

宁夏主要水稻品种(系)*Rf-1* 基因位点多态性分析

王 坚, 刘 炜*

(宁夏农林科学院 农作物研究所, 宁夏永宁 750105)

摘 要:以宁夏 49 份主要水稻品种(系)为实验材料,对各材料在 *Rf-1* 基因位点的功能标记进行分析和基因序列对比,并对各材料在不同位点的差异进行聚类分析,以明确 *Rf-1* 位点的规律和特征,为不育系或恢复系的转育及其分子标记选用、杂交组合配置和杂种优势的利用提供理论参考。结果表明:(1)有 11 个品种(系)为 *Rf1a/Rf1a* 基因型,占宁夏主要水稻品种(系)的 22%。(2)*Rf1b* 基因位点检测结果有 17 个点的碱基发生突变,其中 2459、2283、2059、1694、2205、1784、2315 位点在各品种(系)中突变的频率较高,1576、1881、1970(1985)位点突变的频率低。(3)突变主要是碱基的替换,其位点多,品种(系)间变化大;插入突变位点相对少,只有极少数品种(系)发生插入突变;各品种(系)平均有 8 个突变位点。(4)聚类分析发现,宁夏主要水稻品种(系)可以划分为三类,每类对应了不同时期的主要品种(系),从第一类群体到第三类群体品种(系)间的差异增加,多样性更丰富,但平均每个品种突变点由 9 个下降到 7 个。

关键词:宁夏水稻;雄性不育恢复基因;功能标记;基因序列

中图分类号: Q789 **文献标志码:** A

Polymorphism Analysis of *Rf-1* Gene Locus of Main Rice Varieties (Lines) in Ningxia

WANG Jian, LIU Wei*

(The Crop Research Institute of Ningxia Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Yongning, Ningxia 750105, China)

Abstract: 49 samples selected from main varieties (line) of rice from Ningxia are taken as experimental material, the functional marker of which are subject to analysis and gene sequence comparison at *Rf-1* gene locus and discrepancies in all materials at various loci are subject to cluster analysis to determine pattern and characteristic of *Rf-1* locus and offer theoretical reference for trans-breeding, molecular marker selection, configuration of hybrid combination and utilization of hybrid vigor of sterile line and restore line. The results show that: (1) 11 varieties (lines) are (*Rf1a/Rf1a*) genotype, accounting for 22% of main rice variety (line) in Ningxia; (2) *Rf1b* gene locus detection found mutation at basic group of 17 points, among which loci 2459, 2283, 2059, 1694, 2205, 1784 and 2315 have the highest frequency of mutation among each variety (line), while loci 1576, 1881, 1970 (1985) have the lowest frequency of mutation; (3) The mutations are mainly replacement of nucleic acid characterized by numerous loci, including large variation among varieties (lines) and relevant less insertion mutation locus, only a few varieties (lines). There are about 8 mutation loci in each variety (Line) in average; (4) It is observed from cluster analysis that main rice varieties (lines) in Ningxia could be divided into 3 types, with each type corresponding to main

收稿日期: 2017-10-21; 修改稿收到日期: 2018-01-17

基金项目: 国家自然科学基金 (31160273); 宁夏自然科学基金 (NZ14185); 自治区农业育种专项水稻新品种选育项目 (2013NYY20305)

作者简介: 王 坚 (1976-), 男, 副研究员, 主要从事水稻杂种优势利用研究。E-mail: wjzswsd@163.com

* 通信作者: 刘 炜, 研究员, 主要从事水稻杂种优势利用研究。E-mail: lwzws@163.com

varieties (lines) at different periods, difference of varieties (lines) from the first cluster to the third cluster grows and becomes more diverse, but mutation of each variety decreased from 9 to 7 in average.

Key words: Ningxia rice; male sterile restore gene; functional mark; gene sequence

遗传基础不同的植物,其杂交后代所表现出的各种性状均优于杂交双亲,比如生活力、适应性、生殖力、生长势、抗逆性,以及产量、品质等,这称之为杂交优势^[1]。杂种优势的大小与亲本间的遗传背景有很大的关系。水稻中籼稻和粳稻之间有较远的遗传关系,在形态学、生物化学和分子遗传学方面有很多差异^[2],杂交后代往往会产生大量遗传重组和分离类型,产生很强的杂种优势,在杂交稻育种实践中具有潜在的巨大价值^[3-4]。因此,明确亲本间的遗传背景和关系、调节搭配亲本组合及其籼粳成分,使北方杂交水稻能获得高产稳产成为了现阶段研究的重点^[5]。

