



## 研究报告

## Research Report

# 种植海拔差异对水稻雄配子体基因型的选择效应

雷伟<sup>1</sup>, 王昌江<sup>1</sup>, 普世皇<sup>2</sup>, 金艳<sup>3</sup>, 何婷婷<sup>1</sup>, 谭学林<sup>1,2</sup>, 洪汝科<sup>1,2</sup>, 金寿林<sup>1,2</sup>, 张忠林<sup>1,2</sup>, 谭亚玲<sup>1,2</sup>, 文建成<sup>1,2</sup>

1. 云南农业大学稻作研究所, 昆明, 650201
2. 云南省杂交粳稻工程技术研究中心, 昆明, 650201
3. 昆明市盘龙区人民政府双龙街道办事处, 昆明, 650201

✉ 通讯作者: [jcwen1117@163.com](mailto:jcwen1117@163.com); ✉ 作者

分子植物育种, 2013 年, 第 11 卷, 第 27 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0027

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

雷伟等, 2013, 种植海拔差异对水稻雄配子体基因型的选择效应, 分子植物育种(online), 11(27): 1197-1205 (doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0027)

引用格式(英文):

Lei et al., 2013, Effect of Male Gametophyte Genotype Selection in Rice Under Different Grown Altitude Condition, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding), 11(27): 1197-1205 (doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0027)

**摘要** 为探讨种植海拔差异对水稻雄配子体基因型的选择效应, 本研究选取耐寒粳稻老品种小麻谷与籼粳交品系南 34 杂交, 在 3 个不同海拔温度环境种植并产生雄配子体基因型选择群体。对选择群体的 11 个形态性状和 7 个分子位点分析, 检测到产生了明显的遗传偏分离。比较 3 个环境, 海拔 2 200 m 低温粳稻区产生的选择群体有 7 个性状的 Shannon-Weiner 多样性指数最小, 7 个分子位点发生遗传偏分离; 海拔 1 250 m 的温暖籼稻区, 有 1 个多样性指数最小, 6 个位点发生遗传偏分离; 但在海拔 1 860 m 温凉粳稻区产生的群体整体长势好, 有 5 个多样性指数最大, 5 个位点发生遗传偏分离。结果表明, 种植海拔差异对水稻雄配子体基因型具有选择效应, 其大小趋势是海拔 2 200 m > 海拔 1 250 m > 海拔 1 860 m。

**关键词** 水稻; 雄配子体; 海拔温度; 选择效应; 遗传偏分离

## Effect of Male Gametophyte Genotype Selection in Rice Under Different Grown Altitude Condition

Lei Wei<sup>1</sup>, Wang Changjiang<sup>1</sup>, Pu Shihuang<sup>2</sup>, Jin Yan<sup>3</sup>, He Tingting<sup>1</sup>, Tan Xuelin<sup>1,2</sup>, Hong Ruke<sup>1,2</sup>, Jin Shoulin<sup>1,2</sup>, Zhang Zhonglin<sup>1,2</sup>, Tan Yalin<sup>1,2</sup>, Wen Jiancheng<sup>1,2</sup>

1. Rice Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming, 650201, P.R. China
2. Yunnan Engineering Research Center for Japonica Hybrid Rice, Kunming, 650201, P.R. China
3. Shuanglong Sub-district Office of Kunming Panlong District, Kunming, 650201, P.R. China

✉ Corresponding author, [jcwen1117@163.com](mailto:jcwen1117@163.com); ✉ Authors

**Abstract** To understand the effect of male gametophyte selection caused by different grown altitude environment, the male gametophyte genotype selection populations generated by cross between one cold tolerance *japonica* landrace Xiaomagu and one subspecies progeny Nan34 under three different altitude condition. Eleven morphological characters and seven molecular loci of these selection populations grown at the environments were analyzed, and found significant genetic segregation distortions of these characters and loci. It was also screened difference of selection effect derived from differ grown condition. There were appeared the lowest Shannon-Weiner diversity for seven characters and significant genetic segregation distortion for seven loci at altitude 2 200 meters where grown cold tolerance *japonica* rice. At altitude 1 250 meters grown *indica* rice area had one characters and six loci, respectively. However, it was found the highest diversity for five characters and significant genetic segregation distortion for five loci at altitude 1 860 meters where grown *japonica* rice. Anyway, it could be occurred the selection among rice male gametophyte genotypes under different altitude environmental pressure, and the trend was 2200m > 1250m > 1860m.

**Keywords** Rice; Male gametophyte; Altitude and temperature; Selection effect; Genetic segregation distortion

### 研究背景

高等植物的生活史包括孢子体和配子体两个

收稿日期: 2013 年 06 月 28 日  
 接受日期: 2013 年 06 月 30 日  
 发表日期: 2013 年 09 月 09 日  
 基金项目: 本研究由国家自然科学基金项目(31060088, 31060058)和云南省教育厅重点基金项目(2011Z039)共同资助



连续交替的世代,共同维持种群的延续和发展。长期以来,配子体主要被当做传递遗传信息的载体而未受到足够重视,使配子体所具有的巨大潜在应用价值未得到开发和利用。研究表明,植物的配子体含有植物生长发育所需的整套遗传基因,是高度独立的器官,对不同基因型配子体的选择和淘汰,可以影响新一代孢子体基因组的表达及表型变化(Mulcahy, 1979)。特别是雄配子体(花粉)的发育涉及约 20 000 个基因的表达和调控(Twell, 1994),而且数量众多,暴露于环境中,极易受到环境影响产生变异。因此,配子体选择对于高等植物的进化和遗传结构的改变具有重要意义(何光华等, 1994)。利用配子体选择方法对配子体实施选择压力,进行定向选择,既可缩短育种年限,又可提高选择效率(Hormaza and Herrero, 1996)。应用这种方法已成功培育出具有抗盐性、抗低温、抗铝胁迫的作物,例如将大麦的配子体置于高盐碱的环境中进行选择,其后代更具抗盐性(Koval, 2000)。但是由于对配子体选择的研究起步较晚,还不成熟,目前在作物改良中主要采用孢子体选择,而忽略了配子体选择的作用。

