

# 环境对水稻花时的影响和花时调查统计方法的改进

张萌<sup>#</sup> 张华丽<sup>#</sup> 戴冬青 李西明 马良勇<sup>\*</sup>

(中国水稻研究所, 杭州 310006; <sup>#</sup>共同第一作者; <sup>\*</sup>通讯作者: ricemaly@163.com)

**摘要:**花时在杂交稻制种中有着关键作用。明确环境对水稻花时的影响, 选择合适的花时调查统计方法可以加快对花时性状的研究。本文以早花时突变体 *eft*、正常花时材料日本晴(NIP)以及构建的 *eft*/NIP 重组自交系群体为材料, 通过分期播种亲本, 明确了温度和光照对花时的影响规律; 提出了一种以亲本为标准的改进的水稻花时调查和统计方法。基于该改进的花时调查和统计方法, 能有效减弱环境因素对花时性状的影响, 可将样本间的花时误差由原来的 0~30 min 缩减至 0~5 min, 为水稻花时性状的遗传研究提供较为精确的数据。

**关键词:**水稻; 花时; 温度; 日长; 调查统计方法

**中图分类号:**S511 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-8082(2016)06-0010-05

水稻(*Oryza sativa* L.)是典型的自花授粉作物, 水稻的稳定高产在保障粮食安全中有着至关重要的作用。然而在水稻的生长周期中, 病害、虫害、干旱及高温等都会造成其最终产量的显著下降<sup>[1]</sup>。在水稻开花期, 超过 32℃的高温会引起小穗不育而造成大量减产<sup>[2-3]</sup>。由于全球气候变暖, 由高温胁迫造成的水稻减产正逐步成为粮食安全的威胁, 而水稻早花时可以有效避免高温等不良天气对受精的影响, 从而大大提高结实率<sup>[3-4]</sup>。随着杂交水稻的广泛应用, 杂交水稻种子生产过程中父母本的花时不遇(即父母本开花高峰错位的现象)导致制种失败或制种产量低的问题日益突出<sup>[5-6]</sup>。特别是近年来随着籼粳亚种间杂种优势利用研究的不断深入, 一批强优势的“粳不粳恢”(不育系偏粳, 恢复系偏粳)组合如“甬优”、“春优”和“浙优”系列的育成, 为大面积水稻高产带来了新的机遇。但“粳不粳恢”制种产量普遍低下, 严重制约了这些强优势组合在生产上的广泛应用<sup>[7]</sup>。究其原因, 主要是因为粳稻不育系往往柱头不外露或外露率较低, 只能在不育系开花时接受同时开花的恢复系的花粉<sup>[8-12]</sup>。然而, 由于不育系本身的生理特性, 开花时间比正常的品种晚, 而籼稻又比粳稻开花早约 1 h, 造成“粳不粳恢”制种父母本严重花时不遇, 从而制种产量低<sup>[6, 13-15]</sup>。因此, 遗传育种家越来越重视水稻花时的研究。

但是, 由于水稻花时的差异, 不仅与遗传因素有关, 而且还受到环境和人为因素的影响<sup>[16]</sup>, 花时的调查困难成为制约花时研究的关键。影响花时的环境因素主要包括温度、湿度、光照、风力及 CO<sub>2</sub> 等。其中, 环境因素中对父母本花时影响最大的是温度。前人的田间观察研究结果表明, 一天的平均气温影响开花的早晚,

高温利于开花提早<sup>[2, 17-19]</sup>。因此, 本文通过分期播种的方法明确温度对花时的影响规律, 并基于这一规律改进了花时调查统计方法, 以期水稻花时的遗传研究提供精确可靠的数据, 为今后水稻及其他植物的花时研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

