

优良食味新品种苏香粳 3 号栽培特性和成香机理研究

朱勇良¹, 叶亚新², 谢裕林¹, 胡翠英², 乔中英¹, 陈培峰¹, 黄萌¹, 程宏英², 李庆魁³, 马运涛³

(1. 江苏太湖地区农业科学研究所, 江苏苏州 215155; 2. 苏州科技学院, 江苏苏州 215009; 3. 苏州农业职业技术学院, 江苏苏州 215008)

摘要 [目的]了解苏香粳 3 号的栽培特性和成香机理。[方法]研究了苏香粳 3 号的栽培特性, 利用特异引物检测了其香味的基因型, 并利用全二维时间质谱(GC×GC-TOFMS)分析了致香物组分。[结果]苏香粳 3 号播种量为 90.0 kg/hm²、施氮量为 225.0 kg/hm²时采取直播栽培产量最高; 苏香粳 3 号的抗、耐高温逆境的能力较好, 并且较适宜网室栽培。香味基因检测结果表明苏香粳 3 号受 *fgr* 基因控制, 第 2 外显子存在 7 bp 的碱基缺失。利用全二维时间质谱分析获得了香稻特征化合物 2-乙酰吡咯啉含量为 0.021 5 mg/kg 和初步的致香物组分。[结论]为苏香粳 3 号的推广应用提供了参考。

关键词 苏香粳 3 号; 栽培特性; 成香机理

中图分类号 S511.2⁺2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)05-052-02

Cultivation Characteristics of New Good Eating Quality Rice Variety Su Xiangjing 3 and Its Mechanism of Aroma

ZHU Yong-liang¹, YE Ya-xin², XIE Yu-lin¹ et al (1. Institute of Agricultural Sciences in the Taihu Lake Region of Jiangsu Province, Suzhou, Jiangsu 215155; 2. Suzhou Science and Technology College, Suzhou, Jiangsu 215009)

Abstract [Objective] The aim was to understand cultivation characteristics and aroma mechanism of Su Xiangjing 3. [Method] The cultivation characteristics and aroma mechanism of Su Xiangjing 3 were analyzed by special primers and GC×GC-TOFMS. [Result] The yield was highest under the direct seeding conditions simultaneously the seeding quantity was 90.0 kg/hm² and nitrogen application amount was 225.0 kg/hm². Su Xiangjing 3 had good resistance to high temperature stress and late sowing. The production structure was changed under the network culture conditions. By using genetic analysis and specific primers, it was found that the fragrance of Su Xiangjing 3 was controlled by gene *fgr* for 7 bp deletion in the second exon. Meanwhile, the GC×GC-TOFMS technology was used to determine the aroma compounds of Su Xiangjing 3, the results found 53 types of aroma compounds, and 2-ace-tyl-pyrroline content was 0.021 5 mg/kg. [Conclusion] The result provided reference for the application of Su Xiangjing 3.

Key words Su Xiangjing 3; Cultivation characteristics; Mechanism of aroma

苏香粳 3 号, 1999 年在南京用江苏本地丰产品种武粳 13 号作母本, 日本优质优味品种北明为父本配组, 历时近 10 年的田间评价、室内鉴定和筛选, 于 2010 年通过江苏省审定并定名; 2009 年申请植物新品种保护, 2010 年获得申请公告, 公告号: CNA006188E。该品种由于抽穗期早, 耐、抗高温能力较强, 米饭口感优异, 并且稻米商品性良好, 深受适种地区广大农户的欢迎, 展示了较好的生产应用和产业化开发的前景。鉴于此, 笔者对该品种的栽培特性、香味的基因型、致香物成分进行了分析, 旨在为该品种的推广应用提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 试验作物。苏香粳 3 号; 日本晴、苏香粳 1 号、扬稻 6 号、南京 11 号、苏香粳 3 号 5 个水稻品种, 用于苏香粳 3 号香味的基因型分析。

1.1.2 主要仪器与试剂。全二维飞行时间质谱(GC×GC-TOFMS, 美国 Zoex 公司); 固相微萃取仪(美国 Supelco 公司); 固相微萃取纤维头(DVB/CAR/PDMS, 美国 Supelco 公司), 顶空样品瓶等。乙腈(色谱级 TEDIA), 配置内标, 乙酸苯乙酯, 均由 J&K Chemica 提供, 纯度均大于 99.9%。