海拔对植物群体的遗传变异具有明显的影响(Antonovics, 1971)。高丽等研究表明,随着海拔的升高(从 190 m 至 1 340 m),气候、温度、植被、土壤等也呈现明显的垂直变化,造成湖北野生春兰(*Cymbidium goeringii*) 11 个居群的遗传多样性具有较大的差异(高丽和杨波, 2006)。赵春芳等对在 1 800 m 至 3 400 m 海拔范围内的五个沙棘(*Hippophae* L.)种群的 RAPD 分析表明,5 个种群内遗传多样性随海拔升高呈低-高-低变异趋势,海拔差异明显影响种群间的遗传分化,相关分析也表明海拔差异与种群间的遗传距离有显著的正相关(赵春芳等, 2007)。海拔对水稻的遗传分化也有着非常明显的影响。云南稻种的籼粳分化就与温度、纬度和海拔等生态条件密切相关(曾亚文等, 2001)。在众多海拔因素中,温度是一个重要的因素,往往与海拔呈负相关,也是影响生物适应性的一个核心因素(Nevo, 2001)。有研究报告,植物有性生殖过程对温度的敏感性以及生殖器官的温度耐受性直接影响作物的产量(Charles and Harris, 1972; Herrero and Johnson, 1980),还影响植物开花的数量(Black et al., 1995)和花期(Lu et al., 2006)。特别是雄配子体发育阶段对温度胁迫最为敏感(邹长松和余迪求, 2010)。另外,花粉的活力和花

药开裂(张桂莲等, 2008)、花粉管的萌发速率(陈士强等, 2007)以及雄配子能否成功参与授精(Young and Stanton, 1990)都与环境温度有密切的关系。

目前,虽有大量关于环境对雄配子体选择的研究报道,但利用海拔温度差异对雄配子体选择开展配子体选择育种研究的报道较缺乏。云南水稻种植海拔跨度大,从海拔 100 m 低热河谷到 2 700 m 的高寒山区均有分布,巨大的种植海拔差异产生了适应从热带双季稻到冷凉稻作区的各种不同稻作生态类型,但这种海拔温度差异对水稻雄配子体基因型选择的影响还不清楚。本研究选取来自高海拔耐寒老品种与籼粳交品系杂交,在不同海拔种植杂合体雄配子体基因型选择群体,研究海拔导致的温度差异对水稻雄配子体基因型的选择效应,为开展在不同海拔温度条件下进行配子体选择育种的方法提供参考。

## 1 结果与分析

### 1.1 海拔差异导致选择群体的数量性状变化

分析了 3 个不同海拔温度条件下种植并产生的 NX 群体(合系 42A//南 34/小麻谷)和 XN 群体(合系 42A//小麻谷/南 34)的 8 个数量性状,即田间株高、穗长、剑叶长、穗茎长、总粒数、秕粒数、结实率、着粒密度,结果显示种植海拔温度差异对不同基因型雄配子体的选择,导致选择群体外观形态上具有显著差异(表 1)。正态性检验(W)发现,在海拔 2 200 m 的耐寒粳稻区,除了 NX 群体的株高性状和 XN 群体的总粒数和着粒密度性状未表现显著性外,其它性状都表现显著性,发生显著或极显著偏离正态分布。在海拔 1 860 m 粳稻区, NX 群体的 8 个性状都发生显著或极显著偏离正态分布; XN 群体在 5 个性状剑叶长、秕粒数、总粒数、结实率和着粒密度上发生显著或极显著偏离正态分布。在海拔 1 250 m 籼稻区, NX 群体的 8 个性状都发生显著或极显著偏离正态分布; XN 群体在 5 个性状株高、剑叶长、穗茎长、结实率和着粒密度上发生显著或极显著偏离正态分布。总之,3 个海拔点都检测到了 8 个形态性状不同程度受到雄配子体基因型选择的影响。

选择群体的 8 个性状平均值差异性分析也显示,海拔温度差异对雄配子体基因型具有选择作用(表 1)。在 NX 群体中,8 个性状的平均值在海拔 2 200 m 和 1 860 m 存在明显差异,都达到极显著水平;有 6 个性状剑叶长、穗长、秕粒数、总粒数、结实率和着粒密度在海拔 1 860 m 和 1 250 m 的差异达到极显著水平;有 5 个性状株高、剑叶长、穗茎长、秕粒数和结实率在海拔 2 200 m 和 1 250 m

的差异达到极显著水平。在 XN 群体中，除结实率性状外其它 7 个性状的平均值在海拔 2 200 m 和 1 860 m 的差异都达到极显著水平；除秕粒数性状外有 7 个性状在海拔 2 200 m 和 1 250 m 的差异达到显著水平；有 6 个性状株高、剑叶长、穗长、秕粒数、总粒数和着粒密度在海拔 1 860 m 和 1 250 m 的差异都达到极显著水平。总体趋势是，在温度较高的中低海拔(1 860 m 和 1 250 m)选择群体长势较强，表现株高、剑叶长、穗子大等特征，在温度较低的高海拔(2 200 m)选择群体长势较差，但结实率较高和着粒密度较大。

