



陈红萍, 蓝海军, 邓伟, 等. 水稻淡白叶突变体的选育与利用研究[J]. 江西农业大学学报, 2022, 44(1): 29-34.
CHEN H P, LAN H J, DENG W, et al. Study on breeding and utilization of light white leaf mutant in rice[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2022, 44(1): 29-34.

水稻淡白叶突变体的选育与利用研究

陈红萍^{1,2}, 蓝海军³, 邓伟¹, 陈会萍², 王电文¹, 王记林^{1*}, 陈大洲^{2*}

(1. 江西省农业科学院 水稻研究所, 江西 南昌 330200; 2. 江西赣粮实业有限公司院士工作站, 江西 南昌 330200; 3. 江西省南昌市再生稻高产栽培工程技术研究中心, 江西 南昌 330200)

摘要:【目的】淡白叶水稻作为有色稻, 在稻田景观布置扮演着重要的角色, 阐述淡白叶稻的选育过程, 对其特征特性、遗传生理和品质等进行研究, 为淡白叶稻的利用提供依据。【方法】以淡白叶突变体及其野生型黄华占为试验材料, 对其进行正反交实验, 同时测定其全生长发育时期的叶绿素含量, 并对其进行指纹图谱鉴定。淡白叶突变体与野生型黄华占正反交, 其F₁代均为绿色表型, 其F₂代出现淡白叶和绿叶两种类型。【结果】卡方检测分析表明淡白叶突变体属于单基因隐性突变。叶绿素含量测定表明, 在早期的营养生长阶段淡白叶突变体与黄华占存在显著差异, 而在后期的生殖生长阶段两者无明显差异, 同时淡白叶突变体的小区产量也可达到黄华占的86%。【结论】淡白叶突变体的叶色变化对其产量影响不大, 淡白叶突变体可作为有色稻育种应用的重要资源。

关键词: 水稻; 淡白叶突变体; 遗传; 选育; 利用; 有色稻

中图分类号: S511.032 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2286(2022)01-0029-06

Study on Breeding and Utilization of Light White Leaf Mutant in Rice

CHEN Hongping^{1,2}, LAN Haijun³, DENG Wei¹, CHEN Huiping²,
WANG Dianwen¹, WANG Jilin^{1*}, CHEN Dazhou^{2*}

(1. Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Science, Nanchang 330200, China; 2. Academician Workstation of Jiangxi Ganliang Industrial Company Limited, Nanchang 330200, China; 3. Nanchang City Research Center for High-yield Cultivation Engineering Technology of Ratoon Rice, Nanchang 330200, China)

Abstract: [Objective] As a type of colored rice, light-white-leaf rice plays an important role in the landscape layout of rice fields. This research introduced the selection process of light-white-leaf rice, its characteristics, genetic physiology and quality, which can provide reference for the utilization of the rice. [Methods] The light-white-leaf mutant (LWLM) and its wild-type Huang Huazhan (HHZ) were used as the test materials to conduct positive and negative cross experiments. During the experiments, the chlorophyll content of the whole

收稿日期: 2021-09-06 修回日期: 2021-11-06

基金项目: 国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目(4192014008)和江西现代农业科研协同创新专项(JXXTCX903)
Project supported by the International (regional) Cooperation and Exchange Project of National Natural Science Foundation of China (4192014008) and Collaborative Innovation Special Project of Jiangxi Modern Agricultural Research (JXXTCX903)

作者简介: 陈红萍, orcid.org/0000-0003-1364-8124, 13970920363@139.com; *通信作者: 王记林, 副研究员, 博士, 主要从事稻种资源发掘研究, orcid.org/0000-0001-7858-1683, wangjilin1982@163.com; 陈大洲, 研究员, 主要从事水稻遗传育种研究, orcid.org/0000-0001-5322-9245, cdz288@163.com。

growth period was measured, and the fingerprint was identified. The positive and negative cross experiments showed that there was a green phenotype in its F_1 generation, and there were two types of light white leaves and green leaves in its F_2 generation. [Result] A Chi-square test showed that LWLM was a single-gene recessive mutation. The determination of chlorophyll content showed that there was a significant difference between LWLM and HHZ in the early vegetative growth stage, however, there was no significant difference between the two in the later reproductive growth stage. Meanwhile, the plot yield of LWLM reached 86% of that of HHZ. [Conclusion] The leaf color change of LWLM exerted little effect on its yield, which indicated that LWLM could be used as an important resource for colored rice breeding.

