

不同生态条件下水稻籼粳交后代亚种分化机制 *

王鹤潼^{1,2} 金 峰¹ 江奕君³ 林青山⁴ 徐 海¹ 陈温福¹ 徐正进^{1**}

(¹沈阳农业大学水稻研究所农业部东北水稻生物学与遗传育种重点实验室/教育部北方粳稻育种重点实验室, 沈阳 110866;

²中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; ³广东省农业科学院水稻研究所, 广州 510640; ⁴广东省农业技术推广总站, 广州 510500)

摘要 粳粳交育种已成为国内最重要的育种方法之一, 明确籼粳亚种分化机制是指导籼粳交育种的关键。本文用 InDel(插入/缺失)和 ILP(内含子长度多态性)标记, 对在辽宁省和广东省种植并用单粒传法、混合法及系谱法构建的籼粳交(七山占/秋光)F₆代群体进行分析。结果表明: 混合法与单粒传法群体无偏分离, 穗型判别值(*Dj*)集中在40%~60%之间; 两地系谱法群体总体偏籼(30%~55%), 且广东群体(38%)比辽宁(42%)偏籼, 两地群体分布呈显著差异。混合法与单粒传法群体中*Dj*与重要农艺性状基因区域血缘呈显著正相关; 而在系谱法中部分正相关被打破, 且两地群体籼粳血缘呈规律性分布。表明人工选择是影响籼粳分化的主要因素, 并与自然选择协同作用引起群体偏分离现象; 群体中一些重要农艺性状的变化与籼粳分化间存在紧密的关系, 这可能是影响籼粳交育种在综合亚种优势上未达到预期效果的关键。

关键词 粳粳稻杂交 粳粳分化 生态条件 选择方法 分子标记

文章编号 1001-9332(2013)11-3123-08 **中图分类号** Q33; S336 **文献标识码** A

Mechanisms of subspecies differentiation in a filial generation of rice *indica-japonica* hybridization under different ecological conditions. WANG He-tong^{1,2}, JIN Feng¹, JIANG Yi-jun³, LIN Qing-shan⁴, XU Hai¹, CHEN Wen-fu¹, XU Zheng-jin¹ (¹Ministry of Agriculture Key Laboratory of Northeast Rice Biology and Breeding/Ministry of Education Key Laboratory of Northern Japonica Rice Genetics and Breeding, Rice Research Institute, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; ²Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; ³Rice Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; ⁴Guangdong Province General Station for Crop Technology Extension, Guangzhou 510500, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2013, 24(11): 3123–3130.

Abstract: *Indica-japonica* hybridization is one of the most important breeding methods in China, whereas identifying subspecies differentiation mechanisms is the key in *indica-japonica* hybridization breeding. By using InDels (Insert/Deletion) and ILPs (Intron Length Polymorphism), an analysis was made on the F₆ populations derived from the hybridization of *indica-japonica* (Qishanzhan/Akihikari) planted in Liaoning and Guangdong provinces and generated by bulk harvesting (BM), single-seed descent methods (SSD), and pedigree method (PM). No segregation distortion was observed for the BM and SSD populations. The frequency distribution of *japonica* kinship percentage (*Dj*) was concentrated in 40%–60%. The PM populations in the two provinces presented *indica*-deviated distribution (30%–55%), with significant difference between Guangdong (38%) and Liaoning (42%). In addition, there was a significant positive correlation between the *Dj* and the kinship of functional gene regions in the BM and SSD populations. However, part of the positive correlation was broken in the PM populations that showed a regular distribution in the genotype patterns of *indica* and *japonica* loci. The above results demonstrated that artificial selection could be the main factor affecting the population differentiation in *indica-japonica* hybridization, and, with the synergistic effect of natural selection, induced the phenomenon of segregation distortion. There

* 国家自然科学基金项目(30971845)资助。

** 通讯作者. E-mail: xuzhengjin@126.com

2013-03-18 收稿, 2013-08-21 接受。

existed a close relationship between the differentiation of subspecies and the important agronomic traits, which could be the main reason why *indica-japonica* hybridization breeding could not achieve the expected effect of combining the two subspecies advantages.

Key words: *indica-japonica* hybridization; subspecies differentiation; ecological condition; method selection; molecular marker.

亚洲栽培稻分为籼稻和粳稻两个亚种^[1-2],以综合亚种优势为目标的籼粳稻杂交育种在近些年受到越来越多的关注,因为其后代可以产生丰富的变异和杂种优势,蕴藏巨大的遗传潜力^[3-5].自从 Kato 等^[2]在 1928 年提出了以粒形、稃毛以及杂交亲合力为指标区分籼粳亚种开始,对籼粳亚种分类的研究逐渐增多. Oka^[6]将叶毛、酚反应及氯酸钾抗性增加为籼粳分类指标,而程侃声等^[7]将众多方法总结和归纳并创立程氏指数法,此方法在籼粳分类及籼粳交育种中作为形态学指标已经得到国际上的认可^[8].随着分子生物学的发展及应用,以 DNA 指纹技术为基础的分子标记技术以及 DNA 测序技术已广泛应用于水稻的起源、驯化和分类研究^[9-12],以基因组 DNA 片段的差异来表示遗传背景的多样性,用来分析籼粳成分^[13].同时 RFLP^[14-15]、RAPD^[16-17]、SSR^[18]、InDel^[19-20] 和 ILP^[21] 等多种标记的开发,以及通过标记分析典型籼粳稻而筛选出具有极高籼粳特异性的分子标记的应用,使籼粳亚种的分类及籼粳交群体的分化研究更加准确和简便.对维管束^[22]、程氏指数^[23-24]和叶片气孔^[3]等性状的研究,发现籼粳稻杂交育成品种并未完全实现综合籼粳亚种优势的目标,而是受生态适应性影响基本保持了典型籼粳稻的特性^[25-26].因此,明确籼粳亚种分化机制成为解决籼粳稻杂交育种中出现的难题的关键.与此同时,早在 20 世纪 50 年代就有学者提出“籼稻改粳稻”,之后在长江中下游流域得到迅速发展^[27],并在一些地区成功选育出一批优质粳稻品种^[28-31],然而仍有一些地区在选育上未获得突破^[32],而籼粳稻杂交育种可能成为克服此难点的关键.近年来,关于籼粳分化在自然群体^[33]、加倍单倍体(DH)^[34]、片段代换系(CSSL)^[35]以及重组自交系群体(RIL)^[25-26]中都有研究.笔者也从重组自交系入手,但不同的是在群体构建过程中,从低世代到高世代对群体分化进行动态研究,探讨生态环境、后代处理方法对籼粳亚种形态及遗传分化的作用机制^[36],这类研究在国内外鲜见报道.本文从籼粳交 F₆ 代入手,分析生态条件、后代处理方法对籼粳交后代群体分化的影响,为籼粳稻杂交育种和实施“籼