选择群体的形态性状多样性指数 (H) 同样显

示，海拔温度对雄配子体基因型具有选择作用(表 1)。在 NX 群体中，性状多样性指数的变化是：3 个性状秕粒数、总粒数和结实率表现随海拔升高而减小；1 个性状穗茎长表现随海拔升高而增大；4 个性状株高、剑叶长、穗长和着粒密度是海拔 1 860 m > 1 250 m > 2 200 m。在 XN 群体中，2 个性状结实率和秕粒数表现随海拔升高而减小；1 个性状穗茎长表现随海拔升高而增大；5 个性状株高、剑叶长、穗长、总粒数和着粒密度是海拔 1 860 m > 1 250 m > 2 200 m。总体来看，产生于高海拔 2 200 m 和中低海拔 1 250 m 的群体在穗部性状上表现较大多样性，产生于中高海拔 1 860 m 的群体生长势性状上表现较大的多样性。

表 1 不同海拔产生的水稻雄配子体基因型选择群体的形态性状变化

Table 1 Differences of morphological traits of rice male gametophyte genotype selecting population generated at different altitude

性状 Trait	海拔 AL	合系 42A//南 34/小麻谷 Hexi 42A//Nan 34/Xiaomagu					合系 42A//小麻谷/南 34 Hexi 42A//Xiaomagu/Nan 34				
		样本	平均值	标准差	正态性	多样性	样本	平均值	标准差	正态性	多样性
		N	Mean	SD	W	H	N	Mean	SD	W	H
株高	2 200	146	84.40B	11.76	0.97	2.68	137	79.92 C	12.13	0.92**	2.54
	1 860	158	98.67A	20.66	0.96**	2.89	172	106.68A	16.08	0.99	3.05
PH	1 250	121	98.14A	14.75	0.98*	2.88	115	98.28B	14.44	0.90**	2.72
	2 200	146	22.77B	5.62	0.95**	2.75	137	20.19C	7.09	0.91**	2.69
剑叶长	1 860	158	32.74A	8.79	0.98**	2.90	172	33.80B	7.65	0.98**	2.99
	FL	1 250	121	29.54A	4.44	0.97*	2.88	115	38.50A	5.97	0.91**
穗长	2 200	146	17.09B	2.66	0.96**	2.85	137	17.11C	2.29	0.98*	2.43
	1 860	158	21.92A	3.33	0.97**	2.98	172	21.53B	2.91	0.99	2.89
PL	1 250	121	18.76B	3.32	0.96**	2.93	115	24.66A	2.62	0.98	2.69
	2 200	146	3.11B	2.59	0.96**	2.94	137	2.14B	2.77	0.98*	2.99
穗茎长	1 860	158	5.36A	3.11	0.95**	2.85	172	6.04A	3.14	0.98	2.91
	PE	1 250	121	4.73A	2.61	0.97**	2.81	115	5.42A	2.69	0.94**
秕粒数	2 200	146	31.61C	26.07	0.86**	2.58	137	60.94B	57.38	0.86**	2.59
	1 860	158	66.26A	49.29	0.88**	2.82	172	80.49A	54.64	0.94**	2.79
UG	1 250	121	48.57B	25.66	0.94**	2.83	115	67.42B	27.06	0.98	3.03
	2 200	146	116.72B	41.65	0.98*	2.90	137	99.05C	47.73	0.99	2.87
总粒数	1 860	158	182.62A	58.69	0.98*	2.91	172	147.19A	46.53	0.97**	2.99
	TG	1 250	121	110.23B	41.74	0.97*	2.90	115	133.82B	32.87	0.99
结实率	2 200	146	72.06A	0.20	0.87**	2.67	137	47.04a	0.38	0.81**	2.18
	1 860	158	64.29B	0.23	0.89**	2.76	172	43.59ab	0.34	0.84**	2.44
SS	1 250	121	55.53C	0.17	0.97*	2.98	115	38.05b	0.19	0.95**	2.82
	2 200	146	8.50A	3.06	0.98*	2.78	137	7.73A	2.43	0.98	2.73
着粒密度	1 860	158	6.48B	2.20	0.96**	2.98	172	6.85B	2.00	0.98**	3.00
	TSD	1 250	121	5.90B	2.21	0.93**	2.81	115	4.05C	1.48	0.98*

注: AL: 选择群体产生的海拔; N: 样本数量; Mean: 平均值; SD: 标准差; W: Shapiro-Wilk 检验; H: Shannon-Weine 检验; PH: 株高; FL: 剑叶长; PL: 穗长; PE: 穗茎长; UG: 秕粒数; TG: 总粒数; SS: 结实率; TSD: 着粒密度; \*和\*\*分别表示显著达  $P \leq 0.05$  和  $P \leq 0.01$  水平; 表格中数值后面的相同字母, 并不表示 0.05 或 0.01 的差异水平, 而是每个性状在三个海拔群体中的比较

Note: AL: Population-generated altitude; N: Number of sample; Mean: Average value; SD: Standard deviation; W: Shapiro-Wilk; H: Shannon-Weiner; PH: Plant height; FL: Flag-leaf length; PL: Panicle length; PE: Panicle exertion; UG: Unfilled grains per panicle; TG: Total grains per panicle; SS: Seed-setting rate; TSD: Spikelet Density; \* and \*\* represent the significance levels of  $P \leq 0.05$  and  $P \leq 0.01$  respectively. Values within a column followed by the same letter are not significantly different at the 0.05 or 0.01 probability level, comparisons were made among three altitudes within each character