Keywords: rice; light-white-leaf mutant; heredity; breeding; utilization

【研究意义】当前,叶色突变体大多在5~6叶前显现出不同的叶色表型,白化、黄化、浅绿、条纹、和斑点等,但全生育期表现出淡白叶色突变体还是相对很少。在水稻叶色突变体研究中,一般以白化和黄化突变居多,但由于其通常影响植株光合效率,造成减产,严重时导致植株死亡,过去常被认为是无意义的突变^[1,2]。经过多年来对叶色突变体的研究和利用,加上生物技术的发展,水稻叶色突变体的研究和生产实践中发挥出越来越重要的作用。【前人研究进展】赣州市农科所辐射诱变籼型保持系D57B干种子,选育出白化(6叶前)转斑叶型突变体保持系,上海交通大学辐射诱变粳稻9522(武运粳7号),选择到中脉白化突变体^[3]。江西省超级稻工程技术研究中心辐射诱变温敏核不育系广占63-4S,选育出了一个白化转绿突变体“白S”^[4]。浙江大学原子核农业科学研究所建立了一套利用⁶⁰Co_γ辐射诱变培育白化转绿突变体的技术体系,先后育成了带叶色标记的不育系玉兔S、白丰A等^[5-6]。叶色突变是水稻中较常见的一种突变类型,在水稻功能基因组研究、植物光合作用的生理生化机制研究和遗传育种应用等方面具有无可替代的价值^[7]。【本研究切入点】水稻淡白叶品系是由黄华占自然突变体选育成,全生育期淡白叶型的突变株,而且具有较好的单产水平,经江西省2019年晚稻中熟预试,667 m²平均产量559.9 kg,表现品质3级优质米^[1],可能具有较好的生产应用价值。【拟解决的关键问题】水稻淡白叶品系的选育过程、特征特性、遗传生理和品质等进行研究,结果可为其进一步应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

水稻淡白叶突变体是从黄华占品种(粤农科院水稻所周少川研究员育成)生产大田中发现了1株,自2012年选育至今13代,农艺性状稳定,淡白叶色较稳定。通过与野生型黄华占配组,对杂交后代叶色表型进行遗传分析,测定叶绿素含量,解析淡白叶遗传基础,并评估其应用前景。

1.2 试验设计

1.2.1 水稻淡白叶突变体的叶色观察 主要在江西南昌、海南两地种植,2012年5月20日—2020年5月22日,从播种出苗、移栽、抽穗至成熟,多年观察其叶色变异规律。

1.2.2 遗传变异分析 利用淡白叶突变体与绿叶材料(黄华占、G4-185)构建分离群体(F_2 、 BC_1F_1),调查分离群体的淡白叶出现的概率,统计分析其遗传模型。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 农艺性状的考察 2018年在广福村李普根的承包田种植,从5月20日种子干播种,秧龄30 d,6月20日移栽,栽插密度16.5 cm×23.1 cm,每穴栽4~5苗,种植面积66.7 m²,田间管理与当地水稻生产相同。记载生育阶段,即始穗、抽穗、齐穗、灌浆、成熟期,以及性状稳定性和整齐度。在成熟后进行5点取样,考种项目为株高、有效穗、穗长、每穗粒数、实粒数、结实率、千粒质量。

1.3.2 叶绿素含量测定 种植于南昌冈上水稻基地,5月20日播种,湿润育秧,在6月20日移栽,单本植,栽插密度16.5 cm×23.1 cm,其它田间管理与当地水稻生产相同。在田间不同生育时期即苗期、分蘖期、拔节期、孕穗期、抽穗期、灌浆期、成熟期,分别选取植株3株,在室内取新鲜叶片,将叶片表面擦干净,去除中脉,剪碎、混匀,称取5 mg,放入50 mL离心管,加入乙醇-丙酮混合液25 mL,扣紧管盖,摇匀,黑暗

