

水稻恢复系 SSSLW23-19-06-06-11 对 WA-CMS 的遗传模式分析

蔡健¹, 蔡鲲鹏², 范可章¹, 卢良峰^{3*}

(1. 阜阳师范学院生物与食品工程学院, 安徽阜阳 236041; 2. 五邑大学信息工程学院, 广东天门 529020; 3. 河南农业职业学院现代农业工程系, 河南中牟 451460)

摘要 [目的]研究恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 中的恢复基因 Rf3 和 Rf4 对于野败型不育细胞质的遗传模式。[方法]以野败型不育系博白 A 为母本, 恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 (Rf3Rf3/Rf4Rf4) 为父本杂交, 采用分子标记辅助选择和连续回交的方法构建 BC3F2 群体, 从中选择携带基因型 Rf3Rf3/Rf4Rf4、r3r3/Rf4Rf4 的单株, 考察其花粉和小穗育性。[结果]恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 中的恢复基因对于 WA 型不育系博白 A 表现出质量-数量性状的遗传。在恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 中, 除主效恢复基因 Rf3 和 Rf4 外, 微效基因或者修饰基因也表现出对于博白 A 的恢复性作用, 且效应较大。[结论]为水稻杂种优势研究和利用提供理论依据。

关键词 水稻; 恢复系; 野败型; 恢复基因**中图分类号** S511 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)05-027-02**Analysis of the Genetic Mode of Restorer Genes Rf3 and Rf4 for the WA-CMS System in Rice**

CAI Jian¹, CAI Kun-peng², FAN Ke-zhang¹, LU Liang-feng^{3*} (1. School of Biotechnology and Food Engineering, Fuyang Teachers College, Fuyang, Anhui 236041; 2. School of Information Engineering, Wuyi University, Tianmen, Guangdong 529020; 3. School of Modern Agricultural Engineering, Henan Vocational College of Agricultural, Zhongmu Henan 451450)

Abstract [Objective] To analyze the genetic mode of restorer genes Rf3 and Rf4 for the WA-CMS system. [Method] The BC3F2 population, possessing the genetic background of the SSSLW23-07-06-01-09, was generated from the crosses between the SSSLW23-07-06-01-09 (recurrent parent) and the WA-CMS line of BobaiA by backcrossing and marker-assisted selection. In the BC3F2 population, the plants carrying the Rf3Rf3/Rf4Rf4、r3r3/Rf4Rf4 genotype were selected, their phenotyping for fertility in pollen and spikelet were evaluated. [Result] The results showed that two pairs of dominant genes governed restoration of pollen fertility restoration, and some modifying or minor genes were involved in the inheritance of restorer ability besides Rf3 or Rf4 in SSSLW23-07-06-01-09, indicating that the genetic mode of Rf genes showed a qualitative-quantitative characteristic for WA and DA-CMS system. [Conclusion] The study provided a theoretical basis for the study and use of heterosis in rice.

Key words Rice; Restorer line; Wild abortive (WA); Restorer gene

细胞质雄性不育 (Cytoplasmic male sterility, CMS) 类型主要指核质互作型雄性不育, 是水稻杂种优势利用的基础。野败型核质互作雄性不育 (WA-CMS) 为孢子体不育, 是目前我国应用最主要的水稻不育系类型。在野败型细胞质雄性不育性的遗传研究方面, Yao 等^[1]利用珍汕 97A 和明恢 63 的 F₂ 群体将 Rf3 定位于第 1 染色体的分子标记 RG532 附近, 还将另一个恢复基因 Rf(u) 定位于第 10 染色体, 与分子标记 G4003 连锁, 且认为 Rf(u) 的效应大于 Rf3。Tan 等^[2]用 QTL 作图研究了野败型细胞质雄性不育的遗传, 结果表明, 水稻野败型细胞质雄性不育的育性由第 10 染色体上两恢复位点的加性效应恢复, 一个 QTL 与 C1361 紧密连锁, 另一个 QTL 位于 R2309 和 RG257 之间。庄杰云等^[3]应用 QTL 分析方法, 定位控制水稻 CMS-WA 育性恢复基因, 检测到 1 个主效基因 qRf-4 和 3 个效应较小的 QTL (qRf1、qRf7 和 qRf11), 它们之间主要表现累加效应。张群宇等^[4]为了用分子标记准确定位野败型水稻细胞质雄性不育恢复基因 Rf-4, 将日本水稻基因组项目构建的水稻遗传连锁图谱第 10 染色体分子遗传图上的分子标记 R1877 和 G2155 之间对应区域 YAC 物理图上的 6 个 YAC 克隆进行了亚克隆, 并把 Rf-4 座位定位于第 10 染色体的特定位置: 亚克隆 Y328 距离 Rf-4 0.9 cM, 亚克隆 Y1210 距离 Rf4 3.2 cM。Sheeba 等^[5]利用

