

水稻耐盐碱与耐低磷分子聚合育种研究

孟凡梅, 陈莫军, 朴日花, 付 胜, 林秀云, 王金明*

(吉林省农业科学院水稻研究所, 吉林 公主岭 136100)

摘要:本研究以长白9号导入系(耐盐碱)和Kasalath导入系(耐低磷)杂交后构建的聚合群体为材料,利用RM542标记和*Postol1*基因位点紧密连锁的标记分别进行耐盐碱和耐低磷基因检测,共获得16份聚合材料。经室内与大田自然条件鉴定,最终获得11份耐盐碱与耐低磷聚合材料。在土壤pH>8.5的情况下,这些材料的耐盐碱表现优于对照材料长白9号和Kasalath;在试验田土壤pH>8.5并不施磷肥条件下,有6份聚合材料的磷素利用率显著高于对照长白9号。

关键词:水稻;耐盐碱;耐低磷;分子聚合

中图分类号:S511

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2022)03-0005-04

Pyramiding Molecular Breeding on Tolerance to Phosphorus Deficiency and Saline-Alkaline in Rice

MENG Fanmei, CHEN Mojun, PIAO Rihua, FU Sheng, LIN Xiuyun, WANG Jinming*

(Rice Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: In this study, a total of 16 polymeric materials were obtained by using RM542 marker and *Postol1* marker to detect salt and alkali tolerance and low phosphorus tolerance genes, respectively, from the crosses of Changbai 9 ILs (saline-alkali tolerance) and Kasalath ILs (low phosphorus tolerance). Under the condition of soil pH>8.5, these materials showed better salt-alkali resistance than the control materials Changbai 9 and Kasalath. Under the condition of soil pH>8.5 and no P fertilizer application, the phosphorus utilization rate of six polymeric materials was significantly higher than that of the control Changbai 9.

Key words: Rice; Saline-alkaline tolerance; Phosphorus deficiency tolerance; Molecular pyramid

土壤盐碱化是人类面临的一个全球性问题,磷是植物生长发育不可缺少的大量元素之一,对促进植物生长发育和新陈代谢、提高作物产量具有重要作用。吉林省西部有400万亩盐碱地,种植水稻是盐碱地区改良土壤的一种有效方式^[1],选育适宜苏打盐碱地种植的磷高效利用水稻品种对于保障我省粮食安全具有重要意义。

吉林省农业科学院自2006年参与农业农村部948项目“农作物有利隐蔽基因高效挖掘技术平台的引进、完善与创新”以来,将全球分子育种亲本导入到吉林省盐碱区主栽水稻品种长白9号中,构建回交导入系,并经室内与大田鉴定,筛选

出一批耐盐碱显著强于长白9号的导入系。2012年,国际水稻所在传统水稻品种Kasalath中发现一个“磷缺乏耐受性-1”(PSTOL1)基因,该基因对根早期生长起到一个增强因子作用,因而可以使植物获得更多的磷素^[2]。2014年,吉林省农业科学院引入该份材料,构建了Kasalath耐低磷导入系。

本研究以长白9号导入系(耐盐碱)和Kasalath导入系(耐低磷)杂交后构建的聚合群体为材料,利用特异分子标记对其聚合后代群体进行选择,筛选一批耐盐碱和耐低磷的育种材料,为吉林省西部盐碱地水稻的科学生产提供技术支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

Kasalath耐低磷导入系、60份长白9号耐盐碱导入系,两者杂交后构建的聚合群体。

1.2 试验方法

试验在吉林省农业科学院水稻研究所和白城市保民农场五分场进行,试验时间为2015~2017

收稿日期:2019-12-27

基金项目:吉林省农业科技创新工程自由创新项目(CXGC2018ZY020)

作者简介:孟凡梅(1980-),女,副研究员,硕士,主要从事水稻育种研究。

通讯作者:王金明,男,博士,副研究员,E-mail: wangjinming1978@163.com

年,栽培管理措施一致。

1.2.1 后代材料中耐盐碱和磷高效基因分子检测

2015~2017年,对各世代后代材料进行分子检测;利用RM542标记进行耐盐碱基因筛选,利用与*Postol1*基因位点紧密连锁的标记对耐低磷基因检测(该标记为新开发标记,因正处于专利申请阶段,故未公开)。对检测后含该标记的后代材料进行芽期、苗期和大田盐碱耐性鉴定。

