



李静,李雨欣,赵洁,等.水稻穗发芽抗性鉴定方法优化及批量筛选[J].江西农业大学学报,2025,47(3):569-586.

LI J,LI Y X,ZHAO J,et al.Optimization of identification methods and mass screening for pre-harvest sprouting resistance in rice[J].

Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2025,47(3):569-586.

# 水稻穗发芽抗性鉴定方法优化及批量筛选

李 静<sup>1,2</sup>,李雨欣<sup>2,3</sup>,赵 洁<sup>1,2</sup>,黄 奕<sup>1,2</sup>,李 霞<sup>1,2,3,4\*</sup>,谢寅峰<sup>1\*</sup>,杨 杰<sup>2,4</sup>

(1.南京林业大学 生命科学院,江苏 南京 210037;2.江苏省农业科学院 粮食作物研究所/生物育种钟山实验室/农业农村部淮河下游种质创新重点实验室,江苏 南京 210014;3.南京农业大学 生命科学学院,江苏 南京 21009;4.扬州大学 江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心,江苏 扬州 225009)

**摘要:**【目的】建立科学简便的水稻穗发芽抗性鉴定体系以及评价标准,以批量筛选穗发芽抗性种质资源,为抗穗发芽品种选育提供技术支撑。【方法】以16个水稻试验品系为材料,优化穗发芽抗性鉴定方法和取样时间,采用优化后的抗性鉴定方法对2023—2024年在南京正季种植的360份水稻材料进行人工穗发芽鉴定试验,结合聚类分析评价其穗发芽抗性,并与熟期特性及大田穗发芽情况进行关联分析。【结果】(1)16个水稻试验品系在开花后20~50 d取样条件下的穗发芽表现显示,在水稻开花后35 d取样,供试材料整穗相对含水量比较稳定,既能保证相似的成熟度,也更有利于区分不同材料间的穗发芽抗性差异;相比于籽粒发芽法,整穗发芽法能反映不同材料穗发芽抗性,且省工省时;(2)360份水稻材料整穗发芽试验的平均发芽率呈现正态分布,2年的变化趋势类似,且在试验第4天品种间差异显著( $P<0.05$ ),第6天后差异缩小;(3)利用K-均值聚类分析法,对2年人工整穗发芽试验的平均发芽率进行归一化处理并聚类,将360份供试水稻材料按照穗发芽抗性等级划分为高抗穗发芽类型(聚类I)、中抗穗发芽类型(聚类II)和易穗发芽类型(聚类III)3类;(4)分析熟期与穗发芽试验结果发现,在南京正季种植的水稻,8月5日—8月15日期间开花的水稻平均穗发芽率较大,更易发生穗发芽;(5)将2年的人工穗发芽试验结果与当年大田穗发芽表现进行比较,建立穗发芽抗性评价标准:高抗穗发芽类型整穗发芽试验第4天发芽率 $<15%$ ,第6天发芽率 $<25%$ ;易穗发芽类型整穗发芽试验第4天发芽率 $>20%$ ,第6天发芽率 $>50%$ 。【结论】在水稻开花后35 d取整穗,进行人工整穗发芽试验,根据试验第4天和第6天的发芽率即可鉴定水稻穗发芽类型,该方法为水稻抗穗发芽品种的选育提供技术参考。

**关键词:**水稻;穗发芽;批量筛选;聚类分析;抗性鉴定

中图分类号:S511.01 文献标志码:A

文章编号:1000-2286(2025)03-0569-18

CSTR:32399.14.aauj.2025049

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



收稿日期:2024-12-20 修回日期:2025-02-12

**基金项目:**国家自然科学基金项目(31571585)、江苏省农业科技自主创新资金项目[CX(23)1001]、江苏省重点研发计划(现代农业)(BE2021359)、江苏省种业创新“揭榜挂帅”项目[JBGS(2021)038、JBGS(2021)039]和国家重点研发计划(2023YFE01117000)

Project supported by the National Natural Science Foundation of China(31571585), Jiangsu Province Agricultural Science and Technology Independent Innovation Fund Project[CX(23)1001], the Key Research and Development Program of Jiangsu Province(Modern Agriculture)(BE2021359), the “Jiangsu Province Seed Industry Innovation” Project[JBGS(2021)038 and JBGS(2021)039]and the National Key R&D Program of China (2023YFE01117000)

**作者简介:**李静,硕士生,orcid.org/0009-0005-6390-8109,3236464361@qq.com; \*通信作者:李霞,研究员,博士,主要从事水稻遗传育种研究,orcid.org/0000-0001-9938-753X,jspllx@jaas.ac.cn;谢寅峰,教授,博士,主要从事植物逆境生理研究,orcid.org/0000-0003-3159-9514,xyyff@njfu.edu.cn。

©《江西农业大学学报》编辑部,开放获取CC BY-NC-ND协议

## Optimization of identification methods and mass screening for pre-harvest sprouting resistance in rice

LI Jing<sup>1,2</sup>, LI Yuxing<sup>2,3</sup>, ZHAO Jie<sup>1,2</sup>, HUANG Yi<sup>1,2</sup>,  
LI Xia<sup>1,2,3,4\*</sup>, XIE Yinfeng<sup>1\*</sup>, YANG Jie<sup>2,4</sup>

(1. College of Life Sciences, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Zhongshan Laboratory for biological Breeding; Key Laboratory of Germplasm Innovation in Downstream of Huaihe River (Nanjing); Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, Nanjing 210014, China; 3. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 4. Collaborative Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops of Jiangsu Province, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

**Abstract:** [Objective] This study aims to establish a scientific and convenient evaluation system for identifying pre-harvest sprouting (PHS) resistance in rice and screening PHS-resistant germplasm resources, thereby providing technical support for breeding PHS-resistant varieties. [Method] 16 rice experimental lines were used as research material to optimize the evaluation methodology and sampling timing for PHS-resistance. Subsequently, the optimized protocol was applied to conduct artificial panicle sprouting tests on 360 rice accessions grown under normal seasonal conditions in Nanjing during 2023–2024. Cluster analysis was performed to assess PHS resistance levels, followed by correlation analyses with heading date characteristics and field sprouting performance. [Result] The study demonstrated that: (1) Evaluation of 16 rice test lines sampled at 20–50 days after flowering (DAF) revealed that panicles collected at 35 DAF exhibited stable relative water content while maintaining consistent maturity, thereby better differentiating PHS-resistance among materials. Compared with the grain germination method, the whole-panicle germination method reflected more effectively varietal differences in PHS-resistance with improved labor efficiency and time efficiency. (2) The average germination rates from whole-panicle sprouting tests of the 360 rice accessions followed a normal distribution, showing similar variation trends between the two years. Significant differences ( $P < 0.05$ ) in pre-harvest sprouting (PHS) rates among varieties were observed on day 4, and the differences diminished after day 6. (3) The daily average germination rates from the artificial whole-panicle sprouting tests conducted in 2023 and 2024 were normalized separately and subsequently analyzed using K-means clustering. Based on this analysis, the 360 tested rice accessions were classified into three pre-harvest sprouting (PHS) resistance categories: highly PHS-resistant (Cluster I), moderately PHS-resistant (Cluster II), and PHS-susceptible (Cluster III). (4) Statistical analysis of the correlation between heading dates and PHS test results demonstrated that rice accessions flowering from August 5 to 15 under conventional cultivation conditions in Nanjing exhibited significantly elevated panicle sprouting rates ( $P < 0.05$ ), suggesting their inherent susceptibility to PSH. (5) By comparing the artificial PHS test results from 2023–2024 with the actual field PHS performance in the corresponding years, the following PHS resistance evaluation criteria was established as following: For the high spike germination-resistant type, the germination rate was less than 15% on the 4th day and less than 25% on the 6th day in the whole spike germination test; for the spike germination-prone type, the germination rate was more than 20% on the 4th day and more than 50% on the 6th day in the whole spike germination test. [Conclusion] For the whole panicles collected at 35 DAF, the artificial whole-panicle germination test can be used to classify rice PHS resistance types based on the germination rates recorded on day 4 and day 6. This method provides a technical reference for breeding PHS-resistant rice varieties.

**Keywords:** rice; pre-harvest sprouting; mass screening; cluster analysis; resistance identification

【研究意义】水稻(*Oryza sativa* L.)是重要的粮食作物之一,其总产量位居世界粮食作物总产量的第3位<sup>[1]</sup>。收获前发芽(pre-harvest sprouting, PHS, 以下简称穗发芽)是指禾谷类作物在成熟后期遇到连续高温和阴雨时,谷粒在穗上萌发的现象,严重影响了种子的产量和品质<sup>[2]</sup>。中国水稻穗发芽多发生在南方高温和潮湿地区,每年穗发芽的比例约为2%~5%,其中长江流域和南方稻区可达6%以上<sup>[3-4]</sup>,如在收获期前出现多雨天气,甚至会有50%的种植区出现穗发芽,尤其是杂交水稻<sup>[5-6]</sup>。江苏粳稻生产在2016年以来也发生了不同程度的穗发芽<sup>[7-8]</sup>,故水稻穗发芽现象已呈现全域性及逐年递增的态势<sup>[9]</sup>。水稻穗发芽表型精确鉴定与分级是有效控制PHS的前提和基础。有关籼稻、粳稻以及杂交稻PHS特性鉴定的研究已有报道<sup>[10]</sup>,但鉴定方法和标准各异<sup>[11-12]</sup>,迄今有关水稻穗发芽表型精准鉴定的批量筛选方法或国家标准尚未建立,亟待建立一种适用于水稻生产且科学简便的穗发芽批量筛选方法和分级标准,为抗穗发芽水稻品种的选育提供技术保障,从而更好地保障国家粮食安全<sup>[10]</sup>。【前人研究进展】目前已报道的谷物穗发芽鉴定方法主要有整穗发芽法和籽粒发芽法,其中整穗发芽鉴定主要包括室内离体整穗鉴定、人工雨室连体鉴定和田间连体自然鉴定3种方法<sup>[13]</sup>,而籽粒发芽法则是指将水稻籽粒剥离后放在培养皿中发芽<sup>[14]</sup>。胡伟民等<sup>[14]</sup>根据生产经验,提出按照种子萌动的严重程度将穗萌种子分为4级(0~3级),其中0级为完整种子,1级为胚部稃壳破裂的种子,2级为芽长(根长)未及谷长的种子,3级为芽长(根长)超过谷长的种子。贾舒涵等<sup>[6]</sup>进一步优化这个分级标准,增加了去掉颖壳后的萌发率这一指标,丰富了水稻穗发芽类型的分级。但是上述这些分级标准多来自杂交水稻的结果,鉴定水稻的种类相对有限且标准不统一。朱小品等<sup>[15]</sup>将小麦的穗发芽鉴定方法用于水稻穗发芽筛选研究,证明室内整穗发芽法相较于田间发芽法不仅能反映抗性水平,且试验环境易于掌控;而有研究人员发现整穗结合套袋保湿的穗发芽试验方法能有效鉴定品种间穗发芽的抗性差异<sup>[16]</sup>。然而这些研究结果多来自特异材料如突变体的筛选或少数材料,直接应用于栽培水稻穗发芽抗性的批量筛选还有待解决<sup>[17]</sup>。已有研究<sup>[18]</sup>显示,水稻穗发芽发生与种子的成熟度有关,即随开花后天数的增加而增加,尤其在抽穗后35~45 d,若遭遇外界连续的高温和高湿天气,极易诱发PHS<sup>[19]</sup>。可见,各种内在因素和外环境因素均会导致品种间穗发芽的抗性差异<sup>[20]</sup>。

