

36个水稻骨干系的分子聚类 及其遗传育种学意义^{*}

I 分子标记多态性与杂交亲和性关系的研究

王松文

(天津农学院农学系, 天津 300381)

摘 要 对 36个水稻骨干系进行了 RFLP(限制性内切酶长度多态性)分析, 并对这些水稻材料的 162个杂交组合育性进行了分组分类研究。杂种育性的遗传基础研究表明, 亚种内杂交组合育性显著高于亚种间杂交组合育性。亚种间杂交不育性是由籼粳两个亚种间深刻的遗传分化引起的。广亲和性品种为亲本之一的杂交组合多数(71.7%)具有正常的育性, RFLP分析表明, 这些杂交组合的遗传基础特殊, 其遗传距离大于典型的亚种内组合距离, 而小于典型的亚种间遗传距离。广亲和性水稻种质的创建、改造和利用潜力是大的, 广亲和基因作用及其与杂种优势表现有关的若干遗传育种学问题要协同一并去解决。

关键词 水稻 限制性内切酶长度多态性 杂种不育性 广亲和性品种

杂种优势利用是现代水稻育种的一个重要方面。大量研究表明, 籼粳亚种间杂种有明显的优势, 具有很大的增产潜力, 但由于 F_1 半不育, 大大限制了在生产上的应用。近年来, 广亲和性基因的发现, 为亚种间杂种优势利用带来了光明的前景。

由于数万年水稻进化和近万年的稻作影响, 籼粳两个亚种发生了深刻的遗传分化^[1], 这一点已得到了分子生物学研究方面的证实^[3, 9]。因而, 用分子标记鉴定的遗传分化是否与杂交育性有关, 成为人们最感兴趣的问题之一。

最近, 我们分析了选自不同代表性的籼稻、粳稻、野生稻的 36个水稻骨干系的 162个杂交组合的杂种育性。研究结果表明, 亚种内组合育性正常, 亚种间组合育性很低(平均 27%), 广亲和性品种(WCV)与籼、粳稻品种杂交, 大多数组合(71.7%)能够产生正常的育性, 不同的育性基因分散在不同的杂交亲本中, 籼稻和粳稻遗传背景复杂地影响杂交亲和性。研究结果还表明, 现在育种中所选用的水稻骨干系的遗传基础很窄, 甚至在 K 值、L 值双向分布图上, 只是呈小的典型的哑铃形集中分布。

本课题旨在从更广的取材范围和更好的取材代表性入手, 开展亲本遗传分化与杂交亲和

性关系以及相关方面的研究。本文报道初步研究结果

1 材料和方法

1 1 水稻材料和田间试验

本研究选取了 36个水稻骨干系,包括 6份籼稻,8份粳稻,5份广亲和性材料(W CV),17份野生稻(表 1),这些材料均经过了严格的筛选具有更好的代表性,36个骨干系连同它们的杂交种共 198个材料,按随机区组设计,3次重复,1995年正季在华中农业大学试验场种植,育性考种按 15株真杂种取样,田间试验和数据收集按常规方法进行。

表 1 供试水稻骨干系

序号	品名或代号	备注	序号	品名或代号	备注	序号	品名或代号	备注
1	矮脚南特	籼	13	h20	广西	25	h9	福建
2	广陆矮四号	籼	14	h10	广西	26	h29	越南
3	农垦 58S	粳	15	h5	广西	27	h30	泰国
4	八月糯	粳	16	P16	江西(东乡)	28	培矮 64s	籼(W CV)
5	马罗糯谷	粳	17	h41	海南	29	培迪	籼(W CV)
6	竹丫糯	粳	18	h7	广东	30	轮回 422	籼(W CV)
7	勐守 1号	粳	19	h11	湖南	31	du lar	籼(W CV)
8	鸡血糯	籼	20	h15	湖南	32	02428	粳(W CV)
9	矮子乌骚	籼	21	h34	海南	33	巴利拉	粳
10	夷方糯	粳	22	h35	海南	34	秋光	粳
11	h12	湖南	23	h38	海南	35	南京 11	籼
12	W 2T	菲律宾	24	h42	海南	36	IR 36	籼

1 2 分子标记和实验室分析

亲本的多态性分析所用的 76个 RFLP 探针选自水稻的 12个不同染色体(图 1),探针按 Tanksley 等发表图谱依一定间隔进行选取,为了适当增加随机性,还选取了部分自制探针和日本基因组计划探针,样品 DNA 用三种限制性内切酶(BamH I EcoR I H indIII)消化,DNA 提取,Southern杂交等按文献〔7 9〕的方法进行。