稻改粳稻”提供理论指导.

1 材料与方法

1.1 籼粳交后代群体的构建

以典型籼稻材料七山占与典型粳稻材料秋光为亲本进行杂交, F₁ 代种子于海南,从 F₂ 代开始分别种植于辽宁省沈阳市沈阳农业大学(41°49' N, 123°34' E) 和广东省广州市广东省农业科学院(23°25' N, 113°25' E),并经过海南加代,分别通过混合法、单粒传法以及系谱法得到 F₆ 代群体.种植栽培管理完全按照当地生产标准:辽宁于 4 月 18 日播种,5 月 18 日移栽,行距 30 cm,株距 13.3 cm;广东于 5 月 5 日播种,5 月 24 日移栽,行距 20 cm,株距 20 cm;每株系种 3 行,每行 10 株,共 30 株.

混合法群体为从 F₂ 代开始全部收获并统一脱粒,种子混合均匀后,随机取种用于下一代种植,使用该方法得到的群体,遗传频率完全由繁殖系数决定,即产量越高的株系其所占遗传频率越高,代表自然选择对群体分化的作用;单粒传法群体为从 F₂ 代开始进行按株留种,保证群体的遗传频率,使用该方法得到的群体,基本上保留了群体原本的遗传频率,代表遗传重组对群体分化的作用;系谱法群体从 F₂ 代开始对群体进行人工选择,对一些拥有较好农艺性状的株系留种,尤其是对拥有较好结实率的株系,使用该方法得到的群体,每个株系都拥有一些优异的农艺性状,代表人工选择对群体分化的作用.所有后代处理方法的群体,都从 F₆ 代开始按穗行种植, F₂ 到 F₅ 代都为混合种植,奇数世代都种于海南.

1.2 分子标记分析

本试验采用 62 个 InDel (Insert/Deletion)^[20] 和 ILP (Intron Length Polymorphism)^[21] 标记,该标记以日本晴和 93-11 的序列为基础开发,并经过一些典型籼粳稻进行验证,为具有籼粳特异性的中性标记,同时经过本文中所使用的亲本验证,保证标记在亲本中有籼粳特异性差异(七山占 Dj 为 0%, 秋光 Dj 为 100%),引物由北京华大基因合成.根据 IRGSP 的物理图谱用 MapChart 绘制而成标记连锁图(图 1).DNA 提取采用 CTAB 法^[37] 使用德国 Qiagen

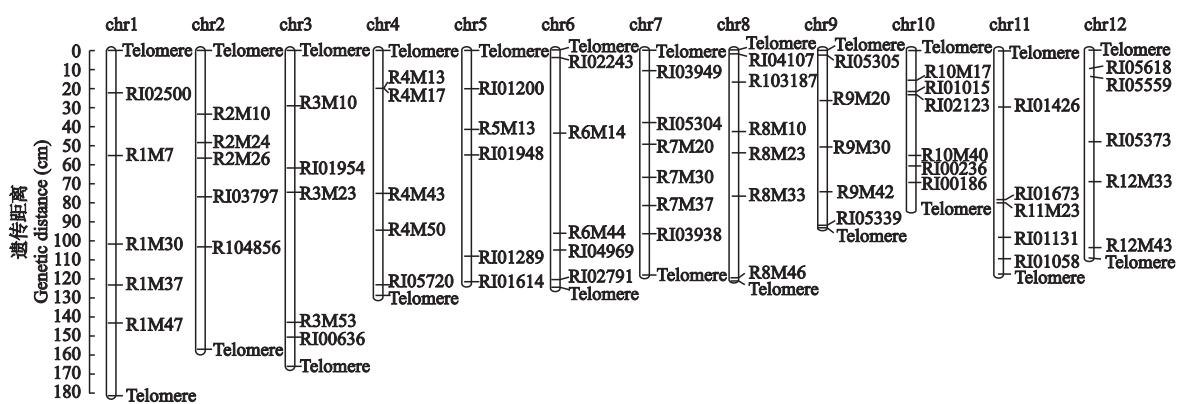


图 1 InDel 及 ILP 标记连锁图

Fig. 1 Linkage map of InDel and ILP markers.

TissueLyser 提取 PCR 体系 $15 \mu\text{L}$, 包括: 50 ng DNA 模板、 $7.5 \mu\text{L} 2\times \text{Taq MasterMix}$ (北京康为世纪公司) 和 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 正反引物. PCR 反应使用 ABI GenePCR System 9700, 扩增条件: 94°C 预变性 5 min , 之后 94°C 变性 30 s , 40 个循环, 55°C 复性 30 s , 72°C 延伸 40 s . PCR 产物用 3.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 Bio-Rad 凝胶成像仪读取结果.

