

水稻雄性不育新质源的研究

——新型水稻细胞质雄性不育系马协 A 与野败型 珍汕 97A 不育性的遗传学比较

张晓国 朱英国 余金洪 梅启明

(武汉大学生命科学学院遗传学研究所 武汉 430072)

提 要 采用套袋自交结实率和自然结实率为主,花粉育性和田间目测整株育性为辅的综合性状,判定新型细胞质雄性不育系马协 A 以及它与明恢 63 的杂种 F_1 、 F_2 和 BF_1 的植株育性,并以野败型珍汕 97A 作对照,比较研究了其不育性的遗传规律。结果表明,马协 A 与珍汕 97A 不育性的遗传均由两对基因控制,但新型细胞质雄性不育系马协 A 两对基因的作用方式与珍汕 97A 不同。前者 F_2 群体的育性分离符合 $9:3:3:1$ 的比例, BF_1 符合 $1:2:1$ 的比例;后者相应群体则符合 $12:3:1$ 和 $2:1:1$ 的比例,两对基因间表现为显性上位。斯米尔诺夫检验也表明马协 A/明恢 63 和珍汕 97A/明恢 63 的 F_2 群体的结实率频率分布差异显著($P<0.01$)。并讨论了细胞质雄性不育的遗传机理及分子基础。

关键词 细胞质雄性不育,遗传

杂交水稻的推广和应用在我国取得了巨大成果,其种植面积逐年增加,目前约占水稻种植面积的一半以上,且主要以野败型细胞质雄性不育系配制的杂交稻为主,占 95% 以上。杂交稻细胞质单一,抗性下降、米质不能完全满足人们的需要,育种者试图发掘和利用新的不育类型。马协 A 不育系是从我国水稻农家种马尾粘中发现的不育株,经多年选育而成的抗性好、米质优、产量高的新细胞质雄性不育系。由马协 A 配制的马协型杂交稻正在推广和应用之中,马协 A 的育成具有重要的理论和实践价值^[1]。然而,这一新型雄性不育细胞质与野败型的遗传机理是否相同? 为此我们对此进行了比较研究。

1 材料与方

1.1 材料

马协不育系马协 A 及其保持系马协 B、珍汕 97A 和珍汕 97B 以及恢复系明恢 63,由武汉大学生命科学学院遗传研究所提供。

收稿日:1995-05-19,修回日:1995-06-18。第一作者:男,32 岁,副教授(在职博士生)。

1.2 方法

通过人工去雄、杂交得到马协 A/明恢 63 和珍汕 97A/明恢 63 的杂种 F₁,以及马协 A/明恢 63//马协 B 和珍汕 97A/明恢 63//珍汕 97B 的测交种 BF₁。1994 年田间种植亲本、F₁、BF₁ 和 F₂。1995 年在海南重复一次,并种有大量的 F₃ 株系加以验证,待抽穗时取单穗用 1%碘-碘化钾溶液镜检花粉育性,并套袋自交。植株成熟后,逐株观察各单株育性,并取一单穗和套袋的自交穗于室内考种。根据所得资料求得自交结实率和自然结实率之间的相关关系。以此为基础结合育性分布曲线的谷峰,确定育性划分标准,对育性分离比例作 χ^2 测检,并用斯米尔诺夫检验马协 A/明恢 63 和珍汕 97A/明恢 63F₂ 群体育性分布的异同。

