

来源于疣粒野生稻的越冬性新种质 SH5 的鉴定

孟宏宇¹, 李昂¹, 何晓寒¹, 王青¹, 严成其², 张维林¹, 杨玲¹

(¹浙江师范大学化学与生命科学学院, 金华 321004; ²宁波市农业科学研究院生物技术研究所, 宁波 315051)

摘要: 低温冷害是影响水稻稳产的重要限制因子之一, 鉴定和发掘利用优异的耐寒水稻种质资源是选育耐冷水稻品种以减少因低温对水稻生产不利影响的一条经济有效的策略。本研究通过让正季种植的水稻植株自然越冬翌年观察是否长出再生苗的方式鉴定了一份来源于疣粒野生稻的越冬性水稻新种质 SH5; 0℃ 低温处理结果表明, SH5 的越冬性与其地上部植株的耐寒性无关; 田间越冬性观察表明, SH5 以地表及其以下的茎越冬; SH5 越冬再生苗的扦插种植具有与正季种植的 SH5 相近的农艺性状。越冬性水稻新种质 SH5 的鉴定, 为选育生产上应用的耐冷水稻品种提供宝贵的新种质资源。

关键词: 低温; 冷害; 水稻; 越冬; 种质

Identification of One Rice Germplasm with Overwintering Trait from *Oryza meyeriana*

MENG Hong-yu¹, LI Ang¹, HE Xiao-han¹, WANG Qing¹, YAN Cheng-qi², ZHANG Wei-lin¹, YANG Ling¹

(¹College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004;

²Institute of Biotechnology Research, Ningbo Academy of Agricultural Sciences, Ningbo 315051)

Abstract: Low temperature is one of the major factors limiting rice productivity. Identification, exploration and utilization of the existing elite cold-tolerant rice germplasm resources is supposed to be the most practical and economical approach to breeding for cold-tolerant rice varieties to reduce the adverse effects of chilling damage on rice productivity. In this study, one cold-tolerant rice accession SH5 derived from *Oryza meyeriana* (Zoll. & Mor.) Baill. was identified. This genotype can survive across the winter season in the field and can germinate in the following spring. By making cold treatment at 0 °C, we found that the overwintering trait in SH5 unlikely corrected with the cold tolerance of the aboveground plant. The field observation of overwintering trait indicated that it was the stem which was near and below the surface that had the characterization of overwintering trait. The re-generated rice plants showed the similar phenotype if compared to the plants in the suitable season. Thus, the cold-tolerant rice germplasm SH5 might be valuable potentially in breeding for elite cultivars with cold tolerance.

Key words: low temperature; cold damage; rice; overwintering; germplasm

水稻是重要的粮食作物, 我国超过 2/3 的人口以水稻为主食。水稻是起源于热带和亚热带的喜温作物, 对温度非常敏感, 冷害是影响水稻产量的重要限制因子之一。中国每年因冷害损失 30 亿 ~ 50 亿 kg 稻谷, 占粮食总产量的 1%^[1]。在水稻的整个生长

发育期间都可能遭受冷害, 芽期、苗期、孕穗期和开花灌浆期是低温敏感期, 种植初期是低温尤为敏感期^[2-3]。多年来, 育种家一直致力于水稻耐冷性品种改良以减轻冷害对水稻生产的不利影响^[4]。长期不懈的努力表明, 鉴定和发掘利用优异的耐冷水

收稿日期: 2018-01-07 修回日期: 2018-02-21 网络出版时间: 2018-05-23

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180521.1657.004.html>

基金项目: 浙江省科技厅公益性项目(2017C32056); 国家自然科学基金(31301289)

