

水稻雄性不育品系个体间叶绿体 DNA 的 RFLP 差异^{*}

张尚宏 伍俭儿

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

摘要 对水稻细胞质雄性不育品系 V41A 和 V20A 的一些个体及它们的保持系 V41B 和 V20B 的叶绿体 DNA (cpDNA) 用 *Eco*RI 与 *Ava*I 进行 RFLP 分析, 结果显示 V41A 和 V20A 都存在着 cpDNA 的个体间 RFLP 模式差异. 分析表明这种差异很可能是与水稻中叶绿体的双亲遗传现象有关.

关键词 水稻雄性不育品系, 叶绿体 DNA (cpDNA), RFLP 分析, 叶绿体双亲遗传
分类号 Q 75, Q 341

通过对稻属 (*Oryza* L.) 叶绿体 DNA (cpDNA) 的限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析, 已可以检测到种间、亚种间、品种或生态型之间 cpDNA 的多态性^[1-3], 但对同一品种 (生态型) 中个体之间的 cpDNA 差异, 却由于 RFLP 的分辨能力所限或由于多态性低而难以检测出来. 另一方面, 在水稻 (*O. sativa* L.) 的一些细胞质雄性不育品系中, cpDNA 似乎显示出比较特殊的性质 (如二型、嵌合现象等)^[1]. 深入分析这些现象, 对利用雄性不育系培育水稻优良品种是很有意义的. 因此, 本研究选用水稻雄性不育品系的材料, 以分析 cpDNA 在这些品系中的个体间差异.

1 材料和方法

材料 (种子) 均由法国 ORSTOM 研究中心 G. Second 博士提供: 水稻细胞质雄性不育品系 V41A 及其保持系 V41B; 细胞质雄性不育品系 V20A 及其保持系 V20B.

选取上述品系足够数量的种子, 单独发芽长成幼苗后, 把它们分别移栽到小花盆, 于温室内种植. 待长成较大的个体后 (1-2个月), 分别从 V41A 的 7 个个体、V41B 的 1 个个体、V20A 的 6 个个体、V20B 的 1 个个体各剪取 10 g 左右的健康绿叶并编号. 各个编号的材料分别于液氮中研磨至粗粉末状, 然后冷冻干燥备用 (贮存于 -20°C 下). 叶绿体 DNA 的提取采用非水相法^[4], 选用限制性内切酶 *Eco*RI 和 *Ava*I 作 RFLP 分析. 限制性内切酶酶解、琼脂凝胶电泳、紫外照相等按常规方法进行^[1].

2 结果与讨论

2.1 *Eco*RI 的酶切模式 用 *Eco*RI 对 V41A, V41B, V20A, V20B 的 cpDNA 酶解后电泳分离的结果见图 1a (由于 cpDNA 可用量所限, 对 V41A 只分析 6 个个体, 对 V20A 只分析

* 国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 1995-04-07 张尚宏, 男, 34岁, 副教授.

介个体). 与以往的结果^[1,3]比较, 可看出这些酶切模式在正常的水稻品系中也是存在的. 在 V41A 的 6 个个体之间, cpDNA 酶切模式的差异主要在 3.7~3.8 kb 处 (箭头所指). 这一范围内有两条片段, 经电泳分离, 或几乎紧靠在一起, 或稍分开, 从而可以把 V41A 的 6 个个体的 cpDNA 分为两类, 即 1, 3, 5 号个体为一类, 2, 4, 6 号个体为另一类. V41B 的 cpDNA 酶切模式与 1, 3, 5 号个体的相同. 在 V20A-V20B 这一组合中, V20A 的 5 个个体的 cpDNA 都是同一类型 (与 V41A 的 2, 4, 6 号个体的相同), V20B 的则是另一类 (与 V41A 的 1, 3, 5 号个体的相同). 因此, 在 *EcoRI* 的酶切模式中, V41A 显示出个体间的差异 (二型现象), 其中一些个体的酶切模式与保持系 V41B 的相同; V20A 则显示不出个体间的差异, 但与其保持系 V20B 的不同.