1.3 粳分化与重要农艺性状基因的相关性

通过水稻基因数据库 (<http://www.RiceData.cn/gene/>) 筛选一些重要的农艺性状基因, 其中包括株型、穗型、粒型、粒重和抽穗期性状等, 并且根据 Gramene 检索和 IRGSP 的物理图谱, 得到该基因位置并与附近的籼粳标记结合, 由于在减数分裂过程中染色体的分离及重组是以重组片段为基本单位而不是基因, 因此用在这些功能基因附近的籼粳标记的基因型表示该基因所在染色体重组片段(即功能基因位点所在区域)的籼粳血缘, 检测该基因所在区域籼粳血缘与 D_j 值(即整株籼粳血缘)的相关

性, 判断这些功能基因在群体分化中的分离和重组是否与籼粳亚种的分化有关, 并以此来分析籼粳分化与农艺性状的关系.

1.4 数据处理

InDel 和 ILP 标记为共显性标记, 将检测结果分为籼基因型、粳基因型和籼粳基因型. 用粳型判别值 D_j (frequency distribution of japonica kinship percentage) 表示籼粳成分或血缘, $D_j(\%) = \text{粳型位点数} / (\text{籼型位点数} + \text{粳型位点数}) \times 100\%$. 数据使用 Microsoft Excel 和 SPSS 19 软件作正态分布、K-S 检验和相关性分析.

2 结果与分析

2.1 生态条件和后代处理方法对籼粳分化的影响

通过分析不同生态条件、后代处理方法群体籼粳血缘分布(图 2), 并经过 K-S 检验, 发现所有群体都呈正态分布; 混合法和单粒传法两地区群体粳型判别值(D_j)集中在中间值($40\% \sim 60\%$), K-S 检验

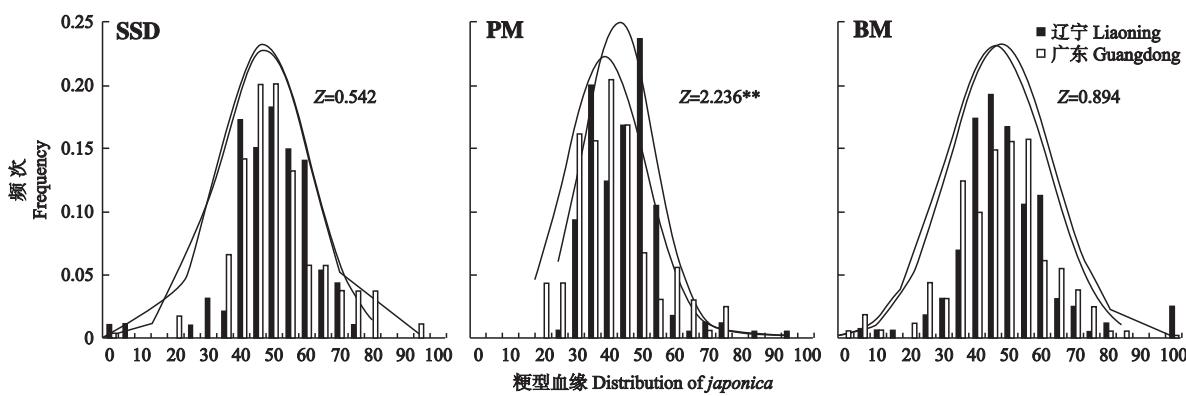


图 2 不同后代处理方法下辽宁和广东群体粳型血缘分布

Fig. 2 Distribution of japonica kinship between Liaoning and Guangdong population under different harvesting methods.

SSD: 单粒传法 Single-seed descent method; PM: 系谱法 Pedigree method; BM: 混合法 Bulk harvesting method. Z 值为 K-S 检验结果 Z value meant K-S test result. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. 下同 The same below.

双侧显著性 P 值分别为 0.400 和 0.931, 其中在混合法辽宁和广东群体的 Dj 平均值分别为 46% 和 45%, 单粒传法分别为 47% 和 48%, 两地群体在分布上无显著差异且无偏分离现象; 而系谱法两地群体分布却呈显著性差异 ($P=0.000$), 并且 Dj 集中在 30% ~ 55%, 辽宁和广东群体的 Dj 平均值分别为 42% 和 38%, 群体总体上偏籼分布, 且广东比辽宁更偏向籼型; 籼梗极端个体分别少量出现在混合法和单粒传法的群体中, 而在系谱法中却极少。

同时, 还发现广东地区血缘分布比辽宁地区均匀, 群体正态性较好; 单粒传法群体中间血缘个体 (40% ~ 60%) 的频次显著升高, 而偏籼及偏梗个体的频次骤然下降; 系谱法也出现与单粒传法相似的现象, 并且辽宁地区的频率在中间血缘个体的频次上还出现高低不一的现象, 连续性和正态性较差, 偏籼及偏梗个体的频次极度减少, 说明存在明显的选择作用。单粒传法和系谱法群体所表现的这种分布

现象, 体现了籼梗稻杂交育种存在综合亚种优势的潜力。

2.2 生态条件和后代处理方法对籼梗染色体片段分布的影响

利用籼梗标记的基因型绘制籼梗血缘片段图, 发现混合法和单粒传法籼梗基因型分布较为随机, 其中广东混合法群体的杂合基因型显著多于辽宁, 而单粒传法广东仅略高于辽宁。但系谱法籼梗基因型出现选择性分布, 在辽宁籼及偏籼型中, 在 1、3、5、6、7 和 12 号染色体上出现大量的梗型血缘; 在广东籼及偏籼型中, 在 1、2、5、6、7 和 9 号染色体上出现大量梗型血缘, 其中在 7 号染色体上两地区在梗型血缘上吻合程度较高; 广东群体中 7、8、9 和 10 号染色体上梗型血缘分布多集中, 辽宁籼梗中间型个体中杂合基因型明显较多(图 3)。

