



植物遗传资源学报

Journal of Plant Genetic Resources

ISSN 1672-1810, CN 11-4996/S

《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目：水稻种质资源淹水成苗特性评价及优异种质筛选
作者：张硕，何永刚，李博，杨晓龙，查中萍，郭英，焦春海，徐延浩，蔡海亚
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20240520001
收稿日期：2024-05-20
网络首发日期：2024-11-14
引用格式：张硕，何永刚，李博，杨晓龙，查中萍，郭英，焦春海，徐延浩，蔡海亚. 水稻种质资源淹水成苗特性评价及优异种质筛选[J/OL]. 植物遗传资源学报. <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240520001>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

水稻种质资源淹水成苗特性评价及优异种质筛选

张硕, 何永刚, 李博, 杨晓龙, 查中萍, 郭英, 焦春海, 徐延浩, 蔡海亚

(湖北省农业科学院粮食作物研究所/粮食作物种质创新与遗传改良湖北省重点实验室/农业农村部作物分子育种重点实验室, 武汉 430064)

摘要: 水稻淹水直播既可以免去育苗、插秧、排水等人工成本, 又可以有效防控杂草和鸟害、鼠害, 具有广阔的应用前景。然而, 目前水稻栽培品种大多低氧成苗率低, 不适宜淹水直播, 品种匮乏问题严重制约淹水直播技术发展与推广。鉴定筛选淹水成苗性强的水稻种质资源是培育淹水直播稻新品种的重要基础。本研究利用湖北省农作物种质资源中期库保存的国内外水稻种质材料, 通过测定淹水成苗率、发芽势、低氧萌发率、低氧相对萌发率、胚芽鞘长度、低氧胚芽鞘长度、低氧相对胚芽鞘长度等指标, 鉴定筛选出淹水成苗率达 50% 以上的水稻种质 17 份。相关性分析表明发芽势、低氧萌发率、胚芽鞘长度、低氧胚芽鞘长度、低氧相对胚芽鞘长度等指标与淹水成苗率呈极显著正相关, 其中低氧胚芽鞘长度与淹水成苗率的相关性最高, 可作为鉴定评价淹水成苗特性的重要指标。通过检测 254 份水稻种质资源的 *OsGF14h* 单倍型类型, 为淹水成苗特性调控基因的研究提供了线索。本研究对于提高耐淹水稻种质资源的筛选鉴定效率, 挖掘淹水成苗特性调控基因, 进而培育淹水直播稻新品种具有一定的参考价值。

关键词: 水稻; 种质资源; 淹水成苗; 鉴定筛选

Evaluation of Waterlogged Seedling Characteristics and Screening of Excellent Rice Germplasm Resources

ZHANG Shuo, HE Yonggang, LI Bo, YANG Xiaolong, ZHA Zhongping, GUO Ying, JIAO Chunhai, XU Yanhao, CAI Haiya

(Institute of Food Crops, Hubei Academy of Agricultural Sciences/Hubei Key Laboratory of Food Crop Germplasm and Genetic Improvement/Key Laboratory of Crop Molecular Breeding, Wuhan 430064)

Abstract: Rice waterlogging direct seeding can not only avoid the labor cost of raising seedlings, transplanting seedlings, and drainage, but also effectively prevent the weeds, birds and rats, therefore, has broad application prospects. However, because of the low seedling rate under waterlogged conditions, most of the rice cultivars are not suitable for waterlogging direct seeding. Lack of variety seriously limited the development and popularization of waterlogging direct seeding technology. The identification and screening of rice germplasm resources with good waterlogged seedling characteristics is an important foundation for breeding new varieties of waterlogging direct seeding rice. This study utilized domestic and foreign rice germplasm materials preserved in the Mid-term Crop Germplasm Resource Bank of Hubei Province, measured the indicators of waterlogged seedling rate, germinative force, low-oxygen germination rate, low-oxygen relative germination rate, coleoptile length, low-oxygen coleoptile length, and low-oxygen relative coleoptile length, and identified and screened out 17 rice germplasm with waterlogged seedling rates of over 50%. Correlation analysis showed that there were significant positive correlations between waterlogged seedling rate and indicators including germinative force, low-oxygen germination rate, coleoptile length, low-oxygen coleoptile length, and low-oxygen relative coleoptile length, among which the correlation index between waterlogged seedling rate and low-oxygen coleoptile length was the highest. Thus, the ow-oxygen coleoptile length could be used as an important index to identify and evaluate the waterlogged seedlings characteristics. By detecting the *OsGF14h* haplotype attribute of 254 rice germplasm resources, corresponding clues for study on regulation genes of waterlogged seedling characteristics were provided. This study has certain reference value for improving the screening and identification efficiency of waterlogging tolerant rice germplasm resources, exploring the regulatory genes of waterlogged seedling

收稿日期: 2024-05-20 接受日期: 2024-10-18

第一作者研究方向为作物种质资源学, E-mail: zhangshuo0728@126.com

通信作者: 蔡海亚, 研究方向为水稻种质资源创新与利用, E-mail: ytchy@126.com

基金项目: 湖北省支持种业高质量发展资金农业种质资源保护与利用项目 (HBZY2023A001); 湖北省科技重大专项-重要粮油作物绿色优质高产品种培育与应用示范 (2022ABA001)

Foundation projects: Funds to Support High-Quality Development of Seed Industry of Hubei Province, Agricultural Germplasm Resources Protection and Utilization Project (Hbzy2023A001); Major Science and Technology Project of Hubei Province- Cultivation and Application Demonstration of Green, High-Quality and High-Yield Varieties of Important Grain and Oil Crops (2022ABA001)

characteristics, and cultivating new varieties of waterlogging direct seeding rice.

