

# 水稻穗期耐冷性近等基因系的选育 及耐冷性遗传研究\*

曾亚文 叶昌荣 申时全

云南省农业科学院农作物品种资源站, 昆明 650205

**摘要** 通过系统选育法、人工诱变、回交法等途径, 以云南已建立的自然条件、人工控温鉴定和反复鉴定选拔法相结合, 培育出一批穗期耐冷性近等基因系(NILs); 揭示了系选 NIL 云粳 9 号与西南 175、回交 NIL 与十和田、02428 与极强耐冷品种、滇农 S-1 与优异种质之间耐冷基因的遗传规律; 选育出一批强穗数型中间母本和优异核心种质聚合系; 农林 20/冲腿的孕穗期耐冷性数量性状基因座位(QTL)主要分布在第 1, 3~8, 10 和第 12 染色体上。

**关键词** 耐冷基因 近等基因系 数量性状位点 水稻

水稻耐冷性是受 1~7 对基因控制的数量性状, 数量性状基因的精密定位和分离克隆是难点, 研制发掘其主效基因和开展穗期耐冷性近等基因系(NILs)选育是进行耐冷基因的精密定位和分离克隆的关键。日本学者研究表明孕穗期耐冷性数量性状基因座位(QTL)位于第 1, 3, 4, 6, 7, 10, 11 染色体上<sup>[1,2]</sup>。Yoshida 和 Kato 用 4 个 cDNA 探针检测了 22 个品种的 RNAs 冷害和冷诱导积累, 他们认为 RC167 和 RC235 的 mRNA 积累与冷敏感有关<sup>[3]</sup>。我们曾利用已建立的自然和人工控温等稻种耐冷性鉴定评价方法及系统选育、回交和人工诱变等方法首次发现和培育出穗期耐冷性 NILs<sup>[4]</sup>, 这为解决穗期耐冷基因分离这一重大难题创造了条件。本研究对这一 NILs 的耐冷基因的遗传规律及选育进行了进一步的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 水稻(*Oryza sativa* L.)品种

以系选品种和回交选育出的穗期强弱耐冷基因 NILs 间、02428 与新团黑谷和小麻谷、滇农 S-1 与耐冷抗病和广亲和等优异种质、IR36 与元江普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff)的杂种后代 F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 群体在自然条件下进行水稻穗期耐冷性鉴定。采用孟德尔遗传学原理的独立分配规律及王建康和盖钧益<sup>[5]</sup>的方法进行耐冷基因的遗传分析。

### 1.2 耐冷性鉴定方法

穗期耐冷性鉴定评价方法及耐冷性标准品种详见文献[6]。

2000-01-28 收稿, 2000-03-21 收修稿稿

\* 国家自然科学基金(批准号: 39760042)、云南省省院省校合作项目(98ZN07)基金资助

### 1.3 限制性片段长度多态性(RFLP)和数量性状基因座位(QTL)分析

采用350个分子探针分析了日本品种农林20与云南陆稻品种冲腿之间的限制性片段长度多态性(RFLP),其中G和XNbp编号的探针来自日本晴基因组的克隆,C编号的探针来自日本晴愈伤组织的cDNA克隆,L编号的探针来自日本晴根组织的cDNA克隆,R编号的探针是用NotI连接的日本晴基因组克隆.利用这些探针,筛选出了157个在农林20和冲腿间显示多态性的标志,其中55个被用于农林20/冲腿杂交后代的70个F<sub>3</sub>系统的孕穗期耐冷性数量性状基因座位(QTL)分析.采用的软件<sup>[7]</sup>是应用区间作图法对探针及其性状数据进行处理求出LOD(Logarithm of odds)值,用最大LOD值判断QTL的有无.