【研究切入点】与小麦穗发芽研究相比,水稻穗发芽研究起步较晚<sup>[6,11]</sup>,目前,有关作物穗发芽的筛选方法和标准多参考小麦的研究<sup>[21]</sup>,而且取样时间和取样的部位也不统一,然而由于水稻穗粒结构以及颖壳的包被方式与小麦的不同,小麦的筛选方法和分级标准是否适合水稻则需深入研究。能够应用于栽培水稻穗发芽抗性的批量筛选的方法和鉴定标准仍未有报道。【拟解决的关键问题】本研究系统比较不同取样时间和部位等的穗发芽抗性表现,优化水稻穗发芽抗性鉴定方法,并在2023年和2024年用优化的方法对课题组保存的360份不同类型水稻材料进行批量筛选,并利用聚类分析将不同水稻材料穗发芽表型分级,结合大田自然条件下不同材料的穗发芽表现,进一步明确水稻穗发芽批量筛选的分级标准,从而建立一种水稻生产上科学且简便的穗发芽简易有效的批量筛选方法和分级标准,期望为抗穗发芽水稻新品种的选育提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为单位常规水稻育种团队保存的360份水稻品种(系),其中包括296份粳型,64份籼型,分别于2023年和2024年连续2年种植于江苏省农业科学院南京试验基地。

### 1.2 生长期气候条件

根据全国历史天气查询网站(<https://m.tianqi.com/lishi.html>)以及试验地设置的小型气象站,记录了南京地区2023年和2024年7—10月的天气情况(表1)。

### 1.3 材料的种植

供试材料于2023年5月播种,6月移栽,按照江苏水稻生产标准,株行距27 cm×13 cm,每666.7 m<sup>2</sup>栽插2×10<sup>4</sup>穴,每穴单苗。每666.7 m<sup>2</sup>施用N、P、K含量均为15%的复合肥25.0 kg作基肥,移栽后第7天和15天,每666.7 m<sup>2</sup>分别施用尿素12.5 kg和10.0 kg作分蘖肥,其余管理与大田生产相同<sup>[8]</sup>(2024年播种、移栽时间、种植规格和施肥标准与2023年基本一致)。

表 1 江苏省南京市 2023—2024 年 7—10 月天气情况

Tab.1 The weather conditions during July–October 2023–2024 in Nanjing, Jiangsu Province

年份 Year	月份 Month	平均高温/°C Average high temperature	平均低温/°C Average low temperature	总降雨量/mm Total rainfall	降雨天数/d Rainfall days
2023	7月	31.84	25.97	201.40	24
	8月	32.13	24.65	122.00	10
	9月	28.03	21.67	95.50	13
	10月	23.61	14.55	56.00	3
2024	7月	33.35	27.13	166.40	8
	8月	35.58	27.74	66.70	4
	9月	30.73	23.70	110.80	12
	10月	21.32	14.90	88.30	5

平均高温指的是一个月內逐日最高温度的平均值,平均低温指的是一个月內逐日最低温度的平均值。

The average high temperature refers to the mean of daily maximum temperatures over a month, while the average low temperature refers to the mean of daily minimum temperatures over the same period.

#### 1.4 水稻取样

选取了 16 种不同类型的试验材料(试验品种信息见表 2)用于优化方法的试验。在每个材料取开花当天的单穗挂牌,在花后 20 d 取 4~5 个单穗,每隔 5 d 依次取样,直至开花后 50 d。离体穗立即放在塑料袋内保湿,在室内开展人工整穗发芽试验。

表 2 用于穗发芽试验取样时间的试验品系

Tab.2 Experimental rice lines for optimizing sampling time for pre-harvesting sprouting test

品系编号 Rice strain number	品系名称/亚型 Rice strain name/Subspecies	始穗期 Initial heading stage	品系编号 Rice strain number	品系名称/亚型 Rice strain name/Subspecies	始穗期 Initial heading stage
1	南粳 505(粳型)	8月9日	9	常 N1447(粳型)	8月28日
2	南粳 9108(粳型)	8月13日	10	苏香粳 2号(粳型)	8月30日
3	南粳 5718(粳型)	8月14日	11	Kasalath(籼型)	8月3日
4	9108//淮 5 快/NJ45HR(F9)(粳型)	8月16日	12	9311(籼型)	8月11日
5	苏垦 118(粳型)	8月17日	13	Basmati-1(籼型)	8月14日
6	淮稻 5号(粳型)	8月18日	14	盐恢 559(籼型)	8月16日
7	南粳 5055(粳型)	8月21日	15	内香恢 1号(籼型)	8月16日
8	嘉 33(粳型)	8月23日	16	R903(籼型)	8月24日

始穗期为 2024 年每个材料第一个主茎穗的开花日期。

The heading date is based on the flowering date of the first main stem panicle for each material in 2024.

#### 1.5 籽粒发芽试验

选取整穗中饱满且生长良好的籽粒剥离,采用 12 cm 直径的培养皿,每皿放 30 粒,放在人工气候箱(购自宁波赛福实验仪器有限公司;型号:PRX-1000)进行发芽试验,人工气候箱设置 30 °C/16 h/光照;25 °C/8 h/黑暗,95%湿度培养 5 d。以水稻种子胚根或胚芽露出≥1 mm 为发芽计数标准,每日记录发芽种子数,每个材料 4 个重复。计算发芽率(germination percentage)=发芽种子数/总籽粒数×100%。

#### 1.6 整穗发芽试验

放在塑料袋中离体整穗在第 1 天用无菌水浸泡 12 h 后,每隔 12 h 喷水保持湿润,保湿的稻穗放在人工气候箱(购自宁波赛福实验仪器有限公司;型号:PRX-1000)进行人工发芽试验,人工气候箱的参数设置与“1.5 籽粒发芽试验”中一致。每隔 2 天记录每穗的发芽籽粒数及总籽粒数,记录到第 8 天,并在取样的第 0 天和第 8 天拍照处理稻穗,记录整穗发芽状态,每个材料设置 4 个重复。参照前人<sup>[10]</sup>的方法计算发芽率(1)和发芽指数(2),如下:

$$\text{穗发芽率(germination percentage, GP)} = (\text{发芽的籽粒数} / \text{饱满籽粒总数}) \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{发芽指数(germination index, GI)} = \sum \left( \frac{g_i}{d_i} \right) \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: $g_t$ 是第 $t$ 天的发芽种子数; $d_t$ 是相对应的发芽天数。

### 1.7 大田穗发芽记录

在水稻材料成熟后(开花后50 d),田间观察不同材料的穗发芽表现,田间穗发芽的记录标准以无(0%)、有(>0~50%)和较多(>50%)等表示。

### 1.8 整穗相对含水量测定

每个材料均从穗下颈5 cm处剪取单穗,用保鲜袋包裹保湿,立即回室内用天平称取穗鲜重,随后将穗浸泡在清水中至恒重,再称取穗饱和鲜重,之后每株穗用锡箔纸包裹,放进烘箱,105 °C杀青30 min,再80 °C烘干至恒重,最后称取穗干重,计算整穗相对含水量:整穗相对含水量=(整穗鲜重-整穗干重)/(整穗饱和鲜重-整穗干重)×100%

### 1.9 数据处理与分析

采用SPSS 20.0软件进行聚类分析(K-Means聚类法以及系统聚类法)对批量筛选材料的人工处理不同时间的发芽率进行分析。采用RStudio Complex Heatmap安装包绘制聚类热图,采用GraphPad Prism 9分析和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻穗发芽抗性鉴定方法

#### 2.1.1 取样时间

水稻种子成熟度是影响其穗发芽的关键因素<sup>[22]</sup>,本试验选取16个水稻材料,分别在开花后20,25,30,35,40,45,50 d收取主茎穗,用整穗结合套袋保湿的穗发芽方法进行试验。图1显示,直到开花后30 d,在人工处理第8天发芽率仍然很低,未显现出品种间差异。而开花35 d,供试材料均呈现不同程度的发芽表现,且存在品种间差异(表3),而开花后40 d,不同材料之间发芽率差异缩小,易穗发芽类型已趋于100%。因此,开花后35 d取样更能体现不同水稻材料穗发芽特性的品种差异,本试验均以开花后35 d作为后续穗发芽试验的取穗时间。

#### 2.1.2 整穗相对含水量

水稻种子含水量与穗萌发关系密切<sup>[23]</sup>,开花后30 d,大部分品种籽粒的胚达到最小活化量,且种胚已成熟,是比较容易穗发芽的时期<sup>[24]</sup>。种子的含水量是活化量的重要指标,图2显示,随着开花后时间增加,供试材料整穗相对含水量呈现下降趋势,与取样时间呈显著负相关, $r=-0.838^*(P<0.05)$ ,其中籼型为 $-0.871^*(P<0.05)$ ,粳型为 $-0.860^*(P<0.05)$ 。结合表4,开花后35 d的平均含水量为27.2%,接近水稻籽粒萌发临界阈值(25%~28%),既能避免未成熟籽粒的萌发抑制(DAF<30时含水量>30%),又可防止过度脱水导致的休眠强化(DAF>40时含水量<26%)水分梯度响应,开花35 d以后,含水量的变异系数超过0.3,反映品种间的含水量差异逐渐凸显:结合本试验供试材料的发芽率表现,在开花后35 d取样的穗的相对含水量变化平缓,种子才更接近成熟,是水稻穗发芽抗性筛选更合适的取样时间。

