

水稻顶端颖花退化的形态与发育学研究

姜 辉¹,姜树坤¹,陈丽丽²,王嘉宇²,白良明¹,孙世臣¹,张凤鸣¹

(1. 黑龙江省农业科学院 耕作栽培研究所,黑龙江 哈尔滨 150086;2. 沈阳农业大学 水稻研究所,辽宁 沈阳 110866)

摘要:为指导水稻生产,提高其产量,以水稻顶端颖花退化材料 *ats1* 和对照品种秋光为材料研究幼穗及颖花的形态状态及发育规律。结果表明:*ats1* 在株型、生育进程、抽穗期等农艺性状上与秋光无明显差异。形态上,*ats1* 上部颖花退化,下部颖花正常。抽穗后,上部颖花败育脱落,穗顶仅留下部分穗轴。发育上 *ats1* 的上部退化颖花能发育出 1 对副护颖、1 对护颖、外颖、内颖、2 枚浆片、6 枚雄蕊和 1 枚雌蕊等花器,但发育不成熟。*ats1* 顶端颖花退化发生在幼穗发育的 In8 阶段。

关键词:水稻;顶端颖花退化;形态;发育

中图分类号:S511 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)01-0007-05 **DOI:**10.11942/j.issn1002-2767.2016.01.0007

水稻产量由单位面积穗数、每穗实粒数和千粒重 3 个因素构成。由于生态条件等原因,北方粳稻的单位面积穗数水平相对较高,进一步增加的潜力较小,提高每穗粒重是实现进一步增产的主要途径^[1]。每穗粒重由每穗粒数和千粒重决定,在长期自然选择和人工选择下,生产应用的品种间千粒重差异不大,因此,增加每穗颖花数是目

前国内外水稻育种者对进一步增产的共识^[2-4]。从发育角度来看,成熟时每穗颖花数的多少取决于幼穗分化前期颖花的分化数和幼穗分化后期颖花的退化数两个方面。因此,在促进颖花分化的同时尽量减少颖花退化是增加每穗颖花数的重要手段之一。

颖花退化严重影响作物产量潜力的充分发挥。水稻颖花退化按发生的位置分为两类,一是基部颖花退化,二是顶端颖花退化,目前关于基部颖花退化的研究较多。陈小荣等研究认为,水稻基部颖花退化存在品种间差异,且受播期影响。分析发现播期是通过影响分化速率和分化持续时间来调控基部颖花的退化^[5]。顶端颖花退化俗称“秃顶或秃尖”,在水稻育种和生产中时有发生,但鲜有对水稻顶端颖花退化进行细致的形态及发育

收稿日期:2015-12-09

基金项目: 中国博士后科学基金面上资助项目(2011M501077);黑龙江省博士后资助项目(LBH-Z11030);国家科技支撑计划资助项目(2011BAD16B11)、(2011BAD35B02)

第一作者简介: 姜辉(1981-),男,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,助理研究员,从事耕作栽培研究。E-mail:jianghui0501@163.com。

通讯作者: 张凤鸣(1957-),男,黑龙江省阿城县人,研究员,从事水稻育种研究。E-mail:zhangfengming570@163.com。

Classification on Source-sink Type of Rice Population in the Third Accumulated Belt of Heilongjiang Province

XUE Jing-fang

(Jiamusi Rice Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences,Jiamusi , Heilongjiang 154026)

Abstract: In order to breed great rice germplasm suitable for the third accumulated belt, and make cultural measures, 26 rice varieties (or lines) of the third accumulated belt in Heilongjiang province was used to study classification of source and sink type under same cultivation management. The results showed that 13 source-sink traits of 26 rice varieties (or lines) were summed up in five principal component factors, namely, leaf area index, sink capacity, grain number per panicle, harvest index and blighted rate, cumulative contribution rate of five principal component factors reached 88.04%. Using clustering method, three types such as small source, sink limited type, source-sink interaction type were classified for 26 high-yield rice varieties. Among them, source-sink interactions type had comprehensively better traits with higher down three leaf area and leaf index, higher sink-potential, higher economic index and yield, better balance of source-sink, which was used as the first choice of parents, such as Longjing 20 and Longjing 27.

