒重^[6, 4, 1, 7]。在水稻育种家致力于基因改良的同时, 作物生理学家对杂交稻结实障碍进行了近二十年的研究, 一致认为, 杂交稻结实的“两步灌浆”现象突出^[8, 4, 5, 7], 对其生

* 农业部“八五”重点项目(85-08-02-03-02)、浙江省“九五”重点项目(96110215)

作者简介: 王熹(1937-)男, 研究员, 中国农业科学院博士生导师

收稿日期: 2000-08-23, 接受日期: 2001-03-30

Received on: 2000-08-23, Accepted on: 2001-03-30

理原因的解释一曰“库源流失调”^[1, 5, 2], 一曰“灌浆能量障碍”^[8, 6, 7]。我们基于前人关于多种内源激素在籽粒发育成熟过程中起重要作用的研究^[9~11], 试图通过植物激素生理研究去了解杂交稻“两步灌浆”的生理学本质, 为提高结实率提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

主要供试水稻(*Oryza sativa* L.)有亚种杂交稻(粳/粳): 协优 413 及恢复系中 413; 品种杂交稻(粳/粳): 汕优 10 及恢复系密阳 46; 品种杂交稻(粳/粳)双优 23 及恢复系 91-27。³H-IAA、³H-Try (Tryphane, 色氨酸)委托中国原子能科学研究院合成, 其放射性比强分别为 1.369 mBq/mL 和 1.11 mBq/mL。

1.2 方 法

1.2.1 开花日序与结实率及优、劣势粒的采样 盆栽水稻抽穗后, 同天早上, 选择刚抽出且长势一致的稻穗, 每一材料各挂牌 10 个, 下午 1 时后, 画图标记当天所开颖花。以后逐日进行, 直至穗上全部颖花开完为止。以每穗顶端 3 个一次枝梗上的籽粒, 代表优势粒群, 基部 3 个一次枝梗上的二次枝梗上的籽粒为劣势粒群。干物质积累动态测定同前人方法^[8, 4, 12, 7]。

1.2.2 外源 IAA 对籽粒灌浆的影响 以协优 413 为材料, 每盆种 2 株稻苗。在孕穗期, 选取剑叶和倒二叶叶枕距为 5 cm 左右的长势一致的植株, 在齐穗前同一天挂牌标记穗顶端刚露出叶鞘的稻穗 24 个。其中 4 穗留作对照, 另外 20 穗剪去顶端 3 个一次枝梗(50 朵颖花左右, 约占整穗的 1/4), 用微量移液管分别吸取 IAA 含量为 0, 10, 20 和 30 ng/ μ L, 的羊毛脂 20 μ L, 涂抹于剪去一次枝梗的穗轴顶部, 并套以纸袋, 以减少 IAA 光解。每个浓度处理 4 株, 1 周后重复一次。收获风干后对这部分籽粒逐粒称重, 粒重 20 mg 以上计作饱满粒, 20 mg 以下为空秕粒。

1.2.3 优、劣势粒灌浆过程中 IAA 含量的动态变化 供试材料、田间试验设计、取样方法同上。取样时间为上午 8 时至 9 时。籽粒样品用聚乙烯薄膜密封后置于 -30 冰箱保存待用。

IAA 的提取基本按丁静等人^[13]的方法并稍加修改^[14, 12]。提取液乙酸乙酯萃取 3 次, 35 蒸干用 5 mL 80% 甲醇溶解后过 SEP-PA KC18 柱纯化, 最后用 60% 乙腈定容。

采用 Waters 高效液相色谱方法(HPLC)测定 IAA 含量, 以 Waters 481 型紫外检测器检测, 波长为 280 nm, 流动相为 60% 乙腈(乙酸钠缓冲液, pH = 3.5), 流速 0.7 mL/min。外标法定量分析 IAA