处理 24 h,直至叶片呈白色。在处理中可轻轻摇晃试管 3~5 次。将叶绿素提取液倒入比色皿中(可反复 2~3 次),以混合液为空白对照,分别在波长 663,645,470 nm 下读取吸光值并计算光合色素含量;设置 3 次重复,取平均值进行统计分析^[6]。

1.3.3 指纹鉴定 利用 24 对 SSR 水稻指纹图谱标记,对水稻淡白叶突变体与野生型黄华占进行亲缘关系分析。

2 结果与分析

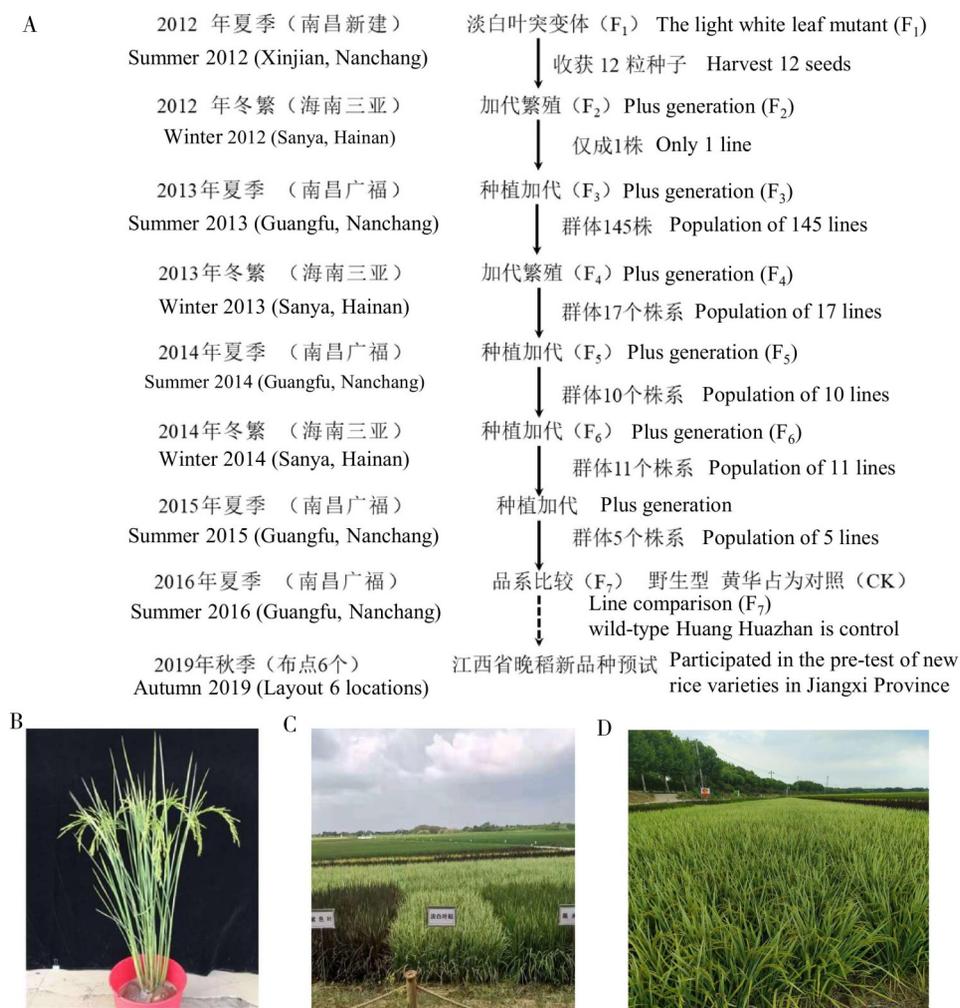
2.1 淡白叶突变体的发现

2012 年 10 月 8 日,在新建珠港农场的黄华占生产示范田中发现淡白叶突变体 1 株,与黄华占品种正常绿色株比较,叶色淡白,主脉和细脉绿色,叶脉间显现淡白色。株高 80 cm 左右,穗型较小,粒形相同,千粒质量小些,结实正常。当时,刚刚进入黄熟时期,主穗头有一小段淡黄色谷粒,收下了 12 粒。

2.2 选育过程

将收获的 12 粒种子,当年冬繁加代送至海南三亚繁殖(F_1),2013 年 3 月底田间收种时,成苗 1 株(播种 12 粒种子成苗 1 株),叶片淡白色,主脉和细脉绿色,生长矮小,株高 70 cm 左右,有效穗数 4 个,其中分蘖穗较小,结实正常,长粒型,收种子 215 粒(F_2)。

2014 年 5 月 20 日播种,中稻种植于南昌广福,6 月 20 日移栽,单本植,栽插密度 16.5 cm×23.1 cm,种



A: 选育过程; B: 单株图; C: 对照图; D: 大田图。

A: The breeding process; B: per plant photo; C: control photo; D: ield photo.