早花时突变体 *eft*: 从春江 06(CJ06)和 TN1 所构建的 DH 群体中发现的早花时突变体(*eft*), 在海南 3 月中旬抽穗, 开花时间为上午 9:00~9:30, 比正常籼稻早 2 h 左右; 在杭州 8 月上中旬抽穗, 开花时间为上午 7:00~7:30, 比正常籼稻开花早约 1.5~2 h; 9 月上中旬则在 9:00 左右开花, 比正常籼稻早约 2 h。

正常花时亲本日本晴(Nipponbare, NIP): 典型粳稻, 相同环境下比 *eft* 的花时迟 1.7~3.5 h, 平均约推迟 2.5 h。

重组自交系群体(F<sub>10</sub>): 2008 年夏利用早花时突变体 *eft* 和典型粳稻品种日本晴杂交, 获得 F<sub>1</sub> 杂交种子并于当年冬季种植于海南陵水南繁基地; 收获 F<sub>2</sub> 种子, 并于 2009 年夏种植于中国水稻研究所富阳试验基地; 其后通过单粒传的方法, 在杭州和海南加代, 至

收稿日期: 2016-09-08

**基金项目:** 国家“863”计划(2014AA10A604-15); 国家自然科学基金(31071080); 浙江省公益性农业项目(2011C22002); 国家自然科学基金(31501288); 浙江省自然科学基金(LQ16C130002); 中央级科研院所基本科研业务费专项(2014RG003-3)

表 1 亲本 *eft* 和 NIP 的花时记载情况

日期(月-日)	07-28~08-01	08-02~08-06	08-07~08-11	08-12~08-16	08-17~08-21	08-22~08-26
<i>eft</i> 花时	7:20	7:20	7:25	7:25	7:25	7:40
NIP 花时	9:05	9:00	9:55	9:35	9:30	10:33

日期(月-日)	08-27~08-31	09-01~09-05	09-06~09-10	09-11~09-15	09-16~09-20	09-21~9-25
<i>eft</i> 花时	7:28	8:10	9:00	9:40	9:40	9:40
NIP 花时	10:16	\	\	\	\	\

2015 年获得农艺性状稳定的 F<sub>10</sub> 群体, 包含 184 个株系。

所有材料均种植于中国水稻研究所富阳试验基地, 每株系 2 行, 每行 6 株, 单本种植, 常规栽培管理。

1.2 试验方法

水稻开花在一瞬间完成, 精确的记录每个开花瞬间相对困难。花时的研究一般以群体的盛花时研究为主, 调查多采用目测法, 即以小区为单位观察记录水稻开花高峰。花时的调查和数据的统计对花时性状研究的精确性和可靠性有着至关重要的作用。

1.2.1 环境影响花时规律的研究

杭州属长日照, 该重组自交系在此长日照下抽穗期较为分散, 持续时间较长, 如重组自交系群体中最早的株系抽穗期为 7 月 27 日, 最迟的株系 9 月 23 日才抽穗。此段时间内, 包括气温、湿度、光照等的外界环境不断变化, 水稻花时也随之变化。为排除此时段内外界环境对花时的影响, 必须清楚环境如何影响花时。亲本采用分期播种, 自 4 月 29 日起, 每隔 6 d 播种 1 期, 共播种 7 期。日本晴的生育期较短, 开花时间从 7 月 25 日的 9:05 到 8 月 28 日的 10:30; *eft* 的花时记载则从 7 月 28 日的 7:20 到 9 月 25 日的 9:40, 持续到整个 RIL 群体抽穗期。除雨天外连续记录 2 个亲本的具体花时, 每 5 d 取 1 个平均值作为该段时间的花时, 并对 *eft* 的花时与温度和日照长短分别进行相关性分析。

水稻开花期温度等环境数据的获得: 通过网站 <http://richurimo.51240.com> 获取试验地点的日平均温度、最高温度、最低温度和昼长(日照长短)数据。