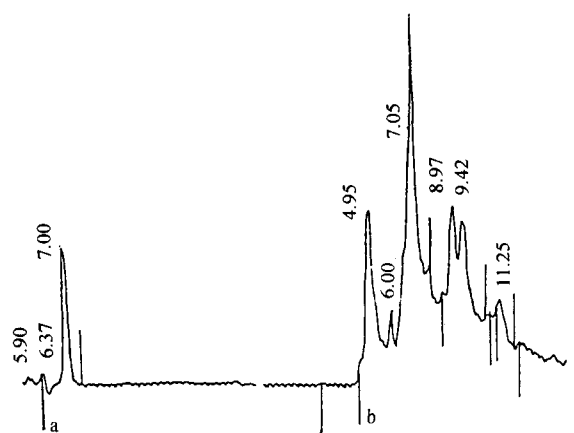


图 1 水稻内源 IAA 含量的 HPLC 分析

Fig. 1 HPLC analysis of endogenous IAA content in rice filling-grain

a: 标准样本 Standard sample; b: 稻谷样本 rice sample

含量, 每3个样品做一次标样校正。峰面积以M 730型数据处理机处理, 最低检测量为1.0 ng。图1为HPLC测定IAA时的出峰情况: 标样5 μL (浓度为1 mg/L) 经HPLC测定出现一个峰, 保留时间为7.0 min。样品提取液经0.5 μm滤膜过滤后分样, 测定的保留时间为7.05 min的一个峰, 在样品提取液中加入IAA, 此峰增强, 可见保留时间7.00~7.05 min峰为IAA组分。

1.2.4 优、劣势粒灌浆过程中³H-Try转化为³H-IAA的能力 协优413网室盆栽, 每盆2株。孕穗期每株选取生长发育一致的5个分蘖挂牌, 用5%土温20作展布剂, 然后用取样器吸取20 μl³H-Try涂施剑叶。齐穗后10d取样(优、劣势粒), 于-20℃保存备用。³H-Try转化为³H-IAA的能力用转化效率表示, 转化效率% = ³H-IAA的放射性 / (³H-IAA的放射性 + ³H-Try的放射性) × 100%。

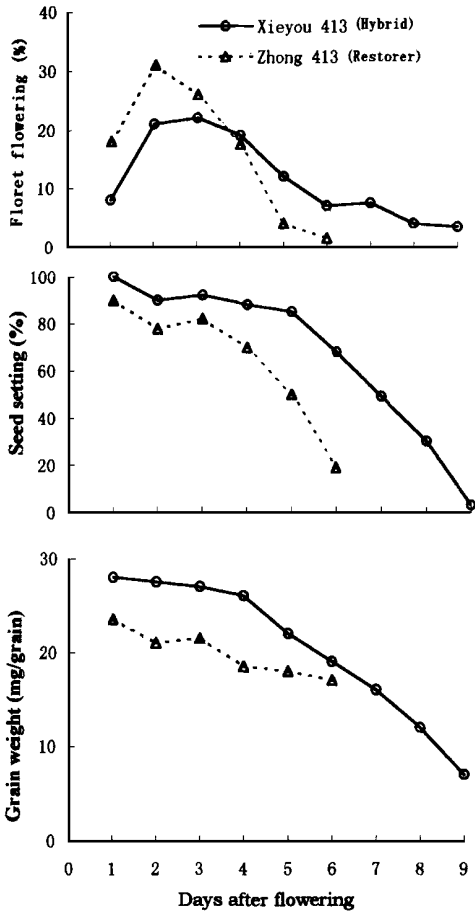


图2 杂交稻及其恢复系开花与结实进程
Fig. 2 Floret flowering and seed setting progress in hybrid rice and its restorer

1.2.5 ³H-IAA与³H-Try的提取和测定 ³H-IAA以乙酸乙酯萃取, 冻融后除色素, 35℃蒸发浓缩, 80%乙醇定容, 用液闪计数器测放射强度^[15, 12]。³H-Try的提取用样品1g经5 mL蒸馏水匀浆, 加10 mL蒸馏水静置过夜, 过滤, 洗涤沉淀2次, 合并提取液, 浓缩, 用蒸馏水定容至10 mL, 用液闪计数器测放射强度^[15, 12]