第一作者研究方向为植物逆境分子机制。E-mail: 1093752218@qq.com

通信作者: 杨玲, 研究方向为水稻逆境分子生理。E-mail: yangl@zjnu.cn

稻种质资源是选育耐冷水稻品种的一条经济有效策略^[5-6]。

目前,国内外学者已经从野生稻或栽培稻中鉴定了诸如江西东乡野生稻^[7]、昆明小白谷^[8]、*Italica Livorno*^[9]等耐冷性材料。在鉴定这些耐冷性材料过程中,前人虽总结出了不同的耐冷性鉴定方法,也筛选出一些耐冷性指标,但同一耐冷性材料采用不同鉴定方法时结论不一^[10-11];同时,这些鉴定方法绝大多数采用人工控冷处理,这与自然条件下气温的渐进方式不同,从而限制了这些材料在大田中的实际应用^[12]。此外,已鉴定的绝大多数耐冷性材料以地上部分诸如苗或芽的耐冷表型作为鉴定指标,较少材料以地下部分诸如地下茎的耐冷表型作为鉴定指标,这导致地下茎具有强耐冷性水稻资源的利用较少。野生稻经历各种自然灾害和不利选择而包含诸如抗虫耐寒等众多耐逆性状,是重要的水稻耐低温遗传资源。研究表明,野生稻的地下茎具有较强的耐冷性^[13-14]。江西东乡野生稻耐冷性状已有较多利用^[7],但其他野生稻的耐冷性状还有待发掘利用。本研究中,通过观察大田中正季(5月下旬)种植的材料在自然条件下越冬,任其植株自然枯死,翌年观察稻蔸地表附近的生长情况进行耐冷性资源鉴定。通过这种在自然条件下筛选获得疣粒野生稻(*Oryza meyeriana* (Zoll. & Mor.) Baill.) 来源的能够在翌年长出稻苗的 SH5 材料,为选育生产上应用的耐冷水稻品种提供宝贵的的新种质资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

疣粒野生稻,以地下茎越冬,在我国华南可以自然越冬多年^[13],高抗白叶枯病;SH5(浙江省宁波市农业科学研究院严成其研究员惠赠),通过不对称体细胞杂交技术,将疣粒野生稻中的白叶枯病抗性基因导入 8411(*O. sativa* L. subsp. *japonica* S. Kato,白叶枯病敏感型粳稻栽培稻)获得的农艺性状优良并且稳定遗传的抗白叶枯病新种质^[15];9311(*O. sativa* L. subsp. *indica* S. Kato),优异籼稻品种(中国超级杂交稻亲本);1份药用野生稻;18份粳稻及23份籼稻;共计45份。

1.2 田间越冬性能的观察

2015年5月下旬,在金华试验田里种植45份试验材料,正常水肥管理。秋季单株收取种子后,保留植株,任其自然越冬。2016年春季,仔细观察大田里各试验材料稻桩地表附近的生长状况。

1.3 田间越冬性能的验证

2016年5月下旬,在金华试验田里种植SH5,正常水肥管理。秋季不再收取种子。入冬后,在自然条件下越冬。11月始,田间不再水肥管理。2017年初春,待SH5再生苗长出时,挖出稻蔸考察。

1.4 0℃耐冷性鉴定

2017年秋季,SH5乳熟中期,从田间将正季种植的SH5整株挖出,稻蔸保留适当的土,一部分稻株割去上部分稻苗,一部分为未割去上部分稻苗的完整植株。割去和未割去上部稻苗的SH5及栽培稻9311各选取至少3株植株在0℃冰箱中分别冷冻1d、3d、5d、7d和9d后,移出并种植于盆中,置于自然条件下,30d后观察植株的存活情况,以9311的存活情况做对照。

1.5 越冬稻蔸作早稻扦插育秧

2017年5月上旬,在越冬性能验证后,将SH5稻蔸的分蘖和主茎从基部分开,按正常种植密度将每个分蘖和主茎扦插于试验田中;成熟时统计农艺性状,与正季种植的SH5做比较。

