

DOI: 10.1360/yc-007-1110

## 水稻籼粳交 F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> 群体遗传连锁图谱的比较分析

梁永书<sup>1,2,3</sup>, 彭勇<sup>1,3</sup>, 叶少平<sup>1,3</sup>, 李平<sup>1,3</sup>, 孙林静<sup>2</sup>, 马忠友<sup>2</sup>, 李艳萍<sup>2</sup>

1. 四川农业大学水稻研究所, 温江 611130;
2. 天津农业科学院作物研究所, 天津 300112
3. 西南作物基因资源与遗传改良教育部重点实验室, 雅安 625014;

**摘要:** 以部分基因组和全基因组测序水稻籼稻(*O sativa* L. *indica*)品种“培矮 64S”(Pei'ai 64S♀)和粳稻(*O sativa* L. *japonica*)品种“日本晴”(Nipponbare♂)为构图亲本, 选取 F<sub>2</sub> 代 180 个株系为作图群体, 构建含 138 个微卫星位点的水稻遗传连锁图谱, 覆盖基因组 2 046.2 cM, 平均图距 17.1 cM, 即 F<sub>2</sub> 图谱; 采用单粒传法获得 F<sub>2:6</sub> 代 330 个株系, 用相同的多态性标记分析 F<sub>6</sub> 群体, 构建含 92 个标记连锁图谱, 覆盖基因组 2 563.5 cM, 平均图距 27.86 cM, 即 F<sub>6</sub> 图谱; F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> 图谱在连锁群数、定位标记数、标记的位置顺序、遗传图距、平均图距等方面发生了较大变化, 并对产生这些差异的原因进行了初步分析。

**关键词:** 水稻; 微卫星标记; F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> 遗传图谱; 比较分析; 偏分离

## Comparison of genetic linkage maps based on F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> populations derived from rice subspecies cross

LIANG Yong-Shu<sup>1,2,3</sup>, PENG Yong<sup>1,3</sup>, YE Shao-Ping<sup>1,3</sup>, LI Ping<sup>1,3</sup>, SUN Lin-Jing<sup>2</sup>, MA Zhong-You<sup>2</sup>, LI Yan-Ping<sup>2</sup>

1. Rice Research Institute of Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China;
2. Institute of Crops, Academy of Agricultural Sciences, Tianjin 300112;
3. China Key Laboratory of Southwest Crop Genetic Resources and Improvement Ministry of Education, Ya'an 625014, China

**Abstract:** A F<sub>2</sub> population containing 180 lines, which was derived from the cross between the partially sequenced *indica* variety “Pei'ai 64S” and the completely sequenced *japonica* variety “Nipponbare”, was used to construct a genetic linkage framework map (referred to as F<sub>2</sub> map), which included 138 microsatellite sites and covered 1737.81 cM of total genomic length, an average distance of 11.90 cM. Single seed descent F<sub>2:6</sub> population with 330 lines was used to construct a genetic linkage map (known as F<sub>6</sub> map) using 92 markers. The total genomic length and average distance were 2563.5 cM and 27.86 cM, respectively. The F<sub>2</sub> and F<sub>6</sub> maps differed in linkage groups, mapped markers, sequenced order of markers, genetic distance and average distance on the maps. Preliminary analysis about these difference was carried out.

**Keywords:** rice; microsatellite marker; F<sub>2</sub>, F<sub>6</sub> genetic map; comparative analysis; skewed segregation

分子标记连锁图谱的构建为进行植物基因组结构分析和比较研究提供有力工具, 高密度分子图谱 已有效地应用于数量性状基因定位(QTL)、图位克隆基因、比较基因组学、遗传资源多样性研究以及遗

收稿日期: 2007-03-09; 修回日期: 2007-05-10

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(编号: 2003AA212030)和教育部“长江学者和创新团队发展计划”资助项目(编号: IRT0453)[Supported by Chinese National Natural Science Foundation (No.2003AA212030) and Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (No.IRT0453)]

作者简介: 梁永书 (1977-), 男 四川人, 硕士研究生, 研究方向: 水稻生物技术与遗传育种。E-mail: liangyongshu@tom.com

通讯作者: 李平 (1965-), 男 四川人, 教授, 博士生导师, 研究方向: 水稻生物技术育种。E-mail: liping@cngk.com

传标记辅助选择育种等方面。水稻是重要的粮食作物之一,其遗传学和分子生物学研究一直倍受高度重视,现已成为单子叶植物研究的模式生物。其原因如下:第一,其基因组比较小,只有 430 Mb,是普通小麦基因组 1/40、玉米 1/6。第二,已有研究表明,禾谷类植物中,其基因组的排列存在着相对的保守性或染色体上基因排序呈共线性(collinearity)<sup>[4]</sup>。第三,水稻基因组计划已完成测序工作,而且约有 320 个基因被完全解析。第四,世界上半数以上的人口以稻米为主食。在我国,每年的市场价值达 450 亿美元。所有这些都为水稻作为模式植物研究奠定了很好的基础,更为禾本科植物的比较基因组研究提供了可能。

水稻遗传连锁图谱比较研究有利于解析整个基因组的遗传信息,选用测序材料作为构图亲本更有助于整个基因组遗传信息比较分析,同时有利于新标记的开发,提高图谱密度,为精细定位 QTL 作好准备。本研究选用两个测序水稻品种为作图亲本构建群体,利用简单序列重复(simple sequence repeats, SSR)标记具有操作简单快捷、成本较低,以及可直接用于分子标记辅助育种等方面的优势构建其  $F_2$  群体遗传连锁图谱,即  $F_2$  图谱。将  $F_2$  群体各株系种成  $F_{2.3}$  家系套袋自交 3 代获得  $F_6$  群体 330 个株系,用相同多态性标记构建其  $F_6$  群体图谱,即  $F_6$  图谱。并就在相同亲和相同标记情况下构建不同世代群体的两遗传图谱进行了比较分析,并对产生两图谱差异的原因进行初步分析。

