

刘梦雪,荣成博,牛玉蓉,等. 亚侧耳遗传多样性的 ISSR 和 SRAP 综合分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(7):43-47.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.07.010

亚侧耳遗传多样性的 ISSR 和 SRAP 综合分析

刘梦雪^{1,2}, 荣成博², 牛玉蓉², 宋爽², 刘宇², 陈青君¹

(1. 北京农学院植物科学技术学院农业应用新技术北京市重点实验室,北京 102206;

2. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所/北京市食用菌工程技术研究中心,北京 100097)

摘要: 对全国范围内收集到的 19 个亚侧耳菌株的遗传多样性进行简单重复序列区间 (inter-simple sequence repeat, 简称 ISSR) 和序列相关扩增多态性 (sequence-related amplified polymorphism, 简称 SRAP) 分析。首先随机选取 19 个亚侧耳菌株中的 3 个样本对 ISSR 和 SRAP 引物进行基因组 DNA 的 PCR 扩增, 最终成功筛选出 13 条 ISSR 引物和 13 对 SRAP 引物。利用这 26 个引物或引物对, 以 19 个亚侧耳菌株的基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 共获得 301 条稳定且清晰的 DNA 条带, 其中 285 条具有多态性。聚类分析结果表明, 在相似系数为 0.70 时, 可将 19 个供试菌株分为 5 大类。利用 ISSR 和 SRAP 分子标记技术揭示了 19 个亚侧耳菌株的遗传多样性, 为亚侧耳优良菌株的选育奠定了理论基础。

关键词: 亚侧耳; ISSR; SRAP; 遗传多样性

中图分类号: S646.1⁺40.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)07-0043-04

亚侧耳 (*Hohenbuehelia serotina*), 别称元蘑、冻蘑、黄蘑等, 隶属于真菌门担子菌亚门层菌纲伞菌目白蘑科侧耳属。亚侧耳富含蛋白质、氨基酸、多种不饱和脂肪酸和微量元素, 是一种高蛋白、低脂肪的健康食品。亚侧耳分布于河北、黑龙江、吉林、广西、陕北、四川等地, 在吉林长白山区自然分布较多, 是东北地区著名的土特产^[1]。由于长期大量采摘, 亚侧耳野生存量已逐年减少^[2]。

食用菌种质资源是优良品种育种的基础材料, 育种成效除了取决于所掌握种质资源的数量, 还在很大程度上取决于对这些种质资源多样性的遗传特性的掌握。分子标记作为食用菌遗传多样性研究中的一个重要手段, 其应用越来越广泛^[3]。

简单重复序列区间 (inter-simple sequence repeat, 简称 ISSR) 是由 Zietkiewicz 等于 1994 年创建的一种 DNA 标记技术^[4], 结合了随机扩增多态性 DNA (random amplification polymorphic DNA, 简称 RAPD) 和简单重复序列 (simple sequence repeats, 简称 SSR) 方法的优点, 是一种具有稳定性和高重复性的分子标记方法, 被广泛应用于食用菌方向。冯伟林等利用 11 个 ISSR 引物对 12 个杏鲍菇生产性菌株基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 发现利用 ISSR 分子标记技术能够将

杏鲍菇菌株区分开, 并将 12 个杏鲍菇菌株聚为 3 个群, 清晰地揭示了杏鲍菇菌株间的遗传关系^[5]。

序列相关扩增多态性 (sequence-related amplified polymorphism, 简称 SRAP) 是一种由美国加州大学 Li 等应用的分子标记技术^[6], 该技术利用上游引物针对外显子区域, 下游引物针对内含子区域、启动子区域进行特异性扩增, 上游引物和下游引物自由结合, 配对出不同的组合进行反应。许峰等利用 9 对 SRAP 引物对 22 个白色金针菇进行聚类分析, 在相似系数为 0.820 水平时, 将供试菌株分为五大类, 此技术揭示了北京地区金针菇菌株的遗传多样性^[7]。

由于每个方法的开发原理不同, 聚类分析结果通常会存在较大的差异, 将多个分子标记综合运用能最大地优化聚类分析结果^[8]。刘婧宇等运用 ISSR、RAPD 和 SRAP 对 26 株香菇进行聚类分析, 综合分析结果表明, 供试菌株间的遗传相似系数范围为 0.49~0.97, 在相似系数为 0.61 时, 将 26 株香菇分为 3 个类群^[8]。