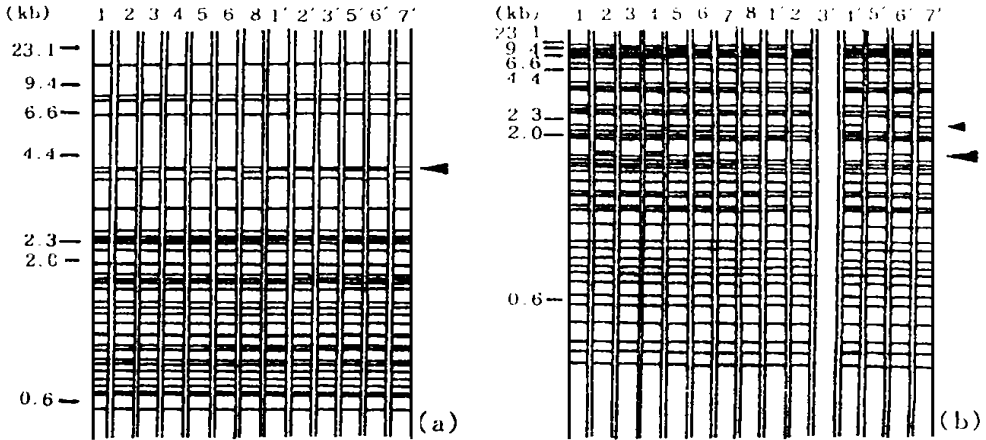


图 1 水稻雄性不育品系及其保持系叶绿体 DNA 的 *EcoRI* (a) 和 *AvaI* (b) 酶切模式.

箭头指处为个体间的差异

1~7 V41A 的 1~6 号个体; 8 V41B; 1'~6' V20A 的 1~6 号个体; 7' V20B

2.2 *Avd* 的酶切模式 *Avd* 的酶切模式比 *EcoRI* 的复杂 (图 1b). V41A 的 7 个个体的 cpDNA 在 1.8 kb 附近显示出个体间的差异 (大箭头指处): 1, 3, 5 号个体有 2 条带; 2, 4, 6 号个体有 2 条带, 其中之一与 1, 3, 5 号个体的位置一样, 另一条则在稍高 (分子量稍大) 的位置; 7 号个体也只有 2 条带, 但与 2, 4, 6 号个体位置稍高的那条带相同. 因此, V41A 个体的 *Avd* 酶切模式显示出三型现象. 至于 V41B 的情况, 则是与 1, 3, 5 号个体的相同. 在 V20A 的 6 个个体中, cpDNA 也显示出二型现象. V20A 的 1, 2, 4 号个体在 2.2 kb 处 (小箭头所指) 具有一条带 (3 号个体的 cpDNA 酶解不好), 而 5, 6 号个体则缺少此带. 另外, 在 1.8 kb 处 (大箭头所指), 5, 6 号个体有一条带, 而 1, 2, 4 号个体则没有. 至于 V20B 的 cpDNA 酶切模式, 则和 V20A 1, 2, 4 号个体的基本相同.

2.3 雄性不育品系 cpDNA 的多态性 与线粒体 DNA 不同, 水稻细胞质雄性不育品系 cpDNA 的 RFLP 模式与正常的品系比较, 并不显示出特殊的形式^[1]. 但与一般的正常品系不同的是, 在某些雄性不育品系 (如 V41A, V20A) 中显示出个体间的酶切模式差异. 综合上述 cpDNA 的 *EcoRI* 与 *AvaI* 酶切结果, V41A 起码有 2 种酶切模式, 其恢复系 V41B 的酶切模式与其中 1 种完全相同. V20A 也至少有 2 种酶切模式, 其恢复系 V20B 的酶切模式则只在 *AvaI* 的结果中显示出与其中 1 种基本相同. 另一方面, V41A, V20A 的任何一种酶切

模式并不是它们特有的,而是在其他的一些正常品系中也存在^[1,3].

