


杂交水稻种子安全 技术体系研究与应用

Zajiao Shuidao Zhongzi Anquan
Jishu Tixi Yanjiu yu Yingyong

田全国 李稳香 等 著

 中国农业出版社

杂交水稻种子安全技术 体系研究与应用

田全国 李稳香 等 著



中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

杂交水稻种子安全技术体系研究与应用/田全国等著.
北京: 中国农业出版社, 2008. 5
ISBN 978-7-109-12645-9

I. 杂… II. 田… III. 水稻—杂交育种—研究 IV.
S511.035.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 063416 号

中国农业出版社出版
(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)
(邮政编码 100125)
责任编辑 段丽君

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行
2008 年 5 月第 1 版 2008 年 5 月北京第 1 次印刷

开本: 850mm×1168mm 1/32 印张: 7.25

字数: 180 千字 印数: 1~1 200 册

定价: 20.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

序

国以农为本，农以种为先。种子既是农业生产中最基本的生产资料，又是农业科技进步最重要的载体。“一粒种子可以改变一个世界”，种子产业在整个农业和农村经济发展过程中占有重要的战略地位。确保种子安全，对于保护农民利益、维护农业生产安全和农村社会秩序稳定，促进国民经济持续健康发展意义十分重大。

水稻是我国最主要的粮食作物之一。我国是世界上第一个成功研究和广泛种植杂交水稻的国家，杂交水稻面积已占全国水稻种植总面积的60%以上。抓好杂交水稻生产，对确保我国粮食安全具有重要意义。但随着杂交水稻种植面积不断扩大，推广品种数量的增加，生产上遇到的一个突出问题就是品种和种子安全性问题，特别是近年一些高产优质组合的推出，出现的品种种性问题、种子真实性和纯度问题、受异常气候影响问题较以往多，给农业生产和农民造成的损失相当严重。为认真解决杂交水稻生产实践中存在的这些安全性问题，湖南省种子管理站站长田全国高级农艺师、副站长李稳香推广研究员从当前杂交水稻生产实践出发，专门成立课题组，组织对影响杂交水稻生产安全的主要方面和环节进行了研究，建立了比较完整、科学、切实可行的技术体系，形成了《杂交水稻种子安全技术体系研究与应用》一书。该课题的研究和本书的出版发行，对于确保杂交水稻大田生产用种安全，促进农业生产和国民经济的发展，将具有重要指

导意义。

该书立足当前杂交水稻生产中存在的主要安全问题，着重介绍了杂交水稻组合抗高温与耐低温特性、抗稻瘟病特性、种子真实性与纯度 SSR 鉴定技术、种子纯度种植鉴定技术、种子裂颖特性的研究方法与研究成果，提出了许多有建设性的意见和若干学术观点，可供农业教学、科研单位、种子企业中从事杂交水稻品种选育、栽培、种子生产、检验工作的人员和广大师生学习和参考。

2006 年我提出了杂交水稻“种三产四丰产工程”构想，2007 年“种三产四”超级杂交稻已在湖南、四川等地广泛试验种植。这一工程将为进一步解决我国的粮食安全问题、节约土地资源提供有力保障。要使这一工程的目标得以实现，需要政府部门的重视和大力支持，需要农业科研机构、农业科技企业和广大科技工作者的积极参与。种子安全是“种三产四”超级杂交稻推广的重要基础，让我们共同努力，认真研究解决杂交水稻生产中存在的有关技术问题，为我国粮食和农业生产发展作出应有的贡献。

袁隆平
2008.12.11

目 录

序	袁隆平
第一章 概论	1
一、杂交水稻种子安全问题概述	1
(一) 杂交水稻受异常气候危害问题	1
(二) 杂交水稻受病虫危害问题	2
(三) 品种真实性和种子纯度问题	2
(四) 种子发芽率问题	2
二、杂交水稻耐高温与低温研究进展	3
(一) 低温对杂交水稻的影响	4
(二) 高温对杂交水稻的影响	8
(三) 问题与展望	10
三、水稻稻瘟病防治研究进展及应用前景	10
(一) 水稻稻瘟病基本概况	10
(二) 国内外研究现状和发展趋势	16
四、作物品种真实性及纯度室内鉴定研究进展	19
(一) 指纹图谱标记在作物品种鉴定中的研究进展	19
(二) 杂交水稻品种生化指纹图谱鉴定技术研究进展	31
五、品种真实性及种子纯度的种植鉴定技术 研究进展	34
六、杂交水稻细胞质雄性不育系及保持系种子裂颖 特性研究进展	36
(一) 种子裂颖现象	37