笔者所在实验室对全国范围内收集到的亚侧耳菌株进行收集、保存, 通过 ISSR 和 SRAP 分子标记综合分析, 对 19 个亚侧耳菌株进行遗传多样性研究, 以期杂交育种中亲本的选择和种质资源保护提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

1.1.1 试验材料 本研究所用菌株的名称及来源见表 1。

1.1.2 试剂及培养基 马铃薯、葡萄糖、琼脂粉 (BD Difco)、蛋白胨 (OXIOD)、维生素 B₁、分析纯磷酸二氢钾、硫酸镁等化学试剂, 均购自国药集团北京化学试剂有限公司; 2 × Taq PCR MasterMix, 购自北京艾德莱生物科技有限公司; 琼脂糖, 购自西班牙 Biowest 公司; 所有引物均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司 (Sangon) 合成。

PDA 综合培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂粉 20 g、

收稿日期: 2017-01-07

基金项目: 北京市农林科学院所级科技创新团队建设 (编号: JNKST201614); 北京市农林科学院科技创新能力建设专项 (编号: KJCX20170106); 北京市农林科学院青年基金 (编号: QNJJ201524)。

作者简介: 刘梦雪 (1992—), 女, 内蒙古包头人, 硕士研究生, 主要从事食用菌方向的研究。E-mail: Liუმengxue1992@163.com。

通信作者: 刘宇, 研究员, 主要从事食用菌育种及栽培技术研发工作, Tel: (010)51503437, E-mail: ly6828@sina.com; 陈青君, 博士, 教授, 主要从事设施和林地食用菌栽培生理生态研究, Tel: (010)80799143, E-mail: cqj3305@126.com。

表 1 供试菌株及其来源

编号	菌株	种名	来源
01	JZB2121001	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 760 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
02	JZB2121002	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 800 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
03	JZB2121003	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 800 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中蒙古栎倒木上
04	JZB2121004	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 780 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中蒙古栎倒木上
05	JZB2121005	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 780 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中蒙古栎倒木上
06	JZB2121006	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 760 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
07	JZB2121007	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 780 m, 头道自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
08	JZB2121008	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 900 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
09	JZB2121009	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 780 m, 白河自然保护区林中椴树倒木上
10	JZB2121010	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 900 m, 头西自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
11	JZB2121011	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 760 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中蒙古栎倒木上
12	JZB2121012	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 780 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中蒙古栎倒木上
13	JZB2121013	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 760 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
14	JZB2121014	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 760 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中蒙古栎倒木上
15	JZB2121015	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 780 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中蒙古栎倒木上
16	JZB2121016	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 800 m, 头道自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
17	JZB2121017	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	长白山海拔 800 m, 白河自然保护区红松阔叶混交林中椴树倒木上
18	JZB2121018	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	北京市农林科学院植物保护环境保护研究所 3726 - 27 北京市食用菌工程技术研究中心保存
19	JZB2121019	<i>Hohenbuehelia serotina</i>	北京市农林科学院植物保护环境保护研究所 8547 - 51 北京市食用菌工程技术研究中心保存

硫酸镁 1.5 g、磷酸二氢钾 3 g、蛋白胨 5 g、维生素 B₁ 10 mg, 加水至 1 000 mL。

1.1.3 仪器 主要仪器包括 PCR 仪 (Eppendorf Mastercycler Gradient)、凝胶成像系统 (Bio - Rad)、紫外 - 可见分光光度计 (Labtech UV9100)、电泳仪 (北京六一生物科技有限公司, DYY - Ⅲ - 12B)、电子分析天平 (奥豪斯仪器上海有限公司)、台式高速冷冻离心机 (Eppendorf 5415R)、移液器 (Eppendorf) 等。

1.2 试验方法

1.2.1 ISSR 和 SRAP 分析 取在 PDA 平板上活化 7 ~ 10 d 的亚侧耳菌株, 刮取少量菌丝作为试验材料, DNA 的提取参照许峰等的方法^[9], ISSR 扩增反应体系及扩增程序参照冯伟林等的方法^[10]; SRAP 扩增反应体系及扩增程序参照边银丙等的方法^[11], 所用引物见表 2、表 3。取 7 μL PCR 扩增产物, 按 2% 的量加入 SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen) 进行琼脂糖凝胶电泳, 置于紫外凝胶成像系统上观察并拍照记录。