Key words: *Oryza Sativa* (L.); germplasm resource; waterlogged seedling; evaluation and screening

随着我国人口减少及城市化进程加速,田间劳动力严重短缺,人工成本越来越大,水稻(*Oryza sativa* L.)生产广泛采用的育苗插秧的栽培方式正面临较大挑战^[1]。直播稻具备轻简、高效、省工、节水、利于机械化等优点,在劳动力匮乏的形势下愈发受到青睐,发展前景广阔^[2],但其推广面临如下三个问题:一是直播稻田为保证出苗率采取的排水落干等措施会导致基肥流失、杂草滋生,增加施肥及喷施除草剂则会带来环境隐患^[3-4];二是排水、施肥、喷施除草剂等田间管理会额外增加生产成本,降低收益;三是播种后种子裸露在土壤表面,易遭鸟害、鼠害,影响成苗率。培育在淹水条件下能够正常成苗的直播稻品种,采用淹水直播技术,既可以免除排水带来的成本,又可以有效防控杂草、鸟害、鼠害等,减少农药带来的环境污染,具备良好的应用前景^[5]。然而,目前绝大多数水稻栽培品种在苗期淹水条件下存活率低于 50%^[6],品种的缺乏严重制约淹水直播技术的推广与发展。

鉴定筛选耐淹水能力强、低氧成苗率高的水稻种质资源是培育淹水直播稻新品种的重要基础。为此人们开展了大量水稻种质资源的鉴定筛选工作,获得了一些低氧成苗水稻种质。例如:Yamauchi 等^[7]通过 3~5 cm 水深淹水 15 d,统计幼苗株高、叶片发育情况、成苗率,从 662 份水稻品种中鉴定出 12 份具良好低氧成苗特性的种质;国际水稻研究所在淹水 10 cm 条件下,对 800 份水稻品种的幼苗成活率进行鉴定,从中筛选到 19 份幼苗成活率超过 70%的资源^[8];陈依等^[4]利用大田淹水 5 cm 的条件,从 445 份水稻种质中鉴定出成苗率大于 50%的耐淹种质 21 份。但水稻淹水成苗率的鉴定受温度、水中含氧量影响较大,对试验设施的要求较高,条件难以控制,影响鉴定结果的准确性。较高的种子活力、发芽势可促使种子在缺氧条件下尽快萌发^[9],胚芽鞘的快速伸长则有助于幼苗尽快突破水面接触空气^[10],因此水稻的淹水成苗率与种子活力、发芽势、胚芽鞘长度、胚芽鞘直径等指标具有一定的相关性^[11-12]。一些研究将这些相关指标与淹水成苗率相结合开展水稻耐淹种质的鉴定筛选^[13],或利用这些指标开展全基因组关联分析,挖掘耐淹成苗位点^[14-17],有效提高了种质鉴定及基因挖掘的效率。

水稻低氧成苗的机制主要是淀粉水解通路上的一些调控因子遇萌发期淹水表达上调,进而增强 α -淀粉酶活性,促进胚乳淀粉水解,为低氧萌发及胚芽鞘伸长提供能量^[18];在萌发后,细胞伸长相关基因表达上调,促使胚芽鞘快速伸长并突破水面,幼苗建成^[10,18]。在低氧成苗的过程中,赤霉素(GA)、脱落酸(ABA)、生长素(IAA)、乙烯(ETH)等植物激素信号起到了重要的调控作用^[19]。以大量的低氧成苗表型鉴定为基础,人们获得了 40 余个相关的 QTLs,并克隆了少数主效调控基因^[20]。例如,海藻糖-6-磷酸酶基因 *OsTPP7* (*Trehalose-6-phosphate Phosphatase 7*)可调动淀粉水解,促进低氧萌发和胚芽鞘伸长^[21];钙调神经磷酸酶 B 样蛋白(Calcineurin B-Like Protein)编码基因 *CBL4*、*CBL10*,可通过调控下游互作蛋白激酶 CIPK15

(CBL-Interacting Protein Kinase 15)，提高淀粉的水解，从而促进种子在低氧胁迫下的萌发^[22-23]；IAA 载体基因 *AUX1* (*Auxiliary 1*)、IAA 转运抑制响应蛋白基因 *TIR1* (*Transport Inhibitor Response 1*)以及 IAA 信号基因 *AFB2* (*Auxin Signaling F-box 2*) 通过促进细胞的伸长调节淹水条件下胚芽鞘的快速生长^[24-25]；*OsUGT75A* (*UDP-Glucosyl Transferase 75A*) 基因可促进 ABA 和茉莉酸 (JA) 的糖基化来降低其水平，从而促进胚芽鞘伸长^[26]。

在已克隆的低氧成苗功能基因中，14-3-3 家族蛋白基因 *OsGF14h* 的功能及作用机制研究较为深入，且与淹水成苗率直接相关^[12]，是调控水稻淹水直播能力的关键基因，也是本研究最为关注的基因。*OsGF14h* 是从具有低氧萌发及淹水成苗能力的杂草稻中鉴定而来的，该基因在淹水敏感品种 SN9186 中过表达，可将淹水直播发芽率从 13.5% 提升至 60.5%。*OsGF14h* 蛋白可与 ABA 信号通路中的转录因子 *OsHOX3* 和 *OsVP1* 互作，介导转录因子对下游靶基因的调控作用，从而抑制 ABA 信号响应，提高种子及幼苗对淹水的适应能力；*OsGF14h* 蛋白还可以在淹水条件下增加 GA 的合成来提高耐淹能力。经报道，*OsGF14h* 基因编码区包含 16 个多态位点，组合成 10 种单倍型^[12]。该研究将 10 种单倍型定义为 3 种类型，其中 Hap2~Hap8 定义为功能型 (Functional，包含 Functional type 和 Functional-ancestral)，该类型的单倍型基因功能完整；Hap1 和 Hap9 定义为无功能型 (Non-Functional-derived)，该类型的单倍型基因功能部分缺失；而 Hap10 仅包含 1 份短舌稻 (*Oryza barthii*) 材料，被单独定义为一类^[12]。功能型与无功能型的单倍型序列主要区别在于 11 号染色体上的多态位点 23555223 和 23555426。无功能型的 *OsGF14h* 单倍型在 23555223 处缺失了 4 个碱基 (ATAA)，或在 23555426 处插入 1 个碱基 (A)，导致翻译提前终止，基因丧失对 *OsHOX3* 的结合能力，降低对淹水条件的耐受性^[12]。

在过去的几十年，由于遗传背景复杂，缺乏高效、精准的淹水成苗特性鉴定方法等原因，目前鉴定的优异耐淹成苗水稻种质资源及克隆的功能基因十分有限，应用于品种改良的少之又少，因此，需要进一步提高表型的鉴定效率与准确性，进而挖掘更多的、可应用于育种实践的优异低氧成苗新种质、新基因。本研究从来源广泛的 4048 份水稻种质以及 479 份核心种质中鉴定出一批淹水成苗率高的耐淹种质，分析淹水成苗率与发芽势、低氧萌发率、相对萌发率、胚芽鞘长度、低氧胚芽鞘长度、相对胚芽鞘长度、淹水成苗率等指标间的相关性，并对部分耐淹种质的 *OsGF14h* 单倍型类型进行了检测，对于提高耐淹水稻种质资源的筛选鉴定效率、挖掘淹水成苗调控基因、培育淹水直播稻新品种具有参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料来源

本研究所用材料均来自于湖北省农作物种质资源中期库收集、引进并保存的国内外水稻种质资源。其中用于种子萌发性状研究、淹水成苗率研究的 479 份水稻核心种质为本课题组前期筛选构建，包含来自于

