

论光敏核不育系 HN5s 的分类地位*

张再君^{1,2} 梁承邨¹ 戴绍钧²

(¹中国科学院华南植物所 广东广州 510650; ²湖北农学院农学系 湖北荆州 434103)

摘要 程氏指数法、外稃双峰乳突鉴定法、同工酶分析及亲和性分析等4种方法研究了光敏核不育系 HN5s 的分类地位。结果显示: HN5s 在程氏指数、外稃双峰乳突鉴定均表现类似籼稻的特征, 但脱粒性明显属粳型; 除 Amp 外, 同工酶 Acp 和 Est 也都呈籼稻的特征; 亲和性研究表明, HN5s 对4个广亲和性鉴定标准测验种和7个典型籼、粳品种均有较高的杂交亲和性, 但对籼稻的亲和性更好, 因此认为, HN5s 是一个具有广亲和性的籼粳中间型的光敏核不育系。考虑到中间型本身在自然界的客观存在, 同时随着籼粳杂交育种的广泛开展以及生物技术在籼粳杂交育种中广泛应用, 也必将出现更多的籼粳中间型, 加上中间型与广亲和性之间的密切关系及中间型在籼粳杂种优势利用中的特殊地位等4个方面的原因, 作者认为将籼粳中间型与籼、粳并列作为第三个亚种的建议可能是值得研讨的。

关键词 光敏核不育系; HN5s; 分类; 籼、粳中间型

中图分类号: S511.023 文献标识码: A

Discussion on the Classification of PGM S Line HN5s

ZHANG Zai-Jun^{1,2} LIANG Cheng-Ye¹ DAI Shao-Jun²

(¹The South China Institute of Botany, The Chinese Academy of Science, Guangzhou 510650; ²Hubei Agriculture College, Jingzhou, Hubei 434103, China)

Abstract The four methods, Cheng's morphology index, Scanning-electric Microscope on the tubercles of Lemma, isozyme analysis and affinity to four standard typical *indica-japonica* testers as well as 7 *indica* or *japonica* native varieties, were used for investigation to the classification of a PGM S line HN5s. HN5s showed *indica*-like traits in Cheng's morphology, tubercles of Lemma and zymograms except to the Amp, while HN5s has higher affinity to *indica* as well as *japonica* and is hard to thresh like *japonica*. The results indicated that HN5s is an intermediate type between *indica* and *japonica*-like Photoperiod-sensitive genic male sterile (PGM S) Line with lower temperature for fertility transformation below 23 (daily mean T) and with the trait of wide compatibility. A discussion on classification of the intermediate type was done, suggesting that the intermediate type maybe was the third subspecies besides *indica* subspecies and *japonica* subspecies within *O. sativa* L.

Key words Photoperiod-sensitive genic male sterile rice (PGM S); HN5s; Classification; Intermediate type rice

水稻光(温)敏核不育系和广亲和品种等种质资源的发现为两系法籼粳亚种间杂种优势的利用提供了新的途径^[1]。石明松(1973)发现的农垦58s是以光敏特性为主的晚粳型光敏感雄性核不育系, 由于它的核不育特性使得该不育基因可以在籼粳亚种间进行杂交转移, 现在已经转育成大量的籼型以及粳型光温敏核不育系。而经过籼粳杂交后籼粳遗传成

分的交换和重组能产生亲缘关系介于籼粳之间的有广亲和性的新类型^[2]。利用亲和力上的籼粳中间型或广亲和的材料为解决籼粳杂种F₁的部分不育、育性不稳定、生育期超亲以及米质分离大等问题有一定的效果, 但是籼粳中间型材料的籼粳分化程度的度量以及亲本的籼粳分化程度与杂种优势的关系已经成为籼粳亚种杂种优势利用研究中的新问题, 目

* 基金项目: 湖北省教育厅重点科技项目资助(批准号: 2000B05006), 广东省重大科技攻关项目(批准号99300801G), 广东省农业攻关重大专项(批准号A2010105)。