图 1 水稻淡白叶品系的选育

Fig.1 Breeding light white leaf line in rice

植群体 145 株,成熟时按系普法选择 17 个单株。2014 年冬赴海南三亚藤桥加代繁殖,种植 17 个株系 (F_3),该世代选择 10 个单株。2015 年中稻种植于南昌,5 月 22 日播种,6 月 21 日移栽,种植了 10 个株系 (F_3),其中有 3 个株系变为绿色叶(3 个株系中有 1 个株系在秧苗期表现出淡白叶,栽插后 7 d,叶片变成白色,当时记载时认为该株系白色叶不能光合作用会饥饿死亡,但在 7 月 10 日记载时全变绿了)。成熟时选择 11 个株系,当年到海南加代(F_6),收回株系 5 个,2015 年 5 月在南昌县广福种植中稻,成熟后收获稳定株系混收。2016 年进行品系比较,主要与野生型黄华占进行试验比较(图 1)。

2.3 淡白叶突变体的叶色变化

一般年份淡白叶突变体全生育期均为淡白色,但个别年份播种后生长第 1、2、3、4、5 叶为淡白叶,在 6、7、8 叶时期,叶脉白色,淡白叶不明显,随后的 9、10、11、12、13 叶又恢复明显的淡白叶表型。

2.4 淡白叶品系农艺性状

淡白叶株系株型适中,分蘖力中上,叶片不披,叶色淡白色,剑叶挺,株高 112 cm,茎秆不露节,较抗倒伏,有效穗 9~13 个,穗长 23.3 cm,每穗粒数 179 粒,实粒数 151.5 粒,结实率 84.81%,千粒质量 21.0 g,稃尖无色,粒形长型,落粒性一般,抗病性较好。晚稻播种,6 月 20 日,秧龄 28~30 d,9 月 11 日抽穗,9 月 18 日齐穗,播始历期 84 d,全生育期 124 d,667 m²平均产量 559.9 kg。

2.5 稻米品质

来自江西省晚稻预试参试品种品质分析结果:出糙率 79.8%,精米率 72.9%,整精米率 66.7%,粒长 6.8 mm,粒型长宽比 3.6,垩白粒率 6%,垩白度 1.3,直链淀粉 18.9%,胶稠度 50 mm,碱消值 6.8 级,透明度 1 级,水分 12.4%。

2.6 遗传分析

如表 1 所示,利用淡白叶突变体姐妹系杂交,其 F_1 表型为 100% 的淡白叶,结果表明淡白叶突变体已经纯合,白叶表型可以稳定遗传;利用淡白叶突变体与野生型黄华占进行正反交,其 F_1 代均为绿色表型,其 F_2 代出现淡白叶和绿叶两种类型。同时,其正反交 F_1 代的回交群体中,黄华占/淡白叶//黄华占的 BC_1F_1 世代中全部均为绿色,淡白叶/黄华占//淡白叶的 BC_1F_1 世代中出现淡白叶、绿叶两种类型,以上结果证实淡白叶相对绿叶呈隐性遗传,不存在细胞质效应。分离后代中淡白叶占比统计结果显示,其 F_2 代淡白叶出现概率为 20.83%~23.21%,淡白叶/黄华占//淡白叶的 BC_1F_1 世代中淡白叶出现的概率占 46.47%,卡方检测分析表明,淡白叶表型符合单隐性基因遗传模型。