国内 24 个省市的水稻地方种质及育成品种 390 份，来自于亚洲、非洲、美洲、欧洲、澳洲 25 个国家及研究机构的国外种质 89 份，可较为广泛地覆盖不同国家来源、地理分布、表型性状及遗传背景。

1.2 淹水成苗实验

所有实验材料的种子在淹水成苗实验前，先于 30℃ 浸种 48 h，捞出后保湿 12 h，以破胸催芽。每份材料取芽长一致的种子 90 粒，分 3 组，每组 30 粒，作为 3 个生物学重复。在方孔规格为 4.6 cm×4.6 cm×5.0 cm 的 32 孔育苗穴盘中盛入砂土，砂土深度 4.0 cm，将催芽后的种子均匀铺在砂土表面，并覆盖 1.0 cm 厚度砂土。播种后的穴盘置于玻璃温室的淹水池中（温度 28℃±2℃，14 h 光照/10 h 黑暗），注水至水面高于土壤表面 15 cm，并注意每天注水保证淹水深度不变。淹水 15 d 后，观察幼苗长势，并统计出水幼苗数，计算淹水成苗率。

$$\text{淹水成苗率} = (\text{出水幼苗数}/\text{种子总数}) \times 100\%$$

每份材料的淹水成苗率取 3 组生物学重复的平均值。

1.3 种子萌发性状测定

每份材料取 90 粒饱满种子，分为 3 组，每组 30 粒，作为 3 个生物学重复。种子播种于铺有湿润滤纸的培养皿中，放置在 28℃ 恒温光照培养箱进行发芽势实验。4 d 后统计发芽种子数，并计算发芽势。

$$\text{发芽势} = (\text{播种 4 d 发芽种子数}/\text{种子总数}) \times 100\%$$

每份材料另取 30 粒饱满种子，分为 2 组，每组 15 粒。其中一组用于测定正常（有氧）条件下萌发率及胚芽鞘长度，另一组用于测定低氧条件下萌发率及胚芽鞘长度。每组的 15 粒种子分为 3 份，每份 5 粒，作为 3 个生物学重复。所有种子用 2% 的 H₂O₂ 清洗消毒 5 min，并用灭菌水冲洗 2 次。在 2.0 ml 的离心管中加入 1.0 ml 灭菌水，放入 5 粒消毒后的种子，放置于 28℃ 恒温光照培养箱中培养 7 d，统计计算正常条件下的萌发率，测量每粒发芽种子的胚芽鞘长度。在 50 ml 离心管中注满灭菌水，放入 5 粒消毒后的种子，盖紧盖子，放置于 28℃ 恒温光照培养箱中培养 7 d，统计计算低氧条件下的萌发率，测量每粒发芽种子的胚芽鞘长度。之后，依据上述正常条件下及低氧条件下的萌发率、胚芽鞘长度，计算低氧相对萌发率、低氧相对胚芽鞘长度。具体计算公式如下：

$$\text{萌发率} = (\text{正常条件下培养 7 d 萌发种子数}/\text{种子总数}) \times 100\%$$

$$\text{低氧萌发率} = (\text{低氧条件下培养 7 d 发芽种子数}/\text{种子总数}) \times 100\%$$

$$\text{低氧相对萌发率} = \text{低氧萌发率}/\text{萌发率}$$

$$\text{低氧相对胚芽鞘长度} = \text{低氧胚芽鞘长度}/\text{胚芽鞘长度}$$

1.4 数据分析

使用 Microsoft Excel 2010 进行统计学分析，获得极小值、极大值、平均值、标准误、标准差、变异系数等数据，并绘制频数直方图。使用 SAS 9.4 软件进行各性状间的相关性分析、*OsGF14h* 单倍型类型与淹

水成苗率之间的相关性分析。

1.5 *OsGF14h* 单倍型类型检测

采用 CTAB 法提取各种质材料苗期叶片 DNA。使用 Primer 3.0 软件，在 *OsGF14h* 基因的 2 个多态位点（11 号染色体，23555223 和 23555426）两侧设计扩增引物（F-AGCATTTCGCTTGTGGGGTT, R-AGTATGTGCATGTTTCGCACG）。使用高保真 DNA 聚合酶 Gloria Nova HS 2X Master Mix 来扩增 DNA 片段并进行测序。测序结果以日本晴 *OsGF14h* 基因序列为参考，利用 DNAMAN 软件进行比对，如果测序结果 23555223 及上下游 5 bp 为 TATCTCATAAA，并且 23555426 及上下游 5 bp 为 CTGATCAGTAG，则单倍型类型判定为功能型；如果测序结果 23555223 及上下游 5 bp 为 TATCTCAAGAA，或者 23555426 及上下游 5 bp 为 CTGATCAAGTA，则单倍型类型判定为无功能型。

2 结果与分析

2.1 材料初筛

以 4048 份水稻种质资源为材料，其中包括湖北省地方种质资源 3086 份、外省水稻种质资源 330 份、国外水稻种质资源 212 份、水稻选育品种 79 份、各类创新种质材料 341 份，开展淹水成苗特性初步筛选。观察淹水条件下幼苗长势及出水幼苗数，初步筛选出 164 份淹水条件下幼苗长势旺盛、出水幼苗数多的淹水成苗特性良好种质，进行下一步研究。这些种质中包括湖北省地方种质资源 122 份、外省水稻种质资源 13 份、国外水稻种质资源 18 份、水稻选育品种 5 份、各类创新种质材料 6 份。上述淹水成苗特性良好种质资源的份数及占该类种质总数的比例见表 1。