### 1.2 海拔差异导致选择群体的质量性状变化

对质量性状  $\chi^2$  检验结果显示, 不同海拔温度对选择群体的 3 个质量性状具有不同的选择作用(表 2)。NX 群体在 1 250 m 海拔, 3 个性状颖尖色、颖壳色和芒都产生了明显的遗传偏分离, 偏离孟德尔比率 1:1, 达显著及以上水平, 都偏向亲本小麻谷, 偏离程度分别为 71.1%、59.5%和 90.9%; 在海拔 1 860 m 和 2 200 m, 2 个性状颖壳色和芒都产生了明显的偏分离, 达显著以上水平, 其中颖壳色偏向南 34 (分别占 60.1%和 65.1%), 芒偏向小麻谷(分别占 94.5%和 98.7%)。XN 群体在 2 200m 海拔, 3 个性状产生了明显的偏分离, 颖尖色和颖壳色偏向南 34(占 63.5%和 64.2%), 芒偏向小麻谷(占 93.4%); 在 1 860 m 海拔有 2 个性状颖壳色和芒产生了明显的偏分离, 颖壳色偏向南 34 (占 62.2%), 芒偏向小麻谷(占 96.5%); 在 1 250 m 海拔仅性状芒产生了明显的偏分离, 偏向小麻谷(占 88.7%)。总体变化趋势是颖尖和颖壳具有颜色的单株比例随种植海拔降低而增大, 出现有芒单株的比例则是海拔 1 860 m 的中高海拔群体低于其它两个海拔群体。

### 1.3 海拔温度差异导致选择群体的分子位点发生偏分离

利用亲本南 34 和小麻谷间存在多态性的 7 个分子标记, 对产生于 3 个不同海拔的 NX 群体和 XN 群体进行分析。经  $\chi^2$  检验结果显示, 海拔温度对水稻雄配子体基因型选择, 导致多个分子位点表现遗

传偏分离(表 3)。产生于海拔 2 200 m 的选择群体共有 7 个分子位点发生遗传偏分离, 其中 NX 群体有 5 个, XN 群体有 2 个; 产生于海拔 1 860 m 的群体共有 5 个分子位点发生遗传偏分离, NX 群体有 4 个, XN 群体有 1 个; 产生于海拔 1 250 m 的群体共有 6 个分子位点发生遗传偏分离, NX 群体有 5 个, XN 群体有 1 个。

海拔差异对不同分子位点发生遗传偏分离的程度也具有不同影响。有 5 个位点 RMAN7、RM166、RM333、M45461 和 68923-10 在选择群体中的偏分离随海拔降低而减小或消失, 例如 68923-10 位点(图 1), 在海拔 2 200 m 产生的 NX 群体中偏向南 34 的基因频率高达 97.8%, 在 1 860 m 海拔为 92.7%, 在 1 200 m 海拔下降为 88.1%; RM166 位点, 在海拔 2 200 m 产生的 NX 群体和 XN 群体中偏向南 34 的基因频率分别为 76.9%和 66.3%, 在 1 860 m 海拔仅在 NX 群体中检测到偏分离, 且基因频率下降到 61.4%, 在 1 250 m 海拔 2 个群体中均没有偏分离发生。而另外 2 个位点 RM218 和 RM257 的变化趋势却相反, 偏分离随海拔增高而减小或消失。

另外, 发生偏分离的分子位点在染色体上分布不均, 受海拔温度的影响效应各异。位于第 2 染色体的 2 个分子位点发生 8 次遗传偏分离, 位于第 3 染色体的 RM218 位点仅在海拔 1 250 m 的 NX 群体中出现偏分离, 位于第 10 染色体的 3 个位点 RM333、M45461 和 68923-10 出现 9 次偏分离。

表 2 不同海拔产生的水稻雄配子体基因型选择群体的 3 个质量性状  $\chi^2$  检验

Table 2 Chi-square test of three qualitative traits of rice male gametophyte genotype selecting population generated at different altitude

群体	海拔(m)	样本	颖尖色			颖壳色			芒		
			白色(%)	紫色(%)	$\chi^2$ 值	白色(%)	紫色(%)	$\chi^2$ 值	无(%)	有(%)	$\chi^2$ 值
PP	AL (m)	N	White (%)	Purple (%)	$\chi^2$ value	White(%)	Purple (%)	$\chi^2$ value	No (%)	Yes (%)	$\chi^2$ value
群体	2 200	146	70(47.95)	76(52.05)	0.17	95(65.07)	51(34.93)	12.66**	138(94.52)	8(5.48)	113.98**
	1 860	158	74(46.84)	84(53.16)	0.51	95(60.13)	63(39.87)	6.08*	156(98.73)	2(1.27)	148.16**
NX	1 250	121	35(28.93)	86(71.07)	14.75**	49(40.50)	72(59.50)	4.37*	110(90.91)	11(9.09)	79.37**
	2 200	137	87(63.50)	50(36.50)	9.46**	88(64.23)	49(35.77)	10.54**	128(93.43)	9(6.57)	101.64**
群体	1 860	172	98(56.98)	74(43.02)	3.33	107(62.21)	65(37.79)	9.77**	166(96.51)	6(3.49)	147.98**
XN	1 250	115	50(43.48)	65(56.52)	0.31	61(53.04)	54(46.96)	0.87	102(88.70)	13(11.30)	67.34**

注: PP: 群体; TC: 颖尖色; GC: 谷壳色; TA: 顶芒; NX: 合系 42A//南 34/小麻谷 群体; XN: 合系 42A//小麻谷/南 34 群体;  $\chi^2_{0.05, 1}=3.84$ ,  $\chi^2_{0.01, 1}=6.63$