IR58025A 和恢复系 KMR3RF₂ 群体将恢复基因 Rf4 定位于第 10 染色体上, 与 SSR 标记 RM6100 的遗传距离为 1.2 cM。Ngangkham 等^[6]利用野败型不育系 Pusa6A 和 BasmatiPRR78 的 F₂ 群体, 将恢复基因 Rf4 定位于第 10 染色体上, 与 SSR 标记 RM6373 和 RM6100 的遗传距离分别为 0.3 和 0.5 cM, 这 2 个标记间的物理距离为 163.6 kb。

笔者以野败型不育系博白 A 为母本, 恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 (Rf3Rf3/Rf4Rf4) 为父本杂交, 采用分子标记辅助选择和连续回交的方法构建 BC₃F₂ 群体, 从中选择携带基因型 Rf3Rf3/Rf4Rf4 的单株, 考察其花粉和小穗育性, 以研究恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 中的恢复基因 Rf3 和 Rf4 对于野败型不育细胞质的遗传模式, 进而为水稻杂种优势研究和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试材料为恢复系 SSSLW23-07-06-01-09、野败型不育系博白 A (BoA), 所有试验材料及其杂交后代均种植于阜阳市农科院试验场。

1.2 DNA 的抽提 试验材料及其杂交后代的 DNA 抽提参照 Murray 等^[7]的 CTAB 方法, 并略作修改。

1.3 微卫星标记分析 微卫星标记的检测方法按 Li 等^[8]的方法进行。恢复基因鉴定: 利用 McCouch 等^[9]设计的与恢复基因两侧紧密连锁 (<5 cM) 的微卫星标记 (SSR) RM1, RM220, RM304, RM5373, RM258, 筛选目标基因。PCR 扩增按照 Panaud 等^[10]的方法进行, PCR 扩增产物用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 0.1% AgNO₃ 溶液染色。

基金项目 安徽省高校省级自然科学基金重点项目 (KJ2014A194)。
作者简介 蔡健 (1968-), 男, 安徽阜阳人, 教授, 博士, 从事水稻遗传育种和优质高产栽培技术研究。* 通讯作者, 副教授, 从事小麦细胞质雄性不育性的应用研究和遗传学教学工作。
收稿日期 2014-12-19

1.4 BC₃F₂ 群体的育性检测 采用分子标记从 BC₃F₂ 群体中筛选携带基因型 *R₃R₃/R₄R₄* 的单株,对这些单株进行花粉、小穗育性观察,育性观察参照张桂权等^[11]方法进行。

1.5 数据处理与分析 采用 EXCEL 及 SPSS13.0 统计软件对试验数据进行统计分析。计算方差及多重比较时,先将各组合花粉和小穗育性的百分率作反正弦 ($\sin^{-1}\sqrt{\%}$) 转换。