Keywords: Heilongjiang province; rice; source-sink type; classification

学研究。经观察发现,顶端颖花退化一般发生在出穗前,出穗后表现颖花退化变白,败育脱落。生产上在营养生长向生殖生长转变时期,如果出现不适宜的环境条件,会加速颖花退化。顶端颖花退化往往导致每穗粒数的大幅度下降及单株产量的降低。因此,研究顶端颖花退化的形态及发育基础,揭示其发生规律,对于指导水稻生产,提高产量水平具有重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用的顶端颖花退化材料来自籼稻七山占与粳稻秋光的杂交回交后代,经连续多年的观察,退化现象始终稳定存在,且在表型上与秋光基本一致。具体选育过程见图 1,2009 年,在籼稻七山占与粳稻秋光的杂交 F_4 群体中发现顶端颖花退化单株,随后对该单株在海南和哈尔滨两地进行了连续 3 代回交,并自交 2 代,获得稳定遗传的材料,命名为 *ats1*。对照材料为粳稻秋光。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验于 2012 年在黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所试验田 ($N45^{\circ}85'$; $E126^{\circ}83'$) 进行。4 月 18 日育苗,5 月 21 日移栽, *ats1* 和秋光各 8 行,每行 4 m,栽植的行株距为 $30\text{ cm}\times13.3\text{ cm}$ 。其它管理与一般大田相同。肥料用量分别为 $N\ 60\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 、 $P_2O_5\ 90\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 、

$K_2O\ 90\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。

1.2.2 测定项目及方法 ①性状调查:于 7 月 25 日(此时两材料的稻穗尚未抽出,但已基本发育结束,退化材料的上部颖花仍可辨别)调查除边行外长势均衡的 1 行穗数(30 穴或 4 m),取其长势中等 10 穴,调查所有穗的一次枝梗数,按众数取其中 5 穗进行考种。考察包括穗长、顶部退化长度、一次枝梗数、二次枝梗数、一次枝梗退化颖花数、二次枝梗退化颖花数等性状。②基因型分析:分别取 *ats1* 和秋光各 15 株的叶片混合,液氮磨碎,基因组 DNA 的提取采用姜树坤等的方法略作修改^[6]。取 5 g 叶片剪碎,液氮研磨后,迅速转入灭菌的离心管中,加入 $500\ \mu\text{L}$ 预热过(65°C)的 $2\times\text{CTAB}$ 提取液($100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl pH8.0, $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA, $1.4\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, $2\%\text{CTAB}$),放入 65°C 水浴 30 min。每隔 10 min 轻轻摇动混匀。加等体积的氯仿/异戊醇(24:1),轻轻颠倒混匀 10 min,于台式冷冻离心机上 $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min。将上清液转入另一离心管中,重复前一步骤 3 次。将上清液逐滴转入另一装有 2 倍体积的预冷无水乙醇离心管中,使 DNA 沉淀, -20°C 放置 30 min。挑出絮状沉淀于离心管中。超净工作台上吹干后用少量无菌的去离子水或 TE 溶液在 4°C 溶解 DNA。