作者简介: 张再君(1964), 男, 湖北鄂州人, 理学博士, 从事水稻生物技术育种研究。 * 通讯作者。

Received on(收稿日期): 2001-5-8, Accepted on(接受日期): 2001-07-29

前通过直接或间接杂交转育产生的籼型光温敏核不育系或多或少地带有粳稻的血缘。这使得这类不育系可能成为亚种间杂种优势利用克服育性障碍的桥梁,同时也使得它们的分类地位不够明确或存在许多争议,光敏核不育系 HN 5s 就是其中之一。本文用程氏指数,谷粒外稃双峰乳突扫描电镜观察,杂交亲和性及同工酶分析等方法对 HN 5s 的分类地位做了进一步鉴定,为 HN 5s 组配强优势亚种间杂交组合提供理论依据。同时还讨论了在栽培稻的分类上中间型是否作为与籼、粳并列的另一个亚种进行了初步讨论。

1 材料与方法

1.1 材料

HN 5s 是湖北农学院戴绍钧等於1983年以农垦 58s 为母本,激光4号为父本杂交,1985年育成温敏核不育籼 I 系,1986年用籼 I 系作母本,献党作父本杂交,通过低温鉴定进一步选育的光敏核不育系,1992年通过湖北省科委组织的技术鉴定,1993年作为国家自然科学基金内容之一通过验收^[3]。

用于对 HN 5s 进行亲和性测验有 IR 36、南京 11、珍珠矮、特青、中413和粳籼89等6个典型籼稻品种及秋光、巴里拉、沈农265、台中65和农垦58等5个典型粳稻品种。

1.2 方法

在田间和实验室以6个典型籼稻和5个典型粳稻为对照,对 HN 5s 采用程氏分类指数法^[4]进行评分。

谷粒外稃双峰乳突扫描电镜观察:按张文绪

等^[5,6]方法,在 JSM -T 300电镜上进行观察,拍照、测量数据并用双峰乳突判别函数进行籼粳判别。

亲和性测定:种植 HN 5s 与用于程氏指数分类的11个品种的杂种 F₁,每组合取20株考察花粉育性和小穗育性,小穗育性以20株的主穗平均结实率表示。

同工酶酶谱分析:在种子发芽后3天,以 IR 36、南京11、巴里拉、秋光和 HN 5s 为材料,参考王中仁^[7] Tris-HCl 提取液,8# 电泳缓冲液,进行 AMP、ACP 和 EST 水平淀粉凝胶电泳,方法略有改动。

2 结果与分析

2.1 程氏分类和谷粒外稃乳突扫描电镜观察

根据程侃声提出的6个籼粳性状的分类方法,在田间和实验室,将 HN 5s 与6个典型籼稻、5个典型粳稻品种性状进行比较,HN 5s 稃毛短而分布均匀记1分,酚反应表现无色变化记4分,1~2穗轴节长小于1.5 cm 记0分,抽穗是稃色为绿白记1分,叶毛中等记2分,谷粒长宽比为2.72记2分,综合评分10分,属于偏籼类型。然而 HN 5s 在脱粒性上明显表现出粳稻脱粒难的特征(表1)。

谷粒外稃双峰乳突扫描电镜观察结果表明,HN 5s 的双峰距近似于粳稻,峰角度则接近籼稻,垭角度明显近似于粳稻品种,可见仅凭扫描电镜照片的一般观察并不能确认 HN 5s 的籼粳属性。但是按照张文绪等 G(x) 值判别法的计算结果则显示,其函数值为1.88,依正值为籼、负值为粳的结果,HN 5s 应属于籼稻类型(表2)。

表1 HN5s 和对照种的程氏指数
Table 1 The Cheng's index of the HN5s and indica or japonica varieties