2 结果与分析

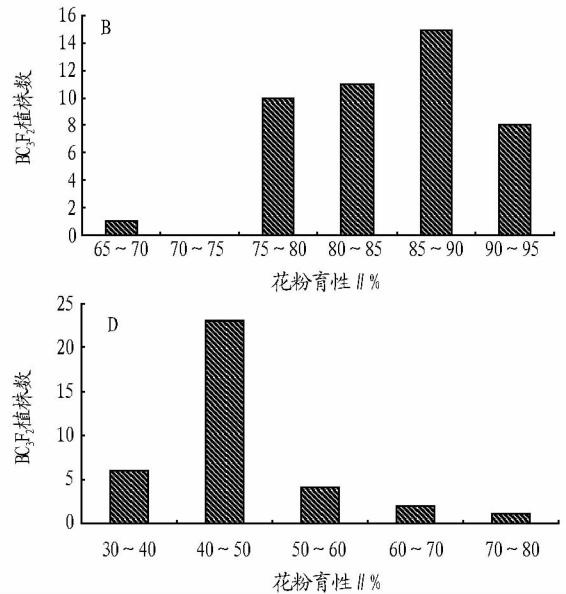
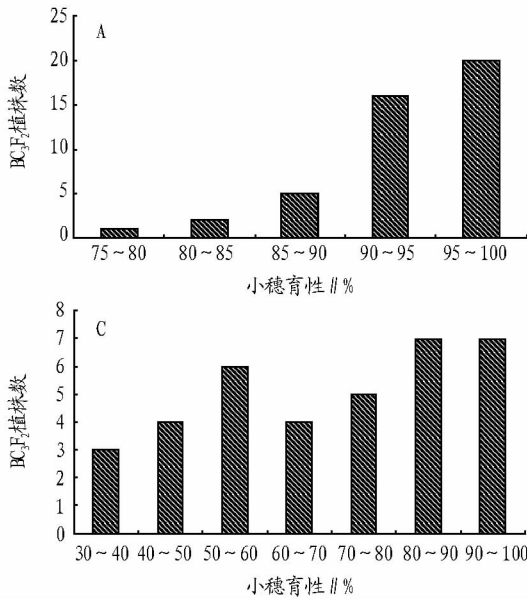
2.1 SSSLW23-07-06-01-09 与 BoA 组配 BC₃F₂ 单株育性 表1显示,SSSLW23-07-06-01-09 与 BoA 组配 BC₃F₂ 群体中,基因型 *R₃R₃/R₄R₄* 对育性的恢复性表现为:可育花粉率、自然结实率分别为 85.7%、92.6%,变幅分别为 71.6%~94.7%、64.2%~98.7%;基因型 *R₃R₃/R₄R₄* 对育性的恢复性表现为:可育花粉率、自然结实率分别为 47.1%、68.5%,变幅分别为 42.1%~49.3%、53.4%~77.5%。

2.2 SSSLW23-07-06-01-09 恢复性的遗传分析 BC₃F₂ 群体

中携带基因型 *R₃R₃/R₄R₄*、*R₃R₃/R₄R₄* 植株的花粉育性分布见图1。图1显示,携带基因型 *R₃R₃/R₄R₄* 植株的花粉和小穗育性分布呈连续性单峰分布,花粉育性分布为 71.6%~94.7%,平均为 85.7%,小穗育性分布为 64.2%~98.7%,平均为 92.6%;携带基因型 *R₃R₃/R₄R₄* 植株的花粉和小穗育性分布呈连续性单峰分布,花粉育性分布为 42.1%~49.3%,平均为 47.1%,小穗育性分布为 53.4%~77.5%,平均为 68.5%。说明恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 对于 BoA 的恢复性除主效恢复基因 *R₃* 和 *R₄* 外,微效基因或者修饰基因也表现出对于博白 A 的恢复性作用,且效应较大。

表1 SSSLW23-07-06-01-09 与 BoA 组配 BC₃F₂ 单株的育性

基因型	株数	花粉育性		小穗育性	
		%	变幅	%	变幅
<i>R₃R₃/R₄R₄</i>	48	85.7±0.3	71.6~94.7	92.6±0.4	64.2~98.7
<i>R₃R₃/R₄R₄</i>	46	47.1±0.4	42.1~49.3	68.5±1.1	53.4~77.5



注:A、B.来自基因型为 *R₃R₃/R₄R₄* 的小穗和花粉育性分布;C、D.来自基因型为 *R₃R₃/R₄R₄* 的小穗和花粉育性分布。

图1 SSSLW23-07-06-01-09 与 BoA 组配 BC₃F₂ 植株的小穗和花粉育性分布

3 结论与讨论

田郎^[12]利用 3 个同核异质雄性不育系分别与恢复系“古 223”和“IR24”杂交的 F₁、F₂、B₁、B₂ 及保持恢复系的杂交组合与不育系测交,发现恢复系为“古 223”时,以花粉可育率和田间结实率为指标,“汕 A”(即“珍汕 97A”)、“G 汕 A”和“WA 汕 A”3 个不育系的育性恢复均受 2 对独立主效基因控制,恢复系为“IR24”时,以花粉可育率为指标时,“D 汕 A”和“WA 汕 A”的育性均受 3 对基因控制,其中 1 对独立,另外 2 对相互连锁,连锁基因间的交换值为 25%;而“G 汕 A”的育性恢复仍受控于 2 对独立主效基因。以田间结实率为指标时,该 3 个不育系的育性恢复受 2 对独立主效基因的控制。傅爱军等^[13]以花粉育性、田间结实率、套袋结实率为指标,认为 F₂ 虽呈双峰分布,但难以明确划分,表现为连续分布。蔡健等^[14]研究认为恢复系 SSSLW11-09-02 对于野败型(WA)和矮败型(DA)的恢复性是由 *R₃* 和 *R₄* 2 个主效恢复