## 2 结果与讨论

### 2.1 水稻穗期耐冷性遗传研究

云梗9号(结实率63.4%)是西南175(结实率33.3%)中系选出来的强耐冷性品种(即NIL),西南175×云梗9号的F<sub>2</sub>代分离群体育性分布呈双峰曲线,但其主峰分布不太明显,不如通过回交选择出的耐冷性NILs.半节芒、梗掉3号和昆明小白谷是穗期耐冷性极强的品种,携有半节芒耐冷性准NIL(B<sub>4</sub>F<sub>3</sub>)与十和田杂种F<sub>2</sub>分离群体的育性分布显示其耐冷性准NIL受2对基因控制;携有梗掉3号的NIL(B<sub>3</sub>F<sub>3</sub>)与十和田杂种F<sub>2</sub>分离群体的育性分布显示梗掉3号作为耐冷基因供体选育耐冷性NIL的难度较大,其结实率还与回交世代密切相关;携有昆明小白谷的耐冷基因的NIL(B<sub>3</sub>F<sub>4</sub>)与十和田杂种F<sub>2</sub>分离群体的育性分布表明其耐冷性准NIL受主效基因控制.遗传研究表明有1对表现为完全显性的主效基因位点参与支配着昆明小白谷低温处理下总结实率性状,该主效基因的加性效应为 $d = 118.0225$ ,主基因遗传率 $h_{mg} = 53.7\%$ .用02428(结实率1%)与新团黑谷(结实率93.3%)、小麻谷(结实率91.5%)进行耐冷性遗传研究是相当合适的,表明新团黑谷受2对耐冷基因支配其结实率;而小麻谷则可能受1对主效基因参与调控结实率.利用温敏不育系滇农S-1与穗期极强耐冷品种(昆明小白谷、梗掉3号、半节芒、滇靖8号、云梗9号)、兼有广亲和性的弱耐冷品种(毫梅、毫秕)、兼有抗稻瘟病的弱耐冷品种(毫弄早、三旁七十箩)的杂交F<sub>1</sub>,F<sub>2</sub>代分群体进行耐冷基因的遗传研究,结果显示滇农S-1×昆明小白谷的F<sub>2</sub>群体和滇农S-1×梗掉3号F<sub>2</sub>群体均受1对主效基因和2对微效基因控制.滇农S-1×半节芒的杂种优势极强,单行折合亩产1121.95kg,若扣除两端边际效应以80%计,亩产达897.5kg,比当地良种合系35亩增产近300kg,其F<sub>2</sub>代分离群体至少有5对左右的基因控制该群体的育性表达,即耐冷基因对数的多少与温敏不育系的恢复能力有直接关系;滇农S-1×滇靖8号的F<sub>2</sub>代分离群体显示有1对温敏不育主效基因控制着育性基因的表达,耐冷性极强的滇靖8号的耐冷基因与昆明小白谷、梗掉3号、半节芒不同,可能为非编码区控制;滇农S-1与高抗白叶枯病和稻瘟病耐冷性弱的光壳稻(毫梅、毫秕)、爪哇稻(三旁七十箩、毫弄早)杂交F<sub>2</sub>分离群体54%~90%的单株的结实率集中在0~10%,这些抗病基因可改良滇农S-1的高感稻瘟病等不良性状,目前已获得有苗头的抗稻瘟病温敏不育系的高代材料.应用IR36作轮回亲本改良元江普通野生稻选育出了强穗数型中间母本“核心1号”和“核心2号”,其单株有效穗分别为42穗和45穗、每穗实粒数分别为156粒和109粒和千粒重分别为18.4和21.8g;利用弱耐冷、抗病兼携广亲和基因的光壳稻与优质、耐冷的稻种作亲本选育出的一批兼有耐冷性与广亲和性的中间母本及其集优质、广亲和、抗病和耐冷于一体的优

异核心种质聚合系,其利用价值仍需进一步鉴定评价。

## 2.2 水稻穗期耐冷性 NILs 选育

针对穗期水稻耐冷基因表达的复杂性,以国际公认的孕穗开花期耐冷性极强的云南稻种、耐冷性极弱品种通过 30 kc/kg 的  $\gamma$  射线人工诱变和多次回交途径,并利用云南已建立的自然条件、人工控温鉴定和反复鉴定选择法相结合,首次培育出 4 对与轮回亲本或亲本的农艺性状相似,但耐冷性指标性状(如结实率、每穗实粒数等)存在明显差异的耐冷性近等基因系。该批近等基因系为耐冷基因的分子标记检测、mRNA 的差异显示分析和耐冷基因的分离克隆了创造条件。

