

杂交稻“大青棵”现象遗传基础剖析

曲丽君^{1,2} 张宏军² 项超² 王辉³ 夏加发³ 李泽福³ 高用明^{2,*} 石英尧^{1,*}

(¹安徽农业大学 农学院, 合肥 230036; ²中国农业科学院 作物科学研究所, 北京 100081; ³安徽省农业科学院 水稻研究所, 合肥 230031; * 通讯联系人, E-mail: irriygao@163.com; shiyy123@163.com)

Study on the Genetic Basis for Abnormal Heading in Hybrid Rice

QU Li-jun^{1,2}, ZHANG Hong-jun², XIANG Chao², WANG Hui³, XIA Jia-fa³, LI Ze-fu³, GAO Yong-ming^{2,*},
SHI Ying-yao^{1,*}

(¹College of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; ²Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ³Rice Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei 230031, China; * Corresponding authors, E-mail: irriygao@126.com; shiyy123@163.com)

QU Lijun, ZHANG Hongjun, XIANG Chao, et al. Study on the genetic basis for abnormal heading in hybrid rice. *Chin J Rice Sci*, 2013, 27(6): 559-568.

Abstract: The problem of abnormal heading in hybrid rice caused great economic losses in recent years. The genetic basis of this phenomenon is still ambiguous and not documented up to now. Four test-crossing populations were constructed using 38 introgression lines (ILs) from Shuhui 527/Fuhui 838 population as male parents and four male sterile lines (II-32A, XieqingzaoA, Gang 46A and Jin 23A) as female parents. The phenotypic evaluation was conducted in Hefei, Hangzhou and Guangzhou in late season. QTL associated with photosensitivity (PS) was identified using one-way analysis of variance (ANOVA) and two-way ANOVA methods with the genotypic and phenotypic data. Progeny testing showed that 55 combinations did not head in Hefei, but normally headed with delayed heading date in Hangzhou and Guangzhou. A total of 12 QTL for PS was found in more than two environments or populations. Using two-way ANOVA, 31 epistatic QTLs affecting PS were detected in Hangzhou and Guangzhou, five of which were stably expressed in different populations and environments. The loci interaction between RM331-RM2, RM331-RM5346, RM3395-RM16 and RM3325-RM53 played an important role in controlling the formation of Daqingke for combinations from test-crossing WD57, WD71, WD77, WD78, WD80, WD85 and WD88 with four-types of male sterile lines.

Key words: hybrid rice; abnormal heading; heading date; photosensitivity; QTL mapping

曲丽君, 张宏军, 项超, 等. 杂交稻“大青棵”现象遗传基础剖析. 中国水稻科学, 2013, 27(6): 559-568.

摘要: 杂交稻的大青棵现象给我国水稻生产带来了巨大的经济损失, 但大青棵产生的遗传基础相关研究尚未见报道。利用蜀恢 527/辐恢 838 群体中的 38 个导入系为父本, 以四个核心不育系 II-32A、协青早 A、冈 46A 和金 23A 为母本, 构建 4 个测交群体。在合肥、杭州和广州 3 个晚稻环境下, 对其进行抽穗期和产量相关性状表型评价, 结合基因型分析, 利用单向 (one-way ANOVA) 和双向方差分析 (two-way ANOVA) 检测与感光性相关的 QTL 及 QTL 间互作。表型分析表明, 55 个组合在合肥表现为大青棵, 相比之下, 这些组合在杭州和广州表现为正常抽穗, 但抽穗期延迟。利用单向方差分析, 在多个环境或者群体中检测到 12 个标记与感光性 QTL 紧密连锁。通过双向方差分析, 共检测到 31 对感光性上位性 QTL, 其中 4 对在不同群体和环境下稳定表达。结合基因型分析和上位性分析, 发现位点 RM331-RM2、RM331-RM5346、RM3395-RM16 和 RM3325-RM53 间互作是导致导入系 WD57、WD71、WD77、WD78、WD80、WD85 和 WD88 与 4 个不育系测交组合产生大青棵的主要遗传基础。

关键词: 杂交稻; 大青棵; 抽穗期; 感光性; QTL 定位

中图分类号: Q944.57; S511.032

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2013)06-0559-10

杂交稻在世界粮食生产中有着极其重要的地位和作用。自 1964 年中国首次开始杂交稻研究以来, 杂交稻的种植面积占中国水稻种植总面积的比重呈

逐年递增趋势, 到 2007 年已达一半以上。与常规品种相比, 杂交稻在产量上可提高 10%~20%^[1], 因此, 加强杂交稻的推广, 对水稻生产和缓解粮食危机

收稿日期: 2013-05-03; 修改稿收到日期: 2013-07-12。

基金项目: 盖茨基金资助项目(OPP51587); 国家星火计划资助项目(2011GA710008); 安徽省自然科学基金资助项目(090411016)。

有着重要的意义。然而,在杂交稻生产过程中,常常出现部分杂种不能正常抽穗的现象,俗称大青棵。大青棵一般表现植株高大、多蘖、长势旺盛且本身不能正常抽穗结实,在与正常杂交稻植株的竞争中占有一定的优势。这些都严重影响了杂交稻的产量。随着杂交稻推广面积的扩大,大青棵现象的发生出现了逐年加重的趋势,给杂交稻生产带来了潜在的威胁^[2]。

尽管杂种大青棵对于杂交稻推广和利用造成严重的影响,但由于其产生基础的复杂性,目前关于这一现象的解释少之又少。由于大青棵表现为不抽穗或者抽穗期延迟,即感光性,因此,本研究从抽穗期的角度去剖析大青棵产生的原因,检测到的相应 QTL 位点为感光性位点。

抽穗期是一类重要的农艺性状,它决定了品种的推广范围与季节适应性,影响其他各种农艺性状的表达^[3],对品种的高产稳产起重要作用。随着 DNA 分子标记技术的建立与发展,关于水稻抽穗期研究已有了重大进展。目前,在 Gramene 网站公布的水稻抽穗期相关 QTL 有 618 个,分布于 12 条染色体上(<http://www.gramene.org>)。其中,成功克隆的有 20 个左右,分别为 *Ghd7*^[4]、*Ghd8*^[5]、*DTH8*^[6]、*Hd1*^[7]、*Hd3a*^[8]、*Hd6*^[9]、*Ehd1*^[10]、*Ehd2*^[11]、*el1*^[12]、*RFT1*^[13]、*Se5*^[14]、*OsMADS1*^[15]、*OsMADS14*^[16]、*OsMADS15*^[17]、*OsMADS50*^[18]、*OsMADS51*^[19]、*OsMADS56*^[20]、*OsGI*^[21]、*OsDof12*^[22]和 *OsCO3*^[23]。

