

# 作物杂种优势的分子生物学研究进展

王得元 殷秋妙 李颖 郑锦荣 黄爱兴

(广东省农业科学院蔬菜研究所, 广州五山 510640)

**摘要** 通过对已有资料的分析,从基因表达质和量的差异、基因结构的变化、遗传振动合成学说、亲本异质性与杂种优势关系及与杂种优势有关的 QTL 等方面,概述了应用分子生物学技术研究作物杂种优势现象的进展,并对今后的研究方向提出了建议。

**关键词** 杂种优势,分子机理,分子预测

**分类号** Q321.6

杂种优势是生物界的普遍现象,杂种优势育种在各类作物育种中具有重要地位,但杂种优势的遗传机理及预测方法这一世纪性的难题,至今尚未完全探明<sup>[1,2]</sup>。长期以来,由于研究方法的限制,人们难以对  $F_1$  及其双亲的基因结构和表达差异进行深入研究。近年来,众多植物分子生物学技术的不断建立和日臻完善为人们认识和利用杂种优势现象提供了一个良机,国内外研究者应用 RFLP, RAPD 和 mRNA 差异显示技术在这方面已做了一些探索性工作。本文综述了作物杂种优势遗传机理和预测方法的分子研究概况及成果,并探讨了今后的研究方向和前景。

## 1 作物杂种优势遗传机理研究

### 1.1 基因表达差异

程宁辉等<sup>[3]</sup>应用 mRNA 差异显示技术,对水稻杂种一代(珍汕 97A×明恢 63)与其亲本幼苗的基因表达差异进行了研究,发现亲本基因和  $F_1$  基因的表达虽基本相似,但仍有差异,故而他们认为  $F_1$  中基因表达的差异可能决定了杂种优势的形成。 $F_1$  和亲本基因表达差异存在着质与量的差别,而表达量的差别主要表现在  $F_1$  基因表达水平强或弱于父本、母本。依表达量的差别,可将其分为 4 类:  $F_1$  基因表达水平高于双亲;  $F_1$  基因表达水平弱于双亲;  $F_1$  基因表达水平接近母本而强于父本;  $F_1$  基因表达水平接近父本而强于母本。基因表达质上的差异可以归纳为 3 种类型,第一类是  $F_1$  特异表达而在双亲中不表达;第二类是亲本基因在  $F_1$  中沉默,这一类又可分为双亲基因表达而在  $F_1$  中抑制,和单亲基因表达而在  $F_1$  中沉默;第三类是单亲基因在  $F_1$  中表达。他们在玉米的研究中也得到了类似的结果<sup>[4]</sup>。

### 1.2 基因结构变化

目前一般认为,杂种一代基因组中包含母本的细胞质、细胞核基因和父本的细胞核基因。最近 Wagner 等<sup>[5]</sup>、Shen 等<sup>[6]</sup>发现,父本的细胞质基因可能渗漏到杂种一代。RAPD 通常为显性标记<sup>[7]</sup>,理论上,如果母本、父本的 RAPD 扩增产物中有(或无)某一产物时,杂

收稿日期 1998-01-12

课题来源 广州市科委重点科技攻关资助项目

作者简介 王得元,男,1968年生,助理研究员,博士

种一代的扩增产物应该也有(或无)该特定产物。王得元<sup>[8]</sup>以辣椒亲本及其杂种一代为材料应用 RAPD 技术对其基因差异进行了研究,结果表明大部分引物扩增出的杂种一代的 RAPD 产物和双亲或亲本之一没有明显差异,但引物 OPG-03 扩增出双亲没有但在  $F_1$  出现的 DNA 片段,引物 OPK-08 扩增出双亲具有但在  $F_1$  中消失的 DNA 片段,这揭示出  $F_1$  中某些基因结构异于亲本。事实上,许多应用 RAPD 技术检测  $F_1$  遗传纯度的研究<sup>[9,10]</sup>从另一侧面也揭示了  $F_1$  基因组发生了基因变异,这些特异出现或特异消失的基因可能与杂种优势的产生有关。