2 结果与分析

2.1 SH5的越冬再生苗性能发掘

水稻在最低温度8~10℃范围内能够维持生长,粳稻和籼稻分别在15℃和18℃以下就会发生低温冷害^[2,16]。金华冬湿而寒、春早而暖。2015年11月10日至2016年3月31日期间,2015年11月26日初次接近0℃;在2015年12月15-19日连续5d最低温低于4℃;在2016年1月下旬至2月上旬最低温低于0℃,极低温为-6℃;降雪始于2016年1月下旬并止于2月初(<http://lishi.tianqi.com/>)。2016年3月中旬,SH5种植的田块里,与在2014年和2015年的3月时观察的结果一致,只有SH5和疣粒野生稻稻株的稻蔸地表处泛绿,而其他43份试验材料种植地块的稻蔸近地处与上部一样枯黄。仔细观察发现,SH5稻株的稻蔸有绿色的稻苗出现(图1)。为排除是否是越冬水稻种子发的芽^[17],将稻蔸挖出用水清洗后发现,绿色的苗与稻蔸的茎相连,因此,此绿色的苗确定为SH5的越冬再生苗。基于此,SH5确定具有越冬再生苗性能。

2.2 SH5的越冬再生特性

金华历史天气查询(<http://lishi.tianqi.com/>)可知,在2016年11月10日至2017年3月31日期间,2016年12月15日初次接近0℃;在2017年1月19-26日期间,最低温度连续低于3℃,极低温



图 1 初春时 SH5 的田间越冬再生表型

Fig. 1 Field performance of SH5 with overwintering trait at early spring

为 $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$; 在 2017 年 2 月 8-13 日期间, 最低温度连续低于 $2\text{ }^{\circ}\text{C}$, 极低温为 $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。2017 年 3 月中旬, 在每行 6 棵共计 18 行的 SH5 地块里, 经检查绿苗是否与稻蔸的茎相连, 104 个 SH5 稻蔸确定具有再生苗。如图所示, 越冬后, 再生苗由近地表及其以下的茎生长出来并呈浅绿色(图 2a), 地上部倒数第一及第二茎节仍然保持浅绿(图 2b), 表明 SH5 以地表及其以下的茎越冬, 且翌年能再生长出稻苗。金华历史天气查询可知, 在 2016 年 3 月

中旬观察到 SH5 稻蔸具有再生苗后的 3 月 23-28 日期间温度均低于 $8\text{ }^{\circ}\text{C}$, 在 2017 年 3 月中旬观察到 SH5 稻蔸具有再生苗后的 3 月 21-26 日期间温度均低于 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$; 田间观察知 SH5 的再生苗能够健康成长, 并在 5 月上旬已经苗壮, 且正季种植的 SH5 稻株的上部已经倒地并腐烂而与稻蔸分离, 暗示低温条件下 SH5 的再生苗能够适应自然条件下的昼夜气温变化、尤其是三月下旬的倒春寒天气条件下的气温变化。



a; SH5 越冬再生苗, b; SH5 正季稻株越冬后的茎截面表型

a; Field performance of the SH5 with overwintering trait,

b; Field performance of the stem section of the rice plants grown in the suitable season

图 2 除去正季稻株后的 SH5 的越冬再生表型

Fig. 2 Field performance of the germinated SH5 which pollarded the rice plants grown in the suitable season

2.3 0 °C 低温处理对存活率的影响

在乳熟中期, 正季种植没有去除上部稻苗的 SH5 经 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理 2 d 及以上的稻株, 在自然条件下放置 30 d 后, 对照 9311 及 SH5 的植株枯死, 稻蔸没有发现绿色的再生苗; 处理 1 d 的稻株, 在从

$0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱移出时, 叶色浓绿, 与移进 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱时没有差异, 在自然条件下放置 30 d 后, 对照 9311 能够保持绿色并成熟, 但 SH5 地上部已经枯死、种子呈现白色并且稻蔸没有发现再生苗。正季种植去除上部稻株的 SH5 经 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理少于 5 d 的稻株, 在自

