

# 大田越冬水稻种子的筛选鉴定

张维林 王长春 胡海涛 杨玲\*

(浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004; 第一作者: wlzhangwhu@163.com; \* 通讯作者: yangl@zjnu.cn)

**摘 要:** 连续阴雨与早春低温是影响我国南方水稻生产的主要不利气候因素, 常导致水稻烂芽和烂种。本研究通过在自然条件下筛选大田中越冬后而能够在翌年发芽成长为植株的方式, 以期获得成苗率高、烂芽烂种率低的种质资源。结果表明, 172 份种质在自然条件下经历冬季后, 绝大部分种质的种子腐烂, 仅 Kasalath 和日本晴种子在大田越冬后能发芽生长。这两种常规水稻种子大田越冬特性的发掘, 将为培育降低烂芽烂种率的优良品种提供宝贵种质资源。

**关键词:** 水稻; 越冬; 种子; 发芽; 种质

**中图分类号:** S511.037 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-8082(2016)05-0031-04

水稻是我国重要的粮食作物。水稻种植过程中, 种子成本是农民种植水稻的主要支出之一。我国南方稻作区早春育苗过程中出现的烂芽和烂种对当地水稻生产具有较大危害<sup>[1]</sup>。为了补种, 农民必须重新购买种子, 从而增加购种成本; 同时, 重新购种也将延迟播种时间, 致使原本可以播种两茬而现在只能播种一茬, 不仅减少农民的粮食收成, 还造成土地资源的浪费。

水稻在一般储藏条件下第 2 年就开始陈化变质, 种子活力下降, 发芽率变差, 给生产带来影响<sup>[2]</sup>, 国家需要耗费大量的人力、物力和财力来提高水稻种子的储藏条件。因此, 筛选鉴定易储藏且不易烂芽、烂种的水稻是确保我国粮食生产安全的重要措施。目前, 对水稻种质资源的耐储藏特性进行了大量研究, 并筛选和选育出了一批耐储藏种质<sup>[3-7]</sup>。但已发掘的这些耐储藏水稻种质的耐储藏特性并不是很好, 而且很难在育种上应用<sup>[8]</sup>。原因在于这些耐储藏水稻种质通常是采取自主开发的植物脂质氧化酶同工酶快速检测专利技术<sup>[9]</sup>、自然和人工老化试验<sup>[10-11]</sup>、利用杂交、回交、组织培养、离子束诱变<sup>[7, 12]</sup>等技术鉴定或育成, 并没有模拟水稻储藏的自然气候条件, 比如低温、霜冻及雨水等。本研究中, 通过将待测水稻撒播在大田中, 让其在自然条件下过冬, 在翌年 5 月下旬选择已经发芽长成为植株的水稻种子作为储藏便捷且不易烂芽和烂种的水稻种质。通过选择大田越冬后没有腐烂并且能够发芽的水稻种子, 可为选育发芽率高且不易烂芽和烂种的水稻种子提供宝贵的种质资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

参试水稻种质总计 172 份, 其中籼稻、粳稻及野生稻各 92 份、78 份和 2 份, 自然条件下保存。

### 1.2 大田撒播

在 12 月上旬, 清除大田表面的杂草, 翻土、平整并起垄。用白色的面粉将地垄划分成 50 cm×50 cm 的地块。搭建离大田地面约 2 m 的防鸟网。每份待测水稻选取当年收获的无霉变及病变种子 100 粒, 均匀撒播在 50 cm×50 cm 的地块内, 后用细土覆盖。每份待测水稻品种 3 次重复。播种 40 d 后, 水稻尚未出芽之时, 喷洒除草剂, 做好大田防杂草工作。

### 1.3 出苗数统计

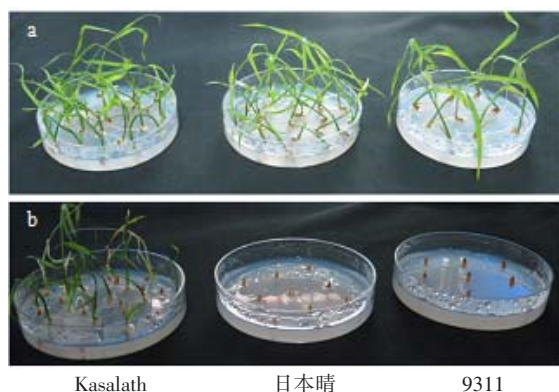
2014 年 3 月中旬, 浙江金华最高气温为 28℃, 少数水稻种质的种子开始发芽, 此时喷洒出芽后类型的除草剂, 尽量不要人工除草, 以避免泥土松动而影响水稻发芽和出苗数统计。4 月上旬, 做好防虫及施肥等田间管理, 并开始记录各地块内的水稻苗数。5 月下旬, 等各地块内的水稻苗数不再发生变化, 此时再统计各地块内的水稻苗数。