## 1 材料和方法

### 1.1 群体构建

利用籼稻(*Oryza sativa* L. *indica*)品种“培矮 64S”(Pei'ai 64S♀)和粳稻(*Oryza sativa* L. *japonica*)品种“日本晴”(Nipponbare♂)为亲本,双亲为部分基因组和全基因组测序材料,2002 年 7 月在温江四川农业大学水稻研究所实验农场配制杂交组合“培矮 64S/日本晴”自交得  $F_1$  群体,2002 年 12 月至 2005 年 7 月分别在四川和海南两地套袋自交 4 代获得  $F_{2.6}$  代家系。 $F_2$  代采用单粒传法(single seed descent, SSD)的方式繁殖,同时选取 180 个单株用于构建遗传图谱。 $F_3$  代~ $F_6$  代采用家系内混合收获播种(Multiple seed descent, MSD)的方式繁殖,将  $F_{2.6}$  群体 330 个

株系用于构图。

### 1.2 $F_2$ 、 $F_6$ 群体株系的基因型分析

#### 1.2.1 SSR 引物

本研究选取 3 部分引物共 515 对:RM#引物 300 对,来源于美国 Cornell 大学水稻研究成果而合成;RP#引物 200 对,本研究室用自己编写筛选 SSR 引物软件,以籼稻“93-11”和粳稻“日本晴”基因组序列为基础筛选多态性而合成的部分 SSR 引物;OSR#引物共 15 对,基于日本水稻基因组计划的研究成果而合成;所有引物由北京赛百盛基因技术有限公司合成。

#### 1.2.2 SSR 分析

##### 1.2.2.1 基因组总 DNA 提取

在苗期取亲本及  $F_2$ 、 $F_6$  群体每个单株鲜嫩叶片为材料,采用 CTAB 法<sup>[11]</sup>提取基因组总 DNA。

##### 1.2.2.2 PCR 反应

采用优化后的 PCR 反应体系为 20  $\mu$ L,即 template DNA 2  $\mu$ L、10 $\times$ PCR buffer 2  $\mu$ L、0.25 mmol/L dNTP 2  $\mu$ L、4  $\mu$ mol/L primer mixture 2  $\mu$ L、*Taq* 聚合酶 1 U、dd H<sub>2</sub>O 12  $\mu$ L;PCR 程序具体为:94 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 45 s,55 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 7 min。扩增产物用 3%的琼脂糖凝胶电泳,电压 120 V,电泳 2~3 h 后在凝胶成像仪上成像。

### 1.3 数据整理和连锁分析

借助微卫星标记的共显性特性,利用其可区别二倍体纯合、杂合基因型。用在双亲呈多态性的标记分别对  $F_2$ 、 $F_6$  群体 180、330 个株系进行基因型划分;与培矮 64S 带型相同记为 A,与日本晴带型相同记为 B,杂合带型记为 H,模糊或缺失带型记为“—”。根据微卫星标记划分结果; $F_2$  群体株系带型按孟德尔分离比 1:2:1(显性标记按 3:1)进行卡方检测、 $F_6$  群体株系的带型按理论分离比(1:1)进行 $\chi^2$  检测,判断该标记是否存在偏分离?并对照亲本基因型确定偏离方向。利用 Mapmaker/EXP3.0 分析软件构建连锁图谱,应用“Group”命令进行连锁分析和分组“ $LOD \geq 2.0$ 、重组率  $< 0.50$ ”,连锁标记数少于 8 个用“Compare”命令进行优化排序,多余 8 个重复使用“Ripple”命令排序,错误检测水平设为 1%,利用 Kosambi 函数将重组率转化为遗传图距(cM),根据 Temnykh 等<sup>[7]</sup>定位的 SSR 标记作为锚定标记以确定相应的连锁群,利用 Mapdraw2.1 绘制连锁图。

## 2 结果与分析

### 2.1 亲本间的多态性标记

本研究共选用 515 对 SSR 引, 其中 RM 系列标记 300 对, RP 系列 200 对, OSR 系列 15 对, 对亲本培矮 64S 和日本晴进行多态性检测, 共检测到 157 对在双亲间呈多态性引物, 其中 RM 系列 95 对, RP 系列 56 对, OSR 系列 6 对, 所有标记多态性频率为 30.48%, 各标记多态性频率分别为 31.7%、28.0% 和 40.0%。分析结果表明该群体双亲在 DNA 水平上存在较高多态性, 有利于构建遗传图谱。图 1 分别表示标记 RP217、RP403 在亲本、 $F_2$  和  $F_6$  群体中分离情况。

### 2.2 $F_2$ 、 $F_6$ 图谱的构建及概况

#### 2.2.1 $F_2$ 图谱的构建

用 157 对 SSR 标记对籼粳交  $F_2$  群体 180 个单株进行基因型分析(图 3); 有 12 个发生(RM#7、RP#5)显著偏分离和 7 个正常分离标记未能定位在连锁群

上, 有 138 个标记定位在 19 个连锁群上。该图谱覆盖基因组总长度为 2 046.2 cM, 标记间平均距离为 17.1 cM, 各标记均匀分布在 12 条染色体上。从 12 条染色体的连锁群分布来看: 第 1 染色体有 3 个空隙, 第 3、6、8、10 染色体均为 1 个空隙。该图谱上 RM 系列 85 个, RP 系列 48 个, OSR 系列 4 个。由本实验室开发的 48 个 RP 标记分布在除第 7、10 染色体外的其余 10 条染色体上。标记覆盖基因组最长为第 1 染色体 377.3 cM, 最短为第 12 染色体 87.6 cM。标记间平均距离最短为第 6 染色体 8.83 cM, 最长为第 10 染色体 33.31 cM。

#### 2.2.2 $F_6$ 图谱的构建

用构建  $F_2$  图谱时所获得的 157 对 SSR 引物对籼粳交  $F_{2.6}$  群体 330 个株系进行遗传连锁分析; 我们将 92 个标记定位在 17 个连锁群上, 这些连锁群分布在 11 条染色体上, 其中第 3、5 染色体各有 3 个连锁群、第 2 染色体有 2 个, 最终构建  $F_6$  图谱(图 4);

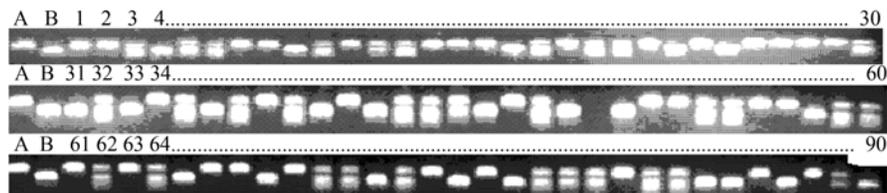


图 1 SSR 标记 RP217 在  $F_2$  群体中的分离(3%琼脂糖电泳)

A: 培矮 64S; B: 日本晴; 1~90:  $F_2$  群体单株的带型。

Fig. 1 Segregation of SSR marker RP 217 in the  $F_2$  population (3% agarose gel electrophoresis)

A: Pei'ai 64S; B: Nipponbare; 1~90: Individual plants of  $F_2$  population.