材料 Material	稃毛 Hairiness of hull	酚反应 Phenol reaction	1~2穗轴 节长 LPI*	抽穗时 稃色 CHH**	叶毛 Leaf Hairiness	长宽比 L/W	程氏指数 Cheng's index	类型 Classification
HN 5s	1	4	0	1	2	2	10	偏籼 like-indica
IR 36	1	1	0	1	0	1	4	籼 indica
南京 11 Nanjing 11	0	0	2	0	0	1	3	籼 indica
珍珠矮 Zhenzhu ai	0	3	0	2	1	2	8	籼 indica
特青 Teqing	1	2	0	2	1	1	7	籼 indica
中413 Zhong413	1	1	0	0	1	3	6	籼 indica
粳籼89 Jingxian89	1	2	0	2	1	0	6	籼 indica
秋光 Akihikari	4	4	2	3	4	4	21	粳 japonica
巴里拉 Balila	3	4	4	4	4	4	23	粳 japonica
沈农265 Shennong265	4	3	3	4	4	4	21	粳 japonica
台中65 Taizhong65	4	4	4	3	4	4	23	粳 japonica
农垦58 Nongken58	4	3	4	2	4	4	21	粳 japonica

LPI*: Length between the first and second panicle internode; CHH**: Color of hull when heading

表2 HN5s和几个籼粳对照种双峰乳突性状
Table 2 The traits of bi-peak-tubercles on the lemma of HN5s and contrast indica-japonica

材料 Material	双峰距 Bi-peak distance	垭深度 Co1-depth	距深比 b d/c d*	峰角度 Peak angle	垭角度 Co1 angle	G(x)	类型 Classification
HN 5s	36.486	5.41	6.75	64.3	147.0658	1.88	籼 indica
IR 36	27.027	5.41	5	66.8	136.4664	4.75	籼 indica
南京11 Nanjing11	27.027	5.41	5	72.6	136.4664	2.28	籼 indica
秋光 Akihikari	40.270	5.41	7.45	84	150.0218	-8.10	粳 japonica
巴里拉 Balila	30.270	4.05	7.47	81.4	150.0859	-2.68	粳 japonica

b d/c d*: Bi-peak-distance/Co1-depth

2.2 亲和性分析

杂交亲和性是判断生物间是否存在生殖隔离的重要依据,也是鉴别种或亚种的重要标准之一。一般认为,籼亚种和粳亚种之间的杂交亲和性较差,杂种 F₁ 花粉高度不育,结实率在30%以下,而籼或粳亚种内的杂交亲和性则较好。表3中的测交结果显

示, HN 5s 与6个典型籼稻、5个典型粳稻的杂种 F₁ 的平均花粉可育率分别为85.78%和74.18%,平均自然结实率分别为80.89%和68.04%,由此可以看出, HN 5s 对籼、粳稻的亲和性都较好,但是对籼稻的亲和性更好,说明 HN 5s 在籼粳的类别上不属于典型的籼稻,应该属于中间偏籼的类型。

表3 HN5s与几个籼粳品种测交 F₁ 育性
Table 3 The F₁ fertility of HN5s crossing with Indica and Japonica varieties

籼测验种 Indica tester	花粉可育率(%) Rate of fertility pollen	结实率(%) Seed set	粳测验种 Japonica tester	花粉可育率(%) Rate of fertility pollen	结实率(%) Seed set
IR 36	88.36 ± 5.54	82.32 ± 4.24	秋光 Akihikari	80.56 ± 6.54	70.86 ± 3.32
南京11 Nanjing11	90.52 ± 3.86	86.22 ± 4.64	巴里拉 Balila	82.14 ± 5.88	68.46 ± 3.76
珍珠矮 Zhenzhu ai	80.46 ± 4.76	76.58 ± 6.42	沈农265 Shennong265	63.74 ± 5.86	61.38 ± 3.46
特青 Teqing	86.44 ± 5.24	82.17 ± 4.75	台中65 Taizhong65	68.46 ± 6.43	65.52 ± 3.35
中413 Zhong413	86.34 ± 3.28	80.14 ± 2.54	农垦58 Nongken58	76.86 ± 4.56	75.45 ± 4.53
粳粳89 JingXian89	84.88 ± 3.66	81.54 ± 3.28	平均 Mean	74.18 ± 5.55	68.04 ± 3.83
平均 Mean	85.78 ± 4.57	80.89 ± 5.63			