2.3 籼梗分化与农艺性状的关系

混合法和单粒传法群体中, 全部基因所在区域

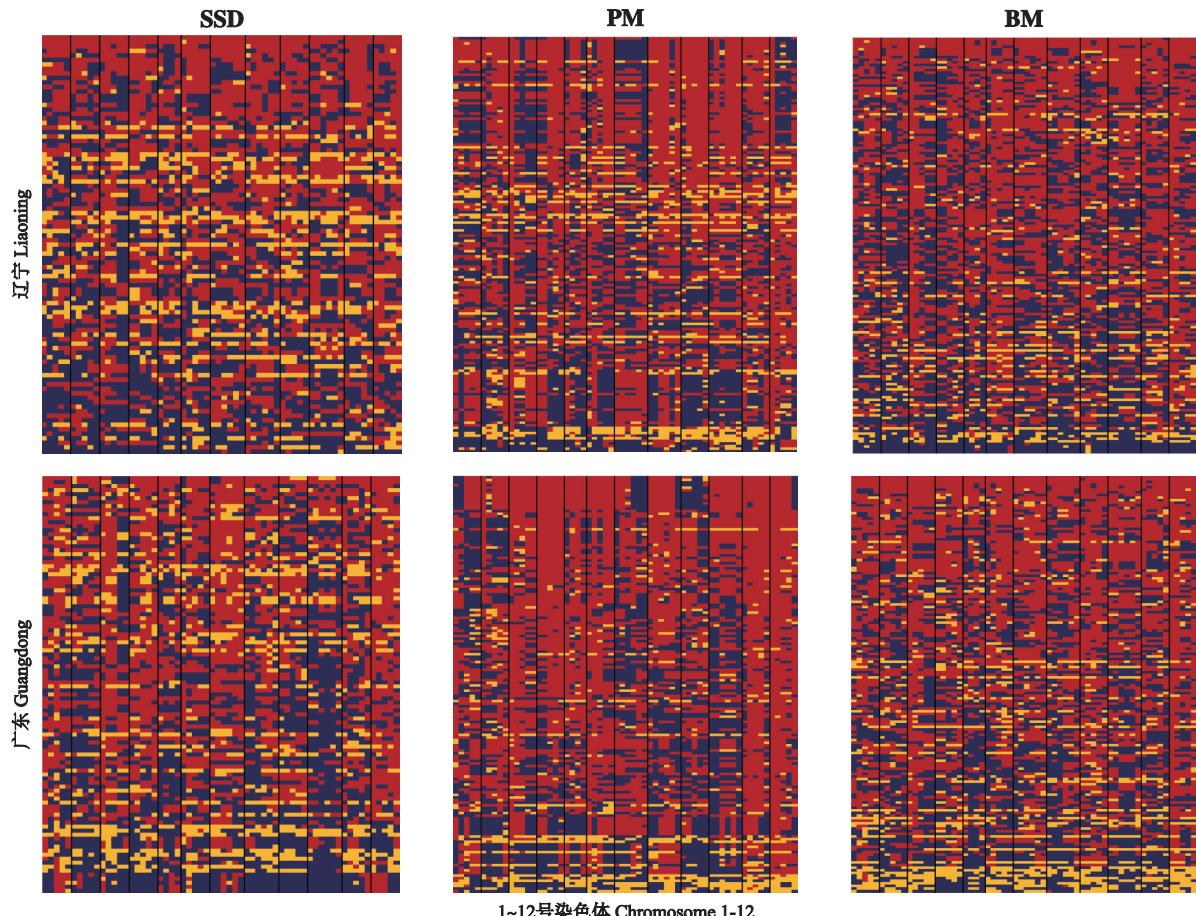


图 3 辽宁和广东群体籼梗位点基因型模式图

Fig. 3 Genotype pattern of *indica* and *japonica* loci for Liaoning and Guangdong populations.

红色方块为籼型基因位点, 蓝色方块为梗型基因位点, 黄色方块为籼梗杂合位点 A red square indicated *indica* allele site, a blue square indicated *japonica* allele site, and a yellow square indicated *indica-japonica* heterozygous site.

表1 功能基因区域血缘与粳型判别值(Dj)的相关系数Table 1 Correlation coefficients between kinship of functional genes regions and japonica kinship percentage (Dj)

| 群体 Population | $GN1a^{[50]}$ | $GW2$ | $GS3$ | $HD6$ | RFL | $SHA1$ | $GS5$ | $GW5^{[51]}$ | $HD1$ | $GHD7^{[52]}$ | $HD2$ | $HD7$ | $DEP1$ | $Ehd1$ | $LB4D$ | $SDT3^{[53]}$ | $HTD3$ |
|------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| LN-BM | 0.114 | 0.242 Δ | 0.039 | 0.174 Δ | 0.280 Δ | 0.324 Δ | 0.335 Δ | 0.151* | 0.186 Δ | 0.303 Δ | 0.244 Δ | 0.362 Δ | 0.137* | 0.360 Δ | 0.236 Δ | 0.193 Δ | 0.230 Δ |
| GD-BM | 0.306 Δ | 0.326 Δ | 0.293 Δ | 0.251 Δ | 0.213 Δ | 0.266 Δ | 0.146* | 0.395 Δ | 0.228 Δ | 0.258 Δ | 0.199 Δ | 0.307 Δ | 0.261 Δ | 0.319 Δ | 0.357 Δ | 0.342 Δ | 0.151* |
| LN-SSD | 0.150 | 0.191* | 0.181* | 0.195* | 0.228 Δ | 0.204* | 0.271 Δ | 0.046 | 0.260 Δ | 0.177* | 0.280 Δ | 0.335 Δ | 0.225 Δ | 0.308 Δ | 0.228 Δ | 0.384 Δ | 0.130 |
| GD-SSD | 0.058 | 0.185* | 0.251 Δ | 0.021 | 0.334 Δ | 0.290 Δ | 0.148 | 0.200* | 0.105 | 0.147 | 0.415 Δ | 0.407 Δ | 0.159* | 0.376 Δ | 0.357 Δ | 0.106 | 0.235 Δ |
| LN-PM | 0.201 Δ | 0.251 Δ | -0.165 Δ | -0.057 | 0.563 Δ | 0.470 Δ | -0.018 | 0.312 Δ | -0.091 | 0.040 | -0.403 Δ | 0.295 Δ | 0.537 Δ | 0.457 Δ | 0.031 | 0.277 Δ | -0.105 |
| GD-PM | 0.086 | 0.484 Δ | 0.260 Δ | 0.419 Δ | 0.557 Δ | 0.442 Δ | 0.103 | 0.388 Δ | 0.393 Δ | 0.135* | -0.058 | 0.281 Δ | 0.152* | 0.155* | 0.131* | 0.300 Δ | 0.237 Δ |