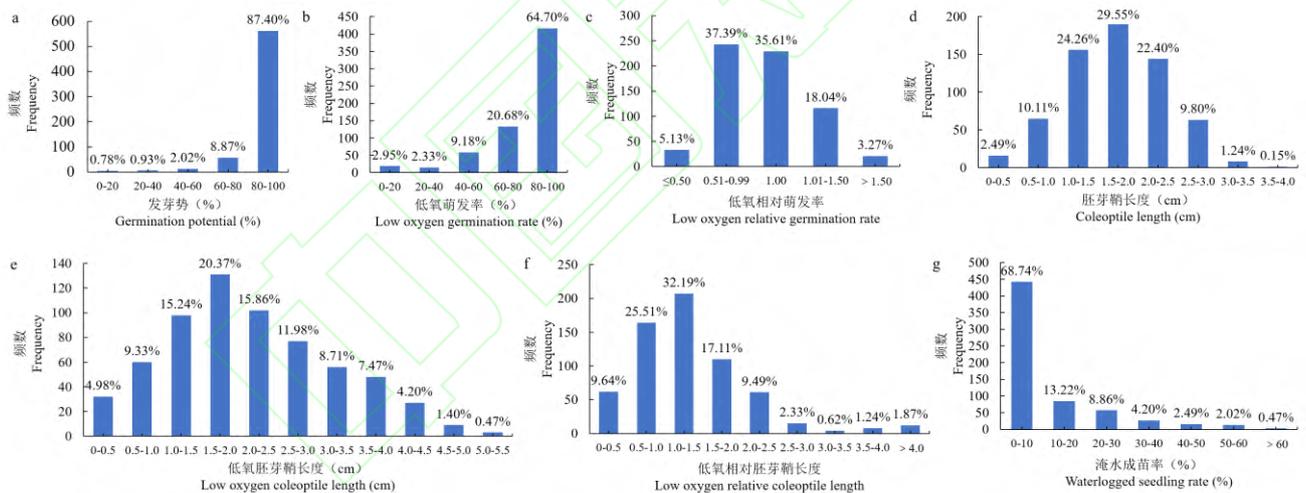
表 1 初筛淹水成苗特性良好的种质份数及所占该类资源总数的比例

Table.1 The numbers and proportions of germplasms with good waterlogged seedling characteristics in preliminary screening

种质类别	总份数	淹水成苗特性良好资源份数	占比 (%)
Germplasm category	Total number	The number of germplasms with good waterlogged seedling characteristics	Percentage
湖北省地方水稻种质			
Local rice germplasm of Hubei province	3086	122	3.95
外省水稻种质			
Rice germplasm from other province	330	13	3.94
国外水稻种质			
Foreign rice germplasm	212	18	8.49
水稻选育品种			
Rice bred variety	79	5	6.33
创新种质材料			
Created germplasm	341	6	1.76
总计			
Total	4048	164	4.05

2.2 种子萌发性状统计学分析

为研究萌发相关表型与低氧成苗特性的相关性，选取 479 份来自国内外的水稻核心种质，同上述初筛得到的 164 份种质资源，共计 643 份水稻种质开展发芽势、低氧萌发率、低氧相对萌发率、胚芽鞘长度、低氧胚芽鞘长度、低氧相对胚芽鞘长度、淹水成苗率等指标的测定，在 643 份水稻种质中各表型性状数据的分布如图 1 所示。其中，87.40%的种质材料发芽势在 80%~100%之间（图 1a），表明实验选取的种质材料总体具备较好的种子活力。42.52%的种质材料低氧相对萌发率 <1 （图 1c），其发芽率受到低氧条件影响而下降；35.61%的种质材料低氧相对萌发率 $=1$ （图 1c），其发芽率不受低氧条件影响；仅有少数种质（21.31%）在低氧条件下发芽率升高（图 1c）。胚芽鞘长度在对照及低氧条件下均较多分布在 1.5~2.0 cm 范围内（图 1d），相比对照（33.59%），低氧条件下胚芽鞘长度超过 2.0 cm 的材料更多（50.09%），且大多数（64.85%）材料低氧相对胚芽鞘长度大于 1（图 1e），种质材料的胚芽鞘长度总体上受低氧条件影响而增加。643 份种质中，淹水成苗率大多数（68.74%）分布在 0~10% 范围内（图 1f），仅有少数表现出良好的淹水成苗特性，其中淹水成苗率 $>30\%$ 的材料有 59 份，占 9.18%；淹水成苗率 $>40\%$ 的材料有 32 份，占 4.98%；淹水成苗率 $>50\%$ 的材料有 17 份，占 2.49%；淹水成苗率达到 60% 以上的材料有 3 份（图 1g）。



a: 发芽势频数分布; b: 低氧萌发率频数分布; c: 低氧相对萌发率频数分布; d: 胚芽鞘长度频数分布; e: 低氧胚芽鞘长度频数分布; f: 低氧相对胚芽鞘长度频数分布; g: 淹水成苗率频数分布; 柱形图上方百分数表示不同表型数值的频率

a: Frequency of germination potential; b: Frequency of low oxygen germination rate; c: Frequency of low oxygen relative germination rate; d: Frequency of coleoptile length; e: Frequency of low oxygen coleoptile length; f: Frequency of low oxygen relative coleoptile length; g: Frequency of waterlogged seedling rate;

The percentage above the histogram showed the frequency distribution of each phenotypic value range

图 1 643 份水稻种质种子萌发性状分布直方图

Fig. 1 Frequency distribution histogram of seed germination traits of 643 rice germplasm resources

对各表型数据进行统计学分析（表 2）。结果表明 643 份水稻种质在各指标均表现出了丰富的变异。发芽势变异系数最小，为 14.63%，表明发芽势在各种质材料间的差异最小。胚芽鞘长度相关指标（胚芽鞘长

度、低氧胚芽鞘长度、低氧相对胚芽鞘长度)的变异系数均高于萌发率相关指标(低氧萌发率、低氧相对萌发率)的变异系数,表明胚芽鞘长度相比萌发率而言在各种质材料间的差异更明显,更能体现材料间的差异性。淹水成苗率的变异系数高达 149.54%,表明淹水成苗率在选取的种质资源间差异非常大,具有十分广泛的遗传分离。

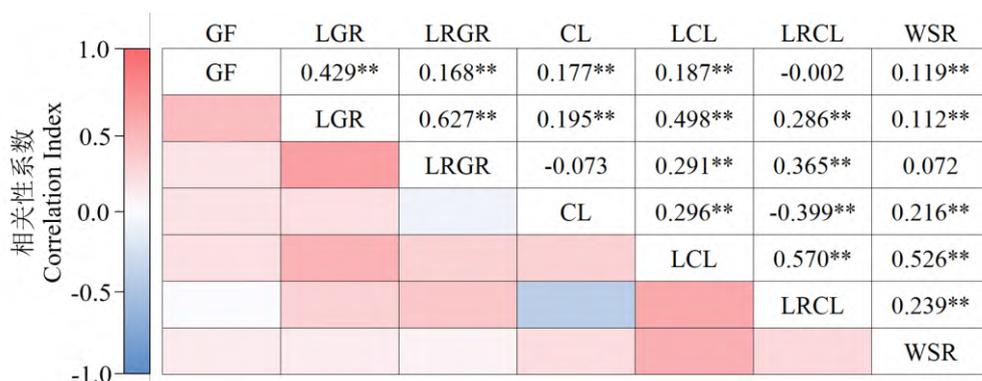
表 2 各萌发相关性状的统计学分析

Table.2 Statistical analysis of germination related traits

性状 Phenotype	极小值 Minimum	极大值 Maximum	平均值 Average	标准误 Standard error	标准差 Standard deviation	变异系数 Variable coefficient
发芽势(%) g\Germination potential	2.22	100.00	90.35	0.52	13.22	14.63
低氧萌发率(%) Low oxygen germination rate	0.00	100.00	84.90	0.84	21.27	25.06
低氧相对萌发率 Low oxygen relative germination rate	0.00	4.00	0.95	0.01	0.32	33.83
胚芽鞘长度(cm) Coleoptile length	0.00	3.58	1.77	0.03	0.64	36.05
低氧胚芽鞘长度(cm) Low oxygen relative coleoptile length	0.00	5.48	2.15	0.04	1.08	50.23
低氧相对胚芽鞘长度 Low oxygen relative coleoptile length	0.00	9.50	1.35	0.04	0.90	66.76
淹水成苗率(%) Waterlogged seedling rate	0.00	72.22	9.28	0.55	13.87	149.54