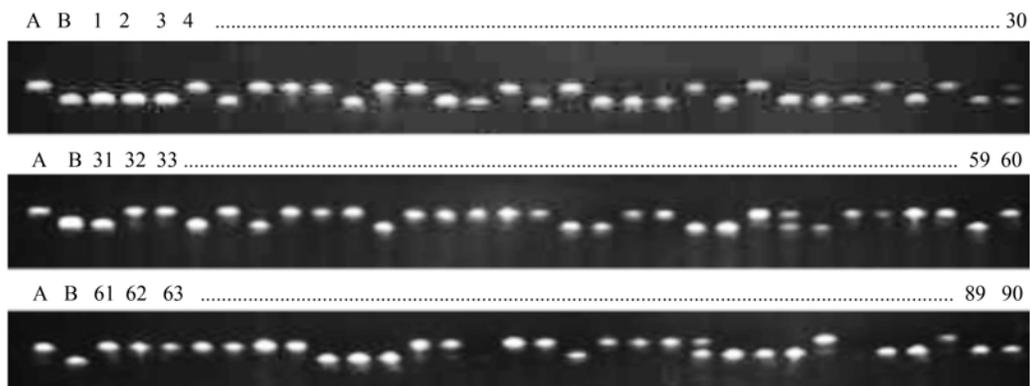


图 2 SSR 标记 RP403 在  $F_6$  群体中的分离(3%琼脂糖电泳)

A: 培矮 64S; B: 日本晴; 1~90:  $F_6$  群体单株的带型。

Fig. 2 Segregation of SSR marker RP 403 in the  $F_6$  population (3% agarose gel electrophoresis)

A: Pei'ai 64S; B: Nipponbare; 1~90: Individual plants in the  $F_6$  population.

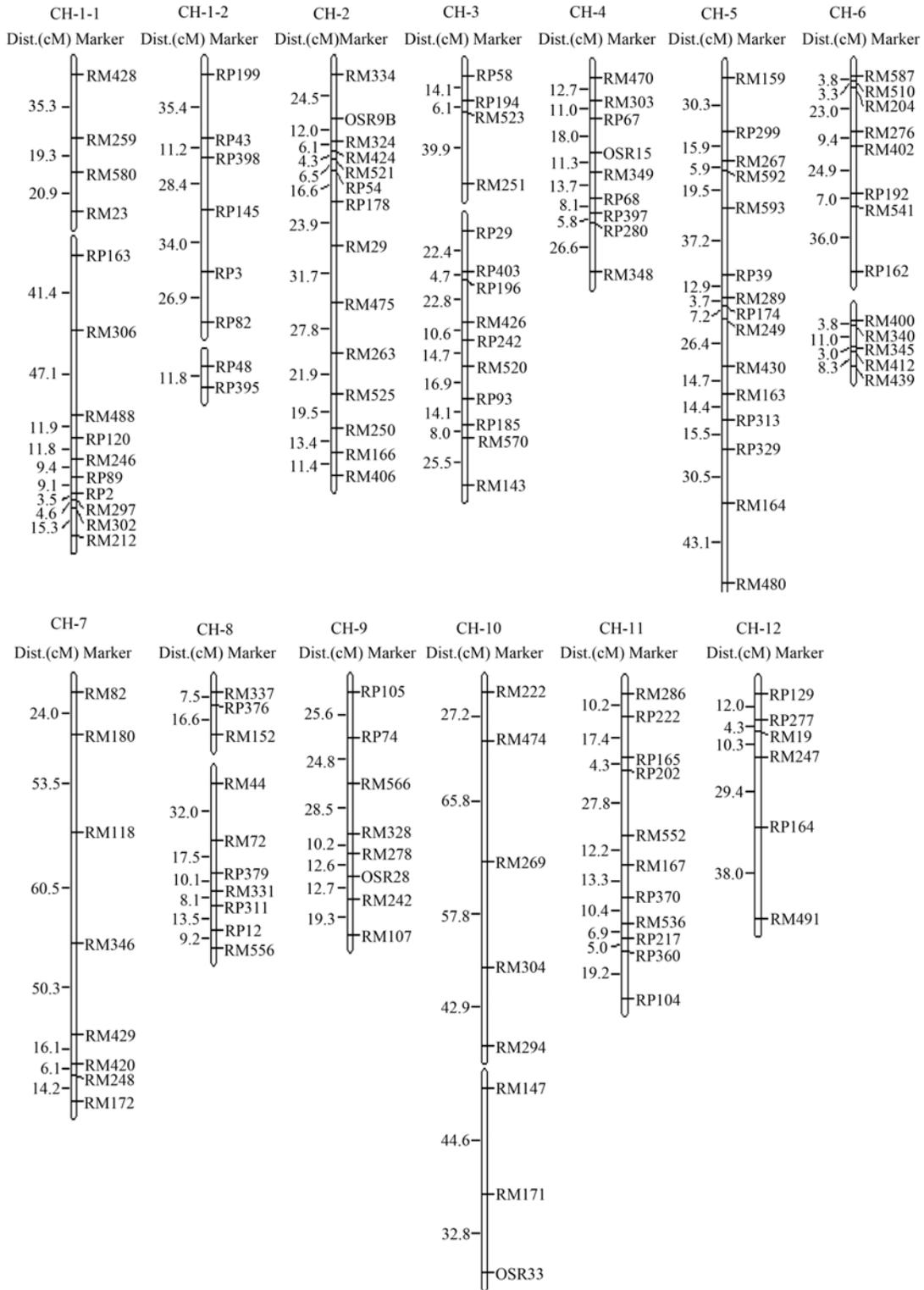


图 3 水稻“培矮 64S/日本晴”F<sub>2</sub> 群体分子连锁图谱

Fig. 3 The rice molecular linkage map of “Pei'ai 64S/Nipponbare” F<sub>2</sub> population