然条件下放置 30 d 后,SH5 稻莖有绿色的再生苗,但对照 9311 没有绿色的再生苗;在 0 °C 低温处理 5 d 及以上的稻株,在自然条件下放置 30 d 后,SH5 和对照 9311 均没有绿色的再生苗。0 °C 低温处理结果表明,SH5 具有的越冬再生苗性能与 SH5 地上部植株的耐寒性无关。

2.4 SH5 的越冬稻莖作早稻扦插育秧

2017 年 5 月上旬,SH5 的越冬稻莖经掰开分离,各分蘖苗单株种植于金华试验田中。田间观察表明,越冬再生苗存活率为 90.2%,7 月中旬齐穗,8 月中旬成熟,每株分蘖数和有效分蘖数分别为 8 ± 2 个和 7 ± 1 个,与正季种植的 SH5 分别减少 20.2% 和 20.5%。而株高 (68.6 ± 1.8 cm)、穗长 (16.5 ± 0.6 cm)、穗粒数 (103 ± 7 粒) 及千粒重 (21.2 ± 0.4 g) 与正季种植的 SH5 没有显著差异。表明 SH5 的越冬再生苗具有正季种植 SH5 相近的农艺性状。

3 讨论

自 1959 年首次报道水稻露地越冬再生以来,陆续有野生稻、晚粳、粳糯等越冬再生的报道^[17]。研究表明,疣粒野生稻和药用野生稻 (*O. officinalis* Wall. ex G. Watt) 以地下茎越冬;普通野生稻 (*O. rufipogon* Griff.) 以宿根越冬;野生稻与栽培稻的杂交后代以地下茎越冬;常规稻或杂交稻以休眠芽越冬^[13]。SH5 是高抗白叶枯病疣粒野生稻与白叶枯病感性栽培稻 8411 的体细胞杂交后代,与其亲本疣粒野生稻一样具有高抗白叶枯病特性^[15],表明 SH5 具有疣粒野生稻的遗传物质。本研究中,大田越冬再生性能发掘结果表明,SH5 及其亲本疣粒野生稻具有越冬再生性能,而栽培稻 8411 没有越冬再生性能,表明 SH5 的越冬再生性能来源于其亲本疣粒野生稻。水稻冷害造成的粮食减产,极大地破坏了农业生产,因此加强对水稻冷害的研究以提高水稻的耐寒性是广大育种工作者长期以来的目标和任务,但水稻抗寒性研究至今主要集中于粳稻抗寒源^[13],而对于野生稻抗寒源的研究相对较少。此外,值得注意的是,疣粒野生稻具有越冬再生性虽然早已发现^[13],但困难之处在于将其导入栽培稻。因此,通过体细胞杂交技术将疣粒野生稻遗传物质导入栽培稻获得的与其亲本疣粒野生稻一样具有越冬性能新种质 SH5 的鉴定,将为选育具有越冬再生性能水稻品种提供优异种质资源。

水稻在不同生育期对低温的抗性不同。在水稻生产上,从播种到成熟均有可能遭遇低温危害,

尤其在生育早期对低温很敏感,因此,发掘生育早期耐冷性的水稻资源具有重要的生产和现实意义。在我国南方稻作区,早春低温等不良气候因素引起的水稻烂芽烂秧,是导致稻谷生产减产的因素之一,对水稻生产具有较大的危害^[18],因此,能够适应早春低温的 SH5 再生苗具备的耐冷性特性有助于提高水稻的成苗率,降低水稻烂芽烂秧率。水稻再生是指水稻成熟后稻桩节位上的休眠芽萌发成再生苗,目前有关水稻再生方面的研究已有不少报道,但具有越冬性再生研究的报道并不多。如果将野生稻的强抗寒性导入栽培稻,使其具有越冬性,可使水稻由一年生转为多年生,这样可以大大降低生产成本,缓和季节矛盾,减轻劳动强度,减少劳动环节,如不育秧、不移栽、不耕田等^[19]。SH5 越冬再生苗具有正季种植相近的农艺性状,展现了 SH5 多年生将具有的应用前景和经济效益。因此,来源于疣粒野生稻的越冬性新种质 SH5 的鉴定,将有助于选育生产上应用的耐冷水稻品种,减少因冷害导致的水稻减产;也将有助于培育自然越冬的水稻新组合和新品种,实现一年播种多年收获,而提高水稻生产的投入产出率。