2.3 表型相关性分析

对各个性状之间的相关性进行分析。结果表明各个表性性状间呈现复杂的相关性。淹水成苗率与发芽势、低氧萌发率、胚芽鞘长度、低氧胚芽鞘长度、低氧相对胚芽鞘长度呈极显著正相关(图 2)。其中,低氧胚芽鞘长度与淹水成苗率的相关性最高,达到 0.526;低氧相对胚芽鞘长度、胚芽鞘长度与淹水成苗率的相关性相当,分别为 0.239 和 0.216;而发芽势、低氧萌发率则与淹水成苗率相关系数较低。此外,除相对低氧萌发率与胚芽鞘长度之间、相对低氧胚芽鞘长度与发芽势之间不具有相关性外,其他表型间均表现出极显著的相关性,其中,胚芽鞘长度与低氧相对胚芽鞘长度呈负相关,其他表型性状两两间呈正相关。



**表示在 $P < 0.01$ 水平上存在极显著相关性; GF, 发芽势; LGR, 低氧萌发率; LRGR, 低氧相对萌发率; CL, 胚芽鞘长度; LCL, 低氧胚芽鞘长度; LRCL, 低氧相对胚芽鞘长度; WSR, 淹水成苗率

**means there was a very significant correlation at the $P < 0.01$ level; GF, germinative force; LGR, low-oxygen germination rate; LRGR, low-oxygen relative germination rate; CL, coleoptile length; LCL, low-oxygen coleoptile length; LRCL, low-oxygen relative coleoptile length; WSR, waterlogged seedling rate

图 2 各表型性状间相关性分析

Fig.2 Correlation analysis among phenotypic characters

2.4 *OsGF14h* 单倍型类型分析及与淹水成苗率的相关性

本研究通过前期对几个低氧成苗优异的种质资源进行 *OsGF14h* 基因测序,发现其 *OsGF14h* 单倍型类型均为功能型。为进一步分析 *OsGF14h* 基因对低氧成苗特性的调控作用,本研究从上述 643 份种质资源中选取 254 份,检测 *OsGF14h* 的单倍型类型。结果发现功能型单倍型类型种质有 219 份,占 86.22%,而无功能型单倍型类型的种质仅有 35 份,占 13.78%。其中有 69 份淹水成苗率低于 20%的材料,其 *OsGF14h* 基因也属于功能型单倍型,有 7 份淹水成苗率高于 40%种质材料,其 *OsGF14h* 基因为无功能型单倍型。对单倍型类型和低氧成苗率进行皮尔逊相关性分析,发现二者间无显著相关性 (Correlation index = -0.063, $p = 0.949 > 0.05$)。

2.5 优异耐淹材料的来源、表现、单倍型类型

本研究鉴定筛选出淹水成苗率在 30%以上的种质共计 59 份 (种质名称及淹水成苗率见表 3)。其中,淹水成苗率超过 50%的耐淹性优异种质共 17 份,以黄华占作为对照,这些种质大多数表现出幼苗株形及叶片细长,茎秆柔软易倒伏的特点,然而其中也有少数种质幼苗表现出茎秆较粗壮,叶片较宽的表型,例如 08-371、08-396。部分种质淹水 10 cm 条件下播种 7 d 后的表现如图 3 所示。为了给后续基因挖掘工作提供更多数据信息,对 36 份淹水成苗率在 30%以上的种质 *OsGF14h* 单倍型类型进行检测 (见表 3),其中 8 份种质 *OsGF14h* 单倍型类型为无功能型,分别是黄壳糯 (淹水成苗率 72.22%)、麻壳稻 (淹水成苗率 60.00%)、黄壳糯-2 (淹水成苗率 56.67%)、洪港大粒籼 (淹水成苗率 52.22%)、08-449 (淹水成苗率 52.22%)、08-371 (淹水成苗率 52.22%)、隆化毛茛 (淹水成苗率 46.67%)、葡萄黄 (淹水成苗率 34.44%)。

表 3 淹水成苗率达 30%以上的种质资源

Table.3 Germplasm resources with a waterlogged seedling rate of more than 30%

序号 Number	种质名称 Cultivar	淹水成苗率(%) Waterlogged seedling rate	<i>OsGF14h</i> 单倍型类型 Haplotype attribute of <i>OsGF14h</i>	序号 Number	种质名称 Cultivar	淹水成苗率 (%) Waterlogged seedling rate	<i>OsGF14h</i> 单倍型类型 Haplotype attribute of <i>OsGF14h</i>
1	黄壳糯	72.22	N	31	稀红粘	42.22	F
2	干田占	67.78	F	32	61728	41.11	F
3	双头龙虎	65.56	F	33	61607	40.00	-
4	麻壳稻	60.00	N	34	大籼稻	38.89	-
5	IF0018-3	60.00	F	35	宣恩马尾占	38.89	-
6	龙须谷	56.67	F	36	61846	38.89	-
7	08-489	56.67	F	37	Feb-36	38.89	-
8	黄壳糯-2	56.67	N	38	白壳糯	37.78	-

9	08-477	55.56	F	39	08-340	37.78	-
10	冷水谷	53.33	F	40	62113-2	37.78	-
11	三百粒	53.33	F	41	08-576	37.78	-
12	洪港大粒籼	52.22	N	42	17-1555	34.44	-
13	08-449	52.22	N	43	08-544	34.44	-
14	08-371	52.22	N	44	葡萄黄	34.44	N
15	解放籼	52.22	F	45	08-574	33.33	F
16	08-396	51.11	F	46	62013	33.33	-
17	小丰野人毛 2	50.00	F	47	冷水糯	33.33	-
18	B15	48.89	F	48	IF0025	33.33	-
19	B28	47.78	F	49	利川麻谷	33.33	-
20	隆化毛葫	46.67	N	50	桂花黄	33.33	-
21	冷水谷-2	45.56	F	51	常农粳 8 号	33.33	-
22	61701	45.56	F	52	乌节糯	32.22	-
23	大叶苏罗早	45.56	F	53	大红谷	32.22	-
24	咸丰新洪贵阳占	44.44	F	54	闷加高 1	32.22	F
25	大籽糯	44.44	F	55	四川糯	31.11	-
26	沙坪红脚齐	43.33	F	56	粤禾丝苗	31.11	F
27	08-586	43.33	F	57	P-729	31.11	-
28	龙须糯	43.33	F	58	长坛冬瓜早	31.11	-
29	61833	43.33	F	59	08-588	31.11	-
30	保康冷水红	42.22	F				