1.2 方法

1.2.1 栽培特性研究。

1.2.1.1 直播栽培条件下苏香粳 3 号的收获产量对播种量和投氮量的响应。采用裂区设计, 播种量为主因素, 投氮量为副因素。播种量分 3 个水平, 分别为 45.0、67.5 和 90.0 kg/hm²; 投氮量分 5 个水平, 分别为 0、150、225、300 和 375 kg/hm² 纯氮, 肥料运筹中: 基肥占总施氮量的 25% (播种前 2 d 施用), 苗肥(2 叶 1 心期施用)占 30%, 分蘖肥(4 叶 1 心期施用)占 30%, 穗肥(播后 60 d 施用)占 15%; 钾肥用氯化钾 150 kg/hm², 全部用作基肥投入。

1.2.1.2 苏香粳 3 号对高温逆境栽培的反应。采用盆钵试验(盆径 30 cm), 自孕穗期(8 月 12 日)开始对其进行高温处理, 高温处理模式为玻璃温室安置, 播种期和肥水管理统一, 其中播种期为 5 月 13 日。对处理的全部材料收回进行单穗考种, 统计试验样本的结实率和千粒重。

1.2.1.3 苏香粳 3 号设施栽培的产量表现。采用网室设施栽培, 试验用防虫网室长 60 m、宽 20 m, 立柱直立, 间距 3 m。采用 30 目白色网。

1.2.1.4 播种期对苏香粳 3 号生长发育和产量的影响。采用播种期试验及 4 个迟直播播种期处理为 6 月 30 日、7 月 10 日、7 月 20 日、7 月 30 日的水直播试验。

1.2.2 苏香粳 3 号香味的基因型分析。

1.2.2.1 引物标记及 DNA 提取。利用 Prime Premier 5.0 将控制稻米香味基因 *fgr* 的第 2 外显子 7 bp 的缺失和第 7 外显子 8 bp 的缺失分别设计成 InDel 标记, 分别命名为 Badh2、Badh7, 引物由 Invitrogen 公司合成, Badh-2-F: GGGAG-GCGCTGAAGAGGA; Badh-2-R: GGGTAGTCACCACCCTACCT-TG; Badh-7-F: ATACCCCATCAATGGAAT; Badh-7-R:

基金项目 江苏省苏州市应用基础研究项目(SYN201202)。

作者简介 朱勇良(1965-), 男, 江苏苏州人, 副研究员, 从事水稻遗传育种和优质高产栽培研究。

收稿日期 2014-12-18

GAAAAGGACAACATTGAGAA。水稻苗期分单株取6~8 cm长的嫩叶片,水稻基因组DNA提取采用CTAB法。

1.2.2.2 PCR扩增和电泳。10.0 μl 反应体系包括BU-Taq 2 \times Master PCR Mix 5.0 μl , Primer (4 pmol/L) 2.0 μl , 模板DNA(约15 ng/ μl) 2.0 μl , 灭菌双蒸水1.0 μl 。在Eppendorf PCR仪上进行扩增,反应条件为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,共35个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸10 min。反应产物在6%非变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳,用硝酸银染色。

1.2.3 苏香梗3号致香物的初步分析。

1.2.3.1 样品预处理。称取2 g 精米粉样品至20 ml 顶空样品瓶中,加入1.0 μl 内标化合物(乙酸苯乙酯22.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$),用顶空瓶盖将其密封。然后将顶空瓶放入到固相微萃取加热装置中,在80 $^{\circ}\text{C}$ 下平衡40 min,利用固相微萃取纤维头(DVB/CAR/PDMS)吸附平衡10 min,最后在250 $^{\circ}\text{C}$ 进样口解析进行全二维飞行时间质谱分析。

1.2.3.2 全二维质谱分析条件。柱1:DB-5(30 m \times 0.25 mm \times 1.0 μm);柱2:DB-17(1.5 m \times 0.10 mm \times 0.1 μm);程序升温:60 $^{\circ}\text{C}$ (保持2 min)以3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到250 $^{\circ}\text{C}$ (保持5 min);进样口压力:程序升压模式;35 psi(保持2 min)以0.3 psi/min 升到49 psi(保持5 min);样品运行时间:70 min;进样口温度:250 $^{\circ}\text{C}$;进样模式:不分流;吹扫时间:3.5 min;调制周期:6 s;持续周期:300 ms;热喷口:370 $^{\circ}\text{C}$;冷喷口流速:18 L/min;热喷口压力:40 psi。质谱条件:离子源EI, 70 eV;离子源温度280 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度300 $^{\circ}\text{C}$;质量范围45~450 m/z;分辨率4 000 FWHM;采集速度100 Hz;质谱库NIST08。