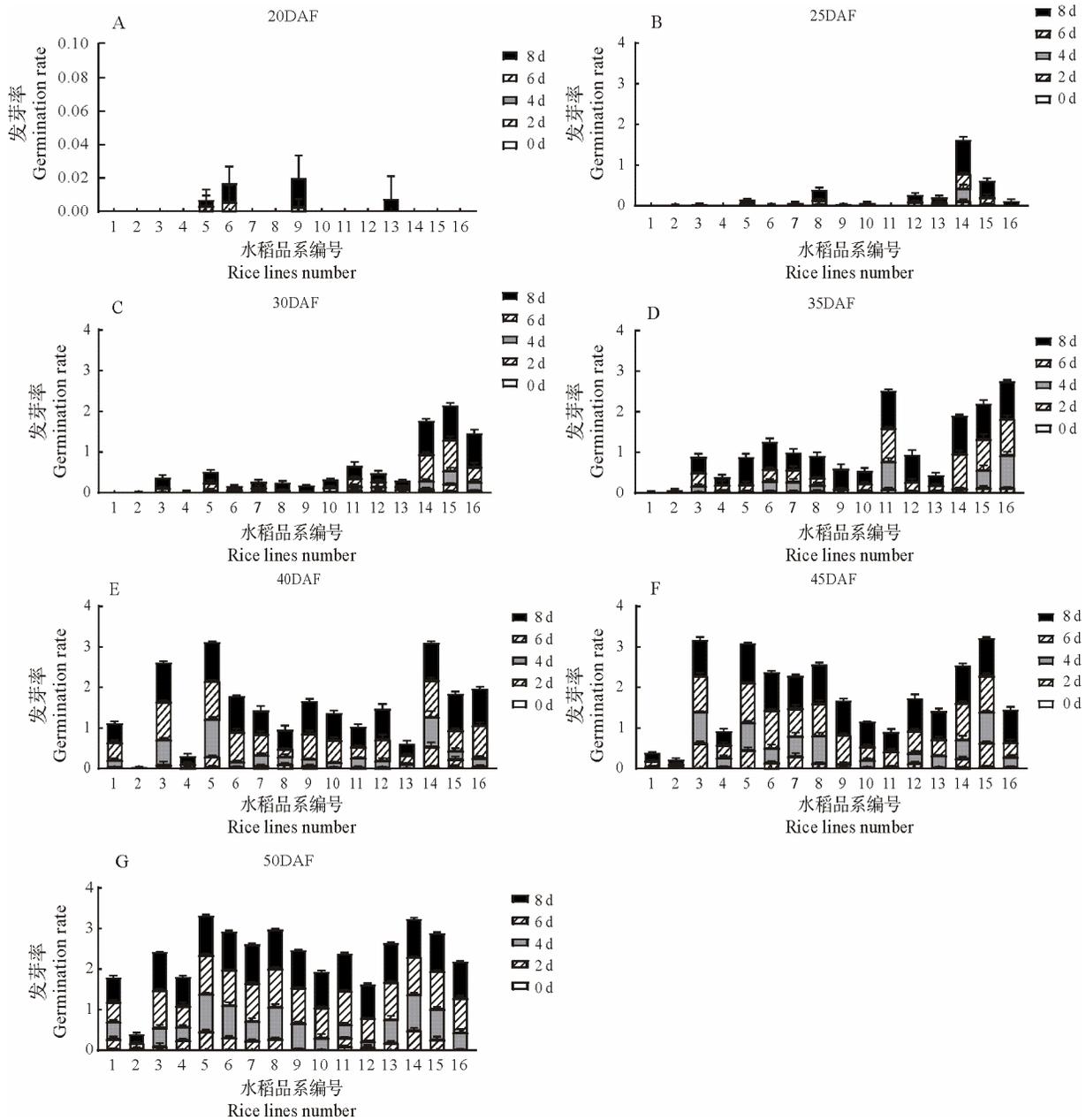
#### 2.1.3 穗发芽鉴定方法

整穗发芽法和籽粒发芽法均是作物穗发芽鉴定的常用方法,本试验选取5份供试材料,进一步分析在开花后35 d,两者的发芽表现。图3可见,不论是籽粒发芽法还是整穗发芽法,其发芽率在开花后35 d取样均呈现品种差异,而且趋势类似;相对于整穗发芽(第4天的平均发芽率为0.181),籽粒的发芽率(第2天的平均发芽率为0.182)出现得更早,且发芽率更高,推测可能籽粒剥离母体后,断开了穗轴-籽粒的生理连接,水分缺失,导致籽粒吸水更快,萌发快;与此同时,整穗发芽的发芽率整体比籽粒发芽的发芽率更低,且变异系数更大,能最大化呈现品种间穗发芽遗传差异(表5),结合整穗发芽法更方便取样,因此本试验选取整穗取材作为后续的穗发芽抗性批量筛选试验。

### 2.2 不同材料人工穗发芽抗性的批量筛选

#### 2.2.1 批量筛选材料的整体发芽表现

本试验分别在2023年和2024年,在室内人工条件下研究了360份水稻材料开花后35 d整穗的发芽表现(表6),结果显示供试材料2年的平均穗发芽率总趋势类似,即随处理天数的增加,平均发芽率均呈增加趋势,变异系数均逐渐下降。相比于2023年,2024年的穗发芽率增长更快;人工处理前4 d变异系



1:南粳505(粳型);2:南粳9108(粳型);3:南粳5718(粳型);4:9108//淮5快/NJ45HR(F9)(粳型);5:苏垦118(粳型);6:淮稻5号(粳型);7:南粳5055(粳型);8:嘉33(粳型);9:常N1447(粳型);10:苏香粳2号(粳型);11:Kasalath(籼型);12:9311(籼型);13:Basmati-1(籼型);14:盐恢559(籼型);15:内香恢1号(籼型);16:R903(籼型)。A~G表示取样时间:开花后20~50 d。

1:Nanjing 505 (*Japonica*); 2:Nanjing 9108 (*Japonica*); 3:Nanjing 5718 (*Japonica*); 4:9108//Huai5 Kuai/NJ45HR (F9) (*Japonica*); 5:Suken 118 (*Japonica*); 6:Huaidao 5 (*Japonica*); 7:Nanjing 5055 (*Japonica*); 8:Jia 33 (*Japonica*); 9:Chang N1447 (*Japonica*); 10:Suxiangjing2 (*Japonica*); 11:Kasalath (*Indica*); 12:9311 (*Indica*); 13:Basmati-1 (*Indica*); 14:Yanhui 559 (*Indica*); 15:Neixianghui 1 (*Indica*); 16:R903 (*Indica*). A-G represents sampling time: 20-50 days after flowering.

图1 开花后不同天数取样整穗的人工发芽表现

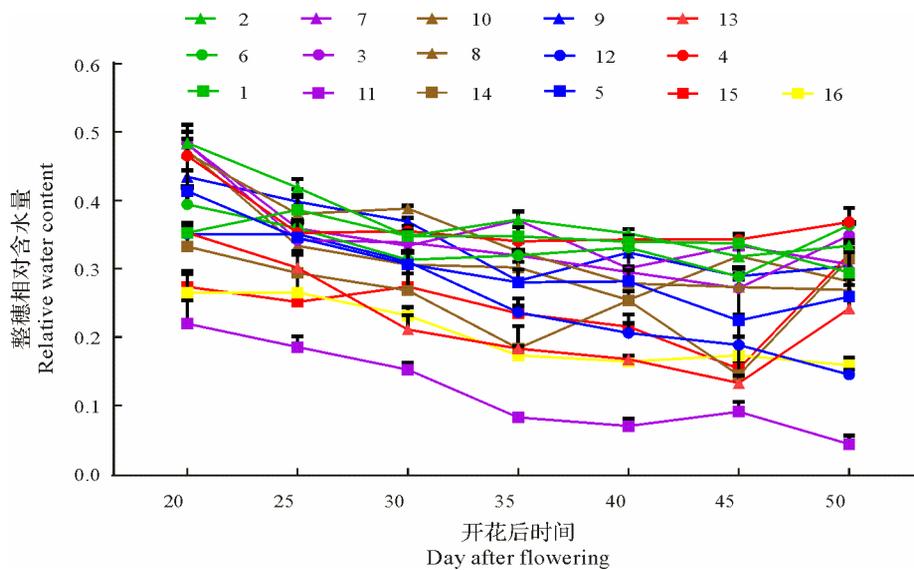
Fig.1 Artificial germination performance of whole spike samples collected at different days after flowering

数大于100%,说明各个品种间的穗发芽率离散程度较大,差异大;而处理第6天和处理第8天平均发芽率的变异系数均小于100%,离散程度较小,可见,随着处理时间延长,穗发芽率变化趋于稳定,品种间差异减小。图4A(2023年)和图4H(2024年)显示供试材料2年整体的发芽率呈连续的偏正态分布;人工处理下每日的穗发芽率呈现开始发芽的材料较少,随处理时间延长,发芽的材料增加,呈现品种差异,发芽指数[图4B(2023年);图4I(2024年)]与第4天的发芽率的分布趋势类似,提示第4天的发芽率也可反映发芽速率。

表 3 开花后不同天数取样整穗的人工发芽整体差异

Tab.3 Comparative analysis of artificial germination in whole panicles sampled at different days after flowering(DAF)

取样时间/d Sampling time	0 d		2 d		4 d		6 d		8 d	
	发芽率	变异								
	Germination rate	系数 CV								
20	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	4.000	0.002	2.935
25	0.000	0.000	0.008	3.669	0.029	2.672	0.0589	1.641	0.136	1.603
30	0.006	2.621	0.027	1.820	0.074	1.420	0.176	1.297	0.279	1.046
35	0.000	2.667	0.037	1.226	0.191	1.306	0.337	0.933	0.525	0.591
40	0.010	1.328	0.095	1.396	0.269	0.964	0.517	0.587	0.645	0.467
45	0.007	1.395	0.177	1.187	0.353	0.751	0.583	0.521	0.710	0.400
50	0.012	1.255	0.198	0.778	0.520	0.511	0.751	0.369	0.810	0.320



1:南粳 505(粳型);2:南粳 9108(粳型);3:南粳 5718(粳型);4:9108//淮 5 快/NJ45HR(F9)(粳型);5:苏垦 118(粳型);6:淮稻 5 号(粳型);7:南粳 5055(粳型);8:嘉 33(粳型);9:常 N1447(粳型);10:苏香粳 2 号(粳型);11:Kasalath(籼型);12:9311(籼型);13:Basmati-1(籼型);14:盐恢 559(籼型);15:内香恢 1 号(籼型);16:R903(籼型)。

1: Nanjing 505 (*Japonica*); 2: Nanjing 9108 (*Japonica*); 3: Nanjing 5718 (*Japonica*); 4: 9108//Huai5 Kuai/NJ45HR (F9) (*Japonica*); 5: Suken 118 (*Japonica*); 6: Huaidao 5 (*Japonica*); 7: Nanjing 5055 (*Japonica*); 8: Jia 33 (*Japonica*); 9: Chang N1447 (*Japonica*); 10: Suxiangjing2 (*Japonica*); 11: Kasalath (*Indica*); 12: 9311 (*Indica*); 13: Basmati-1 (*Indica*); 14: Yanhui 559 (*Indica*); 15: Neixianghui 1 (*Indica*); 16: R903 (*Indica*).