表4 HN5s同工酶谱
Table 4 Zymograms analysis of the HN5s line

品种 Variety	Acp-1	Acp-2	Est-10	Est-12	Amp1
HN 5s	1	1	1	0	1
IR 36	1	1	1	1	0
南京11 Nanjing11	1	1	1	1	0
秋光 Akihikari	2	2	2	0	1
巴里拉 Balila	2	2	2	0	1

2.3 同工酶谱分析

同工酶谱分析在水稻进化和籼粳判别上有重要价值。表4中 HN 5s 的3种同工酶6个位点表明: HN 5s 在 Acp 和 Est 的5个位点上显示了与籼稻相同的带型,而在 Amp 则表现与粳稻相同的带型,可见在检测的这几个位点上 HN 5s 表现为籼粳中间偏籼的类型。

3 讨论

3.1 HN5s的分类属性及其广亲和性

随着超高产育种研究的展开,亚种间杂种优势

利用成为当前水稻杂种优势利用的主要途径,而对亚种间遗传育种材料的籼粳属性的判别是亚种间杂种优势利用的前提。水稻籼粳的分化是亚洲栽培稻分化的主流,形态上即表现型的分化与同工酶和DNA的遗传分化总的趋势是一致的,但在分化不彻底的一些所谓的中间型上很可能会出现不同步的现象。目前用于籼粳分类研究的主要有程氏形态指数法、同工酶分类法以及分子标记分类法等,形态、分子水平上的一系列研究都已达到了比较一致的认识。我们从程氏指数法、谷粒外稃双峰乳突鉴定法和同工酶谱分析法以及杂交亲和力等几个方面证明 HN 5s 不属于典型的籼稻,而属于籼粳中间偏籼的类型。熊振民(1993)认为籼粳杂种后代之所以出现广亲和性类型,可能是籼粳遗传成分的充分交换和重组产生了亲缘关系介于籼粳之间的新类型所致。对于 HN 5s,考虑到它是籼粳杂种后代选育而成,且对籼、粳稻均有较高的杂交亲和力,我们的分类分析结果证实它是一个在分类上属于中间型

偏粳且具有广亲和性的光敏不育系。

3.2 栽培稻分类中单列中间型的必要性及其意义

3.2.1 中间型在自然界和籼粳杂交育种后代中广泛存在 从生物进化的观点来看,中间型是最具有生命力的^[8]。自然界中本身存在籼粳难分的籼粳中间型^[9~12]。籼粳杂交育种先驱杨守仁早年就发现籼粳杂交将产生各种各样的籼粳中间型,1958年选出的8个系统全是籼、粳稻的中间型,在总结30余年的籼粳杂交育种经验时,杨守仁预期在90年代将产生多种多样的籼粳中间型^[13]。

随着生物技术,特别是花药培养技术在籼粳杂交育种中的广泛应用,加上籼粳亚种间杂种优势利用地位的日益突出,已经产生了大量的籼粳中间型。王建平等^[14]用同工酶和程氏指数分类法研究了圭630/02428和窄叶青8号/京系17两套DH群体的籼粳分布,结果两套DH群体均为从籼到粳的连续分布,大多数为偏籼或偏粳的中间型;Li等^[15]利用形态性状、同工酶和RFLP标记,研究111份水稻品种或株系的形态分化和遗传分化的关系,发现在41份分化彻底的籼、粳稻中,形态分化和遗传分化是同步的,而在来自圭630/02428的80份DH株系中,籼粳的分化不完全,即形态分化与遗传分化不同步,但是中间型占多数,并认为籼粳基因组成份的掺合或不完全分化可以形成适应不同环境的特殊基因型,并形成高亲和力和高产量的杂交组合。毛传藻^[16]用程氏指数和RFLP的方法比较了特青/02428组合的DH和RL群体的籼粳分布,结果DH和RL群体的形态指数和RFLP的Pi值均为连续正态分布,非典型籼粳的中间型比例很高,分别占DH群体和RL群体的82.44%和84.08%。现在认为中间型只是少数,其实只是在分类方法上各个类别的界定问题,不能因为这类水稻品种的数量少而忽视它们的存在。