2 结果与分析

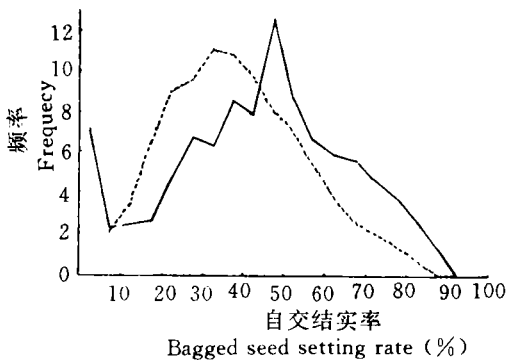
2.1 亲本及其杂种 F₁ 的比较

马协 A 与珍汕 97A 花粉均为 99%以上的典败,套袋自交结实率为零,由于其抽穗期与其周围的材料不同,其自然结实率也为零。从明恢 63、马协 A/明恢 63 F₁ 和珍汕 97A/明恢 63 F₁ 的小群体中随机取 20 株考种,统计其平均自然结实率,明恢 63 为(83.5 ± 3.82)%,马协 A/明恢 63 F₁ 为(78.5 ± 5.35)%,珍汕 97A/明恢 63 F₁ 为(66.3 ± 4.12)%。马协 A/明恢 63 F₁ 比珍汕 97A/明恢 63 F₁ 高 12.0%,表明明恢 63 对马协 A 较珍汕 97A/明恢复性强。

2.2 F₂ 育性分离

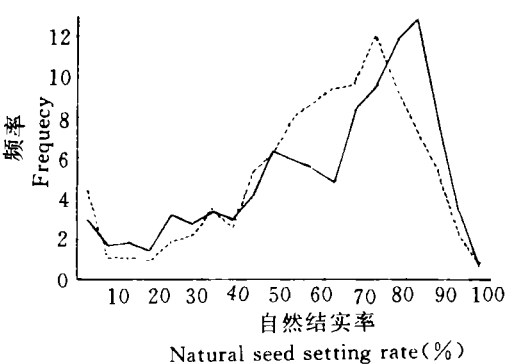
2.2.1 自交结实率

在马协 A 和珍汕 97A 与明恢 63 的杂种 F₂ 群体中均有育性不同的单株出现,以 5%为组距,其套袋自交结实率频率分布曲线如图 1。由图 1 可以看出,珍汕 97A/明恢 63 的



——马协 A/明恢 63
Maxie A/Minghui63 珍汕 97A/明恢 63
ZhenShan97A/Minghui63

图 1 F₂ 套袋自交结实率频率分布曲线
Fig. 1 Curves of frequency distribution
of bagged seed setting rate in F₂



——马协 A/明恢 63
Maxie A/Minghui63 珍汕 97A/明恢 63
ZhenShan97A/Minghui63

图 2 F₂ 自然结实率频率分布曲线
Fig. 2 Curves of frequency distribution
of natural seed setting rate in F₂

F₂ 群体育性分布曲线呈明显的双峰曲线,第 1 峰迅速下降进入第 2 峰,第 2 峰近似于正态分布曲线。马协 A/明恢 63 的 F₂ 群体则为多峰曲线,第 1 峰和第 4 峰高而险,较为突出,中间为 2 个过渡小峰。这是珍汕 97A/明恢 63 F₂ 所没有的或不明显的。

马协 A/明恢 63 的 F₂ 群体单株套袋自交结实率频率分布曲线为明显的四峰曲线,第 1 峰值相对应的套袋自交结实率为 0~5.0%,第 2 峰为 5.1%~30.0%,第 3 峰为 30.1%~45.0%,第 4 峰为 45.1%~100%。我们依次将其相应范围的套袋自交结实率单株定为完全不育株,部分不育株,部分可育株和完全可育株。这样,F₂ 育性分离见表 1。经统计测验表明马协 A/明恢 63 F₂ 育性分离符合 9:3:3:1 的理论比例,珍汕 97A/明恢 63 F₂ 则符合 1:3:12 的比例,表明此两对基因间存在着显性上位。

表 1 F₂ 群体自交结实率分离比例统计测验

Table 1 Statistical test on segregation ratio of bagged seed setting in F₂ populations

组 合 Combinations	自交结实率 Bagged seed setting rate (%)				理论比例 Genetic ratio	χ ²	P
	0~5.0	5.1~30.0	30.1~45.0	45.1~100			
马协 A/明恢 63 F ₂ (株数) Maxie A/Minghui 63 F ₂ (No. of plants)	38	102	122	279	1:3:3:9	6.795 4	0.05~0.10
珍汕 97A/明恢 63 F ₂ (株数) Zhenshan 97A /Minghui 63 F ₂ (No. of plants)	51	151	228	289	1:3:12	3.669 8	0.05~0.10