(二) 水稻颖花开闭机理	38
(三) 杂交水稻种子裂颖的原因和危害	39
(四) 裂颖的测定和分级方法	41
(五) 杂交水稻种子裂颖特性与外界因素的关系	42
(六) 水稻种子裂颖性的遗传	45
(七) 杂交水稻裂颖种子的种用价值	46
第二章 杂交中稻组合耐异常气温特性研究	48
一、引言	48
二、材料与方法	49
(一) 试验材料	49
(二) 试验方法	49
三、结果与分析	53
(一) 不同生态点的杂交中稻组合结实率表现	53
(二) 各生态点不同组合不同播期的结实率差异	55
(三) 气温对中稻组合结实率的影响	62
(四) 父本品种结实率对组合结实率的影响以及 与气温的相关性	64
(五) 高温条件下杂交中稻生理生化特性的变化	68
四、讨论与结论	94
(一) 杂交中稻组合在不同生态区种植的安全性	94
(二) 杂交中稻组合的适宜播种时期	95
(三) 抽穗扬花时气温对杂交中稻组合结实率的影响	95
(四) 父本对杂交中稻组合结实率的影响	96
(五) 高温条件下杂交中稻组合结实率与生理 生化指标的关系	96
第三章 杂交晚稻耐低温特性研究	98
一、引言	98

二、材料与方法	98
(一) 试验材料	98
(二) 试验方法	99
三、结果与分析	100
(一) 不同生态点杂交晚稻组合的结实率表现	100
(二) 不同生态点不同组合不同播期的结实率差异	101
四、讨论与结论	109
(一) 杂交晚稻组合的适宜种植生态区	109
(二) 杂交晚稻组合的适宜播种时期	109
(三) 抽穗扬花时气温对杂交晚稻组合结实率的影响	110
第四章 水稻新品种稻瘟病鉴定技术与防治研究	111
一、引言	111
二、材料与方法	112
(一) 材料	112
(二) 鉴定方法	112
三、结果与分析	119
(一) 各抗感类别的份数和比率	119
(二) 中抗品种(组合)名录	119
(三) 各抗感品种间规律性	119
四、讨论与结论	120
(一) 苗叶瘟与穗颈瘟的发生与流行	120
(二) 抗病育种与稻瘟病防治	120
(三) 用常规的有性杂交和转基因技术相结合 导入抗性基因	121
(四) 加强对高感稻瘟病水稻品种的管理	121
第五章 杂交水稻种子纯度 SSR 鉴定技术研究	122
一、引言	122

二、材料与amp;方法	123
(一) 试验材料	123
(二) 试验方法	123
三、结果与分析	125
(一) 适用于杂交水稻种子纯度鉴定的 SSR 引物 筛选结果	125
(二) 纯度鉴定与人为掺杂验证结果	130
(三) 田间种植与室内鉴定的单株对应比较	133
四、讨论与amp;结论	134
(一) 杂交水稻种子纯度 SSR 鉴定技术的可靠性	134
(二) 杂交水稻种子纯度 SSR 鉴定技术的可行性	138
(三) 杂交水稻种子纯度 SSR 鉴定技术的实用性	140
第六章 杂交水稻种子纯度海南种植鉴定	
技术研究	141
一、引言	141
二、材料和amp;方法	142
(一) 试验材料	142
(二) 试验方法	142
三、结果与分析	142
(一) 不同播种时期各试验材料播始历期的变化	142
(二) 不同播种时期各试验材料株高的变化	144
(三) 不同播种时期各试验材料结实率的变化	145
(四) 不同播种时期各试验材料种子纯度 鉴定结果	147
四、讨论与amp;结论	148
(一) 海南种植鉴定的适宜播期	148
(二) 温光条件对鉴定结果的影响	149
(三) 种植鉴定的生产管理技术	149

