

栽培稻与普通野生稻 BC₁ 群体分子连锁图的构建和株高的 QTL 分析

李晨 孙传清 穆平 陈亮 王象坤

(中国农业大学作物学院)

摘要 本研究用江西东乡普野和桂朝 2 号的 115 株 BC₁ 群体, 构建了一个长度为 1 418.2 cM、包含 120 个 RFLP 标记的遗传图谱, 标记间的平均距离为 11.8 cM。该图谱除第 1 染色体短臂上的标记的顺序与日本水稻基因组计划发表的图谱不同外, 其他染色体上相对应的标记的顺序及标记之间的遗传距离基本一致。该图谱为定位栽培稻与普通野生稻之间重要的分类性状和农艺性状以及进一步研究野生稻进化到栽培稻的分子进化机理奠定了基础。利用该图谱, 对控制株高的 QTLs 分析结果表明, 控制株高有 6 个 QTLs, 他们分别位于第 1, 3, 4, 5, 8 和 9 染色体上, 其中位于第 1 染色体 C955—R1613 间为 1 个主效基因, 并对主效基因的来源进行了讨论。最后作者提出, 在野生稻驯化为栽培稻的过程中, 株高由高变矮是微效基因突变与主效基因突变相结合并通过长期积累而成的。

关键词 普通野生稻; 栽培稻; 连锁图; 株高; QTL 定位

中图分类号 S511.9-032

Genetic Linkage Map Constructed by Using a BC₁ Population and QTL Analysis of Plant Height for Common Wild Rice and Cultivated Rice

Li Chen Sun Chuanqing Mu Ping Chen Liang Wang Xiangkun

(College of Crop Sciences, CAU)

Abstract A genetic map including 120 RFLP markers covering 1 418.2 cM has been constructed using a BC₁ population derived from a cross between common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) from Dongxiang, Jiangxi Province, China, and an elite indica variety "Guichao 2". There is 11.8 cM between RFLP markers. The linkage orders and genetic distances of markers in this map are basically consistent with the map constructed by Rice Genome Program of Japan except the markers of short arm of Chromosome 1. The genetic map will be useful for study of the classification traits and agronomic characters between cultivated and wild rice, as well as molecular evolution mechanism of cultivated rice. The QTLs analysis of plant height indicated that there are six QTLs located at the region of C955—R1613 of Chromosome 1, G51—C1677 of Chromosome 3, G237—G331 of Chromosome 4, R3166—R1838 of Chromosome 5, R2976—C1115 of Chromosome 8 and R1687—C1454 of Chromosome 9 respectively. The detected QTLs affecting this key agronomic trait for wild rice and cultivated rice will be useful for study of molecular evolution mechanism of cultivated rice and improvement of plant height.

Key words common wild rice; cultivated rice; genetic linkage map; plant height; QTL

收稿日期: 2001-03-09

孙传清, 北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区), 100094



根据形态性状的差异和同工酶及DNA 分子标记的多态性对野生稻和栽培稻分类已经做了比较详细的研究^[1-3]。从普通野生稻进化到栽培稻,在形态上发生了一系列的变化,如生长习性上由匍匐变成直立、花药由长变短、柱头外露率由高变低,此外柱头的颜色、芒性、米粒颜色、叶鞘颜色、谷粒的长宽、颖壳的颜色等性状,野生稻和栽培稻之间也有非常明显的差异^[1,3]。由于这些性状大多为数量性状,虽然进行过遗传研究,但仍不能确定控制这些与野生稻进化有关的基因在染色体的位置及其遗传效应,也难以从功能基因上的变异来揭示栽培稻起源、演化的分子机理,这就需要首先构建遗传连锁图,再进行Q TL 定位及克隆研究。

自从McCouch 等^[4]以籼稻 IR 34583-19-3-3 和爪哇稻Bulu Dalam 杂交的F₂ 为作图群体构建了第1个包含135个RFLP 标记,覆盖了水稻基因组所有12条染色体,全长1398 cM 的水稻RFLP 图谱以来,国内外对于水稻遗传图谱的构建有了一些相应的报道^[5-10],但是还未见到用栽培、野杂交的BC₁ 群体构建的水稻分子连锁图。本研究采用江西东乡普野和桂朝2号的BC₁ 群体构建了遗传图谱,并对17个分类与农艺性状进行了一系列Q TL s 定位研究,本文对其中一个重要的农艺性状株高进行了Q TL 定位描述。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

