

# 水稻抽穗开花期耐热种质资源的筛选鉴定

杨梯丰<sup>1</sup>, 张少红<sup>1</sup>, 王晓飞<sup>1</sup>, 黄章慧<sup>1</sup>, 赵均良<sup>1</sup>, 张桂权<sup>2</sup>, 刘斌<sup>1</sup>

(1 广东省农业科学院 水稻研究所, 广东省水稻育种新技术重点实验室, 广东 广州 510640;

2 华南农业大学 农学院, 广东省植物分子育种重点实验室, 广东 广州 510642)

**摘要:**在水稻抽穗开花期于人工气候箱以每日 35.0 °C 以上高温 10 h、日平均温度 33.5 °C 连续 7 d 对来自 11 个国家、具有广泛多样性的 28 个品种(系)进行高温处理和耐热性鉴定. 结果表明, 热处理后其结实率在 0.6% ~ 58.7% 之间, 耐热指数为 0.01 ~ 0.85. 其中, “赣香糯”和“N22”耐热性最强, 耐热指数为 0.84 和 0.85. 选用对籼粳性具有专一分辨力的 24 个 SSR 和 InDel 标记对测试品种(系)进行籼粳性分析, 并分析籼粳性与耐热性的关系. 结果显示, 品种的籼性度与耐热性显著正相关( $P < 0.05$ ), 表明在籼稻资源中进行耐热性筛选将有更大的机会获得强耐热性的稻种资源.

**关键词:**耐热性; 籼粳性; 种质筛选; 抽穗开花期; 水稻

中图分类号: S852.65

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2012)04-0585-04

## Screening for Germplasm with Heat Tolerance at Flowering Stage in *Oryza sativa*

YANG Ti-feng<sup>1</sup>, ZHANG Shao-hong<sup>1</sup>, WANG Xiao-fei<sup>1</sup>, HUANG Zhang-hui<sup>1</sup>,  
ZHAO Jun-liang<sup>1</sup>, ZHANG Gui-quan<sup>2</sup>, LIU Bin<sup>1</sup>

(1 Guangdong Key Laboratory of New Technology in Rice Breeding, The Rice Research Institute of Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

2 Guangdong Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** To screen the germplasm with heat tolerance in rice, twenty eight varieties (lines) from 11 countries were selected for evaluation of heat tolerance in this study. The tested rice varieties (lines) at flowering stage were subjected to high temperature treatment in phytotron with temperatures equal to or higher than 35.0 °C for 10 hours, and the daily average temperature had been 33.5 °C for 7 days. The results indicated that the heat tolerance of the tested varieties (lines) varied considerably. The percentage of spikelet fertility of the tested varieties ranged from 0.6% to 58.7% and their heat tolerance indexes ranged from 0.01 to 0.85 after high temperature treatment. The *indica* varieties, “Ganxiangnuo” and “N22” were the most heat-tolerant varieties which had the heat tolerance indexes of 0.84 and 0.85, respectively. Twenty-four SSR and InDel markers that could specifically differentiate *indica* from *japonica* were used to analyze the differentiation of the tested materials. The degree of *indica*-type of the tested materials calculated by the ratio of the number of markers that could generate *indica*-type band pattern to the total number of markers used was positively correlated with their heat tolerance index ( $P < 0.05$ ), suggesting that *indica* subspecies was more heat-tolerant than *japonica* subspecies and there would be more chances to identify heat-tolerant rice germplasm when screening is conducted in *indica* rice.

**Key words:** heat tolerance; *indica-japonica* differentiation; germplasm screening; flowering stage; *Oryza sativa*

收稿日期: 2011-12-16

作者简介: 杨梯丰(1981—), 男, 助理研究员, 硕士; 通信作者: 刘斌(1962—), 男, 研究员, 博士, E-mail: lbgz\_2006@tom.com

基金项目: 广东省科技计划重大专项(2009A020102003)