图 2 不同水稻材料在开花后不同天数取样整穗相对含水量的变化

Fig.2 Changes in relative water content of whole spike samples from different rice materials at various days after flowering

表 4 开花后不同天数取样整穗相对含水量整体差异

Tab.4 Comparative analysis of relative water content in whole panicles sampled at different days after flowering(DAF)

项目 Items	开花后 20 d 20 DAF	开花后 25 d 25 DAF	开花后 30 d 30 DAF	开花后 35 d 35 DAF	开花后 40 d 40 DAF	开花后 45 d 45 DAF	开花后 50 d 50 DAF
平均含水量 Average water content	0.376	0.333	0.303	0.272	0.261	0.242	0.272
标准差 SD	0.109	0.061	0.063	0.082	0.078	0.088	0.088
变异系数 CV	0.288	0.184	0.208	0.301	0.298	0.364	0.323

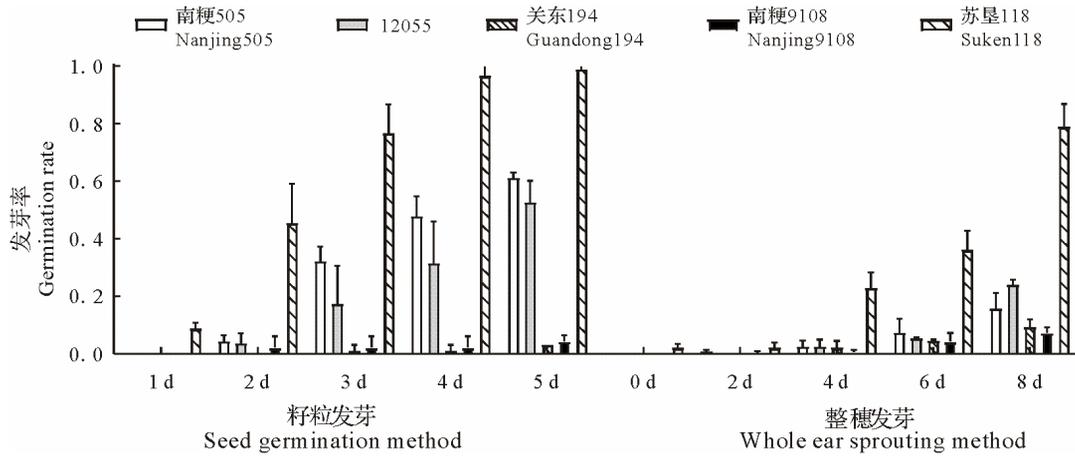


图3 籽粒发芽与整穗发芽试验的比较

Fig.3 Comparison between grain germination and whole spike germination tests

表5 籽粒发芽与整穗发芽试验的整体差异比较

Tab.5 Comparative analysis of grain germination vs.whole panicle germination tests

发芽方法 Germination method	培养天数 Germination days	平均值 Average	标准差 SD	变异系数 CV
籽粒萌发法 Grain germination	1 d	0.015	0.036	2.449
	2 d	0.182	0.244	1.338
	3 d	0.355	0.364	1.024
	4 d	0.462	0.433	0.939
	5 d	0.532	0.427	0.802
整穗发芽法 Whole spike germination	0 d	0.004	0.009	2.449
	2 d	0.041	0.084	2.027
	4 d	0.181	0.304	1.676
	6 d	0.231	0.308	1.331
	8 d	0.378	0.373	0.987

表6 2年整穗发芽试验下的穗发芽表现

Tab.6 Germination performance of whole spike under 2-year germination test

试验年份 Experimental year	穗发芽率 SGP	第0天 Day0	第2天 Day2	第4天 Day4	第6天 Day6	第8天 Day8	平均 Average
2023年	范围	0~0.157	0~0.538	0~0.851	0~0.940	0~0.978	0~0.693
	变异系数/%	316.39	165.47	101.69	79.32	68.27	85.01
2024年	范围	0~0.725	0~0.788	0.001~0.924	0.003~0.937	0.11~0.970	0.003~0.869
	变异系数/%	688.23	215.99	115.53	87.00	64.05	89.70

### 2.2.2 人工批量筛选穗发芽的聚类分析

进一步将360份水稻材料人工整穗发芽试验下0~8 d的平均穗发芽率进行系统聚类和K-均值聚类分析(度量标准为曼哈顿距离),以阈值10为聚类标准,将所有品系量化细分为3类(聚类1~3,表7);2023年聚类1有158份(占43.9%),聚类2有118份(占33.05%),聚类3有83份(占23.05%);2024年聚类1有179份(占49.72%),聚类2有121份(占33.61%),聚类3有60份(占16.67%);聚类1类型的材料,整穗发芽第8天的平均发芽率不超过50%,划分为高抗穗发芽类型,聚类3类型的材料第8天的平均发芽率超过70%,划分为易穗发芽类型,聚类2类型的材料穗发芽率介于聚类1和聚类3之间,划分为中抗穗发芽

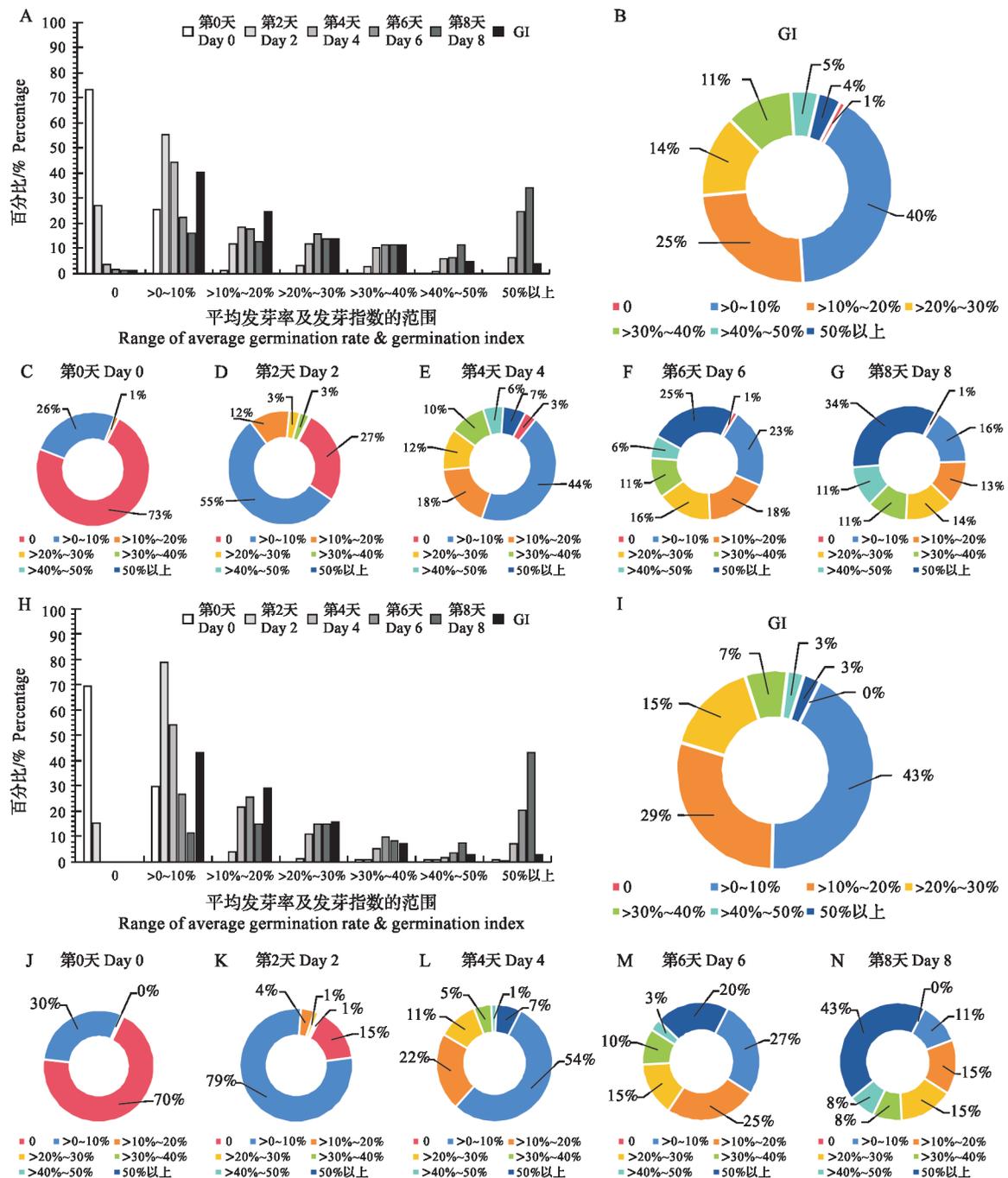


图4 2023及2024年人工筛选条件下的平均发芽率的分布

Fig.4 Distribution of average germination rates from artificial screening experiments in 2023 and 2024

类型。值得关注的是,两年间同一抗性类型的穗发芽率范围和变化趋势类似,整体而言,2024年的穗发芽率偏高,然而环形聚类热图(图5)进一步显示,2024年筛选出的高抗穗发芽材料更多,而易穗发芽材料偏少,人工处理第8天时,不同材料之间的穗发芽表型差异最为明显,具体见图6。从不同聚类的平均发芽率和发芽指数的箱线图(图7)可见,3个类型的穗发芽率和发芽指数的分布较为对称,高抗穗发芽品系整体0~8 d的发芽率均较低,且箱体较小,数据相对集中,离散程度小;易穗发芽类型前4天的发芽率差异较大,而到第6天和8天时,数据较集中。人工培养第4天以后,不同类型间的穗发芽率逐渐分散,尤其对于易穗发芽的水稻类型,提示该天的发芽率更有利于区分不同穗发芽类型,部分中高抗穗发芽材料第8天的发芽率进一步增加,与易穗发芽类型重叠,而第6天仍然与第4天的类似,只是导致一些高抗的发芽率增加。综上,整穗批量筛选发芽试验结果显示第4天更有利于区分出易穗发芽类型,而处理第6天则有利于区分高抗穗发芽类型。