2 结果

2.1 颖花开花日序与籽粒结实

从图2可以看到, 杂交稻(粳×粳)协优413的一穗颖花(220朵)开花历时9天, 前3天开花占总颖花数的50%左右; 它的恢复系中413, 一穗颖花(150朵)开花历时6天, 前3天开花占70%左右。协优413先开花颖花的结实率可达到90%以上, 中413可达到80%以上, 具有生长优势。杂交稻比恢复系的先开花籽粒的生长优势更明显。

2.2 优、劣势粒群的生长差异

优势粒群基本上是穗顶部第一、二、三个一次枝梗上的着粒, 它们95%以上为始花第一、二天开花的颖花; 劣势粒群基本上是穗基部倒数第一、二、三个一次枝梗的第二次枝梗上的着粒, 它们均为一穗中开花最迟的颖花。优、劣势粒

群在供试的三个杂交组合及其恢复系中表现相似, 都是: (1) 优势粒群开花后立即灌浆, 劣势粒群开花后灌浆启动迟缓, 待优势粒群生长发育完成后, 劣势粒群灌浆启动, 直至发育完成。(2) 优势粒群的结实率高于劣势粒群。(3) 优势粒群的粒重高于劣势粒群。

以协优 413 与中 413 的结果为例, 从图 3 可见: (1) 协优 413 的劣势粒群的灌浆比优势粒群滞后 3 周, 中 413 的劣势粒群则滞后 2 周; (2) 协优 413 优势粒群的灌浆峰值可达到 $2.30 \text{ mg/粒} \cdot \text{d}^{-1}$, 劣势粒群仅为 $0.45 \text{ mg/粒} \cdot \text{d}^{-1}$, 两者相差 5 倍; 中 413 优势粒群的灌浆峰值可达到 $1.85 \text{ mg/粒} \cdot \text{d}^{-1}$, 其劣势粒群仅 $1.20 \text{ mg/粒} \cdot \text{d}^{-1}$, 两者相差约 50%, 可见协优 413 的优势粒群对劣势粒群的抑制作用大于中 413 优势粒群对劣势粒群的抑制作用。

2.3 优势粒群对劣势粒群生长的抑制作用

杂交组合优势粒群对劣势粒群的抑制作用, 类似于水稻主茎与分蘖间的“顶端生长优势”现象, 我们选用协优 413 的单穗作模拟顶端优势的试验: A 组为不作处理的正常穗; B 组剪去优势粒群, 不作其它处理; C 组剪去优势粒群后, 在剪口处涂上含有 IAA 的羊毛脂 $20 \mu\text{L}$, 其 IAA 含量分别为 10 、 20 、 $30 \text{ ng}/\mu\text{L}$, 在涂拌部位套以黑袋, 以减少 IAA 的光解。在成熟时考查各处理的劣势粒群的结实状况, 从图 4 可以看出: (1) 未剪去优势粒群的一穗中的劣势粒 (CK₁) 结实率仅为 52%, 粒重仅为 13 mg ; (2) 仅剪去优势粒群, 其劣势粒的结实率上升为 92%, 粒重也增高为 22.5 mg ; (3) 剪去优势粒群后又涂抹 IAA, 看到劣势粒群的结实率与千