本研究以蜀恢 527/辐恢 838//蜀恢 527 群体中 38 个导入系为父本,分别与四个核心不育系(II-32A、协青早 A、冈 46A 和金 23A)测交,共产生了 4 个测交群体。这 4 个测交群体在 3 个不同生态环境下(合肥、杭州和广州)表现出 3 种抽穗类型,即正常抽穗、不抽穗和抽穗期延迟。利用这些测交群体进行表型和基因型分析,以期解释水稻杂种 F₁ 代产生大青棵现象的遗传机理。

1 材料与方法

1.1 群体构建

在前期研究中,Zhang 等^[24]以蜀恢 527 为受体亲本,以辐恢 838 为供体亲本构建了一个 BC₂F_{3,4} 产量选择导入系群体。群体具体构建过程如下:2004 年海南春,用供体辐恢 838 与受体亲本进行杂交,产生 F₁ 杂种。2004 年合肥正季,用受体亲本为母本与

F₁ 进行第 1 轮回交,产生 BC₁F₁ 杂种。下一季,在 BC₁F₁ 后代随机选择 25 个单株分别与受体亲本进行第 2 轮回交,产生 BC₂F₁ 杂种。2005 年合肥正季,将 25 个 BC₂F₁ 播种、混收,产生 BC₂F₂ 群体。2006 年合肥正季,将 BC₂F₂ 群体取 500 粒种子进行播种,成熟期田间产量性状初选并结合实验室性状考种,最终选择了 38 个高产单株。2007 年海南春,所有 BC₂F₂ 选择单株进行自交加代,产生 38 个 BC₂F₃ 株系。然后,每个 BC₂F₃ 株系选择 1 株进行加代,形成 BC₂F_{3,4} 群体。本研究以此为基础,2010 年春在中国农业科学院海南试验基地(三亚南滨农场)以蜀恢 527/辐恢 838//蜀恢 527 群体中 38 个导入系为父本,与生产上广泛应用的 4 个核心不育系(II-32A、协青早 A、冈 46A 和金 23A)为母本进行测交,共获得 152 个测交 F₁ 组合。同时,用 4 个不育系分别与受体亲本蜀恢 527 测配[II-32A/蜀恢 527(II 优 527)、协青早 A/蜀恢 527(协优 527)、冈 46A/蜀恢 527(冈优 527)和金 23A/蜀恢 527(金优 527)]作为对照组合。依据母本不同,152 个组合共构成 4 个测交群体,即 II-32A/导入系(群体 I)、协青早 A/导入系(群体 II)、冈 46A/导入系(群体 III)和金 23A/导入系(群体 IV)。

1.2 表型评价

2010 年春,将 38 个产量导入系、受体亲本蜀恢 527、供体亲本辐恢 838、4 个对照组合以及 152 个测交 F₁ 组合分别在合肥(合肥西郊安徽农业大学实验基地,北纬 31°5',东经 117°2',海拔 29.8 m)和杭州(富阳中国水稻研究所,北纬 30°1',东经 120°1',海拔 41.7 m)两个环境下进行表型评价,播种期分别为 5 月 2 日和 5 月 26 日。2010 年夏,将上述材料同时在广州(广东省农业科学院水稻研究所,北纬 23°1',东经 113°2',海拔 6.6 m)进行表型考查,播种期为 7 月 18 日。所有材料种子均提前播种育苗。在合肥和杭州,秧龄达到 30 d 后进行移栽;在广州,秧龄达到 18 d 后进行移栽。采用随机区组设计,2 次重复。每份材料种 1 行,每行 10 株,株行距为 17.0 cm × 20.0 cm。其他田间管理按当地正常管理方式进行。

表型评价包括抽穗期和产量相关性状。抽穗期记为从播种到株系内 50% 植株抽穗的天数(d)。成熟后,每份材料在行中间随机选择 3 个单株,测量株高(plant height, PH),风干后考查产量相关性状,具体性状评价参考 Moncada 等^[25],主要包括单

株有效穗数(panicle number per plant, PN)、每穗实粒数(filled grain number per panicle, GN)、每穗颖花数(spikelet number per panicle, SN)、结实率(spikelet fertility percentage, SF)、千粒重(1000-grain weight, GW)和单株产量(grain yield per plant, GY)。

1.3 基因型分析

Zhang 等^[24]应用 650 对 SSR 引物对亲本蜀恢 527 和辐恢 838 进行了多态性分析,共筛选到 115 对多态性标记,最终选择 64 对带型清晰且较均匀分布在 12 条染色体上的标记对蜀恢 527/辐恢 838//蜀恢 527 群体的 38 个导入系进行基因型分析。本研究在此基础上,应用这 64 对多态性标记对 4 个不育系进行基因型鉴定。然后,根据导入系与 4 个不育系基因型来分别推测每个测交组合基因型。当不育系或者导入系的基因型为杂合基因型时,测交组合的基因型视为缺失。

1.4 数据分析

应用单向方差分析(one-way ANOVA)对 3 个环境的感光性位点进行定位^[26],选择阈值为 $P < 0.01$ 。当一个 QTL 在 $P < 0.01$ 水平被检测到,在另一群体或者另一环境 $P < 0.05$ 水平被同时定位到,这样的 QTL 被认为是共同定位到的 QTL^[27]。同时,利用双向方差分析(two-way ANOVA)检测基因间互作,选择阈值为 $P < 0.01$ 。由于在合肥大青棵材料不能正常抽穗,导致双向方差分析时数据缺失严重。因此,本研究只针对杭州和广州环境进行了互作分析。

2 结果与分析

2.1 测交群体抽穗期和产量相关性状表型分析

根据测交组合在合肥的抽穗期情况将其分成两类,即 Q 组合(表现为大青棵,不能正常抽穗)和非 Q 组合(能正常抽穗)。按照上述原则,152 个测交组合包含 55 个 Q 组合和 97 个非 Q 组合(数据未列出)。如表 1 所示,在合肥,Q 组合不能正常抽穗,而非 Q 组合在抽穗期和产量相关性状上与对照组合、受体亲本以及导入系群体没有明显差异;在杭州,Q 组合在抽穗期、每穗实粒数、结实率和单株产量上与非 Q 组合及对照组合间存在明显差异。比较而言,Q 组合比非 Q 组合及对照组合分别平均延迟抽穗 54 d 和 55 d,每穗实粒数分别下降 19.4 和 39.4,结

