

唐清杰,林尤珍,严小微,等. 水稻恢复系 R225 和保持系特 B 空间诱变效应探讨[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):48-50.

# 水稻恢复系 R225 和保持系特 B 空间诱变效应探讨

唐清杰,林尤珍,严小微,韩义胜,孟卫东

(海南省农业科学院粮食作物研究所,海南海口 571100)

**摘要:**通过搭载返回式卫星将水稻恢复系材料 R225 和特 B 种子送入太空,在多种特殊综合因素作用下诱发变异;调查 SP<sub>0</sub>、SP<sub>1</sub>、SP<sub>2</sub>、SP<sub>3</sub>、SP<sub>4</sub> 代的主要农艺性状,并进行 SSR 标记分析。空间诱变后代主要农艺性状指标得到提高或改善,PCR 检测太空诱变后代与留地原种 DNA 扩增条带存在差别。水稻恢复系材料 R225 和保持系材料特 B 发生了空间诱变,为海南水稻选育提供了一条新途径。

**关键词:**水稻;恢复系;保持系;空间诱变;验证

**中图分类号:** S511.035 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0048-03

作物空间诱变育种是我国 20 世纪 80 年代后期开始建立并逐渐发展起来的育种新技术,已先后选育和创造出了一大批优质、高产、抗病的新品种和新种质<sup>[1]</sup>。空间诱变具有变异频率高、变异幅度大、有益变异多等特点,且有些变异是地面诱变处理难以得到的,近年来已发展成为一种育种新途径<sup>[2]</sup>。为了探讨水稻恢复系材料 R225 和保持系材料特 B 的空间诱变效应,本研究将种子通过返回式卫星搭载进行空间

诱变,希望获得性状更加优良的材料,探索海南水稻选育新途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

R225 为海南省农业科学院粮食作物研究所选育的恢复系材料,特 B 为海南省农业科学院粮食作物研究所保存的保持系材料。

### 1.2 处理方法

取 R225 和特 B 种子 20 g 搭载返回式科学与技术试验卫星进行空间诱变处理,20 g 种子保留地面作对照,卫星于 2008 年 10 月 15 日 17 时 10 分在酒泉卫星发射中心由长征二号丙运载火箭发射升空,经过 17 圈轨道运行,于 2008 年 11 月 2 日 10 时 20 分在四川省回收着陆。

收稿日期:2013-02-27

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-01-73);

海南省科学事业费项目(编号:11-21401-0010)。

作者简介:唐清杰(1981—),男,山东青岛人,硕士,助理研究员,研究方向为热带稻类资源研究与利用。E-mail: Flyingfoxtqj@163.com。

通信作者:严小微,副研究员,研究方向为水稻育种。E-mail: yxwei-888@163.com。

佳施氮量为 315.4 kg/hm<sup>2</sup>,最佳产量为 9 952.8 kg/hm<sup>2</sup>。

### 3.2 合适的施氮水平使水稻当季氮肥利用率相对提高

施氮水平能够影响水稻对氮素的吸收,在一定范围内,水稻吸氮量随氮肥施用量的增加而增加,处理 6(施氮水平 375 kg/hm<sup>2</sup>)的水稻吸氮量达到最大值,表现在水稻秸秆、籽粒的全氮含量、100 kg 籽粒吸氮量、土壤供氮量等方面也达到最高值;氮肥用量为 450 kg/hm<sup>2</sup>(处理 7)时,与处理 6(375 kg/hm<sup>2</sup>)相比,氮素吸收不但不增加,反而略有降低。

戈长水等研究表明,氮肥的施用能够明显增加叶片的面积,同时叶片的叶绿素含量(SPAD 值)、叶片含氮量也显著增加<sup>[4]</sup>。叶片面积的增加以及含氮量的增加,提高了叶片同化 CO<sub>2</sub> 的能力,从而提高了水稻的生产能力,因此适当使用氮肥是提高水稻产量的根本因素之一。当施氮量超过 300 kg/hm<sup>2</sup> 时,叶片的面积、SPAD 值以及氮含量均没有再提高。有研究证明,大田中过量施氮不能显著提高水稻生产能力,相反容易发生倒伏等危害,本试验结果验证了这一结论。