在粳型杂交稻中,育种家先后转育成一大批 BT 型粳稻不育系^[6],但广泛测恢均未能找到粳稻恢复系,因此认为粳稻中没有恢复基因^[7]。杨振玉等^[8]利用“籼粳架桥”制恢方法,从籼稻中找到可以利用的恢复基因,至此粳型杂交稻三系配套成功。随着生物技术的快速发展,其关键基因 *Rf-1* 被定位和克隆,*Rf-1* 位点 2 个相关的育性恢复基因 *Rf1a* 和 *Rf1b* 基因,RF1A 上位于 RF1B。粳稻不育/保持系(*rf1/rf1*)与籼型或粳型恢复系的恢复基因(*Rf1/Rf1*)在 *Rf1a* 位点上存在 1 bp 和 574 bp 两处缺失,在 *Rf1b* 位点上存在多处差异^[9-10]。大量的研究也表明,水稻 *Rf-1* 位点在籼粳分化地区具有较高的遗传多样性^[11-13],与水稻的籼粳分化紧密相关^[14],是籼粳分化重要区分性状之一。

宁夏水稻最早来自籼粳稻交替地区陕西秦岭、巴山等地区^[15]。加上近些年,从不同地区引种杂交,籼型血缘的水稻不断导入到宁夏水稻。为此我们对在宁夏种植过的主要品种(系)*Rf-1* 位点进行分析,明确 *Rf-1* 位点规律和特点。为不育系或恢复系的转育,转育过程中分子标记选用,各品种的遗传类型、种群的划分、杂交组合配置和杂种优势的利用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

选用的材料主要来自在宁夏种植或引进的品种(系)共 49 个材料,基本信息详见表 1。

1.2 引物设计及其扩增效果验证

根据 *Rf1a* 基因位点保持系(*rf1a/rf1a*)比恢复

系(*Rf1a/Rf1a*)缺少 574 bp 的片段^[9-10],在缺失区域上游设计引物 Rfa-7F (GGACCGGGGATT TTTAC-CTG),下游设计引物 Rfa-7R (AACCCAACTGAGAC-CATGCC)^[16]。根据 *Rf1b* 基因序列 (GenBank DQ311054.1),设计引物 Rfb-1F/Rfb-1R (ttctcgtcgtctt-cttcccg/ctttaggccctcttgacca) 和 Rfb-2F/Rfb-2R (aatggacaaggccatggag/tgtaggccatttcaaacagga) 对各品种(系)扩增,由金唯智公司对扩增片段进行测序。

1.3 粳稻 DNA 的提取和 PCR 扩增

将宁夏的主要品种(系)种植于宁夏农林科学院农作物研究所实验基地,2016 年 4 月中旬大棚育秧,5 月中旬单株插秧,在水稻 3~4 叶期取新鲜叶片,采用 CTAB 法提取 DNA。引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。PCR 反应体系总体积为 20 μ L,其中 10 \times Buffer (含 Mg^{2+} 15 mmol/L) 2 μ L, dNTP (各 2.5 mmol/L) 1 μ L, 100 μ mol/L 引物各 0.1 μ L, 1 U *Taq* 酶, DNA 模板 1 μ L, 加 ddH₂O 补足 20 μ L。PCR 反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 共 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物通过 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳,用 Gold-View 核酸染料染色后在紫外灯下观察,并用凝胶成像系统拍照。

2 结果与分析

2.1 宁夏主要水稻 *Rf1a* 基因位点检测

用 Rfa-7F/Rfa-7R 引物对宁夏这些主要品种(系)的 DNA 进行扩增,结果(图 1)表明,其中‘宁香稻 1 号’、‘宁粳 29 号’和‘宁粳 30 号’等 11 个品种(系)扩增出 957 bp 片段, (*Rf1a/Rf1a*) 基因型占了 22%, 其余的扩增出 383 bp 的片段, (*rf1a/rf1a*) 基因型占了 78%。