1.2.2 聚合材料的耐盐碱鉴定

芽期和苗期耐盐碱鉴定采用水培法。种子在50℃烘3天打破休眠,用1%次氯酸钠溶液浸泡10 min进行表面消毒,在35℃下浸种、催芽至露白。选发芽一致的种子播于底部带有尼龙网的泡沫板孔中,尼龙网泡沫板共计13列,每列10个小孔,第7列播耐盐碱对照品种长白9号,其余12列播种聚合后代材料种子,每份材料播5个孔,每孔2粒种子,设置2次重复。将播种后的泡沫板搁置于20 L盛有水的塑料盆中,网孔底部与水接触,3天后将清水换成国际水稻所推荐营养液(表1)进行水培。水稻幼苗培养至两叶一心时,在营养液中添加140 mmol/L NaCl,调pH至5.5左右,每

5天换一次营养液。秧苗的整个生长和胁迫过程在温室中进行,温室昼夜温度保持在30℃/25℃,湿度为60%左右。每天观察胁迫表现,待对照品种长白9死亡或即将枯死时,纪录每个株系的耐盐存活天数,随后将存活的秧苗移至正常营养液中继续培养,耐盐存活株系恢复正常生长后,将存活单株移至大田。

聚合材料的大田鉴定在吉林省白城市保民农场进行。其土壤自然条件如下:pH约8.61,电导率和总盐含量分别为:110.24 $\mu\text{s}/\text{cm}$ 和0.82 g/kg。其中, K^+ 、 Na^+ 、 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} 、 Cl^- 和 SO_4^{2-} 含量分别为:0.0214、0.0544、0.5630、0.0128、0.0624、0.0424 g/kg。土壤中磷含量为30.88 mg/kg,属典型低磷土壤。

1.2.3 聚合材料的磷素利用效率分析

实验分水培和砂培两方面进行。砂培试验:以直径25 cm容积为5 L的圆形不透明塑料桶为钵体,底部封闭,用水洗净,干燥备用。砂子洗净后灭菌,然后装入塑料桶进行实验。用国际水稻所配方配制营养液(表1);水培试验:水培营养液配制参照国际水稻所推荐的标准。

表1 国际水稻所推荐水培营养液

元素	浓度(mmol/L)	使用盐类	用量(g/L)	备注
N	2.9	NH_4NO_3	116.0	
P	0.32	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	49.9	
K	1.0	K_2SO_4	87.0	
Ca	1.0	CaCl_2	111.0	
Mg	1.7	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	418.0(500倍)	用量和浓度均为在母液中的
Mn	9.1×10^{-3}	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1801.8(mg/L下同)	含量,苗期大量元素使用量为
Mo	5.2×10^{-4}	$(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	91.8	1/4,微量元素10 L添加500 mL
B	1.8×10^{-2}	H_3BO_3	1098.0	浓硫酸,10~15 g EDTA
Zn	1.5×10^{-4}	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	44.55	
Cu	1.6×10^{-4}	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	41.6	
Fe	3.6×10^{-2}	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	9738.0	
		柠檬酸(水合物)	14 875.0	

所有试验采用随机区组排列,3次重复,每桶插3株,单本植区(1株为含耐低磷基因材料,1株为不含基因材料,1株为对照)。处理磷浓度为0,对照磷浓度为100 $\mu\text{mol}/\text{L}$,磷源由 NaH_2PO_4 提供,其他元素一致。4叶期将苗移入盆中,一周更换一次营养液,每3~4天调一次酸,用0.1 mol/L HCl或NaOH调酸,pH 5.0左右。处理间浇水量和管理条件保持一致,并进行必要的病虫害防治,为避免肥料淋失,试验在活动的遮雨棚中进行。

2017年对耐盐碱、耐低磷聚合育种材料于移栽后35天采单株调查株高、分蘖、叶长、叶宽、根体积、根系磷含量、叶片磷含量。

1.2.4 聚合材料的农艺性状分析

每份材料2行区,行长5 m,行距20 cm,株距30 cm,3次重复,随机区组排列。栽培管理措施一致。肥料管理:全区不施磷肥,其他肥料正常施用。考种项目:株高、分蘖、穗重、穗长、穗粒数、结实率。

2 结果与分析

2.1 后代材料的分子检测

本实验中,通过杂交将耐盐碱导入系与耐低磷导入系聚合。在每一世代,利用特异引物进行PCR扩增检测,确定阳性植株(图1)。在田间将阳性植株人工做标记,继续自交,将所得植株的种子继续种植,继续取叶片DNA进行PCR扩增检测,截至2017年7月,共检测获得16份耐盐碱与耐低磷聚合材料。