### 3.3 合适的施氮水平为水稻高产、物质积累与转移提供了必要的储备

在一定范围内,随着氮肥用量的增加,水稻的营养体(主

要指叶片)、生物产量、经济产量均在提高。本研究中,当氮肥用量在 0~375 kg/hm<sup>2</sup> 范围时,水稻株高 83.2~95.5 cm,生物产量 11 757~20 459 kg/hm<sup>2</sup>(由籽粒产量和谷草比算出秸秆产量,再由稻谷产量和秸秆产量之和算出生物产量),籽粒产量 6 630~10 072 kg/hm<sup>2</sup>,其中处理 6(施氮量 375 kg/hm<sup>2</sup>)的生物产量最高;当氮肥用量增加到 450 kg/hm<sup>2</sup> 时,水稻平均株高为 97.8 cm,生物产量则减少为 19 740 kg/hm<sup>2</sup>,籽粒产量减少为 9 353 kg/hm<sup>2</sup>。可见,一定的施氮量为水稻高产、物质积累与转移提供了必要储备<sup>[2]</sup>。

## 参考文献:

- [1] 杨京平,姜宁,陈杰. 施氮水平对两种水稻产量影响的动态模拟及施肥优化分析[J]. 应用生态学报,2003,14(10):1654-1660.
- [2] 张文香,王成媛,王伯伦,等. 氮肥用量对水稻产量及产量性状的影响[J]. 垦殖与稻作,2005(6):35-38.
- [3] 傅跃进,邢曼平,滕新春,等. 密度和氮肥水平对杂交水稻甬优 15 产量及经济性状的影响[J]. 浙江农业科学,2012(1):13-15.
- [4] 戈长水,应武,孔万根,等. 不同氮肥量对水稻成熟期剑叶外观及氮含量的影响[J]. 杭州农业与科技,2010(4):36-38.

1.3 田间种植与观察

空间搭载种子当代(SP<sub>0</sub>)和对照种子于 2008 年冬在海南省三亚市种植,考查发芽率和出苗率。成活单株移栽至大田,观察株高、株叶形态等农艺性状,成熟后单株收种。2009 年晚季在海南省澄迈县种植 SP<sub>1</sub> 代 2 000 株左右,同期种植留地面的对照种子。从 SP<sub>2</sub> 代起每株系种植 100 株,采用系谱法选择单株,筛选株高、穗长和穗粒结构等变异单株<sup>[3]</sup>。

1.4 空间诱变效应验证

变异后代材料和对照叶片 DNA 提取采用 CTAB 法<sup>[4]</sup>。引物根据 McCouch 等发表序列<sup>[5]</sup>,由上海博彩生物公司合成。PCR 反应体系 25 μL;模板 DNA 2.5 μL,Taq 酶、buffer 等混合液 12.5 μL,引物各 1μL,水 8 μL。反应程序:94 ℃ 5 min;94 ℃ 1 min,55 ℃ 1 min,72 ℃ 1 min,35 个循环;72 ℃

10 min。

2 结果与分析

2.1 SP<sub>0</sub> 代及 SP<sub>1</sub>、SP<sub>2</sub>、SP<sub>3</sub>、SP<sub>4</sub> 代的田间表现

卫星搭载的 R225 种子 SP<sub>0</sub> 代出芽率为 99%,对照为 76.15%,特 B 种子 SP<sub>0</sub> 代出芽率为 97%,对照为 85%,苗高、株高、株叶形态、结实率等方面均与对照无明显差异。R225 SP<sub>1</sub> 代出芽率为 98.37%,对照为 94%;活苗率为 97.26%,对照为 80.85%;苗高 34.6 cm,对照为 25.8 cm。特 B SP<sub>1</sub> 代出芽率为 99.3%,对照为 94%。R225 和特 B SP<sub>1</sub> 代皆出现高株、长穗、分蘖多、千粒重增加、株叶形态好等变异株;SP<sub>2</sub> 代、SP<sub>3</sub> 代有长穗、千粒重增加、株叶形态好等变异株;SP<sub>4</sub> 代起变异株基本稳定(表 1、表 2、图 1、图 2)。

表 1 R225 对照与诱变后代农艺性状

品种	株高 (cm)	单株穗数 (穗/株)	穗长 (cm)	总粒数 (粒)	结实率 (%)	千粒重 (g)	谷粒长 (cm)	谷粒宽 (cm)	米粒长宽比
R225	103.0	10	21.2	147.2	63.45	23.00	0.92	0.26	3.54
SP <sub>1</sub> -3	112.0	15	21.3	192.0	45.15	21.18	0.97	0.27	3.59
SP <sub>1</sub> -4	107.0	14	20.5	192.0	49.38	20.82	0.92	0.25	3.68
SP <sub>1</sub> -8	117.0	6	25.7	146.0	53.64	25.82	1.02	0.27	3.78
SP <sub>2</sub> -5	122.5	12	27.1	271.0	63.76	25.60	1.01	0.30	3.37
SP <sub>2</sub> -7	128.7	16	25.0	179.0	70.06	30.40	1.00	0.30	3.33
SP <sub>2</sub> -8	124.8	15	29.8	207.0	81.06	27.80	1.02	0.30	3.40
SP <sub>3</sub> -1	123.0	9	25.5	151.0	57.96	27.60	1.04	0.32	3.25
SP <sub>3</sub> -2	125.0	8	26.7	152.0	47.50	28.80	1.02	0.34	3.00