χ_{0.05,3}² = 7.815 0; χ_{0.05,2}² = 5.990 0

用斯米尔诺夫检验马协 A/明恢 63 和珍汕 97A/明恢 63 的 F₂ 群体自交结实率频率,分布结果见表 2。从表 2 可知,它们的 F₂ 群体自交结实率频率分布存在着显著性差异。

2.2.2 自然结实率

马协 A 和珍汕 97A 与明恢 63 的 F₂ 群体自然结实率频率分布见图 2。珍汕 97A/明恢 63 F₂ 的分布曲线为三峰曲线,两端各 1 个峰,在靠近 0 点端存 1 个小峰。马协 A/明恢 63 F₂ 则为多峰曲线。

在马协 A/明恢 63 的 F₂ 群体中,自然结实率(Y)与套袋自交结实率(X)之间的相关系数(r)为 0.778 1,直线回归方程为 Y=6.747 1+1.107 0X。在珍汕 97A/明恢 63 的 F₂ 群体中则有 r=0.842 5,Y=9.217 5+1.201 0X。这一结果以及马协 A/明恢 63、珍汕 97A/明恢 63 F₂ 群体的自然结实率频率分布曲线的峰谷,将 0~15.0%定为完全不育,15.1%~45.0%为部分不育,45.1%~60%为部分可育,60.1%~100%为完全可育。则 F₂ 群体自然结实率育性分离见表 3,经 χ² 测验表明育性分离比例与上述结果相一致。

同样,用斯米尔诺夫检验马协 A/明恢 63 和珍汕 97A/明恢 63 F₂ 群体自然结实率频率分布结果表明,两者间也存在显著差异,见表 4。

2.2.3 大田目测整株育性及镜检花粉育性

植株成熟时,在田间实地逐株考察整株育性,将植株粗略划分为不育和可育两类。

表 2 马协 A/明恢 63 和珍汕 97A/明恢 63 F₂ 群体自交结实率频率分布同质性的斯米尔诺夫检验
Table 2 Smirnov test on identical frequency distribution of bagged seed setting rate in F₂ populations of
Maxie A/Minghui 63 and Zhenshan 97A/Minghui 63

组 合 Combinations	自交结实率分组										Classifications of bagged seed setting rate									
	0—	5—	10—	15—	20—	25—	30—	35—	40—	45—	50—	55—	60—	65—	70—	75—	80—	85—	90—	95—
马协 A/明恢 63 F ₂ (植株频率)																				
Maxie A/Minghui 63 F ₂ (Frequency of plants)	7.0	2.2	2.4	2.6	4.8	6.7	6.3	8.5	7.8	12.6	8.5	6.5	5.9	5.7	4.6	3.7	2.6	1.3		
珍汕 97A/明恢 63 F ₂ (植株频率)																				
Zhenshan 97A/ Minghui 63 F ₂ (Frequency of plants)	7.1	2.0	3.5	6.5	9.0	9.5	11.1	10.8	9.7	8.1	7.0	5.3	3.6	2.5	2.0	1.4	0.7	0.1	0.1	
Cum 1	7.0	9.2	11.6	14.2	19.0	25.7	32.0	40.5	48.3	60.9	69.4	75.9	81.8	87.5	92.1	95.8	98.4	99.7		
Cum 2	7.1	9.1	12.6	19.1	28.1	37.6	48.1	59.5	69.2	77.3	84.3	89.6	93.2	95.7	97.7	99.1	99.8	99.9	100	
di	0.1	0.1	1.0	4.9	9.1	11.9	16.7	19.0	20.9	16.4	14.9	13.7	11.4	8.2	5.6	3.3	1.4	0.2		

$D_n = 0.209\ 0; D_{n(0.01)} = 0.072\ 4; \text{Cum: 累积频率(Cumulation of frequency of plants); di} = |\text{Cum 1} - \text{Cum 2}|$

表 4 马协 A/明恢 63 和珍汕 97A/明恢 63 F₂ 群体自然结实率频率分布同质性的斯米尔诺夫检验
Table 4 Smirnov test on identical frequency distribution of natural seed setting rate in F₂ populations of
Maxie A/Minghui 63 and Zhenshan 97A/Minghui 63