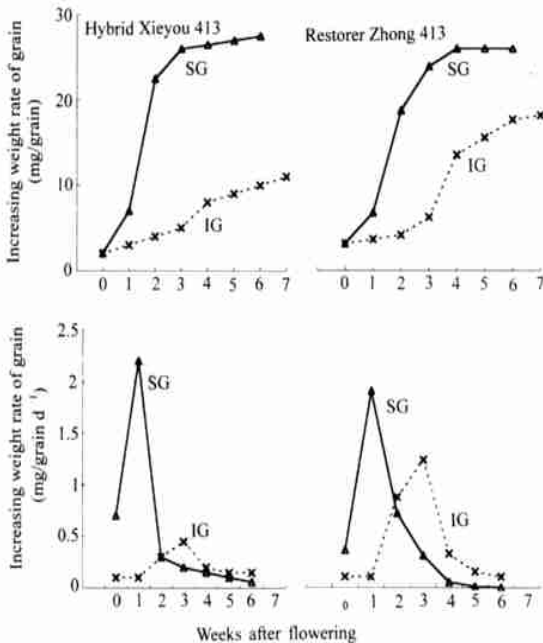


图 3 杂交稻协优 413 及其恢复系中 413 的强、弱勢粒灌浆进程

Fig 3 Grain filling progress of superior and inferior grain in hybrid rice Xieyou 413 and its restorer Zhong 413
Superior grain (SG) Inferior grain (IG)

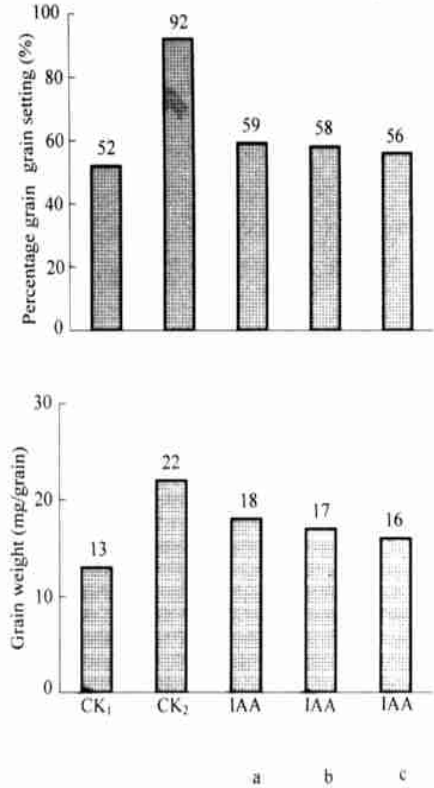


图 4 摘除杂交稻协优 413 穗顶部枝梗对弱勢粒结实率与粒重的影响

Fig 4 Effect of seed setting and grain weight of inferior grains on superior branches clipped off in hybrid rice Xieyou 413
CK₁: Panicle without treatment; CK₂: Panicle clipped off top 3 primary branches; IAA: Panicle clipped top 3 primary branches and daubed IAA on the apex, and a= $10 \text{ ng}/\mu\text{L}$, b= $20 \text{ ng}/\mu\text{L}$, c= $30 \text{ ng}/\mu\text{L}$ IAA

粒重比CK₂下降。由此可见,一穗中优势粒群对劣势粒群的抑制作用可以因剪去优势粒群而解除,也可为外源 IAA 而部分恢复。

2.4 内源 IAA 对“粒间顶端优势”的调节

应用 HPLC 分析协优 413 及其恢复系中 413 的优劣势粒群的内源 IAA 含量(图 5)可见:

(1) 协优 413 和中 413 优势粒群的籽粒内源 IAA 在开花后便迅速增加,协优 413 在开花后一周便达到峰值 4800 ng/粒,此后迅速下降,开花后 3 周下降到 500 ng/粒,并维持这个水平直至开花后 7 周籽粒成熟;中 413 在开花后 2 周优势粒群为籽粒内源 IAA 含量达到峰值 3800 ng/粒,以后迅速下降,第 4 周为 800 ng/粒水平,并维持此水平直至开花后 7 周籽粒成熟。

(2) 协优 413 劣势粒群的籽粒内源 IAA 含量在开花 3 周达到峰值 1500 ng/粒,此后下降至开花后 8 周籽粒成熟,维持在 700 ng/粒水平;中 413 在开花后 4 周劣势粒群的籽粒内源 IAA 2000 ng/粒,此后缓缓下降,至开花后 6~8 周维持在 1200 ng/粒水平。