实率分别降低 28.4% 和 32.3%,进而导致单株产量分别下降 14.6 g 和 6.4 g。在广州,虽然 Q 组合比非 Q 组合和对照组合在抽穗上同样表现延迟,但在产量相关性状上与杭州环境相比表现却大相径庭。其中,差异最明显的产量性状主要包括每穗实粒数、结实率和单株产量,这 3 个性状 Q 组合比非 Q 组合和对照组合分别平均提高 34.2 和 26.7、7.5% 和 5.6% 以及 6.2 g 和 3.6 g。除合肥外,无论是 Q 组合还是非 Q 组合内的 4 个测交群体在杭州和广州抽穗期和产量相关性状上都表现很大的差异,尽管这些群体来自相同的父本。在杭州,Q 组合中单株产量平均表现最好的是群体 II,非 Q 组合中单株产量平均表现最好的是群体 IV。有趣的是,相对于其他测交群体,这两个群体都具有较短的抽穗期。相比之下,在广州,无论是 Q 组合还是非 Q 组合,单株产量平均表现最好的都是群体 III,而且这个群体表现出较长的抽穗期。四个对照组合在不同生态环境下,产量表现不同,其中 3 个环境下表现最好的是组合 II-32A/蜀恢 527,平均单株产量为 24.2 g,其次为冈 46A/蜀恢 527,平均单株产量为 23.7 g。另外,在 3 个环境下,导入系群体在抽穗期上与受体亲本没有明显差异。但在单株产量上,导入系比受体亲本分别平均高 2.5 g、2.9 g 和 1.2 g,究其原因主要是导入系在单株有效穗、每穗实粒数和每穗颖花数上相对于受体亲本有所提高。

2.2 QTL 定位分析

2.2.1 感光性主效 QTL 定位分析

利用单向方差分析(one-way ANOVA),在三个环境下(合肥、杭州和广州),4 个群体共检测到 21 个控制感光性 QTL,其中 12 个在两个或两个以上的环境或群体中被同时检测到(表 2)。在这 12 个位点中,在 3 个环境条件下均被重复检测到的位点有 *qPS3.1* (RM282)、*qPS7.1* (RM481)、*qPS7.4* (RM336)和 *qPS9.1* (RM219);在两个环境下被同时检测到位点有 7 个,其中 6 个在杭州和广州,1 个在合肥和杭州。特别是位点 *qPS8.1* (RM3395)和 *qPS8.2* (RM331)在杭州和广州 4 个群体中均被检测到。*qPS8.1* 在广州四个群体平均贡献率为 24.3%,在杭州为 20.7%;*qPS8.2* 在广州的平均贡献率为 27.2%,在杭州为 25.3%。另外,位点 *qPS7.2* (RM3325)仅在杭州被检测到。

