

水稻粳型亲粳系 $S-c$ 座位基因型分析

敖华, 张泽民, 曾瑞珍, 张桂权

(华南农业大学, 广东省植物分子育种重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: $S-c$ 是控制水稻粳亚种间杂种 F_1 花粉不育性的基因座位之一。在该座位, 台中 65 的基因型为 S^j/S^j , 广陆矮 4 号的基因型为 S^i/S^i 。以台中 65 和广陆矮 4 号为遗传测验种, 分别与 4 个粳型亲粳系配组, 根据部分 F_2 群体中植株花粉育性表型及与 $S-c$ 紧密连锁分子标记基因型的偏态分离程度, 测定了这 4 个粳型亲粳系在 $S-c$ 座位的基因型, 结果表明, G2416 3 的基因型为 S^{i-2}/S^{i-2} ; G2605 和 G3004 4 的基因型均为 S^{i-1}/S^{i-1} ; G2417 2-1 的基因型为 S^n/S^n 。本文还对 F_1 花粉不育性基因遗传分化的测定方法进行了讨论。

关键词: 水稻; 粳型亲粳系; 花粉不育性; 复等位基因; 微卫星标记

中图分类号: S511.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)04-0005-04

Genotypic Identification of the $S-c$ Locus in the Indica-compatible Japonica Lines of Rice (*Oryza sativa* L.)

DING Xiao-hua, ZHANG Ze-min, ZENG Rui-zhen, ZHANG Gui-quan

(Guangdong Provincial Key Lab of Plant Molecular Breeding, South China

Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: $S-c$ is one of the F_1 pollen sterility loci between *indica* and *japonica* cultivars in rice. The genotype of Taichong 65 (T65) and Guangluai 4 (GLA 4) at the locus is S^j/S^j and S^i/S^i , respectively. Four *indica-compatible japonica* lines (ICJILs), G2416 3, G2417 2-1, G2605 and G3004 4 were crossed with testers, T65 and GLA 4, and their $S-c$ locus genotypes were identified. The segregation of PCR-based molecular markers linked tightly with $S-c$ locus and plant pollen fertility in several F_2 populations showed that G2416 3 possessed S^{i-2}/S^{i-2} genotype; G2605 and G3004 4 possessed S^{i-1}/S^{i-1} genotype; while G2417-2-1 possessed S^n/S^n genotype. The test methods on genetic differentiation of the F_1 pollen sterility loci were also discussed in this paper.

Key words: Rice (*Oryza sativa* L.); Indica-compatible *japonica* lines; Pollen sterility; Multi-alleles; Microsatellite marker

亚洲栽培稻杂种 F_1 不育性的遗传基础十分复杂, 至少受 6 个 F_1 花粉不育性基因座位控制^[1,2]。在这些座位上, 籼稻的基因型大多数为 S^i/S^i , 而粳稻为 S^j/S^j ; 每个座位上不同来源的 F_1 花粉不育基因在分化程度上有很大差异, 从 S^i 到 S^j 之间存在大量的复等位基因, 在一个杂合座位上, 相对基因的分化距离越大, 杂种的花粉不育性越高, 相对基因的分化距离越小, 则杂种的花粉不育性越低; 那些分化程度很小的 S^i 和 S^j 基因与其他具不同分化度的 S^i 或 S^j 基因互作, 亲和性均较高, 统称为中性等位基因 S^n 。

粳型亲粳系具有粳型遗传背景, 同时又与籼稻具有较高亲和力, 因而可与籼稻不育系配制亚种间杂交稻^[4]。丁效华等^[5,6]从粳稻交后代筛选到一批符合育种目标的粳型亲粳系, 并测定了 4 个粳型亲粳系在 F_1 花粉不育性 $S-b$ 基因座位的基因型^[7]。