-表示单倍型类型未测定; F 表示单倍型类型为功能型; N 表示单倍型类型为无功能型

- indicates that the haplotype attribute has not been determined; F indicates that the haplotype attribute is "Functional"; N indicates that the haplotype attribute is "Non-Functional"

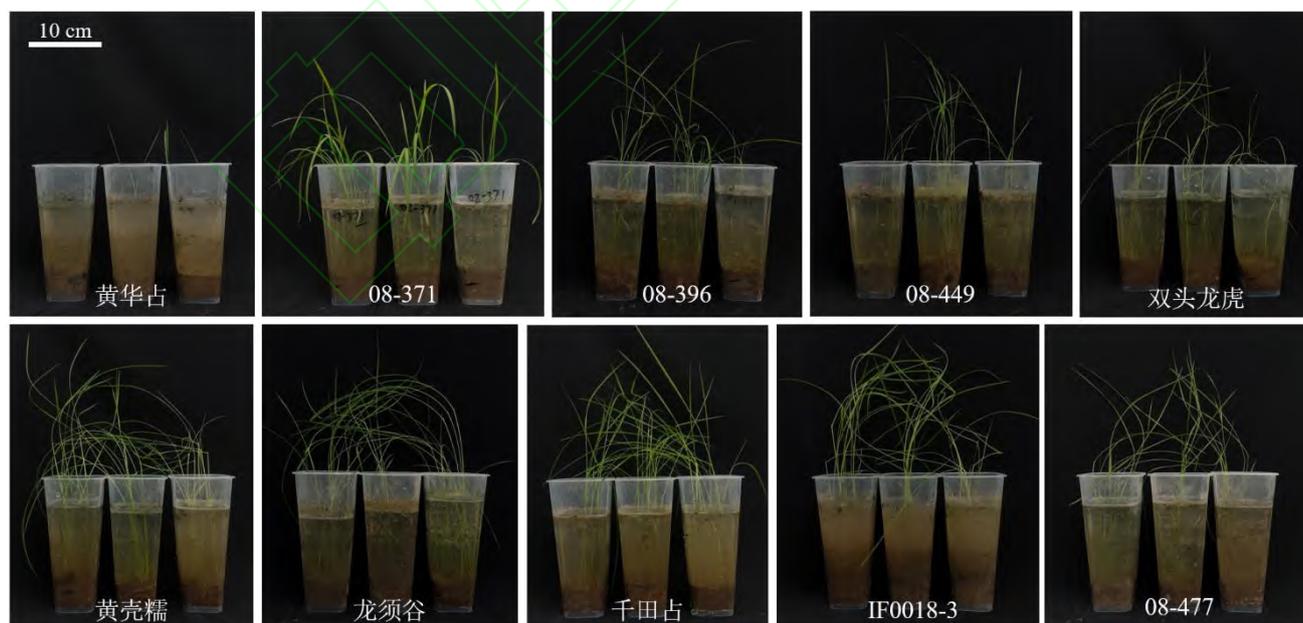


图 3 部分淹水成苗性优异的水稻种质在淹水深度 10 cm 条件下播种 7 d 后的表现

Fig.3 The performances of several excellent rice germplasm with high waterlogged seedling rate under the condition of 10 cm depth-waterlogging for 7 days after sowing.

3 讨论

3.1 低氧胚芽鞘长度与淹水成苗特性密切相关

水稻淹水成苗能力有两个关键的影响因素：一是种子在淹水低氧条件下能否快速萌发，二是萌发后胚芽鞘能否快速伸长到达水面。本研究中对种子萌发相关表型指标、胚芽鞘相关指标均进行分析。结果表明相比萌发指标，胚芽鞘指标与淹水成苗率之间的相关性更高（图 2）。一些前人研究也指出，胚芽鞘长度等指标与淹水萌发率表现出极显著的正相关^[11, 25]。由于淹水成苗率容易受到温度、水中含氧量、淹水深度等环境条件影响而不稳定，且需要有淹水池等设施才能开展高通量的鉴定试验，而胚芽鞘长度的测定操作简单，对实验设施及条件要求低，结果稳定，易于观测^[27]，因而有些研究中，直接将胚芽鞘长度作为衡量水稻萌发耐淹性的评价标准^[28-29, 12]。此外，已有研究发现，淹水萌发时（低氧）胚芽鞘长度与淹水成苗率具有显著正相关性^[30]，本研究得到了同样的结果，并且低氧胚芽鞘长度与淹水成苗率的相关性系数达到了 0.526，远高于其他指标（图 2）。说明相比在正常条件下胚芽鞘的长度，种子在低氧胁迫下胚芽鞘快速伸长的能力对于淹水成苗更为重要。同时低氧胚芽鞘长度相比胚芽鞘长度，可能更能够反映水稻品种的淹水成苗能力，且同样具备操作简便，易于观测的特点，在后续开展水稻淹水成苗性种质鉴定及基因挖掘中，可作为一项主要评价表型指标。

3.2 调控淹水成苗特性的功能基因及调控机制仍有待挖掘

目前已报道的水稻耐淹机制有三种：一是在应对暴洪导致的植株完全淹没的情况时，采取暂时休眠的策略，即通过淹水时限制 ETH 的产生，抑制碳水化合物的利用及幼苗伸长，储存能量，待洪水退去后迅速恢复生长，相关调控基因是 *Sub1A*^[31]；二是在应对洪水深度 50 cm 以上，且持续时间达几周甚至数月的胁迫时，通过植株节间和叶片快速生长突破水面而获得氧气，主要相关基因是调控 GA 积累及信号传导的 *SK1* 和 *SK2* 基因^[32]；三是快速萌发伸长策略，该策略主要应对发芽期淹水，通过提高淀粉酶活性及糖动员，促使种子快速萌发、胚芽鞘快速伸长，及时出水成苗^[10]，该策略相关基因的挖掘是培育淹水直播稻的关键。迄今快速萌发伸长策略相关的基因仅挖掘到 *OsTPP7*、*OsGF14h*、*OsUGT75A* 等^[20]，其中 *OsGF14h* 功能及作用机制研究较为深入，且其功能与淹水成苗率直接相关^[12]。本研究对 36 份鉴定筛选出的淹水成苗率大于 30% 的水稻种质 *OsGF14h* 单倍型类型进行了分析，结果发现 8 份种质 *OsGF14h* 为无功能型单倍型，其中包括 5 份淹水成苗率高于 50% 的种质，这说明除 *OsGF14h* 基因外，还存在其他调控淹水成苗率的基因。在后续的研究中，将继续检测这些优异材料的其他相关基因的基因型，并在此基础上，选取材料开展基因挖掘与功能机理研究，为淹水直播稻的品种创新提供新的材料与基因来源。