表 1 测交群体、导入系及受体亲本的抽穗期和产量相关性状表现

地点		材料	抽穗期	株高	单株有效穗数	每穗颖花数	
Site		Material	HD/d	PH/cm	PN	SN	
合肥 Hefei	Q 组合 ^a Combination Q ^a		—	—	—	—	
	对照组合	Ⅱ -32A/蜀恢 527 Ⅱ -32A/Shuhui 527	99.0±0.7	129.2±2.4	5.0±0.8	195.2±16.9	
	Check combination	协青早 A/蜀恢 527 Xieqingzao A/Shuhui 527	97.0±1.6	123.2±2.4	6.0±0.7	147.4±18.0	
		冈 46A/蜀恢 527 Gang 46A/Shuhui 527	95.0±0.8	112.3±3.7	5.3±0.2	165.1±14.6	
		金 23A/蜀恢 527 Jin 23A/Shuhui 527	96.0±1.2	111.1±1.9	5.0±0.6	172.3±15.0	
		蜀恢 527 Shuhui 527	95.0±0.0	112.8±0.3	5.2±0.7	137.3±0.5	
	受体亲本 Recipient parent		96.0±2.1	118.5±6.3	5.5±0.6	147.3±17.0	
	导入系群体 Introgression line						
	杭州 Hangzhou	Q 组合 Combination Q	群体 I Pop I	145.6±3.5	109.5±3.1	7.5±1.6	105.7±20.0
			群体 II Pop II	137.5±4.6	118.0±0.9	6.2±1.5	125.8±12.5
		群体 III Pop III	145.6±3.5	117.4±3.5	5.5±1.0	160.7±22.0	
		群体 IV Pop IV	138.7±5.9	117.7±3.4	6.5±1.7	144.1±25.2	
		平均 Mean	141.9±4.2	115.0±4.0	6.4±2.0	133.8±23.2	
对照组合		Ⅱ -32A/蜀恢 527 Ⅱ -32A/Shuhui 527	86.0±1.6	122.0±2.7	6.3±1.4	142.5±19.8	
Check combination		协青早 A/蜀恢 527 Xieqingzao A/Shuhui 527	86.0±1.2	122.7±2.3	7.3±1.7	115.4±14.1	
		冈 46A/蜀恢 527 Gang 46A/Shuhui 527	90.0±1.6	122.3±2.5	7.5±1.6	155.2±13.3	
		金 23A/蜀恢 527 Jin 23A/Shuhui 527	86.0±1.5	115.7±2.7	6.8±1.4	137.4±16.9	
		蜀恢 527 Shuhui 527	88.0±0.0	105.0±1.6	6.2±0.7	107.5±8.7	
受体亲本 Recipient parent		87.7±3.8	109.0±8.2	7.4±1.2	115.7±24.7		
导入系群体 Introgression line							
广州 Guangzhou	Q 组合 Combination Q	群体 I Pop I	84.8±2.9	115.9±3.3	6.7±0.8	193.4±34.6	
		群体 II Pop II	82.2±3.1	115.9±6.3	7.6±1.1	162.0±12.0	
		群体 III Pop III	83.1±3.3	123.4±6.9	6.9±0.7	187.5±18.6	
		群体 IV Pop IV	81.9±3.0	121.8±4.5	7.0±0.8	186.6±21.0	
		平均 Mean	83.0±3.2	119.3±6.3	7.0±0.9	183.0±27.9	
	对照组合	Ⅱ -32A/蜀恢 527 Ⅱ -32A/Shuhui 527	70.5±2.9	115.2±4.5	7.8±0.7	177.8±20.7	
	Check combination	协青早 A/蜀恢 527 Xieqingzao A/Shuhui 527	66.0±2.4	112.0±4.4	8.3±0.8	180.5±23.6	
		冈 46A/蜀恢 527 Gang 46A/Shuhui 527	70.0±0.9	120.1±2.6	6.2±0.8	178.6±13.5	
		金 23A/蜀恢 527 Jin 23A/Shuhui 527	66.0±2.3	115.8±3.4	6.9±0.7	169.0±15.7	
		蜀恢 527 Shuhui 527	74.0±0.9	108.9±1.8	6.2±0.7	150.4±5.3	
受体亲本 Recipient parent		72.3±1.2	112.1±4.3	6.7±0.8	152.8±22.0		
导入系群体 Introgression line							
地点		材料	每穗实粒数	结实率	千粒重	单株产量	
Site		Material	GN	SF/%	GW/g	GY/g	
合肥 Hefei	Q 组 ^a Combination Q ^a		—	—	—	—	
	对照组合	Ⅱ -32A/蜀恢 527 Ⅱ -32A/Shuhui 527	156.5±15.3	80.2±7.6	30.3±0.7	23.7±1.0	
	Check combination	协青早 A/蜀恢 527 Xieqingzao A/Shuhui 527	113.3±16.4	76.9±5.7	27.1±0.6	18.4±2.0	
		冈 46A/蜀恢 527 Gang 46A/Shuhui 527	136.9±15.2	83.1±7.4	30.6±0.7	22.2±1.6	
		金 23A/蜀恢 527 Jin 23A/Shuhui 527	123.3±11.4	71.8±5.9	31.3±1.1	19.3±2.4	
		蜀恢 527 Shuhui 527	112.2±0.8	81.1±0.3	28.8±0.3	16.8±1.0	
	受体亲本 Recipient parent		115.2±11.8	78.2±9.9	30.4±1.7	19.3±2.9	
	导入系群体 Introgression line						
	杭州 Hangzhou	Q 组合 Combination Q	群体 I Pop I	75.3±23.9	71.2±9.6	23.9±0.8	13.5±2.9
			群体 II Pop II	82.7±18.6	65.7±7.5	28.5±3.8	14.6±3.0
		群体 III Pop III	88.6±24.9	55.2±7.0	23.8±1.3	11.6±1.7	
		群体 IV Pop IV	83.1±23.4	57.6±7.3	25.0±2.4	13.5±3.9	
		平均	82.1±25.9	61.4±9.5	25.3±2.3	13.3±2.9	
对照组合		Ⅱ -32A/蜀恢 527 Ⅱ -32A/Shuhui 527	107.5±18.9	75.5±6.5	27.8±1.3	18.8±1.9	
Check combination		协青早 A/蜀恢 527 Xieqingzao A/Shuhui 527	89.4±15.9	77.5±5.4	28.2±2.1	18.4±3.2	
		冈 46A/蜀恢 527 Gang 46A/Shuhui 527	104.3±15.5	67.2±7.4	27.6±3.2	21.6±2.9	
		金 23A/蜀恢 527 Jin 23A/Shuhui 527	105.0±15.8	76.4±5.3	27.6±1.2	19.7±3.9	
		蜀恢 527 Shuhui 527	84.5±6.8	78.5±0.5	29.6±0.2	15.5±1.8	
受体亲本 Recipient parent		88.0±19.1	76.0±6.5	28.3±1.5	18.4±3.4		
导入系群体 Introgression line							
广州 Guangzhou	Q 组合 Combination Q	群体 I Pop I	175.4±35.5	90.6±4.7	26.3±0.9	30.9±4.2	
		群体 II Pop II	142.0±15.1	87.7±4.1	30.2±1.0	32.6±5.5	
		群体 III Pop III	168.1±18.8	89.7±3.1	28.2±1.1	32.7±3.9	
		群体 IV Pop IV	164.6±19.1	88.3±4.4	28.2±1.3	32.5±5.8	
		平均	163.2±28.4	89.2±4.2	28.1±1.7	32.1±4.8	
	对照组合	Ⅱ -32A/蜀恢 527 Ⅱ -32A/Shuhui 527	146.1±31.1	82.2±5.4	26.5±1.4	30.2±2.6	
	Check combination	协青早 A/蜀恢 527 Xieqingzao A/Shuhui 527	130.8±32.3	86.3±5.3	28.1±1.5	30.4±4.5	
		冈 46A/蜀恢 527 Gang 46A/Shuhui 527	153.6±14.4	86.0±3.6	28.2±0.8	27.2±2.7	
		金 23A/蜀恢 527 Jin 23A/Shuhu 527	141.6±24.1	83.8±4.2	26.9±1.2	26.3±3.7	
		蜀恢 527 Shuhui 527	132.1±3.5	87.8±0.8	29.8±0.0	24.4±2.9	
	受体亲本 Recipient parent		132.6±20.9	86.8±4.6	28.8±4.4	25.6±3.6	
	导入系群体 Introgression line						

^a 在合肥不抽穗的组合。群体 I — Ⅱ -32A/导入系;群体 II — 协青早 A/导入系;群体 III — 冈 46A/导入系;群体 IV — 金 23A/导入系。
^a Combination Q , Abnormal heading in Hefei. Pop I , Ⅱ -32A / introgression lines; Pop II , Xieqingzao A / introgression lines; Pop III , Gang 46A / introgression lines; Pop IV , Jin 23A / introgression lines. HD, Heading date; PH, Plant height; PN, Panicle number per plant; SN, Spikelet number per planicle; GN, Filled grain number per panicle; SF, Spikelet fertility percentage; GW, 1000-grain weight; GY, Grain yield per plant.

表 2 不同环境下 4 个测交群体定位的感光性 QTL

Table 2. QTL associated with photosensitivity detected in different test-crossing populations under different environments.