水稻的抽穗开花期是高温最敏感的时期<sup>[1]</sup>. 我国长江流域双季早稻灌浆结实或中稻抽穗扬花期正值盛夏,经常出现高温天气,严重影响水稻生产. 全球温室效应日益加剧,使水稻生产面临高温挑战<sup>[2]</sup>. 因此,研究和解决水稻耐热性的问题十分紧迫,对确保我国乃至世界粮食安全意义重大. 利用品种的耐热性开展水稻耐热性育种是解决水稻高温热害最经济、有效的办法. 然而,综观国内外研究表明,水稻耐热性育种进展缓慢. 其主要原因之一是鉴定出的真正有育种应用价值的耐热水稻种质资源还很少<sup>[3]</sup>. 另一方面,水稻耐热性是一个多基因控制的复杂性状<sup>[4]</sup>,应用常规遗传育种技术难以进行有效的育种. 只有广泛开展水稻优异耐热种质资源的筛选鉴定和深入开展水稻耐热性分子遗传基础研究,水稻耐热性育种才能取得突破. 本研究以来自 11 个国家的稻种资源为材料,进行抽穗开花期耐热性鉴定,并分析耐热性与籼粳性的关系,以期鉴定出优异的耐热种质资源,为水稻耐热性种质资源的挖掘提供科学依据,并为下一步水稻耐热相关基因的鉴定和育种奠定材料基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

来自 11 个国家的水稻品种(系)共 28 份,进行抽穗开花期的耐热性鉴定(表 1). 水稻品种“9311”和“日本晴”分别作为籼稻和粳稻的参比品种用于供试品种(系)的籼粳性分析.

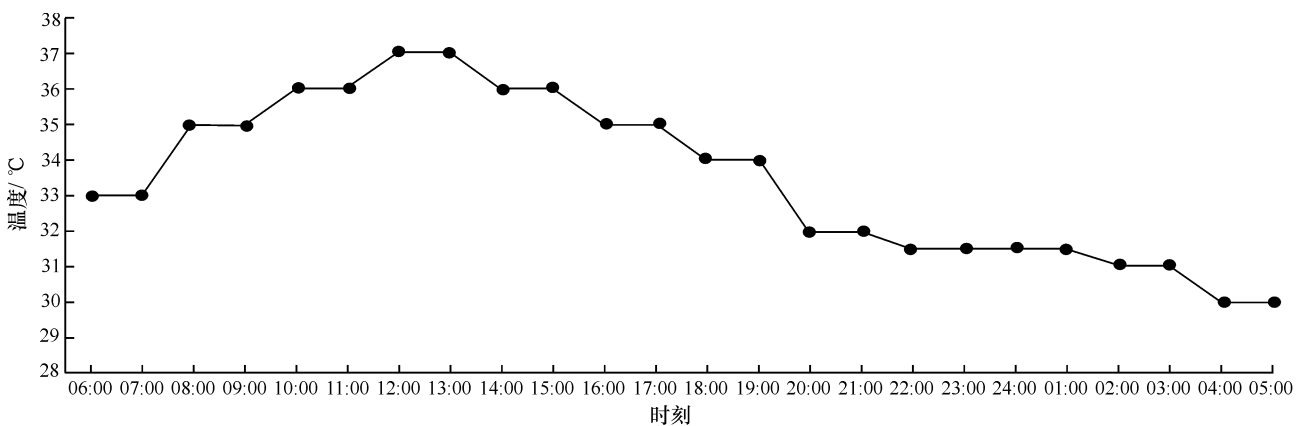


图1 人工气候箱高温处理的温度日变化

Fig. 1 Daily change of temperature in the high temperature phytotron

光照条件相同,相对湿度为  $75\% \pm 10\%$ ,光照度为 16 000 lx. 7 d 后将处理过的材料搬回网室生长. 成熟后,各品种(系)每组各取较一致的 10 穗测定其结实率. 以耐热指数衡量品种(系)的耐热性,耐热指数 = 高温处理的结实率/对照的结实率.

表 1 供试品种(系)的起源及亚种类型

Tab. 1 The origin and subspecies of the tested varieties (lines)

品种或品系	来源	亚种类型	品种或品系	来源	亚种类型
Katy	美国	粳稻	中 4188	中国浙江	籼稻
Kyeema	澳大利亚	粳稻	紫恢 100	中国安徽	籼稻
Lemont	美国	粳稻	江西丝苗	中国江西	籼稻
Starbonnet 99	美国	粳稻	联鉴 33	中国浙江	籼稻
苏御糯	中国江苏	粳稻	赣香糯	中国江西	籼稻
南洋占	中国广西	粳稻	成龙水晶米	中国浙江	籼稻
IRAT 261	尼日利亚	粳稻	黄梗占	中国广东	籼稻
IR65598-112-2	菲律宾	粳稻	Tetep	越南	籼稻
Khazar	伊朗	粳稻	BG367	孟加拉	籼稻
IAPAR 9	巴西	粳稻	IR64	菲律宾	籼稻
IR66897 B	菲律宾	粳稻	Basmati 385	巴基斯坦	籼稻
美国茉莉香	美国	籼稻	Basmati 370	巴基斯坦	籼稻
华梗籼 74	中国广东	籼稻	IR58025B	菲律宾	籼稻
Amol 3	伊朗	籼稻	N22	印度	籼稻