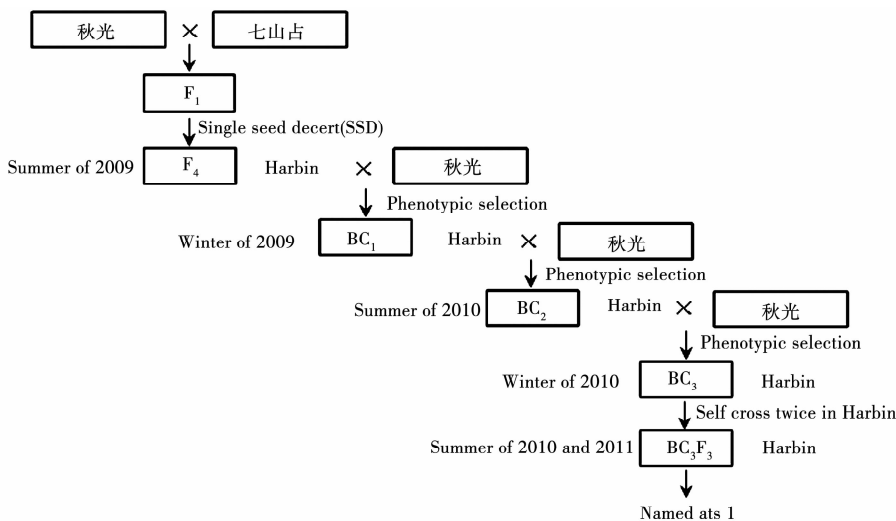


图 1 顶端颖花退化材料 *ats1* 的选育过程

Fig. 1 Breeding scheme for the selection of *ats1*

选取覆盖水稻 12 条染色体的 100 对在秋光和七山占之间有多态性的 SSR 标记进行分析。PCR 反应体系为 $15\ \mu\text{L}$, 含 $10\times$ 缓冲液 $1.5\ \mu\text{L}$ 、

$1.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{MgCl}_2$ 、 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 引物 I 和引物 II、 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{dNTP}$ 、 1 U Taq 酶、 15 ng DNA 、 $\text{ddH}_2\text{O}\ 16.25\ \mu\text{L}$ 。应用美国 MJ Research 公司

的 PTC-200 进行扩增,反应程序为 94℃ 预变性 5 min;每个循环 94℃ 预变性 1 min, 50、55 或 60℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 2 min,30 个循环;最后 72℃ 延伸 8 min。扩增产物经 6% 变性 PAGE 电泳,银染检测^[7]。③发育观察及电镜分析:根据前期调查的发育进程数据,在水稻幼穗发育开始后,每隔 3 d 取样 1 次,利用 Nikon SMZ600 体视镜和 TM1000 电子扫描显微镜观察幼穗及颖花发育状态及进程。

使用 Microsoft Excel 2013 和 GraphPad

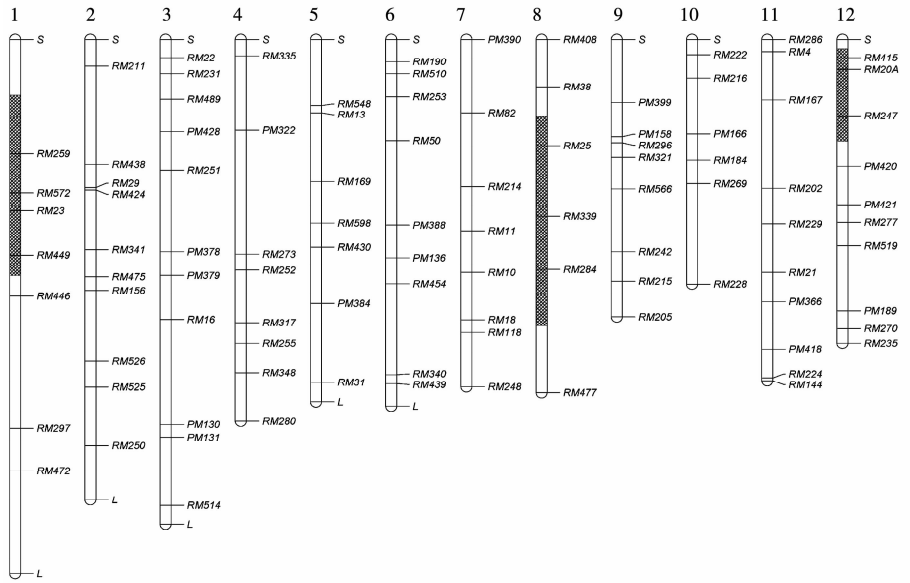


图 2 ats1 利用分子标记构建的图示基因型
Fig. 2 Genotype of ats1 by using SSR markers

2.2 顶端颖花退化材料的形态学特征

抽穗前,ats1 在株型、生育进程、抽穗期等农艺性状上与对照秋光无明显差异。种考分析发现,ats1 上部颖花退化,且多为一次颖花,少部分为二次颖花。二者穗长差异不显著,但 ats1 的一次枝梗长度显著长于秋光(见图 3)。进一步分析二者的颖花数及其构成因素发现,颖花总数和二次颖花数二者差异不显著(见图 4A,B),但退化颖花数存在极显著差异,主要表现在上部一次枝梗颖花的退化上(见图 4C,D)。