数量性状位点	标记	位置 ^a	地点	群体 ^b	F 值	概率	贡献率
QTL	Marker	Position ^a /cM	Environment	Population ^b	F-value	Probability	R ² / %
<i>qPS1.1</i>	RM5346	45.4	杭州 Hangzhou	I	5.53	0.0255	10.6
				II	8.66	0.0060	16.3
				III	5.37	0.0275	10.2
				IV	11.80	0.0019	24.6
<i>qPS2.1</i>	RM53	32.7	广州 Guangzhou	IV	5.58	0.0244	9.9
			杭州 Hangzhou	II	4.60	0.0397	7.6
			广州 Guangzhou	III	5.04	0.0323	9.4
				II	8.69	0.0058	15.4
<i>qPS3.1</i>	RM282	100.6	合肥 Hefei	III	5.90	0.0207	10.2
				IV	4.91	0.0339	8.3
				III	7.18	0.0134	18.8
				I	4.53	0.0411	7.4
<i>qPS3.2</i>	RM520	191.6	杭州 Hangzhou	II	5.40	0.0262	8.7
				III	7.66	0.0095	14.8
				IV	4.62	0.0398	8.3
				III	6.60	0.0146	10.9
<i>qPS7.1</i>	RM481	3.2	合肥 Hefei	IV	5.24	0.0284	8.4
				III	5.24	0.0284	8.4
				I	5.65	0.0238	10.4
				I	8.30	0.0070	15.6
<i>qPS7.2</i>	RM3325	9.6	杭州 Hangzhou	II	7.42	0.0101	12.9
				III	6.78	0.0137	12.0
				III	12.40	0.0018	29.9
				I	4.20	0.0487	6.6
<i>qPS7.3</i>	RM2	36.1	杭州 Hangzhou	II	4.41	0.0432	6.5
				III	6.35	0.0171	12.0
				IV	4.97	0.0335	9.2
				III	4.91	0.0333	7.3
<i>qPS7.4</i>	RM336	61.0	合肥 Hefei	IV	5.24	0.0284	8.4
				III	4.77	0.0370	8.7
				IV	8.93	0.0057	18.6
				I	7.32	0.0108	13.6
<i>qPS8.1</i>	RM3395	52.9	杭州 Hangzhou	III	9.69	0.0040	18.8
				IV	6.67	0.0149	13.2
				I	5.51	0.0249	8.9
				II	5.66	0.0227	8.6
<i>qPS8.2</i>	RM331	69.0	杭州 Hangzhou	III	8.57	0.0060	14.7
				IV	8.77	0.0055	15.5
				I	6.38	0.0212	21.2
				III	9.26	0.0058	23.7
<i>qPS8.3</i>	RM284	83.7	合肥 Hefei	III	4.23	0.0482	7.0
				I	4.23	0.0476	6.1
				I	13.50	0.0009	26.4
				II	7.65	0.0092	13.8
<i>qPS9.1</i>	RM219	11.7	杭州 Hangzhou	III	18.70	0.0001	32.6
				IV	5.09	0.0317	9.9
				I	18.20	0.0002	30.5
				II	12.50	0.0012	21.4
<i>qPS9.2</i>	RM219	11.7	杭州 Hangzhou	III	20.80	0.0001	32.3
				IV	7.34	0.0106	13.2
				I	41.20	0.0000	36.3
				II	10.90	0.0022	14.3
<i>qPS9.3</i>	RM219	11.7	杭州 Hangzhou	III	65.80	0.0000	38.0
				IV	8.70	0.0061	12.5
				I	32.20	0.0000	28.6
				II	37.30	0.0000	30.9
<i>qPS9.4</i>	RM219	11.7	杭州 Hangzhou	III	67.60	0.0000	35.9
				IV	17.10	0.0002	13.5
				I	6.84	0.0158	18.7
				II	11.20	0.0020	19.7
<i>qPS9.5</i>	RM219	11.7	杭州 Hangzhou	III	5.13	0.0342	19.6
				IV	6.71	0.0094	20.0
				I	4.71	0.0371	12.2
				II	4.71	0.0371	12.2

QTL 命名原则遵循 McCouch(2008)提出的原则,即全部用斜体,*q* 开头,后面是目标性状简称和染色体号,“.”后面是所在染色体的 QTL 序号。^a 是指 SSR 标记在遗传连锁图谱每条染色体上的相对位置,单位厘摩。^b 群体 I, II-32A / 导入系群体;群体 II,协青早 A / 导入系群体;群体 III,冈 46A / 导入系群体;群体 IV,金 23A / 导入系群体。表 3 同。

QTL nomination: italic characters and digits, initiated by *q*, followed by abbreviation of trait and chromosome number, then “.” followed by series number of QTL in the chromosome. ^a Denotes the related position (unit: cM) of SSR markers in the chromosome of genetic linkage map. ^b Pop I, II-32A / introgression lines; Pop II, XieqingzaoA / introgression lines; Pop III, Gang 46A /introgression lines; Pop IV, Jin 23A / introgression line. The same as Table 3.

2.2.2 感光性 QTL 互作分析

利用双向方差分析(two-way ANOVA, $P < 0.01$)对 4 个测交群体在两个环境(杭州和广州)下的感光性 QTL 进行互作分析,共检测到 31 对互作位点(表 3)。其中,在杭州检测到 20 对,在广州检测到 11 对,分布于除第 6、9、11 和 12 染色体外的 8 条染色体上,共涉及到 23 个标记,每对互作位点能解释的表型变异介于 5.23%~31.7%。标记 RM153、RM16、RM2、RM213、RM229、RM258、RM273、RM297、RM324、RM331、RM3325、

RM3395、RM53 和 RM5346 与两个或两个以上的位点存在上位性。其中 RM331 与 RM2、RM331 与 RM5346、RM3395 与 RM16、RM3325 与 RM53 共四对互作位点在杭州和广州两个环境多个群体中被同时检测到。特别是互作位点 RM331 与 RM2 在两个环境下分别解释表型变异 26.6%(杭州)和 25.5%(广州)。