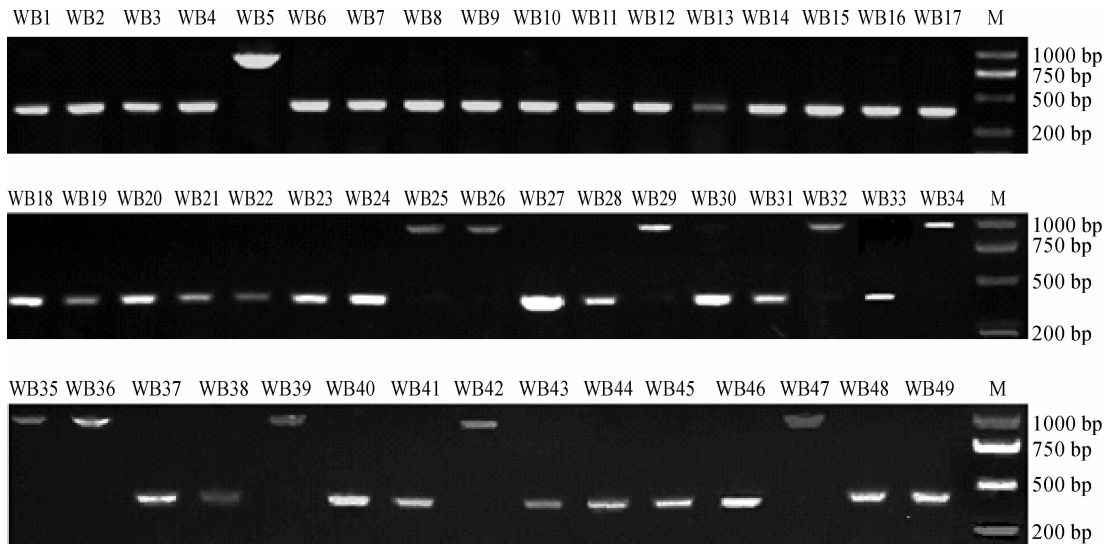
2.2 宁夏主要水稻 *Rf1b* 基因位点检测

各突变位点在实验品种中出现的频次见表 2, 其中 2459、2283、2059、1694、2205、1784、2315 位点在各品种中突变的频率较高,各突变出现的次数在 39~48 次。1927、1117 (1118)、1530 (1546) 位点出现的位点频率相对少一些,各突变出现的次数在 11~21 次。1576、1881、1970 (1985) 位点发生突变极少,各突变只出现 1 次,其共同特点是在该位点后插入 1 个碱基。

表 1 宁夏 49 份主要水稻品种(系)的基本信息

Table 1 Basic information of 49 rice varieties (lines) in Ningxia

编号 No	名称 Name	系谱 Pedigree
WB01	京稻 29 Jingdao29	京稻 29 Jingdao 29
WB02	京引 39 号 Jingyin39	藤坂 5 号/北陆 4 号 Fujisaka 5/Hokuriku 4
WB03	宁稻 216 Ningdao216	宁粳 6 号/8023 Ningjing 6/8023
WB04	秋光 Akihikar	丰锦/黎明 Toyonishiki/Liming
WB05	宁香稻 1 号 Ningxiangdao1	京香 2 号 Jingxiangdao 2
WB06	宁香稻 2 号 Ningxiangdao2	香血糯//A30/农院 6-2 Xiangxuenuo//A30/Nongyuan 6-2
WB07	宁香稻 3 号 Ningxiangdao3	香血糯 //A30/农院 6-2 Xiangxuenuo//A30/Nongyuan 6-2
WB08	宁糯 5 号 Ningnuo5	宁糯 5 号 Ningnuo 5
WB09	宁粳 3 号 Ningjing3	京引 39/京引 59 Jingyin 39/Jingyin 59
WB10	宁粳 7 号 Ningjing7	红旗 12/66-6//黎明/山风不知 Hongqi 12/66-6/Liming//Shanfengbuzhi
WB11	宁粳 9 号 Ningjing9	78-4442/78-127
WB12	宁粳 12 号 Ningjing12	80K-479-1/清杂 52 80K-479-1/Qingza 52
WB13	宁粳 13 号 Ningjing13	科情 3 号/IR24//76-1303 Keqing 3/IR24//76-1303
WB14	宁粳 14 号 Ningjing14	8131F1/8035F1
WB15	宁粳 15 号 Ningjing15	87F-129/84XZ-7
WB16	宁粳 16 号 Ningjing16	81D-86/81K-249-3
WB17	宁粳 18 号 Ningjing18	农院 77-61/吉 69-7 Nongyuan 77-61/Ji 69-7
WB18	宁粳 19 号 Ningjing19	83XW-555/86JZ-12
WB19	宁粳 23 号 Ningjing23	88XW-495-1/84XZ-7
WB20	宁粳 24 号 Ningjing24	宁粳 12 号/意大利 4 号//92 夏温-37 Ningjing 12/Italia 4//92 Xiawen 37
WB21	宁粳 25 号 Ningjing25	宁粳 10 号/农院 6-2 Ningjing 10/Nongyuan 6-2
WB22	宁粳 26 号 Ningjing26	金引 2 号 Jinyin 2
WB23	宁粳 27 号 Ningjing27	冷 11-2/萨特恩 Leng11-2/Saturn
WB24	宁粳 28 号 Ningjing28	山引 1 号/花 21 Shanyin 1/Hua 21
WB25	宁粳 29 号 Ningjing29	山引 1 号/91XW-65 Shanyin 1/91XW-65
WB26	宁粳 30 号 Ningjing30	31116S+30301S+5047S+4018S/超产 1 号+超产 2 号 31116S+30301S+5047S+4018S/Chaochan 1+Chaochan 2
WB27	宁粳 31 号 Ningjing31	LQ-1
WB28	宁粳 32 号 Ningjing32	83XZ-489/藤系 125 83XZ-489/Tenxi 125
WB29	宁粳 33 号 Ningjing33	93JZ-5/ 93H-1-(1)
WB30	宁粳 34 号 Ningjing34	552A/恢 15 552A/Hui 15
WB31	宁粳 35 号 Ningjing35	88xw-495-1/84xz-7
WB32	宁粳 36 号 Ningjing36	优 6///中作 59/02428//中系 8503/84xZ-7 You 6///Zhonzuo 59/02428//Zhongxi 8503/84xZ-7
WB33	宁粳 37 号 Ningjing37	96G-59/Dongnong 415 96G-59/东农 415
WB34	宁粳 38 号 Ningjing38	锦丰/96G-59 Jingfen/96-59
WB35	宁粳 40 号 Ningjing40	锦丰/96G-59 Jingfen/96-59
WB36	宁粳 41 号 Ningjing41	94xw-127/组培 11 号 94xw-127/Zupeii 11
WB37	宁粳 42 号 Ningjing42	89XW-216/92XW-723
WB38	宁粳 43 号 Ningjing43	宁粳 12 号/意大利 4 号//92 夏温 37 Ningjing 12/Italia 4//92 Xiawen 37
WB39	宁粳 44 号 Ningjing44	C57-80-9(101209)/C79-6
WB40	宁粳 45 号 Ningjing45	九新 152/开 9502 Jiuxin 152/Kai 9502
WB41	宁粳 46 号 Ningjing46	宁粳 12 号/意大利 4 号//92 夏温 37 Ningjing 12/ Italia 4//92 Xiawen 37
WB42	宁粳 47 号 Ningjing47	五优稻 1 号/吉粳 101 Wuyoudao 1/Jijing 101
WB43	98XW-258	98XW-258
WB44	花 51 Hua51	花 51 Hua 51
WB45	花 114 Hua114	花 114 Hua 114
WB46	农科 843 Nongke843	农科 843 Nongke 843
WB47	吉粳 105 Jijing105	超产 2 号/吉 89-45 Chaochan 2/Ji 89-45
WB48	京 784Jing784	京 784 Jing 784
WB49	楚粳 28 号 Chujing28	楚粳 26 号/96Y-6 Chujing 26/96Y-6



