

籼粳分类的形态指数及其相关鉴定性状的遗传分析*

钱前^{①②} 何平^① 郑先武^① 陈英^① 朱立煌^{①**}

(^①中国科学院遗传研究所, 北京 100101; ^②中国水稻研究所, 杭州 310006)

摘要 利用通过典型籼粳交 F_1 代加倍所构建的一个 DH 群体为材料, 考察了 121 个 DH 株系的程氏指数及其相关的 6 个鉴定性状, 并进行了数量性状座位(QTLs)分析. 分别检测到叶毛的 2 个主效基因、谷粒长宽比的 3 个 QTLs、稃色的 1 个 QTL、稃毛的 1 个 QTL、穗轴 1~2 节长的 2 个 QTLs 及酚反应的 1 个主效基因和 2 个 QTLs. 另外检测到与形态指数有关的 4 个 QTLs, 分别在第 1, 3, 4 和 6 染色体上. 其中第 1, 3 和 6 染色体上控制形态指数的 3 个 QTLs 分别与鉴定性状的部分 QTLs 位于同一区间.

关键词 籼粳亚种 形态指数 鉴定性状 QTL 分析

我国早在两千年前就已认识到水稻有籼粳之分^[1], Kato 等人^[2]最早应用现代科学分类法认定: 籼稻和粳稻是在植物学上亲缘关系较远的两种类型. 此后, 籼粳分类及其分化作为稻作研究的重点之一, 一直受到各国研究者的广泛重视^[3]. Oka 评价了根据粒形、稃毛和叶毛的有无, 以及对苯酚、次氯酸钾的反应来进行籼粳划分的可靠性^[4]. 程侃声等人^[5]发现籼粳稻之间还有许多细小差别, 提出了以形态指数为主要指标的形态指数法. 作为一种简便、快速而可靠的多性状鉴定方法^[6], 已被普遍应用于籼粳分类及亚种间杂交稻选育上.

由于此法将控制籼粳的形态指数及其 6 个鉴定性状作为一个整体进行研究, 因此采用传统的遗传学方法一直难以鉴定单个基因的遗传效应以及与之相关的染色体区域, 更难确定其相关的基因位点在染色体上的确切位置.

近年来, RFLP, AFLP 及微卫星标记技术在水稻上得到了进一步发展, 并构建了相应的分子遗传图谱. 这为分析控制数量性状的基因位点数目、在染色体上的位置及各个 QTLs 的遗传效应等提供了新的方法. 事实上, 分子标记已被广泛用于水稻重要农艺性状 QTLs 的定位^[7~10].

本研究尝试应用一对典型的籼粳交花药培养加倍的 DH 群体及其构建的分子连锁图谱, 对程氏形态指数和 6 个鉴定性状进行遗传分析和 QTLs 定位, 以探讨籼粳分类的分子基础及其育种意义.

1 材料与方法

1.1 籼/粳加倍单倍体(DH)群体的产生

以典型籼稻窄叶青 8 号(ZYQ8)与粳稻京系 17(JX17)为亲本进行杂交, 对 F_1 代花药进行培

1999-01-25 收稿, 1999-05-06 收修改稿

* 中国水稻基因组研究计划资助项目

** 联系人(E-mail: lhzhu@igtp.ac.cn)

养共获得纯合二倍体(DH系)150多个,本研究选取其中121个进行研究.

1.2 DH群体的形态指数、鉴定性状的考察

在北京中国科学院遗传研究所实验场,每个DH株系(即加倍单倍体)种植两行,每行20株,每隔10个株系种植父母本各1行作为对照.根据王象坤等人^[11]介绍的方法,田间记录叶毛、稃毛、抽穗时稃色、穗轴第1~2节长和谷粒长宽比(经实测10粒验证),实验室进行苯酚染色反应.各性状按0~4级评分,计算总分.