(1) 回交法研制强耐冷性 NIL。昆明自然冷害条件下孕穗期耐冷性极弱的十和田(结实率 21.4%)作轮回亲本,孕穗期耐冷性极强的半节芒(结实率 92.2%)、昆明小白谷(结实率 88.1%)、粳掉 3 号(结实率 82.8%)、丽粳 2 号(结实率 87.2%)和新团黑谷(结实率 93.3%)等作耐冷基因供体亲本,对回交高代材料进行耐冷性鉴定选择出基本稳定且农艺性状与十和田相似的耐冷性 NIL,如十和田<sup>5</sup>/半节芒 B<sub>4</sub>F<sub>5</sub> 的 5 个株系为 80.8%~93.4%,B<sub>5</sub>F<sub>2</sub> 的 1 个株系为 74.3%;十和田<sup>4</sup>/昆明小白谷的 B<sub>3</sub>F<sub>4</sub> 的 2 个株系为 91.6%,91.2%;B<sub>3</sub>F<sub>5</sub> 的 5 个株系为 76.9%~78.1%和 B<sub>4</sub>F<sub>2</sub> 的 5 个株系为 73.1%~87.8%;十和田<sup>4</sup>/粳掉 3 号 B<sub>3</sub>F<sub>4</sub> 的 7 个株系为 61.2%~89.2%,B<sub>4</sub>F<sub>2</sub> 的 2 个株系为 70.8%~85.3%。

(2)  $\gamma$  射线诱变产生的耐冷性 NIL。用 30 kc/kg  $\gamma$  射线人工诱变 51 个材料获得了诱变效果较好的 21 个材料的 M<sub>4</sub> 群体,同时对昆明(1916 m)、阿子营点(2150 m)在 19℃ 条件下进行耐冷性鉴定选择出了耐冷性差异大的一批 NIL(M<sub>5</sub>),如昆明小白谷(结实率 88.2%)及其 NIL(结实率 5.5%)、02428(结实率 1.0%)及其 NIL(结实率 86.2%)、十和田(结实率 21.4%)及其 NIL(结实率 93.0%)。

## 2.3 水稻穗期耐冷性 QTL 分析

RFLP 和 QTL 分析结果初步显示出一些与水稻孕穗期耐冷性有关的 QTL,它们主要分布在第 1,3~8,10 和第 12 染色体上。可能在第 3 和第 7 染色体上具有对孕穗期耐冷性作用较大的 QTL。

## 参 考 文 献

- 1 Saito K, et al. Chromosomal location of quantitative trait loci for cool tolerance at the booting stage in rice variety 'Norin-PL8'. *Breeding Science*, 1995, 45: 337
- 2 Kato A, K et al. Analysis of the genetic loci involved in cool tolerance of a cool-tolerant rice strain Hokkai PL5. *Breeding Science*, 1997, 42(2): 114
- 3 Yoshida H, et al. Cold-induced accumulation of RNAs and cloning of cDNAs related to chilling in jury in rice. *Breeding Science*, 1994, 44: 361
- 4 曾亚文,等. 水稻耐冷性近等基因系的研制. 中国学术期刊文摘(科技快报),1999, 5(8): 1084
- 5 王建康,等. 利用杂种 F<sub>2</sub> 世代鉴定数量性状主基因-多基因混合遗传模型并估计其遗传效应. 遗传学报,1997, 24(5): 432
- 6 Zeng Yawen, et al. Ecology diversity of cold-tolerant rice in Yunnan, China. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 1999, 117: 43
- 7 Ukai Yasuo. Theory of QTL analysis. *Breeding Research (Japan)*, 1999, 1: 25