基因控制,认为 SSSLW11-09-02 对于 WA-CMS 和 DA-CMS 表现出质量性状的遗传。该研究中恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 中的恢复基因对于 WA 型不育系博白 A 表现出质量-数量性状的遗传。在恢复系 SSSLW23-07-06-01-09 中,除主效恢复基因 *R₃* 和 *R₄* 外,微效基因或者修饰基因也表现出对于博白 A 的恢复性作用,且效应较大。该研究结果将为水稻杂种优势研究和利用提供理论依据。

参考文献

- [1] YAO F Y, XU C G, YU S B, et al. Mapping and genetic analysis of two fertility restorer loci in wild-abortive cytoplasmic male sterility system of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Euphytica*, 1997, 98: 183-187.
- [2] TAN X L, VANAVICHIT A, AMORNILPA S, et al. Genetic analysis of rice CMS-WA fertility restoration based on QTL mapping [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 96: 994-999.
- [3] 庄杰云,樊叶杨,吴建利,等. 水稻 CMS-WA 育性恢复基因的定位 [J]. *遗传学报*, 2001, 28(2): 129-134.

(下转第 34 页)

枣花^[10]。防治方法:①成虫羽化前在树干基部堆30 cm的锥形沙堆或用塑料薄膜环绕树干基部,阻止无翅雌蛾爬上树,每天清晨处理树下雌蛾。②杀卵。在环绕树干的塑料薄膜带下方绑1圈草绳引诱雌蛾产卵其中,自成虫羽化之日起每15 d换一次草绳,换下后烧掉,更换3~4次即可。③挖蛹。在成虫羽化前,在树干周围1 m范围内深3~10 cm处挖出越冬蛹集中处理。④药剂防治。药剂可用75%辛硫磷乳剂1 000倍稀释液或48%毒死蜱1 000倍稀释液、10%氯氰菊酯乳油1 000倍稀释液、80%敌敌畏1 000倍稀释液、30%乙酰甲胺磷600倍稀释液等。

5.2 病害防治 在枣树发芽前的休眠期,一般使用浓度为3.0~5.0波美度;在枣树芽萌动期,一般使用浓度为1.0~3.0波美度;在展叶期,一般使用浓度为0.2~0.3波美度。

枣缩果病又称枣蔫病等,是我国各大枣区的主要病害之一。枣缩果病原侵入正常果实后,被侵害果实的发病症状有晕环、水渍着色和萎缩脱落等几个阶段^[12-13]。首先在果肩或胴部出现黄褐色不规则变色斑,进而果皮出现水渍状土黄色,边缘不清,后期果皮变为暗红色,收缩,且无光泽。果肉病区由外向内出现褐色斑,味苦不堪食用。果柄变为褐色或黑褐色。整个果果瘦小,于成熟前脱落^[12]。

近年来的研究表明,泗洪大枣的缩果病是由细菌、真菌、病毒感染后引起的。发病与枣果外皮破损有直接关系。除自然磨损的枣果伤口可以传病外,主要由刺吸式口器的害虫,如壁虱、稻飞虱、叶蝉和椿象等所引起的伤口传病。发病也与枣果的发育时期有关^[13]。在华北地区,一般于7月中旬、8月中、下旬枣果变白至着色时发病。从气候条件上看,气温在26~28℃时,一旦遇到阴雨连绵或夜雨昼晴天气,该病易暴发成灾。缩果病以点片发生较多为特点,一片枣园往往有几株树发病严重。1株枣树又往往由几个枝条发病严重等。缩果病往往与炭疽病同时发生在1个枣果上,或同时在果园内发生,有时比较难以区别。2种病果的主要区别在于枣果的果核发不发黑。只患有缩果病的枣果,果核一般不变颜色;而一旦感染上炭疽病后,它的果核则会变黑^[14]。