### 1.4 低温储藏条件下的出苗数观察

取能够越冬的水稻种子及 1 份不能越冬的水稻种子, 用 0.75% 的 HgCl<sub>2</sub> 无菌处理后, 播于 1/2 MS 固体培养基上, 置于 4℃ 的恒温冰箱中, 放置一段时间后, 移入 28℃、16 h 光照/8 h 黑暗培养箱。统计培养箱中水稻的出苗数。

收稿日期: 2016-06-22

基金项目: 国家自然科学基金(31301289); 浙江省科技厅公益性项目(2014C32015)



a 和 b 分别为 2015 年和 2014 年秋季收获的水稻种子。

图 1 播于 1/2 MS 培养基中的水稻种子经历低温后的发芽实验

### 1.5 储藏时间对出苗数的影响

选取不同年份自然条件下储藏的能够越冬的水稻种子及 1 份不能越冬的水稻种子,按照改进的纸上发芽法<sup>[13]</sup>观察水稻的出苗数。在 23 cm×31 cm 白色面包盒内,放置 1 张比面包盒稍小的海绵,海绵上平铺韧性较好的吸水纸,用水润湿吸水纸并使海绵边沿的吸水纸浸没于面包盒内与海绵齐平的水。将不同年份自然条件下储藏的水稻种子均匀撒播在吸水纸上;面包盒覆盖保鲜膜。将面包盒置于 28℃、16 h 光照/8 h 黑暗培养箱。一段时间后,统计培养箱中水稻的出苗数。

### 1.6 低温与高温交替条件下出苗数观察

连续 15 d,在同一时间点,选取当年收获的能够越冬的水稻种子及多份不能越冬的水稻种子,用 0.75% 的 HgCl<sub>2</sub> 无菌处理后,播于 1/2 MS 固体培养基上,置于 28℃、16 h 光照/8 h 黑暗培养箱。第 16 天时,将水稻从 28℃ 的培养箱中移入 4℃ 冰箱中,放置 1 d 后再置于 28℃ 的培养箱中 1 d。在 28℃ 的培养箱中放置 1 d 后,移入 4℃ 冰箱中。水稻在 4℃ 冰箱和 28℃ 的光照培养箱之间反复转移,转移期间观察水稻的存活情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 越冬水稻种子鉴定

金华属亚热带湿润季风气候,春早而暖,冬湿而寒。2013 年 12 月 10 日至 2014 年 3 月 31 日期间,0℃ 以下低温主要集中在 12 月下旬、1 月和 2 月中下旬;降雪止于 3 月初;3 月 21 日出现 3 月极低温 3℃。因此,在自然条件下的晚冬早春,水稻大田里仅有离地 2 m 的防鸟网遮盖的水稻种子不仅遭受霜冻、低温及雨雪等不利天气因素的影响,还会在 3 月下旬遭受“倒春寒”的危害,使得部分已经发芽的水稻受到低温的侵

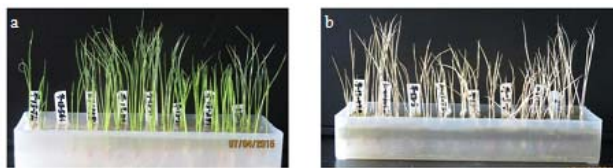
害。2014 年 5 月下旬,172 份水稻种质中,绝大部分种质的种子发生腐烂,只有少数水稻种子有 1~10 棵秧苗出现,粳稻日本晴和籼稻 Kasalath 的出苗率分别为 45.7% 和 50.3%。2014 年 4 月中旬,金华最高气温为 30.0℃;2014 年 4 月下旬,金华最高气温为 31.0℃;2014 年 5 月最高气温为 34.0℃,平均最高气温为 27.3℃,最低气温为 12.0℃,平均最低气温为 18.9℃,未出现“五月寒”极端气候;2014 年 4 月上旬至 5 月下旬,阴晴雨相间,雨水充沛。因此,5 月下旬没有出苗的水稻种子不会是水稻种子发芽生长所需的适宜温度和湿度未满足及种子休眠等因素所造成。成活的水稻苗移栽于其他大田中,成熟时收割、晾晒。2014 年冬季,撒播收获的水稻种子。2015 年 5 月下旬,日本晴和 Kasalath 的出苗率分别为 65.3% 和 75.7%。