1 3 数据处理和统计分析

分子标记数据处理参照文献〔3 9〕进行,多条带鉴定以有或无表示,在同一探针的不同酶切中,不同的酶切结果往往相关,这时只取一个探针 酶组合结果进行处理;遗传距离计算和系统聚类,根据余家林的方法〔4〕;数据统计在联想 586计算机上实现。

2 结果与分析

2 1 标记多态性

76个 RFLP探针中的 65个被用来统计多态性,共产生 345个多态性信息,粳稻平均产生 87.8个特异性带,籼稻平均产生 95.1个特异性带,而野生稻平均产生 104.8个特异性带,多态性水平野生稻>籼稻>粳稻,以前有过研究认为,野生稻与栽培稻的天然杂交群落包含着大

量的遗传变异^[2]。本研究不仅证实了分化—杂交环的存在,而且在分子生物学上确认,不论是栽培稻还是野生稻,都含有不同的保持其物种多态性的机制和基础。以野生稻为例,杂合性、多带型、特异性带现象不仅发生在具野生稻渗入的群落内,即便是隔离较好的原始型也同样有这些现象发生。

2.2 水稻品种的遗传相似性

籼粳稻可以准确地进行分组,按最小距离法得系统聚类图(见图2),19个栽培稻可清楚地分为两组。9个粳稻品种聚为粳亚种组,10个籼稻材料分为籼亚种组,广亲和性品种也可明显地分为籼或粳。野生稻的遗传相似性复杂,一般同一地域的材料遗传相似性明显,不同地域的野生稻遗传相似性不如同一地域那样明显,遗传相似性的情况也有例外,如广西野生稻间的分子特征差别是很大的。

2.3 不同杂交组合的育性分布

36个水稻骨干系的162个组合育性在0.72%~92.63%间呈连续分布。亚种内组合育性正常,籼粳亚种间组合半不育,广亲和性品种配组的组合大多育性正常。亲本基因型不同,育性变幅很大,特别是广陆矮四号、南京11配组的组合育性从2.6%到76.4%连续分布,表明育性基因在不同亲本中分布很不相同。在广亲和性品种为亲本之一的组合中,“Dular”表现了与籼或粳都有较好的亲和性(与籼平均67.94%,与粳平均56.31%),野生稻与栽培稻的杂交育性表现特殊,一般组合育性很低(<4.5%),只有江西、湖南野生稻例外,其杂交育性可达40%~70%。

2.4 遗传距离与杂交育性相关

遗传距离与杂交育性呈负相关($R = -0.5907$, $P < 0.01$)表明,杂种育性与亲本差异呈负相关。但是,这种相关需要做进一步分析。

由图3不难看出,在x轴上,按遗传距离分为不连续的两个集中区,一个是亚种内组合(籼×籼,粳×粳)区,遗传距离<5.48,一个是亚种间组合区,遗传距离>8.66。这种不连续分布主