(3) 协优 413 优势粒群的内源 IAA 峰值约为劣势粒群的 3.2 倍,中 413 约为 2.0 倍。由此可以推想: (1) 杂交稻协优 413 与恢复系中 413 的优劣势粒开花后即出现的内源 IAA,籽粒便开始具有摄取光合物质的能力; (2) 优势粒内源 IAA 比劣势粒的内源 IAA 峰值高,出现早,其生理活性强,摄取光合物质的能力高于劣势粒;正如经典植物生理学的解释,水稻主茎与分蘖的顶端生长优势是由于主茎富含内源 IAA 成为生长中心,成为物质积累中心^[9]

为什么优势粒群比劣势粒群富含内源 IAA? 籽粒中的内源 IAA 主要由自身合成,其次来自营养器官。实验表明,优势粒从营养器官摄取 IAA 能力高于劣势粒,合成 IAA 能力也高于劣势粒。我们在水稻始穗前,对剑叶喂饲³H-Try 或³H-IAA,成熟期测定水稻优劣势粒的内源³H-IAA 的放射性强度。从试验结果(表 1)可以看出: (1) 无论协优 413 或中 413,它们的优势粒从剑叶吸收³H-IAA 的能力均高于劣势粒,协优 413 的劣势粒对³H-IAA 的吸收量为优劣势粒的 60.8%,中 413 劣势粒对³H-IAA 的吸收量为优势粒的 73.6%; (2) 无论协优 413 或中 413 的优势粒,从³H-Try 合成³H-IAA 的能力均高于劣势粒,约高 20 个百分点。

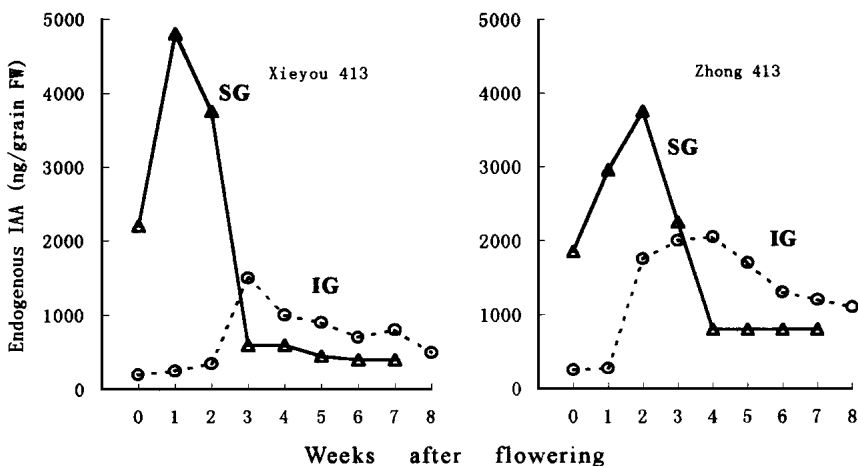


图 5 优、劣势粒群籽粒的内源 IAA 含量

Fig. 5 The difference of endogenous IAA content between superior and inferior grain Superior grains (SG). Inferior grains (IG)

3 讨论

我国 70 年代推广品种间杂交稻使产量从 6 t/hm² 提高到 7.5 t/hm²。90 年代育成亚种间杂交稻, 大面积的示范试验展现了 10~12 t/hm² 的产量水平。但是, 无论品种杂交稻或亚种杂交稻, 结实率均较低(一般为 70%), 限制了产量潜力的发挥。这是一个带普遍性的问题^[3]。因此, 我国科学家十分重视杂交稻结实生理学的研究, 一致认为杂交稻低结实率的原因是“两步灌浆”, 劣势粒结实率低, 千粒重不高^[4, 1, 5, 7, 16]。本文主要是从激素生理角度研究 IAA 对“粒间顶端优势”的影响, 观察到外源 IAA 犹如优势粒对劣势粒灌浆的抑制作用和内源 IAA 对优、劣势粒灌浆的调节作用(图 5, 表 1)。这些实验结果进一步说明杂交水稻“粒间顶端优势”现象的存在, 而内源 IAA 似可视为推动籽粒灌浆的活性物质^[15]。