1.2.2 花时性状的调查

2015 年夏, 调查杭州 F<sub>10</sub> 花时性状, 采用单株目测动态调查的方法。根据真实花时不断变换调查时间, 使记载数据与真实花时相近, 减少人为因素的干扰。例如, 上午 9:00 调查时发现株系 1 已达盛花, 不能确定该株系早在 9:00 之前多久盛花, 第 2 天提早 5 min 左右调查, 若株系 1 未开或未达盛花, 则将该株系花时记为 9:00; 反之, 第 3 天继续提早 5 min 于 8:50 左右调查, 若株系 1 未开或未达盛花, 则将该株系花时记为 8:

55; 反之, 继续提前 5 min 调查, 直至发现该株系未达盛花为止。此方法必须保证调查这几天天气变化不大, 若中间天气不符, 可选择剔除不一致天气的记载数据, 以避免环境变化对调查产生的误导。每个株系均连续调查 5~7 d, 以期得到更接近真实花时的数据。本研究中水稻盛花时标准定为每株系(2 行 12 株) 每丛有 3 朵以上颖花开放。

1.2.3 花时数据的统计

本研究中花时目测法调查的花时性状数据基本接近真实花时, 但是整个重组自交系(RIL)群体抽穗期历时较长, 使每个株系开花时间的差异不仅取决于遗传因素, 同时受气候环境变化的影响, 没有一个统一的标准, 无法将所记载花时数据作为 QTL 定位数据, 故在改进调查方法的基础上改进花时统计方法。将分期播种的亲本花时作为同一生育期 RIL 群体各株系的统计标准, 以减少环境的干扰。

本试验新创建了不同于前人分级统计法<sup>[20-21]</sup>的花时差统计法, 即调查重组自交系花时期间, 每天采用目测法调查早花时亲本 *eft* 花时和重组自交系花时, 将同一个生育期的早花时亲本 *eft* 作为参考, 计算其与同一天开花的株系的花时之差(花时差=某株系的盛花时-同期抽穗的亲本 *eft* 的盛花时)作为统计数据, 以分钟(min)为单位, 为后续遗传分析所用。

2 结果与分析

2.1 温度对花时的影响

从表 1 可看出, 不同时期内, 亲本 *eft* 和 NIP 各自的花时相差很大, 但是亲本 *eft* 的花时均早于同一时期的 NIP 的花时, 二者的花时相差约为 1.7~3.5 h。

利用 *eft* 的花时以及水稻开花期试验地的气温及日照长短, 构建了亲本 *eft* 具体花时随环境因素的变化散点图(图 1)。从图 1 整个 RIL 抽穗期间亲本 *eft* 花时与温度、光照等环境因素的变化趋势, 可以看出在整个重组自交系抽穗期间, 日平均气温逐渐降低, *eft* 花时随之逐渐推迟, 昼长则呈现一定斜率下降的趋势, 即总体来说, 随着时间的推移, 温度逐渐降低, 日照时数减

表 2 亲本 *eft* 与温度、日照长度的相关性分析

	<i>eft</i> 花时	日最低温	日平均气温	日最高温
日最低温	-0.9019**			
日平均气温	-0.8429**	0.9641**		
日最高温	-0.7756**	0.8600**	0.9390**	
昼长	-0.9152**	0.9153**	0.8993**	0.9006**