### 2.2 低温条件下的存活苗数

在 2013 年 12 月 10 日至 2014 年 3 月 31 日期间以及在 2014 年 12 月 10 日至 2015 年 3 月 31 日期间,金华市 10℃ 以下低温集中在当年 12 月与翌年 2 月之间。在 2013 年 12 月 10 日至 2014 年 2 月 28 日期间,最低温度为 -3℃。在 2014 年 12 月 10 日至 2015 年 2 月 28 日期间,最低温度为 -2℃。为了探讨日本晴和 Kasalath 是否具有耐低温的能力,笔者部分模拟大田中水稻种子处于泥土包围下会有一定水分浸润的环境,将 2014 年及 2015 年夏季收获的 9311、日本晴和 Kasalath 水稻种子分别播于 1/2 MS 固体培养基上,置于 4℃ 冰箱中放置 45 d 后移入 28℃、16 h 光照/8 h 黑暗培养箱。结果表明,2015 年夏季收获的 9311、日本晴和 Kasalath 水稻种子在 28℃、16 h 光照/8 h 黑暗培养箱都能发芽生长成植株(图 1 a),这些结果表明,当年收获的 9311、日本晴和 Kasalath 水稻种子经历低温后能够在 28℃ 条件下发芽生长。能在大田中越冬的特性与种子是否是当年收获无关。2014 年夏季收获的 9311 在 28℃、16 h 光照/8 h 黑暗培养箱中不能发芽,日本晴仅有几颗种子露芽但没能生长,而 Kasalath 水稻种子大多数能够发芽生长成植株,其出苗率为 83.3%(图 1 b)。这些结果表明,储藏时间和低温对日本晴和 9311 水稻种子大田越冬有较大的影响,而单一低温并非是影响水稻种子大田越冬的决定因素。

### 2.3 储藏时间对出苗率的影响

为了探讨储藏时间对水稻种子出苗率的影响,笔者收集了自 2012 年以来在自然条件下保存的 9311、日本晴和 Kasalath 水稻种子并进行发芽试验。结果表



a 为低温与高温交替处理前, b 为低温与高温交替处理后。

图2 低温与高温交替下的存活试验

明,2012年收获的9311、日本晴和Kasalath没有发芽;2013年收获的日本晴和Kasalath水稻种子有少部分能够发芽生长,其出苗率分别为18.3%和25.7%,9311的出苗率仅为5.3%;2014年收获的9311、日本晴和Kasalath水稻种子的出苗率分别为49.7%、85.3%和90.3%;2015年9月收获的9311、日本晴和Kasalath水稻种子的出苗率分别为94.3%、87.7%和94.3%。日本晴、Kasalath及9311在储藏2年内均能发芽生长,但储藏时间在3年以上时其出苗率显著下降。这些结果表明,日本晴、Kasalath和9311并不具有耐长期储藏的特性,在以前的文献中也并未有日本晴和Kasalath具有耐长期储藏特性的报道。因此,日本晴和Kasalath具有的大田越冬特性与耐储藏并不相关。

#### 2.4 低温与高温交替下的存活结果

在2013年12月10日至2014年3月31日期间以及在2014年12月10日至2015年3月31日期间,昼夜温差极大值均为15℃。为了探讨昼夜温度变化是否影响日本晴和Kasalath的大田越冬特性,笔者用低温与高温交替模拟昼夜温度变化。第16天时,播于1/2 MS固体培养基上2 d以内的水稻种子在28℃的光照培养箱中还没有可见的水稻芽,播种超过2 d的水稻种子已经出现可见的水稻芽。将在28℃的光照培养箱中发芽出苗的水稻,移入4℃冰箱中时,秧苗均会萎蔫,虽然日本晴和Kasalath比其他水稻苗萎蔫程度小,但最后都会在低温与高温交替下死亡,日本晴和Kasalath只比其他品种稍微延迟几天死亡(图2)。将在28℃的光照培养箱中未发芽出苗的水稻种子,在低温与高温交替3次后置于28℃、16 h光照/8 h黑暗培养箱,日本晴和Kasalath均能以70.3%的发芽率出苗生长,其他的水稻种子有的全部死亡,有的仅少量成活,这表明水稻种子而不是芽或幼苗是否耐高、低温是影响水稻种子大田越冬特性的主要因素。