3.2.2 中间型在杂种优势利用中具有特殊地位

中间型亲本材料在杂种优势利用中可产生较强的杂种优势。杨振玉^[17]研究表明亲本的程氏指数差值与F₁结实率呈显著负相关,与F₁全株干重呈显著正相关,差值为7~13之间时F₁全株干重较高,结实率也较高,大于13结实率过低,小于6则生物优势偏弱而影响杂种优势的提高。钱前等^[18]也认为在杂种优势上籼/中间型>粳/中间型>籼/粳,在杂种优势利用中,籼/中间型、粳/中间型均具有利用价值。李任华等^[19]在分子水平上研究了亲本的遗传

分化与杂种优势的关系,并指出在亲本中粳稻成分TDj值在22~25的范围内,杂种育性和产量优势都有一个峰值。陈彩虹等^[20]通过珍汕97A与15个中间型父本配组的杂种优势的研究指出,当双亲遗传距离较大即亲缘关系较远时,会出现营养优势和生殖优势的不协调,从而表现较强的营养优势和较弱的生殖优势。毛传藻^[15]研究表明中间型父本在杂种优势利用中有重要作用。

3.2.3 中间型与广亲和性的形成有密切的联系

顾铭洪^[21]指出亲和性的变异和分化必然与栽培稻的起源与分化有密切的联系。王象坤^[22]研究表明广亲和基因与地理分布相联系,广亲和品种比较集中于籼粳分化不彻底的原始型栽培稻中,他们很可能是栽培稻进化初级阶段的产物。熊振民^[2]认为籼粳遗传成分的充分交换和重组能产生亲缘关系介于籼粳之间的有广亲和性的新类型。作者曾研究窄叶青8号/京系17的DH群体中一个随机样本株系对籼、粳的亲性和性时发现,在被测的14个株系中,有12个株系对籼、粳稻均有较好的杂交亲和性,而且多数为籼粳中间型(即刊稿)。

由于中间型本身在自然界的客观存在,同时随着籼粳杂交育种的广泛开展以及生物技术在籼粳杂交育种中广泛应用,也必将出现更多的籼粳中间型,加上中间型与广亲和性之间的密切关系和它在籼粳杂种优势利用中的特殊地位,可否中间型划为与籼、粳并列的一个亚种的研究似已很有必要。这样不仅能更好地体现稻种演化内容及分类上的连续性,同时也将有利于对它们进行广泛的研究,增加对这类材料的认识,使其在水稻育种,特别是超高产育种中发挥更大的作用。

References

- [1] Yuan N-P (袁隆平). Progress of Two-Line System Hybrid Rice Breeding. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1990, 23(3): 1~6
- [2] Xiong Zh-M (熊振民), Min Sh-K (闵绍楷), Zhu X-D (朱旭东), Wang J-L (王建林) et al. Discussion on Genetics of Wide Compatibility by Pedigree Analysis. *Chinese J Rice Sci* (中国水稻科学), 1993, 7(2): 101~104
- [3] Ma L-Y (马来运), Dai Sh-J (戴绍均). Breeding of Hunong 5s and Studies on its Characteristic of Fertility alternation. *Hybrid Rice* (杂交水稻), 1996, (1): 3~5
- [4] Cheng K S. A statistical evaluation of the classification of rice cultivars into Hsien and Keng subspecies. *Rice Genetics*