2 结果与分析

2.1 栽培特性

2.1.1 直播栽培条件下苏香梗3号的收获产量对播种量和投氮量的响应。结果表明,播种量与施氮量对直播水稻苏香梗3号产量影响显著。播种量在90 kg/hm²时产量最高,达到6 174.53 kg/hm²,显著高于播种量为45.0和67.5 kg/hm²时的产量;施氮量水平在225.0 kg/hm²时产量最高,达到6 497.48 kg/hm²,显著高于施氮量水平为0和150.0 kg/hm²的产量;当播种量为90.0 kg/hm²,施氮量为225.0 kg/hm²时直播水稻苏香梗3号的产量最高,达到6 697.50 kg/hm²[1]。

2.1.2 苏香梗3号对高温逆境栽培的反应。结果表明,高温处理引起了苏香梗3号结实率的下降,并且高温处理时间越长,其结实率降低越多。试验中苏香梗3号抽穗扬花期间玻璃房内的最高气温高于35 $^{\circ}\text{C}$ 的天数有10 d,并且有连续7 d的最高气温高于40 $^{\circ}\text{C}$,受该期间高温处理的样本的最低结实率为82.3%。初步说明苏香梗3号具有较好的抗耐高温逆境的能力[2]。

2.1.3 苏香梗3号设施栽培的产量表现。结果表明,网栽条件下,苏香梗3号成熟期的植株高度显著增加,平均增幅达5%左右,一般植株高度为93 cm。网栽对苏香梗3号的水稻产量影响较大,平均降幅达29.50%。网栽条件下苏香梗3号单位面积总穗数分别较常规栽培有显著降低,降幅达

7.19%;苏香梗3号每穗颖花数较常规栽培降低1.46%;同时苏香梗3号的结实率也有所降低,降幅为4.49%;网栽苏香梗3号水稻的千粒重也有所降低,降幅为0.24%[3]。

2.1.4 播种期对苏香梗3号生长发育和产量的影响。根据播种期试验得出的温光反应模式表明,常规移栽的苏香梗3号在苏州适宜播种期播种,如在夏至日播种时30 $^{\circ}\text{C}$ 的气温下,从播种到齐穗的时间为70.50 d,平均气温每降低1 $^{\circ}\text{C}$,播始历期相应增加2 d左右,播种期每提早1.00 d,营养生长期则相应增加0.28 d。苏香梗3号随着播种期的推迟,产量呈下降的趋势,5月10日左右播种的产量最高,在适宜播种期内,适当的早播早栽有利于发挥中梗类品种苏香梗3号的产量潜力[4]。4个迟直播播种期处理为6月30日、7月10日、7月20日、7月30日的水直播试验结果表明,苏香梗3号的全生育期随着播种期的推迟而延长,变化幅度为102~126 d,极差达24 d,播种期每推迟10 d,抽穗期则推迟8~10 d。生育期变化主要表现在灌浆成熟期拉长,播种期越迟,齐穗期至成熟期的历时越长,差异幅度达28 d;播种期至齐穗期历时总体呈缩短趋势,变化较稳定。在迟直播条件下,6月30日播种的能正常成熟,7月10日、7月20日和7月30日播种的均不能正常成熟[5]。

2.2 苏香梗3号香味的基因型分析 利用Badh2第7外显子特异引物扩增,结果显示供试的5个材料都没有缺失,利用Badh2第2外显子特异引物扩增,结果显示第2外显子有缺失。第2外显子的特异引物检测表明,苏香梗3号和苏香梗1号2个香米材料都携带相同的香米等位基因,在fgr基因的第2外显子存在7 bp的碱基缺失,结果导致翻译提前终止,产生无功能的截短BADH2蛋白,从而表现出香味[6]。