### 1.2 耐热性评价

测试品种(系)单株种植于直径 11.0 cm、高 23.0 cm 的小圆桶,每品种(系)分对照和高温处理 2 组,每品种(系)每组 8 株. 测试品种(系)置于网室生长,常规水肥和病虫害管理. 在植株生长过程中保留主穗和 1 个最大的分蘖穗. 在始穗时,对照组和高温处理组分别置于加拿大制造的 CONVIRON-PGV36 型人工气候箱进行处理. 对照组的温度设定:白天 28.0 °C、晚上 22.0 °C;高温处理组的日平均温度为 33.5 °C,具体温度参数见图 1. 处理和对照的湿度和

### 1.3 籼粳性检测

微量抽提 DNA,选取 24 个对籼粳性有专一性的 SSR 和 InDel 标记(表 2)进行测试品种(系)的籼粳性分析<sup>[5-6]</sup>. PCR 扩增后,产物以 60 g/L 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,经 Goldview 染色后用 Bio-rad 凝胶

成像系统检测带型.与籼稻“93-11”相同带型记为粘性带型,与粳稻“日本晴”相同带型记为粳性带型.以粘性度对测试品种(系)的粘粳性进行量化,粘性度=粘性带型标记数/标记总数.

表2 用于分析测试品种(系)粘粳性的SSR和InDel标记

Tab.2 SSR and InDel markers used for analysis of *indica-japonica* differentiation

标记	染色体	标记	染色体	标记	染色体	标记	染色体
RM259	1	RM471	4	RM234	7	R10M30	10
RM104	1	RM348	4	R7M37	7	R10M40	10
RM240	2	R5M13	5	RM337	8	RM202	11
RM29	2	R5M30	5	R8M33	8	R11M23	11
R3M23	3	RM50	6	RM245	9	R12M10	12
RM130	3	R6M44	6	RM242	9	R12M43	12

### 1.4 数据分析

用SPSS 13.0软件的Independent-samples *t*-test和Pearson相关系数进行差异显著性检测和相关分析.利用NTSYS-pc Version 2.1e进行测试品种(系)粘粳聚类分析.把每个标记的粘粳特异带型转化为二进制数据(1为有带,0为无带).先通过SIMQUAL程序,利用SM系数计算相似性矩阵,再通过SHAN程序,根据UPGMA方法进行聚类分析.

## 2 结果与分析

### 2.1 测试品种(系)耐热性

28份品种(系)高温处理后其结实率的变异范围为0.6%~58.7%,耐热指数的变异范围为0.01~0.85.除来自中国江西的籼稻“赣香糯”和来自印度的籼稻“N22”,其余品种(系)高温处理后其结实率均大幅度下降,与对照的结实率差异达极显著水平( $P < 0.01$ ).虽然“赣香糯”和“N22”高温处理后的结实率分别为55.8%和58.7%,与其对照结实率66.4%和68.7%相比差异显著( $P < 0.05$ ),但其耐热指数明显高于其他品种(系),分别为0.84和0.85,其他品种(系)的耐热指数均少于0.50(表3).

### 2.2 粘粳性与耐热性的关系

28份品种(系)的粘性度有较大差异,其变异范围为0.21~0.83(图2).对粘性度与其耐热指数的相关性分析表明,耐热性与粘性度呈显著正相关( $r = 0.42, P = 0.03$ )(图2).粘型组和粳型组平均耐热指数分别为0.32和0.14,粘型组显著高于粳型组( $t = 2.37, P = 0.03$ ).以24个粘粳专一性标记对测试材料进行聚类,聚类结果显示,测试品种(系)可明显分为2组,一组有17个品种(系),另一组有11个品种(系)(图3),分组结果与它们已知的粘粳亚种

类型吻合(表1).