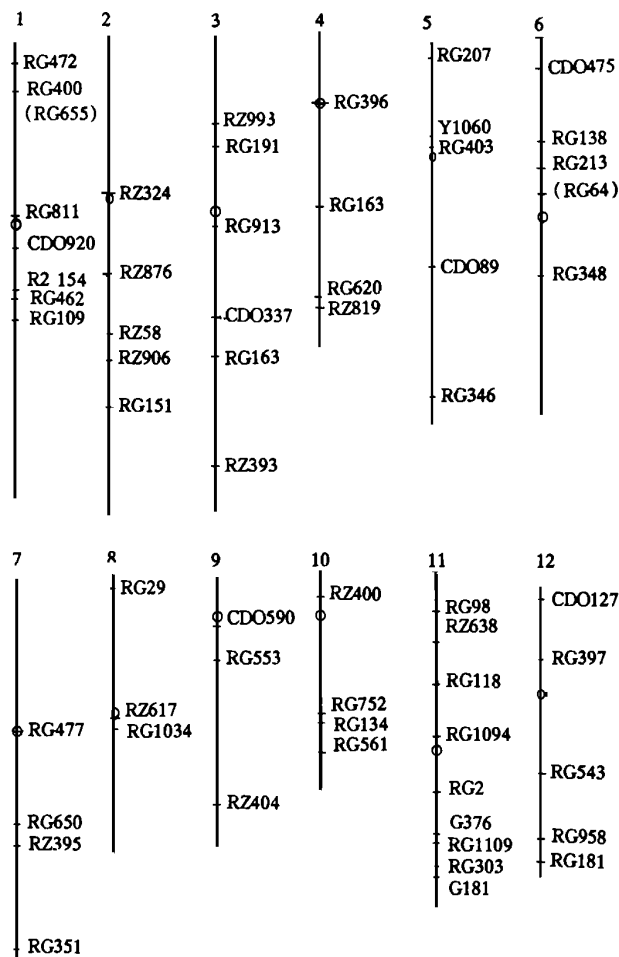


图1 分布于不同染色体区段上的RFLP探针

注:自制探针 RG0 101 104 106 107 112 114 117 118 125 152 169 187在分子连锁图上未定位。

要是由深刻的籼粳分化引起的。在亚种内遗传距离小, 杂种育性高; 而在亚种间, 遗传距离大, 杂种育性低。去掉这种显著的籼粳效应, 亚种内、亚种间、野栽间均不显著相关。

以 W CV 为亲本之一的组合间, 遗传距离与杂种育性不显著相关 ($R = -0.0912$, $P < 0.05$), 但情况较为特殊, 表现为较大的遗传距离, 较高的杂种育性 (图 2 图 3)。

遗传距离与杂交育性相关的情形是极为复杂的, 在我们的研究中发现① 供试组合的育性为 $0.72\% \sim 89.30\%$, 遗传距离则在 $0.90 \sim 9.22$ 中间还有一个间断区 (即 $5.48 \sim 8.66$), < 5.48 是亚种内组合, > 8.66 是亚种间组合; ② 图 3 清楚地显示, 亚种间组合遗传距离集中在 8.8 左右的一条狭带区域内, 而育性则广泛分布在 $3.3\% \sim 54.0\%$ 的较大范围内。亚种内组合, 育性多在 $60\% \sim 80\%$ 间, 而遗传距离在 $0.90 \sim 5.48$ 间广泛分布, 育性的连续性和遗传距离的不连续性是遗传距离与杂交亲和性不显著相关的一种直观表现。

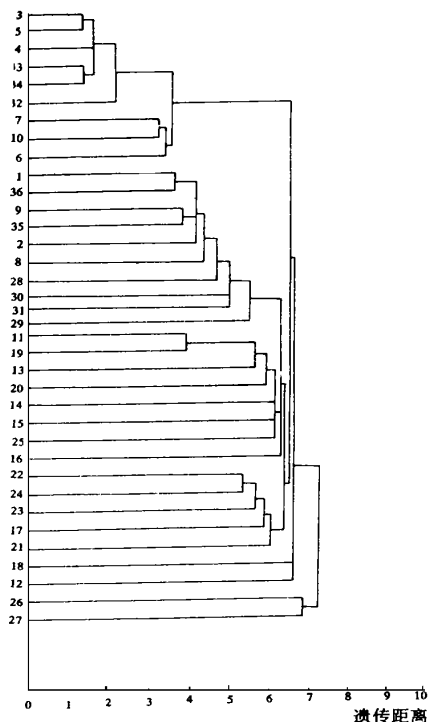


图 2 36个水稻骨干系的 RFLP 聚类

3 讨论

我们的研究结果表明, 籼、粳两个亚种间以及野栽稻种间均发生了深刻的遗传分化。36个水稻骨干系清楚地分为三组, 9个粳稻材料归入一组 ($D = 3.61$), 10个籼稻归入一组 ($D = 5.57$), 17个野生稻材料归类较为复杂 ($D = 6.63$)。从聚类图也可清楚地看出, 多态性水平趋势是野生稻 $>$ 籼稻 $>$ 粳稻, 这种趋势在不同的研究中曾出现过, 根据我们的研究, RFLP 多态性的带数也有这种趋势, 即野生稻 $>$ 籼稻 $>$ 粳稻。

栽培稻和野生稻的进化动力、进化方向和进化速度都是不同的, 栽培稻受自然选择和人工选择的双重选择压, 进化方向主要是籼粳两个方向的分化, 栽培稻越是接近现代, 在某些方向进化速度越快, 野生稻和栽培稻进化方向上的多向性和多种形式, 使得分子标记多态性 (遗传距离) 与杂交亲和性的关系极为复杂。在以前的研究中, Sarathe 指出, 遗传距离与杂种优势无直接相关^[9], Peng 等也持相似的观点^[8]。近年来随着水稻基因组研究的进行和分子生物学技术的发展, 水稻科学领域研究手段已发生了深刻变化。张启发等研究表明 106 个分子标记遗传距离大小对杂交亲和性的贡献是很小的, 但是, 用这些标记却能鉴定大量的对育性有显著效应的遗传位点。