以桂朝2号为母本,以东乡普野为父本,1997年在北京配制杂交组合,F₁再与桂朝2号回交,得到115株的BC₁ 群体(桂朝2号/东乡普野//桂朝2号),东乡普野采自原产地的根茎。2000年在北京种植BC₁ 群体,抽穗始期,对115株的BC₁ 群体用标尺进行每一株的株高测量,记录备用。

1.2 RFLP 分析与连锁作图

亲本和BC₁ 群体的叶片DNA 提取、酶切和Southern 杂交分析参考孙传清等^[2]的方法进行,采用5种限制性内切酶(*Bam*H I, *Dra*I, *Eco*R I, *Eco*R V, *Hind*III)酶解DNA, RFLP 探针由日本国立农业资源研究所水稻基因组计划(RGP)和九州大学惠赠。为了记载方便和作图软件对数据的要求,将轮回亲本桂朝2号基因型赋值为A,杂种基因型赋值为H,由于某种原因带型不清和缺失的赋值为“—”。采用MAPMAKER/EXP 3.0 软件^[11]在PC 机上进行BC₁ 群体的连锁图谱构建,采用Kosambi 函数将重组值转换成图距单位(centimorgan, cM)。

2 结果与分析

2.1 双亲间的多态性

桂朝2号与东乡普野在生长习性、茎基部鞘色、剑叶长/宽比、花药长度、柱头颜色、芒性、落粒性、颖壳色、谷粒长/宽比、米色等10个分类性状间具有明显差异(表1)。在自然和人工的双重选择压力下,野生稻在形态特征特性方面向栽培稻方向演化,具体演化的趋势表现如下:生长习性方面,由匍匐演化为直立,茎基部鞘色由紫色变为绿色,剑叶长/宽比由长变短,花药长度由长变短,柱头颜色由紫变白,芒性由红长芒变为无芒,落粒性由极易落演化为易落或难落,颖壳色由褐色演变为黄色,米色由红变白,谷粒长/宽比由大变小,千粒重由小变大。这些变化表明由于人工选择的存在,在谷粒产量方面,栽培稻由野生稻的低产转化为高产;在有性繁殖方面,由部分异

交习性演化为严格的自交习性为主, 以满足人类对高产优质的要求。野生稻的表型变异由于人类生活与生产的多种需求向栽培稻方向驯化并变得多样化起来^[12]。

表 1 亲本间的形态性状差异

亲本	生长习性	茎基部鞘色	剑叶长/宽比	花药长/mm	柱头颜色	芒性	落粒性	颖壳色	米色	谷粒长/宽比	百粒重/g
桂朝 2 号	直立	绿色	21.6	2.44	白色	无芒	易落	黄色	白色	3.18	2.76
东乡普野	匍匐	紫色	28.91	5.56	紫色	红长芒	极易落	褐色	红色	3.798	2.056

2.2 遗传连锁作图

利用 150 个 RFLP 探针和 5 种限制性内切酶对东乡普野和桂朝 2 号之间的多态性进行了检测, 有 120 个探针在双亲间存在多态性, 构建了覆盖水稻 12 个染色体, 全长 1 418.2 cM 的遗传图谱(图 1), 标记之间的平均距离为 11.8 cM。将本研究构建的图谱与日本水稻基因组研