3.3 地方种质中蕴含丰富的低氧成苗优异材料

本研究中鉴定到淹水成苗率高于 50% 的种质材料 17 份，这些材料具有较高的基因挖掘及育种应用价值，

是后续研究的重点材料。考虑到淹水直播实际生产中采用 3~5 cm 淹水深度，而本研究中淹水成苗实验采用 15 cm 淹水深度，条件较为极端，在此条件下淹水成苗率达 30%以上的种质也具备一定的耐淹性，具有潜在的研究利用价值。在 59 份淹水成苗率高于 30%的种质材料中，有 30 份是湖北省地方水稻种质，比例高达 50.85%。洪水高发地区的地方品种和传统水稻品种由于需要长期抵御涝渍环境压力，可能带有重要的低氧成苗基因^[10]，湖北省地处长江中游，降水丰沛，在水稻播种期易发淹渍，湖北地方种质在农民多年的种植过程中，可能积累了淹水成苗基因。因此，在未来的研究中，湖北省地方种质资源可作为筛选鉴定的重点材料。此外，在淹水成苗初步筛选试验中，本研究还发现在选育品种和国外种质中，淹水成苗特性良好的种质占比较高（表 1），原因可能是试验使用的选育品种和国外种质均来源于湖北省农作物种质资源中期库，中期库是以引进优异种质资源为目的获取并保存这些种质材料的，因此这些材料中发芽势及幼苗长势强的种质占比例会更高，在淹水成苗特性初步筛选中表现良好的比例也相应更高。

3.4 耐淹水成苗种质挖掘中需同时关注株型与淹水扎根特性

本研究中鉴定筛选出淹水成苗率较高的水稻种质普遍存在幼苗株形欠佳的问题，这些种质在淹水条件下虽然能够快速出水，但表现出幼苗细高，茎秆柔软易弯折，叶片细长下垂的特点。通过对其中一些种质进行全生育期的表型观察发现，这些种质大多植株过于高大，且容易倒伏，这些缺点严重限制了其在育种中的应用。此外，本研究发现，许多种质资源在淹水条件下，由于缺氧等原因，幼苗虽然能够长出相对正常的根系，但根系难以扎到土里，导致幼苗常常漂浮在水面上，因此本研究在淹水成苗率试验中，采取对待测种子覆土 1 cm 再进行淹水的措施，可避免上述情况，确保试验结果的准确。然而在水稻淹水直播的实际生产中，播种后再覆土显然会增加生产成本，且难以精准控制覆土厚度的一致，操作难度大，易导致出苗不齐。综合上述两种情况，后期在筛选、鉴定、创制耐淹成苗种质时，除测定淹水成苗率等指标，还应综合考虑株型、淹水条件下根系下扎特性等，以获得更符合实际生产需求的淹水成苗新种质。

参考文献

- [1] Cai H, Chen Q. Rice research in China in the early 21st century. *Chinese Rice Research Newsletter*, 2000, 8:14-16.
- [2] Kumar V, Ladha J K. Direct seeding of rice: Recent developments and future research needs. *Advances in Agronomy*, 2011, 111:297-413.
- [3] 汪杰, 李世明, 王楚桃, 王婧. 水稻育种发展趋势及直播耐淹水萌发研究进展. *中国种业*, 2020(8):4-7.
Wang J, Li S M, Wang C T, Wang J. Development trend of rice breeding and research progress on germination tolerance to flooding in direct seeding. *China Seed Industry*, 2020(8):4-7.
- [4] 陈依, 彭归艳, 伍艳, 王思瑶, 赵婉玲, 刘敏, 陈慧玲, 陈良碧. 水稻种子耐淹特性研究. *植物科学研究前沿专刊*, 2021, 25(5):417-424.
Chen Y, Peng G Y, Wu Y, Wang S Y, Zhao W L, Liu M, Chen H L, Chen L B. Studies on submergence tolerance of rice seeds. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 25(5):417-424.
- [5] Parminder S Chahal, Amit J Jhala. Herbicide programs for control of glyphosate-resistant volunteer corn in glufosinate-resistant soybean. *Weed Technology*, 2015, 29(3): 431-443.
- [6] Naithani S, Mohanty B, Elser J, D'Eustachio P, Jaiswal P. Biocuration of a transcription factors network involved in submergence tolerance during seed germination and coleoptile elongation in rice (*Oryza sativa*). *Plants*, 2023, 12:2146.