防治缩果病,可以采取以下技术措施:①要加强管理,及时防止刺吸式口器虫害的发生,如蚱壳虫、椿象、壁虱、稻飞虱和叶蝉等。②在发病前后的7月中旬、8月中、下旬,用链霉素100~140个国际单位/ml,或铜大师1 500倍稀释液、世高2 000倍稀释液、博医600倍稀释液、易保1 500倍稀释液、万兴200倍稀释液,全树喷施。每7~10 d喷施一次,共喷施3~4次。由于上述药剂的水溶液容易失效,特别是链霉素,故使用上述药剂时最好现配现用。与此同时,在上述药液内加入80%氯氰菊酯1 000倍稀释液、30%乙酰甲胺磷600倍稀释液等杀虫剂杀死传病昆虫,防治缩果病效果更佳。

6 适时采收

泗洪大枣的成熟期在9月上中旬,枣蒂部开始着色,此时口感好,耐运输,是上市的最佳时期。采收时只能用手采摘,轻拿轻放,不可用杆打,以免造成机械损伤^[6]。

参考文献

- [1] 万正忠,崔传勇,陈家美,等. 枣树优良品种——泗洪大枣[J]. 江苏绿化,1994(6):30-31.
 - [2] 张伟英,赵付元,陆利民. 泗洪大枣引种栽培试验初报[J]. 浙江林业科技,2002(5):72-74.
 - [3] 於朝广,殷云龙,孙醉君. 泗洪大枣早产丰产栽培技术[J]. 江苏林业科技,2003,30(2):43-44.
 - [4] 於朝广. 江苏省优质枣品种[D]. 南京:南京农业大学,2005.
 - [5] 高珊梅,徐桂林,何兵. “泗洪大枣”栽培技术[J]. 上海农业科技,2003(6):40.
 - [6] 马兵. 泗洪大枣特性及栽培技术要点[J]. 河北果树,2001(3):45.
 - [7] 陈卫平,马飞. 提高泗洪大枣坐果率的研究[J]. 江苏农业科学,2008(6):156-157,159.
 - [8] 苏明申,叶正文,吴钰良,等. 上海地区枣树主要病虫害及其防治[J]. 中国南方果树,2001(2):33-34.
 - [9] 戎俊青,闫军,赵宏. 枣瘿蚊防治试验[J]. 河北林业科技,2007(4):10-11.
 - [10] 李占鹏,许兴华,周成刚,等. 植物性杀虫剂对枣尺蠖枣瘿蚊的药效试验[J]. 山东林业科技,2002(3):8-9.
 - [11] 邢烁. 枣粘虫的发生与防治[J]. 现代农村科技,2011(11):27.
 - [12] 侯晓杰. 枣缩果病病原和防治研究[D]. 保定:河北农业大学,2010.
 - [13] 张朝红,刘孟军,周俊义,等. 枣缩果病研究进展[J]. 河北林果研究,2008(1):62-65,81.
 - [14] 赵素凤. 枣缩果病发病规律及防治研究进展[J]. 内蒙古林业调查设计,2010(6):94-96.
- (上接第28页)
- [4] 张群宇,刘耀光,张桂权,等. 野败型水稻细胞质雄性不育恢复基因Rf-4的分子标记定位[J]. 遗传学报,2002,29(11):1001-1004.
 - [5] SHEEBA N K, VIRAKTAMATH B C, SIVARAMAKRISHNAN S, et al. Validation of molecular markers linked to fertility restorer gene(s) for WA-CMS lines of rice[J]. Euphytica,2009,167:217-227.
 - [6] NGANGKHAM U, PARIDA S K, DE S, et al. Genic markers for wild abortive (WA) cytoplasm based male sterility and its fertility restoration in rice[J]. Mol Breeding,2010,26:275-292.
 - [7] MURRAY M G, THOMPSON W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA[J]. Nucl Acids Res,1980,8(19):4321-4325.
 - [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 Bot Sin,2002,44(4):463-467.
 - [9] MCCOUCH R, TEYTELMAN L, XU Y B, et al. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) [J]. DNA Res,2002,9:199-207.
 - [10] PANAUD O, CHEN X, MCCOUCH S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSPL) in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Mol Gen Genet,1996,252:597-607.
 - [11] 张桂权,卢永根. 栽培稻(*Oryza sativa* L.) 杂种不育性的遗传研究: I. 等位基因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.
 - [12] 田郎. 几个水稻同核异质雄性不育系育性遗传的比较研究[J]. 四川大学农业学报,1994,12(1):16-29.
 - [13] 傅爱军,王晖. 水稻雄性不育的遗传研究[J]. 湖南农学院学报,1988,14(1):1-6.
 - [14] 蔡健,王枚枚,兰伟,等. 2种水稻细胞质雄性不育的恢复基因分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2013,41(10):73-78.