### 3 讨论

自然条件下,在晚冬播于大田的仅有离地2 m的

防鸟网遮盖的水稻种子越冬期间会遭受霜冻、低温及雨雪等不利天气因素危害,172份水稻种质的种子在大田越冬后,绝大部分在大田里已经腐烂,仅有日本晴和Kasalath种子能够在大田中越冬。2014年5月份,金华市雨量充沛,最高温度为34.0℃,平均最高温度为27.3℃,因此5月下旬还未出苗的水稻种子不是因水稻种子发芽生长所需的适宜温度和湿度未满足及种子休眠等因素所造成。日本晴和Kasalath种子能够在大田中越冬的这种特性与耐储藏特性无关。在低温(4℃)条件下,2014年及2015年收获的日本晴、Kasalath及9311没有出芽的水稻在4℃及28℃之间交替后,日本晴和Kasalath能够生长成水稻植株。这些结果暗示低温条件下没有出芽的水稻种子能够适应自然条件下的昼夜气温变化、尤其是3月后“倒春寒”天气条件下的气温变化。在田间,日本晴和Kasalath不是最先观察到出芽的种质,而最先观察到出芽的水稻种质在5月下旬时基本统计不到出苗情况。这些结果表明,在自然条件下,日本晴和Kasalath种子出芽滞后,是种子或水稻芽而不是稻苗具有能够在大田中越冬的特性,简言之,日本晴和Kasalath以种子或休眠芽在自然条件下大田越冬。

目前,对大田越冬水稻的研究主要集中在越冬再生稻的研究<sup>[14]</sup>。自1959年严斧<sup>[15]</sup>发现水稻露地越冬再生以来,陆续有关于晚粳<sup>[15]</sup>、粳糯<sup>[16]</sup>、杂交粳稻<sup>[17]</sup>、籼型雄性不育系<sup>[18]</sup>、野生稻<sup>[19-21]</sup>及其与栽培稻杂交后代<sup>[22]</sup>越冬再生的报道。研究表明,野生稻及其与栽培稻的杂交后代以地下茎越冬,杂交稻或常规稻都以休眠芽越冬<sup>[14]</sup>。然而,目前为止,还没有关于水稻种子大田越冬后翌年能够发芽生长的研究报道。本研究中,日本晴和Kasalath分别为粳稻和籼稻,其种子在霜冻、低温及雨雪等不利天气条件下越冬后翌年能够发芽生长。研究结果表明,日本晴和Kasalath以种子或休眠芽越冬而具有大田越冬的特性,这与再生杂交稻或常规稻以休眠芽越冬类似<sup>[14]</sup>。日本晴和Kasalath种子在霜冻、低温及雨雪等自然条件下越冬后没有腐烂并且能够发芽生长,将为选育储藏便捷的水稻品种提供优异种质资源。

在我国南方,连续阴雨与早春低温等不良气候因素引起的籼稻烂芽烂秧,是导致稻谷生产减产的因素之一,每年因低温损失的稻谷达50~100亿kg<sup>[23]</sup>。水稻的耐冷性分为发芽期耐冷性、芽期耐冷性、幼苗期耐冷性、穗期耐冷性及开花期耐冷性<sup>[23]</sup>。发芽期耐冷性又称为低温发芽能力,是直播水稻应具备的重要特性<sup>[24]</sup>。芽



期耐冷性是幼芽细胞维持生活的能力,也就是体现为幼芽诱发绿苗的能力。芽期耐冷性是双季稻区早稻和直播水稻应具备的重要特性,若具备良好的芽期耐冷特性,水稻成苗率高,烂种烂芽率低<sup>[25]</sup>。因此,日本晴和 Kasalath 水稻具有以种子或休眠芽越冬特性的发掘,将为培育发芽率高的优良品种提供宝贵种质资源,降低因低温冷害导致的烂芽烂种现象发生,减少水稻生产损失。