- [7] Yamauchi M, Aguilar A, Vaughan D, Seshu D. Rice (*Oryza sativa* L.) germplasm suitable for direct sowing under flooded soil surface. *Euphytica*, 1993, 67(3):177-184.
- [8] Angaji S A, Septiningsih E M, Mackill D, Ismail A M. QTLs associated with tolerance of flooding during germination in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2010, 172(2):159-168.
- [9] Ray S, Vijayan J, Sarkar R.K. Germination stage oxygen deficiency (GSOD): an emerging stress in the era of changing trends in climate and rice cultivation practice. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7:671.
- [10] Panda D, Barik J, Sarkar R K. Recent advances of genetic resources, genes and genetic approaches for flooding tolerance in rice. *Current Genomics*, 2021, 22:41-58.
- [11] 孙凯, 李冬秀, 杨靖, 董骥驰, 严贤诚, 罗立新, 刘永柱, 肖武名, 王慧, 陈志强, 郭涛. 水稻耐淹成苗率相关性状全基因组的关联分析. *中国农业科学*, 2019, 52(3):385-398.
- Sun K, Li D X, Yang J, Dong J C, Yan X C, Luo L X, Liu Y Z, Xiao W M, Wang H, Chen Z Q, Guo T. Genome-wide association analysis for rice submergence seedling rate. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(3):385-398.
- [12] Sun J, Zhang G C, Cui Z B, Kong X M, Yu X Y, Gui R, Han Y Q, Li Z, Lang H, Hua Y C, Zhang X M, Xu Q, Tang L, Xu Z J, Ma D R, Chen W F. Regain flood adaptation in rice through a 14-3-3 protein OsGF14h. *Nature Communications*, 2022, 13:5664.
- [13] 滕祥勇, 王金明, 李鹏志, 林秀云, 孙强. 耐低温低氧水稻种质资源筛选. *种子*, 2022, 41(7):58-64.
- Teng X Y, Wang J M, Li P Z, Lin X Y, Sun Q. Screening of low temperature and hypoxic resistance germplasm resources of rice. *Seed*, 2022, 41(7):58-64.
- [14] Su L, Yang J, Li D D, Peng Z A, Xia A Y, Yang M, Luo L X, Huang C H, Wang J F, Wang H, Chen Z Q, Guo T. Dynamic genome-wide association analysis and identification of candidate genes involved in anaerobic germination tolerance in rice. *Rice*, 2021, 14:1.
- [15] Lee H S, Sasaki K, Kang J W, Sato T, Song W Y, Ahn S N. Mesocotyl elongation is essential for seedling emergence under deep-seeding condition in rice. *Rice*, 2017, 10:32.
- [16] Yang G L, Chen S P, Chen L K, Sun K, Huang C H, Zhou D H, Huang Y T, Wang J F, Liu Y Z, Wang H, Chen Z Q, Guo T. Development of a core SNP arrays based on the KASP method for molecular breeding of rice. *Rice*, 2019, 12(1):21.
- [17] Yang J, Sun K, Li D X, Luo L X, Liu Y Z, Huang M, Yang G L, Liu H, Wang H, Chen Z Q, Guo T. Identification of stable QTLs and candidate genes involved in anaerobic germination tolerance in rice via high-density genetic mapping and RNA-Seq. *BMC Genomics*, 2019, 20(1):355.
- [18] Gómez-Álvarez E M, Pucciariello C. Cereal germination under low oxygen: Molecular processes. *Plants*, 2022, 11:460.
- [19] Jayawardhane J, Wijesinghe M K P S, Bykova N V, Igamberdiev A U. Metabolic changes in seed embryos of hypoxia-tolerant rice and hypoxia-sensitive barley at the onset of germination. *Plants*, 2021, 10, 2456.
- [20] 张静, 孙炳蕊, 毛兴学, 江立群, 吕树伟, 陈文丰, 范芝兰, 于航, 陈平丽, 刘清, 李晨. 水稻淹水萌发对低氧胁迫的适应及其机制研究进展. *植物遗传资源学报*, 2024, 25(1):13-20.
- Zhang J, Sun B R, Mao X X, Jing L Q, Lu S W, Chen W F, Fan Z L, Yu H, Chen P L, Liu Q, Li C. Research progress on the adaptation and mechanism of rice submerged germination to hypoxia stress. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2024, 25(1):13-20.
- [21] Kretschmar T, Pelayo A M F, Trijatmiko K R, Gabunada L F M, Alam R, Jimenez R, Mendiolo M S, Slamet-Loedin I H, Sreenivasulu N, Bailey-Serres J, Ismail A M, Mackill D J, Septiningsih E M. A trehalose-6-phosphate phosphatase enhances anaerobic germination tolerance in rice. *Nature Plants*, 2015, 15124.
- [22] Ye N H, Wang F Z, Shi L, Chen M X, Liu Y G. Natural variation in the promoter of rice calcineurin B-like protein10 (OsCBL10) affects flooding tolerance during seed germination among rice subspecies. *The Plant Journal*, 2018, 94: 612-625.
- [23] Ho V T, Tran A.N, Cardarelli F, Perata P, Pucciariello C. A calcineurin B-like protein participates in low oxygen signalling in rice. *Functional Plant Biology*, 2017, 44:917-928.
- [24] Kawai M, Uchimiya H. Coleoptile senescence in rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany*, 2000, 86:405-414.
- [25] Nghi K N, Tagliani A, Mariotti L, Weits D A, Perata P, Pucciariello C. Auxin is required for the long coleoptile trait in *japonica* rice under submergence. *New Phytologist*, 2021, 229:85-93.
- [26] He Y Q, Sun S, Zhao J, Huang Z B, Peng L L, Huang C W, Tang Z B, Huang Q Q, Wang Z H. UDP-glucosyltransferase OsUGT75A promotes submergence tolerance during rice seed germination. *Nature Communications*, 2023, 14: 1-14
- [27] Miro B, Ismail A M. Tolerance of anaerobic conditions caused by flooding during germination and early growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Frontiers in Plant*

Science, 2013, 4:269.

- [28] 张所兵, 张云辉, 陈海元, 林静, 汪迎节, 朱晓妹, 宋春风, 方先文. 利用重组自交系定位水稻种子低氧发芽力 QTL. 华北农学报, 2020, 35(6):31-35.
- Zhang S B, Zhang Y H, Chen H Y, Lin J, Wang Y J, Zhu X M, Song C F, Fang X W. Identification of QTL involved in anaerobic germination tolerance by RIL population in rice. ACTA Agriculture Boreali-Sinica, 2020, 35(6):31-35.
- [29] 孙志广, 王宝祥, 周振玲, 方磊, 迟铭, 李景芳, 刘金波, Bello Babatunde Kazeem, 徐大勇. 水稻萌发耐淹性种质资源筛选及 QTL 定位. 作物学报, 2021, 47(1):61-70.
- Sun Z G, Wang B X, Zhou Z L, Fang L, Chi M, Li J F, Liu J B, Kazeem B B, Xu D Y. Screening of germplasm resources and QTL mapping for germinability under submerged condition in rice (*Oryza sativa* L.). ACTA Agronomica Sinica, 2021, 47(1):61-70.
- [30] 陈振挺. 水稻种质资源淹水发芽幼苗性状鉴定及全基因组关联定位研究. 上海: 上海海洋大学, 2019.
- Chen Z T. Rice germplasm screening and genome-wide association study on seedling characteristics related to submergent germination. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.
- [31] Singh N, Dang T T, Vergara G V, Pandey D M, Sanchez D, Neeraja C N, Septiningsih E M, Mendioro M, Tecson-Mendoza E M, Ismail A M, Mackill D J, Heuer S. Molecular marker survey and expression analyses of the rice submergence tolerance gene *SUB1A*. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 121(8):1441-1453.
- [32] Hattori Y, Nagai K, Furukawa S, Song X J, Kawano R, Sakakibara H, Wu J, Matsumoto T, Yoshimura A, Kitano H, Matsuoka M, Mori H, Ashikari M. The ethylene response factors SNORKEL1 and SNORKEL2 allow rice to adapt to deep water. Nature, 2009, 460(7258):1026-1030.