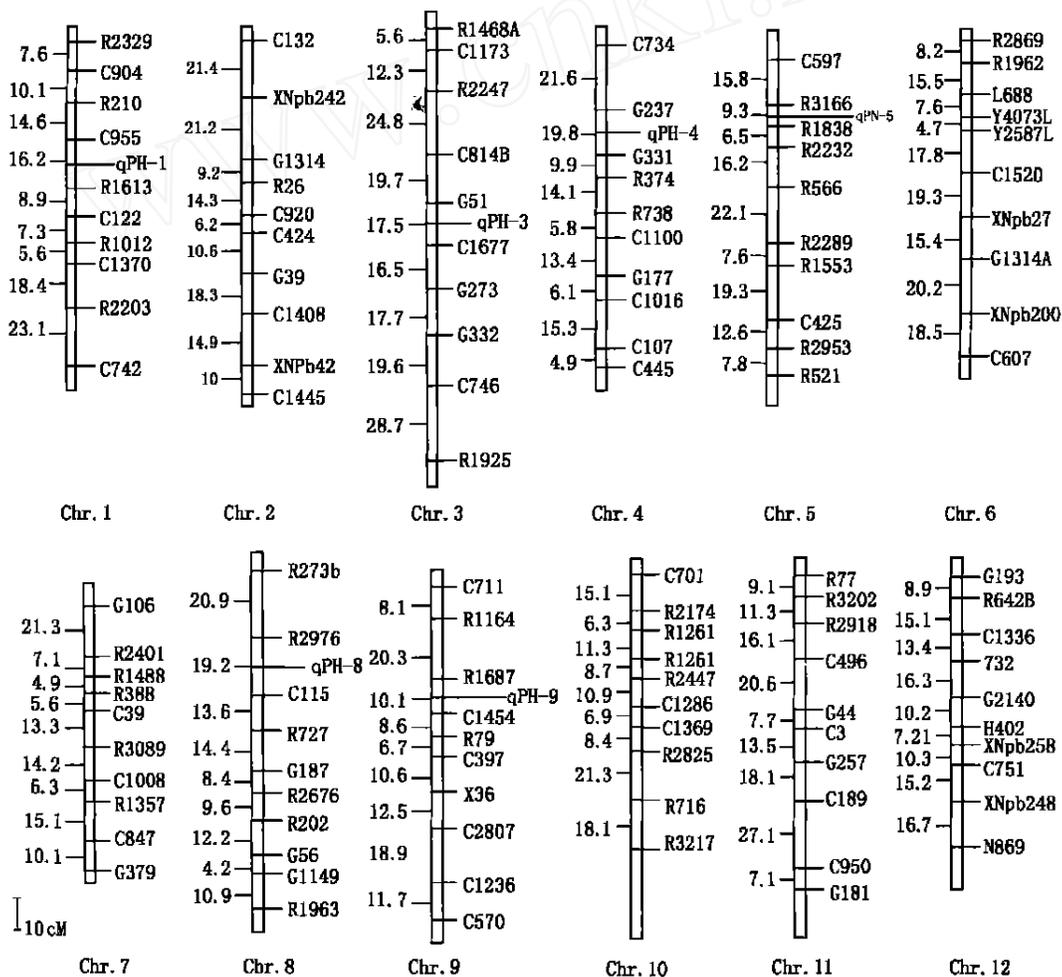


图 1 水稻分子遗传连锁图(第 1~ 12 染色体)

柱图左侧数字为距离 右侧为标记

究计划发表的水稻连锁图^[5,7,13]进行比较发现,第1染色体短臂的R2329—R1613之间的顺序正好与他们的图谱相反,Harushima等^[7]连锁遗传图的顺序为R1613—C955—R210—C904,而本研究的顺序为C904—R210—C955—R1613,其他染色体上相对应的标记顺序及标记之间的距离与Harushima等^[7]和Tsunematsu^[13]等的图谱基本一致。

2.3 群体株高的性状表现及QTLs分析

2亲本的株高有明显的差异,BC₁群体在株高方面有很大的变异幅度(表2)。

表2 亲本及BC₁群体株高的均值与标准差

亲本材料	株高 h/cm	
	均值(M)	标准差(SD)
桂朝2号	87.38	1.75
东乡普野	119.38	6.34
BC ₁ 群体	95.69	15.96

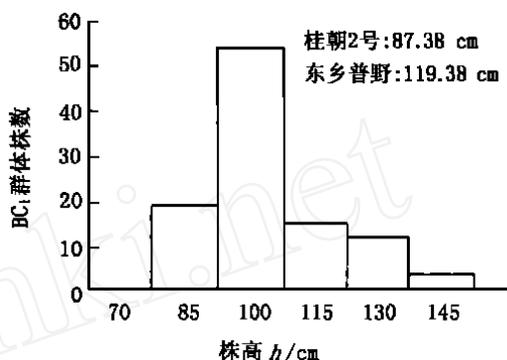


图2 BC₁群体株高分布图

从BC₁的株高的分布(图2)可以看出,这个性状是数量遗传性状,表现出了典型的数量性状的特点。利用上述连锁遗传图谱(图1),应用MAPMAKER/QTL的区间作图分析,