Note: PP: Population; TC: Glume tip color; GC: Glume color; TA: Tip awn; NX: Hexi 42A//Nan 34/Xiaomagu population; XN: Hexi 42A//Xiaomagu/Nan 34 population;  $\chi^2_{0.05, 1}=3.84$ ,  $\chi^2_{0.01, 1}=6.63$



表 3 不同海拔产生的水稻雄配子体基因型选择群体的分子位点  $\chi^2$  检验  
 Table 3 Chi-square test of molecular loci of rice male gametophyte genotype selecting population generated at different altitude

分子标记 Marker	染色体 Chr.	海拔 AL	NX 群体				XN 群体			
			NX population				XN population			
			样本 N	南 34 (%) Nan34 (%)	小麻谷 (%) Xiaomagu (%)	卡方值 $\chi^2$ value	样本 N	南 34 (%) Nan34 (%)	小麻谷 (%) Xiaomagu (%)	卡方值 $\chi^2$ value
RMAN7	2	2 200	143	85(59.44)	58(40.56)	4.72*	83	68(81.93)	15(18.07)	32.58**
		1 860	127	75(59.06)	52(40.94)	3.81	149	93(62.42)	56(37.58)	8.70**
		1 250	109	63(57.80)	46(42.20)	2.35	89	44(49.44)	45(50.56)	1.12
RM166	2	2 200	121	93(76.86)	28(23.14)	34.92**	104	69(66.35)	35(33.65)	10.47**
		1 860	114	70(61.40)	44(38.60)	5.48*	149	84(56.38)	65(43.62)	2.17
		1 250	109	48(44.04)	61(55.96)	1.32	112	48(42.86)	64(57.14)	2.01
RM218	3	2 200	116	56(48.28)	60(51.72)	0.08	99	51(51.52)	48(48.48)	0.04
		1 860	107	61(57.01)	46(42.99)	1.83	166	84(50.60)	82(49.40)	0.01
		1 250	105	67(63.81)	38(36.19)	7.47**	101	52(51.49)	49(48.51)	0.04
RM257	9	2 200	124	57(45.97)	67(54.03)	0.65	107	51(47.66)	56(52.34)	0.15
		1 860	126	67(53.17)	59(46.83)	0.39	163	91(55.83)	72(44.17)	1.98
		1 250	109	77(70.64)	32(29.36)	17.76**	106	65(61.32)	41(38.68)	4.57*
RM333	10	2 200	134	108(80.60)	26(19.40)	48.96**	105	54(51.43)	51(48.57)	0.04
		1 860	129	97(75.19)	32(24.81)	31.75**	170	83(48.82)	87(51.18)	0.05
		1 250	101	73(72.28)	28(27.72)	19.17**	106	58(54.72)	48(45.28)	0.76
M45461	10	2 200	137	134(97.81)	3(2.19)	123.36**	91	47(51.65)	44(48.35)	0.04
		1 860	116	108(93.10)	8(6.90)	84.49**	147	76(51.70)	71(48.30)	0.11
		1 250	119	106(89.08)	13(10.92)	71.13**	117	63(53.85)	54(46.15)	0.55
68923-10	10	2 200	134	131(97.76)	3(2.24)	120.37**	105	55(52.38)	50(47.62)	0.15
		1 860	110	102(92.73)	8(7.27)	78.63**	141	67(47.52)	74(52.48)	0.26
		1 250	101	89(88.12)	12(11.88)	57.19**	98	52(53.06)	46(46.94)	0.26

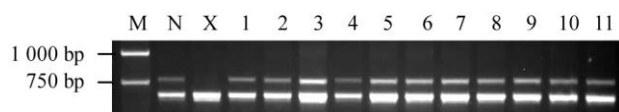


图 1 标记 68923-10 在 NX 群体中的遗传分离  
 注: 1~11: NX 群体中的单株; X: 小麻谷; N: 南 34; M: DNA marker

Figure 1 The genetic segregation of marker 68923-10 in NX population

Note: 1~11: Plants in NX population; X: Xiaomagu; N: Nan34; M: DNA marker

## 2 讨论

利用云南独特的立体自然气候, 将实验材料种植于直线距离  $3.0 \times 10^5$  m 以内、海拔落差达 950 m、最大年均温差达  $5.4^\circ\text{C}$  以上的 3 个不同海拔实验点, 使海拔温度差异成为影响雄配子体选择的主要环境因素。此外, 为便于对雄配子体基因型的检测, 本研究利用粳籼交后代品系与来自高海拔的地方

粳稻老品种杂交获得杂合体  $F_1$ , 这样从设计上排除了用粳籼杂交由于不亲和性带来的杂种  $F_1$  没有正常花粉的影响。然后, 用种植在不同海拔的杂合体  $F_1$  花粉(雄配子体基因型分离)为供体给育性稳定的细胞质雄性不育系(雌配子体基因型一致)授粉, 既完全避免了假杂种的产生, 又可大量方便地产生反映雄配子体基因型选择的群体, 通过检测选择群体的基因型方便地推测雄配子体的基因型。

海拔温度对雄配子体基因型选择群体的形态性状具有不同程度的选择作用。对 3 个不同海拔背景产生的选择群体的形态性状分析发现, 随产生海拔由高到低, 选择群体间的性状差异却逐渐减少, 如海拔 2 200 m 耐寒粳稻区与海拔 1 860 m 粳稻区和 1 250 m 籼稻区比较, 在选择群体的 8 个数量性状中分别有 7 个和 5 个性状存在显著差异; 在海拔 1 860 m