* $P<0.05$; $\Delta P<0.01$. LN:辽宁 Liaoning; GD:广东 Guangdong; BM:混合法 Bulk harvesting method; SSD:单粒传法 Single-seed descent method; PM:系谱法 Pedigree method.

血缘都与总体血缘呈正相关,而且大多数达到显著或极显著水平,其中 $Ehd1^{[38]}$ 、 $DEP1^{[39]}$ 、 $RFL^{[40]}$ 、 $LB4D^{[41]}$ 、 $SHA1^{[42]}$ 、 $HD7^{[43]}$ 、 $GW2^{[44]}$ 和 $HD2^{[45]}$ 基因显著性最高,这其中包含1个粒型、1个落粒性、3个株型及4个抽穗期有关基因;系谱法虽有一部分基因与混合法和单粒传法相关性一致,但出现了许多不规律的相关性,包括在 $GS3^{[46]}$ 、 $GS5^{[47]}$ 、 $HTD3^{[48]}$ 、 $HD6^{[49]}$ 、 $HD1^{[50]}$ 和 $HD2$ 上出现的一些负相关性,尤其辽宁群体与抽穗有关基因呈现显著的负相关性(表1).

3 讨 论

3.1 不同生态条件下籼粳稻杂交后代亚种分化机制

水稻是重要的粮食作物,其生长离不开生态环境的影响,它对环境的适应导致了籼粳的分化^[54-57]. 目前,籼粳稻杂交育种已经成为国内外水稻重要的育种方法之一,并且通过此方法育成的优良品种也越来越多^[58]. 根据以前的研究,籼粳稻杂交育成品种并没有达到充分综合亚种优点的预期效果,而是保持典型籼粳稻基本特性^[3,22]. 本课题组对籼粳稻杂交低世代群体研究发现,混合法群体从 F_2 代后开始有偏分离现象,而单粒传法群体无偏分离现象^[36].

本研究发现, F_6 代群体混合法群体并未与低世代群体一样产生偏分离,而且两地区群体的分布无显著差异. 结合上述单粒传法低世代群体也无偏分离现象的结果,可以认为群体籼粳分化受遗传重组作用的影响较小,而是在自然选择下农艺性状的重组引起繁殖系数的改变,导致在群体水平上遗传频率的改变. 然而,我们通过对 F_3 代籼粳基因型模式图的分析,发现低世代群体基因组的高度杂合性导致群体存在不稳定性,同时性状的表现也不稳定并以杂种优势为主^[59-60]. 但是由于生态适应性的存在,辽宁粳型遗传成分先纯合稳定下来,而广东籼型

遗传成分先纯合稳定,使低世代籼型及偏籼型或粳型及偏粳型个体在群体中的遗传频率发生了改变,引起了群体的偏分离现象. F_3 代基因组高度杂合,杂种优势明显,因此这种偏分离不完全是由自然选择对群体的淘汰作用引起的,而更多的是表现在生态适应性引起的群体稳定速度上,低世代的偏分离现象并不稳定. 本试验结果与以前研究结果不尽相同, Xu 等^[25]研究发现,四川地区单粒传群体的籼粳属性偏粳分化,这是因为四川地区的生态条件特点与华东及华南不同,较适宜种植粳稻,且该研究所使用的籼粳判定方法为形态指数法,其性状会受到一定表观遗传的影响. 另外,在进行杂交时,如遇低温等环境骤变,会在合子形成时使籼型或粳型基因丢失^[61],引起群体偏分现象.

本研究还发现广东混合法和单粒传法群体的籼粳杂合型高于辽宁,这是由于辽宁的选择压力大于广东,使群体稳定速度更快^[36]. 系谱法低世代群体的基因组高度杂合,在性状上多数表现为杂种优势,而且人工选择因素从 F_2 代就开始介入,群体构建初期籼稻的农艺性状优势及杂种优势明显,拥有较多籼型成分的个体被选择,致使两地区群体整体偏籼;而且由于籼粳稻自身在性状上存在生态适应性^[65],在构建群体前期人工选择造成的两地群体不同程度粳型血缘丢失,打破了两群体原本的平衡而出现偏分离现象,广东比辽宁更偏向籼型. 另外,单粒传法和系谱法还表现出中间血缘个体(Dj 为 40% ~ 60%)的频次较高,而偏籼及偏粳个体(Dj 小于 40% 或大于 60%)的频率显著减少的现象,系谱法总体偏向籼型分布,但也表现为类似趋势. 说明籼粳稻杂交确实已经达到了综合亚种血缘的目标,为进一步提高籼粳稻杂交育种效率奠定了遗传基础.