籼型亲粳系具有籼型遗传背景, 同时又与粳稻具有较高亲和力, 因而可与粳稻不育系配制亚种间杂交稻^[4]。丁效华等^[5,6]从籼稻交后代筛选到一批符合育种目标的籼型亲粳系, 并测定了 4 个籼型亲粳系在 F_1 花粉不育性 $S-b$ 基因座位的基因型^[7]。

收稿日期: 2007-06-15

基金项目: 国家自然科学基金(30471068); 广东省科学技术项目资助(2004B20101003)

作者简介: 丁效华(1962-), 男, 江西南城人, 博士, 研究员, 主要从事植物分子育种研究

通讯作者: 张桂权(1957-), 男, 广东高要人, 博士, 教授, 主要从事植物分子育种研究。

本研究以台中 65 和广陆矮 4 号为遗传测验种, 测定了 $S-c$ 座位的遗传效应并由此鉴定出几个粳型亲粳系在该座位上的基因型, 可为进一步开展粳型亲粳系的分子育种提供基因供体; 同时对 F_1 花粉不育性基因的遗传分化及测定方法进行了讨论。

1 材料和方法

1.1 供试材料

亲本材料: 以粳稻品种台中 65(简称 T65) 和粳稻品种广陆矮 4 号(简称 GLA4) 为遗传测验种, 在 $S-c$ 座位上, 2 个品种的基因型分别为 S^iS^i 和 s^js^j ^[2]。被测粳型亲粳系为 G2416-3, G2417-2-1, G2605 和 G3004-4, 它们来源于粳杂交后代, 遗传背景偏粳或粳型, 对粳稻有较高的亲和性^[5,6]。

分析群体: G2416-3/T65, G2417-2-1/T65, G2605/T65, G3004-4/T65 和 G2417-2-1/GLA4 共 5 个组合的 F_2 群体。 F_2 群体种植 200~ 220 株。 试验在华南农业大学教学实验农场进行。

1.2 试验方法

以遗传测验种作父本分别与 4 个粳型亲粳系杂交。 按张桂权和卢永根^[1]的方法, 观察了台中 65 所配 4 个组合 F_2 的花粉育性。 DNA 提取及 SSR 扩增按 Li 等^[8]的方法进行。 引物为位于第 3 染色体上与 $S-c$ 连锁的 RM232, RM07 和 RM218^[9]。

1.3 分析方法

F_1 花粉不育性基因的遗传效应表现为导致杂合体(S^is^j) 中带 s^j 基因的雄配子出现部分败育, 本

试验用 F_2 群体中纯合体与杂合体间花粉育性的差异显著性来表示这种效应的存在。 F_2 群体在 $S-c$ 座位的基因型则用连锁标记基因型代替。

鉴于被测系具较强的亲粳性^[5], 其在 $S-c$ 座位上携带 S^i 基因的可能性较大, 因此本研究首先对 4 个粳型亲粳系与台中 65 杂交 F_2 群体进行分子标记基因型和花粉育性分析, 测定出来源于粳型亲粳系的等位基因与 s^j 基因(来源于台中 65) 的互作遗传效应, 并进而推断出各粳型亲粳系的基因型。 对不带 S^i 基因的粳型亲粳系, 则进一步对其分别与台中 65 和广陆矮 4 号杂交 F_2 群体的标记基因型分离情况进行比较分析。

2 结果与分析

2.1 F_1 花粉不育性基因遗传效应

花粉育性表现型是多个 F_1 花粉育性基因座位共同作用的结果, 各座位的效应难以从表型上加以区分, 但借助 F_2 群体标记基因型资料, 结合 F_2 群体花粉育性观察值就可以将多座位共同作用产生的遗传效应进行分解, 得到单座位杂合基因型的遗传效应值。

估算公式为: $OPS = [(FH_0 - FH_E)/FH_0] \times 100\%$

上式中 OPS 表示某 F_1 花粉不育性座位杂合基因型的遗传效应值, FH_0 表示 F_2 群体中该座位纯合基因型个体花粉育性平均观察值, FH_E 表示 F_2 群体中该座位杂合基因型个体花粉育性平均观测值。