WB01~WB49. 同表 1; M: DL2000

图 1 宁夏 49 份主要水稻品种(系)*Rf1a* 基因位点功能标记分析

WB01-WB49 are shown in Table 1; M: DL2000

Fig. 1 Functional mark analysis of main rice varieties (lines) in 49 rice samples at *Rf1a* gene locus

表 2 宁夏 49 份主要水稻品种(系)各突变点的品种数

Table 2 Number of varieties at each mutation point of main rice varieties (lines) in 49 rice samples

突变位置 Mutation position	数量 Quantity	突变位置 Mutation position	数量 Quantity
1117(1118)	19	1927	21
1233	11	1970(1985)	1
1530(1546)	14	2059	47
1576	1	2205	46
1694	47	2283	47
1784	46	2315	39
1881	1	2459	48

通过引物 Rfb-1F/Rfb-1R 和 Rfb-2F/Rfb-2R 对这些品种(系)DNA 进行扩增并测序,结果与 *Rf1b* 基因序列对比,有 17 个点的碱基发生突变(表 3),分别在 1117 位点 G 变为 T,1118 位点 C 变为 T,1233 位点 C 变为 T,1530 位点 C 变为 T,1546 位点 G 变为 A,1576 位点 A 变为 AC,1694 位点 C 变为 T,1784 位点 C 变为 T,1881 位点 T 变为 TC,1927 位点 C 变为 A,1970 位点 A 变为 AG,1985 位点 A 变为 AG,2059 位点 T 变为 G,2205 位点 T 变为 C,2283 位点 C 变为 G,2315 位点 A 变为 G,2459 位点 G 变为 C。其中 1117 和 1118 位点,1530 和 1546 位点,1970 和 1985 位点表现为同时突变,在统计分析过程中将其归为同一点。