2.3 苏香梗3号致香物的初步分析 经过全二维质谱的进一步分析,共分析鉴定了53种主体香味成分,其中烃类物质有3种,约占总量的0.89%,醛类物质13种,约占总量的33.40%,酮类物质有10种,约占总量的2.50%,酯类物质1种,约占总量的2.20%,醇类物质10种,约占总量的8.40%,杂环类物质最多,约占总量的53.70%,未检测到酸类物质。检测到香稻的特征致香物2-乙酰基-1-吡咯啉(2AP)的含量为0.0215 mg/kg,与应兴华等[7]利用气质联仪分析的试验结果相近。

3 讨论

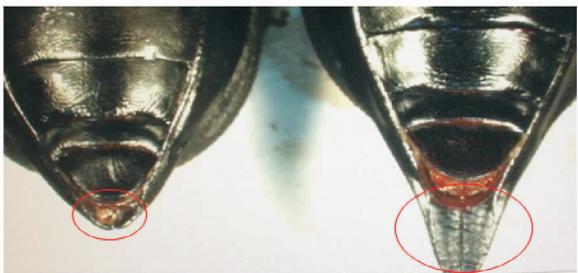
香稻是一种珍贵的具有天然香味的功能稻和特种稻,具有食味品质好、营养保健、经济价值高等优点,因而深受消费者青睐,是目前水稻研究的热点问题。苏香梗3号成熟期早、食味良好并且富有香味,因此,研究和总结其栽培特性和利用现代基因分析技术探明其成香机理,对于提高其种植效益具有实际意义。栽培试验表明,苏香梗3号能较好地适用于轻型栽培,播种量为90 kg/hm²、施氮量为225 kg/hm²时,采用直播栽培,能达到6 697.50 kg/hm²的较高产量;高温逆境栽培试验得出,苏香梗3号在有连续7 d的最高气温高于40 $^{\circ}\text{C}$ 的环境条件下,最低结实率仍可达82.3%,表现出较好

将其分成 2 组后,发现雄虫腹部可见第 1 节具有刚毛刷,而雌虫均无该结构,观察的雌雄成虫符合这一特点,因此有无刚毛刷(图 2)可作为喙尾琵琶甲成虫的性二型来区分雌雄。此外,喙尾琵琶甲雄虫尾突较长,雌虫较短(图 3);雄虫呈狭长状,雌虫略显矮胖。



注:左雌右雄。

图 2 喙尾琵琶甲雌雄成虫腹部形态特征



注:左雌右雄。

图 3 喙尾琵琶甲雌雄成虫腹部末端形态特征

表 1 喙尾琵琶甲主要形态特征值

性别	形态部位	均值	最大值	最小值	标准差	标准误
雄	体长//mm	24.140	25.510	20.730	1.139	0.228
	体宽//mm	10.780	11.580	9.610	0.441	0.088
	长宽比	2.240	2.450	2.040	0.101	0.020
	尾突长//mm	2.564	3.410	1.560	0.458	0.092
	尾突角度//°	55.610	67.690	46.410	5.443	1.089
雌	体长//mm	24.370	26.620	21.570	1.430	0.305
	体宽//mm	11.820*	13.060	10.530	0.597	0.127
	长宽比	2.063*	2.220	1.950	0.077	0.016
	尾突长//mm	0.536	0.750	0.390	0.095	0.020
	尾突角度//°	104.100*	119.800	91.450	8.064	1.719

注:*表示 $P < 0.05$,与雄虫相比。

2.2 形态性状测量值及 t 检验 由表 2 可知,喙尾琵琶甲雌雄虫体长均值分别为 24.370 和 24.140 mm,雌虫略大于雄虫,两者差异不显著;雌虫体宽(11.820 mm)显著大于雄虫(10.780 mm);雌雄虫的长宽比分别为 2.056 和 2.240。雄虫尾突长度(2.564 mm)显著大于雌虫(0.536 mm);其尾突角度也有显著差异,雌虫为钝角(104.100°),雄虫是锐角(55.610°)。

2.3 雌雄虫鉴别特征 根据上述观察和分析,喙尾琵琶甲具有明显的性二型,表现为雌虫体形短粗,尾突短,腹部无刚毛刷;雄虫体形狭长,尾突长,腹部具刚毛刷。

3 结论

喙尾琵琶甲雌雄成虫体长度量值差异不大,表明雌雄二型与个体大小关系不大,这与人们的通常认识不同;雌虫个体大,雄虫个体小;但是,其体宽以及长宽比有显著差异。

通过观察喙尾琵琶甲雌雄性二征差异,找到对活体无损伤害、易于掌握的雌雄成虫鉴别方法。通过尾突和刚毛刷可明显地区分其性别;也可采用长宽比区分,即雄虫呈狭长状,雌虫略显矮胖。