表 2 ISSR 分析用引物

引物 编号	序列 (5'→3')	引物 编号	序列 (5'→3')
808	AGAGAGAGAGAGAGAC	834	AGAGAGAGAGAGAGGYT
809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC
810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	873	GACAGACAGACAGACA
812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	878	GGATGGATGGATGGAT
818	CACACACACACACACAG	880	GGAGAGGAGAGAGAGA
825	ACACACACACACACACT	881	GGGTGGGGTGGGGTG
827	ACACACACACACACACG		

1.2.2 数据处理及分析 在同一水平上将扩增出的强带或可分辨性好的弱带均视为扩增阳性, 并赋值“1”, 将未扩增出的条带视为扩增阴性, 赋值“0”, 用 NTSYSpc 2.10 软件进行聚类分析。

表 3 SRAP 分析用引物

正向 引物	序列 (5'→3')	反向 引物	序列 (5'→3')
Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	Em4	GACTGCGTACGAATTGA
Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	Em13	GACTGCGTACGAATTGGT
Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em14	GACTGCGTACGAATTCAG
Me4	TGAGTCCAAACCGGACC	Em16	GACTGCGTACGAATTCGG
Me5	TGAGTCCAAACCGGAAG	Em17	GACTGCGTACGAATTCCA
Me8	TGAGTCCAAACCGGTGT		
Me9	TGAGTCCAAACCGGTCA		

2 结果与分析

2.1 供试菌株 ISSR 分析结果

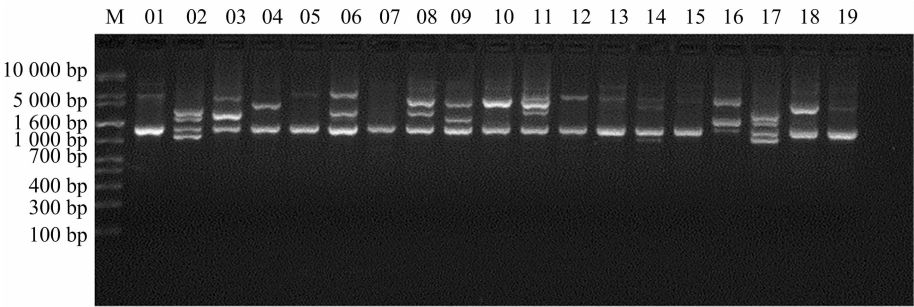
以菌株 JZB2121009、JZB2121011、JZB2121017 为模板, 筛选出 13 条扩增条带稳定、清晰、重复性好的 ISSR 引物 (表 2)。以提取的 19 个供试亚侧耳菌株的基因组 DNA 为模板, 使用经过对不同引物的 PCR 扩增筛选获得的 13 条引物 (表 2), 在供试菌株上 PCR 产物的电泳效果较好, 每个菌株都可以通过 PCR 扩增出 DNA 条带, 且条带稳定、清晰、重复性好、分布合理。13 条引物共扩增出 154 条 DNA 片段, 其中多态性条带数为 145 个, 平均多态性为 94.2% (表 4)。由图 1 可以看出, 不同引物扩增出的 DNA 条带数不等, 其序列长度多为 200 ~ 5 000 bp, 其中包含了丰富的 DNA 多态信息。

2.2 供试菌株的 SRAP 分析结果

以提取的 19 个供试亚侧耳菌株的基因组 DNA 为模板, 使用经过不同引物的 PCR 扩增筛选获得的 13 对引物 (表 3), 在供试菌株上 PCR 产物的电泳效果较好, 每个菌株都可以通过 PCR 扩增出 DNA 条带, 且条带稳定、清晰、重复性好、分布合理。13 对引物共扩增出 147 条 DNA 片段, 其中多态性条带数为 140 条, 平均多态性为 94.5% (表 5)。