从形态上看,ats1 上部颖花退化,下部颖花正常。抽穗后,上部颖花败育脱落,穗顶仅留下部分穗轴。穗抽出前,上部退化颖花黄(白)化,而对照秋光表现正常发育(见图 5C),而二者下部颖花无明显差异(见图 5E)。秋光的上、下部颖花从基部至顶部都依次发育形成了 1 对副护颖、1 对护颖、外颖、内颖、2 枚浆片、6 枚雄蕊和 1 枚雌蕊(见图

Prism 6 完成相关数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 顶端颖花退化材料 ats1 的基因型分析

选取在秋光和七山占之间有多态性,且扩增效果较好的 100 对 SSR 标记,对 ats1 和秋光进行多态性分析。从图 2 中可以看到,仅在第 1、8 和 12 号染色体上检测到差异区间。ats1 的秋光背景回复率达到了 89.4%,二者可以在一定程度上视为 1 对近等基因系材料。

5C,D,E,F)。ats1 的下部颖花与“秋光”下部颖花在形态上无明显差异(见图 5E,F)。而 ats1 的上部退化颖花也能发育出 1 对副护颖、1 对护颖、外颖、内颖、2 枚浆片、6 枚雄蕊和 1 枚雌蕊等花器,但发育不成熟(见图 5 D)。

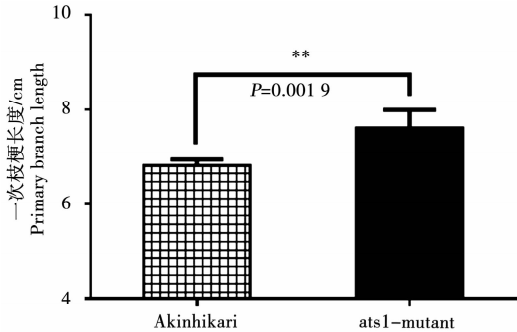


图 3 ats1 和秋光的一次枝梗长度比较
Fig. 3 Comparison of branch length between ats1 and Akinhikari

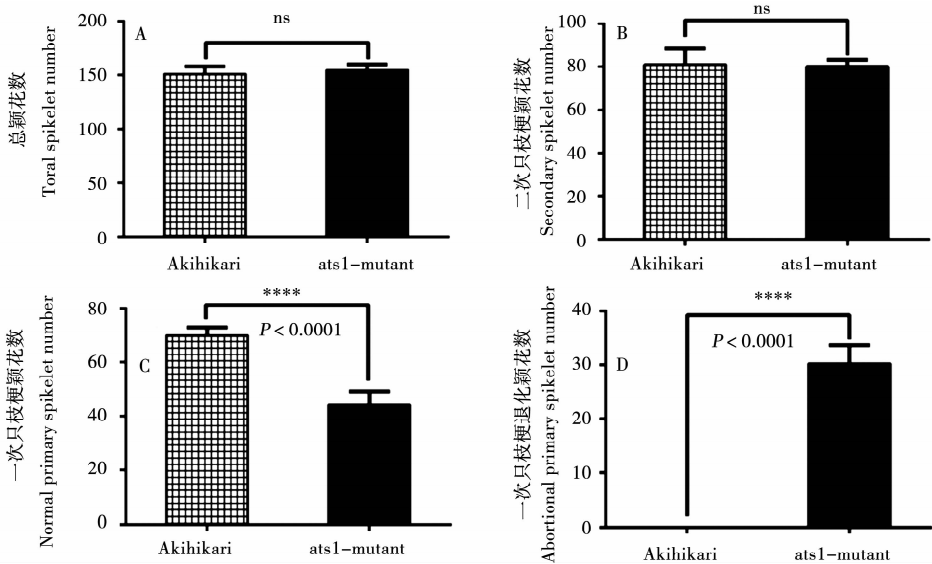
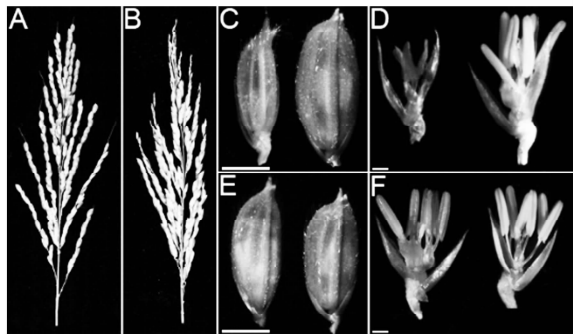