3.2 不同生态条件下籼粳稻杂交后代亚种分化与农艺性状的关系

通过血缘片段及其与重要农艺性状关系的分

析,我们认为籼粳稻杂交育种之所以未能充分综合籼粳亚种特性,是因为杂交后代农艺性状变化与籼粳分化存在显著的相关性。在籼粳基因型模式图中(图3),虽然在整体上混合法和单粒传法的基因型分布随机,但从相关性(表1)上可以看出,全部性状呈正相关并且大多数达显著性水平。表明虽然籼粳稻杂交育种综合籼粳优势的目标在血缘的杂合上得到了体现,但一些农艺性状却因与籼粳分化关系密切,未能按预期育种目标将籼粳优良性状综合在一起,而是根据籼粳血缘的分化而变化。

本研究系谱法结果显示血缘片段明显受到了选择(图3),在一些株型、粒型及抽穗期相关基因富集的染色体区域,籼粳血缘出现规律性集中。例如,两地区籼及偏籼个体在7号染色体部分区域都出现粳型血缘的富集,而该区域存在几个与抽穗期相关的QLT^[49,52]。同时,系谱法的相关性(表1)与混合法和单粒传法相比发生改变,一部分性状的正相关被打破,出现负相关及无相关性,尤其辽宁的一些抽穗期有关基因,该变化可能使辽宁籼型的抽穗期提前,而粳型的抽穗期延迟,说明人工选择的介入改变了籼粳分化与农艺性状之间的关系。但是仍然有一些性状保持显著正相关,可能是因为该性状与籼粳血缘关系过于紧密,或者是该性状存在较强的生态适应性及生态优势。

3.3 对籼粳稻杂交育种中关键问题的探讨

本研究中,不同生态条件及处理方法构建的籼粳稻杂交群体 D_j 都呈正态分布,大部分株系的血缘都介于两亲本之间,并且 F_6 混合法和系谱法还存在 D_j 中间血缘区域显著升高而两侧区域显著下降的现象,说明籼粳稻杂交育种存在育成聚合亚种有利基因适应不同生态条件优良品种的潜力,然而要充分达到综合籼粳亚种优势的目标,需要认识和利用籼粳分化与农艺性状的紧密关系^[23]。通过人工选择适时适量地介入可以打破亚种优势性状随籼粳分化而变化的现象,但是过早及过量介入会使群体后期偏分离,导致一些籼型或粳型性状的丢失,而过晚介入会导致性状过于纯合、群体过于稳定,使后期群体分化空间缩小,难以达到预期育种目标。另外,籼粳稻杂交育种也是实施“籼稻改粳稻”的重要方法之一,因为粳稻有提前成熟、米质及食味较好的特点,所以有很多优良的粳稻品种被引种到南方,但是由于“北粳南引”并没有改变品种的生态适应性,导致许多引入的北方粳稻品种一些重要性状达不到当地籼稻的水平,效果不尽如人意。因此仅仅是“北粳南

引”并不能解决“籼稻改粳稻”的问题,然而籼粳稻杂交育种因其拥有能够选育兼具当地生态适应性和粳稻优良特性的潜力,成为解决这个难题的重要手段,因此明确籼粳分化机制可为实施“籼稻改粳稻”提供理论依据。

根据本研究结果,笔者认为在对籼粳稻杂交后代的研究中,需要增加籼粳中性标记数量、搜集并检测亲本所含的功能基因并配合性状的精确调查,进一步明确籼粳分化与农艺性状的关系及籼粳稻杂交后代亚种分化的机制;通过分子标记辅助选择介入到群体构建并配合性状的调查,来综合亚种优势性状,可以更好地达到籼粳稻杂交育种的预期目标。

4 结 论

遗传重组作用对籼粳稻杂交后代亚种分化的影响较小,而自然选择会因为生态适应性引起的籼粳血缘稳定速度不同,导致低世代群体暂时性的偏分离,但在群体稳定和性状纯合后,偏分离现象逐渐消除。因此,自然选择和遗传重组作用并不是导致籼粳稻杂交后代偏分离的直接原因,而人工选择与在自然选择下性状产生的生态适应性才是影响籼粳稻杂交后代亚种分化的关键。同时,重要农艺性状基因所在区域籼粳血缘与总体籼粳血缘呈显著正相关,据此可以推测,籼粳稻杂交后代亚种分化与重要农艺性状间的紧密关系,可能是籼粳稻杂交育种未能达到充分综合亚种优势预期效果的主要原因。

参考文献

- [1] Ding Y (丁颖). Classification of Chinese Culture Rice. Beijing: China Agriculture Press, 1986: 74–93 (in Chinese)
- [2] Kato S, Kosaka H, Hara S. On the affinity of rice varieties as shown by fertility of hybrid plants. *Bulletin of Sciences of the Faculty of Agriculture, Fukuoka, Japan*, 1928, 3: 132–147
- [3] Chen WF, Xu ZJ, Zhang LB. Comparative study of stomata density and gas diffusion resistance in leaves of various types of rice. *Korean Journal of Crop Science*, 1995, 40: 125–132
- [4] Li RH, Jiang TB, Xu CG, et al. Relationship between morphological and genetic differentiation in rice (*Oryza sativa L.*). *Euphytica*, 2000, 114: 1–8
- [5] Yang S-R (杨守仁), Shen X-Y (沈锡英), Gu W-L (顾慰连), et al. Studies on rice cross-breeding between *indica* and *japonica*. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1962, 1(2): 97–102 (in Chinese)
- [6] Oka HI. Intervarietal variation and classification of cultivated rice. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 1958, 18: 79–89