水稻细胞质雄性不育品系 cpDNA 的这种多态性现象很可能是与叶绿体的遗传方式有关. 以往认为叶绿体一般都是母系遗传的,而近年来的有关研究表明,在很多种类的植物中,叶绿体是有一定程度的双亲遗传,即父本对子代(合子)的叶绿体也有一定的贡献^[5,6]. 从而, cpDNA 也在一定程度上是双亲遗传的. 在水稻中,已有迹象表明 cpDNA 的双亲遗传现象偶有存在. 正常水稻品系中,由于是通过自交繁殖,因此偶尔发生的 cpDNA 双亲遗传不会对后代造成影响. 但是在品种间杂交,特别是在雄性不育品系繁殖与利用雄性不育品系进行育种的过程中, cpDNA 的双亲遗传就会对后代的 cpDNA 多态性造成一定的影响. 如果父本(如雄性不育保持系)的 cpDNA 与雄性不育系的不同,那么由于叶绿体的双亲遗传,就有可能使合子细胞含有两种叶绿体(cpDNA). 由于随机漂移,这种具“混合型”叶绿体的细胞是不能稳定传代的. 在接连的细胞分裂后的子代细胞中,只能含有其中任何一种的叶绿体,而不是同时含有两种叶绿体. 因此,在个体发育中,就有可能形成只含其中任何一种叶绿体的个体(含另一种叶绿体的细胞很少,可以忽略),甚至可能形成嵌合体(含一种叶绿体的细胞与含另一种叶绿体的细胞都占了不可忽略的比例). 这种状况可以通过 cpDNA 的多态性形式表现出来并能解释一些细胞质雄性不育品系中 cpDNA 个体间差异的情况. 在 V41A-V41B 这一组合中, V41A 有 3 种酶切模式,其中 1 种就是与 V41B 相同的,这种 cpDNA 很可能就是由 V41B (作为父本)的叶绿体传入 V41A 并在某些个体中固定下来而存在的. V41A 的 cpDNA 的另外两种酶切模式的差异以及 V20A 的 cpDNA 的个体间差异则可能是在这些雄性不育品系的培育过程中,由于一系列的测交试验、转育等^[7],使得其他种类的 cpDNA 分子有可能进入它们祖先的细胞质中并固定下来,或者通过 cpDNA 分子间的部分交换而形成的.

因此,水稻雄性不育品系是研究叶绿体双亲遗传的合适材料,而对水稻叶绿体双亲遗传的深入研究将能为水稻育种开辟一条新的途径.

参 考 文 献

- 1 Dally A. Analyse cladistique de mutations de l'ADN chloroplastique et phylogé nie des riz (section *Eu-Oryza* du genre *Oryza*). Paris Edition de l'ORSTOM, 1988. 1-153
- 2 张尚宏. 五种野生稻叶绿体 DNA 多态性研究. 遗传, 1996, 18 (1): 15-18
- 3 张尚宏. 籼稻与粳稻品种间叶绿体 DNA 的 RFLP 差异. 中山大学学报 (自然科学版), 1996, 35 (3): 124-126
- 4 Zhang S H, Dally A M, Second G. Non-aqueous method for purification of cytoplasmic DNA from individual rice plants for RFLP analysis. Rice Genet News1, 1988, 5 154-156
- 5 Harris S A, Ingram R. Chloroplast DNA and biosystematics the effects of intraspecific diversity and plastid transmission. Taxon, 1991, 40 393-412
- 6 Sewell M M, Qiu Y L, Parks C R, et al. Genetic evidence for trace paternal transmission of plastids in *Liriodendron* and *Magnolia* (Magnoliaceae). Amer J Bot, 1993, 80 854-858
- 7 李宝健, 祁祖白. 水稻育种的遗传学原理. 广州: 广东科技出版社, 1985. 144-169

Restriction Fragment Analysis of Chloroplast DNA from Individuals of Cytoplasmic Male Sterile Lines of Rice

Zhang Shanghong* Wu Jianer

Abstract The chloroplast DNA from some individuals of the cytoplasmic male sterile lines V41A and V20A and also their respective maintainer lines V41B and V20B was analysed for the RFLP using *EcoRI* and *AvaI*. Results show that variations of RFLP patterns among individuals exist in both V41A and V20A. And this kind of variations would probably be due to the biparental transmission of chloroplasts in rice.

Keywords rice cytoplasmic male sterile line, chloroplast DNA (cpDNA), RFLP analysis, biparental transmission of chloroplast

* School of Life Science, Zhongshan University, Guangzhou 510275