参考文献

- [1] 赵正武,李仕贵,黄文章,雷树凡. 水稻不同低温敏感期的耐冷性研究进展及前景. 西南农业学报,2006,19(2):330-335
- [2] Schläppi M R, Jackson A K, Eizenga G C, Wang A, Chu C, Shi Y, Shimoyama N, Boykin D L. Assessment of five chilling tolerance traits and GWAS mapping in rice using the USDA mini-core collection. *Frontiers in Plant Science*,2017,8:957
- [3] 荆豪争,张斐斐,陈丹,汤翠凤,董超,张恩来,杨雅云,阿新祥,戴陆园,徐福荣. 不同生长环境下水稻穗伸出度的 QTL 分析. 植物遗传资源学报,2015,16(4):788-795
- [4] 崔迪,杨春刚,汤翠凤,余腾琼,张俊国,曹桂兰,阿新祥,徐福荣,张三元,戴陆园,韩龙植. 低温胁迫下粳稻选育品种耐冷性状的鉴定评价. 植物遗传资源学报,2012,13(5):739-747
- [5] 李鑫,苗立新,张战,赵一洲,毛艇,张丽丽,刘研. 水稻苗期耐冷性研究进展. 辽宁农业科学,2014(2):50-53
- [6] Zhang Z, Li J, Pan Y, Li J, Zhou L, Shi H, Zeng Y, Guo H, Yang S, Zheng W, Yu J, Sun X, Li G, Ding Y, Ma L, Shen S, Dai L, Zhang H, Yang S, Guo Y, Li Z. Natural variation in *CTB4a* enhances rice adaptation to cold habitats. *Nature Communications*,2017,8:14788
- [7] Liang Y, Zheng J, Yan C, Li X, Liu S, Zhou J, Qin X, Nan W, Yang Y, Zhang H. Locating QTLs controlling overwintering trait in Chinese perennial Dongxiang wild rice. *Molecular and General Genetics*,2018,293(1):81-93
- [8] 文国松,戴陆园,叶昌荣,徐福荣,曾亚文. 云南稻种昆明小白谷耐冷性指标性状的遗传分析. 中国水稻科学,1999,13(2):73-76
- [9] Fujino K, Sekiguchi H, Matsuda Y, Sugimoto K, Ono K, Yano M. Molecular identification of a major quantitative trait locus, *qLTG3-1*, controlling low-temperature germinability in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,2008,105(34):12623-12628

- [10] Pradhan S, Rani K J. Screening techniques to measure cold tolerance in rice. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2017, 6(6):781-785
- [11] 柏斌, 吴俊, 庄文, 姚栋萍, 李莺歌, 邓启云. 广适性光温敏不育系 Y58S 幼穗分化期耐冷性表现及生理机制. *植物遗传资源学报*, 2017, 18(4):646-652
- [12] Lv Y, Guo Z, Li X, Ye H, Li X, Xiong L. New insights into the genetic basis of natural chilling and cold shock tolerance in rice by genome-wide association analysis. *Plant, Cell and Environment*, 2016, 39:556-570
- [13] 严斧. 越冬再生水稻的研究现状与前景. *作物研究*, 2012, 26(1):79-84
- [14] 何光存, 舒理慧, 周一强, 廖兰杰. 东乡野生稻 (*Oryza rufipogon*) 在武汉地区越冬性能的观察. *武汉大学学报: 自然科学版*, 1996, 42(2):252-254
- [15] 宁茜, 张维林, 黄佳男, 阎轶峰, 严成其, 杨玲. 来源于疣粒野生稻的白叶枯病新抗源的鉴定. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(3):620-624
- [16] 韩龙植, 高熙宗, 朴钟泽. 水稻耐冷性遗传及基因定位研究概况与展望. *中国水稻科学*, 2002, 16(2):193-198
- [17] 张维林, 王长春, 胡海涛, 杨玲. 大田越冬水稻种子的筛选鉴定. *中国稻米*, 2016, 22(5):31-34
- [18] 陈大洲, 肖叶青, 赵社香, 皮勇华, 熊焕金, 罗利军. 东乡野生稻苗期耐寒性的遗传研究. *江西农业大学学报*, 1997, 19(4):56-59
- [19] Tanksley S D, McCouch S R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 1997, 277(5329):1063-1066