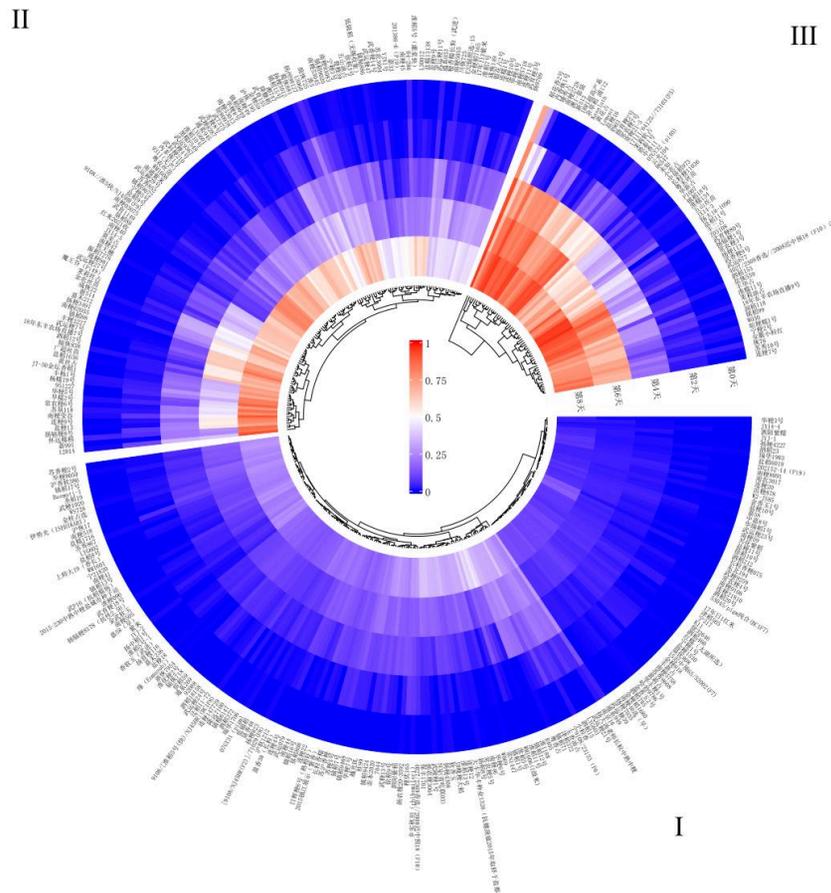
表 7 2 年整穗发芽试验下不同聚类的穗发芽表现

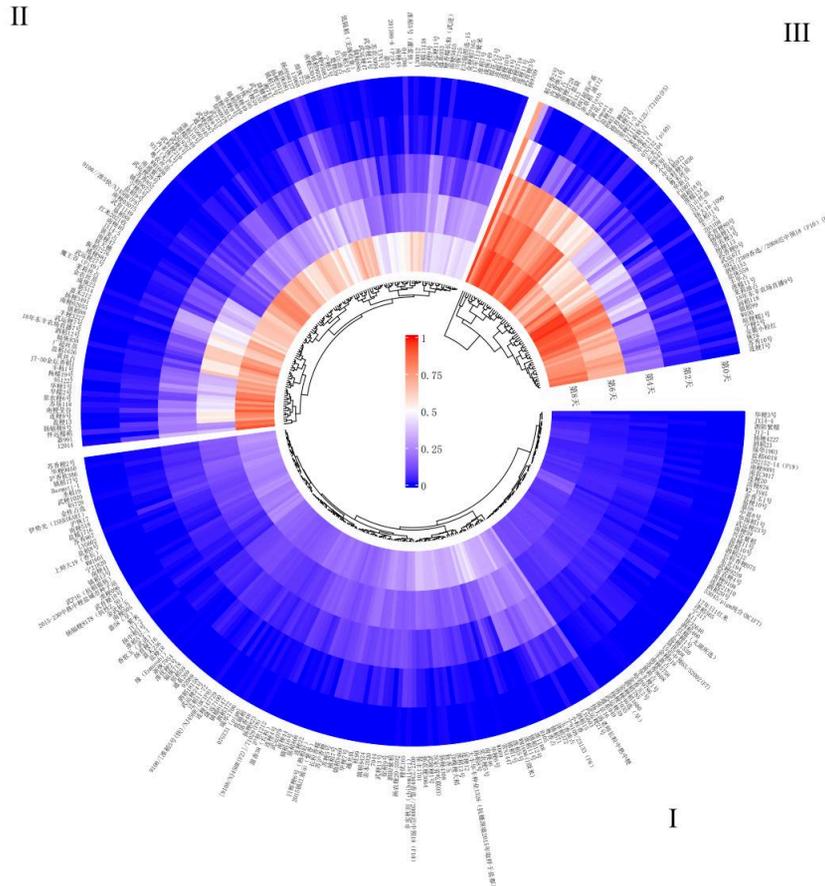
Tab.7 Germination performance of different clusters under 2-year whole spike germination tests

聚类 Cluster	试验年份 Year	聚类占比/% Percentage		SGP0	SGP2	SGP4	SGP6	SGP8	GI	抗性类型 Resistance type
1	2023 年	43.90	平均值	0.001	0.01	0.041	0.094	0.141	0.048	高抗穗发芽 类型
			范围	0~0.026	0~0.072	0~0.158	0~0.244	0~0.336	0~0.143	
			变异系数	3.418	1.521	0.927	0.722	0.655	0.712	
	2024 年	49.72	平均值	0.001	0.013	0.058	0.106	0.192	0.063	
			范围	0~0.031	0~0.129	0.01~0.261	0.003~0.295	0.011~0.456	0.005~0.22	
			变异系数	3.224	1.442	0.868	0.585	0.535	0.604	
2	2023 年	33.05	平均值	0.003	0.035	0.171	0.344	0.454	0.175	中抗穗发芽 类型
			范围	0~0.046	0~0.184	0.003~0.406	0.143~0.602	0.284~0.728	0.092~0.33	
			变异系数	2.548	1.211	0.517	0.288	0.221	0.298	
	2024 年	33.61	平均值	0.004	0.025	0.144	0.316	0.627	0.18	
			范围	0~0.054	0~0.227	0.012~0.343	0.063~0.65	0.368~0.919	0.085~0.313	
			变异系数	2.225	1.306	0.575	0.416	0.214	0.277	
3	2023 年	23.05	平均值	0.017	0.154	0.432	0.676	0.764	0.393	易穗发芽 类型
			范围	0~0.157	0~0.538	0.188~0.851	0.34~0.939	0.557~0.978	0.243~0.726	
			变异系数	1.838	0.772	0.347	0.187	0.129	0.265	
	2024 年	16.67	平均值	0.024	0.098	0.452	0.737	0.841	0.39	
			范围	0~0.725	0~0.788	0.094~0.924	0.52~0.937	0.633~0.97	0.249~0.9	
			变异系数	4.205	1.404	0.49	0.148	0.103	0.31	

聚类占比表示该试验年份下该聚类占整体试验材料的百分比;SGR 表示穗发芽率,SGR0~8 表示整穗发芽试验第 0~8 天的穗发芽率;GI 表示整穗发芽试验的发芽指数。

Cluster percentage: the percentage of the cluster in the overall experimental material for that year; SGR: Spike Germination Rate; SGR0-8: the spike germination rate from 0 to 8 day of the whole spike germination test; GI: the germination index of the whole ear germination test.



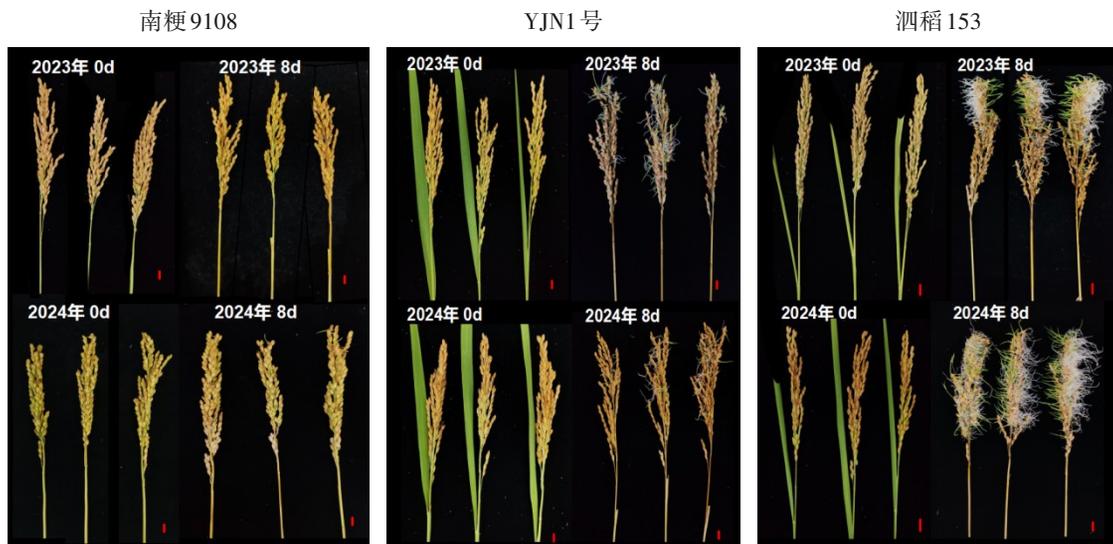


A: 2023年360份水稻材料的穗发芽抗性筛选试验聚类热图;B:2024年360份水稻材料的穗发芽抗性筛选试验聚类热图;外围罗马数字表示聚类I(高抗穗发芽类型)、II(穗发芽抗性中等类型)、III(易穗发芽类型);外围文字表示水稻品种名称;色阶条表示发芽率,蓝色至红色,发芽率增加。

A shows the clustering heatmap in 2023, B shows the clustering heatmap in 2024; I: High resistance to pre-harvest sprouting type, II: Moderate resistance to pre-harvest sprouting type, III: Easy pre-harvest sprouting type; The outer text indicates the name of rice variety; The color bar represents germination rate, blue to red, germination rate increased.

图5 360份水稻材料的穗发芽聚类分析

Fig.5 The clustering analysis of spike sprouting test on 360 rice materials



南粳9108:高抗穗发芽类型;YJN1号:穗发芽抗性中等类型;泗稻158:易穗发芽类型。  
Nanjing 9108: High resistance to pre-harvest sprouting type; YJN1: Moderate resistance to pre-harvest sprouting type;  
Sidao158: susceptible to pre-harvest sprouting type.