取LOD值2.0作为阈值,结果表明(表3),控制株高的有6个QTLs,根据McCouch等^[21]的命名法则,分别将其定名为qPH-1, qPH-3, qPH-4, qPH-5, qPH-8, qPH-9,共6个QTLs分别位于第1, 3, 4, 5, 8, 9染色体上(图1),它们的贡献率分别为20.6%, 10.3%, 11.1%, 9.8%, 12.4%和7.9%,贡献率总和为72.1%,加性效应值2负4正,增效基因来源于东乡普野,减效基因来源于桂朝2号。根据贡献率大于15%为主效基因的标准^[14],可以认为株高受1个主效基因(位于第1染色体上)和5个微效基因(分别位于第3, 4, 5, 8, 9染色体上)控制。其中, qPH-1, qPH-8, qPH-9分别与Xiong等^[20]所定位的位于第1, 8, 9染色体上的3个QTLs的位置相近, qPH-3和qPH-4分别与Xiao等^[19]所定位的位于第3, 4染色体上的2个QTLs的位置相近,而qPH-5染色体位置与已报道相应的控制株高的QTLs位置可能有所不同。

表3 BC₁群体根据区间作图法检测到的控制株高的QTLs

QTL位点	区间	LOD值	贡献率/%	加性效应	染色体号
qPH-1	C955—R1613	5.65	20.6	-12.51	1
qPH-3	G51—C1677	3.38	10.3	-6.13	3
qPH-4	G237—G331	3.41	11.1	9.37	4
qPH-5	R3166—R1838	3.29	9.8	4.74	5
qPH-8	R2976—C1115	3.84	12.4	10.25	8
qPH-9	R1687—C1454	2.56	7.9	1.96	9

3 讨论

本研究以江西东乡普野和桂朝 2 号的 115 株 BC₁ 群体为基础, 用 120 个 RFLP 标记构建了覆盖水稻 12 个染色体, 全长为 1 418.2 cM 的遗传图谱, 标记之间的平均距离为 11.8 cM, 满足了区间作图的基本要求。

该图谱是第 1 个国内正式发表的用栽培、野杂交的 BC₁ 群体构建的水稻分子连锁图, 该图谱的确立, 为定位栽培、野之间重要的分类性状和农艺性状以及进一步研究野生稻进化到栽培稻的分子进化机理奠定了基础。

普通野生稻是栽培稻的祖先种。孙传清等^[15, 16]通过野生稻和栽培稻的遗传多样性比较研究发现, 野生稻在演化成栽培稻过程中经过自然选择和人工选择, 杂合度降低, 等位基因数减少, 基因多样性明显下降; 在 44 个基因位点中, 栽培稻等位基因数目约为野生稻的 1/2。换句话说讲, 在现存的栽培稻基因组中近一半的基因在驯化过程中丢失了, 因此, 发掘和利用野生稻中的优异基因具有极大的潜力^[16], Xiao 等^[17]从低产野生稻中找到 2 个增产 17% 和 18% 的 Q TL s, 是一个很好的实证。可见, 从野生稻中发掘在栽培稻中已丢失或削弱了的优异基因是当前水稻资源研究的热点之一。然而由于野生稻和栽培稻的遗传差异较大, 野生稻的农艺性状不好, 野栽杂交后代性状不易稳定, 用传统的杂交、选择的方法, 在短期内很难选出理想的株系。利用野生稻和栽培稻杂交并再用栽培稻回交的后代群体, 构建连锁遗传图谱, 有利于找出对农艺性状影响较大的 Q TL, 是有效发掘野生稻中有利基因的重要途径和依据。本研究选用的野生稻亲本, 来源于当今国内外生存环境最北(28°14'N)、能耐-8.5℃严冬的江西东乡普野, 与栽培稻隔离较好, 无论是形态上、同工酶还是 DNA 上都比较典型或比较原始的普野, 而栽培稻亲本是曾经在云南多年创亩产吨粮记录的优良品种“桂朝 2 号”, 其 BC₁ 群体出现一批株型好并渗入了野生稻优异基因(多穗、粒稍长、优质)的“桂朝 2 号”后代。因此这 2 个亲本构建的定位群体是栽培稻分类及优异基因发掘的理想亲本组合。

水稻的株高已定位了不少 Q TL s, 他们几乎分布在水稻全基因组的所有染色体上。值得注意的是, 在多数学者定位的株高 Q TL s 中, 除大量的微效基因外, 还存在 1~3 个主效基因。而少数学者定位的水稻株高 Q TL s 中却没有出现主效基因。Xiao 等^[18, 19]以籼粳交群体定位的 6 个株高 Q TL s 中没有出现主效基因; 而以野栽杂交群体定位的 6 个株高 Q TL s 中则出现 2 个主效基因。本研究采用栽培野交群体定位的 6 个株高 Q TL s 中也出现 1 个主效基因。此外, Xiong 等^[20]的有关水稻株高 Q TL s 定位结果与我们的相似, 在定位的 4 个 Q TL s 中存在 1 个主效基因。上述研究至少可以表明主效基因可能来自野生稻。