和 1 250 m 仅有 3 个性状存在显著差异。这说明高海拔低温环境较低海拔温暖环境具有较大的选择作用。有研究也发现产生于高海拔的群体孕穗期耐冷性高于中低海拔产生的群体(王石华, 2011)。

海拔温度差异对雄配子体基因型具有不同程度选择压力。从性状多样性指数看, 8 个性状中有 7 个具有一致的趋势, 即海拔 2 200 m < 1 250 m < 1 860 m。这表明高海拔低温环境的选择压力最大, 中高海拔温凉粳稻区的选择压力最小, 低海拔温暖粳稻区的选择压力介于两者之间。这一结论在选择群体的分子位点发生遗传偏分离的数量上和程度上也得到证实。在发生遗传偏分离的分子位点数量上, 产生于海拔 2 200 m 的选择群体有 7 个, 产生于海拔 1 860 m 的有 5 个, 产生于海拔 1 250 m 的有 6 个; 在发生遗传偏分离的程度上, 有 5 个位点在选择群体中偏分离随海拔降低而减小或消失, 有 2 个位点的变化趋势却相反。有研究也表明对雄配子体施以异常低温或高温压力进行选择和淘汰, 其后代孢子体表现型的耐性可明显得到提高(Clegg et al., 1978)。

本研究表明高海拔低温环境和低海拔高温环境对雄配子体基因型的选择压力大。那么利用云南具有的自然立体气候, 在环境差异较大的条件下更便于开展雄配子体选择育种, 提高选择效率、缩短育种周期。事实上, 早在上世纪 70 年代, 就有采用雄配子体选择育种的方法来提高理想性状基因型的机率(Hormaza and Herrero, 1996)。在离体和非离体条件下对雄配子体施加选择压力, 产生具有抗性基因型的花粉, 用之授粉培育出抗性强的优良品种(Sari-Gorla et al., 1994; Ravikumar and Patil, 2004)。在改良鹰嘴豆的耐冷性时, 通过雄配子选择育种的方法选育出耐冷性极强的株系(Clarke et al., 2004)。

表 4 不同海拔点的环境气候因子

Table 4 Environmental factors at different altitude

种植点 Site	海拔(m) AL (m)	经度 LOT	纬度 LAT	年均温(°C) AAT (°C)	孕穗抽穗期均温(°C) ATBH (°C)	稻作区 Rice Region
团结乡 TJ	2 200	25°05'	102°36'	13.2	16.5	耐寒粳稻区 Cold tolerance japonica rice
昆明 KM	1 860	25°01'	102°41'	14.7	19.5	粳稻区 Japonica rice
蒙自 MZ	1 250	23°23'	103°23'	18.6	23.6	籼稻区 Indica rice

注: TJ: 团结乡; KM: 昆明; MZ: 蒙自; AL: 海拔; LOG: 经度; LAT: 纬度; AAT: 年均温; ATBH: 孕穗抽穗期平均温度

Note: TJ: Tuanjixiang; KM: Kunming; MZ: Mengzi; AL: Altitude; LOT: Longitude; LAT: Latitude; AAT: The annual average temperature; ATBH: The average temperature during at booting and heading stages

应用这一方法也成功地培育出耐铜的酸浆(Searcy, 1993)和耐锌的小麦(Searcy and Mulcahy, 1985)。

### 3 材料与方法

#### 3.1 实验材料

材料包括 3 个粳稻品种(系)及其作为亲本构建的 6 个杂合体雄配子体基因型选择群体。其中 3 个粳稻品种(系)为耐寒粳稻地方老品种永宁小麻谷(来自海拔 2 650 m 的云南省永宁乡), 籼粳交后代品系南 34(滇 1 型杂交粳稻的优良恢复系)和滇 1 型细胞质雄性不育系合系 42A。

雄配子体基因型选择群体的构建: 2008 年在海南冬季种植南 34 和小麻谷, 通过正反杂交产生基因型杂合的 2 个杂种 F<sub>1</sub>, 即南 34/小麻谷和小麻谷/南 34。2009 年, 在云南 3 个海拔相差 950 m、孕穗抽穗期平均温度相差 7°C 的不同稻作生态点团结乡、昆明和蒙自(表 4), 分别种植 2 个杂种 F<sub>1</sub> 和不育系合系 42A, 开花期以杂种 F<sub>1</sub> 为父本分别授粉给不育系合系 42A, 各点产生 2 个杂合体雄配子体基因型选择群体(以下简称“选择群体”), 即合系 42A//南 34/小麻谷(以下简称“NX 群体”)、合系 42A//小麻谷/南 34(以下简称“XN 群体”), 在 3 个不同海拔点共计产生 6 个选择群体。2010 年, 各海拔点所产生的选择群体继续种于当地。

#### 3.2 试验种植

在 3 个不同海拔点试验种植情况是, 海拔 1 250 m 的籼稻区蒙自于 3 月 28 日播种, 5 月 8 日移栽, 7-8 月孕穗抽穗。海拔 1 860 m 的粳稻区昆明于 3 月 15 日播种, 5 月 2 日移栽, 7-8 月孕穗抽穗。海拔 2 200 m 的耐寒粳稻区团结乡于 3 月 11 日播种, 5 月 4 日移栽, 8 月孕穗抽穗。采用单本栽插, 各亲本种植 60 株, 各选择群体种植 200 株以上。试验水肥管理与当地大田生产相同。

### 3.3 形态性状考察

亲本小麻谷和南 34 在 11 个形态性状上具有明显差异(表 5), 所以本试验调查各选择群体单株的这 11 个形态性状, 包括 8 个数量性状, 如田间株高(cm)、剑叶长(cm)、穗长(cm)、穗茎长(cm)、总粒数(粒/穗)、秕粒数(粒/穗)、结实率(%)、着粒密度(穗总粒数/穗长), 和 3 个质量性状, 如颖尖颜色、颖壳颜色和芒。质量性状调查群体单株有或无, 无标记为 1, 有标记为 2。