### 参考文献

- [1] 陈大洲,邓仁根,肖叶青,等. 东乡野生稻苗期耐寒性的遗传研究[J]. 江西农业大学学报,1997,19(4):56-59.
- [2] 吴跃进,卢义宣,吴敬德,等. 耐储藏专用型水稻选育及相关技术研究[J]. 中国稻米,2004(3):6-7.
- [3] 曾大力. 水稻耐贮藏种质的筛选及遗传育种研究[D]. 北京:中国农业科学院,2002.
- [4] 余丽琴,熊玉珍,黎二妹,等. 水稻耐贮藏种质资源的筛选[J]. 江西农业学报,2008,20(4):17-19.
- [5] 吴方喜,朱永生,谢鸿光,等. 中国水稻微核心种质的耐储藏特性初步研究[J]. 中国粮油学报,2010(10):124-128.
- [6] 江玲,王松凤,刘喜,等. 优质水稻品种 W017 的耐贮藏特性[J]. 南京农业大学学报,2007,30(2):133-135.
- [7] 吴跃进,吴先山,沈宗海,等. 水稻耐储藏种质创新及相关技术研究[J]. 粮食储藏,2005,34(1):17-20.
- [8] 蔡秋华,吴方喜,朱永生,等. 水稻耐储藏种质筛选和遗传多样性分析[J]. 福建农业学报,2011,26(4):562-566.
- [9] 吴跃进,吴敬德,张瑛,等. 作物脂肪氧化酶同功酶 LOX-1, LOX-2, LOX-3 的检测方法[P]. 中国, ZL00112539.7
- [10] Zhang Y, Yu Z L, Lu Y X, et al. Effect of the absence of lipoxygenase isoenzymes on the storage characteristics [J]. *J Stored Products Res*, 2007, 43(1): 87-91.
- [11] 张瑛. 脂肪酶和脂肪氧化酶影响稻谷储藏的作用机制研究[J]. 北京:中国科学院,2007.
- [12] 宋美,张瑛,吴敬德,等. 水稻脂质氧化酶同功酶种质储藏特性的研究[J]. 中国农学通报,2005,21(2):65-68.
- [13] 张维林. 水稻抗褐飞虱基因 *Bph14* 的精细定位及水稻蔗糖饥饿敏感突变体 *sss1* 的鉴定与分析[D]. 武汉:武汉大学,2010.
- [14] 严斧. 越冬再生水稻的研究现状与前景 [J]. 作物研究,2012,26(1):79-84.
- [15] 严斧. 水稻的越冬性[J]. 生物学通报,1959,12:551.
- [16] 沈康,邱家驹,夏长沛,等. 杂交粳稻无性系生产体系的探讨[J]. 南京农业大学学报,1980,1:13-25.
- [17] 苏予,芮昌社,华世兴. 南农粳型无性系水稻栽培技术[J]. 农业科技通讯,1988,5:10.
- [18] 陈雄辉,万邦惠,梁克勤. 光温敏核不育水稻越冬繁殖的研究[J]. 杂交水稻,1996,2:10-12.
- [19] 陈成斌,李道远,黄勇. 普通野生稻资源耐冷性研究[J]. 广西农学报,1994(4):1-5.
- [20] 何光存,舒理慧,周一强,等. 东乡野生稻 (*Oryza rufipogon*) 在武汉地区越冬性能的观察[J]. 武汉大学学报:自然科学版,1996,42(2):252-254.
- [21] 陈大洲,邓仁根. 东乡野生稻抗寒基因的利用与前景展望[J]. 江西农业学报,1998,10(1):65-68.
- [22] 李勤修,彭叙咸,王玉兰. 野生稻及其杂交后代的宿根越冬[J]. 四川农业科技,1978(3):18-20.
- [23] 赵正武. 水稻越冬耐冷性遗传变异及 QTL 定位研究[D]. 温江:四川农业大学,2006.
- [24] Morishita H. Inheritance of low temperature tolerance at young seedling stage [M]. *Japan: National Institute of Genetics*, 1996: 411-413.
- [25] 乔永利,韩龙植,安永平. 水稻芽期耐冷性 QTL 的分子定位[J]. 中国农业科学,2005,38(2):217-221.

## Screening and Identification of Rice Seeds that Live through Winter in the Field

ZHANG Weilin, WANG Changchun, HU Haitao, YANG Ling\*

(College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China; 1st author: wlzhangwhu@163.com; \* Corresponding authors: yangl@zjnu.cn)

**Abstract:** Continuous wet weather and low temperature in early spring are the main adverse climatic factors affecting rice production in south China, which often leads to rotten bud and rotten seed. In this study, identification of rice germplasms with high seedling rate and low rate of rotten bud and rotten seed was performed by screening for the rice seeds, that can live through the winter in the field and will sprout in the following year. 172 rice germplasms were used as materials in this study. The results showed that the majority of the 172 rice germplasms seed rotten after winter. The seeds of *indica* rice cultivar Kasalath and *japonica* rice cultivar Nipponbare were the only two rice germplasms, which seeds can live through the winter in the field and sprout in the following year. The identification of Kasalath and Nipponbare would provide a valuable rice germplasm for breeding elite cultivars with high seedling rate and low rate of rotten bud and rotten seed.

**Key words:** rice; over wintering; seed; bud; rice germplasm