表3 高温处理下测试品种(系)的结实率及耐热指数  
Tab.3 Percentage of spikelet fertility and heat tolerance index of the tested varieties (lines) under high temperature conditions

品种或品系	结实率 <sup>1)</sup> /%		耐热指数
	对照	处理	
华粳粘74	76.6 ± 6.5	15.3 ± 0.8**	0.20
Tetep	77.8 ± 3.2	27.5 ± 7.3**	0.35
Amol 3	59.7 ± 2.9	21.3 ± 3.0**	0.36
中4188	69.2 ± 4.4	28.0 ± 5.4**	0.40
BG367	62.4 ± 2.4	19.7 ± 14.4**	0.32
紫恢100	59.2 ± 6.2	17.3 ± 8.4**	0.29
Katy	71.9 ± 9.0	0.9 ± 1.2**	0.01
苏御糯	66.1 ± 0.2	15.9 ± 6.6**	0.24
IR64	79.8 ± 2.3	18.8 ± 13.8**	0.24
Basmati 385	70.3 ± 4.7	2.1 ± 1.5**	0.03
南洋占	76.5 ± 3.1	5.0 ± 5.5**	0.06
Basmati 370	72.9 ± 2.9	2.1 ± 1.9**	0.03
IR58025B	77.5 ± 1.3	19.7 ± 4.4**	0.25
江西丝苗	74.1 ± 5.0	9.2 ± 5.7**	0.12
联鉴33	72.2 ± 9.2	35.2 ± 7.5**	0.49
美国茉莉香	63.8 ± 8.4	9.5 ± 3.3**	0.15
赣香糯	66.4 ± 5.4	55.8 ± 6.0*	0.84
IRAT261	70.5 ± 3.2	22.1 ± 9.0**	0.31
Kyeema	60.9 ± 3.9	14.5 ± 7.7**	0.24
成龙水晶米	64.3 ± 13.8	9.7 ± 3.4**	0.15
IR65598-112-2	57.9 ± 5.4	11.8 ± 6.3**	0.20
Khazar	59.6 ± 3.7	2.8 ± 2.2**	0.05
Lemont	75.4 ± 7.5	1.7 ± 1.1**	0.02
Starbonnet99	74.0 ± 2.4	16.7 ± 8.8**	0.23
IAPAR9	62.1 ± 11.1	11.1 ± 2.5**	0.18
IR66897B	68.3 ± 9.6	0.6 ± 0.5**	0.01
N22	68.7 ± 6.6	58.7 ± 3.9*	0.85
黄粳占	76.2 ± 3.1	30.5 ± 4.5**	0.40
平均	68.9	17.3	0.25

1) “\*”、“\*\*”分别表示处理与对照差异达0.05、0.01显著水平.

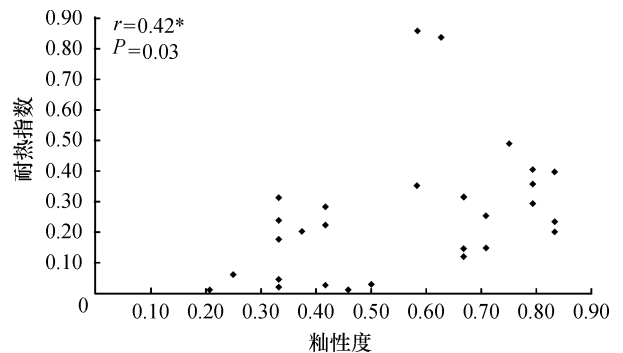


图2 28个品种(系)的粘性度与耐热指数的相关性  
Fig.2 The correlation between degree of indica-type and heat tolerance index in the 28 varieties (lines)