1.3 QTL分析

在业已构建的DH群体遗传图谱的基础上,采用区间作图法用Mapmaker/QTL软件对形态指数、叶毛、抽穗时稃色、稃毛、穗轴第1~2节长、谷粒长宽比、酚反应进行QTLs定位分析.采用LOD值2.0作为阈值来判断QTL的存在,若标记区间LOD>2.0,则认为该区间LOD值最高处所对应的位点即为该性状的一个QTL.同时还计算了每个QTL对各性状的贡献率和加性效应,QTLs的命名原则遵循文献^[12].

2 结果和分析

2.1 程氏形态指数及鉴定性状在双亲及DH群体中的表现

籼稻窄叶青8号及粳稻京系17曾分别在我国南方稻区和北方地区推广种植.根据程氏形态指数和6个鉴定性状的考察(表1),母本窄叶青8号是指数为4的典型籼稻,父本京系17则

表1 形态指数及6个鉴别性状在亲本间的差异

性状	形态指数	叶毛	抽穗时稃色	稃毛	穗轴第1~2节长	谷粒长宽比	酚反应
ZYQ8	4	0	1	1	0	2	0
JX17	21	4	3	4	2	4	4
差异	17	4	2	3	2	2	4

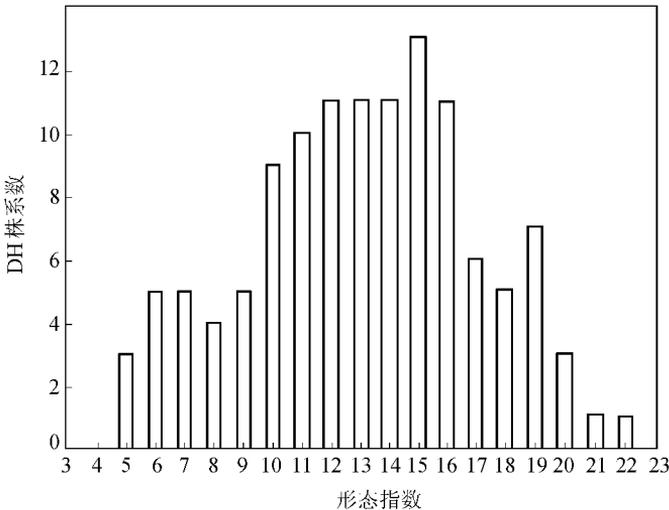


图1 DH群体形态指数分布

是指数为21的典型粳稻.如图1所示,121个DH株系的形态指数呈正态分布.根据此指数对各DH系的籼粳属性进行分类,可以看出籼型(指数范围为4~8)和粳型(指数范围为18~22)均为14%;偏籼型(9~13)和偏粳型(14~17)各占38%和33.9%.DH群体抽穗时的稃色、稃毛、叶毛、第1~2穗轴节长、谷粒长宽比及酚反应6个鉴定性状分布如表2所示,抽穗时的稃色、穗轴第1~2节长和谷粒长宽比在DH群体中呈现连续分布,各个性状均有一定数量的超亲遗传类型存在,表现出数量性状的遗传特点.而叶毛、稃毛和酚反应表现为双峰分布,表明这些性状受主效基因和若干微效基因控制.

表 2 6 种分类性状在 DH 群体中的分布和平均等级

性状	DH 等级					平均等级
	0	1	2	3	4	
叶毛	31	24	0	20	46	2.21
抽穗时稈色	8	32	8	70	3	2.23
稈毛		39		74	8	2.43
穗轴第 1~2 节长	4	55	34	21	7	1.78
谷粒长宽比		24	41	47	9	2.33
酚反应	41	11	0	16	48	2.11

2.2 QTL 定位

利用该 DH 群体已构建了一张包括 243 个标记的水稻 RFLP 连锁图谱, 各标记均匀分布于全部 12 条水稻染色体上, 因此适合于本研究 QTL 区间定位^[13]。