组 合 Combinations	自然结实率分组										Classifications of natural seed setting rate									
	0—	5—	10—	15—	20—	25—	30—	35—	40—	45—	50—	55—	60—	65—	70—	75—	80—	85—	90—	100
马协 A/明恢 63 F ₂ (植株频率)																				
Maxie A/Minghui 63 F ₂ (Frequency of plants)	2.9	1.6	1.8	1.4	3.1	2.7	3.3	2.9	4.0	6.3	5.8	5.4	4.7	8.1	9.5	11.7	12.8	7.7	3.3	0.6
珍汕 97A/明恢 63 F ₂ (植株频率)																				
Zhenshan 97A/ Minghui 63 F ₂ (Frequency of plants)	4.3	1.1	1.1	1.0	1.8	2.2	3.4	2.5	5.2	6.2	8.0	8.7	9.4	9.6	11.7	8.4	7.2	5.2	2.3	0.7
Cum 1	2.9	4.5	6.3	7.7	10.8	13.5	16.8	19.7	23.7	30.0	35.8	41.2	45.9	54.3	63.8	75.5	88.3	96.0	99.3	99.9
Cum 2	4.3	5.4	6.5	7.5	9.3	11.5	14.9	17.4	22.6	28.8	36.8	45.5	54.9	61.5	76.2	84.6	91.8	97.0	99.3	100.0
di	1.4	0.9	0.2	0.2	1.5	2.0	1.9	2.3	1.1	1.2	1.0	4.3	9.0	10.2	12.4	9.1	3.5	1.0	0	0.1

$D_n = 0.124\ 0; D_{n(0.01)} = 0.092\ 2; \text{Cum: 累积频率(Cumulation of frequency); di} = |\text{Cum 1} - \text{Cum 2}|$

表 3 F₂ 自然结实率分离比例统计测验
Table 3 Statistical test on segregation ratio of natural seed setting in F₂

组 合 Combinations	自然结实率 Natural seed setting rate (%)				理论比例 Genetic ratio	χ^2	P
	0~15.0	15.1~45.0	45.1~60.0	60.1~100			
马协 A/明恢 63 F ₂ (株数) Maxie A/Minghui 63 F ₂ (No. of plants)	35	96	97	321	1 : 3 : 3 : 9	1.304 8	0.25~0.50
珍汕 97A/明恢 63 F ₂ (株数) Zhenshan 97A/ Minghui 63 F ₂ (No. of plants)	47	117	166	396	1 : 3 : 12	3.307 6	0.05~0.10

$\chi^2_{0.05,3} = 7.815\ 0; \chi^2_{0.05,2} = 5.990\ 0$

在马协 A/明恢 63 F₂ 群体中,不育株数 50,总株数 821。同样,珍汕 97A/明恢 63 F₂ 群体不育株为 56 株,总株数为 871 株,由 $K = \frac{\log'' - \log''_{(2)}}{0.602\ 1}$ 求得各自的基因对数 K 分别为 2.108 6 和 1.979 5 均接近于 2,结果同样表明其不育性的遗传由两对基因控制。

花粉育性镜检观察表明,花粉育性在 80% 以上的植株均能正常结实。在 2.0% 以下的套袋自交则完全不实,在两者之间的植株则有不同程度的结实,但同一单株,结实率的高低有时不与花粉育性的高低成正比。

2.3 回交群体 BF₁ 育性分离

在马协 A/明恢 63//马协 B 以及珍汕 97A/明恢 63//珍汕 97B 的回交 BF₁ 群体中同样出现育性分离,按照上述标准进行育性划分,则育性分离比例统计测验结果见表 5。同样证明马协 A 和珍汕 97A 不育性的遗传属两对基因控制,在珍汕 97A 中两对基因间存在着显性上位。