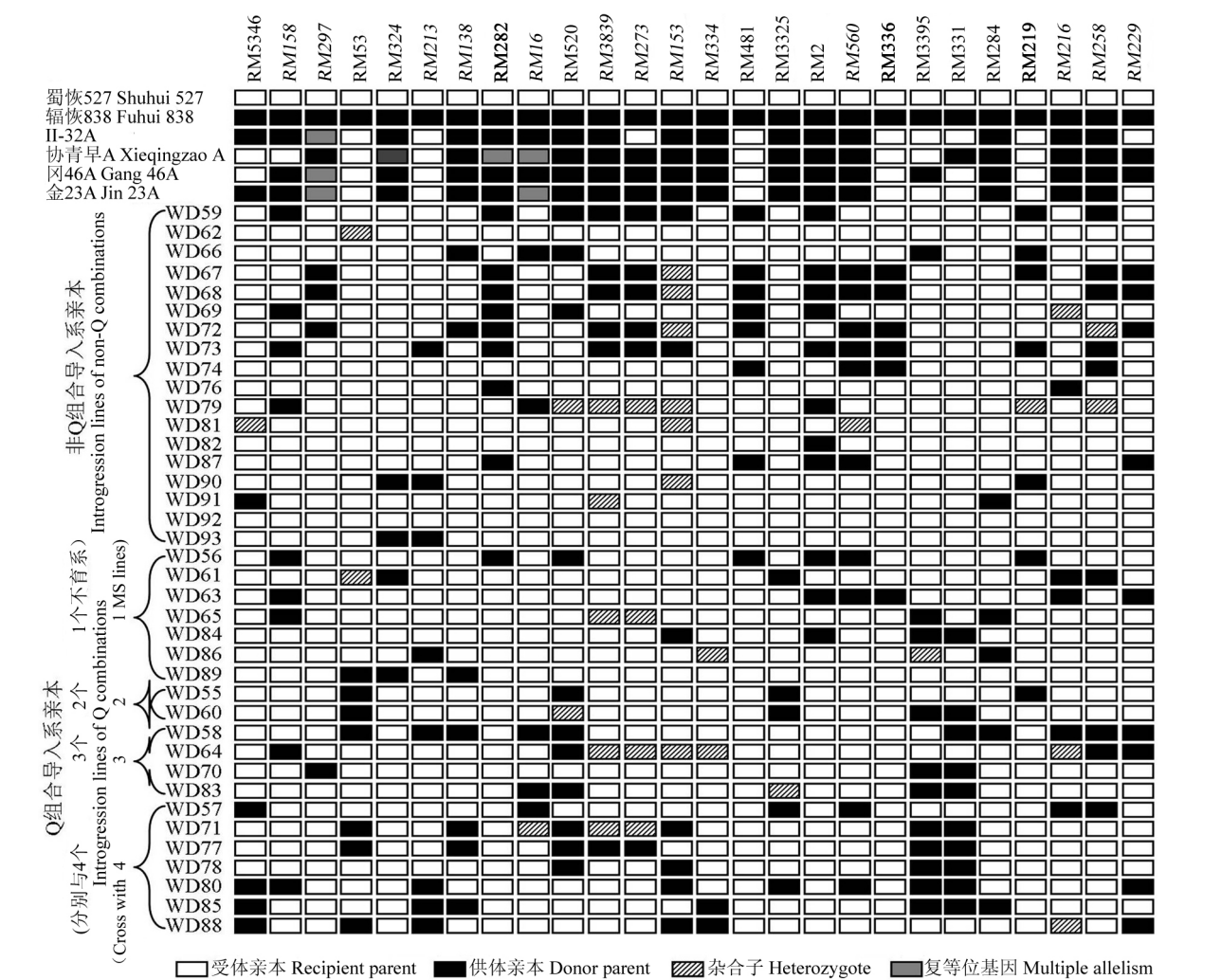
2.3 大青棵现象遗传基础剖析

基因型分析表明(图 1),大多数 Q 组合的导入系父本在位点 RM331 和 RM3395 上都不同程度导

表 3 在杭州和广州环境下 4 个测交群体检测到影响感光性的上位性 QTL

Table 3. Epistatic QTL affecting photosensitivity detected by two-way ANOVA in Hangzhou and Guangzhou.

地点	群体	位点 1	染色体	位置	位点 2	染色体	位置	F 值	概率	贡献率
Environment	Population	Locus 1	Chromosome	Position	Locus 2	Chromosome	Position	F-value	Probability	R ² /%
杭州 Hangzhou	I	RM297	1	155.9	RM229	11	77.8	7.84	0.0098	17.7
		RM53	2	32.7	RM3325	7	9.6	7.83	0.0093	18.9
		RM273	4	94.4	RM153	5	0.0	7.22	0.0085	16.7
		RM3325	7	9.6	RM560	7	54.2	7.03	0.0071	19.2
		RM2	7	36.1	RM331	8	69.0	9.76	0.0043	26.6
	II	RM158	1	78.4	RM520	3	191.6	10.20	0.0033	24.0
		RM53	2	32.7	RM3325	7	9.6	10.80	0.0026	23.9
		RM138	2	196.8	RM331	8	69.0	7.83	0.0086	14.2
		RM16	3	131.5	RM3395	8	52.9	10.00	0.0035	21.8
		RM16	3	131.5	RM258	10	70.8	9.60	0.0044	23.9
		RM3839	4	72.8	RM153	5	0.0	8.36	0.0083	25.8
		RM273	4	94.4	RM153	5	0.0	8.36	0.0083	25.8
	III	RM5346	1	45.4	RM331	8	69.0	10.10	0.0022	30.2
		RM53	2	32.7	RM3325	7	9.6	7.82	0.0094	17.4
		RM16	3	131.5	RM3395	8	52.9	8.44	0.0067	18.2
		RM334	5	141.8	RM331	8	69.0	7.28	0.0083	18.3
		RM216	10	17.6	RM258	10	70.8	8.70	0.0070	25.7
	IV	RM324	2	66.0	RM213	2	186.4	11.80	0.0021	31.7
		RM53	2	32.7	RM3325	7	9.6	9.74	0.0045	23.4
		RM53	2	32.7	RM331	8	69.0	8.86	0.0062	17.5
广州 Guangzhou	I	RM2	7	36.1	RM331	8	69.0	8.25	0.0075	25.5
	II	RM5346	1	45.4	RM331	8	69.0	10.50	0.0024	13.7
		RM16	3	131.5	RM3395	8	52.9	14.40	0.0034	17.4
		RM2	7	36.1	RM331	8	69.0	9.40	0.0042	5.5
		RM481	7	3.2	RM2	7	36.1	14.50	0.0053	15.1
		RM3395	8	52.9	RM284	8	83.7	15.30	0.0076	13.1
	III	RM297	1	155.9	RM229	11	77.8	7.90	0.0082	19.2
		RM5346	1	45.4	RM331	8	69.0	7.76	0.0089	6.6
		RM2	7	36.1	RM331	8	69.0	10.00	0.0030	6.8
	IV	RM53	2	32.7	RM3325	7	9.6	18.20	0.0002	10.9
		RM324	2	66.0	RM213	2	186.4	7.99	0.0086	5.2



在合肥,不抽穗的组合;非 Q 组合,在合肥环境中正常抽穗的组合。正体标记表示单向和双向方差共同检测到位点;斜体标记表示只在双向方差分析中检测到;粗体标记表示仅在单向方差分析中检测到。

Combination Q, Abnormal heading in Hefei; Non-Q combinations, Normal heading in Hefei. Normal markers represent common ones that were identified by one-way and two-way ANOVA. Italic and bold markers represent ones that were found only by one-way or two-way ANOVA, respectively.