\*表示 0.05 水平显著,\*\*表示 0.01 水平显著。

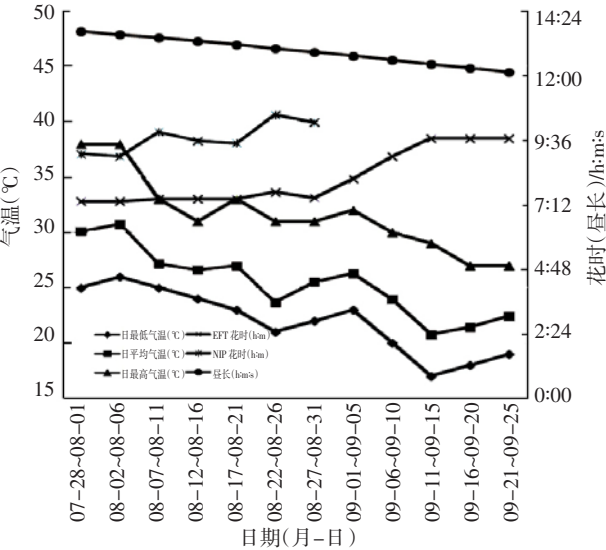
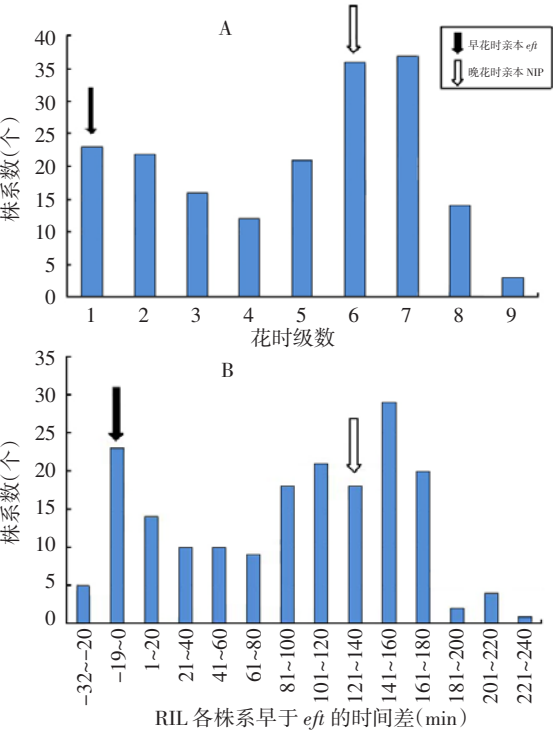


图 1 RIL 抽穗期内亲本花时、气温、日照时数的变化



A: 分级法统计结果;B: 花时差法统计结果。

图 2 RIL 群体花时调查及统计分布结果

少,花时推迟。亲本 *eft* 花时与温度、日照长短的相关性

分析表明,*eft* 花时与日最低温、日平均气温、日最高温、日照长短的相关系数分别为-0.9019\*\*、-0.8429\*\*、-0.7756\*\*、-0.9152\*\* (表 2)。表明花时与温度、日照长短均呈极显著负相关,其中日最低温度决定了水稻的初始开花时间,这与一天中气温变化的规律相符。这一结果进一步从数据上直观证明“温度升高,花时提早;日照时数增加,花时提早”的结论<sup>[2,17,22]</sup>,并且进一步表明最低温度直接影响花时迟早。

2.2 花时调查统计结果

花时调查结束后,将所记载的 RIL 花时数据,按照每 30 min 归为一级,分级统计可将 184 个 RIL 群体分为 9 级,其中早花时亲本 *eft* 属于第 1 级,正常花时亲本 NIP 属于第 6 级,两者花时差别较大 (图 2A)。以各株系与 *eft* 的花时差作为统计数据的结果见图 2B。与分级法类似,花时差法也在中部出现一个波谷,即处于 *eft* 花时与 NIP 花时之间有个时间段,达盛花时的株系数明显较少 (图 2B)。

2.3 与前人调查统计方法的比较

前人花时的研究多采用分级目测法<sup>[20-21]</sup>。万国等<sup>[21]</sup>将花时调查周期控制在 30 min,并将花时分为 6 级,9:30 以前定为第 1 级,9:31~10:00 为第 2 级,10:01~10:30 为第 3 级,以此类推。而本试验将花时性状的调查统计方法分割成两个独立的部分,即目测调查和花时差统计,调查时尽量使记载数据接近真实花时,统计时又尽可能减少环境的影响。2 种调查统计方法并没有实质性差别,最大的不同在于精确度。前人所采用的花时分级研究方法相对较为粗糙,不仅没有考虑到环境对花时的影响,而且花时的绝对误差在 0~30 min 之间,与真实花时的差距有大有小,两个相邻花时级数的株系真实花时差在 1~59 min,同一级数的株系真实花时差也在 0~30 min,很难达到一个统一的标准;而本研究改进的花时目测法根据真实花时随时更改调查时间,多次追踪调查,使调查结果更为精确,绝对误差仅在几分钟之内,更加接近真实花时,改进的花时统计法只需计算早花时亲本 *eft* 与每个株系的花时差,此数据直接作为统计数据用于后续分析,这一方法使花时数据保持