表 3 列出了对 121 个 DH 系形态指数、叶毛、抽穗时稈色、稈毛、穗轴第 1~2 节长、谷粒长宽比、酚反应的 QTLs 定位结果。在第 6 染色体上相邻部位分别检测到了与叶毛有关的 2 个主效基因 *qLH-6a* 和 *qLH-6b*, 贡献率分别达到 40.0% 及 58.2%, 两者加性效应均为正, 即来自 JX17 的基因控制叶毛。对抽穗时的稈色检测到 1 个 QTL *qCHH-1*, 位于第 1 染色体上, 其加性效应亦为正, 对该性状的贡献率达 18.2%。在第 6 染色体检测到 1 个控制稈毛的 QTL *qHH-6*, 其加性效应为负, 表明该位点由 ZYQ8 贡献, 贡献率达 14.5%。对穗轴第 1~2 节间长在第 1 和 3 染色体上检测到 2 个 QTLs *qLPI-1* 和 *qLPI-3*, 其加性效应为正, 贡献率分别为 10.2% 和 16.4%。在第 1, 2 和 3 染色体上检测到 3 个与谷粒长宽比有关的 QTLs *qLWR-1*, *qLWR-2* 和 *qLWR-3*, 加性效应均为正, 贡献率分别为 9.7%, 18.3% 及 13.4%。在第 1, 4 染色体检测到 1 个主效基因和 2 个 QTLs 与酚反应有关, 加性效应均为正。其中位于第 4 染色体上主效基因 *qPH-4a*

表 3 与形态指数及鉴别性状有关的各数量性状的基因定位^{a)}

性状	位点	染色体	标记区间	LOD 值	贡献率/%	加性效应
形态指数	<i>qMI-1</i>	1	CT380A ~ GA594	5.05	19.8	3.40
	<i>qMI-3</i>	3	C746 ~ GA505	2.21	10.2	2.44
	<i>qMI-4</i>	4	C513 ~ G271	2.16	13.4	2.86
	<i>qMI-6</i>	6	G1314B ~ GA216	3.74	17.1	3.16
叶毛	<i>qLH-6a</i>	6	G1314B ~ K9D2D7D	20.38	40.0	3.26
	<i>qLH-6b</i>	6	K9D2D7D ~ GA216	33.83	58.2	3.56
抽穗时稈色	<i>qCHH-1</i>	1	GA594 ~ R210	4.95	18.2	0.92
稈毛	<i>qHH-6</i>	6	RG433 ~ G342	2.15	14.5	-0.67
穗轴第 1~2 节长	<i>qLPI-1</i>	1	RG541 ~ RG101	2.76	10.2	0.62
	<i>qLPI-3</i>	3	C746 ~ CA505	3.11	16.4	0.79
谷粒长宽比	<i>qLWR-1</i>	1	R210 ~ CT441	2.61	9.7	0.54
	<i>qLWR-2</i>	2	GA120 ~ G357	4.61	18.3	0.74
	<i>qLWR-3</i>	3	C63 ~ CT125	3.65	13.4	0.64
酚反应	<i>qPH-1</i>	1	R210 ~ CT441	3.51	14.9	1.41
	<i>qPH-4a</i>	4	G177 ~ CT206	37.63	94.6	3.54
	<i>qPH-4b</i>	4	CT404 ~ CT500	7.65	29.5	1.98

a) QTLs 的命名原则遵循文献^[12]

贡献率高达 94.6%，位于第 1, 4 染色体上 2 个 QTLs *qPH-1* 和 *qPH-4b* 贡献率分别为 14.9% 和 29.5%。检测到了与形态指数有关的 4 个 QTLs，即 *qMI-1*, *qMI-3*, *qMI-4* 和 *qMI-6*，分别位于第 1, 3, 4 和 6 染色体上，其加性效应均为正，即来自 JX17 的 QTLs 对形态指数表现影响大，对该性状总的贡献率达 60.5%。其中位于第 1 染色体上的 *qMI-1* 对该性状的贡献率达 19.8%，*qMI-3*, *qMI-4* 和 *qMI-6* 的贡献率则分别为 10.2%，13.4% 和 17.1%。

通过比较发现，位于第 1 染色体上控制形态指数的 *qMI-1* 与控制酚反应的 *qPH-1*、控制谷粒长宽比的 *qLWR-1* 和控制抽穗时稃色的 *qCHH-1* 基本上位于同一区域，第 3 染色体上控制形态指数的 *qMI-3* 与控制穗轴第 1~2 节间长的 *qLPI-3* 位于同一区域，第 6 染色体上控制形态指数的 *qMI-6* 与控制叶毛的 *qLH-6b* 处于同一区域(图 2)。