图6 不同穗发芽抗性水稻类型处理前后的发芽表型

Fig.6 Germination phenotype images of different spike germination resistance rice types before and after treatment

表 9 2 年整穗发芽试验结果与大田穗发芽一致的品系  
 Tab.9 Lines with consistent spike germination results between 2-year whole spike germination tests and field conditions

穗发芽抗性类型 Types of resistance to sprouting	材料名称 Rice name	发芽率/% Sprout germination rate			
		第 4 天		第 6 天	
		2023 年	2024 年	2023 年	2024 年
高抗穗发芽类型 Highly PHS-resis- tant style	JX14-4	0.00	0.00	0.00	2.10
	南粳 8891	0.00	0.33	0.33	2.32
	紫米	0.00	0.00	0.00	6.16
	嘉禾 236	0.00	1.54	1.54	9.68
	镇稻 12 号	0.00	0.00	0.00	15.75
	南粳 9108	0.23	0.93	0.93	3.36
	中嘉 8 号	0.29	1.09	1.09	2.52
	JYJ-1	0.33	0.33	0.33	1.56
	南农 3017	0.35	1.75	1.75	2.84
	镇稻 13 号	0.37	0.55	0.55	10.17
	南粳 46	0.65	10.58	10.58	15.00
	W069	0.79	6.31	6.31	16.60
	嘉 58	0.92	2.32	2.32	5.77
	W2-JS85	1.08	1.78	1.78	3.23
	镇稻 17 号	1.26	7.63	7.63	13.45
	JYJ-2	1.52	3.04	3.04	4.63
	202152-14	1.75	2.50	2.50	2.04
	瑞华 1903	1.94	21.28	21.28	1.37
	低镉稻	2.08	5.00	5.00	9.06
	武育粳 18 号	4.10	8.05	8.05	8.98
	75111/75108(F11) <sup>®</sup>	4.43	11.77	11.77	5.16
	南粳 46 选	4.93	12.04	12.04	5.34
	常农粳 5 号	5.09	24.38	24.38	18.20
	SCQ	5.44	18.62	18.62	17.74
	桂 99	6.01	7.17	7.17	19.93
	紫香稻	9.41	13.85	13.85	10.94
	扬粳 7035	12.69	21.49	21.49	5.20
宁 21820	13.15	17.14	17.14	12.66	
日辉粳 6 号	15.02	21.40	21.40	13.13	
范围		0.00~15.00		0.00~24.38	
平均值		3.21		8.00	
易穗发芽类型 PHS-susceptible style	Z03108	29.23	55.67	39.88	69.94
	盐粳 16	27.96	54.85	79.80	89.80
	盐稻 11 号	34.98	64.85	45.20	54.88
	皖粳糯 1 号	37.20	60.22	19.40	72.99
	07GY32	42.93	62.52	54.63	89.05
	润稻 118	28.45	66.04	19.41	64.89
	苏秀 10 号	43.06	76.46	19.99	68.63
	淮糯 134	69.10	79.97	40.77	65.31
	Lemont	65.53	84.83	76.60	87.51
	R6547	85.09	87.75	57.45	88.94
	淮糯 11 号	66.88	81.73	27.45	71.66
	云光 104	64.42	67.50	51.26	85.90
	范围		19.40~85.08		54.85~84.80
	平均值		46.94		73.00

不同小写字母表示不同试验时间下群体的显著性差异 ( $P < 0.05$ )。A~C 表示 2023 年高抗穗发芽品系、中抗穗发芽品系、易穗发芽品系；D~F 表示 2024 年高抗穗发芽品系、中抗穗发芽品系、易穗发芽品系；横坐标 SGR0~SGR8 (Spike Germination Rate, SGR) 表示 0~8 d 的整穗发芽率, GI 表示整体发芽指数。

Distinct lowercase letters denote significant differences ( $P < 0.05$ ) among populations across various experimental time points. A~C represent high, medium, and susceptible spike germination lines in the year 2023; D~F represent to high, medium, and susceptible spike germination lines in the year 2024. The abscissa, ranging from SGR0 to SGR8, represents the whole spike germination rate over a period of 0 to 8 days, and GI stands for the overall germination index.

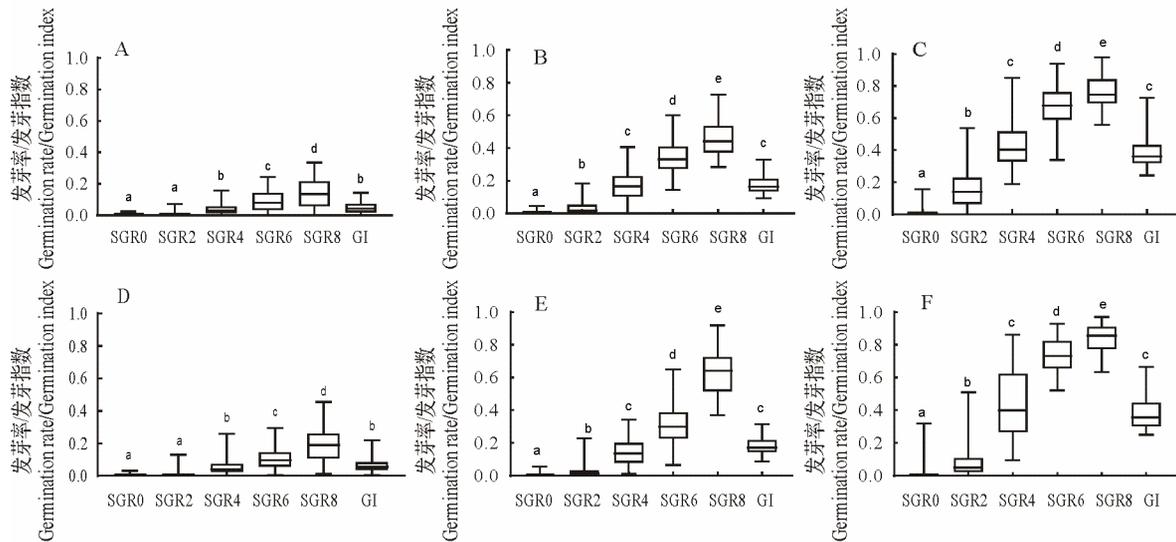
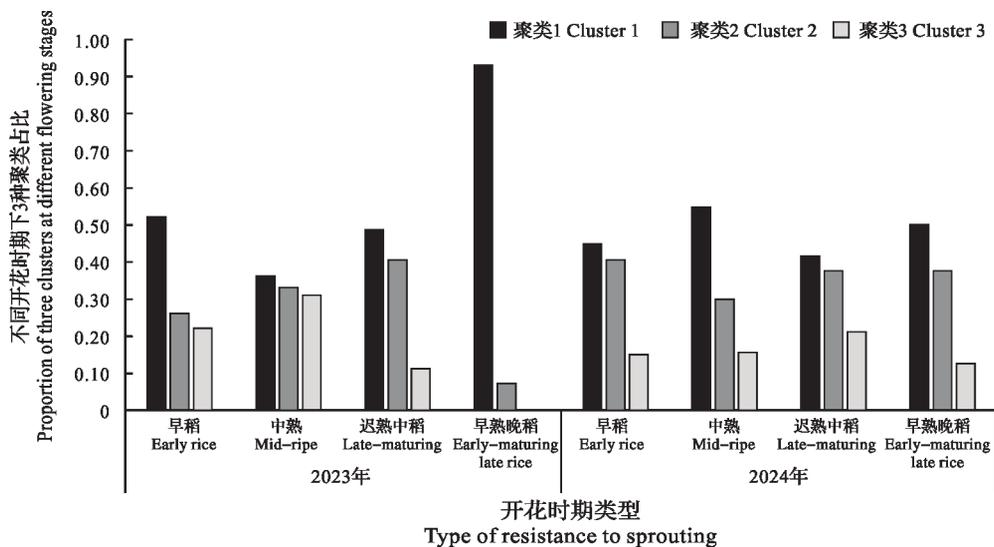


图7 不同穗发芽抗性类别的穗发芽率和发芽指数箱线分析

Fig.7 Boxplot of spike germination rate and germination index for different spike germination resistance classes

### 2.3 开花时间对不同水稻穗发芽抗性的影响

已有研究表明粳稻熟期对大田连体条件下水稻穗发芽有重要影响<sup>[25-26]</sup>,本试验进一步分析筛选材料的开花时间与人工整穗发芽抗性鉴定结果的关系,参照前人长江流域水稻熟期的划分<sup>[27]</sup>将筛选材料的开花日期分为8月5日前开花(早稻类型)、8月6日至8月15日开花(中熟类型)、8月16日至8月25日开花(迟熟中稻类型)以及8月26日之后开花(早熟晚稻类型)等4个类型。从图8可见,开花时间的早迟与筛选材料穗发芽抗性类型有密切关系,中熟类型在2023年易穗发芽类型中占比最大,其次为早稻类型,而2024年迟熟中稻类型占比最大,其次为中熟类型;2023年高抗穗发芽类型中早熟晚稻类型较多,而2024年则规律不明显。结合2年的筛选结果,在江苏南京地区8月25日之前开花的水稻较容易发生穗发芽,而8月25日之后开花的水稻不太容易发生穗发芽。从表8可见,相比于其它熟期,2023年中熟类型的水稻发芽率最高,且变异系数最低,而2024年中熟类型只在第6天的穗发芽率最高,到第8天时,迟熟中稻和早熟晚稻类型的发芽率最高;迟熟中稻及早熟晚稻类型的水稻平均发芽率均较低,属于高抗穗发芽类型。



聚类1为高抗穗发芽水稻类型;聚类2为中抗穗发芽水稻类型;聚类3为易穗发芽水稻类型。

Cluster 1: rice varieties with high resistance to PHS; Cluster 2: rice varieties with moderate resistance to PHS; Cluster 3: rice varieties susceptible to PHS.

图8 不同开花时期类型中水稻整穗发芽试验聚类结果的分布情况

Fig.8 Distribution of cluster results from whole spike germination tests with different flowering period types

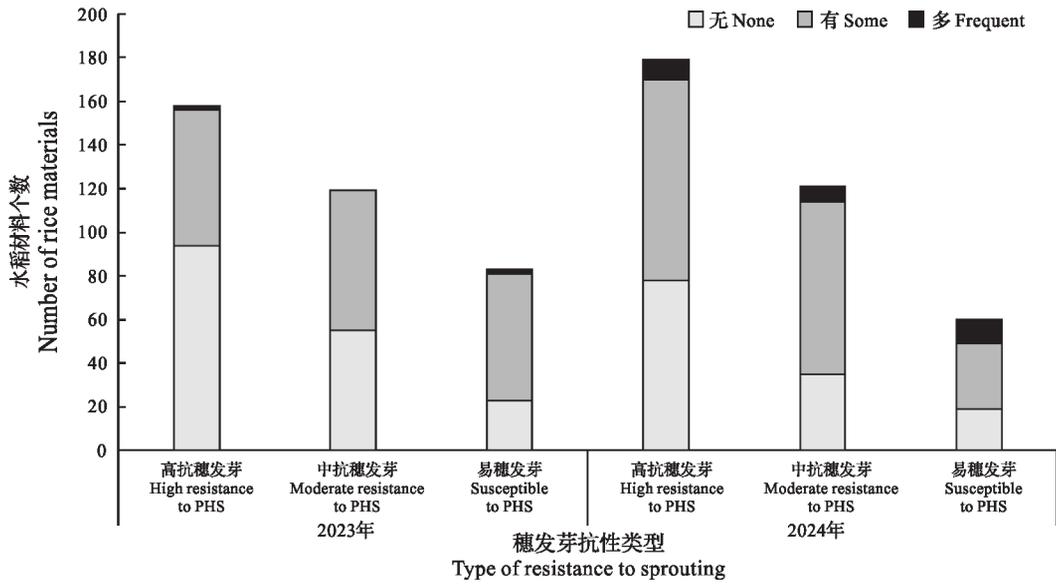
表 8 2 年试验下不同水稻材料开花时间与人工穗发芽表现的比较  
 Tab.8 Comparative analysis of flowering time and and sprouting performance  
 in test of different materials during 2 years