各品种突变位点数详见表 4。由表 4 可知,只

有 1 个品种有 10 个突变位点,22 个品种有 9 个突变位点,其余的品种都小于 9 个突变位点,13 个品种有 8 个突变位点,6 个品种有 7 个突变位点,4 个品种有 6 个突变位点,2 个品种有 5 个突变位点,由此可以看到随着突变位点的减少品种数也呈指数下降,少于 5 个的突变位点则没有。‘宁粳 32 号’一个品种序列与 *Rf1b* 基因完全一样。

2.3 宁夏主要水稻 *Rf1* 基因位点聚类分析

利用 DPS 软件,根据计算出来的群体内种质间的 Nei 和 Li 遗传相似系数,采用可变类平均法对 49 份水稻材料进行聚类分析,并绘制树状聚类图,结果如图 2 所示。以遗传距离 1.25 进行划分,可以划分为三类,第一类有‘宁粳 43 号’、‘宁粳 24 号’和‘宁粳 12 号’等共 13 个品种。都是在 1117(1118)、1694、1784、1927、2059、2205、2283、2315、2459 位点发生突变,在 1233、1530(1546)、1576、1881、1970(1985)位点无突变,突变位点多样性单一。第二类有‘楚粳 28 号’、‘农科 843’和‘宁粳 27 号’等共 11 个品种。在 1233、1694、1784、2059、2205、2283、2315、2459 位点全部品种(系)发生突变,在 1117(1118)、1576、1927、1970(1985)位点所有品种(系)无突变,1530(1546)位点多数品种(系)发生突变,1881 位点只有少数品种(系)发生突变。品种间的差异主要在 1881 和 1530(1546)位置变化。第三类有‘吉粳 105’、‘宁粳 44 号’和‘稻京 29’等共 25 个品种。只有 1233 和 1881 无品种发生无突变,其他位置的都有突变,而且品种间的差异非常大。

表 3 宁夏 49 份主要水稻品种(系)的 *R/1b* 基因突变位点Table 3 *R/1b* gene mutation loci of 49 rice varieties (lines) Ningxia

编号 No.	突变位点位置 Mutation locus position													
	1117(1118)	1233	1530(1546)	1576	1694	1784	1881	1927	1970(1985)	2059	2205	2283	2315	2459
WB01	-	-	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB02	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB03	-	C→T	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB04	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB05	-	-	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB06	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB07	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB08	-	C→T	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB09	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB10	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB11	-	-	C→T,G→A	-	-	-	-	-	-	T→G	-	C→G	A→G	G→C
WB12	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB13	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB14	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB15	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB16	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB17	-	C→T	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB18	-	C→T	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB19	-	C→T	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB20	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB21	-	C→T	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB22	-	-	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB23	-	C→T	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB24	-	C→T	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB25	-	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	-	G→C
WB26	-	-	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	-	G→C