表 4 ISSR 多态性

引物编号	序列 (5'→3')	总条带数 (个)	每个菌株中的条带数(个)		多态性条带数 (个)	多态性 (%)
			范围	均值		
808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	13	2~19	4.7	12	92.3
809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	13	1~19	5.8	11	84.6
810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	9	2~19	3.8	8	88.9
812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	15	1~14	6.3	15	100.0
818	CACACACACACACACAG	9	1~17	2.8	9	100.0
825	ACACACACACACACACT	7	3~19	2.8	6	85.7
827	ACACACACACACACACG	10	2~18	4.9	10	100.0
834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	16	2~13	5.9	16	100.0
835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	15	1~19	5.4	13	86.7
873	GACAGACAGACAGACA	6	3~18	3.0	6	100.0
878	GGATGGATGGATGGAT	15	2~16	6.4	15	100.0
880	GGAGAGGAGAGGAGA	15	1~19	6.5	13	86.7
881	GGGTGGGTGGGGGTG	11	1~16	3.8	11	100.0
合计		154	22~226	62.2	145	
平均		11.8	1.7~17.4	4.8	11.2	94.2



01~19 泳道分别对应 JZB2121001~JZB2121019 菌株。图 2 同

图1 引物 825 对 19 株亚侧耳菌株的扩增结果

表 5 SRAP 多态性

引物	序列 (5'→3')	总条带数 (个)	每个菌株中的条带数(个)		多态性条带数 (个)	多态性 (%)
			范围	均值		
me5/em16	TGAGTCCAAACCGGAAG/GACTGCGTACGAATTCGG	9	1~18	3.1	9	100.0
me8/em16	TGAGTCCAAACCGGTGT/GACTGCGTACGAATTCGG	15	1~19	6.7	14	93.3
me5/em17	TGAGTCCAAACCGGAAG/GACTGCGTACGAATTCCTA	16	1~19	5.9	15	93.8
me8/em17	TGAGTCCAAACCGGTGT/GACTGCGTACGAATTCCTA	12	1~18	3.5	12	100.0
me1/em4	TGAGTCCAAACCGGATA/GACTGCGTACGAATTTGA	7	3~19	3.7	5	71.4
me2/em4	TGAGTCCAAACCGGAGC/GACTGCGTACGAATTTGA	13	1~19	4.1	12	92.3
me1/em13	TGAGTCCAAACCGGATA/GACTGCGTACGAATTTGGT	10	1~13	2.8	10	100.0
me2/em13	TGAGTCCAAACCGGAGC/GACTGCGTACGAATTTGGT	11	1~18)	3.1	11	100.0
me3/em4	TGAGTCCAAACCGGAAT/GACTGCGTACGAATTTGA	13	1~19	6.1	12	92.3
me4/em4	TGAGTCCAAACCGGACC/GACTGCGTACGAATTTGA	13	1~13	3.7	13	100.0
me5/em4	TGAGTCCAAACCGGAAG/GACTGCGTACGAATTTGA	10	2~18	3.6	10	100.0
me5/em13	TGAGTCCAAACCGGAAG/GACTGCGTACGAATTTGGT	11	1~18	3.0	11	100.0
me9/em14	TGAGTCCAAACCGGTCA/GACTGCGTACGAATTCAG	7	1~19	3.5	6	85.7
合计		147	16~230	52.7	140	
平均		11.3	0.9~17.7	4.0	10.8	94.5