### 3.4 PCR 标记分析

采用 CTAB 法提取叶片总 DNA。用来自水稻 12 条染色体上的 200 对 SSR 引物分析亲本, 筛选出分布于 4 条染色体的 7 对引物在亲本间具有多态性。利用这 7 对引物对来自不同海拔的选择群体进行分析。PCR 反应体系为 13  $\mu$ L, 其中 2 $\times$ power Tap PCR MasterMix 6.5  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 4.9  $\mu$ L, 前后引物各

0.3  $\mu$ L (10 pmol/mL), DNA 模板 1  $\mu$ L (20~40 ng)。扩增程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30s, 53 $^{\circ}$ C~61 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s~1 min, 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 产物在 2%~2.5%的琼脂糖凝胶上电泳, 紫外灯下观察并照相。

### 3.5 数据统计分析

各选择群体形态性状的差异性, 正态性检验(Shapiro-Wilk), 卡平方( $\chi^2$ )检验, Shannon-Weiner 形态性状多样性指数( $H_s = -\sum P_i \ln P_i$ ), 等均采用 DPS 分析软件统计。

分子位点统计, 将各选择群体单株的带型按照亲本归类, 与亲本小麻谷带型相同的记为 0, 与亲本南 34 带型相同的记为 1。按照孟德尔分离的理论比例(1:1)进行卡方检验, 推断被检测分子位点是否发生遗传偏分离。

表 5 两个亲本 11 个形态性状的比较

Table 5 Comparison of eleven morphological traits between two parents

性状 Trait	小麻谷 Xiaomagu	南 34 Nan34	T 测验 T test	
	平均数 $\pm$ 标准差 Mean $\pm$ SD	平均数 $\pm$ 标准差 Mean $\pm$ SD	T 检验值 T-value	
			显著性 p	
株高	156.46 $\pm$ 6.6	83.43 $\pm$ 4.7	41.0	0.00
PH				
剑叶长	39.06 $\pm$ 6.1	29.26 $\pm$ 3.7	6.2	0.00
FL				
穗长	26.49 $\pm$ 2.7	22.88 $\pm$ 2.7	4.2	0.00
PL				
穗茎长	12.54 $\pm$ 3.4	-1.75 $\pm$ 1.1	18.0	0.00
PE				
秕粒数	27.30 $\pm$ 11.8	78.76 $\pm$ 18.9	10.4	0.00
UG				
总粒数	147.70 $\pm$ 19.1	189.71 $\pm$ 41.1	4.2	0.00
TG				
结实率	81.58 $\pm$ 7.3	61.34 $\pm$ 9.1	7.8	0.00
SS				
着粒密度	5.63 $\pm$ 0.9	9.08 $\pm$ 1.6	8.4	0.00
TSD				
颖尖色	紫色	白色		
TC	Purple	White		
谷壳色	紫色	白色		
GC	Purple	White		
顶芒	无	有		
TA	No	Yes		



## 作者贡献

雷伟和文建成是本研究的实验设计和实验研究的执行人;雷伟完成数据分析,论文初稿的写作;金艳、何婷婷参与实验结果分析;王昌江、普世皇、洪汝科、金寿林、张忠林、和谭亚玲参与大田试验;谭学林参与项目的构思和实验设计;文建成是项目的负责人,指导实验设计,数据统计,论文写作与修改。全体作者都同意最终的文本。