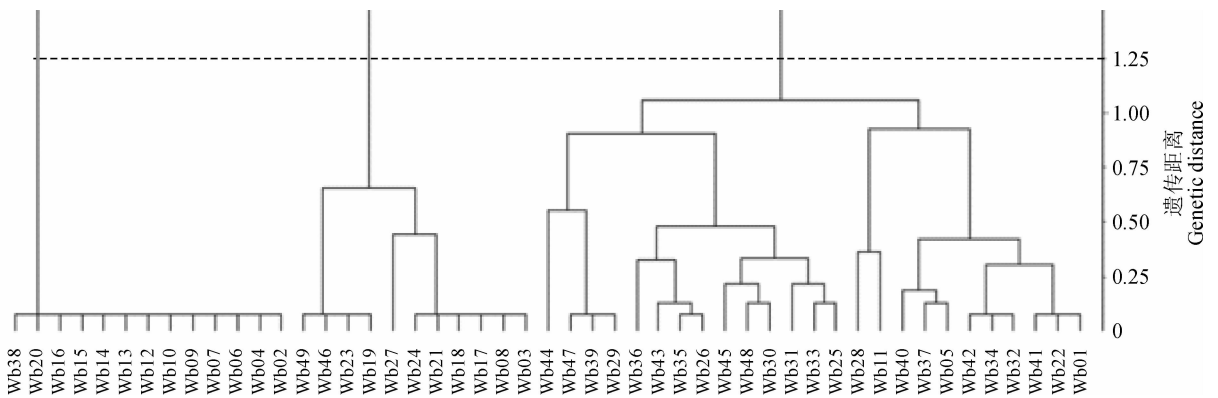
续表 3 Continued Table 3

编号 No.	突变位点位置 Mutation locus position													
	1117(1118)	1233	1530(1546)	1576	1694	1784	1881	1927	1970(1985)	2059	2205	2283	2315	2459
WB27	-	C→T	C→T,G→A	-	C→T	C→T	T→TC	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WB29	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB30	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	-	G→C
WB31	-	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB32	-	-	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB33	-	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	-	G→C
WB34	-	-	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB35	-	-	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	-	G→C
WB36	-	-	-	A→AC	C→T	C→T	-	-	A→AG,A→AG,	T→G	T→C	C→G	-	G→C
WB37	-	-	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB38	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB39	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB40	-	-	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	-	A→G	G→C
WB41	-	-	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB42	-	-	C→T,G→A	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB43	-	-	-	-	C→T	-	-	-	-	T→G	T→C	C→G	-	G→C
WB44	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	-	-	C→G	A→G	G→C
WB45	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	-	G→C
WB46	-	C→T	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB47	G→T,C→T	-	-	-	C→T	C→T	-	C→A	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C
WB48	-	-	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	-	G→C
WB49	-	C→T	-	-	C→T	C→T	-	-	-	T→G	T→C	C→G	A→G	G→C

表 4 宁夏 49 份主要水稻品种(系)各品种突变位点数

Table 4 Number of mutation loci of each variety of 49 rice varieties (lines) in Ningxia

材料编号 No.	突变位点数 Number of mutation locus	材料编号 No.	突变位点数 Number of mutation locus	材料编号 No.	突变位点数 Number of mutation locus	材料编号 No.	突变位点数 Number of mutation locus
WB01	8	WB14	9	WB27	10	WB39	9
WB02	9	WB15	9	WB28	0	WB40	6
WB03	9	WB16	9	WB29	9	WB41	8
WB04	9	WB17	9	WB30	7	WB42	8
WB05	7	WB18	9	WB31	8	WB43	5
WB06	9	WB19	8	WB32	8	WB44	7
WB07	9	WB20	9	WB33	7	WB45	8
WB08	9	WB21	9	WB34	8	WB46	8
WB09	9	WB22	8	WB35	6	WB47	9
WB10	9	WB23	8	WB36	8	WB48	6
WB11	5	WB24	9	WB37	7	WB49	8
WB12	9	WB25	7	WB38	9		
WB13	9	WB26	6				



WB01~WB49 同表 1

图 2 宁夏 49 份主要水稻的 *Rf-1* 基因位点聚类分析树状图

WB1-WB49 are shown in Table 1

Fig. 2 Tree diagram for *Rf-1* gene locus cluster analysis of 49 rice varieties in Ningxia

3 讨论

突变基因组为进化的主要动力^[17-18],发生突变的栽培稻,为适应不同的生态环境,在自然和人工的共同选择产生籼稻—粳稻分化^[19-21],因此籼、粳稻在分子生物学方面出现非常大的差异^[22-24]。通过对宁夏的主要品系 *Rf1b* 基因序列对比,结果有多处的位点发生突变,每个突变位点出现的频率不同。突变的类型主要是碱基的替换,而且变化位点多,品种间的变化大。插入突变位点相对少,只有少数品种(系)发生插入突变,这可能是由于碱基的替换高于插入突变^[25]。

根据 *Rf-1* 基因不同突变位点,可以将宁夏主要的品种划分 3 个类群,第一类群多数属于早期育成的品种(系),第二类群多数属于较晚育成的品种(系),第二类群比第一类的多样性增加,突变点的数量减少。第三类群的品种多数属于较近时期的品种(系),突变位点多样性增加,但突变点数量减少更多。总体看第一类群体到第三类群体,品种间突变位点的差异增加,多样性更丰富,突变点的数量有下降趋势。这些发展趋势可能与不同时期的目标和使用亲本材料更加丰富有关。早期育种目标主要就是高产,育种过程中选用的亲本单一。随着人们生活水平不断的提高,品种不仅要高产还要品质好,近些

年对品种的要求更高,在高产、优质、抗性好和广适应等多方面都提出了更高的要求。籼粳稻杂交其后代疯狂分离、变异幅度大、杂种优势强,蕴藏巨大的遗传潜力^[26-27],已经成为国内外水稻重要的育种策略和方法^[28]。通过“籼粳架桥”使籼粳稻之间的基因交流更容易,利用籼粳稻杂交创造新株型和强优

势,选育理想株型与优势利用相结合的超级稻等育种理论与技术路线确立^[29-30],不同地区的品种相互交流更多,籼粳血缘相互渗透更加广泛,在这种大的育种背景下,宁夏的品种背景也变得更复杂,增加更多的籼型血缘。这些可能导致 *Rf-1* 基因在不同突变位点的差异增加和突变点的数量下降趋势。

参考文献:

- [1] SHULL GH. The composition of a field of maize [J]. *Hered*, 1908, **4**(1): 296-301.
- [2] 陈 雨,潘大建,曲延英,等. 水稻籼粳分化研究进展[J]. 广东农业科学,2007,12: 3-7.
CHEN Y, PAN D J, QU Y Y, *et al.* Advances on indica-japonica differentiation in rice [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2007, 12: 3-7.
- [3] KHUSH G. Green revolution: the way forward[J]. *Nature Reviews*, 2001, **2**(10): 815-822.
- [4] PENG S B, LAZA R C, VISPERAS R M, *et al.* Rice: progress in breaking the yield ceiling[C]//: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, September 26-October 1, 2004.
- [5] 于亚辉,刘 郁,李振宇,等. 亲本籼粳成分与两系杂交粳稻杂种优势的关系及遗传基础[J]. 作物学报,2016, **42**(5): 648-657.
YU Y H, LIU Y, LI Z Y, *et al.* Relationship between indica-japonica index of parents and heterosis of hybrid and its genetic basis in japonica two line hybrid rice [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2016, **42**(5): 648-657.
- [6] 王才林,汤玉庚. 我国杂交粳稻育种的现状与展望[J]. 中国农业科学,1989, **22**(5): 8-13.
WANG C L, TANG Y G. Status and prospects of hybrid rice (*Oryza sativa* L. Ssp. *sinica*) breeding in China [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1989, **22**(5): 8-13.
- [7] 杨振玉,李志彬,东 丽,等. 中国杂交粳稻发展与展望[J]. 科学通报,2016, **61**(35): 3 770-3 777.
YANG Z Y, LI Z B, DONG L, *et al.* Development and prospect of hybrid japonica rice in China[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2016, **61**(35): 3 770-3 777.
- [8] 杨振玉,陈秋柏,陈荣芳,等. 水稻粳型恢复系 C57 的选育[J]. 作物学报,1981, **7**(3): 38-42.
YANG Z Y, CHEN Q B, CHEN R F, *et al.* The breeding of japonica rice restorer C57 [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1981, **7**(3): 38-42.
- [9] WANG Z H, ZOU Y J, LI X Y, *et al.* Cytoplasmic male sterility of rice with boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing [J]. *The Plant Cell*, 2006, **18**(3): 676-687.
- [10] AKAGI H, NAKAMURA A, YOKOZEKI-MISONO Y, *et al.* Positional cloning of the rice *Rf-1* gene, a restorer of BT-type cytoplasmic male sterility that encodes a mitochondria-targeting PPR protein [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, **108**(8): 1 449-1 457.
- [11] 寇姝燕,谭亚玲,李 俊,等. 中国西双版纳水稻老品种在育性恢复基因 *Rf-1* 位点的遗传多样性[J]. 分子植物育种,2009, **7**(4): 653-660.
KOU S Y, TAN Y L, LI J, *et al.* Genetic diversity on *Rf-1* locus of rice landraces in Xishuangbanna China[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2009, **7**(4): 653-660.
- [12] 张 云,谭学林,谭亚玲,等. 海拔及细胞质背景对水稻分离群体 *Rf-1* 位点基因型频率的影响[J]. 分子植物育种,2010, **8**(3): 439-445.
ZHENG Y, TAN X L, TAN Y L, *et al.* Effects of altitude and cytoplasm factors on genotype frequency of rice segregated populations at *Rf-1* locus [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2010, **8**(3): 439-445.
- [13] 何婷婷,文建成,金寿林,等. 籼粳稻及恢复系 *Rf-1* 位点 PCR 片段的序列分析[J]. 分子植物育种, 2013, **11**(6): 712-718.
HE T T, WEN J C, JIN S L, *et al.* Analysis of PCR sequences on rice *Rf-1* locus of indica, japonica and restorer lines[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2013, **11**(6): 712-718.
- [14] 王石华,谭亚玲,谭学林,等. 籼粳稻细胞质背景下 *Rf-1* 位点 PCR 标记的遗传分离[J]. 分子植物育种, 2009, **7**(3): 456-460.
WANG S H, TAN Y L, TAN X L, *et al.* Genetic segregation of PCR marker located within *Rf-1* locus under cytoplasmic backgrounds donated by indica and japonica rice [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2009, **7**(3): 456-460.
- [15] 胡子诚. 试论欧洲水稻长大粒品种与我国西北水稻品种的关系 [J]. 宁夏农业科技, 1980, (5): 10-12.
HU Z C. The relationship between northwestern rice and European rice [J]. *Ningxia Journal of Agriculture and For-*

