

籼稻与粳稻品种间叶绿体 DNA 的 RFLP 差异*

张尚宏

(中山大学生物工程研究中心, 广州 510275)

摘要 用 *EcoRI* 与 *AvaI* 对栽培稻的 7 个籼稻品种和 4 个粳稻品种进行叶绿体 DNA(cpDNA) 的 RFLP 分析, 结果显示籼稻品种的 cpDNA 具有较高的多态性, 粳稻品种的则较为均一. 另外, 栽培稻的 cpDNA 并无严格的亚种特异性.

关键词 栽培稻, 叶绿体 DNA(cpDNA), RFLP 分析

分类号 Q 75, Q 341

普通栽培稻(*Oryza sativa* L.) 在世界上大部分地区都有种植, 并培育出数万个品种^[1]. 可分为两个主要的亚种, 即籼稻(*O. sativa* ssp. *indica* Kato) 和粳稻(*O. sativa* ssp. *japonica* Kato). 对栽培稻遗传结构的深入分析将能为充分利用其品种资源打下良好的基础.

RFLP(限制性片段长度多态性)分析是研究 DNA 多态性的有效手段, 对叶绿体 DNA(cpDNA) 的 RFLP 分析也广泛应用于植物遗传资源、种属间亲缘关系等方面的研究. 应用该项技术, 对栽培稻的一些材料已进行过核 DNA, cpDNA 的多态性分析^[2~4], 显示出栽培稻具有相当高的遗传多样性. 因此, 很有必要进一步对众多的栽培稻品种进行多方面的分析. 本研究就是选择一些未被研究过且有代表性的材料, 分析籼稻与粳稻这两个亚种的品种间 cpDNA 的 RFLP 差异.

1 材料和方法

共选籼稻品种 7 个, 名为 ES 79, BS 117, SS 404, BS 125, ES 44, BS 20, 2 LS 102; 粳稻品种 4 个, 名为 YS 252-1, YS 138-3, YS 45-1, YS 309. 材料均由法国 ORSTOM 研究中心 G. Second 博士提供. 种子在温室内单独种植, 长成足够大的个体后(1~2 个月), 分别从每种材料的植株剪取 10 g 左右的健康绿叶, 剪碎于研钵中, 加入液氮, 研磨至粗粉末状, 然后冷冻干燥, 在 -20℃ 下贮存于干燥器中备用. 叶绿体 DNA 的提取、纯化, 限制性内切酶酶解及电泳分析方法参照 Dally 等^[5]和 Zhang 等^[6]. 根据以往的一些结果, 本研究选用最能显示栽培稻 cpDNA 多态性的内切酶 *EcoRI* 和 *AvaI* 作 RFLP 分析.

2 结果

2.1 *EcoRI* 的酶切模式 11 个品种的 cpDNA 被 *EcoRI* 酶切后电泳分离的结果如图 1a. 最大的片段约为 13 kb, 最小的片段在 0.6 kb 以下. 品种间的 RFLP 差异主要在 3.7~3.8 kb

* 国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 1995-04-05 张尚宏, 男, 33 岁, 副教授

和 0.9 kb 两处的片段(箭头指处), 尤以 3.7~3.8 kb 处最为明显. 根据 3.7~3.8 kb 处片段位置的相互关系, 可以把 11 种材料的 RFLP 模式分为 3 个类型: 1, 2, 3, 6, 7, 9 号为第一类; 4(4'), 5, 8 号为第二类; 10, 11 号为第三类. 在 0.9 kb 处, 上述的第一类具有一条比第二、第三类的稍后的带(即分子量稍大). 第一类中除了两个品种(6, 7 号)外, 其余都是粳稻品种, 而第二、第三类全部都是籼稻品种.

2.2 *Ava*I 的酶切模式 酶切结果见图 1 b. 有两个材料(1, 3 号)的酶解不好, 其他材料的酶切模式能清楚地显示出来. 经 *Ava*I 酶切产生的片段要比 *Eco*RI 的多, 最大的片段约 11 kb, 最小片段则远小于 0.6 kb. 品种间的 RFLP 差异主要在 2.2 kb, 1.8 kb 和 0.9 kb 3 处的片段(箭头指处). 在 2.2 kb 处, 除了 8 号外, 其他材料都有一条带; 在 1.8 kb 处, 除 4, 8 号有一条带外, 其他材料都缺少此带; 而在 0.9 kb 处, 4, 5, 8 号材料的带比其他材料的稍后些. 因此, *Ava*I 的酶切模式可以把 11 个品种分为 4 类: 4, 5, 8 号各为一类(共 3 类), 都为籼稻品种, 其余的品种为一类. 在该类中, 既有籼稻, 又有粳稻.

综合 *Eco*RI 与 *Ava*I 的酶切结果, 可以看出所检测的籼稻品种 cpDNA 的多态性要高于粳稻品种的. 被检测的 4 个粳稻品种的 *Eco*RI 与 *Ava*I 酶切模式都显示不出差异, 而 7 个籼稻品种可分别显示出 3 种和 4 种类型.