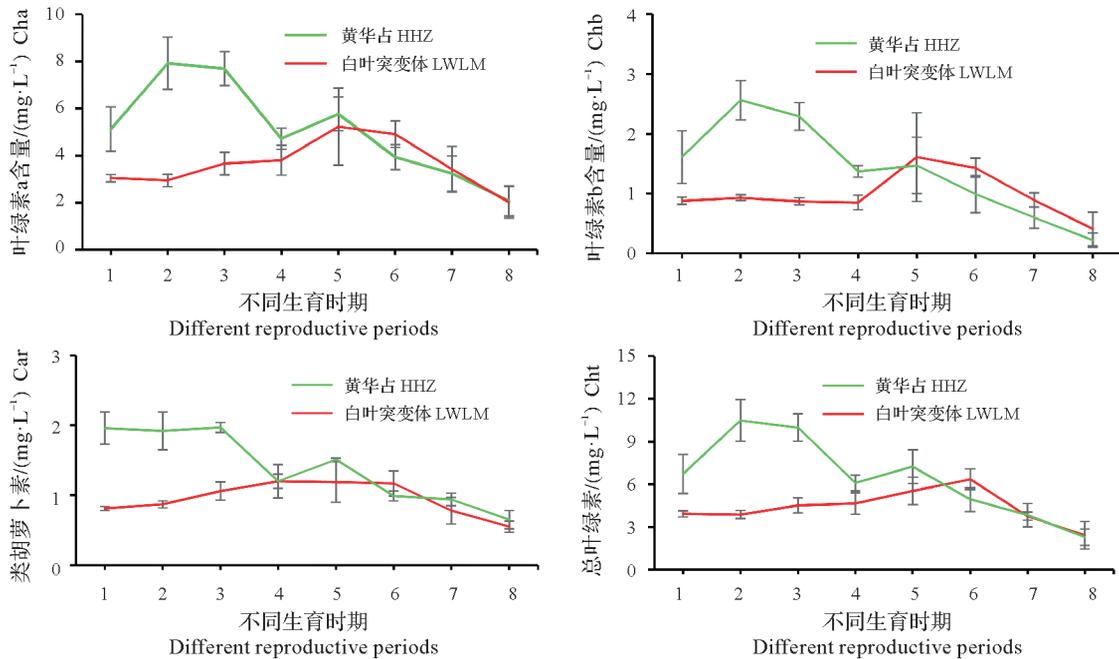
表 1 淡白叶突变体的遗传分析
Tab.1 Genetic analysis of light white leaf mutant

| 时间 Time | 地点 Location | 组合 Combinations | 世代 Generations | 群体(株) Groups(plant) | | 淡白叶/% SWL | 单基因卡方值 Single gene (χ^2) |
|-----------------------------------|----------------|--------------------|-------------------|----------------------------|------------------|--------------|---------------------------------------|
| | | | | 淡白叶 Light white leaf | 绿叶 Green leaf | | |
| 2020 年夏季 In the summer of 2020 | 南昌 | 淡白叶/淡白叶 | F_1 | 128 | 0 | 100 | - |
| | | 岗上 | | 黄华占/淡白叶 | 0 | 72 | 0 |
| | | 淡白叶/黄华占 | | 0 | 48 | 0 | - |
| 2021 年冬季 In the winter of 2021 | 海南三亚 | 黄华占/淡白叶 | F_2 | 25 | 93 | 21.19 | 0.92 |
| | | 荔枝沟 | | 淡白叶/黄华占 | 10 | 38 | 20.83 |
| | | G4-185/淡白叶 | | 26 | 86 | 23.21 | 0.19 |
| | | 黄华占/淡白叶//黄华占 | | 0 | 80 | 0 | - |
| | | 淡白叶/黄华占//淡白叶 | BC_1F_1 | 28 | 32 | 46.67 | 0.27 |

2.7 不同生育期的叶绿素含量及比较分析

测定了淡白叶突变体与野生型黄华占在苗期、分蘖期、拔节期到孕穗期、抽穗期、灌浆期、乳熟期和黄熟期的叶绿素 Cha、Chb、Car、Cht 含量。结果如图 2 所示,在淡白叶突变体与黄华占的生长发育过程中,3 种叶绿素含量及叶绿素总量的变化趋势相对接近。在苗期至孕拔节期(营养生长期),淡白叶突变体的 3 种