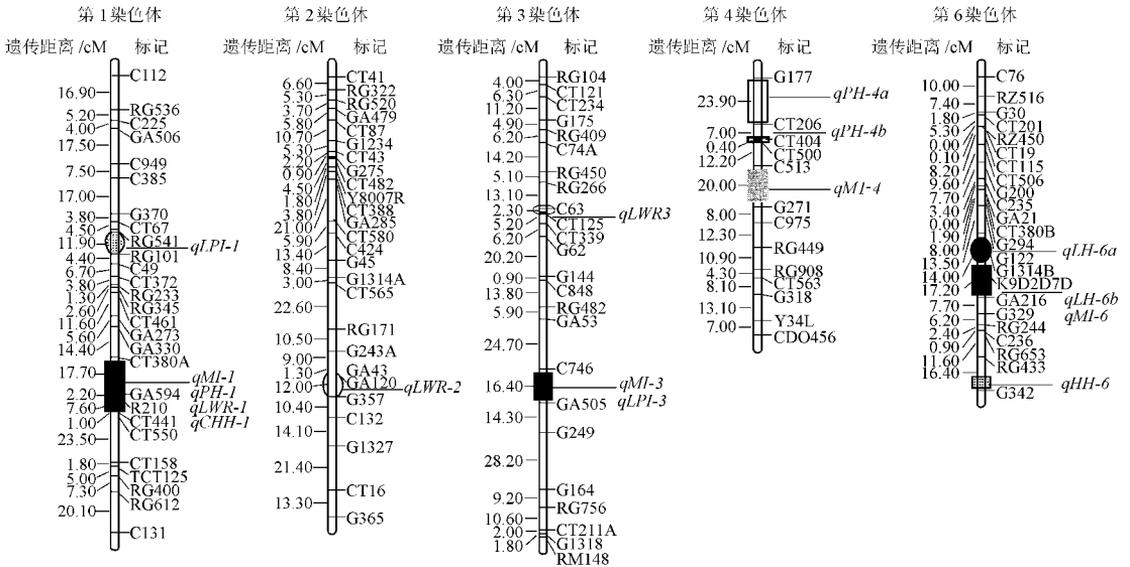


图 2 形态指数及其相关鉴定性状的 QTLs 在分子图谱上的位置

3 讨论

从 QTLs 分析结果可以看出，与粳籼特征有关的性状的遗传大多受微效基因控制。在本研究中定位的影响程氏指数的 4 个 QTLs 分布在 4 条不同的染色体上，均与某个或某些鉴定性状的 QTLs 相关，其中第 1 染色体上的 CT380A ~ GA594 区间与控制抽穗时的稃色、谷粒长宽比和酚反应的 3 个微效基因所在的区间重叠；第 3 染色体上的 C746 ~ GA505 区间与控制穗轴第 1~2 节长的 1 个微效基因所在的区间相同；第 6 染色体上的 G1314B ~ K9D2D7D 区间与控制叶毛的 2 个主效基因所在的区间重叠或相邻；第 4 染色体上的 C513 ~ G271 区间与 2 个控制酚反应的主效和微效基因相近。这暗示第 1, 2, 4 和 6 染色体上的这 4 个区间是涉及粳籼分化的重要区域。另外，在第 1 染色体的 RG541 ~ RG101，第 2 染色体的 GA43 ~ G357，第 3 染色体的 C63 ~ CT125 和第 6 染色体末端的 RG433 ~ G3042 区间都存在控制鉴定性状的 QTLs。因此本实验所发现的与粳籼分类有关的 QTLs 主要分布在第 1, 2, 3, 4 和 6 染色体上。我们也注意到，第 1, 3 和 4 染色体定位的 QTLs 区间标记密度相对较稀，可能影响定位的精确

度.但随着 DH 永久群体在这些染色体区域的 DNA 标记数目的增加,定位的精确度将会得到提高.另外, LOD 值较小的几个 QTLs 在不同环境下能否稳定表现,也将在进一步研究中加以证实.