表 1 $S-c$ 座位连锁标记基因型及遗传效应^{a)}

Tab. 1 The genotypes and genetic effects of markers linked with $S-c$ locus

组合 Crosses	标记基因型 ^{b)} Genotypes of markers		B/ %	$FH_0 - FH_E$ / %	OPS/ %
	RM232	RM218			
G2416-3/ 台中 65	1		79. 83	9. 69**	12. 81
G2416/Tai chong 65	2		70. 92		
	3		92. 24		
G2417-2-1/ 台中 65	1		55. 29	- 6. 46	0
G2417-2-1/Taichong 65	2		63. 00		
	3		57. 45		
G2605/ 台中 65	1		92. 77	2. 39**	2. 57
G2605/Tai chong 65	2		90. 40		
	3		92. 96		
G3004-4/ 台中 65		1	93. 74	8. 36**	8. 88
G3004/Tai chong 65		2	85. 84		
		3	96. 47		

注: a). B(%) 为平均花粉育性; 对 $FH_0 - FH_E$ 进行 t 测验时资料先经反正弦转换; ** . 表示在 1% 水平上显著; b). 1 代表母本基因型, 2 代表杂合体, 3 代表父本基因型

Notes: a). B(%) indicates average pollen fertility; the data is transformed into asin value while t test for $FH_0 - FH_E$ conducted; **. indicate significant values at 1% level; b). 1, 2 and 3 indicates maternal genotype, heterozygous genotype and paternal genotype, respectively

表 1 列出了 4 个粳型亲籼系分别与台中 65 杂交所得 F₂ 群体在 *S-c* 座位连锁标记上的基因型及相应花粉育性的平均观测值, 以及根据上式计算的相应组合该座位的 OPS 值。结果显示 3 个组合 G2416-3/ 台中 65、G2605/ 台中 65 和 G3004-4/ 台中 65 的 FH₀- FH_E 达极显著差异, 其 OPS 值是真实存在的, 且这 3 个组合的 OPS 值大小也不尽相同, 表明在 *S-c* 座位上来源于不同粳型亲籼系的等位基因与来源于台中 65 的 *S^j* 基因间存在大小不完全相同的遗传分化距离; 组合 G2417-2-1/ 台中 65 的 FH₀- FH_E 为负值, 这可能与该杂合基因型遗传效应小而易受环境作用产生波动有关, 可认为其 OPS 近似等于零, 表明在 *S-c* 座位上来源于 G2417-2-1 的等位基因与来源于台中 65 的 *S^j* 基因间遗传分化距离较小。由此可见, 4 个粳型亲籼系在 *S-c* 座位上的等位基

因分化程度并不完全一样。

2.2 F₁ 花粉不育性基因型

在一个粳型亲籼系与台中 65 所配的组合 F₂ 群体中, 如果 OPS 真实存在, 则这一粳型亲籼系在 *S-c* 座位上携带 *Sⁱ* 基因, 否则带 *Sⁿ* 或 *S^j* 基因。

根据前述结果可推断出 G2416-3、G2605 和 G3004-4 在 *S-c* 座位上携带 *Sⁱ* 基因, 而 G2417-2-1 则带 *Sⁿ* 或 *S^j* 基因。为进一步确定 G2417-2-1 的等位基因, 分析了其分别与台中 65 和广陆矮 4 号杂交 F₂ 群体有关标记基因型的分布情况, 并进行了 χ^2 测验。表 2 的结果显示, RM232 和 RM07 分别在 2 个组合中均不出现偏态分离。这表明, 在 *S-c* 座位上来自 G2417-2-1 的等位基因与来自台中 65 的 *S^j* 基因及来自广陆矮 4 号的 *Sⁱ* 基因之间的遗传分化距离较小, 故该座位上 G2417-2-1 带中性基因 *Sⁿ*。