(四) 海南种植鉴定结果的可靠性	150
第七章 杂交水稻细胞质雄性不育系及保持系	
种子裂颖特性研究	151
一、引言	151
二、材料与方法	152
(一) 试验材料	152
(二) 试验方法	153
三、结果与分析	156
(一) 细胞质雄性不育系及保持系种子裂颖现象	
的观察	156
(二) 细胞质雄性不育系及保持系种子裂颖特性	
与外界条件的关系	162
(三) 细胞质雄性不育系及保持系种子裂颖的生	
理生化特性	172
四、小结和讨论	176
(一) 细胞质雄性不育系及保持系种子裂颖现象的	
观察	176
(二) 细胞质雄性不育系及保持系种子裂颖特性与	
外界条件的关系	178
(三) 细胞质雄性不育系及保持系种子裂颖的生理	
生化特性	181
附录 A: 8 个杂交中稻组合的生育特性和结实率表现	183
附录 B: 10 个晚稻组合的生育特性和结实率表现	191
附录 C: 气温资料	199
主要参考文献	203
后记	220

第一章 概 论

一、杂交水稻种子安全问题概述

自 1976 年杂交水稻大面积推广以来,已累计增产稻谷 3.5 亿 t 以上,杂交水稻面积已占全国水稻种植总面积的 60% 以上,为我国的粮食生产作出了巨大贡献,如 2006 年全国杂交水稻主要品种推广面积 1 519.93 万 hm^2 ,占水稻总种植面积的 62.59% (全国农业技术推广服务中心,2007),湖南省统计 2004 年全省杂交水稻种植面积 291.30 万 hm^2 ,占全省水稻总种植面积的 70.58%。但在杂交水稻生产中一直存在品种和种子安全性问题,特别是近年随着推广品种数量的增加,品种和种子安全性问题也日益突出,如 1996 年以来发生的在有关省甚至全国造成重大社会影响的“密阳 46”父本恢复能力问题、“香两优 68”种子纯度问题、“岳优 63”种子耐寒性问题、“川香优 2 号”种子纯度事件,均造成了上千万元的直接经济损失,给杂交水稻推广造成了严重的负面影响。

(一) 杂交水稻受异常气候危害问题

异常气候对杂交水稻生产安全的影响很大,造成的减产甚至绝收损失相当严重。如湖南省 2001 年大面积推广的晚稻组合岳优 63,由于遭遇冷空气影响,造成全省大范围严重减产。安徽省 2002 年 7 月 23 日至 8 月 9 日出现了历史罕见的持续高温天气,连续高于 35°C 的高温天气,江南达 20d,沿江 15d,江淮及淮北地区 10d 左右,导致部分正处于抽穗扬花盛期的一季中稻遭

受严重危害，导致结实率大幅下降，受灾面积较大，全省中稻高温热害成灾面积在 33.33 万 hm^2 左右。湖北省咸安区 2003 年 7 月中下旬中稻抽穗扬花期时遇到了长期高温，造成中稻严重空壳不实，严重的田块每亩*产量不到 100kg，全区中稻种植面积 13 294.49 hm^2 ，受灾面积 10 022.69 hm^2 ，占 75.4%，减产近 4 万 t。湖北省荆州市 2007 年部分中稻组合在幼穗分裂期和抽穗扬花期遭遇到异常气温影响，结实率降低，全市结实率低于 65% 的中稻面积 5 067 hm^2 ，结实率较常年景下降 20 个百分点，亩产减 150kg 以上，减总产 1 140 万 kg 以上。

(二) 杂交水稻受病虫害危害问题

近年杂交水稻受稻瘟病、稻曲病等危害的情况比较严重，特别是稻瘟病给杂交水稻安全生产造成了较大威胁。如湖南省年均发生面积约 4.67 万~5.95 万 hm^2 ，损失稻谷 1 亿 kg。灾情最严重的苗叶瘟可使全田毁灭，穗颈瘟严重发生时甚至导致颗粒无收。