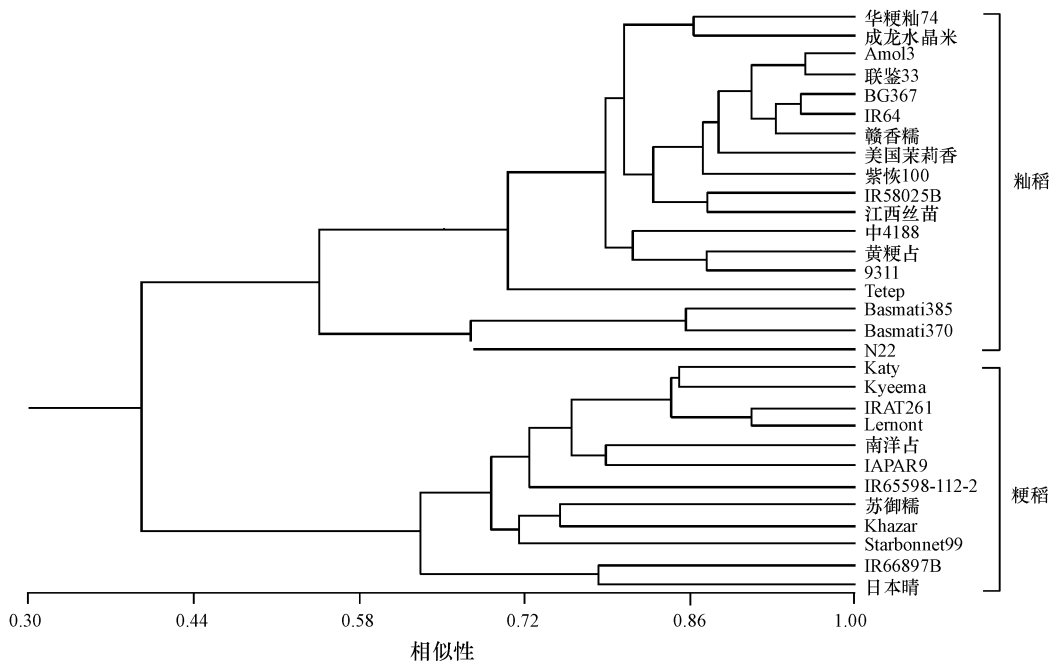


图3 根据24个籼粳特异性标记基因型对28个品种(系)的聚类

Fig. 3 Clustering of the 28 varieties (lines) based on the genotypes determined by the 24 *indica-japonica* specific markers

### 3 讨论

本研究结果表明,尽管抽穗开花期高温处理后水稻的结实率都明显下降,但是水稻品种对高温的响应有很大的差异.高温处理后,测试的28个品种(系)的结实率最高的可达58.7%,最低的仅有0.6%;耐热指数最高的可达0.85,最低的仅为0.01.可见,通过对稻种资源的耐热性评价可以获得具有强耐热性的材料.本研究中籼稻“N22”和“赣香糯”高温处理后仍保持较高的结实率,具有突出的耐热性.因此,这2个品种是开展水稻耐热性分子遗传研究和育种的良好材料.

尽管在籼稻和粳稻中均有鉴定出耐热的品种<sup>[7-8]</sup>,但是对不同生态型水稻抽穗开花期的耐热性鉴定结果表明,籼稻的耐热性比粳稻的强<sup>[9]</sup>.然而,以往的研究是根据形态指数法对品种的籼粳性进行划分,考察其籼粳性与耐热性的关系.应用形态指数法进行籼粳性分类有一定的主观性,并受环境条件影响,而且这种分类方法无法对水稻品种的籼粳性进行定量分析.为了深入了解水稻籼粳分化与耐热性的关系,本研究利用对籼粳性有专一分辨能力的SSR和InDel标记进行籼粳性分析,以籼性度对这些品种(系)的籼粳性进行量化.这种方法能客观地反映测试水稻品种籼粳性的差异.研究表明,耐热性与籼性度呈显著正相关( $P < 0.05$ ).进一步比较籼型组和粳型组的平均耐热指数( $t$ -检验)结果表明,籼型组的平均耐热指数(0.32)显著高于粳型组的平均耐热指数(0.14) ( $P < 0.05$ ).因此,在籼稻资源中进

行耐热性筛选将有更大的机会获得强耐热性的稻种资源.

#### 参考文献:

- [1] SATAKE T, YOSHIDA S. High temperature induced sterility in *indica* rices at flowering[J]. Japanese Journal of Crop Science, 1978, 47, 6-17.
- [2] BATTISTIL D S, NAYLOR R L. Historical warnings of future food insecurity with unprecedented seasonal heat [J]. Science, 2009, 323:240-244.
- [3] 艾青,牟同敏. 水稻耐热性研究进展[J]. 湖北农业科学, 2008, 47: 107-111.
- [4] 杨梯丰,刘斌. 水稻耐热性 QTL 鉴定的研究进展[J]. 广东农业科学, 2009, 36(6):16-20.
- [5] 陈雨,杨庆文,潘大建,等. 用 SSR 标记初步分析高州普通野生稻的籼粳分化[J]. 分子植物育种, 2008, 6(2):263-267.
- [6] 赵伟,夏寒冰,章淑杰,等. 籼-粳稻特异插入/缺失分子标记揭示的稻属植物遗传分化[J]. 复旦学报:自然科学版, 2008, 47(3):281-287.
- [7] PRASAD P V V, BOOTE K J, ALLEN Jr L H, et al. Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress[J]. Field Crops Research, 2006, 95:398-411.
- [8] MATSUI T, OMASA K, HORIE T. The difference in sterility due to high temperatures during the flowering period among japonica-rice varieties [J]. Plant Production Science, 2001, 4: 90-93.
- [9] 沈波,李太贵. 水稻新品种(组合)对高温热害的抗性评价[J]. 种子, 1996(6):19-20.