表 2 2 个测交组合 F₂ 群体中标记基因型的分布^{a)}

Tab. 2 Segregation pattern of molecular markers in two F₂ populations

组合 Crosses	项目 Items	标记 Markers						
		RM232			RM07			
G2417-2-1/ 台中 65	基因型 Genotype	1	2	3	1	2	3	
G2417-2-1/Taichong 65	个体数 Number of plants	50	111	53	无多态			
	χ^2 值 χ^2 value	0.38						
G2417-2-1/ 广陆矮 4 号	基因型 Genotype	1	2	3	1	2	3	
G2417-2-1/Guangluai 4	个体数 Number of plants	无多态			39	92	62	
	χ^2 值 χ^2 value				5.90			

注: a) 1 代表母本基因型, 2 代表杂合体, 3 代表父本基因型
Note: a): 1, 2 and 3 indicates maternal genotype, heterozygous genotype and paternal genotype, respectively

2.3 F₁ 花粉不育性基因遗传分化程度

对 *Sⁿ* 基因不必分级; 对 *Sⁱ* (*S^j*) 基因则根据 OPS 大小, 采用 5 级标准进行分级。OPS< 10.0, 记为 *Sⁱ⁻¹* (*S^{j-1}*); 10.0≤OPS< 20.0, 记为 *Sⁱ⁻²* (*S^{j-2}*); 20.0≤OPS< 30.0, 记为 *Sⁱ⁻³* (*S^{j-3}*); 30.0≤OPS< 40.0, 记为 *Sⁱ⁻⁴* (*S^{j-4}*); 40.0≤OPS≤50.0, 记为 *Sⁱ⁻⁵* (*S^{j-5}*)。其中 *Sⁱ* 基因的分级用粳型亲籼系与台中 65 测交 F₂ 群体计算的 OPS 值; *S^j* 基因的分级用粳型亲籼系与广陆矮 4 号测交 F₂ 群体计算的 OPS 值。

根据以上标准, 在 *S-c* 座位上 G2416-3 的基因型为 *Sⁱ⁻²*/*Sⁱ⁻²*; G2605 和 G3004-4 的基因型均为 *Sⁱ⁻¹*/*Sⁱ⁻¹*; G2417-2-1 的基因型为 *Sⁿ*/*Sⁿ*。

3 讨论

本研究结果表明: 不同粳型亲籼系在 *S-c* 座位上不但分化出 *Sⁱ* 和 *Sⁿ* 基因, 而且不同来源的 *Sⁱ* 基因表现出不同的遗传效应, 它们可看成是不同的等位基因, 因此 F₁ 花粉不育基因座位存在复等位基因, 这一结果无疑进一步支持了“特异亲和性”学术观点有关 F₁ 花粉不育基因存在遗传分化的假定。4 个

粳型亲籼系在 *S-c* 座位上带有 *Sⁱ* 或 *Sⁿ* 基因, 可以作为通过分子标记辅助选择育种培育新粳型亲籼系的供体亲本。

鉴定亲本材料的 F₁ 花粉不育基因型是开展粳型亲籼系育种的基础和前提, 大规模育种实践中必须寻找简便、快速和较为准确的方法。综合前人研究, 现有的测定方法可分为两种。一是标记分析法, 即通过分析测交分离群体中与不育基因座紧密连锁标记的偏态程度来推断被测系的基因型^[7, 10, 11], 这种方法简便易行, 但结果有时不可靠, 并且与不育基因座紧密连锁的形态标记较难找到。研究表明, 水稻亚种间杂种存在相当多的偏态因子, 同一个染色体上常有多个偏态区域或偏态因子分布^[12, 13], 当多个偏态因子与同一标记连锁时, 用标记的偏态分离程度来推断某一偏态因子的遗传效应或等位基因就有相当大的偏差。另一种是遗传效应分析法, 即通过分析测交后代群体的花粉育性来推断被测系的基因型。张桂权等^[3]以在某座位上分别带 *SⁱSⁱ* 和 *S^jS^j* 基因型的 2 个 T65 F₁ 花粉不育近等基因系为遗传测验种, 与供试品种杂交, 考察 2 个测交组合 F₁ 的花粉育性, 根据其差值来确定供试品种在该座位上的