- [7] Cheng K-S (程侃声), Zhou J-W (周季维), Lu Y-X (卢义宣), et al. Studies on the indigenous in Yunnan and their utilization. II. A revised classification of Asian culture rice. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1984, **10**(4): 271–280 (in Chinese)
- [8] Zhang P, Li JQ, Li XL, et al. Population structure and genetic diversity in a rice core collection (*Oryza sativa* L.) investigated with SSR markers. *PLoS ONE*, 2011, **6**: e27565. doi: 10.1371/journal.pone.0027565
- [9] Huang XH, Kurata N, Wei XH, et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature*, 2012, **490**: 497–501
- [10] Molina J, Sikora M, Garud N, et al. Molecular evidence for a single evolutionary origin of domesticated rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, **108**: 8351–8356
- [11] Sun J, Qian Q, Ma DR, et al. Introgression and selection shaping the genome and adaptive loci of weedy rice in northern China. *New Phytologist*, 2013, **197**: 290–299
- [12] Sun J, Liu D, Wang JY, et al. The contribution of intersubspecific hybridization to the breeding of super-high-yielding japonica rice in Northeast China. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, **125**: 1149–1157
- [13] Murray MG, Thompson WF. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 1980, **8**: 4321–4325
- [14] Lin HX, Qian HR, Zhuang JY, et al. RFLP mapping of QTLs for yield and related characters in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, **92**: 920–927
- [15] Zhang QE, Saghai-Marof MA, Lu TY, et al. Genetic diversity and differentiation of *indica* and *japonica* rice detected by RFLP analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 1992, **83**: 495–499
- [16] Fan YY, Zhuang JY, Wu JL, et al. SSILP based identification of subspecies in rice (*Oryza sativa* L.). *Hereditas (Beijing)*, 2000, **6**: 392–394
- [17] Jiang S-K (姜树坤), Zhong M (钟 鸣), Xu Z-J (徐正进), et al. Classification of rice cultivars with RAPD molecular markers. *Journal of Shenyang Agricultural University* (沈阳农业大学学报), 2006, **37**(4): 639–641 (in Chinese)
- [18] Ni J, Colowit PM, Mackill DJ. Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. *Crop Science*, 2002, **42**: 601–607
- [19] Lu BR, Cai XX, Jin X. Efficient *indica* and *japonica* rice identification based on the InDel molecular method: Its implication in rice breeding and evolutionary research. *Progress in Natural Science*, 2009, **19**: 1241–1252
- [20] Shen YJ, Jiang H, Jin JP, et al. Development of genome-wide DNA polymorphism database for map-based cloning of rice genes. *Plant Physiology*, 2004, **135**: 1198–1205
- [21] Wang XS, Zhao XQ, Zhu J, et al. Genome-wide investigation of intron length polymorphisms and their potential as molecular markers in rice. *DNA Research*, 2005, **12**: 417–427
- [22] Xu Z-J (徐正进), Chen W-F (陈温福), Zhang L-B (张龙步), et al. Differences and inheritance of neck vascular bundles between different rice types. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1996, **22**(2): 167–172 (in Chinese)
- [23] Xu Z-J (徐正进), Li J-Q (李金泉), Jiang J (姜健), et al. Subspecies characteristics and their relationships with economic characters. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2003, **29**(5): 735–739 (in Chinese)
- [24] Xu Z-J (徐正进), Li J-Q (李金泉), Huang R-D (黄瑞冬), et al. Subspecies characteristics and classification of rice varieties developed through *indica* and *japonica* crossing. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2003, **36**(12): 1571–1575 (in Chinese)
- [25] Xu H, Liu HG, Yang L, et al. Subspecies characteristics in filial generation of cross between *indica* and *japonica* rice under different environments. *Frontiers of Agriculture in China*, 2007, **1**: 281–288
- [26] Xu H, Liu HG, Zhu CJ, et al. Effect of ecological environments on subspecies characteristics and economic traits in filial generations of cross between *indica* and *japonica* rice. *Frontiers of Agriculture in China*, 2008, **2**: 23–29
- [27] Chen W-F (陈温福), Pan W-B (潘文博), Xu Z-J (徐正进). Current situation and trends in production of *japonica* rice in China. *Journal of Shenyang Agricultural University* (沈阳农业大学学报), 2006, **37**(6): 801–805 (in Chinese)
- [28] Deng H-F (邓华凤), He Q (何 强), Shu F (舒服), et al. Status and technical strategy on development of *japonica* hybrid rice in China. *Hybrid Rice* (杂交水稻), 2006, **21**(1): 1–6 (in Chinese)
- [29] Zhang P-J (张培江), Fu Q (付 强), Zhan X-C (占新春), et al. The practice and studies on the breeding of *japonica* hybrid rice combination with the super-high yield. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2007, **23**(10): 123–130 (in Chinese)
- [30] Wang C-L (王才林), Zhu Z (朱 镇), Zhang Y-D (张亚东), et al. Achievement and consideration on improving of grain quality for *japonica* rice in Jiangsu. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences* (江苏农业学报), 2008, **24**(2): 199–203 (in Chinese)
- [31] Su Z-S (苏泽胜), Li Z-F (李泽福). Present status and prospect of super-rice research and utilization in Anhui Province. *Journal of Shenyang Agricultural University* (沈阳农业大学学报), 2007, **38**(5): 739–743 (in Chinese)
- [32] Li X-Y (李旭毅), Chi Z-Z (池忠志), Jiang X-L (姜心禄), et al. Analysis on grain filling characteristics of *indica* and *japonica* rice in rapeseed(wheat)-rice planting area in Chengdu Basin. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2012, **45**(16): 3256–3264 (in Chinese)
- [33] Xiong ZY, Zhang SJ, Wang YY, et al. Differentiation and distribution of *indica* and *japonica* rice varieties along the altitude gradients in Yunnan Province of China as revealed by InDel molecular markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2010, **57**: 891–902
- [34] Qian Q, He P, Zheng XW, et al. Genetic analysis of morphological index and its related taxonomic traits for classification of *indica/japonica* rice. *Science in China Series C: Life Sciences*, 2000, **43**: 113–119