表 2 特 B 对照与诱变后代农艺性状

品种	株高 (cm)	单株穗数 (穗/株)	穗长 (cm)	总粒数 (粒)	结实率 (%)	千粒重 (g)	谷粒长 (cm)	谷粒宽 (cm)	米粒长宽比
特 B	101.0	8	20.70	154.0	53.76	24.48	0.8	0.31	2.58
SP <sub>1</sub> -2	116.0	8	27.28	200.0	60.50	28.90	0.85	0.31	2.74
SP <sub>1</sub> -6	122.0	17	25.60	211.0	68.25	27.57	0.86	0.30	2.86
SP <sub>2</sub> -1	106.2	16	19.96	196.0	82.76	28.50	0.84	0.31	2.71
SP <sub>2</sub> -4	124.5	18	26.34	294.0	57.21	30.20	0.84	0.30	2.80
SP <sub>3</sub> -3	110.5	11	22.50	176.0	71.02	24.80	0.89	0.32	2.78
SP <sub>3</sub> -4	125.0	10	24.90	156.8	50.38	31.00	0.88	0.31	2.84

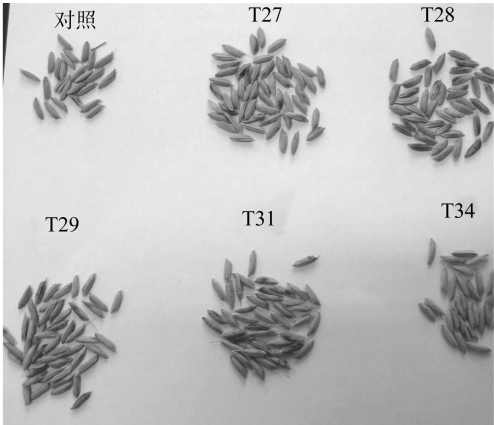


图1 R225和变异后代种子

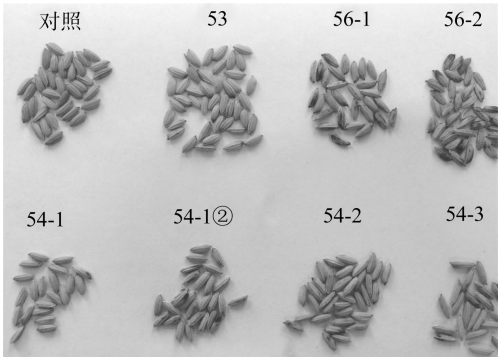
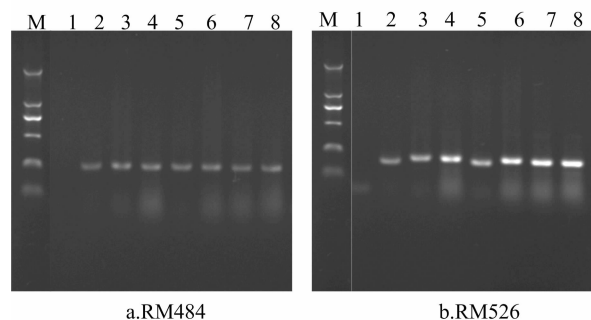


图2 特B和变异后代种子

2.2 空间诱变效应验证

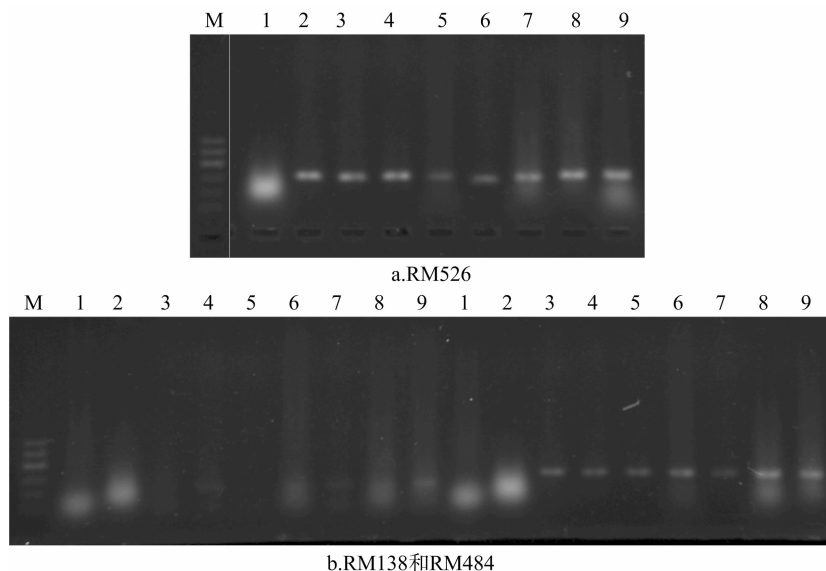
利用不同 SSR 标记 PCR 验证 R225 和特 B 空间诱变后代材料与亲代的遗传相关性,检测到留地原种 R225 和特 B 与