本研究检测到控制叶毛的 2 个主效基因,它们位于第 6 染色体相邻区域. Kinoshita 等人^[14]发现叶毛由 2 个显性重复基因 *HL-a* 和 *HL-b* 控制,其中 *HL-a* 通过标记基因法被定位于第 6 染色体,两个结果的位点是否相同还有待进一步的基因等位性鉴定.从抽穗时的稃色在 DH 群体中的分布看,似由 1 个主效基因控制, QTL 分析也只在第 1 染色体上发现 1 个 QTL, LOD 值为 4.95; 稃毛、穗轴第 1~2 节长和谷粒长宽比在 DH 群体中均呈正态分布,属数量性状.对这 3 个性状分别检测到 1, 2 和 3 个 QTLs, 分布在 4 条不同染色体上. 酚反应呈双峰分布,检测到的 1 个主效基因与 Lin 等人^[15]定位在第 4 染色体分子图谱上的 *Ph* 基因的位置接近. 但本研究用 QTL 分析还检测到两个微效基因分别位于第 4 染色体与主效基因相邻的位置(LOD 值为 7.65)和第 1 染色体上(LOD 值为 3.51).

对籼、粳分化及分类的研究经历了相当长的时间,大部分研究都采用形态指数、杂交亲和性和同工酶作为分析指标.近年来分子标记被用于研究籼、粳分化的机制,使人们对这一问题有了新的认识. Zhang 等人^[16]用 49 个 RFLP 探针检测籼与粳的遗传多样性与差异,发现 33 个探针在两个亚种间出现显著差异.他们推测籼粳分化过程涉及许多分子水平的变化,包括碱基代换和插入/缺失. 钱惠荣等人^[17]用 68 个 RFLP 标记对 15 个籼、粳品种进行筛选,得到 24 个具有籼、粳特异性的标记,并发现某些籼稻基因组中的序列在粳稻不存在.上述两者的研究仅是选用一系列不同的籼、粳品种作为研究对象,所用的探针数目也较少. 钱前等人^[18]曾利用南京 11 与金南凤典型的籼粳交 F_2 群体,研究了程氏指数与 RFLP 标记关系,发现了 5 个零等位标记与籼、粳分化有关;但该研究群体 F_2 代各单株基因型是杂合的、群体偏小且标记数目有限. 本研究采用了由典型籼粳交花药培养产生的 DH 群体,该群体的 121 个株系的基因型稳定^[19],其遗传图谱上的分子标记密度较高,且标记分布均匀,已成功地定位了多种不同性状的 QTLs^[9,13],因此是研究籼粳分化的一个较好的永久性群体.

众所周知,籼粳亚种在其他性状上也有明显分化,如粳稻具备易花药培养特性、耐寒性等有利性状;而籼稻则不具备. 何平等^[13]曾利用同一 DH 群体定位了与花培特性有关的 QTLs, 钱前等人^[20]最近又用该群体定位了耐寒性的 QTLs. 将利用同一 DH 群体定位的这两个性状的 QTLs 与本研所得程氏指数及鉴定性状的 QTLs 进行比较可以发现,与绿苗分化率、绿苗产率有关的 1 个微效基因与控制穗轴第 1~2 节长的 1 个微效基因均位于第 1 染色体上的 RG541~RG101 区间. 与愈伤组织诱导率有关的 1 个微效基因与控制程氏指数的 1 个微效基因、控制叶毛的 2 个主效基因都同处于第 6 染色体上的 G1314B~K9D2D7D 区间及相邻区域^[13]. 在检测到的 4 个苗期耐寒性 QTLs 之中,有 1 个与控制谷粒长宽比的 QTL 都位于第 3 染色体的 C63~CT125 区间;另外 3 个分别与第 1 染色体上的控制穗轴第 1~2 节长的 QTL、第 2 染色体上的控制谷粒长宽比的 QTL、第 4 染色体上的控制程氏指数的 QTL 紧密连锁^[20]. 这些定位结果表明花药培养能力和耐寒性也与籼粳分化有关.