(三) 品种真实性和种子纯度问题

种子纯度是最重要的质量指标，因杂交水稻种子不纯而给农民造成的损失的情况时有发生。如两系法杂交水稻种子生产均出现过重大纯度事故，1999 年湖南曾因遭遇低温造成 1 333 hm^2 制种大部分自交结实而失败，损失超过千万元；2002 年长江流域 8 月份的低温，造成两系杂交稻种子严重不纯；2002 年安徽制种生产的数千亩“丰两优 1 号”、湖南和江苏制种生产的近十万亩“两优培九”中，也有很大一部分发生了混染。

(四) 种子发芽率问题

种子发芽率也是十分重要的质量指标。目前杂交早稻种子、

* 1 亩=1/15 hm^2 。

两系杂交水稻种子存在的发芽率问题比较突出。影响种子发芽率的主要原因包括种子裂颖、饱满度较差、穗萌、黑粉病粒等。如杂交稻种子裂颖较多，一般达到 10%~22%。裂颖种子颖壳闭合度差，浸种过程中吸水快，易受病菌侵染，胚乳养分易外渗，产生种子发黏、变酸、发臭，影响发芽率。

综上所述，在前人研究的基础上，根据杂交水稻生产实践中应重点解决的问题，对影响杂交水稻生产安全的主要方面和环节进行研究，形成比较完整、科学、切实可行的技术体系，及时提出应对措施，采取预防手段，对于确保杂交水稻大田生产用种安全、促进农业生产和国民经济的发展，具有重要现实意义。

二、杂交水稻耐高温与低温研究进展

随着杂交水稻种植面积的不断扩大，生产上遇到一个突出的问题是异常气候条件特别是高、低温使一些具有高产潜力的杂交组合的产量不稳定，甚至造成大幅减产，给这些组合大面积推广带来风险。各地气象资料和水稻产量的相关分析表明，我国每年冷害损失稻谷 30 亿~50 亿 kg，严重冷害发生的频率为每 3~4 年一次，局部区域几乎每年发生（李其义等，2002）。如湖北省杂交水稻早期推广的“四优 4 号”和“2R28”两个组合遇到高温，空秕率达 50%以上，致使 3.3 万 hm^2 水稻减产（曾汉来等，2000）。1996 年以来湖南省有些杂交组合如岳优 63 的不耐低温造成了很大的经济损失。近年湖南省育成的一些新组合或从外省引进的一些组合也多次因遇异常气候而造成局部区域严重减产，给农民造成了重大损失。围绕杂交水稻对高、低温的适应性机理，前人从细胞学、遗传学、生理生化和分子生物学等方面进行探讨，取得了许多研究成果。

(一) 低温对杂交水稻的影响

水稻属喜温作物，对温度变化较为敏感，低温冷害可造成明显减产。水稻有 3 个生长发育时期对低温极为敏感：秧苗期、孕穗期和抽穗扬花灌浆期。在南方双季稻作区，早籼稻秧苗期突遇“寒潮”，常造成烂秧；早熟早籼和某些特殊年份晚稻孕穗期遭受低温，幼穗发育迟缓，减数分裂不良，花粉发育受阻；晚稻开花灌浆期遇低温或“寒露风”，开花受精发生障碍，结实率下降。

1. 低温冷害类型和特征

低温胁迫会使水稻产生不同程度的冷害，一般将其分为以下三类：

(1) 延迟型冷害。延迟型冷害主要指水稻在营养生长期（有时也包括生殖生长期）较长时间遭遇较低温度的危害。这种冷害使稻株生理活性降低、发育滞后、抽穗开花延迟，不能充分灌浆成熟而导致大幅度减产。也有前期气温正常，抽穗并未延误，而后由于异常低温导致延迟开花授粉灌浆成熟。水稻遭遇延迟型冷害，秕粒增加，千粒重下降，米质变差，减产严重。