试验年份 Year	开花时间类型 Type of flowering period		第 0 天 Day0	第 2 天 Day2	第 4 天 Day4	第 6 天 Day6	第 8 天 Day8
2023	早稻	平均值	0.007	0.055	0.184	0.264	0.349
		范围	0~0.126	0~0.384	0.002~0.851	0.009~0.899	0.009~0.903
		变异系数	3.043	1.727	1.114	0.966	0.839
	中熟	平均值	0.007	0.069	0.215	0.360	0.432
		范围	0~0.157	0~0.538	0~0.837	0~0.929	0~0.978
		变异系数	2.652	1.406	0.856	0.687	0.610
	迟熟中稻	平均值	0.001	0.022	0.112	0.271	0.360
		范围	0~0.035	0~0.184	0~0.631	0.003~0.939	0.007~0.939
		变异系数	3.869	1.752	1.110	0.794	0.638
	早熟晚稻	平均值	0.001	0.006	0.020	0.047	0.091
		范围	0~0.004	0~0.023	0~0.053	0~0.143	0~0.508
		变异系数	3.742	1.700	1.408	1.418	1.587
2024	早稻	平均值	0.019	0.067	0.279	0.399	0.512
		范围	0~0.725	0~0.788	0~0.924	0~0.937	0~0.958
		变异系数	5.670	1.810	0.944	0.755	0.601
	中熟	平均值	0.003	0.032	0.129	0.274	0.407
		范围	0~0.041	0~0.470	0.001~0.798	0.002~0.898	0.01~0.953
		变异系数	2.854	1.767	1.134	0.862	0.702
	迟熟中稻	平均值	0.006	0.019	0.146	0.251	0.467
		范围	0~0.317	0~0.510	0.002~0.770	0.013~0.826	0.016~0.969
		变异系数	4.610	2.739	1.096	0.894	0.601
	早熟晚稻	平均值	0.000	0.020	0.094	0.266	0.471
		范围	0~0.001	0~0.125	0.006~0.513	0.058~0.901	0.165~0.929
		变异系数	4.899	1.445	1.253	0.888	0.522

#### 2.4 人工穗发芽批量筛选与大田连体穗发芽表现的比较

为了进一步验证本文批量筛选水稻穗发芽抗性结果的有效性,将 2 年人工批量筛选的结果与其田间表现进行比较(图 9),供试材料在大田下均有不同程度穗发芽发生。简言之,本文筛选鉴定的高抗穗发芽类型在田间发芽率较低,而易穗发芽类型则更容易在田间发生穗发芽,其中 2023 年大田条件下观察到穗发芽材料为 188 份,占比 52.22%,而 2024 年为 228 份,占比 63.33%,2023 年大田条件不发生穗发芽的为 172 份,占比 47.78%,2024 年为 132 份,占比 36.67%,中抗类型的供试材料受外界影响更大。可见,水稻材料在田间穗发芽发生是非常复杂的,不仅与熟期以及内在生理状态等因素有关,外在环境的差异也会诱发水稻穗发芽。

为了更好校准本文人工水稻穗发芽批量筛选的级别,进一步分析 2 年中人工批量筛选级别与田间穗发芽表现一致的 41 份材料(29 份高抗穗发芽类型和 12 份易穗发芽类型)的人工批量筛选的发芽率(表 9),从 2 年的整穗发芽试验第 4 天和 6 天的平均穗发芽率来看,高抗穗发芽材料第 4 天平均发芽率均<15%,第 6 天的发芽率均<25%,而易穗发芽类型第 4 天的均>30%,第 6 天的均>50%,可作为人工水稻穗发芽抗性批量筛选的定级范围。结合 360 份水稻材料的穗发芽抗性筛选聚类结果,发现与以上总结的鉴定标准的匹配度高达 85% 以上,因此进一步优化水稻穗发芽抗性批量筛选的分级量化标准(表 10),可以较为便捷且有效的区分不同水稻材料的穗发芽抗性级别。



上标表示大田穗发芽情况：“无”表示穗发芽情况概率为0%；“有”表示穗发芽情况概率为0~50%；“多”表示穗发芽情况概率大于50%。

Superscripts denote the sprouting status of panicles under field conditions: “None” indicates 0% probability of sprouting; “Some” indicates a sprouting probability between 0% and 50%; and “Frequent” indicates a sprouting probability exceeding 50%.

图9 大田穗发芽表现与穗发芽人工抗性鉴定聚类结果比较

Fig.9 Comparison of sprouting performance in field and sprouting resistance identification results in test

表10 优化后的水稻穗发芽抗性鉴定标准

Tab.10 Optimized evaluation criteria for pre-harvest sprouting resistance in rice

穗发芽抗性类型 Types of resistance to sprouting	平均发芽率/% Average germination rate of spikes	
	高抗穗发芽类型	易穗发芽类型
整穗发芽试验4天 Day 4 of experiment	<15	>20
整穗发芽试验6天 Day 4 of experiment	<25	>50
2023年匹配度/% Matching Percentage in 2023	98.10	87.96
2024年匹配度/% Matching Percentage in 2024	92.74	100

### 3 讨论与结论

经过长期的驯化,栽培水稻适应于人类需求,拥有了更加迅速和整齐的萌发特性,同时人工选择也导致了种子休眠逐渐减少或丧失,成为影响水稻产量和品质的严重问题<sup>[28]</sup>。水稻穗发芽是一个复杂的数量性状,快速准确批量筛选水稻穗发芽抗性品种成为解决水稻 PHS 问题的前提和基础<sup>[29]</sup>。本研究参考李玉营等<sup>[16]</sup>提出的小麦穗发芽筛选方法(整穗发芽法和籽粒发芽法),以及小麦穗发芽标准<sup>[30]</sup>,选取了16份试验水稻品系(覆盖籼亚种和粳亚种,且不同熟期的国内外的材料)进行水稻穗发芽筛选方法的优化,通过对籽粒发芽试验的比较,发现塑料袋保湿结合整穗平铺发芽法不仅有效区分不同水稻品系间的穗发芽抗性差异,而且取样简便。并用360份水稻材料进行进一步验证,结合聚类分析方法,将筛选水稻材料按照穗发芽率变化,分为高抗穗发芽类型、中抗穗发芽类型和易穗发芽类型3种类型,并结合了2年同期的田间穗发芽表现,精确量化了不同水稻穗发芽抗性类型的发芽率范围区间,建立了水稻生产上可用的穗发芽抗性批量筛选方法和分级标准。

调控种子休眠对于防控水稻穗发芽具有重要意义<sup>[31]</sup>,同时水稻种子的成熟程度同样也影响其穗发

芽抗性表现,即当种子无休眠时,种子的成熟度与发芽率呈极显著正相关,即种子的成熟度越高,发芽能力越强<sup>[32]</sup>,而当种子有休眠时,种子的发芽能力主要与休眠性相关,即休眠性越弱越容易穗发芽。已有研究表明,杂交水稻种子在授粉17~27 d已经具备发芽能力,易发生穗萌<sup>[6]</sup>,且穗发芽率与抽穗后天数呈正相关<sup>[8]</sup>,但却没有研究比较不同开花时间取样对水稻穗发芽抗性的影响。因而,本研究通过比对供试材料开花后20~50 d取样,在相同条件下人工整穗发芽试验的发芽率变化,论证了在水稻开花后35 d取样,种子均已成熟,且整穗相对含水量趋于稳定,该时间节点既能规避籽粒生理未成熟导致的萌发抑制,又可避免休眠性衰减造成的抗性差异弱化<sup>[31-32]</sup>,而且不同水稻品种的穗发芽率差异也更为显著,更有利于区分不同品种间穗发芽抗性差异。相较于籽粒发芽法,整穗发芽法取样保持了籽粒在穗轴上,既有利于籽粒持续获得母体水分供给,又能更真实反映穗发芽抗性水平<sup>[15]</sup>。随后的批量筛选试验在相同的开花后天数取穗,减少了种子成熟度的差异,更有利于在人工气候箱内进行催芽以激发其内在遗传潜能,水稻穗发芽抗性的类型鉴定更准确。

水稻批量筛选是解析水稻穗发芽发生机制的基础性研究。本研究结果表明:通过对360份水稻材料进行穗发芽抗性鉴定试验,用聚类分析的方法对不同处理天数下的穗发芽率变化进行了分类和定性,并结合田间的穗发芽情况总结出了水稻穗发芽批量筛选的分级标准,建立起水稻生产上可用的穗发芽抗性批量筛选方法和分级标准,可以有效兼顾供试材料的内在特性与外界环境对水稻穗发芽抗性的影响,既可靠又简单可行,方便在水稻生产中应用。需要指出的是,对于水稻穗发芽抗性批量筛选来说,记录不同天数发芽率的工作量较大且耗时,为了简化试验方法,本研究分析发现人工处理第4天可以较早区分易穗发芽水稻类型,而第6天可以区分高抗穗发芽类型,进一步结合第4天和第6天的平均发芽率,即可通过发芽的快慢和发芽率的高低区分不同抗性类型,从而量化并简化不同水稻穗发芽抗性级别鉴定方法。需要注意的是,利用本研究建立的筛选方法对于高抗和易感类型界定较为明确,不同年份间鉴定级别稳定,而对于中抗穗发芽类型,鉴定级别年间变异较大。水稻穗发芽不仅受遗传和生理因素调控,更容易受到环境影响,而大批量的水稻种植生产中环境因素无法调控,为水稻穗发芽抗性筛选带来了极大的困难,因而高效且科学准确的水稻穗发芽批量筛选方法,还需更多全面的筛选来验证。

水稻的熟期也是影响水稻穗发芽发生的重要因素<sup>[21]</sup>。前人通过考察田间连体水稻穗发芽表现,认为江苏南京地区中熟中梗的平均穗发芽率最高,晚梗最低,迟熟中梗居中<sup>[8]</sup>。本研究结果也同样显示,南京地区种植的中熟组的水稻平均穗发芽率最高,易穗发芽类型占比最大;晚熟组的平均穗发芽率最低,高抗穗发芽类型占比最大。值得关注的是,早熟组和迟中熟组的穗发芽级别介于上述两类型之间,抗性级别变动较大,且与田间表现的差异也较大,这可能是因为,这2个熟期的水稻成熟后不易遭遇高温高湿的外在气象条件。可见,水稻穗发芽的发生是内外因素共同作用的结果,针对于穗发芽抗性中间类型的材料,其筛选方法还需进一步优化。

在水稻开花后35 d取整穗,用整穗套袋保湿发芽法,在人工条件下(30 °C/16 h光照,25 °C/8 h黑暗,95%湿度)进行发芽试验,统计整穗发芽试验第4天和第6天的平均发芽率数据即可将水稻耐穗发芽区分为高抗穗发芽类型(第4天平均发芽率<15%且第6天平均发芽率<25%)和易穗发芽类型(第4天平均发芽率>20%且第6天平均发芽率>50%),可以作为水稻生产上可用的穗发芽抗性批量筛选方法。

致谢:生物育种钟山实验室(BM2022008-03,ZSBBL-KY2023-01,ZSBBL-KY2003-06-1-2,ZSBBL-KY2024-01)同时对本研究给予了资助,谨致谢意!