原貌,使表型数据值更加丰富,可能会使花时 QTL 定位更为精确。

### 3 讨论

本研究表明,虽然整个重组自交系抽穗期内,所调查的亲本花时除了部分数据来自日本晴外,整个生育期完整的花时数据则来自同一材料 *eft*,但花时差异却十分明显,这只能是环境因素所导致的。蒯建敏等<sup>[17]</sup>研究也表明,气象条件的不一致性是造成同一品种在不同日期间花时差异的重要乃至主要因素。图 1 表明,温度升高促进花时提早,温度降低则使花时推迟,这与前人的研究一致<sup>[8-9,17]</sup>;此外,日照时数的减少使花时推迟,这也与蒯建敏等<sup>[17]</sup>研究结果一致,即日照时数的增加对水稻有促进开花的作用。有趣的是,在 9 月 1 日至 5 日这段时间内,温度上升,花时反而推迟,与正常趋势相悖(图 1)。推测有 2 种可能性:一是存在一个昼长临界点,即在昼长<13 h 时,花时不再随温度的升高而提早,这段时间内花时主要受日照长短的影响,而受温度影响不大;二是花时受温度和日照长短的影响,两种因素相互协调又相互竞争,正常情况下,二者共同调控花时早迟,但当二者发生冲突时,强的一方起主导作用,此时花时主要受强环境因子影响。高温促进花时提早是否存在一个日照时数临界点,还有待于进一步研究。

无论温度和日照如何影响,本研究中两亲本的开花时间差基本固定,启示笔者可以用品种间的时间差来作为区分不同品种水稻的依据,即用目标单株(株系)与同一亲本的花时差来作为该单株(株系)的花时统计数据。

目前用于花时的研究方法主要是点花法<sup>[20,23-25]</sup>和目测法<sup>[17,19,21]</sup>。点花法是以穗为单位的调查方法,标记单穗在一定时间间隔内的开花数,一般情况下全部或部分剪除已开颖花,以方便统计下一时段的开花数;目测法则是以小区为单位的调查方法只是观察记录水稻开花的高峰期。二者虽在广泛应用,但是由于人为干扰和温度、日照等环境因素的影响很难得到大量的精确数据,目前花时性状的调查仍是制约花时遗传研究和解决花时不遇问题的主要因素。

本文所提出的经过改进的花时研究方法是在传统的目测法的基础上发展起来的,秉承了目测法高效、快速的优点,同时又极大的避免了传统目测法记载误差过大的缺陷。本方法操作简单、快捷、可靠,与前人方法