2.2 后代材料耐盐碱鉴定

以盐碱胁迫下的存活天数为指标,对分子标记出的16份耐盐碱株系进行苗期耐盐碱鉴定,对照品种长白9号苗期耐苏打盐碱平均存活天数是13.6 d。16个株系中苗期表现耐苏打盐碱株系11份,占比69%(表2)。依据国际水稻所提出的平均死叶百分率分级标准,以叶片死亡的百分比作为评价水稻耐盐碱能力标准。16个株系为1~5级(表现中耐或耐盐碱)的有13份,占比81%(表2)。

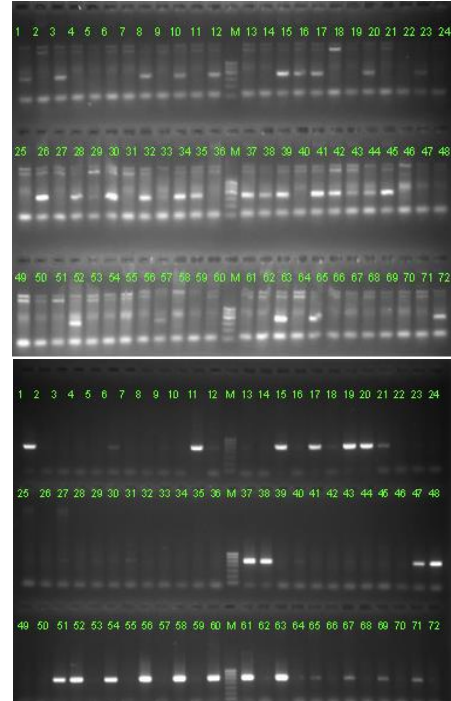


图1 特异引物检测结果

表2 苗期和大田期耐盐碱鉴定

编号	苗期耐盐碱存活天数(d)	大田耐盐碱表现	编号	苗期耐盐碱存活天数(d)	大田耐盐碱表现
PF1-8(31)	12.7	5	PF1-11(116)	14.2	5
PF1-8(40)	15.3	3	PF1-15(153)	12.1	5
PF1-9(92)	10.9	7	PF1-19(191)	15.1	3
PF1-9(84)	14.4	3	PF1-19(198)	13.8	5
PF1-9(96)	15.1	3	PF1-19(188)	9.8	9
PF1-9(79)	11.7	7	PF1-19(194)	14.0	5
PF1-11(110)	17.0	1	PF1-19(203)	14.5	5
PF1-11(125)	16.8	1	PF1-23(244)	14.1	5
长白9号	13.6		Kasalath	5.9	9

2.3 后代材料磷素利用效率分析

2017年正季对11份苗期和大田期均表现耐盐碱的聚合材料进行水培及砂培实验,对其磷素利用效率进行分析(表3)。

从表3可以看出,根中磷含量高于对照的有5份,叶中磷含量高于对照的有8份;从转运率上看,高于对照长白9号的有6份,分别是:PF1-8(40)、PF1-9(84)、PF1-9(96)、PF1-11(125)、PF1-11(116)和PF1-19(198)。

2.4 农艺性状分析

2.4.1 主要农艺性状的方差分析

对株高、分蘖、穗重、穗长、穗粒数、结实率、千粒重、粒长、粒宽进行方差分析,结果见表4。表明聚合后代材料在主要农艺性状上均存在极显著差异。

表3 聚合材料磷素利用效率分析

编号	叶	根	转运率(叶/根)
PF1-8(40)	2381.22	1380.47	1.72
PF1-9(84)	2258.60	1236.08	1.83
PF1-9(96)	2373.70	1069.07	2.22
PF1-11(110)	1278.37	925.95	1.38
PF1-11(125)	1685.61	942.17	1.79
PF1-11(116)	1468.53	973.94	1.51
PF1-19(191)	5210.15	4124.92	1.26
PF1-19(198)	5063.15	3054.31	1.66
PF1-19(194)	5140.99	4077.09	1.26
PF1-19(203)	2322.96	2053.49	1.13
PF1-23(244)	2126.50	1496.52	1.42
长白9号	2087.65	1451.89	1.44

表4 主要农艺性状方差分析表

性状	自由度	平方和	方差	F值	P值
株高	35	615 353	32.81	9.93	0.0001
分蘖	35	19 197	26.96	5.72	0.0001
穗重	35	250 525.5	150.73	10.23	0.0001
穗长	35	17 202	2.11	4.71	0.0001
穗粒数	35	964 266.8	537.86	3.99	0.0001
结实率	35	336 256.4	46.65	6.51	0.0001
千粒重	35	27 945.69	4.10	11.38	0.0001
粒长	35	2481.87	0.14	2.93	0.0001
粒宽	35	628.08	0.03	3.11	0.0001