根据作者对水稻株高 Q TL s 定位分析及前人研究结果可以认为, 在野生稻驯化为栽培稻的过程中, 除植株由匍匐演变为直立外, 在株高由高变矮的历程中, 发生了众多微效基因突变, 也发生了少量主效基因突变, 株高由高变矮是经过这些突变长期累积而成。

参 考 文 献

- 1 庞汉华, 才宏伟, 王象坤. 中国普通野生稻的形态分类研究. 作物学报, 1995, 21(1): 17~24
- 2 孙传清, 王象坤, 吉村淳, 等. 普通野生稻和亚洲栽培稻核基因组的 RFLP 分析. 中国农业科学, 1997, 30

- (4): 37~ 44
- 3 王象坤, 孙传清, 才宏伟, 等. 中国稻作起源与演化. 科学通报, 1998, 43(22): 2354~ 2363
 - 4 McCouch S R, Kochert G, Yu Z H, et al. Molecular mapping of rice chromosomes. Theor Appl Genet, 1988, 76: 815~ 829
 - 5 Saito A, Yano M, Kishimoto N, et al. Linkage map of restriction fragment length polymorphism loci in rice. Japan J Breed, 1991, 41: 665~ 670
 - 6 Kurata N, Nagamura Y, Yamamoto K, et al. A 300 kilobase internal genetic map of rice including 883 expressed sequences. Nature, 1994, 8: 365~ 372
 - 7 Harushima Y, Yano M, Shomura A, et al. A high-density rice genetic linkage map with 2 275 markers using a single F₂ population. Genetics, 1998, 148: 479~ 494
 - 8 徐吉臣, 陆朝福, 陈洪, 等. 用双单倍体群体构建水稻的分子连锁图. 遗传学报, 1994, 21(3): 205~ 214
 - 9 李平, 朱立煌, 周开达, 等. 利用分子标记水稻籼粳交双单倍体群体进行遗传作图研究. 植物学报, 1996, 38(11): 881~ 886
 - 10 沈利爽, 何平, 徐云碧, 等. 水稻DH群体的分子连锁图谱及基因组分析. 植物学报, 1998, 40(12): 1115~ 1122
 - 11 Lander E S, Green P, Abrahamson J, et al. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. Genomics, 1987, 1: 174~ 181
 - 12 森岛启子. 野生稻与栽培稻之间的遗传分化. 农业考古, 1998, (1): 30~ 35
 - 13 Tsunemitsu H, Yoshimura A, Harushima Y, et al. RFLP framework map using recombinant inbred lines in rice. Breeding Science, 1996, 46: 279~ 284
 - 14 毛传澡, 程式华. 水稻农艺性状QTL定位精确性及其影响因素的分析. 农业生物技术学报, 1999, 7(4): 386~ 394
 - 15 孙传清, 王象坤, 吉村淳, 等. 普通野生稻和亚洲栽培稻遗传多样性的研究. 遗传学报, 2000, 27(3): 227~ 234
 - 16 Sun C Q, Wang X K, Li Z C, et al. Comparison of the genetic diversity of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and cultivated rice (*O. sativa* L.) using RFLP markers. Theor Appl Genet, 2001, 102: 157~ 162
 - 17 Xiao J H, Grandillo S, Sang N A, et al. Genes from wild rice improve yield. Nature, 1996, 384: 223~ 224
 - 18 Xiao J H, Li J, Yuan L P, et al. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. Theor Appl Genet, 1996, 92: 230~ 244
 - 19 Xiao J H, Li J M, Grandillo S, et al. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. Genetics, 1998, 150: 899~ 909
 - 20 Xiong L Z, Liu K D, Dai X K, et al. Identification of genetic factors controlling domestication-related traits of rice using an F₂ population of a cross between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*. Theor Appl Genet, 1999, 98: 243~ 251
 - 21 McCouch S R, Cho Y G, Yano M, et al. Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups: II. Report from coordinator, 1) Suggestions for QTL nomenclature for rice. Rice Genet Newsl, 1997, 14: 11~ 13