- Newletter*, 1985, 2: 46~ 48
- [5] Zhang W-X (张文绪), Tang Sh-X (汤圣祥). Studies on the tubercles of lemma in 20 species of *Oryza* with scanning-electric microscope *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1997, 23(3): 280~ 288
- [6] Zhang W-X (张文绪), Pei X-D (裴鑫德). Studies on the bipole tubercles of lemma in rice *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1998, 24(6): 691~ 697
- [7] Wang Zh-R (王中仁). *Plant Allozyme Analysis* Beijing: Science Press, 1996
- [8] Pei X-Sh (裴新澍). *Cybernetics on Biology Evolution* Beijing: Science Press, 1998
- [9] Morinaga T. Origin and geographical distribution of Japanese *Jpn Agric Res Quart* 1968 3(2): 1~ 5
- [10] Glaszmann J C. A varietal classification of Asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.) based on isozyme polymorphism. In: *IRRI Rice Genetics Proc* Manila: Int Rice Genet Symp, 1985 83~ 90
- [11] Wang X-K (王象坤), Li R-H (李任华), Sun Ch-Q (孙传清), Li Z-Ch (李自超) et al Identification and classification of subspecies in *Oryza sativa* L. and inter-subspecies hybrids, *Chinese Science Bulletin* (科学通报), 1997, 42: 2596~ 2602
- [12] Zhang Y-Zh (张尧忠), Xu N-Sh (徐宁生). A discussion on the method and system of rice *Indica-Japonica* classification. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences* (西南农业学报), 1998, 11(3): 88~ 93
- [13] Yang Sh-R (杨守仁). *Yang Shouren's Collectanea on Rice* Shenyang: Liaoning Technology Press 1998
- [14] Wang J-P (王建平), Sun Ch-Q (孙传清), Li Z-Ch (李自超), Li R-H (李任华) et al Classification of two DH groups using morphological character index and isozyme, *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 1998, 31(1): 8~ 13
- [15] Mao Ch-Z (毛传藻), Differentiation of *indica* and *japonica* in two rice genetic population and the relationship between parental differentiation and heterosis Hangzhou: Chinese Rice Research Institute 2000
- [16] Li R H, Jiang T B, Xu C G, et al Relationship between morphological and genetic differentiation in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2000, 114: 1~ 8
- [17] Yang Zh-Y (杨振玉), Liu W-Y (刘万友), Hua Z-T (华泽田). Studies on Classification of *indica-japonica* hybrids F₁ and its relation with heterosis In: *Collectanea on Research of Two-lines Hybrid Rice* (两系法杂交水稻研究论文集). Beijing: Agricultural Press, 1992
- [18] Qian Q (钱前), Zhu L-H (朱立煌), Xiong Zh-M (熊振民), Min Sh-K (闵绍楷). Relationship between RFLPs and heterosis of hybrids among *indica*, intermediate and *japonica* type rice *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1998, 24(1): 74~ 77
- [19] Li R-H (李任华), Xu C-G (徐才国), He Y-Q (何予卿). Relationship between the extent of parental genetic differentiation and heterosis of *indica-japonica* hybrids in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 1998, 24(5): 564~ 576
- [20] Chen C-H (陈彩虹), Li X-J (栗学俊), Qin X-Y (覃惜阴), Heterosis and correlation analysis in inter-subspecific three-lines hybrids of rice (*Oryza sativa* L.). *Southwest China Journal of Agricultural Sciences* (西南农业学报), 1998, 11(1): 20~ 24
- [21] Gu M-H (顾铭洪). Status and progress on the research of wide compatibility in rice In: *Collectanea on Research of Two-lines Hybrid Rice* (两系法杂交水稻研究论文集). Agricultural Press, 1992
- [22] Wang X-K (王象坤), Cai H-W (才宏伟), Li Z-C (李自超). Discussion on geographical limit in application of wide compatible rice (*Oryza sativa* L.) varieties, *Acta Agriculturae Universitatis Pekinensis* (北京农业大学学报), 1993, 19 (supplement): 1~ 5