注: $P < 0.05$ 表示差异显著; $P < 0.01$ 表示差异极显著

2.4.2 主要农艺性状的变异分析

由表5可知,聚合后代材料间各农艺性状存在一定的差异。株高方面,后代材料与长白9号有较大差异,聚合后代材料的株高较长白9号有一定幅度的增加。从分蘖上看,对照分蘖为22个,后代材料的分蘖数差异较大,最少分蘖数为12个,最多分蘖数为32个;11份材料中有5份材料分蘖数多于对照,5份材料分蘖数低于对照。对照穗长为17.5 cm,后代材料中除PF1-11(116)低于对照外,其他材料的穗长均高于对照。穗粒数、穗重、结实率、千粒重、粒长和粒宽6个指标,对照与后代材料均存在一定差异。利用分蘖数、

表5 聚合后代材料的农艺性状分析

区号	株高 (cm)	分蘖 (个)	穗重 (g)	穗长 (cm)	穗粒数 (个)	结实率 (%)	千粒重 (g)	单株产量 (g)	粒长 (cm)	粒宽 (cm)
长白9号	101	22	39	17.5	67.2	79.7	25.2	29.7	7.1	3.8
PF1-8(40)	119	22	40.4	19.2	72.2	96.4	21.6	33.1	6.6	3.6
PF1-9(84)	113	24	43.7	18.3	76.5	74.8	25.9	35.6	7.3	3.8
PF1-9(96)	117	27	45.9	20.1	77.5	78.9	26.0	42.9	7.3	3.6
PF1-11(110)	117	17	34.0	19.1	66.2	75.3	27.5	23.3	7.9	3.8
PF1-11(125)	110	26	30.5	18.9	59.6	85.6	23.5	31.2	6.9	3.8
PF1-11(116)	113	24	42.1	16.2	77.8	84.8	24.8	39.3	7.1	3.6
PF1-19(191)	119	19	36.7	19.1	70.0	93.7	21.7	27.0	7.1	3.5
PF1-19(198)	107	32	47.2	22.5	87.2	81.3	20.6	46.7	7.6	3.2
PF1-19(194)	115	18	33.9	18.6	64.9	89.7	27.2	28.5	7.8	3.8
PF1-19(203)	121	17	35.3	19.8	63.9	77.6	25.7	21.7	6.9	3.6
PF1-23(244)	114	12	28.3	19.0	54.5	75.2	22.0	10.8	6.7	3.7

穗粒数和千粒重计算单株产量可以看出,有6份材料的单株产量要高于对照。

3 结 论

利用分子标记辅助选择技术,将多个目标基因聚合创制变异不失为一种创造新种质资源的好方法。前人对此多有研究,但目标基因多为抗病、抗虫基因^[3-7],对于其他性状进行多基因聚合研究尚不多见。目前关于耐盐碱和耐低磷后代材料鉴定大多以大田或营养液进行单一筛选。大田筛选虽然符合生产实际,但由于受土壤理化性质、天气、水分等诸多因素影响,难以保证筛选的准确性和重复性;营养液处理虽然能够较好地解决以上问题,但受处理浓度、处理时间的影响,同时对于技术条件要求较高,不适宜开展大量鉴定。本研究利用特异的分子标记对聚合后代材料开展初筛,在初筛结果上开展营养液和大田鉴定,一方面可以减少后期研究工作量,另一方面也

提高了筛选的精度和准度,大大提高育种效率。

本研究是在前期工作基础上(耐盐碱和耐低磷材料的聚合群体),对其进行分子检测、盐碱耐性鉴定和磷素利用效率分析,最终获得11份耐盐碱与耐低磷聚合材料。在土壤pH>8.5的情况下,这些材料的耐盐碱表现优于对照材料长白9号和Kasalath;在试验田土壤pH>8.5且不施磷肥条件下,有6份聚合材料的磷素利用率显著高于对照长白9号。这些材料的获得,对于提高我省水稻品种的盐碱耐性、培育资源环境友好型的新型水稻品种具有重要意义。

参考文献:

- [1] 韩春爽,武俊男,秦治家,等.吉林西部不同种植年限水稻土壤缓冲性能研究[J].东北农业科学,2016,41(2):56-61.
- [2] Rico G, Joong H C, Juan P T, et al. The protein kinase Post11 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency [J]. Nature, 2012, 488: 535-539.

(下转第25页)