(2) 障碍型冷害。水稻生殖生长期即颖花分化到抽穗开花期间，遭受短时间相对较强的低温危害，会使花器的生理机制受到破坏，造成颖花不育，空壳多而严重减产。根据遭受低温危害时期，又分为孕穗期冷害和抽穗开花期冷害。水稻一生对低温抵抗力最弱的时期是生殖细胞的减数分裂期，此期遭遇低温，花粉发育受阻，籽粒受精率下降，不实粒增多。幼穗形成期遇低温冷害，延迟抽穗，易产生畸形颖花和颖花退化，但与减数分裂期比危害相对较小。水稻抽穗开花期受低温侵害常发生颖壳不开，花药不裂，散粉不畅或花粉发芽率大幅度下降，因而不育，造成减产，影响程度仅次于孕穗期。障碍型冷害作用时期短，主要是孕穗期遇到低于稻穗发育的临界温度 17°C 或抽穗开花期遇到低于 20°C 的低温时发生。

(3) 混合型冷害。在同一年中, 延迟型冷害和障碍型冷害同时发生, 生育初期遇低温会延迟根、茎、叶的生长发育和分蘖, 延缓穗分化, 延迟抽穗, 影响产量, 孕穗、抽穗、开花期又遇低温, 则造成颖花不育或部分不育, 延迟成熟, 产生大量空秕粒(仲桂芳等, 2003)。

2. 低温对杂交水稻开花结实的影响

低温下的结实率是评价杂交水稻耐冷性的一个重要指标, 而结实率的高低取决于受精率的高低, 低温下受精率较低的主要原因是雄性器官发育不良, 不少学者围绕这一问题展开了研究。杨宝等(1991)研究表明, 只考虑温度因子时, 低温与空秕率呈负指数相关, 下半穗因生理特性在同样气温下空秕率要比上半穗高5%~20%。王怀义(1998)通过对花药长度与耐寒性的关系研究, 表明花药长度与低温下的结实率呈显著正相关。伊藤延男等(1970)对低温导致水稻开花期柱头和花粉异常的研究认为, 不结实的主要原因是花药不裂开或裂开不良, 且花药裂开不良者大多是因为其内的花粉不充实。叶昌荣等(1996)将30份耐冷性不同的组合种植于4种不同的试验条件下, 发现低温使杂交水稻的花药缩小, 不育花粉率增加, 而结实率降低。王永红等(2001)研究还发现, 低温条件下开花量较少, 低温使抽穗速度明显变慢, 包颈率呈现上升趋势。

3. 低温对杂交水稻生理生化特性的影响

(1) 低温对杂交水稻细胞膜和叶绿体的影响。细胞膜的流动性和稳定性是细胞乃至整个植物体赖以生存的基础, 它不仅调控一切营养物质的进出, 而且是细胞反应外界不利因子的最先的重要屏障。Levit(1984)指出, 冷害主要是损伤膜蛋白质。他认为低温可将蛋白质分子拆开成亚单位, 并使蛋白质分子中的一SH基氧化, 形成二硫键($-S-S-$), 造成蛋白质变性。陈亚华等(2000)以耐冷性不同的两个水稻组合为材料, 比较研究幼苗幼根质膜、液泡膜ATP酶对低温(8℃)胁迫的反应, 结果

表明耐冷组合质膜、液泡膜 ATP 酶比冷敏感品种对低温胁迫有更强的适应能力。曾乃燕等 (2000) 对 4℃ 和 11℃ 两种低温胁迫过程中水稻内囊体膜色素与蛋白质组成的变化进行了比较研究, 发现 4℃ 低温不仅使内囊体膜中的光合色素 (叶绿素、类胡萝卜素) 含量降低, 而且还引起膜蛋白组成的深刻变化, 表现在大部分原有膜蛋白组分的含量在低温下明显降低。