## 参考文献 References:

- [1] 林鑫焱,张传忠,戴兵,等.水稻穗发芽遗传与分子机制的研究进展[J].生物技术通报,2024,40(1):24-31.  
LIN X Y,ZHANG C Z,DAI B,et al.Advances in genetic and molecular mechanisms of pre-harvest sprouting in rice[J].Biotechnology bulletin,2024,40(1):24-31.
- [2] 裘实,卫平洋,魏海燕,等.穗发芽程度对粳稻米品质和蛋白质组分的影响[J].江苏农业学报,2019,35(3):523-530.  
QIU S,WEI P Y,WEI H Y,et al.Effect of pre-harvest sprouting on quality and protein components of Japonica rice[J].Jiangsu journal of agricultural sciences,2019,35(3):523-530.

- [3] ZHAO B, ZHANG H, CHEN T X, et al. *Sdr4* dominates pre-harvest sprouting and facilitates adaptation to local climatic condition in Asian cultivated rice[J]. Journal of integrative plant biology, 2022, 64(6): 1246-1263.
- [4] LEE H, CHOI M, HWANG W, et al. Occurrence of rice pre-harvest sprouting varies greatly depending on past weather conditions during grain filling[J]. Field crops research, 2020, 36: 264-272.
- [5] DU L, XU F, FANG J, et al. Endosperm sugar accumulation caused by mutation of *PHS8/ISA1* leads to pre-harvest sprouting in rice[J]. Plant journal, 2018, 95: 545-556.
- [6] 贾舒涵, 何璨, 陈敏, 等. 杂交水稻不同穗萌程度种子质量差异与穗萌分级研究[J]. 作物学报, 2024, 50(9): 2310-2322.
- JIA S H, HE C, CHEN M, et al. Study on the quality differences of seeds with different pre-harvest sprouting levels and the grading of pre-harvest sprouting in hybrid rice[J]. Acta agronomica Sinica, 2024, 50(9): 2310-2322.
- [7] 宋松泉, 唐翠芳, 雷华平, 等. 种子休眠与萌发调控的研究进展[J]. 作物学报, 2024, 50(1): 1-15.
- SONG S Q, TANG C F, LEI H P, et al. Research progress of seed dormancy and germination regulation[J]. Acta agronomica Sinica, 2024, 50(1): 1-15.
- [8] 赵庆勇, 陈涛, 赵春芳, 等. 粳稻穗发芽的品种(系)间差异及其影响因素分析[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(3): 481-486.
- ZHAO Q Y, CHEN T, ZHAO C F, et al. Varietal difference of pre-harvest sprouting and its influencing factors in rice[J]. Jiangsu journal of agricultural sciences, 2017, 33(3): 481-486.
- [9] LEE C M, PARK H S, BAEK M K, et al. QTL mapping and improvement of pre-harvest sprouting resistance using *japonica* weedy rice[J]. Frontiers in plant science, 2023, 43(5): 281-288.
- [10] 楼坚锋, 姚丹青, 陈银华, 等. 不同粳稻品种穗发芽抗性及其鉴定方法初探[J]. 上海农业学报, 2013, 29(5): 119-121.
- LOU J F, YAO D Q, CHEN Y H, et al. Preliminary study on viviparity resistances of different keng rice varieties and their resistance characterization[J]. Acta agriculturae Shanghai, 2013, 29(5): 119-121.
- [11] 颜见恩, 胡泽生, 宋富根, 等. 早籼稻穗发芽对粮食生产的影响及防治措施[J]. 江西农业学报, 2005(4): 84-85.
- YAN J E, HU Z S, SONG F G, et al. The impact of early indica rice panicle germination on grain production and its prevention and control measures[J]. Acta agriculturae Jiangxi, 2005(4): 84-85.
- [12] 管玉圣, 欧阳杰, 郭爽, 等. 水稻穗发芽的温度效应及抗性种质筛选[J]. 南方农业, 2018, 12(31): 32-34.
- GUAN Y S, OU Y J, GUO S, et al. Temperature effect on rice panicle germination and screening of resistant germplasm[J]. South China agriculture, 2018, 12(31): 32-34.
- [13] 廖泳祥. 水稻穗发芽抗性鉴定方法筛选、生理学研究及配合力分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.
- LIAO Y X. Studies on screening of identification method physiological characteristics and combining ability analysis of pre-harvest sprouting tolerance in rice[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2009.
- [14] 胡伟民, 马华升, 樊龙江, 等. 杂交水稻制种不育系穗上发芽特性[J]. 作物学报, 2003, 29(3): 441-446.
- HU W M, MA H S, FAN L J, et al. Characteristics of pre-harvest sprouting in sterile lines in hybrid rice seeds production[J]. Acta agronomica Sinica, 2003, 29(3): 441-446.
- [15] 朱小品, 徐婷婷, 孟珊, 等. 水稻穗发芽鉴定方法优化及穗发芽突变体筛选[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(17): 101-107.
- ZHU X P, XU T T, MENG S, et al. Optimization of evaluation methods for rice pre-harvest sprouting and screening of PHS-resistant mutants[J]. Jiangsu agricultural sciences, 2024, 52(17): 101-107.
- [16] 李玉营, 马东方, 王晓玲, 等. 小麦穗发芽鉴定方法的比较与分析[J]. 广西植物, 2016, 36(3): 261-266.
- LI Y Y, MA D F, WANG X L, et al. Comparison and analysis of wheat pre-harvest sprouting screening methods[J]. Guihai, 2016, 36(3): 261-266.
- [17] LIN G Q, YANG Y, CHEN X Y, et al. Effects of high temperature during two growth stages on caryopsis development and physicochemical properties of starch in rice[J]. International journal of biological macromolecules, 2020, 145: 301-310.
- [18] YAO D P, WU J, LUO Q H, et al. Influence of high natural field temperature during grain filling stage on the morphological structure and physicochemical properties of rice (*Oryza sativa* L.) starch[J]. Food chemistry, 2021, 310: 125-131.
- [19] ZHU D W, QIAN Z H, WEI H Y, et al. The effects of field pre-harvest sprouting on the morphological structure and physicochemical properties of rice (*Oryza sativa* L.) starch[J]. Food chemistry, 2019, 278: 10-16.
- [20] 倪万潮, 束红梅, 郭书巧, 等. 不同水稻品种种子萌发生理特性差异研究[J]. 中国农学通报, 2020, 36(2): 1-5.
- NI W C, SHU H M, GUO S Q, et al. Seed germination of rice cultivars: differences in physiological characteristics[J]. Chinese agricultural science bulletin, 2020, 36(2): 1-5.

- [21] 小麦抗穗发芽性检测方法:NY/T1739—2009[S].北京:中国标准出版社,2009.  
Determination of pre-harvest sprouting in wheat:NY/T1739—2009[S].Beijing:Standards Press of China,2009.
- [22] DOU Z, ZHANG H X, CHEN W Z, et al. Grain-filling of superior spikelets and inferior spikelets for japonica rice under low-amplitude warm-ing regime in lower reaches of Yangtze River Basin[J]. Journal of agricultural science, 2021, 159(1/2): 59-68.
- [23] 王岩,陈爱国,崔晓光,等.不同含水量对水稻种子活力及抗氧化系统的影响[J].辽宁农业科学,2019(6):40-43.  
WANG Y, CHEN A G, CUI X G, et al. Effects of different water contents on seed vigor and antioxidant system in rice[J]. Liaoning agricultural sciences, 2019(6):40-43.
- [24] 张琪,贾俊婷,张爱霞,等.水稻穗发芽研究进展[J].广东农业科学,2022,49(11):128-137.  
ZHANG Q, JIA J T, ZHANG A X, et al. Research progress in pre-harvest sprouting of rice[J]. Guangdong agricultural science, 2022, 49(11):128-137.
- [25] DU W, CHENG J, CHENG Y, et al. Physiological characteristics and related gene expression of after ripening on seed dormancy release in rice.[J]. Plant biology, 2015, 17(6): 1156-1164.
- [26] 董袁袁,徐恒,张华,等.水稻种子成熟后期高湿环境下种子休眠相关基因的表达[J].浙江农业学报,2022,34(6):1103-1113.  
DONG Y Y, XU H, ZHANG H, et al. Dynamic profile of genes related to seed dormancy under high humidity condition during late stage of rice grain filling[J]. Acta agriculturae Zhejiangensis, 2022, 34(6):1103-1113.
- [27] 吴光南.中国水稻品种对光照长度反应特性的研究:II品种在短光照下的生育期及在不同长度光照下产量构成因素的变化[J].作物学报,1963(2):147-160.  
WU G N. Studies on the photoperiodic responses of rice varieties native to China: II length of vegetative growth of rice varieties under short-day conditions and variation of yield components under different day-length [J]. Acta agronomica Sinica, 1963(2):147-160.
- [28] 余木兰,唐宁,夏玉梅,等.水稻穗萌机制及调控的研究进展[J].杂交水稻,2020,35(5):1-6.  
YU M L, TANG N, XIA Y M, et al. Research progress on the mechanism and regulation of rice pre-harvest sprouting[J]. Hybrid rice, 2020, 35(5):1-6.
- [29] 张会杰.水稻耐穗发芽种质资源鉴定及耐穗发芽性状的QTL定位[D].金华:浙江师范大学,2018.  
ZHANG H J. The evaluation and QTL mapping for pre-harvest sprouting tolerance in rice germplasm [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2018.
- [30] 高东尧,许纪发,李臻,等.小麦穗发芽研究进展[J].湖南农业科学,2024(11):107-112.  
GAO D Y, XU J F, LI Z, et al. Research progress in pre-harvest sprouting of wheat [J]. Hunan agricultural sciences, 2024(11):107-112.
- [31] 张静,林泽川,曹立勇,等.水稻种子穗发芽与休眠性遗传研究进展[J].核农学报,2013,27(8):1136-1142.  
ZHANG J, LIN Z C, CAO L Y, et al. Genetic research progress on pre-harvest sprouting and dormancy rice [J]. Journal of nuclear agricultural Sciences, 2013, 27(8):1136-1142.
- [32] NEE G, XIANG Y, SOPPE W J J. The release of dormancy, a wake-up call for seeds to germinate [J]. Current opinion plant biology, 2017, 35:8-14.