参 考 文 献

- 1 丁 颖. 中国栽培稻种的分类. 见: 丁 颖. 丁颖稻作论文集. 北京: 农业出版社, 1983. 74~93
- 2 Kato S, Kosaka H, Hara S. On the affinity of rice varieties as shown by fertility of hybrid plants. Rep Bull Sci Fac Agr Kyushu

- Univ, 1928, 3: 132 ~ 147
- 3 Takane M. Origin and differentiation of cultivated rice. Science of Rice Plant Genetics, Volume III. Tokyo: Japan Food Research Center, 1997. 105 ~ 110
 - 4 Oka H L. Intervarietal variation and classification of cultivated rice. Ind J Genet & Pl Breed, 1958, 18: 79 ~ 89
 - 5 程侃声, 周季维, 卢义宣, 等. 云南稻种资源的综合研究与利用: 2. 亚洲栽培稻分类的再认识. 作物学报, 1984, 10(4): 271 ~ 279
 - 6 周 汇, Glaszmann J C, 程侃声, 等. 栽培稻分类方法的比较. 中国水稻科学, 1988, 2(1): 1 ~ 7
 - 7 Li Z K, Pinson S K M, Stansel J W, et al. Identification of quantitative trait loci (QTLs) for heading date and plant height in cultivated rice (*Oryza sativa*). Theor Appl Genet, 1995, 91: 374 ~ 382
 - 8 Lin H X, Qian H R, Zhuang J Y, et al. RFLP mapping of QTLs for yield and related characters in rice (*Oryza sativa*). Theor Appl Genet, 1996, 92: 920 ~ 927
 - 9 Lu C, Shen L, Tan Z, et al. Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments using a doubled haploid population. Theor Appl Genet, 1996, 93: 1 211 ~ 1 217
 - 10 Xiao J, Li J, Yuan L, et al. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. Theor Appl Genet, 1996, 92: 637 ~ 643
 - 11 王象坤, 程侃声, 黄乃威, 等. 亚洲栽培稻起源演化中两个重要稻种类型的研究. 遗传学报, 1987, 14(4): 262 ~ 270
 - 12 McCouch S R, Cho Y G, Yano M, et al. Report on QTL nomenclature. Rice Genet Newslett, 1997, 14: 11 ~ 13
 - 13 何 平, 沈利爽, 陆朝福, 等. 水稻花药培养力的遗传分析及基因定位. 遗传学报, 1998, 25(4): 337 ~ 344
 - 14 Kinoshita T, Takahashi M. A supplementary report on genes responsible for pubescence of glumes and leaves in rice plants. *XX X II Memoirs Fac Agri Hokkaido Univ*, 1968, 6: 364 ~ 370
 - 15 Lin S Y, Nagamura N, Kurata M, et al. DNA markers tightly linked to genes, Ph, alk and Rc. Rice Genet Newslett, 1994, 11: 108 ~ 109
 - 16 Zhang Q F, Saghai M A, Lu T Y, et al. Genetic diversity and differentiation of indica and japonica rice detected by RFLP analysis. Theor Appl Genet, 1992, 83: 495 ~ 499
 - 17 钱惠荣, 沈 波, 林鸿宣, 等. 应用水稻籼粳特异性 RFLP 标记及广亲和品种亲缘关系分析. 中国水稻科学, 1994, 8(2): 65 ~ 71
 - 18 钱 前, 朱立煌, 曹立勇, 等. 水稻零等位籼粳特异性 RFLP 标记的遗传学研究. 植物学报, 1997, 39(11): 1 042 ~ 1 047
 - 19 Chen Y, Lu C, He P, et al. Gametic selection in a doubled haploid population derived from anther culture of indica/japnic a hybrid of *Oryza sativa* L. Chinese Jour of Genet, 1997, 24: 201 ~ 209
 - 20 钱 前, 曾大力, 何 平, 等. 水稻籼粳交 DH 群体苗期的耐冷性 QTLs 分析. 科学通报, 1999, 44(22): 2 402 ~ 2 407