## 致谢

本研究由国家自然科学基金项目(31060088; 31060058)和云南省教育厅重点基金项目(2011Z039)共同资助。

## 参考文献

- Antonovics J., 1971, The effects of a heterogeneous environment on the genetics of natural populations, *American Scientist*, 59(5): 593-599  
PMid:5004086
- Black S., Eriksson G., Gustafsson L., and Lundkvist L., 1995, Ecological genetics of the rare species *Victoria pisciformis*: quantitative genetic-variation and temperature response in biomass and fecundity, *Acta Oecologica*, 16(3): 261-275
- Charles W.B., and Harris R.E., 1972, Tomato fruit-set at high and low-temperatures, *Canadian Journal of Plant Science*, 52(4): 497-506  
<http://dx.doi.org/10.4141/cjps72-080>
- Chen S.Q., Wang Z., Liu M.X., and Xie Z.W., 2007, Germination of pollen and growth dynamic of pollen tube in rice, *Zhonggou Shuidao Kexue (Chinese Journal of Rice Science)*, 21(5): 513-517 (陈士强, 王忠, 刘满希, 谢兆伟, 2007, 水稻花粉萌发及花粉管生长动态, *中国水稻科学*, 21(5): 513-517)
- Clarke H.J., Khan T.N., and Siddique K.H.M., 2004, Pollen selection for chilling tolerance at hybridization leads to improved chickpea cultivars, *Euphytica*, 139(1): 65-74  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10681-004-2466-y>
- Clegg M.T., Kahler A.L., Allard R.W., 1978, Estimation of life cycle components of selection in an experimental plant population, *Genetics*, 89(4): 765-792  
PMid:17248851 PMCid:PMC1213867
- Gao L., and Yang B., 2006, Genetic diversity of wild *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae) populations from Hubei based on ISSR analysis, *Shengwu Duoyangxing (Biodiversity Science)*, 14(3): 250-257 (高丽, 杨波, 2006, 湖北野生春兰资源遗传多样性的 ISSR 分析, *生物多样性*, 14(3): 250-257)
- He G.H., Zheng J.K., Yin G.D., and Yang Z.L., 1994, Game fertility of F<sub>1</sub> between Indica and Japonica, *Zhonggou Shuidao Kexue (Chinese Journal of Rice Science)*, 8(3): 177-180 (何光华, 郑家奎, 阴国大, 杨正林, 1994, 水稻  
1204  
亚种间杂种配子育性的研究, *中国水稻科学*, 8(3): 177-180)
- Herrero M.P., and Johnson R.R., 1980, High-temperature stress and pollen viability of maize, *Crop Science*, 20(6): 796-800  
<http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1980.0011183X002000060030x>
- Hormaza J.I., and Herrero M., 1996, Male gametophytic selection as a plant breeding tool, *Scientia Horticulturae*, 65(4): 321-333  
[http://dx.doi.org/10.1016/0304-4238\(96\)00899-0](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4238(96)00899-0)
- Koval V.S., 2000, Male and female gametophyte selection of barley for salt tolerance, *Hereditas*, 132(1): 1-5  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5223.2000.00001.x>  
PMid:10857253
- Lu P.L., Yu Q., Liu J.D., and He Q.T., 2006, Effects of changes in spring temperature on flowering dates of woody plants across China, *Botanical Studies*, 47: 153-161
- Mulcahy D.L., 1979, The rise of the angiosperms: a geneecological factor, *Science*, 206(4414): 20-23  
<http://dx.doi.org/10.1126/science.206.4414.20>  
PMid:17812428
- Nevo E., 2001, Evolution of genome-phenome diversity under environmental stress, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 98(11): 6233-6240  
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.101109298>  
PMid:11371642 PMCid:PMC33451
- Ravikumar P.L., and Patil B.S., 2004, Effect of gamete selection on segregation of wilt susceptibility-linked DNA marker in chickpea, *Current Science*, 86(5): 642-643
- Sari-Gorla M., Ferrario S., Frascaroli E., Frova C., Landi P., and Villa M., 1994, Sporophytic response to pollen selection for alachlor tolerance in maize, *Theor. Appl. Genet.*, 88(6-7): 812-817  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF01253990>
- Searcy K.B., 1993, Selection for tolerance to copper during pollen formation in *Mimulus guttatus* Fischer ex DC, *Theor. Appl. Genet.*, 87(1-2): 250-256  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00223773>
- Searcy K.B., and Mulcahy D.L., 1985, The parallel expression of metal tolerance in pollen and sporophytes of *Silene dioica* (L.) Clairv., *S. alba* (Mill.) Krause and *Mimulus guttatus* DC, *Theor. Appl. Genet.*, 69(5-6): 597-602  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00251110>
- Twell D., 1994, The diversity and regulation of gene expression in the pathway of male gametophyte development, In: Scott R.J., and Stead A.D. (eds.), *Molecular and Cellular Aspects of Plant Reproduction*, Cambridge University



- Press, London, UK, pp.83-135  
<http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511752339.007>
- Wang S.H., 2011, Influence of abnormal environmental temperature on rice gametophytic fertility, *Guangxi Nongye Xuebao (Journal of Guangxi Agriculture)*, 26(1): 21-24 (王石华, 2011, 异常环境温度对水稻配子体育性的影响, *广西农学报*, 26(1): 21-24)
- Young H.J., and Stanton M.L., 1990, Influence of environmental quality on pollen competitive ability in wild radish, *Science*, 248(4963): 1631-1633  
<http://dx.doi.org/10.1126/science.248.4963.1631>  
PMid:17746503
- Zeng Y.W., Li Z.C., Yang Z.Y., Shen S.Q., Zhang H.L., and Wang X.K., 2001, Geographical distribution and cline classification of *Indica/Japonica* subspecies of Yunnan local rice resources, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 27(1): 15-20 (曾亚文, 李自超, 杨忠义, 申时全, 张洪亮, 王象坤, 2001, 云南地方稻种籼粳亚种的生态群分类及其地理分布, *作物学报*, 27(1): 15-20)
- Zhang G.L., Chen L.Y., Zhang S.T., Liu G.H., Tang W.B., Li M.H., Lei D.Y., and Chen X.B., 2008, Effects of high temperature stress on pollen characters and anther microstructure of rice, *Shengtai Xuebao (Acta Ecologica Sinica)*, 28(3): 1089-1097 (张桂莲, 陈立云, 张顺堂, 刘国华, 唐文邦, 李梅华, 雷东阳, 陈信波, 2008, 高温胁迫对水稻花粉粒性状及花药显微结构的影响, *生态学报*, 28(3): 1089-1097)
- Zhao C.F., Chen G.J., Wang Y.H., Helena K., and Li C.Y., 2007, Genetic variation of *Hippophae rhamnoides* populations at different altitudes in the wolong nature reserve based on RAPDs, *Yingyong Yu Huanjing Shengwu Xuebao (Chinese Journal of Applied & Environmental Biology)*, 13(6): 753-758 (赵春芳, 陈国娟, 王芋华, Helena K., 李春阳, 2007, 利用 RAPD 标记分析卧龙自然保护区不同海拔沙棘种群的遗传变异, *应用与环境生物学报*, 13(6): 753-758)
- Zou C.S., and Yu D.Q., 2010, Temperature stress on plant sexual reproduction, *Yunnan Zhiwu Yanjiu (Acta Botanica Yunnanica)*, 32(6): 508-518 (邹长松, 余迪求, 2010, 植物有性生殖对温度胁迫反应的研究进展, *云南植物研究*, 32(6): 508-518)