太空诱变后代的 DNA 扩增条带存在差别,说明 R225 和特 B 发生了空间变异。其中 R225 空间诱变后代有 5 份材料扩增出与对照位置有细微差别的 DNA 片段(图 3),而特 B 空间诱变后代有 8 份材料出现与对照不同位置的 DNA 片段(图 4)。



M—marker; 1—空白对照; 2—R225对照; 3~8—诱变后代

图3 R225空间诱变后代验证



M—marker; 1—特B对照; 2~9—诱变后代

图4 特B空间诱变后代验证

### 3 讨论

李源祥等认为,水稻空间诱变育种的主要特点之一是育种周期短,稳定较快,部分株系  $SP_4$  代即开始稳定,比一般常规育种和辐射诱变(6 个世代开始稳定)提早 2 个世代,这是农作物育种史上的新突破<sup>[2]</sup>。陈志强等认为水稻航天诱变性状变异的特点之一是  $SP_2$  代后产生的变异一般均能遗传,由主基因控制的性状突变或点突变的变异稳定较快,一般在第 4 代基本稳定<sup>[6]</sup>。本研究中 R225 和特 B 种子  $SP_0$  出芽率高于对照,其余农艺性状均与对照基本无差异, $SP_1$ 、 $SP_2$  代出现大范围变异株, $SP_3$  还有少量性状分离,在  $SP_4$  代基本稳

定。这与文献报道研究结果类似,说明空间诱变变异是广泛的;有些性状突变为隐性突变,要经过 1~3 个世代才能显现,可能是空间诱变材料不同,导致稳定时间快慢不同。

DNA 水平上的变异是表型变异的内在原因之一,王丰等研究利用 SSR 标记扩增产物的带型记录结果均以分子量增减和条带数增加为主<sup>[7]</sup>,空间诱变是否使水稻染色体上的 DNA 发生了重复或缺失等结构性变化,有待进一步通过扩增片段的 DNA 序列测定验证。本研究既出现了对照不具有的 DNA 片段,也有与对照位置有差别的片段,还有的材料不能扩出相应片段。这也可以说明空间诱变变异的广泛性,跟表型变异结果相一致。

对现已应用的各类恢复系,航天育种既能保留原有优良性能,又能对原有恢复系弱点进行改良或在原来特征特性基础上有所发展。但航天育种是一项与一般常规育种不同的极细致工作,观察发现微小有益变异,并进行跟踪选育才能达到预期目标,若仅在成熟后进行选择,会将低代开始出现的微小变异丢失,很难达到选育目标,使航天育种失去作用<sup>[8]</sup>。目前三系不育系选育采用多代回交方法,耗时长,受恢保关系限制,杂种优势往往不明显。利用航天搭载诱导保持系品种变异,从中筛选目标性状较好的突变株,改良原亲本不育系的某些性状,缩短育种时间,同时一定程度上打破恢保关系对水稻杂种优势潜力的制约,不啻于一种行之有效的育种新

途径<sup>[9]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 刘录祥,郭会君,赵林姝,等. 我国作物航天育种 20 年的基本成就与展望[J]. 核农学报,2007,21(6):589-592,601.
- [2] 李源祥,华育坚,周活良,等. 水稻空间技术育种的研究[J]. 遗传,2002,24(4):434-438.
- [3] 周汉钦,潘大建,范芝兰,等. 特种稻新品种航香糯的选育[J]. 核农学报,2011,25(3):498-501,533.
- [4] 王关林,方宏筠. 植物基因工程[M]. 北京:科学出版社,2002:744.
- [5] Mccouch S R, Teytelman L, XU Y B, et al. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) [J]. DNA Research,2002,9(6):199-207.
- [6] 陈志强,郭涛,刘永柱,等. 水稻航天育种研究进展与展望[J]. 华南农业大学学报,2009,30(1):1-5.
- [7] 王丰,李永辉,柳武革,等. 水稻不育系培矮 64S 的空间诱变效应及后代的 SSR 分析[J]. 核农学报,2006,20(6):449-453,468.
- [8] 陈武,付江凡,周炳炎,等. 水稻恢复系航天育种的研究[J]. 江西农业学报,2007,19(12):24-25,60.
- [9] 欧阳乐军,郭建夫. 三系水稻保持系航天育种的研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(27):11855-11858.