如何缓解“两步灌浆”, 提高结实率与产量, 我们认为, 首先要从育种上改善遗传缺陷, 从栽培上改善栽培技术与环境条件, 同时也可以从作物生理上应用外源植物生长物质调节杂交稻优劣势粒。我们曾研究过植物生长延缓物质 S-07、PP₃₃₃ 调节杂交稻“粒间顶端优势”^[17, 12]、也试验过外源 GA₃ 调节杂交稻“粒间顶端优势”^[17, 15], 结果表明 S-07(或 PP₃₃₃)与 GA₃ 的作用行为不同; 进一步的试验表明 GA₃ 与 PP₃₃₃ 对调节“粒间顶端优势”有互补效应。

参 考 文 献

- 1 邓仲竺, 周鹏, 陈翠连 华南农业大学学报, 1993, 12(4): 333~338
- 2 朱庆森, 曹显祖, 杨建昌等 中国农业科学, 1979, 30(3): 52~59
- 3 袁隆平 中国农业科学, 1990, 23(2): 1~6
- 4 顾自奋, 朱庆森, 曹显祖 中国农业科学, 1981, 23(6): 38~42
- 5 朱庆森, 曹显祖, 骆亦其 作物学报, 1994, 8(2): 111~114
- 6 王熹, 陶龙兴, 田淑兰等 核农学报, 2000, 14(2): 76~84
- 7 周建林, 陈良碧, 周广洽 杂交水稻, 1992, (5): 36~40
- 8 马国辉 中国水稻科学, 1996, 10(3): 153~156
- 9 Brenner M L. *Plant Hormones and Their Role in Growth and Development* 1987, 473~493
- 10 Jones J, L Brenner *Plant Physiol*, 1987, 83: 905~909
- 11 Patel R, P K Mohapatra *J Exp Bot*, 1984, 47: 257~262
- 12 田淑兰, 王熹 中国水稻科学, 1998, 12(2): 99~104
- 13 丁静, 沈镇德, 方亦雄等 植物生理学通讯, 1979, (2): 27~39
- 14 王熹, 俞美玉, 陶龙兴 植物学报, 1997, 39(7): 629~633
- 15 王熹, 陶龙兴, 俞美玉等 植物生理学报, 2000, 26(3): 247~251
- 16 徐仁胜, 陶龙兴, 俞美玉等 中国水稻科学, 1997, 11(2): 124~128
- 17 王熹, 陶龙兴, 俞美玉等 中国水稻科学, 1999, 12(4): 217~222
- 18 王熹, 高成伟, 陶龙兴 作物学报, 1990, 16(1): 91~95
- 19 陶龙兴, 黄效林, 王熹等 中国水稻科学, 2000, 14(2): 93~97

表 1 强、弱勢粒对剑叶³H-吲哚乙酸的吸收及³H-色氨酸转化成³H-吲哚乙酸的差异

Table 1 ³H-IAA uptake from flag leaf and ³H-Try transformation to ³H-IAA rate in superior and inferior grains

Treatment	Item	Xieyou 413		Zhong 413	
		Superior grains	Inferior grains	Superior grains	Inferior grains
³ H-IAA flag leaf	³ H-IAA Bq grain ⁻¹	458.8	279.3	419.4	308.8
³ H-try flag leaf	³ H-IAA Bq grain ⁻¹	314.7	189.6	300.6	189.6
	³ H-try Bq grain ⁻¹	94.5	170.8	90.6	162.5
	Transformation efficiency % *	76.9	52.6	76.8	53.8