相比,该方法得到的数据,完全可以满足 QTL 定位的要求。因此,该改进方法在植物花时研究中将有广泛的应用前景。

### 参考文献

- [1] Zhao Lei, Lei Jianguo, Huang Yingjin, et al. Mapping quantitative trait loci for heat tolerance at anthesis in rice using chromosomal segment substitution lines [J]. *Breeding Sci*, 2016, 66: 358-366.
- [2] Jagadish, SVK, Craufurd PQ, Wheeler TR. High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *J Exp Bot*, 2007, 58(7): 1 627-1 635.
- [3] Ishimaru T, Hirabayashi H, Ida M, et al. A genetic resource for early-morning flowering trait of wild rice *Oryza officinalis* to mitigate high temperature-induced spikelet sterility at anthesis [J]. *Ann Bot*, 2010, 106: 515-520.
- [4] Hirabayashi HK, Sasaki T, Kambe RB, et al. qEMF3, a novel QTL for the early-morning flowering trait from wild rice, *Oryza officinalis*, to mitigate heat stress damage at flowering in rice, *O. sativa* [J]. *J Exp Bot*, 2015, 66: 1 227-1 236.
- [5] 袁隆平. 杂交水稻学[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- [6] 肖华伟. 中国杂交水稻制种技术研究与实践及其发展趋势分析[D]. 长沙:湖南农业大学,2009.
- [7] 张萌,戴冬青,李西明,等. 水稻花时性状研究进展[J]. 核农学报, 2016, 30(2):0276-0274.
- [8] 徐云碧,申宗坦,杨再能,等. 提高水稻异交率的研究—(一)栽培稻柱头外露性变异的分析 [J]. 浙江大学学报,1986,12 (4): 359-368.
- [9] 许克农,李泽炳,李成荃. 光(温)敏核不育水稻的育性和开花习性研究[J]. 安徽农业科学,1992,20(4):293-301.
- [10] 张戟,陆建国,盛金元,等. 籼梗交后代柱头外露率的遗传表现与选择[J]. 江苏农业科学,2000 (2):6-9.
- [11] 陈立云. 两系法杂交水稻的理论与技术[M]. 上海:上海科学技术出版社,2001:126.
- [12] 陆燕雯,王冬翼,顾庆华,等. 粳型光温敏感雄性核不育系开花习性研究[J]. 上海农业学报,2012,28(3):124-126.
- [13] 龙辉. 滇型杂交稻滇杂 33 高产制种技术研究[J]. 现代农业科技, 2013, 42(1):29-30.
- [14] 仲维功,李传国,苏自强. 不同类型水稻品种花时特性的研究[J]. 江苏农业学报,1990,18(1):16-18.
- [15] 李金军,范国华,张仁余,等. 不同水稻品种开花时间的比较试验 [J]. 浙江农业学报,1997 (1):63-66.
- [16] 黄友明. 雄性不育水稻的颖花开放习性研究综述[J]. 宜春学院学报,2009,31(4):110-112.
- [17] 蒯建敏,莫惠栋,惠大丰. 水稻花时与气象因子的关系[J]. 中国水稻科学,1994, 8(2):79-84.
- [18] 马启林. 杂交水稻制种花时不遇的生态生理机制研究 II. 温湿互作配比与花时相遇的关系 [J]. 湖北农学院学报,1999,19(3): 193-197.

- [19] 马作斌, 詹瞻, 程效义, 等. 花时性状在籼梗交后代中的表现及其对外部环境的响应[J]. 杂交水稻, 2011, 26(5): 70-76.
- [20] 王开锡, 林庆泉, 杨聚宝. 籼梗稻花时的分布调查[J]. 福建稻麦科技, 1990(3): 10-15.
- [21] 万国, 冯跃, 张凤娇, 等. 水稻花时性状的 QTL 定位[J]. 核农学报, 2013, 27(5): 562-567.
- [22] Kobayasi K, Matsui T, Yoshimoto M, et al. Effects of temperature, solar radiation, and vapor-pressure deficit on flower opening time in rice[J]. *Plant production sci*, 2010, 13(1): 21-28.
- [23] 马启林, 胡达明, 刘百韬. 杂交水稻制种花时不遇的生态生理机制研究 I. 花时同步指数研究 [J]. 湖北农学院学报, 1997, 17(2): 91-96.
- [24] 曾晓春, 周燮. 茉莉酸甲酯(MeJA)诱导水稻颖花开放 [J]. 植物学报, 1999, 41(5): 560-562.
- [25] 林建荣, 吴明国, 宋昕蔚. 三系梗稻不育系开花习性与异交结实率的关系[J]. 杂交水稻, 2006, 21(5): 69-72.