图 1 与感光性相关位点在 Q 组合和非 Q 组合导入系亲本及不育系中的基因型分布
Fig. 1. Genotypic distribution of QTL associated with photosensitivity on male parents of the Q and non-Q combinations and male sterile lines.

入了供体辐恢 838 染色体片段,特别是与 4 个不育系都形成大青棵的亲本,这些导入系包括 WD57、WD71、WD77、WD78、WD80、WD85。结合感光性位点上位性分析(表 3),互作位点 RM331-RM2 在导入系 WD71、WD77、WD78、WD80 和 WD85 与 4 个不育系测交后代中均被检测到,均以显显互作形式存在(具有最大的表型值),即位点 RM331 和 RM2 在测交组合中都是以杂合基因型形式存在。另一对互作位点 RM331-RM5346 在导入系 WD57、WD71、WD77、WD78、WD80 和 WD85 与 4 个不育

系测交后代中以显显或显加互作方式存在;类似的互作位点还包括 RM3395-RM16 在导入系 WD77、WD78、WD80、WD85 和 WD88 与 4 个不育系测交后代以显加互作方式被检测到,位点 RM3325-RM53 在导入系 WD71、WD77、WD78、WD85 和 WD88 与 4 个不育系组合后代以显显方式被检测到。需要说明的是,这些测交群体中检测到的感光性互作位点在导入系群体中没有一对被检测到。这也从另一角度证明,为什么相同位点在导入系群体和测交群体具有不同的表型效应。由此推断,正是



图2 不同产量选择导入系与不育系配制的测交组合大青棵田间表现

Fig. 2. The performance of abnormal heading in hybrids of testing crosses between male sterile lines and yield selected introgressed lines.

这些显加、加显或显显互作位点的存在最终导致杂种大青棵现象的产生。

3 讨论

3.1 大青棵现象产生的原因

一般认为杂交水稻生产上的大青棵现象的产生有以下原因:1)杂交稻制种过程中隔离不严产生的籼粳串粉或在南方制种与感光性强的籼稻品种串粉^[2, 28-31];2)杂交稻亲本的混杂退化^[2, 28-29];3)感光性弱的早中籼品种串粉也会导致杂交稻出现大青棵^[28]。本研究中,受体亲本蜀恢527、供体亲本辐恢838及其导入系、4个不育系本身在3个生态环境下都表现为正常抽穗,但这些导入系与4大类型不育系测配时,部分测配组合在合肥种植产生了大青棵(图2)。这就说明,在杂交稻制种过程中,即使是表现非常相似的籼粳杂交后代导入系之间串粉也可能导致大青棵。换句话说,在恢复系或保持系选育和自交纯化过程中,当选株系尽管在表型上已经一致,但可能仍然存在内在遗传变异,进而也会在杂交种植中出现大青棵。这一类大青棵的遗传基础复杂又最不容易预防,也是目前缺乏对这类大青棵开展系统的遗传基础研究的原因之一。

水稻抽穗期的长短主要由品种的感光性、感温性和基本营养生长性决定的,而三者组合的多样性及强弱的不同使得抽穗期呈现多种多样的变化^[32]。一般情况下,诱导感光性品种形成幼穗的日长一般为12~14 h,日平均气温籼稻品种在23℃以上^[33]。本研究发现,非Q组合在合肥幼穗分化期在7月

初,此时合肥的日长和日平均温度分别为28.5℃和14.2 h;在杭州,幼穗分化期在7月中旬,此时杭州的日长和日平均温度分别为14 h和27.9℃;在广州,幼穗分化期在8月下旬,此时广州的日长和日平均温度分别为12.8 h和30.2℃(<http://www.weather121.com>)。因此,非Q组合在上述3个环境下均能完成幼穗分化,正常抽穗。值得注意的是,抽穗的迟早随日照时间的长短表现出一定的规律:日长越长,抽穗越晚。三个环境下,播种到抽穗的天数依次是合肥>杭州>广州(表1)。比较而言,Q组合在杭州抽穗期为9月底至10月中上旬,其幼穗分化平均日长为12.5 h,日平均温度为28.8℃;在广州,Q组合抽穗期在10月中上旬,幼穗分化在9月中上旬,此时平均日长为12.5 h,日平均温度为30.0℃。由此可以推断,Q组合需要平均日长短于12.5 h,才能完成幼穗分化,表现强感光性,导致Q组合在杭州和广州能正常抽穗但抽穗期延迟。在合肥,9月中下旬以后日长才会短于12.5 h,此时温度开始明显下降(23℃以下)。因此,由于这些Q组合的强感光性,在合肥的光照和温度条件下难以满足幼穗分化需要,最终表现为大青棵。

3.2 关于大青棵遗传基础剖析的进一步思考

从本研究中的组合表现来看,大青棵组合包括四种类型:1)导入系只与某一个不育系产生大青棵;2)导入系与某两个不育系产生大青棵;3)导入系与其中3个不育系产生大青棵;4)导入系与4个不育系全部产生大青棵。结合上位性和基因型分析,我们重点讨论了导入系与4个不育系全部产生大青棵的组合,结果发现大多数Q组合的导入系父本在位点RM331和RM3395上都不同程度导入了供体辐恢838染色体片段(图1)。值得注意的是,这两个位点在前期蜀恢527/辐恢838(蜀恢527背景导入系)群体定位中同时被发现与抽穗期相关^[24],但加性效应和解释表型变异率相对较小。鉴于受体亲本、供体亲本和所有的导入系亲本在合肥抽穗期都正常,受体亲本和供体亲本与4个不育系配制的组合抽穗期也正常,因此,这两个位点以及其他位点在与不育系配制的杂种中,与另一些位点产生了复杂的互作(包括显性互作、加显互作和显加互作),导致部分测交组合在杭州和广州抽穗期明显延迟,在合肥产生大青棵现象。这一假设在结果与分析中也得到了进一步的验证。更重要的是,这些测交群体中检测到的感光性互作位点在导入系群体中没有一对