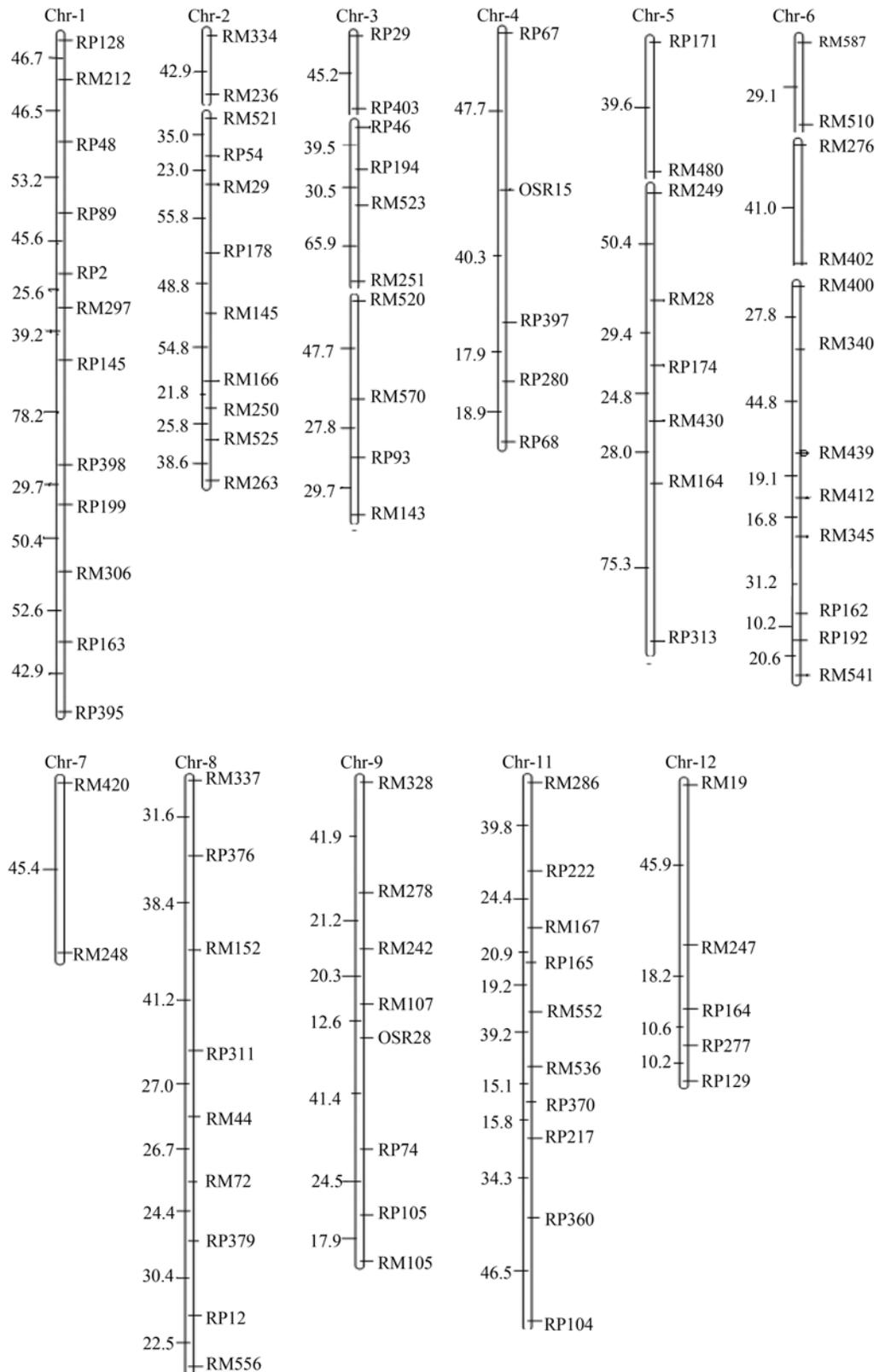


图 4 水稻“培矮 64S/日本晴”F<sub>6</sub> 群体分子连锁图谱

Fig. 4 The rice molecular linkage map of "Pei'ai 64S/Nipponbare" F<sub>6</sub> population

92个标记中RM引物50个、RP引物40个、OSR引物2个;该图谱覆盖基因组全长2563.5cM,标记间平均距离为27.86cM。在标记所覆盖的11条染色体中,基因组最长为第1染色体510.3cM,最短为第7染色体45.4cM,标记间平均距离最长为第1染色体42.5cM,最短为第12染色体16.98cM。另有65个标记未定位在相应的连锁群上,这可能与偏分离有关。

### 2.3 F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub>群体的基因型分析

分析F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub>群体各株系的每条染色体的基因型可以有助于我们从分子水平揭示各株系遗传组成和来源<sup>[12]</sup>。如表1列出了第1染色体各位点在两群体株系基因型组成比率。在F<sub>2</sub>群体不同的遗传位点纯合、杂合基因型不同,群体中“培矮64S”基因组所占的比例范围在0.07~0.98之间,平均值为0.27;“日本晴”基因组所占的比例范围在0.0~0.76之间,平均值为0.24,杂合基因型所占的比例范围在0.17~0.62之间,平均为0.48,单个位点的卡方检测值范围0.03~105.36,群体卡方检测值为77.71。在F<sub>6</sub>群体株系中纯合基因型占绝大多数、杂合基因型比例较

小,其中“培矮64S”基因组所占的比例范围在0.34~0.91之间,平均值为0.469,“日本晴”基因组所占的比例范围在0.09~0.66之间,杂合基因型所占的比例在0.0~0.14之间,单个位点的卡方检测值范围0.0~206.56,群体卡方检测值为313.86。整个群体杂合基因型所占比例0.0397,群体各位点年均纯合百分率范围2.3~15.1之间,群体年均纯合百分率为8.9。F<sub>2</sub>群体在自交到F<sub>6</sub>代后不同位点中基因组所占比例不同,且成不规则变化。从这可以推测遗传位点交换的随机性、不可预测性。某些株系有些位点来母本基因型成分多些,有些则相反,某些位点存在严重的偏离一方,两群体均极显著偏离孟德尔理论分离比例,F<sub>6</sub>群体偏离比F<sub>2</sub>群体严重。各位点纯合速率不一致,其原因还有待进一步探讨。