表 5 回交群体 BF₁ 育性分离比例统计测验
Table 5 Statistical test on fertility segregation in BF₁

组 合 Combinations	育性指标 Criteria of fertility	育性分类 Classifications of fertility			理论比例 Genetic ratio	χ^2	P
		可育 Fertility	部分育性 Partial fertility	不育 Sterility			
马协 A/明恢 63 F ₂ (株数) Maxie A/Minghui 63 F ₂ (No. of plants)	自交 Bagged	20	54	32	1 : 2 : 1	2.740 7	0.10~0.25
	自然 Natural	31	73	38	1 : 2 : 1	0.802 8	0.25~0.50
珍汕 97A/明恢 63 F ₂ (株数) Zhenshan 97A/ Minghui 63 F ₂ (No. of plants)	自交 Bagged	53	34	36	2 : 1 : 1	2.414 6	0.10~0.25
	自然 Natural	64	36	30	2 : 1 : 1	0.584 6	0.50~0.75

$\chi^2_{0.05,2} = 5.990\ 0$

1995 年在海南省陵水县重复上述试验,初步统计的数据显示,两年的结果相稳合。

3 讨论

研究育性遗传必须掌握调查育性准确而又简便的方法。与育性有关的基本结实率无

疑是度量育性的直接而又重要的指标,它反映某一育性基因型应有的遗传性^[3]。本试验采用了套袋自交结实率、田间自然结实率、花粉育性及田间考察整株育性作为植株育性鉴定指标。按结实率频率出现高低的变化划分单株育性类型。以结实率为主,田间考察整株育性和花粉育性为辅分析群体中单株育性的分离。结果表明,马协A与珍汕97A不育性的遗传均属两对基因控制,后者两对基因间存在着上位性。周天理采用多个指标同样证明珍汕97A不育性的遗传属两对基因控制,且两对基因间存在着显性上位性, F_2 育性分离呈12:3:1的比例^[4]。Govinda Raj K也有同样的观点^[3]。我们的结果也与黎恒庆的试验结果相符^[5]。

纵观水稻细胞质雄性不育类型可以看出,尽管不育类型的不育系种类繁多,但它们均由远缘杂交,核置换产生。野败型是典型的,它是由栽培稻天然或人工地与野生稻杂交转育成核质互作的细胞质雄性不育系,如野败型珍汕97A和红莲型华矮15A;其次是籼梗交如包台型,以及大部分滇型;再为不同纬度和海拔高度地理上的远缘杂交,如非洲的冈型细胞质和部分滇型细胞质雄性不育系,研究者用核质协调说来解释这种雄性不育的遗传机理,认为一种物种的核处在亲缘关系较远的另一种细胞质中,细胞质为核遗传表达提供必要的环境^[6]。而马协A不育系则是从农家品种马尾粘中发现的雄性不育株。该株的株型、叶形及叶鞘、稃尖颜色与马尾粘完全相同^[1],纯属自然突变所产生的雄性不育类型,不能用核质协调说加以解释。那么它们的遗传机理是否也不相同呢?本试验结果表明两者不育性的遗传均为两对基因控制。何蓓如等用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射小麦T-型雄性不育系,在不育系中出现了育性恢复突变^[7]。沈毓渭等用同样的方法在野败型水稻细胞质雄性不育系中也发现了育性恢复突变^[8]。Nawas等在经EMS处理的水稻BT型不育系中也发现了育性回复突变^[9]。Burton G. W等用丝裂霉素和链霉素处理珍珠粟种子,人工诱导出细胞质雄性不育突变株^[10]。因此,我们认为水稻细胞质雄性不育,并非一定要一种物种的细胞质为另一远缘种核的遗传表达提供必要的环境。推测只要有少数几对基因的改变就有可能导致细胞质雄性不育。

应用现代分子生物学研究细胞质雄性不育的分子机理存在两种解释,一种认为是线粒体内环状DNA产生的效应^[11];另一种认为是线粒体DNA发生重排或缺失导致的^[12~14]。在玉米中,线粒体DNA的缺失,在菜豆中线粒体DNA的重排均与细胞质雄性不育有关。马协A农家种细胞质雄性不育系由自然突变产生,且育性受两对基因控制,这一结果用后一种机理进行解释较为合理。