图 4 *ats1* 和秋光的颖花数及其构成比较
Fig. 4 Comparison of branch length between *ats1* and Akihikari

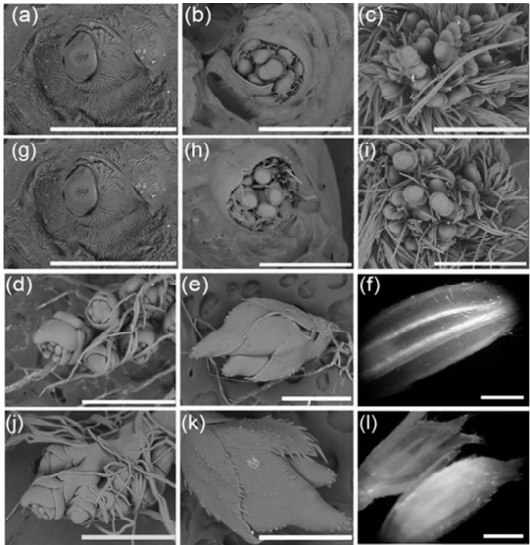


A:秋光的稻穗;B: *ats1* 的稻穗;C: *ats1* 和秋光的上部一次颖花;D: *ats1* 和秋光上部一次颖花的花器;E: *ats1* 和秋光的下部一次颖花;F: *ats1* 和秋光下部一次颖花的花器
A: panicle of Akihikari; B: panicle of *ats1*; C: top primary branch spikelet of *ats1* and Akihikari; D: top primary branch spikelet floral organs of *ats1* and Akihikari; E: lower primary branch spikelet of *ats1* and Akihikari; F: Lower primary branch spikelet floral organs of *ats1* and Akihikari

图 5 *ats1* 和秋光的穗、颖花及基本花器的比较
Fig. 5 Comparison of panicle, spikelet and basic floral organ between *ats1* and Akihikari

2. 3 顶端颖花退化发生的发育学观察

从发育上看, *ats1* 与秋光在 In1 时期都能正常建立穗轴分生组织, 形成第 1 苞叶原基 (见图 6 a, g); 在 In2、In3 时期, 二者都成形成一次枝梗原基, 且一次枝梗原基形成螺旋排列 (见图 6 b, h); 在 In4、In5 阶段, 二者的一次枝梗均能正常伸长, 发育形成更高级的二、三次枝梗 (见图 6 c, i); 在 In6、In7 阶段, 二者都能正常分化颖壳, 发育出第 1、2 副护颖、第 1、2 护颖、6 枚雄蕊和 1 个心皮 (见



a, g 分别为秋光 (a) 和 *ats1* (g) 形成顶端分生组织; b, h 分别为秋光 (b) 和 *ats1* (h) 的一次枝梗原基分化; c, i 分别为秋光 (c) 和 *ats1* (i) 的二次枝梗原基分化; d, e, j, k 分别为秋光 (d, e) 和 *ats1* (j, k) 的花器发育; f, l 分别为秋光 (f) 和 *ats1* (l) 在 In8 阶段的颖花比较
a, g: The initiation of SAM to rachis meristem in Akihikari (a) and *ats1* (g). b, h: Developing inflorescences at the primary branch differentiation stage in Akihikari (b) and *ats1* (h). c, i: Developing inflorescences at the secondary branch differentiation stage in Akihikari (c) and *ats1* (i). d, e, j, k: The Primary and secondary branch meristems converted into terminal spikelet meristems and formed rudimentary glumes in Akihikari (d, e) and *ats1* (j, k). f, l: The spikelet development at In8 in Akihikari (f) and *ats1* (l).