本研究中发现, 任一广亲和性品种都能清楚地确定其籼粳归类, 但广亲和性品种的加入,

却能显著地增加亚种内组合的遗传多样性和特别地增加亚种内组合的遗传距离(图 2)。从供试杂交组合的育性结果看, 广亲和性品种为亲本之一的亚种内组合的结实率显著地高于亚种间组合。我们所作的育性与 RFLP 等分子标记相关分析, 提供了广亲和性品种产生广亲和性的分子生物学证据。

近年来, 与杂交育性有关基因位点的研究渐多起来, K inoshita 列出了 16 个与杂交不育性有关的基因位点^[6]; 李健雄等 (1995) 的研究表明, 与杂种育性有关的增效基因和减效基因在亲本中的分布是很不相同的; 张启发等 (1996) 利用 20 个水稻品种的完全双列杂交鉴定了大量杂交不育位点; W an 等则发现, 广亲和性品种的广亲和性基因与不育基因是同样存在的^[5]。水稻遗传学、育种学、分子生物学等方面的研究都表明, 杂种育性与杂种育性基因都是极其复杂的, 将不同的广亲和性基因集于同一品种, 尽量减少与结实率有关的减效位点, 在水稻育种中注意研究和改造遗传背景, 广泛配组, 杂种不育性问题是可部分或全部克服的。

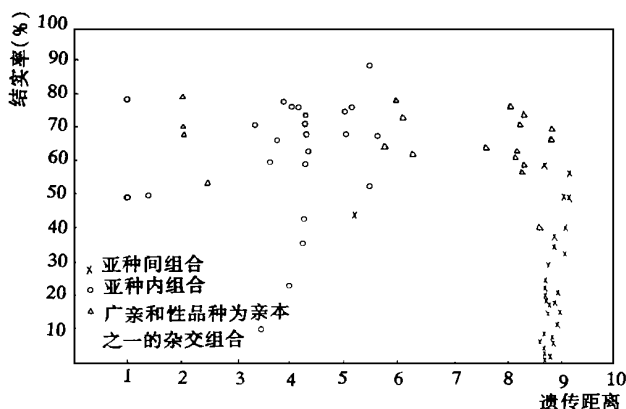


图 3 遗传距离与杂种育性相关

参 考 文 献

- 1 王象坤. 亚洲栽培稻的亚种及亚种间杂交稻的认定与分类. 见: 863 计划两系杂交水稻专题研讨会暨 1996 年海南年会论文汇编, 1996, 186~ 193
- 2 王象坤. 中国栽培稻的起源演化与分类. 见: 中国稻种资源. 北京: 中国农业科技出版社, 1993, 1~ 16
- 3 庄杰云, 等. 应用 RFLP 标记研究亚洲栽培稻的起源和分化. 中国水稻科学, 1995(3): 135~ 140
- 4 余家林. 农业多元试验统计. 北京: 北京农业大学出版社, 1993
- 5 W an J. Two new loci for hybrid sterility in cultivated rice TAG, 1996, 92, 183~ 190
- 6 K inoshita T. Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups Rice Genet New s, 1993, 10, 7~ 39
- 7 Kurata N. A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences Nature Genetics, 1994, 8, 365~ 372
- 8 Peng JY, V imani SS, Julfikar AW. Relationship between heterosis and genetic divergence Oryza 1991, 28, 129~ 133
- 9 Sarathe M L, Perraju P. Genetic divergence and hybrid performance in rice Oryza 1990, 27, 227~ 231
- 10 Zhang Q ifa A diallel analysis of heterosis in elite hybrid rice based on RFLP and microsatellites TAG, 1994, 89, 185~ 192

RFLP Analysis of 36 Rice Elite Line and Their Genetic Breeding Significance

Molecular Marker Diversity and Hybrid Sterility in Different Rice Crosses

Wang Songwen

(Department of Agronomy, Tianjin Agricultural College, Tianjin 300381)

Abstract RFLP analysis was carried out on 36 rice elite line. Sterility of these 162 rice hybrids was studied in groups and in types. The study on genetic basis of hybrid sterility showed that intra-subspecific hybrids had much higher spikelet fertility than inter-subspecific hybrids whose sterility was caused by extensive genetic differentiation of indica and japonica rice. RFLP analysis showed that most of rice hybrids (71.7%) one of whose parents was wide-compatibility varieties had normal hybrid sterility. The genetic basis of these rice hybrids was special. Their parental distance was farther than typical intra-subspecific hybrids and less than typical inter-subspecific hybrids. The study also showed that establishment, improvement and utilization potentialities of wide-compatibility gene and some of its genetic breeding problems related to heterosis performance needed to be solved together.

Key words Rice; Restriction fragment length polymorphism (RFLP); Hybrid sterility; Wide-compatibility varieties