### 2.4 F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub>群体中分子标记的偏分离分析

两群体共统计157个标记的基因型分布,每个位点的基因型比例不同,在F<sub>2</sub>群体多数标记符合预期的1:2:1孟德尔比例。其中有22.29%的标记极显著偏离预期的(1:2:1)孟德尔分离比例( $P < 0.01$ ),其

表1 水稻籼粳交F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub>群体第1染色体基因型组成比率

Table 1 Genotypic composition ratio for F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> population on chromosome 1 derived from the subspecies cross

名称 Name	A(%)		B(%)		H(%)		X <sup>2</sup>		其他 Other
	F <sub>2</sub>	F <sub>6</sub>	P (%)						
RP2	35.02	56.9	27.93	43.1	48.6	1.98	0.85	5.7	11.66
RP3	34.79	48.04	26.11	52.0	52.22	4.67	1.07	0.47	11.89
RP82	34.7	60.09	26.4	39.9	51.69	5.75	0.92	8.68	11.49
RP128	51.2	58.04	17.61	42.0	53.41	6.54	5.36	7.4	11.72
RP145	46.46	51	22.22	49.0	47.78	8.26	2.53	0.12	9.88
RP163	58.73	56.39	15.17	43.6	51.12	8.28	12.33	4.35	10.71
RM23	34.24	48.87	28.74	51.1	47.7	1.58	1.3	0.16	11.53
RM212	32.1	43.89	28.25	56.1	50.85	5.76	1.96	3.91	11.27
RM246	41.69	47.14	22.54	52.9	52.02	0.71	0.57	0.91	12.83
RM259	51.72	47.99	18.75	52.0	47.22	1.52	7.17	0.52	11.43
RM297	34.16	50.33	26.26	49.7	52.51	6.46	1.36	0.01	11.51
RM302	29.44	45.81	27.68	54.2	54.24	3.81	4.54	1.59	12.61
RM306	50.63	63.57	18.71	36.4	50.88	1.75	4.73	20.63	12.28
RM428	42.81	51.2	23.44	48.8	45.31	0.79	2.69	0.14	11.13
RM488	46.67	57.33	18.13	42.7	56.73	3.46	4.78	6.6	13.32
RM562	39.54	43.75	24.29	56.3	50.85	3.68	0.06	4.5	11.79
RM580	47.26	55.63	21.02	44.4	49.43	4.25	2.58	3.72	11.30
OSR20	39.33	61.76	21.11	38.2	50.0	1.73	1.09	9.41	12.07
Variance range	29.4~58.73	43.8~63.6	15.2~28.7	36.4~56.3	45.3~56.7	0.71~8.3	0.1~12.3	0.14~20.63	9.9~13.3

注: Other表示单个位点年均纯合百分率。

Note: Other means the average percent rate of purification speed for individual site.

表 2 水稻籼粳交 F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> 群体基因型分析Table 2 Genotype analysis for F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> population derived from the subspecies cross

名称 Name	基因型 Genotype		频率 Frequency(%)		平均 Mean		卡方 Chi square <sup>2</sup>	
	F <sub>2</sub>	F <sub>6</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>6</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>6</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>6</sub>
培矮 64sPei'ai 64S (A)	7045	24332	27	46.96	44.87	73.73		
日本晴 Nipponbare (B)	6247	19110	24	36.88	39.79	57.90		
杂合 Heterozygous (H)	12440	2056	48	3.97	79.23	6.23	<sup>2</sup> =77.71 >	<sup>2</sup> =313.86 >
缺失 Missing (-)	259	6312	1	12.18	1.65	19.12	<sup>2</sup> <sub>0.01</sub> =6.63	<sup>2</sup> <sub>0.01</sub> =6.63
总计 Total	25989	51810	100	100	157	157		

中偏向培矮 64S 者占 60%，偏向日本晴者占 14.28%，偏向杂合基因型占 25.72%，其中能确立连锁关系的偏分离标记占 80%。在 F<sub>6</sub> 群体中多数标记不符合预期的孟德尔(1:1)分离比例。其中有 57.32% 的标记显著偏离预期的 1:1 孟德尔比例( $P < 0.05$ )，其中有 88.89% 的标记偏向培矮 64S，偏向日本晴仅占 11.11%，能确定连锁关系的偏分离的标记 70%，这在前人研究中未曾发现。3 类标记都存在一定程度数量的偏分离，说明偏分离与标记类型没有明显的关系。就偏分离分布来看，大部分偏分离标记表现为多个位点集中分布，且严重影响正常标记的连锁关系的确立，如第 10 染色体上存在 4 个偏分离标记和 4 个正常分离标记，结果这 8 个标记两两间均未确立连锁关系，8 个标记均未定位该染色体上。

### 2.5 F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> 图谱的比较

构建 F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> 图谱时所用杂交组合相同，且构图时所用多态性标记相同，它们差异在于一个是分离群体、另一个是相对稳定的 F<sub>6</sub> 群体。因此，我们可以比较两张图谱的异同(表 3)。

从连锁群来看，F<sub>2</sub> 图谱有 19 个连锁群分布在水稻 12 条染色体上，第 1、3、6、8、10 染色体上分别有 4、2、2、2、2 个连锁群，其余染色体只有 1 个连锁群；F<sub>6</sub> 图谱有 17 个连锁群分布在水稻 11 条染色体上，第 2、3、5、6 染色体上分别有 2、3、2、3 个，其余为 1 个连锁群。

从定位标记数来看，定位于 F<sub>2</sub> 图谱上标记数为 138 个，多态性标记定位率为 84.07%；F<sub>6</sub> 图谱标记数为 92 个，差异标记定位率为 58.6%；所有 10 染色体上差异标记都未定位在 F<sub>6</sub> 图谱，标记定位数目与标记类型没有必然联系，这也从侧面验证了我们自主开发 RP 系列标记的可效性。