欢迎订阅 2019 年《作物学报》中、英文版

《作物学报》是中国科学技术协会主管、中国作物学会和中国农业科学院作物科学研究所共同主办、科学出版社出版的有关作物科学的学术期刊。本刊从 2001 年起连续 16 年被授予“百种中国杰出学术期刊”称号;2013 年和 2015 年被评为“百强科技期刊”;2011 年和 2017 年获“第二届中国出版政府奖期刊奖提名奖”。主要刊载农作物遗传育种、耕作栽培、生理生化、种质资源以及与作物生产有关的生物技术、生物数学等学科具基础理论或实践应用性的原始研究论文、专题评述和研究简报等。

月刊, 每期定价 60 元, 全年 720 元。可通过全国各地邮局订阅, 刊号: ISSN 0496-3490, CN 11-1809/S, 邮发代号: 82-336。也可向编辑部直接订购。网址: <http://zwx.chinacrops.org/>; E-mail: zwx301@caas.cn。

The Crop Journal(《作物学报》英文版)是中国科协主管, 中国作物学会、中国农业科学院作物科学研究所和中国科技出版传媒股份有限公司共同主办的学术期刊。2016 年被评选为“中国科技核心期刊”, 2016 年和 2017 年被评为“中国最具国际影响力学术期刊”。主要刊登农作物遗传育种、耕作栽培、生理生化、生态、种质资源以及与农作物有关的生物技术、生物数学、农业气象等领域以第一手资料撰写的研究论文、研究简报以及专题综述等。

双月刊, 每期定价 60 元, 全年 360 元。可通过全国各地邮局订阅, 刊号: CN 10-1112/S, ISSN 2095-5421, 2214-5141 (Online), 邮发代号: 80-668。也可向编辑部直接订购。网址: <https://www.sciencedirect.com/journal/the-crop-journal/>, E-mail: crop-journal@caas.cn

地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号, 中国农业科学院作物科学研究所《作物学报》编辑部

邮编: 100081

电话: 010-82108548, 82105793

欢迎订阅 2019 年《中国油料作物学报》

《中国油料作物学报》是由中国农业科学院油料作物研究所主办, 科学出版社出版, 全国唯一的一种有关油料作物专业学术期刊。本刊分别于 2008 年、2011 年和 2014 年连续三届被评为中国精品科技期刊, 多次被评为全国优秀农业期刊和湖北省精品期刊。载文被国内外 26 家重要数据库收录。主要刊登油菜、大豆、花生、芝麻、向日葵、胡麻及其它特种油料作物有关品种资源、遗传育种、栽培生理、土肥植保、综合加工利用以及品质测试技术等方面的首创性研究论文、综述专论等。主要供农业科研、教学和农业技术人员查阅和参考。

双月刊, 每期定价 25 元, 邮局订阅, 邮发代号: 38-13, 国外发行: 中国国际图书贸易有限公司, 国外代号: BM6551, 每期定价 20 美元。也可直接向本刊编辑部订阅。

地址: 武昌徐东二路 2 号中国农业科学院油料作物研究所学报编辑部

邮编: 430062

电话: 027-86813823

传真: 027-86813823

E-mail: [E-mail: ylxb@oilcrops.cn](mailto:ylxb@oilcrops.cn)

网址: <http://www.jouoilcrops.cn>