参 考 文 献

- 1 朱英国,余金洪,徐树华等.中国水稻农家品种马尾粘败育株细胞质雄性不育系(马协A)研究.武汉大学学报(自然科学版),1993(6):110~115
- 2 高明尉.野败型杂交籼稻基因型的初步分析.遗传学报,1981,8(1):66~74
- 3 黎恒庆. IR24恢复基因遗传的系谱分析.中国农业科学,1985(1):24~31
- 4 周天理,沈锦骅,叶复初.野败型杂交籼稻的育性基因分析.作物学报,1983,9(4):241~247
- 5 Govinda R K, Virmani S S. Genetics of fertility restoration of "WA" type cytoplasmic male sterility in rice. *Crop Sci*, 1988, 28: 787~792

- 6 Duvick D N. Cytoplasmic pollen sterility in corn. *Adv Genet*, 1965, **13**: 1~56
- 7 何蓓如, 李正德, 李冬肖. ^{60}Co - γ 射线诱导的小麦 T 型雄性不育系育性恢复突变. 遗传学报, 1989, **16**(1): 1~6
- 8 沈毓渭, 蔡其华, 高明尉. 水稻细胞质雄性不育性恢复突变的初步分析. 中国水稻科学, 1994, **8**(1): 27~31
- 9 Nawas, Sano Y, Yamada M *et al*. Cloning of the plasmids in cytoplasmic male sterile rice and changes of organization of mitochondrial and nuclear DNA in cytoplasmic reversion. *Jpn J Genet*, 1987, **62**: 301
- 10 Burton G W, Hanna W W. Stable cytoplasmic male-sterile mutants induced in Tift 23 DB₁ pearl millet with mitomycin and streptomycin. *Crop Sci*, 1982, **22**: 651~652
- 11 Kadowaki K, Suzuki T, Kazama S. A chimeric gene containing the 5' portion of apt6 is associated with cytoplasmic male-sterility of rice. *Mol Gen Genet*, 1990, **224**: 10~16
- 12 Mackenzie S A, Pring D R, Bassett M J *et al*. Mitochondrial DNA rearrangement associated with fertility restoration and cytoplasmic reversion to fertility in cytoplasmic male-sterile *Phaseolus vulgaris* L. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, **85**: 2 714~2 717
- 13 Mackenzie S A, Chase C D. Fertility restoration is associated with loss of a portion of the mitochondrial gene in cytoplasmic male-sterile common bean. *Plant Cell*, 1990, **2**: 905~912
- 14 Rottmann W H, Brears T, Hodge T P *et al*. A mitochondrial gene is lost via homologous recombination during reversion of CMS-T maize to fertility. *EMBO J*, 1987, **6**: 1 541~1 546

STUDIES ON THE RICE NOVEL CYTOPLASM OF MALE STERILITY

—— COMPARATIVE STUDIES ON GENETICS OF STERILITY OF NOVEL RICE

CYTOPLASMIC MALE STERILITY MAXIE A WITH ZHENSHAN 97A

Zhang Xiaoguo Zhu Yingguo Yu Jinhong Mei Qiming

(College of Life Science, Wuhan University Wuhan 430072)

Abstract Maxie A and Zhenshan 97A were crossed with Minghui 63. Their hybrids were backcrossed with Maxie B and Zhenshan 97B respectively. The F_1 , F_2 and BF_1 plants were sown and identified by means of bagged seed setting rate, natural seed setting rate, pollen fertility and individual-observed fertility in field. The genetics of sterility of Maxie A and Zhenshan 97A were comparatively studied. The results show that their sterility is controlled by two pair genes. But the interaction of those genes in Maxie A is different from that in Zhenshan 97A, which appears to be dominant epistasis. The fertility segregation of the former conforms with genetical ratio of $9 : 3 : 3 : 1$ in F_2 , $1 : 2 : 1$ in BF_2 , the later, $12 : 3 : 1$ and $2 : 1 : 1$ in the respective populations. Smirnov tests indicate the frequency distribution of seed setting ratio in F_2 of Maxie A/Minghui 63 and Zhenshan 97A/Minghui 63 is different ($P < 0.01$). The genefic mechanism and molecule basis of cytoplasmic male sterility are discussed.

Key words Cytoplasmic male sterility (CMS), Fertility, Heredity