由图 2 可见,不同引物扩增出的 DNA 条带数不等,其序列长度大多为 200~5 000 bp,其中包含了丰富的 DNA 多态信息。

2.3 供试菌株聚类分析结果

综合 26 条(对)引物扩增出的 301 条 DNA 片段,其中多态性条带 285 条,多态性达 94.7%。用 NTSYSpc 2.10 软件

对 19 个亚侧耳供试菌株进行聚类分析,获得各菌株间的聚类结果(图 3)。

3 结论与讨论

笔者收集了不同地区的 19 个亚侧耳菌株,并对其基因组 DNA 进行 ISSR、SRAP 扩增和遗传多样性分析。聚类分析结

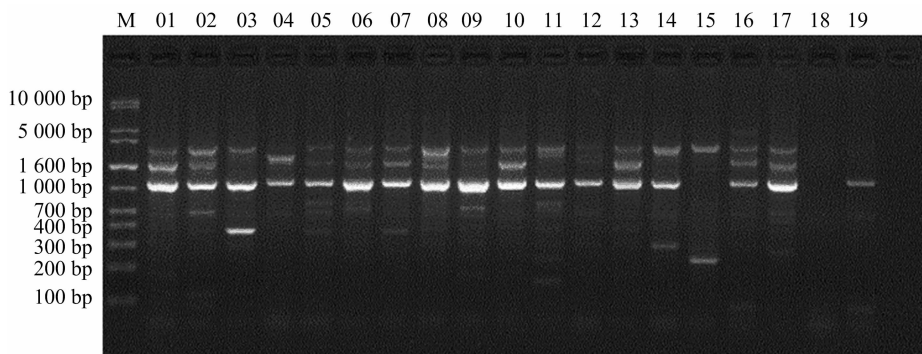
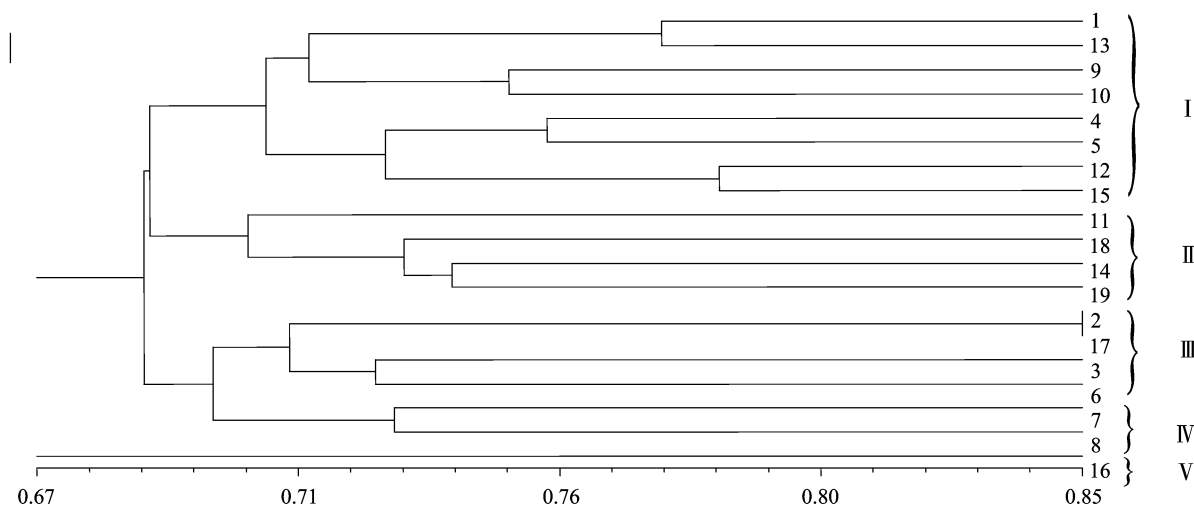


图2 引物 me5/em13 对 19 株亚侧耳菌株的扩增结果



在相似系数为 0.70 时, 可将供试菌株分为 5 大类, 第 I 类包括 1 号、4 号、5 号、9 号、10 号、12 号、13 号和 15 号; 第 II 类包括 11 号、14 号、18 号和 19 号; 第 III 类包括 2 号、3 号、6 号和 17 号; 第 IV 类包括 7 号和 8 号; 第 V 类包括 16 号

图3 19 个亚侧耳菌株的聚类分析结果

果显示, 19 株亚侧耳菌株间的遗传相似系数范围为 0.67 ~ 0.85。在相似系数为 0.70 时, 可将 19 个供试菌株分为五大类。

聚类分析结果显示, 4 号、5 号、12 号和 15 号菌株均来自白河自然保护站的同一海拔、同一区域, 在聚类分析结果中也聚为一簇, 说明品种存在一定的地域性; 野生驯化种 18 号、19 号菌株与野生采集种 14 号菌株亲缘关系较近, 说明 18 和 19 号菌株可能都是由同一个品种选育获得的, 且原始菌株与 14 号菌株为相近或相同品种; 2 号、17 号菌株是来自相同地区的相同菌株, 二者亲缘关系很近, 甚至可能同物异名, 目前的聚类分析手段暂不能区分, 有待用更多的引物进一步进行筛选或利用其他分子标记方法辨别; 同样来自白河自然保护站的 14 个菌株中, 1 号、2 号、6 号、8 号、9 号、12 号和 17 号菌株均采集于椴树倒木上, 3 号、4 号、5 号、11 号、12 号、14 号和 15 号菌株均采集于蒙古栎倒木上。聚类分析结果显示, 品种间亲缘关系与其生长的环境并没有直接联系。