低温下叶绿体的结构也发生了变化, 表现在片层排列方向发生改变, 基粒片层堆叠紧密, 出现空泡甚至空洞 (张旭主, 1991)。水稻苗期低温障碍的一个最明显表现是叶片中叶绿素含量的变化, 叶片颜色褪绿, 光合速率下降 (曾韶西, 1991)。杨宝等 (1991) 研究指出, 水稻各生育期在低温下比适宜气温下叶绿素含量均低 0.5~1.0mg/g 鲜重。李平等 (1990) 研究认为, 杂交水稻经低温胁迫后, 旗叶的最大光合速率与表观量子效率均降低, 并随着胁迫时间的延长而加剧, 他还发现低温不仅影响叶绿体的光化学过程而且抑制了光合暗反应酶的活性, 从而降低了同化 CO₂ 的能力。

(2) 低温对杂交水稻蛋白质与氨基酸的影响。低温对原生质蛋白质的破坏是低温伤害的主要特征。在低温条件下, 植物细胞产生自溶水解酶或溶酶体, 释放出水解酶, 加速蛋白质的分解过程。龚明等 (1998) 研究指出, 无论是耐冷性强的粳稻, 还是耐冷性弱的籼稻, 当由常温转入低温后叶中可溶性蛋白质含量下降, 而以耐冷性弱的籼稻更甚。

正常条件下, 植物体内游离氨基酸含量很低, 而低温冷害条件下, 蛋白质含量降低, 氨基酸和铵态氮相应增加。在游离氨基酸中, 作用尤为突出的是游离脯氨酸, 植物游离脯氨酸的含量与植物的抗性正相关 (陈杰中, 1998)。刘娥娥等 (2000)、宗会等 (2003) 发现低温胁迫下水稻积累脯氨酸且随胁迫时间而加剧。陈善娜等的研究也得到类似结论 (徐福荣等, 2000)。

(3) 低温条件下酶的适应变化。低温处理后, 酯酶带变化在

耐冷强的水稻和耐冷弱的水稻中明显不同：耐冷力较差的品种酯酶酶谱中的区带数目和活性都没有变化，耐冷力较强的品种则会增加，其中以叶绿体果糖 1, 6-二磷酸酯酶 (FBPase) 的作用尤为显著。李锡径等 (1982) 亦指出水稻剑叶的 FBPase 在籽粒灌浆过程起着重要的生理作用，低温胁迫使 FBPase 活性降低，不利于叶片的光合产物向穗部运输，影响水稻碳代谢正常进行，以致籽粒灌浆需要的物质供应得不到充分满足。李平等 (1994) 也试验证明，杂交水稻乳熟期 FBPase 活性受低温抑制。

ATP 酶是膜束缚的一种功能性蛋白，它在能量代谢等生理功能上具有重要的作用。王精明等 (2000) 通过对水稻幼苗冷处理，发现根质膜、液泡膜 Mg^{2+} -ATP 酶活性明显下降。一般认为，ATP 酶活性较稳定的植物，其耐冷性较强。

4. 杂交水稻耐冷性的遗传

低温对植物的危害是一个复杂的生理过程，而植物抵抗低温胁迫的能力又是一个多系统的综合生理反应，它既受物种本身的遗传基因控制，也受环境的制约。杂交水稻的耐冷性是由遗传基因控制的对低温反应的一种适应性，指在一定的低温环境胁迫状况下，杂交水稻的生长发育及其生理代谢不受其影响或影响甚微的一种适应性反应特性。有关研究表明 (李其义等, 2002)，水稻耐冷性是受多基因控制的数量性状，是由 4~7 对基因控制的，且属显性基因遗传， F_2 和 F_3 代的广义遗传力分别为 0.75 和 0.92，因而早期世代选择具有较好的效果。杂交水稻的耐冷性的特点在于其双亲耐冷基因的加性、互作效应和综合作用，不同类型的杂交水稻组合耐冷性有明显差异。王以柔等 (1986) 和刘鸿先等 (1987) 曾研究杂交水稻耐冷性与亲本特性的关系，发现杂交水稻的耐冷力的大小倾向于母本，即与母本的核基因型关系很大。育种者在选育耐冷的杂交水稻新组合时，似乎应重视选择耐低温的母本。申时全等 (2004) 研究表明，昆明小白谷孕穗期耐冷性近等基因系的耐冷基因属于主效基因，花药长可能受微效多