叶绿素含量及叶绿素总量大约为黄花占的一半;而在后续的抽穗至黄熟期(生殖生长时期)淡白叶突变体的3种叶绿素含量及叶绿素总量与黄花占相当。淡白叶突变体前期叶绿素含量的下降使其产生了淡白叶表型,这与淡白叶突变体的表型相符合。生殖生长时期淡白叶突变体叶绿素含量相对于黄华占没有明显差异,为淡白叶突变体的光合作用提供了基础保障,进一步保证了淡白叶突变体的单株产量。



1: 苗期;2:分蘖期;3:拔节期;4:孕穗期;5:抽穗期;6:灌浆期;7:乳熟期;8:黄熟期。
1: Seedling stage; 2: Tillering stage; 3: Elongation stage; 4: Booting stage; 5: Heading period; 6: Filling stage; 7: Milk stage; 8: Yellow ripening stage.

图2 淡白叶突变体在不同生育期叶绿素含量的比较分析

Fig.2 Comparative analysis of chlorophyll content of light white leaf mutants in different growth stages

2.8 淡白叶突变体与野生型黄华占指纹鉴定

利用24对SSR指纹图谱标记对黄华占,以及两份黄华占白叶突变体材料1614和1617进行了基因型检测。结果表明:3份材料之间均差异明显。其中,1614与黄华占之间差异位点数为9个,差异占比为37.5%;1617与黄华占之间的差异位点数为5个,差异占比为20.8%;整体而言,两份白叶材料与黄华占均存在较大的差异,认定为不同的品种(系)。淡白叶材料1617与黄华占的血缘更接近(图3)。

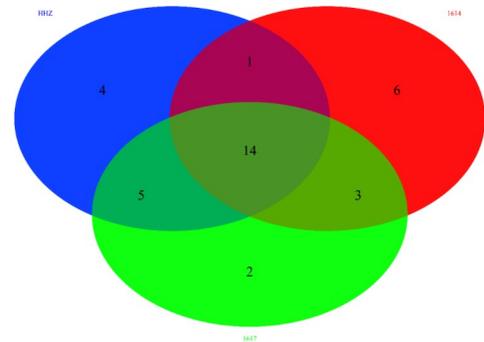


图3 淡白叶株系与黄华占指纹鉴定分析
Fig.3 Comparative analysis of fingerprint identification between light white leaf lines and Huang Hua Zhan

3 结论与讨论

3.1 淡白叶突变体的特征

在叶色表型上,与野生型黄华占品种是相比,淡白叶株的全生育期是淡白色表型,远看为白色,近看淡白色。从叶绿素含量比较,野生型黄华占品种的苗期、分蘖期和拔节期的叶绿色逐步上升(5.1~7.69),到了孕穗期下降较大(4.72),抽穗期略有上升(5.77),灌浆至成熟是逐步下降(3.93~2.07),而且下降度大;淡白叶株的叶绿素含量苗期至孕穗逐步上升(3.04~3.80),直到抽穗最高(5.23),灌浆至成熟是逐步下降(4.91~2.29)与野生型黄华占品种相同趋势。淡白叶突变体在晚稻区试667 m²平均产量达到559.9 kg,说明营养生长时期淡白叶突变体叶绿素含量的降低对其产量影响不大,同时生殖生长时期淡白叶突变体叶绿素含量的稳定使其产量有了一定的保证,这表明该淡白叶突变体具有潜在的利用价值。

3.2 淡白叶突变体的“返绿现象”

自然淡白叶突变株,经过多代系谱选择,育成淡白叶突变体在一般情况下全生育期表现出淡白叶,但个别年份会出现1、2、3、4、5、6、7叶淡白叶,8、9、10叶表现绿色,但叶色比野生型黄华占要淡,第11、12、13叶表现为淡白叶。选育过程中发现,1株淡白叶突变体于5月22日播种,苗期叶片呈现为典型的淡白叶,在移栽后(7月3日)叶片颜色变得比苗期更白,呈纯白色。7月15日后,该白叶突变体叶色转绿,且整个生育期叶色均保持为绿色。

尽管经典遗传分析表明淡白叶表型为单隐性基因调控,自然突变株经过多代的选择、稳定、多季、异地(海南)种植,遇适宜转绿温度时,可从淡白叶转为绿色。已有研究^[8-10]表明,水稻白化突变体转绿与温度关联度很高,可分为“高温敏感型”“低温敏感型”“温顿型”。因此,笔者推断该淡白叶突变体的“淡绿现象”应该与温度的变化相关,具体机制尚待进一步分析。

3.3 淡白叶突变系的育种利用

在彩色稻中,利用淡白叶突变系作亲本,与紫色稻、黄色稻、绿色稻进行杂交,其后代可以选育出不同的淡色、更淡色,或更浓色彩,利用彩色稻更好地构建彩色图案。同时,可以将该淡白叶突变体应用于水稻育种中,能选育出目标新父本、母本系,形成杂交水稻新品种。

致谢:江西省农业科学院博士启动基金项目(2019CBS002)同时对本研究给予了资助,谨致谢意!