目前国内利用分子标记技术对双孢菇^[12]、金针菇^[13]、杏鲍菇^[14]和黑木耳^[15]等进行遗传多样性分析的报道较多, 但却暂无对亚侧耳品种进行遗传多样性分析的报道。本研究对全国范围内收集的 19 个亚侧耳菌株进行了遗传多样性的系统分析, 对现有种质资源遗传多样性进行评价, 为下一步选取

遗传差异较大的亚侧耳菌株进行杂交育种工作打下了基础。

参考文献:

- [1] 袁文斌, 邹莉, 赵宝山, 等. 元蘑不同栽培种培养基的比较试验[J]. 中国食用菌, 2009, 28(4): 15-17.
- [2] 辛树权, 赵骥民, 沈永. 不同培养条件对元蘑菌丝生长的影响[J]. 北方园艺, 2013(10): 140-142.
- [3] 吴学谦, 李海波, 魏海龙, 等. SCAR 分子标记技术在香菇菌株鉴定上的应用研究[J]. 菌物学报, 2005, 24(2): 259-266.
- [4] Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification[J]. Genomics, 1994, 20(2): 176-183.
- [5] 冯伟林, 蔡为明, 金群力, 等. ISSR 分子标记分析杏鲍菇菌株遗传差异研究[J]. 中国食用菌, 2009, 28(1): 47-49.
- [6] Li G, Quiros C F. Sequence - related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction; its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(2/3): 455-461.
- [7] 许峰, 刘宇, 王守现, 等. 北京地区白色金针菇菌株的 SRAP 分析[J]. 中国农学通报, 2010, 26(10): 55-59.
- [8] 刘靖宇, 宋秀高, 叶夏, 等. 香菇菌株遗传多样性 ISSR、RAPD 和 SRAP 综合分析[J]. 食用菌学报, 2011, 18(3): 1-8.

张丽微, 仲维君, 姜玉伟, 等. 分蘖期氮水耦合对水稻产量和品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(7): 47–50.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.07.011

分蘖期氮水耦合对水稻产量和品质的影响

张丽微, 仲维君, 姜玉伟, 赵婷婷, 宋 泽, 钱永德, 姜冲冲

(黑龙江八一农垦大学农学院/黑龙江省普通高寒地作物栽培技术重点实验室, 黑龙江大庆 163319)

摘要:通过研究分蘖期氮水耦合对水稻产量和品质的影响, 为分蘖期合理施氮灌溉提供理论依据。采用完全随机试验设计, 研究分蘖期施氮量、土壤水分管理 2 个因素对粳稻垦梗 5 号产量和品质的影响。结果表明: 在施氮量为纯氮 51.75 kg/hm²、水层为 5 cm 时的产量(14 278.19 kg/hm²)、糙米率和精米率最高, 直链淀粉含量最低。在不施氮且土壤水势为 -30 kPa 时, 食味评分最高。在本试验条件下, 分蘖期施氮量与土壤水分对粳稻垦梗 5 号的产量和品质存在互作作用, 分蘖期氮水耦合对垦梗 5 号的产量和品质有显著影响, 施氮量为 51.75 kg/hm²、水层为 5 cm 时产量及品质为佳。分蘖期适量施氮灌溉可以提高水稻产量, 改良水稻品质。

关键词:水稻; 分蘖期; 施氮量; 土壤水分管理; 氮水耦合; 产量; 品质; 水势; 食味评分

中图分类号: S511.06; S274 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)07-0047-04

水稻是耗水量最多的作物, 目前其耗水量占全国总用水量的 54% 左右, 占农业总用水量的 65% 以上^[1]。随着人们生活水平的提高, 对高产优质米的需求也越来越大。因此, 有关提高稻米产量及品质的研究非常必要。有研究表明, 在一定的水分胁迫范围内氮肥可起到“以肥调水”作用^[2-3]。徐华平研究了不同生育阶段水肥耦合的效应, 结果表明, 在一定的生育阶段, 在灌溉方式上采用非充分灌溉并配合合理的施肥量, 对水稻减产有很好的控制效果^[4]。施肥是影响稻米食味品质的最重要因素之一, 其中氮素是水稻最重要的养分^[5]。有专家认为, 在水稻栽培技术中, 肥水运筹对品质有很大影响^[3]。近年来, 人们就土壤水分含量对水稻品质的影响进行了大量研究^[6-8], 郭晓红等研究了水分含量对米质的影响^[9-12], 而有关此方面的研究, 由于难以对田间土壤水分有一个定量分析, 因此在水分对优质米形成上未有一个确定结果, 对形成优质米所需的土壤水分指标也未形成定论。有研