图 6 *ats1* 和秋光的幼穗、颖花发育比较
Fig. 6 Comparison of panicle and spikelet development between *ats1* and Akihikari

图 6 d,e,j,k);在随后的 In8 阶段,二者的穗轴和枝梗均能快速伸长,但 *ats1* 的上部颖花在此阶段停止发育,虽能正常发育花药,但不能正常发育出花粉。因此,可以确定顶端颖花退化发生在幼穗发育的 In8 阶段。

3 结论与讨论

本文研究发现,顶端颖花退化材料 *ats1* 在株型、生育进程、抽穗期等农艺性状上与对照“秋光”无明显差异,仅表现为上部一次枝梗颖花退化。这一表型与高素伟等^[8]发现的穗顶部退化突变体 L-05261 的表型一致。与 Tan 等^[9]在日本晴-9311 片段代换系中发现的表型也很类似。但关于这一现象的发育学观察本文为首次报道。通过观察,基本可以确定上部退化颖花也能发育出 1 对副护颖、1 对护颖、外颖、内颖、2 枚浆片、6 枚雄蕊和 1 枚雌蕊等花器,但发育不成熟,顶端颖花退化发生在幼穗发育的 In8 阶段。

此外,本研究发现高温、干旱、盐碱等不良生态环境能够加剧颖花退化的程度,但对照秋光为在各种环境处理均未发现明显的顶端颖花退化现象(数据未列出),表明顶端颖花退化主要由基因控制,同时不良环境能够诱导或强化该基因的表达,进而表现为顶端颖花退化。同时还发现,穗肥

施用量的增加能够减轻顶端颖花退化程度,表明顶端颖花退化很可能与幼穗发育 In8 阶段养分缺失或运输受阻有关。

参考文献:

- [1] 徐正进,陈温福,张文忠. 北方粳稻新株型超高产育种研究进展[J]. 中国农业科学,2004,37(10): 1407-1413.
- [2] 陈温福,徐正进. 水稻超高产育种理论与方法[M]. 北京:科学出版社,2007.
- [3] 袁隆平. 杂交水稻超高产育种[M]. 杂交水稻,1997,12(6): 1-6.
- [4] Sheely J E, Dionora M J A, Mitch P L. Spikelet numbers, sink size and potential yield in rice[J]. Field Crops Research,2001,71(2): 77-85.
- [5] 陈小荣,钟蕾,贺晓鹏,等. 稻穗枝梗和颖花形成的基因型及播期效应分析[J]. 中国水稻科学,2006,20(4): 424-428.
- [6] 姜树坤,钟鸣,徐正进. RAPD 标记进行水稻籼粳分类的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2006,37(4): 639-641.
- [7] Panaud O, Chen X, Mc Couch S D. Development of micro-satellite marker and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Mol Gen Genet,1996,252: 597-607.
- [8] 高素伟,张玲,毛毕刚,等. 水稻穗顶部退化突变体 L-05261 的遗传分析[J]. 作物学报,2011,37(11): 1935-1941.
- [9] Tan C J, Sun Y J, Xu H S, et al. Identification of quantitative trait locus and epistatic interaction for degenerated spikelets on the top of panicle in rice[J]. Plant Breeding, 2011,130:177-184.

Research on Phenotype and Development of Abortion Top Spikelet in Rice (*Oryza sativa* L.)

JIANG Hui¹, JIANG Shu-kun¹, CHEN Li-li², WANG Jia-yu², BAI Liang-ming¹, SUN Shi-chen¹, ZHANG Feng-ming¹

(1. Cultivation and Farming Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; Rice Research Institute, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866)

Abstract: In order to guide rice production and improve the yield, the abortion top spikelet variety *ats1* and CK variety Akihikari were used as materials to research the phenotype and development of young panicle and spikelet. The results showed that *ats1* exhibited remarkable phenotypes with a number of whitish and undeveloped (immature) spikelet in the primary branches at the top of panicle after heading. The abortion spikelet could develop a pair of rudimentary glume, a pair of empty glume, lemma, palea, two lodicule, six stamen and one carpel. But all these floral organs did not develop maturity. The top spikelet stopped developing at In 8.

Keywords: rice (*Oryza sativa* L.); abortion top spikelet; phenotype; development

(该文作者还有丁国华,王彤彤,张喜娟,夏天舒,单位同第二作者)