参考文献 References:

- [1] 姚晓云,蓝海军,邓伟,等.水稻淡白叶突变体的叶绿素含量测定及农艺性状比较分析[J].江西农业学报,2020,32(12):12-15.
YAO X Y, LAN H J, DENG W, et al. Determination of chlorophyll content and comparative analysis of agronomic traits of pale-white-leaf mutants in rice[J]. Acta agriculturae Jiangxi, 2020, 32(12): 12-15.
- [2] 何冰,刘玲珑,张文伟,等.植物叶色突变体[J].植物生理学通讯,2006,42(1):1-9.
HE B, LIU L L, ZHANG W W, et al. Plant leaf color mutants[J]. Plant physiological communications, 2006, 42(1): 1-9.
- [3] 龚建明,施翔,程建峰.光强对水稻叶色白化突变体苗期生长的影响[J].农业科学研究,2013,34(3):10-13.
GONG J M, SHI X, CHENG J F. Effect of light intensity on the seedling growth of leaf albino mutants in rice[J]. Journal of agricultural sciences, 2013, 34(3): 10-13.
- [4] 王小波,傅军如,和金鹏,等.一个新的水稻白化转绿突变体“白S”特性的研究[J].江西农业学报,2015,27(8):16-20.
WANG X B, FU J R, HE J P, et al. Study on characteristics of a novel albino Green-revertible rice mutant “Bai s”[J]. Acta agriculturae Jiangxi, 2015, 27(8): 16-20.
- [5] 赵海军,吴殿星,舒庆尧,等.携带白化转绿型叶色标记的光温敏核不育系玉兔S的选育及其特征特性[J].中国水稻科学,2004,18(6):515-521.
ZHAO H J, WU D X, SHU Q Y, et al. Breeding and characteristics of photo-thermo sensitive genic male sterile rice Yutu S labeled with green-revertible albino leaf marker[J]. Chinese journal of rice science, 2004, 18(6): 515-521.
- [6] 沈圣泉,舒庆尧,包劲松,等.实用转绿型叶色标记不育系白丰A的应用研究[J].中国水稻科学,2004,18(1):34-38.
SHEN S Q, SHU Q Y, BAO J S, et al. Development of a greenable leaf colour mutant Baifeng A and its application in hybrid rice production[J]. Chinese journal of rice science, 2004, 18(1): 34-38.
- [7] 张力科,高用明.水稻叶色突变体及其基因定位和克隆的研究进展[J].作物杂志,2009(2):12-16.
ZHANG L K, GAO Y M. Advance in gene mapping and cloning of leaf color mutants in rice[J]. Crops, 2009(2): 12-16.
- [8] YATOU O, CHENG X Y. Temperature sensitive chlorophyll mutations[J]. Rice genetics newsletter, 1989(6): 131-132.
- [9] 舒庆尧,吴殿星,夏英武,等.水稻转绿型白化突变系W₂₅转绿特性的研究[J].浙江农业大学学报,1996,22(2):219-220.
SHU Q R, WU D X, XIA Y W, et al. Study on greenism characteristics of greenable albino mutant line W₂₅ of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Journal of Zhejiang agricultural university, 1996, 22(2): 219-220.
- [10] 吴殿星,舒庆尧,夏英武,等.水稻转绿型白化突变系W₂₅返白复绿过程中叶片的生理变化[J].浙江农业大学学报,1999,25(1):1-4.
WU D X, SHU Q Y, XIA Y W, et al. Study on physiological changes in leaves of a rice greenable albino mutant line W₂₅ during albinism greenism process in late growth period [J]. Journal of Zhejiang agricultural university, 1999, 25(1): 1-4.