3 讨论

RFLP 所能检测的 DNA 多态性主要是酶切位点的碱基突变、片段插入或缺失、片段倒位或易位等, 因此其分辨能力就与 DNA 中这些变异的多少有关. 栽培稻 cpDNA 的多态性虽然比不上核 DNA 的^[2], 但仍有相当多的 RFLP 模式^[4]. 通过 RFLP 分析, 可以检测出某些品种间的差异, 甚至是某些个体间的差异(作者, 另文发表). 在本研究所检测

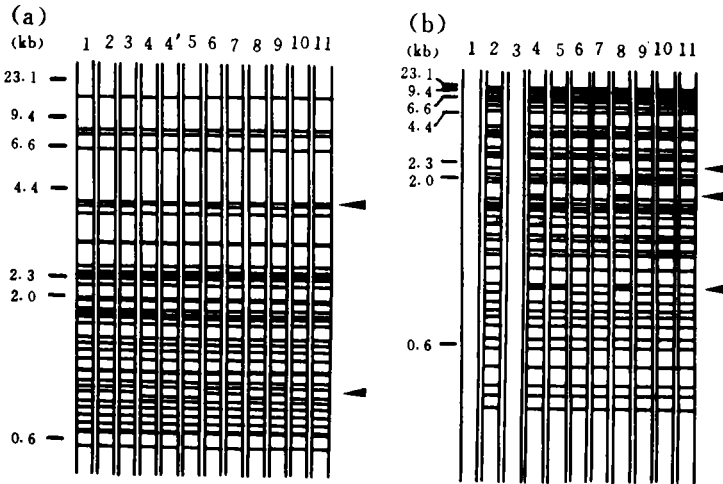


图 1 栽培稻品种叶绿体 DNA 的 *Eco*RI(a)和 *Ava*I(b)酶切模式. 箭头指处为品种间的差异

Fig. 1 *Eco*RI(a) and *Ava*I(b) restriction patterns of chloroplast DNA from 11 rice varieties

1. YS 252-1; 2. YS 138-3; 3. YS 4.5-1; 4. (4'). ES 79; 5. BS 117;
6. SS 404; 7. BS 125; 8. ES 44; 9. YS 309; 10. BS 20; 11. 2 LS 102

的十多种材料中, 籼稻品种的 cpDNA 有较高的多态性, 粳稻品种的则较为均一: 这与同工酶的研究结果^[7], 以及与从品种间相互杂交中看出的胞质差异^[8]是相符的, 从而说明籼稻有更高的遗传多样性, 也说明叶绿体基因组与核基因组的变异有一定的相关性. 另外, cpDNA 在栽培稻中并无严格的亚种特异性, 即粳稻品种的 RFLP 模式也是一些籼稻品种所具有的. 在同工酶分析中也有这种情况^[7]. 从而可以认为籼稻与粳稻的分化程度还不是很高.

本研究所用的 *EcoRI* 是一种能较好地反映出栽培稻 cpDNA 多态性的限制性内切酶^[5], *AvaI* 则是一种能对栽培稻 cpDNA 酶解产生较多片段的酶. 这两种内切酶配合使用, 就能基本上把栽培稻品种 cpDNA 的主要 RFLP 模式显示出来.

参 考 文 献

- 1 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. 15
- 2 Wang Z Y, Tanksley S D. Restriction fragment length polymorphism in *Oryza sativa* L. *Genome*, 1989, 32:1113~1118
- 3 郑康乐, 沈波, 于飞, 等. 水稻 DNA 限制性片段长度多态性的初步研究. *中国水稻科学*, 1990, 4(4):145~149
- 4 Dally A, Second G. Chloroplast DNA isolation from higher plants; an improved non-aqueous method. *Plant Mol Biol Rep*, 1989, 7(2):135~143
- 5 Dally A, Second G. Chloroplast DNA diversity in wild and cultivated species of rice (Genus *Oryza*, Section *Oryza*). Cladistic-mutation and genetic-distance analysis. *Theor Appl Genet*, 1990, 80:209~222
- 6 Zhang S H, Dally A, Second G. Non-aqueous method for purification of cytoplasmic DNA from individual rice plants for RFLP analysis. *Rice Genet Newsl*, 1988, 5:154~156
- 7 Glaszmann J C. Isozymes and classification of Asian rice varieties. *Theor Appl Genet*, 1987, 74:21~30
- 8 Pham J L, Zhang S H. Genetic diversity and intervarietal relationships in *Oryza sativa* in Africa. Second International Rice Genetics Symposium, IRRI, 1990, 15

Restriction Fragment Analysis of Chloroplast DNA from Varieties of *indica* and *japonica* Rice

Zhang Shanghong *

Abstract The chloroplast DNA (cpDNA) from 11 rice varieties was analysed for their RFLP using *EcoRI* and *AvaI*. More variations in cpDNA were found in *indica* rice than in *japonica* rice. Also, the results show that the restriction fragment patterns of rice cpDNA are not strictly subspecies-specific.

Keywords *Oryza sativa*, chloroplast DNA (cpDNA), RFLP analysis

* Biotechnology Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275