被检测到。这也从另一角度解释,为什么相同位点在导入系群体和测交群体具有不同的表型效应。

为了更进一步解释大青棵产生的遗传基础,我们对部分与4个不育系同时产生大青棵的导入系再次与受体亲本蜀恢527回交,结合标记选择,构建蜀恢527背景的供体单片段代换系,目前这部分工作已经完成。然后,将这些代换系与不育系测配,进一步剖析这一现象。相信这一工作对于大青棵现象解释具有重要的意义。

谢辞:感谢中国水稻研究所章秀福研究员和广东农业科学院水稻研究所钟旭华研究员对本研究给予的大力帮助。

参考文献:

- [1] Cheng S H, Zhuang J Y, Fan Y Y, et al. Progress in research and development on hybrid rice: A super-domesticated in China. *Ann Bot*, 2007, 100(5): 959-966.
- [2] 李开平, 康艳琼. 大青棵在杂交稻田中的发生特点与防控对策. *云南农业科技*, 2010, 29(4): 52-54.
- [3] Taeko S, Yasunori N, Nozomi O, et al. Genetic interactions involves in the inhibition of heading by heading date QTL, *Hd2* in rice under long-day conditions. *Theor Appl Genet*, 2011, 123: 1133-1143.
- [4] Xue W, Xing Y, Weng X, et al. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet*, 2008, 40: 761-767.
- [5] Yan W H, Wang P, Chen H X, et al. A major QTL, *Ghd8*, plays pleiotropic roles in regulating grain productivity, plant height, and heading date in rice. *Mol Plant*, 2011, 4: 319-330.
- [6] Wei X, Xu J, Guo H, et al. *DTH8* suppresses flowering in rice, influencing plant height and yield potential simultaneously. *Plant Physiol*, 2010, 153: 1747-1758.
- [7] Yano M, Katayose Y, Ashikari M, et al. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell*, 2000, 12(12): 2473-2483.
- [8] Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, et al. *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis* *FT* gene, promotes transition to flowering down stream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43(10): 1096-1105.
- [9] Takahashi Y, Shomura A, Sasaki T, et al. *Hd6*, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the α subunit of protein kinase CK2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(14): 7922-7927.
- [10] Doi K, Izawa T, Fuse T, et al. *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls *FT*-like gene expression. *Genes Dev*, 2004, 18: 926-936.
- [11] Matsubara K, Yamanouchi U, Wang Z X, et al. *Ehd2*, a rice ortholog of the maize *INDETERMINATE1* gene, promotes flowering by up-regulating *Ehd1*. *Plant Physiol*, 2008, 148: 1425-1435.
- [12] Dai C, Xue H W. Rice *early flowering1*, a CKI, phosphorylates DELLA protein SLR1 to negatively regulate gibberellin signalling. *EMBO J*, 2010, 29: 1916-1927.
- [13] Komiya R, Ikegami A, Tamaki S, et al. *Hd3a* and *RFT1* are essential for flowering in rice. *Development*, 2008, 135: 767-774.
- [14] Izawa T, Oikawa T, Tokutomi S, et al. Phytochromes confer the photoperiodic control of flowering in rice (a short-day plant). *Plant J*, 2000, 22(5): 391-399.
- [15] Lim J, Moon Y H, An G, et al. Two rice MADS domain proteins interact with *OsMADS1*. *Plant Mol Biol*, 2000, 44: 513-527.
- [16] Kikuchi S, Satoh K, Nagata T, et al. Collection, mapping, and annotation of over 28, 000 cDNA clones from *japonica* rice. *Science*, 2003, 301 (5631): 376-379.
- [17] Shinozuka Y, Kojima S, Shomura A, et al. Isolation and characterization of rice MADS box gene homologues and their RFLP mapping. *DNA Res*, 1999, 6 (2): 123-129.
- [18] Lee S, Kim J, Han J J, et al. Functional analyses of the flowering time gene *OsMADS50*, the putative *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO1/AGAMOUS-LIKE20* (*SOCI/AGL20*) ortholog in rice. *Plant J*, 2004, 38(5): 754-764.
- [19] Kim S L, Lee S, Kim H J, et al. *OsMADS51* is a short-day flowering promoter that function upstream of *Ehd1*, *OsMADS14*, and *Hd3a*. *Plant Physiol*, 2007, 145: 1484-1494.
- [20] Ryu C H, Lee S, Cho L H, et al. *OsMADS50* and *OsMADS56* function antagonistically in regulating long day (LD) dependent flowering in rice. *Plant Cell Environ*, 2009, 32: 1412-1427.
- [21] Hayama R, Izawa T, Shimamoto K, et al. Isolation of rice genes possibly involved in the photoperiodic control of flowering by a fluorescent differential display method. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43(5): 494-504.
- [22] Li D, Yang C, Li X, et al. Functional characterization of rice *OsDof12*. *Planta*, 2009, 229: 1159-1169.
- [23] Kim S K, Yun C H, Lee J H, et al. *OsCO3*, a *CONSTANS LIKE* gene, controls flowering by negatively regulating the expression of *FT*-like gene under SD conditions in rice. *Planta*, 2008, 228: 355-365.
- [24] Zhang H J, Wang H, Qian Y, et al. Simultaneous improvement and genetic dissection of grain yield and its related traits in a backbone parent of hybrid rice (*Oryza sativa* L.) using se-

- lective introgression. *Mol Breeding*, 2013, 31: 181-194.
- [25] Moncada P, Martinez C P, Borrero J, et al. Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa*-*Oryza rufipogon* BC₂F₂ population evaluated in an upland environment. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 41-52.
- [26] SAS Institute Inc. SAS/STAT V9.2 User's Guide. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA, 2008: 2430-2611.
- [27] Thomson M J, Tai T H, McClung A M, et al. Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 479-493.
- [28] 陆作楣, 马崇云. 杂交稻的杂株与对策. 种子, 1987(27): 38, 39.
- [29] 白和盛, 王宝和. 杂交稻青棵的成因及对策. 种子世界, 1991(9): 35.
- [30] 水清. 稻田里的“大青棵”从哪里来的. 江苏农业科技报, 2008(1): 30.
- [31] 戴剑. 杂交稻亲本 SSR 指纹图谱构建及两系杂交稻和大青棵鉴定的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [32] 于振文. 作物栽培学各论. 北京: 中国农业出版社, 2003: 154-155.
- [33] 南京农学院. 作物栽培学. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 34-35.