等位基因及分化程度。这种方法较好地控制了遗传背景对 F₁ 花粉不育性的影响,测定结果准确可靠,但由于近等基因系较难培育,因此实践中难以应用。

本研究结合了 2 种方法,即同时检测测交 F₂ 群体的分子标记基因型和花粉不育性,根据杂合标记基因型的遗传效应来推断供试材料中 F₁ 花粉不育性基因型,它具有以下几方面的特点:①一旦某一 F₁ 花粉不育性基因座位被分子定位,就有可能获得多个连锁的分子标记;②采用分子标记追踪目的基因,可以将多个基因座位的遗传效应分解为各单个座位控制的遗传效应,因此一次测交试验可同时检测多个座位;③不必培育近等基因系,简便易行。不过本方法在控制遗传背景对 F₁ 花粉不育性基因表达的影响方面不如第 2 种方法,此外测交 F₂ 群体花粉育性的检测工作量也较大,仍有待改进。

参考文献:

[1] 张桂权,卢永根. 栽培稻(*Oryza sativa* L.) 杂种不育性的遗传研究 I . 等基因 F₁ 不育系杂种不育性的双列分析 [J] . 中国水稻科学, 1989, 3(3) : 97- 101.

[2] 张桂权,卢永根,张 华,等. 栽培稻(*Oryza sativa*) 杂种不育性的遗传研究 IV. F₁ 花粉不育性的基因型[J] . 遗传学报, 1994, 21(1) : 34- 41.

[3] 张桂权,卢永根,刘桂富,等. 栽培稻杂种不育性的遗传研究 III. 不同类型品种 F₁ 花粉不育性的等位基因分化 [J] . 遗传学报, 1993b, 20(6) : 541- 551.

[4] 张桂权,卢永根. 粳型亲粳系的选育及其在杂交水稻超高产育种上的利用[J] . 杂交水稻, 1999, 14(6) : 3- 5.

[5] 丁效华,陈跃进,杨长寿,等. 水稻粳型亲粳系亲和性的测定[J] . 中国水稻科学, 2002, 16(4) : 366- 368.

[6] 丁效华,陈跃进,杨长寿,等. 水稻粳型亲粳系粳型性的判别[J] . 中国水稻科学, 2003a, 17(1) : 21- 24

[7] 丁效华,张泽民,曾瑞珍,等. 水稻粳型亲粳系 S b 座位基因型鉴定[J] . 中国水稻科学, 2003b, 17(4) : 297- 301.

[8] Li W T, Zeng R Z, Zhang Z M, *et al* , Mapping of *S-b* locus for F₁ pollen sterility in cultivated rice using PCR based markers[J] . Acta Botanica Sinica, 2002, 44(4) : 463- 467.

[9] 张泽民,张桂权. 水稻 *S c* 座位的 PCR 标记精细定位及分子标记辅助选择[J] . 作物学报, 2001, 27(6) : 704- 709.

[10] Rick C M. Abortion of male and female gametes in the tomato determined by allelic interaction[J] . Genetics, 2001, 53(1) : 85- 96.

[11] Ikehashi H, Araki H. Genetics of F₁ sterility in remote cross of rice(*Oryza sativa* L.) [M] // Rice Genetics, IRRI, Manila, Philippines, 1986: 119- 130.

[12] Xu Y, Zhu L, Xiao J, *et al* . Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F₂ , back-cross, doubled haploid, and recombinant inbred populations in rice(*Oryza sativa* L.) [J] . Mol Gen Genet, 1997, 253(5) : 535- 545.

[13] Hanushima Y, Nakagahna M, Yano M, *et al* . A genome Wide Survey of Reproductive Barriers in an intraspecific hybrid [J] . Genetics, 2001, 159(2) : 883- 892.