从定位标记类型来看，所有 F<sub>2</sub> 图谱标记几乎含盖 F<sub>6</sub> 图谱，两图谱相同有标记有 87 个，其中 RM

系列 47 个、RP 系列 38 个、OSR 系列 2 个，标记吻合率为 65.9%；F<sub>2</sub> 图谱有 53 个标记在 F<sub>6</sub> 图谱未定位，其中 RM 系列 40 个、RP 系列 11 个、OSR 系列 2 个，这些标记主要分布在第 1、2、3、5、6、10 染色体，分别有 10、5、5、8、6、8 个，也有 5 个标记定位在 F<sub>6</sub> 图谱上而未定位于 F<sub>2</sub> 图谱，分别为 RM236、RM145、RP46、RP171、RM105，分布在第 2、3、5、9 染色体。

从覆盖基因组长度来看，F<sub>2</sub> 图谱盖基因组全长为 2 270.6 cM，平均距离为 17.2 cM；F<sub>6</sub> 图谱基因组长度为 2563.5 cM，平均距离为 27.86 cM；F<sub>2</sub> 图谱单条染色体覆盖最长基因组为第 1 染色体 377.3 cM，最短为第 12 染色体 95 cM；第 10 染色体平均距离最长为 33.95 cM，最短为第 6 染色体为 10.21 cM；F<sub>6</sub> 图谱最长基因组为第 1 染色体为 510.3 cM，最短是第 7 染色体为 45.4 cM，标记最大平均距离为第 1 染色体为 42.5 cM，最小为第 12 染色体 16.98 cM。

从染色体上连锁标记顺序来看，两图谱标记顺序一致率为 26.52%，分别有 5 处 3 个标记顺序相同、有 5 处 4 个标记顺序相同，其余相同标记在两图谱各条染色体上排序呈不规律变化。

## 3 讨论

### 3.1 F<sub>2</sub>、F<sub>6</sub> 群体及其分子遗传连锁图谱的应用

一般而言用于水稻基因组研究的群体 F<sub>2</sub> 群体、BC(backcross)群体、近等基因系(Near-isogenic)、DH(Doubled haploid)群体和重组自交系(Recombined Inbred Lines, RILs)群体等，这些群体各有优缺点<sup>[13]</sup>。F<sub>2</sub> 群体在水稻基因组作图和 QTL 定位中较常用，其优点在于构建群体时所需时间短，遗传基础丰富，可同时估算数量性状基因座的加性、显性效应，其不足之处是分离暂时群体，难设计实验重复，不可作多年多点分析，不能分析 QTL 与环境互作的关



系。 $F_6$  群体株系是从  $F_2$  群体株系套袋自交多代而来, 其基因型纯合, 可作为永久群体, 用其构建的遗传连锁图谱可满足不同研究目的、不同研究实验, 如产量、品质、抗性等诸多方面研究, 重复性高, 既能提高 QTL 定位的准确性, 也能揭示 QTL 与环境的互作关系<sup>[14]</sup>, 同时对标记选择性不强, 显型和共显型标记都适用于该类群体, 但构建群体时把握不好易出现的偏分离。我们将构建两群体及其相应的连锁图谱在基因组研究和 QTL 定位分析中可以取长补短, 优势互补。

### 3.2 $F_2$ 、 $F_6$ 图谱差异形成的影响因素

采用相同的微卫星标记构建相同组合不同世代群体的遗传连锁图谱, 可以帮助我们从分子水平粒组合后代的分离变化。两图谱在连锁群数、差异标记定位数、覆盖全基因组遗传距离、各条染色体基因组长度、染色体上标记顺序等方面都存在很大的差别, 这些研究结果与前人研究结果一致<sup>[15]</sup>。

造成两张图谱差异的主要原因如下:

(1) 群体的差异;  $F_2$  图谱基于分离群体, 该群体遗传基础比较丰富, 只自交一代, 分离比是随机的, 其基因型没有自然和人为选择, 降低了实验误差。而  $F_6$  群体是来源于  $F_2$  群体相同的单株, 从理论上讲,  $F_6$  群体完全含有  $F_2$  单株所有纯合基因型, 自交只是把杂合基因型纯合, 但事实并非如此,  $F_6$  在多代自交过程中自然选择和人为选择都会造成群体中基因型偏离理论比(1:1), 这就造成实际作图群体不能真正代表理论群体。母本培矮 64S 为广亲和两用不育系, 极容易受温度光照的影响, 在海南出现后代高度自交不育, 在构建群体过程中将这部分不育株淘汰掉, 这就增大了人为实验误差。使群体基因型不能真实的反映理论基因型, 造成多态性标记不能确立连锁关系, 定位在连锁图谱上的标记数减少, 这是两张图谱形成差异的最主要原因。

(2) 偏分离标记过多, 可影响重组距离, 也影响连锁群上标记的顺序 Lorieux 等<sup>[16, 17]</sup>。Lashermes 等<sup>[18]</sup>在咖啡上的研究推测偏分离选择有利于重组基因型并且或者不利于亲本基因型, 造成对标记间重组率的估计偏高, 标记间的遗传距离拉大。而 Cloutier 等<sup>[19]</sup>对油菜的研究认为少量但显著的偏分离会造成对重组率估值偏低。朝向同一亲本的严重的偏分离可造成错误的连锁结果。

(3) 标记数太少、单一; 两张图谱都只利用 SSR

标记, 许多位点被漏检, 加上实验中缺失数据较多, 造成连锁关系不强; 这样标记顺序差异较大, 相邻标记间的遗传距离大。

(4) 经典作图方法对于偏分离较多群体作图会产生相当大偏差, 本研究中偏分离标记较多, 因此建议对那些相邻标记偏分离严重或距离较远时, 最好用纳入偏分离因子的方法, 估计两点间的重组值<sup>[20, 21]</sup>。

### 3.3 $F_2$ 、 $F_6$ 群体中的偏分离标记

等位基因的偏分离是自然界中非常普遍现象, 并被认为是生物进化动力之一。产生偏分离的原因可能与配子体或孢子体选择有关<sup>[22]</sup>, 多数认为偏分离是由于雄配子体选择引起<sup>[23]</sup>。水稻具有比较明显的配子选择性<sup>[25]</sup>。在水稻中已经定位了 11 个导致偏分离的配子体基因(ga)和 20 个杂种不育基因(S)<sup>[24, 25]</sup>,