参考文献

- [1] 李成德. 森林昆虫学[M]. 北京:中国林业出版社, 2003:45.
- [2] 王孟卿, 杨定. 昆虫的雌雄二型现象[J]. 昆虫知识, 2005, 42(6):721-725.
- [3] FAIRBAIN D J, PREZIOSI R F. Sexual selection and the evolution of allometry for sexual size dimorphism in the water strider, *Aquarius remigis* [J]. Naturalist, 1994, 144: 101-118.
- [4] SLATKIN M. Ecological causes of sexual dimorphism[J]. Evolution, 1984, 38(3):622-630.
- [5] 赵敏. 云南省喙尾琵琶甲分布及生态环境调查[J]. 林业科学研究, 2007, 20(3):356-362.
- [6] 罗岚芸, 刘勇, 李蕾, 等. 云南民间药用琵琶甲无机元素及氨基酸分析[J]. 氨基酸和生物资源, 1999, 21(3): 38-40.
- [7] 张兰胜, 夏从龙, 杨永寿, 等. 彝药喙尾琵琶甲的研究进[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(12):3113-3115.
- [8] 刘勇, 罗岚芸, 李蕾, 等. 云南琵琶甲防御性分泌物抗菌活性及 GC-MC 分析[J]. 云南大学学报:自然科学版, 2000, 22(3):217-219.
- [9] 施贵荣, 肖培云, 洪小凤, 等. 喙尾琵琶甲提取物体外抗菌作用初步研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3):622-623.
- [10] 施贵荣, 庄孝龙, 耿玲, 等. 喙尾琵琶甲提取物体外抗菌作用研究[J]. 大理学院学报, 2012, 11(9): 5-7.
- [11] 罗建蓉, 何江波, 张桢, 等. 药用昆虫喙尾琵琶甲化学成分研究[J]. 中成药, 2010, 35(11): 2013-2014.
- [12] 唐桦, 杨忠岐, 张翌楠, 等. 天牛主要寄生性天敌花绒寄甲活体雌雄性成虫的无损鉴别[J]. 动物分类学报, 2007, 32(3): 649-65.

(上接第 53 页)

的抗耐高温逆境能力;苏香梗 3 号的产量结构较合理,还可用于设施栽培,耐迟播性较好。利用遗传分析和基因标记鉴定的方法,分析了优质食味新品种苏香梗 3 号的香味基因型。苏香梗 3 号香味受单一的隐性核基因 *fgr* 控制,在 *fgr* 基因的第 2 外显子存在 7 bp 的碱基缺失,和苏香梗 1 号的香味基因相同,从分子水平阐明了该品种香味的来源,也初步找到了高产、保香栽培的理论和借鉴。水稻香味物质的检测尚没有国家和行业标准,有关苏香梗 3 号等香稻的致香物质的分析研究工作还有待于开展。

参考文献

- [1] 黄萌, 陈培峰, 乔中英, 等. 播种量与施氮量对直播水稻苏香梗 3 号产量的影响[J]. 江西农业学报, 2012, 24(4): 4-6.
- [2] 乔中英, 王建平, 陈培峰, 等. 高温热害对苏香梗 3 号影响的研究[J]. 江西农业学报, 2012, 24(4): 23-25.
- [3] 周伟, 杨国英, 郭智, 等. 网栽对水稻产量及其构成因素的影响[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(11): 47-49.
- [4] 惠锋, 黄萌, 张海, 等. 不同播期对苏香梗 3 号产量和生育期的影响[J]. 江西农业学报, 2011, 23(4): 34-35.
- [5] 黄萌, 乔中英, 王建平, 等. 迟直播对早熟梗稻苏香梗 3 号生育进程及产量的影响[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(10): 65-66.
- [6] 王军, 杨金欢, 杨杰, 等. 优质紫香糯龙睛 4 号的紫色和香味的基因型分析[J]. 分子植物育种, 2011, 9(6): 688-691.
- [7] 应兴华, 徐霞, 陈铭学, 等. 气相色谱-质谱技术分析香稻特征化合物 2-乙酰吡咯啉[J]. 色谱, 2010, 28(8): 782-785.