## Environment Influence and Improvement of Investigation and Statistical Methods on Flow- ering Time in Rice

ZHANG Meng<sup>#</sup>, ZHANG Huali<sup>#</sup>, DAI Dongqing, LI Ximing, MA Liangyong<sup>\*</sup>

(China National Rice Research Institute, Hangzhou, 310006, China; #These authors contributed equally to this work; \*Corresponding author: rice-maly@163.com)

**Abstract:** Rice flowering time is a critical factor for seed production in hybrid rice. The research of rice flowering time could be promoted by clarification the influence of environment and utilization appropriate investigation and statistical method. In the present study, the regularity of flowering time changing with temperature and day length was clarified through sowing parents by stages. Simultaneously, an effective investigation and statistical method was firstly established to investigate rice flowering time in the field no matter how the environment changes, based on a recombinant inbred line population including 184 lines from the cross between Nipponbare and the early flowering time mutant *eft*. The improved method could effectively mitigate the influence of environment on flowering time and reduce the error of flowering time from 0~30 min to 0~5 min. The method may provide more accurate data to study rice flowering time traits in the future.

**Key words:** rice; flowering time; temperature; day length; investigation and statistical methods

·综合信息·

## 安徽省 2016 年审定通过的水稻新品种

审定编号 (皖稻)	品种名称	类型	选育单位	品种来源	全生育期 (d)	区试产量 (kg/667 m <sup>2</sup> )	生试产量 (kg/667 m <sup>2</sup> )
2016001	早粳 618	籼型常规稻	安徽省马鞍山神农种业有限责任公司	嘉育 21/ 嘉早 12	108	507.85	480.00
2016002	株两优 899	籼型两系杂交稻	安徽省农业科学院水稻研究所	株 1S×早粳 899	108	505.35	491.30
2016003	Y 两优 1500	籼型常规稻	安徽省定远双丰农业科学研究中心、安徽理想种业有限公司	Y58S×H1500	138	613.81	639.60
2016004	深两优 571	籼型两系杂交稻	安徽喜多收种业科技有限公司	深 08S×R571	137	624.81	634.30
2016005	安两优 166	籼型两系杂交稻	安徽华赋农业发展有限公司	Y81S×AN166	136	612.74	619.60
2016006	两优 831	中粳两系杂交稻	安徽绿雨种业股份有限公司	5308S×831	139	615.12	605.30
2016007	两优 5916	籼型两系杂交稻	安徽金培因科技有限公司	V115S×R5916	135	609.84	620.70
2016008	Ⅱ 优 050	籼型三系杂交稻	安徽省农业科学院水稻研究所	Ⅱ-32A×R050	134	620.07	627.00
2016009	丰两优 6348	籼型两系杂交稻	合肥丰乐种业股份有限公司	广占 63S×R248	138	617.73	628.50
2016010	两优 6031	籼型两系杂交稻	安徽省农业科学院水稻研究所	5308S×6P031	138	618.65	632.20
2016011	隆两优 866	籼型两系杂交稻	安徽隆平高科种业有限公司	安隆 3S×R7116	137	614.71	632.50
2016012	两优 160	籼型两系杂交稻	合肥旱地农业科学技术研究所	5317S×R160	133	611.95	619.60
2016013	未两优 211	籼型两系杂交稻	安徽未来种业有限公司	W115S×R211	140	629.10	631.20
2016014	两优 585	籼型两系杂交稻	安徽国豪农业科技有限公司	豪 S×R585	118	588.35	532.90
2016015	龙两优 110	籼型两系杂交稻	北京亘青种子有限公司	龙 S×R110	119	563.05	529.90
2016016	上农粳 2 号	粳型常规稻	上海黄海农贸总公司种子粮油分公司	宁粳 1 号 / 南粳 44 变异株 选系 867	129	629.50	532.10
2016017	皖垦糯 2 号	粳型常规糯稻	安徽皖垦种业股份有限公司	武运粳 19 号 / 武育糯 16 号	130	600.00	531.20

(中稻宣)