- [35] Wang Z, Yu C, Liu X, et al. Identification of *indica* rice chromosome segments for the improvement of *japonica* inbreds and hybrids. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, **124**: 1351–1364
- [36] Cheng L (程玲), Wang H-T (王鹤潼), Rong J-Z (荣俊珍), et al. Effect of ecologic environment on economic traits and the differentiation of subspecies traits in F_2 generation of cross between *indica* and *japonica*. *Seed (种子)*, 2012, **31**(3): 1–6 (in Chinese)
- [37] Cai XX, Liu J, Qiu YQ, et al. Differentiation of *indica-japonica* rice revealed by insertion/deletion (InDel) fragments obtained from the comparative genomic study of DNA sequences between 93-11 (*indica*) and Nipponbare (*japonica*). *Frontiers of Biology in China*, 2007, **2**: 291–296
- [38] Doi K, Izawa T, Fuse T, et al. *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls FT-like gene expression independently of *Hd1*. *Genes & Development*, 2004, **18**: 926–936
- [39] Huang XZ, Qian Q, Liu ZB, et al. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nature Genetics*, 2009, **41**: 494–497
- [40] Rao NN, Prasad K, Kumar PR, et al. Distinct regulatory role for *RFL*, the rice LFY homolog, in determining flowering time and plant architecture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, **105**: 3646–3651
- [41] Liang F, Xin XY, Hu ZJ, et al. Genetic analysis and fine mapping of a novel semidominant dwarfing gene *LB4D* in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2011, **53**: 312–323
- [42] Lin ZW, Griffith ME, Li XR, et al. Origin of seed shattering in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta*, 2007, **226**: 11–20
- [43] Lin SY, Sasaki T, Yano M. Mapping quantitative trait loci controlling seed dormancy and heading date in rice, *Oryza sativa* L., using backcross inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, **96**: 997–1003
- [44] Song XJ, Huang W, Shi M, et al. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nature Genetics*, 2007, **39**: 623–630
- [45] Yamamoto T, Koboki Y, Lin SY, et al. Fine mapping of quantitative trait loci *Hd-1*, *Hd-2* and *Hd-3*, controlling heading date of rice, as single Mendelian factors. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, **97**: 37–44
- [46] Fan CC, Xing YZ, Mao HL, et al. *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, **112**: 1164–1171
- [47] Li YB, Fan CC, Xing YZ, et al. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice. *Nature Genetics*, 2011, **43**: 1266–1269
- [48] Zhang BS, Tian F, Tan LB, et al. Characterization of a novel high-tillering dwarf 3 mutant in rice. *Journal of Genetics and Genomics*, 2011, **38**: 411–418
- [49] Yamamoto T, Lin HX, Sasaki T, et al. Identification of heading date quantitative trait locus *Hd6* and characterization of its epistatic interactions with *Hd2* in rice using advanced backcross progeny. *Genetics*, 2000, **154**: 885–891
- [50] Motoyuki A, Hitoshi S, Lin SY, et al. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science*, 2005, **309**: 741–745
- [51] Weng J, Gu S, Wan X, et al. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. *Cell Research*, 2008, **18**: 1199–1209
- [52] Xue WY, Xing YZ, Weng XY, et al. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nature Genetics*, 2008, **40**: 761–767
- [53] Sui J-M (隋炯明), Liang G-H (梁国华), Li X (李欣), et al. Genetic analysis and gene location of a semidwarf gene in an *indica* rice cultivar Duonieai (*Oryza sativa* L.). *Acta Agronomica Sinica (作物学报)*, 2006, **32**(6): 845–850 (in Chinese)
- [54] Chang TT. The origin, evolution, cultivation, dissemination and diversification of Asian and African rices. *Euphytica*, 1976, **25**: 435–441
- [55] Johns MA, Mao L. Differentiation of the two rice subspecies *indica* and *japonica*: A gene ontology perspective. *Functional Integrative Genomics*, 2007, **7**: 135–151
- [56] Morishima H, Sano HI, Oka HI. Evolutionary studies in cultivated rice and its wild relatives// Dawkins R, Ridley M, eds. Oxford Surveys in Evolutionary Biology, 1992: 135–184
- [57] Tang T, Shi SH. Molecular population genetics of rice domestication. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2007, **49**: 769–775
- [58] Lin S-C (林世成), Min S-K (闵绍楷). Chinese Rice Varieties and Genealogy. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1991: 106–138 (in Chinese)
- [59] Liang K-J (梁康迥). Genetic effect of panicle traits of intersubspecific crosses of rice (*Oryza sativa*) and its interaction with environment. *Chinese Journal of Applied Ecology (应用生态学报)*, 2000, **11**(1): 78–82 (in Chinese)
- [60] Liang K-J (梁康迥). Interactive effect of genotype and environment on heterosis of panicle traits of rice (*Oryza sativa*). *Chinese Journal of Applied Ecology (应用生态学报)*, 1999, **10**(6): 683–688 (in Chinese)
- [61] Yang JY, Zhao XB, Cheng K, et al. A killer-protector system regulates both hybrid sterility and segregation distortion in rice. *Science*, 2012, **337**: 1336–1340
- [62] Chang TT, Oka HI. Genetic variousness in the climatic adaption of rice cultivars. Proceedings of the Symposium on Climate and Rice, Los Baños, Philippines, 1976: 87–111

作者简介 王鹤潼,男,1985年生,博士研究生。主要从事水稻遗传分化与生理生态研究。E-mail: tony.w.china@gmail.com

责任编辑 张凤丽