- estry Science and Technology*, 1980, (5): 10-12.
- [16] 王 坚, 刘 炜. 杂交粳稻 BT 型雄性不育恢复基因功能标记优化研究[J]. 宁夏农林科技, 2015, **56**(10): 29-33.
WANG J, LIU W. A study of optimization of functional markers for restorer gene of BT-type cytoplasmic male sterility [J]. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 2015, **56**(10): 29-33.
- [17] The International SNP Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms [J]. *Nature*, 2001, **409** (6 822): 928-933.
- [18] ZHANG Z, GERSTEIN M. Patterns of nucleotide substitution, insertion and deletion in the human genome inferred from pseudo genes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, **31** (18): 5 338-5 348.
- [19] LU B R, ZHENG K L, QIAN H R, *et al.* Genetic differentiation of wild relatives of rice as referred by the RFLP analysis [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 106: 101-106.
- [20] 刘克德, 张启发, 张端品, 等. 云南地方稻种的遗传变异和籼粳分化[J]. 植物学报, 1995, **37**(9): 719-724.
LIU K D, ZHANG Q F, ZHANG D P, *et al.* Genetic variation and indica-japonica differentia in Yunnang indigenous rice [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1995, **37**(9): 719-724.
- [21] 王一平, 魏兴华, 华 蕾, 等. 不同地理来源早稻种质资源的遗传多样性分析[J]. 作物学报, 2007, **33**(12): 2 034-2 040.
WANG Y P, WEI X H, HUA L, *et al.* Genetic diversity in upland rice germplasm from different geographic regions[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, **33**(12): 2 034-2 040.
- [22] 李亚莉, 杨晓曦, 赵丰萍, 等. 云南元江普通野生稻(*Oryza rufipogon*)群体籼粳分化的 SSR 分析[J]. 中国水稻科学, 2006, **20**(2): 137-140.
LI Y L, YANG X X, ZHAO F P *et al.* SSR markers on indica-japonica differentiation of natural population of *Oryza rufipogon* in Yuanjiang, Yunnan Province[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2006, **20**(2): 137-140.
- [23] 孙传清, 袁平荣, 吉村淳, 等. 亚洲栽培稻的核 DNA, 线粒体 DNA 和叶绿 DNA 籼粳分化的比较研究[J]. 作物学报, 1998, **24**(6): 677-686.
SUN C Q, YUAN P R, ATSUSHI Y *et al.* Comparative study on the indica-japonica differentiation of nuclear DNA, nuclear DNA, mitochondrial DNA and chloroplast DNA in cultivated rice (*Oryza sativa* L) [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1998, **24**(6): 677-686.
- [24] 杨旺兴, 许旭明, 祁建民. 水稻籼粳交衍生系籼粳分化分析及其在 DNA 水平上划分标准初探[J]. 西南农业学报, 2013, **26** (4): 1 301-1 307.
YANG W X, XU X M, QI J M *et al.* Analysis of indica-japonica classification in rice derived lines and division standard in DNA level [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2013, **26**(4): 1 301-1 307.
- [25] 陈玲玲, 彭贵子, 张伟丽, 等. 突变在基因组进化中的意义 [J]. 遗传, 2006, **28**(5): 631- 638.
CHEN L L, PENG G Z, ZHANG W L, *et al.* The significance of mutations in genomic evolution [J]. *Hereditas*, 2006, **28**(5): 631- 638.
- [26] CHEN W F, XU Z J, ZHANG L B. Comparative study of stomata density and gas diffusion resistance in leaves of various types of rice[J]. *Korean Journal of Crop Science*, 1995, **40** (2): 125-132.
- [27] LI R H, JIANG T B, XU C G, *et al.* Relationship between morphological and genetic differentiation in rice (*Oryza sativa* L) [J]. *Euphytica*, 2000, **114**(1): 1-8.
- [28] 王鹤潼, 金 峰, 江奕君, 等. 不同生态条件下水稻籼粳交后代亚种分化机制[J]. 应用生态学报, 2013, **24**(11): 3 123-3 130.
WANG H T, JIN F, JIANG Y J *et al.* Mechanisms of subspecies differentiation in a filial generation of rice indica-japonica hybridization under different ecological conditions[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, **24**(11): 3 123-3 130.
- [29] 陈温福, 徐正进, 张龙步, 等. 北方粳型稻超高产育种理论与实践[J]. 中国农业科学, 2007, **40**(5): 869-874.
CHEN W F, XU Z J, ZHANG L B, *et al.* Theories and practices of breeding japonica rice for super high yield[J]. *Scientia Agricultura Sinica* 2007, **40**(5): 869-874.
- [30] 程式华. 中国超级稻育种技术创新与应用[J]. 中国农业科学, 2016, **49**(2): 205-206.
CHENG S H. Breeding technique innovation and application of China's super rice[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, **49**(2): 205-206.

(编辑: 宋亚珍)