究表明, 灌溉方式和氮肥水平对产量和稻米品质的影响具有明显的互作效应^[1], 为提高肥料、水分利用率提供了科学依据, 对节约资源和保护环境具有重要的意义^[13]。为此, 本研究设置了不同施氮量及不同水层厚度 2 个因素, 对水稻品质和产量的影响进行研究, 旨在探讨氮水耦合对水稻品质的影响, 为水稻的优质栽培提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为垦梗 5 号, 主茎 12 叶, 生育期 134 d 左右, 需 ≥10 ℃ 活动积温 2 450 ℃ 左右。供试土壤为白浆土, 其中碱解氮的含量为 279.65 mg/kg, 有效磷的含量为 36.48 mg/kg, 速效钾的含量为 120.43 mg/kg, 有机质的含量为 4.30%, pH 值为 7.40。

1.2 试验方法

试验于 2015 年在黑龙江八一农垦大学防雨棚内进行。采用盆栽试验, 盆钵深 40 cm, 直径 31.5 cm, 每盆装过筛混匀的土 8.5 kg。试验在分蘖期设施氮量、土壤水分管理(水层深度) 2 个因素, 其中氮肥(N, 纯氮) 设 5 个水平: N₁ 为 0、N₂ 为 17.25 kg/hm²、N₃ 为 34.5 kg/hm²、N₄ 为 51.75 kg/hm²、N₅ 为 69 kg/hm²; 土壤水分管理(S) 设 5 个水平: S₁ 为干旱(土壤水势为 -30 kPa)、S₂ 为湿润(无水层, 土壤水势为 0)、S₃ 为水层深 3 cm、S₄ 为水层深 5 cm、S₅ 为水层深 7 cm, 在干旱及湿润处理的盆钵内安装真空表式土壤负压计(中国科学院南京

收稿日期: 2016-11-07

基金项目: 黑龙江省重大科技招标项目(编号: GA14B102-03); 黑龙江农垦总局科技攻关项目(编号: HNK125B-08-21A、HNK-135-2-2)。

作者简介: 张丽微(1992—), 女, 黑龙江黑河人, 硕士研究生, 主要从事水稻高产理论与生理基础研究。E-mail: 1321248930@qq.com。

通信作者: 钱永德, 博士, 教授, 主要从事水稻高产理论与生理基础研究。E-mail: byndqyd@163.com。

[9] 许 峰, 刘 宇, 王守现, 等. 一种适于 PCR 反应的快速提取食用茵基因组 DNA 的方法[J]. 生物技术, 2011, 21(1): 43–44.

[10] 冯伟林, 蔡为明, 金群力, 等. ISSR 分子标记分析杏鲍菇菌株遗传差异研究[J]. 中国食用菌, 2009, 28(1): 47–49.

[11] 边银丙, 宋小亚. 几种新型 DNA 分子标记及其在食用菌研究中的应用[J]. 食用菌学报, 2006, 13(1): 78–81.

[12] 顾 敏, 沈颖越, 金群力, 等. 双孢蘑菇 SSR 分子标记开发及其在遗传多样性分析中的应用[J]. 浙江农业学报, 2013, 25(5):

987–993.

[13] 宿红艳, 王 磊, 明永飞, 等. ISSR 分子标记技术在金针菇菌株鉴别中的应用[J]. 生态学杂志, 2008, 27(10): 1725–1728.

[14] 谭秀梅, 李 永, 朴春根, 等. 杏鲍菇遗传多样性的 SRAP 和 ITS 分析[J]. 农学通报, 2016, 32(12): 110–115.

[15] 马庆芳, 张介驰, 张丕奇, 等. 用 ISSR 分子标记鉴别黑木耳生产菌株的研究[C]. 武汉: 全国食用菌中青年专家学术交流会议, 2006.