目前已经定位的配子体基因和杂种不育基因已经很多了, 这就说明偏分离确实存有遗传决定因素<sup>[28]</sup>。从前人的作图研究情况来看: 在 BC 群体中: 1994 年 Causse 等<sup>[26]</sup>用 BS125 和 WL102 构建的 629 个标记的遗传图谱中偏分离标记有 43 个, 为 6.8%( $P<0.01$ ); 在  $F_2$  代群体中: 1998 年 McCouch 等<sup>[27]</sup>用籼稻“IR14853-19-3-3”与粳稻“Bulu Dalam 构建的 246 个标记的遗传图谱中偏分离标记有 19 个, 为 7.7%( $P<0.01$ ); 在 DH 群体中: 1994 年 Huang 等<sup>[28]</sup>用籼稻“IR64”和粳稻“Azucena”构建的 220 个标记的遗传图谱中偏分离标记有 70 个, 为 31.8%( $P<0.01$ )。兰涛等<sup>[8]</sup>用两系杂交组合培矮 64s/E32 构建的 122 个标记的遗传图谱中偏分离标有 34 个, 其比率为 27.8% ( $P<0.005$ ), Xiao 等<sup>[29]</sup>用籼稻“9024”和粳稻“LH422”构建的 164 个标记的遗传图谱中偏分离标记有 40 个, 为 24.7%( $P<0.01$ )。1994 年 Yan 等<sup>[30]</sup>用 RFLP 标记在水稻亚种间籼粳交重组自交系群体“C039/Moroberekan”进行抗稻瘟病基因定位时发现 98.8%的位点偏向于籼稻亲本分离。

本研究  $F_2$  群体所统计的 157 个位点, 其中偏分离标记 35 个, 占 22.97% ( $P<0.005$ ), 有 60%的标记偏向母本培矮 64S、14.28%偏向父本日本晴、25.72%偏向杂合基因型。这与上述研究结果基本一致。但高世代  $F_6$  群体, 大多数位点没遵循孟德尔理论分离, 标记成极端偏离分离, 其中偏分离标记 90 个, 占 57.32%( $P<0.005$ ), 有 88.8%的标记偏向培矮 64S、11.11%偏向父本日本晴, 两群体中偏分离标记随着自交到高代没有改变偏离的趋势。这可能与构建群

体的两个亲本遗传背景有关。培矮 64S 的基因组兼具籼稻、粳稻和爪哇稻的成分而日本晴是典型的粳稻亚种, 两者之间的遗传差异较大, 因此在杂交过程中, 杂种染色体之间的配对和重组会受到抑制, 导致连锁位点间的重组率偏低, 并导致严重的偏分离现象。除了遗传因素外, 一些非遗传因素也可能影响偏分离。一些遗传位点在  $F_6$  群体中杂合个数较多, 这都会造成偏分离增多,  $F_6$  群体中在 15~25 个杂合位点有 38 个标记、大于 25 个杂合位点有 18 个、RP280 达 48 个, 这也是偏分离形成的原因。

### 参考文献(References):

- [1] Sankoff D, Nadeau JH. Comparative Genomics: Empirical and analytical approaches to gene families. Kluwer Academic Publishers, 2000 443–450.
- [2] McCouch SR, Kochert G, Yu ZH, Wang ZY, Khush GS, Coffman WR, Tanksley SD. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor Appl Genet*, 1988, 76 (6): 815–829. [\[DOI\]](#)
- [3] Causse MA, Fulton TM, Cho YG. Saturated molecular map of the rice genome based on an inter-specific backcross population. *Genetics*, 1994, 138 (1): 1251–1274.
- [4] Kurata N, Nagamura Y, Yamamoto K, Sue N, Wu J, Antonio BA, Shomura A, Shimizu T, Lin SY, Inoue T, Fukuda A, Shimano T, Kuboki Y, Toyama T, Miyamoto Y, Kirihara T, Hayasaka K, Miyao A, Monna L, Zhong HS, Tamura Y, Wang ZX, Momma T, Umehara Y, Yano M, Sasaki T, Minobe Y, Kirihara T, Hayasaka K, Miyao A, Monna L, Zhong HS, Tamura Y, Wang Z-X, Momma T, Umehara Y, Yano M, Sasaki T, Minobe Y. A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequence. *Nat Genetics*, 1994, 8 (4): 365–372. [\[DOI\]](#)
- [5] LI Ping, ZHU Li-Huang, ZHOU Kai-Da, CHEN Ying, LU Chao-Fu, HE Ping. Genetic mapping of rice using RFLP markers and a double haploid population of a cross between *indica* and *japonica* varieties. *Acta Botanica Sinica*, 1996, 38 (11): 881–886.  
李平, 朱立煌, 周开达, 陈英, 陆朝福, 何平. 利用分子标记和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.
- [6] Temnykh S, William D, Park, Nicola A, Sam C, Hauck N, Lipovich L, Cho YG, Ishii T, McCouch SR. Mapping and genome organization of microsatellite sequence in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2000, 100 (5): 697–712. [\[DOI\]](#)
- [7] Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations and genetic marker potential. *Genome Res*, 2001, 11 (8): 1441–1452. [\[DOI\]](#)
- [8] LAN Tao, ZHENG Jun, WU Wei-Ren, Wang Bin. Construction of a microsatellite linkage map in a DH population. *Hereditas (Beijing)*, 2003, 25 (5): 557–562.  
兰涛, 郑军, 吴为人, 汪斌. 用微卫星标记构建两系稻培矮 64s/E32 的分子遗传连锁图. *遗传*, 2003, 25(5): 557–562.
- [9] ZHANG Qi-Jun, YE Shao-Ping, LI Jie-Qin, ZHAO Bin, LIANG Yong-Shu, PENG Yong, LI Ping. Construction of a Microsatellite Linkage Map with Two Sequenced Rice Varieties. *Acta Genetica Sinica*, 33 (2): 152–160.  
张启军, 叶少平, 李杰勤, 赵斌, 梁永书, 彭勇, 李平. 用两个测序水稻品种构建微卫星连锁图谱. *遗传学报*, 2006, 33 (2): 152–160. [\[DOI\]](#)
- [10] McCouch SR, Teytelman L, Xu YB, Lobos KB, Clare K, Walton M, Fu BY, Maghirang R, Li ZK, Xing YZ, Zhang QF, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Schneider D, Cartinhour S, Ware D, Stein L. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res*, 2002, 9(6): 199–207. [\[DOI\]](#)
- [11] Murray MG, Thompson WF. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*, 1980, 8 (19): 4321–4325. [\[DOI\]](#)
- [12] Young ND, Tanksley SD. Restriction fragment length polymorphism maps and the concept of graphical genotypes. *Theor Appl Genet*, 1989, 77(1): 174–181.
- [13] Staub JE, Serquen FC. Genetic marker, map construction and their a placation in plant breeding. *Hortscience*, 1996, 31(5): 729–740.
- [14] Lu CF, Shen LS, Tan ZB, Xu YB, He P, Zhu LH. Comparative QTL mapping of agronomic quantitative traits across environments. *Theor Appl Genet*, 1996, 93 (8): 1211–1217. [\[DOI\]](#)
- [15] Lashermes P, Combes MC, Prakash NS, Trouslot P, Lorieux Mand Charrier A. Genetic linkage map of coffee canephora: effect of segregation distortion and analysis of recombination rate in male and female meiosis. *Genome*, 2001, 44 (4): 589–596. [\[DOI\]](#)
- [16] Lorieux M, Goffinet B, Perrier X, Gonzalez D de L, Lanaud C. Maximum-likelihood models for mapping genetic markers show segregation distortion.1. Backcross populations. *Theor Appl Genet*, 1995, 90(1): 73–80.
- [17] Lorieux M, Perrier B, Goffinet B, Lanaud C, Gonzalez D de León. Maximum-likelihood models for mapping genetic markers show segregation distortion.2.  $F_2$  populations. *Theor Appl Genet*, 1995, 90(1): 81–89.
- [18] Lashermes P, Combes MC, Prakash NS, Trouslot P, Lorieux M, Charrier A. Genetic linkage map of coffee canephora: effect of segregation distortion and analysis of recombination rate in male and female meiosis(J). *Genome*, 2001, 44(4): 589–596. [\[DOI\]](#)
- [19] Cloutier S, Cappadocia M, Landry BS. Analysis of RFLP mapping inaccuracy in *Brassica* L. *Theor Appl Genet*,

- 1997, 95(1-2): 83-91. [\[DOI\]](#)
- [20] Lyttle TW. Segregation distorters. *Annu Rev Genet*, 1991, 25(1): 551-557.
- [21] Xu Y, Zhu L, Xiao J, Huang N, McCouch SR. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F<sub>2</sub>, backcross, doubled haploid and recombinant inbred population in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Gen Genet*, 1997, 253(5): 535-545. [\[DOI\]](#)
- [22] Wang GL, Mackill DL, Bonman M, McCouch SR, Champoux MC, Nelson RJ. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. *Genetics*, 1994, 136(4): 1421-1434.
- [23] Kinoshita T. Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage group. *Rice Genet Newslett*, 1991, 8(1): 2-37.
- [24] Kinoshita T. Report of the committee on gene symbolization, nomenclature and linkage group. *Rice Genet Newslett*, 1993, 10(1): 7-39.
- [25] Tai GC, Seabrook JEA, Aziz AN. Linkage analysis of anther-derived monoploids showing distorted segregation of molecular markers. *Theor Appl Genet*, 2000, 101(1-2): 126-130. [\[DOI\]](#)
- [26] Lin SY, Ikehashi H, Yanagihara S, Kawashima K. Segregation distortion *via* male gametes in hybrid between Indica and Japonica or wide compatibility varieties of rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1992, 84(7-8): 812-818.
- [27] McCouch SR, Cho YG, Yano M, Paule E, Blinstrue M, Morishima HM, Kinoshita T. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet News*, 1997, 14 (1)11-13.
- [28] Huang N, McCouch S, Mew T, Parco T, Guiderdoni E. Development of an RFLP map from a doubled haploid population in rice. *Rice Genet News*, 1994, 11(2): 134-137.
- [29] Xiao J, Fulton T, Tanksley SD. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombination inbred population derived from a subspecific rice cross. *Theor Appl Genet*, 1996, 92(2): 230-244. [\[DOI\]](#)
- [30] YAN Jian-Bing, TANG Hua, HUANG Yi-Qin, ZHENG Yong-Lian, LI Jian-Sheng. Genetic analysis of segregation distortion of molecular markers in maize F<sub>2</sub> population. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(10): 913-918.  
严建兵, 汤华, 黄益勤, 郑用琏, 李建生. 玉米 F<sub>2</sub> 群体分子标记偏分离的遗传分析. *遗传学报*, 2003, 30(10): 913-918.

## 欢迎订阅 2008 年《中国生态农业学报》

《中国生态农业学报》(原刊名《生态农业研究》)是由中国科学院遗传与发育生物学研究所和中国生态经济学会主办的大农业学术期刊, 科学出版社出版。中国科技核心期刊, 被美国化学文摘、美国乌利希国际期刊指南以及中国科学引文数据库、中国期刊全文数据库等 20 多家检索系统和数据库收录。

《中国生态农业学报》是报道农业生态学、生态学、农业资源与环境保护以及农业生态经济学等领域创新性研究成果的大农业学术期刊, 是以农业生态学为理论基础, 研究农业生态系统及其稳定发展理论与技术的学术期刊。主要刊登土壤与土壤化学、农业生物学、农业环境保护与环境资源高效利用、农业高效栽培技术与机理、作物抗性生理生态、城镇环境建设、无公害农产品生产材料与技术、农业环境污染防治技术及农业可持续发展研究、农业生态经济理论与技术以及农业生态经济评估等各方面的研究报告、研究简报及综述, 以及生态省(市)建设、生态农业建设和生态示范区建设典型模式与典型经验等。适于国内外从事农业生态学、生态学、生态经济学以及环境保护等领域科技人员、高等院校有关专业师生、管理工作者和基层从事生态农业建设的广大技术人员等阅读与投稿。

《中国生态农业学报》国内外公开发行, 国内刊号 CN13-1315/S, 国际刊号 ISSN1671-3990, 双月刊, 国际标准大 16 开本, 每期定价 35 元, 全年 210 元, 由北京市报刊发行局发行, 邮发代号: 82 - 973, 全国各地邮局均可订阅, 漏订者可直接汇款至编辑部补订(若从编辑部补订全年需另加邮资 24.00 元)。

地址: (050021)河北省石家庄市槐中路 286 号《中国生态农业学报》编辑部

电话: (0311)85818007 传真: (0311) 85815093 E-mail: editor@sjziam.ac.cn