### 1.3 遗传振动合成学说

对杂种优势现象的充分认识是探明其遗传机理的重要前提。王得元和王鸣<sup>[11]</sup>认为应从过程性观点来认识和研究杂种优势,并据此提出了杂种优势过程性研究的基本模型。杂种优势的过程性是指作物的杂种优势随着性状发育时间的变化而呈现出变化的特性。近年来的分子生物学研究揭示出这样一个现象:同种生物的不同品种或品系中,同种基因的一级结构,如不同番茄的 ACC 合成酶基因、PG 基因,并不完全相同,而是表现出相当大的同源性;其编码的蛋白质中氨基酸序列也有差异,但其功能相同,强弱存在差异。

为了充分反映和认识同一基因在同种生物不同品种中的结构和表达特点,王得元<sup>[8]</sup>提出了同工基因和同工蛋白质两个新概念。同工基因是指同种生物中一种基因在不同品种中存在的多种一级结构形式,其同源性很高。同工蛋白质是指同工编码基因编码的蛋白质,其功能相同,但功能大小存在差异。研究证实<sup>[12,13]</sup>,基因表达的确具有过程性特点。二倍体作物的单倍体育种和多倍体育种实践中可以发现,生物体内同一种基因具有多拷贝时,其作用方式是累加的,同时其表达尚受到调控因子的影响。王得元<sup>[8]</sup>以杂种优势过程性研究的基本模型为基础,从基因的分子生物学(结构、表达、作用机制)入手,提出了作物杂种优势遗传机理的遗传振动合成学说。该学说认为,同工基因经转录、翻译成的同工蛋白质的数量变化是一种振动,这种振动可称为遗传振动;将两或多个同工基因所产生的蛋白质的振动的合成称为遗传振动合成; $F_1$  中来自双亲的同工基因的表达呈现出遗传振动合成的特点,并且随着时间的变化而呈现出正向优势、无优势、负向优势,进而影响到所参与或调控的最初代谢反应的产物,优势随时间的变化而变化;由于其他同工基因的这种类似作用,以及代谢反应的逐级影响与逐级放大作用,加上外界环境对作物基因组的影响,最终影响到生物的表型性状,并使其杂种优势呈现出过程性特点。

同一位点上的等位基因或有显、隐性之分,或无显、隐性之分(此时其为复等位基因),但从生物体最终遗传性状的表现上,可以发现,它们参与或控制的最初代谢反应却相同,只是对其影响程度强弱上有差别。因此,可以认为,位于同一位点上的显性和隐性等位基因或复等位基因,它们的一级结构相似或完全相同,只是由于其处于不同品种(自交系)中,受到的基因表达调控作用有异,从而形成的蛋白质基因或非蛋白质基因的数量有差别,最终影响到不同品种同一性状的表现。故而,它们在分子遗传学中的作用机制实质上和王得元定义的同工基因的作用方式完全相同。这样,显性基因、隐性基因或复等位基因的遗传振动完全类似,只是振动方程中的几个参数有异而已。非等位基因实质上是不同种类的同工基因。

显性基因、隐性基因或复等位基因,在  $F_1$  中的各种形式的作用及其互作,均表现在同

一种同工基因所表现出的特殊合遗传振动中,而非等位基因间的互作则表现为,某种同工基因的合遗传振动所影响的(最初)代谢反应,对另一种同工基因的合遗传振动所决定的(最初)代谢反应产生影响。因此,凡是显性学说、超显性学说能解释的杂种优势现象,遗传振动合成学说均能解释。遗传振动合成学说是一个动态遗传理论,而显性学说、超显性学说是一种静态遗传理论,只是遗传振动合成学说中的一个特例。

## 2 作物杂种优势预测方法研究

### 2.1 亲本异质性和杂种优势关系

亲本间存在遗传差异是作物杂种优势产生的基础,因而,能够检测作物基因组遗传状况的 DNA 分子标记技术,为杂种优势的预测研究提供了一个有力的工具。分子标记已广泛应用于玉米、水稻亲本异质性的评价,以及亲本异质性和杂种优势表现的相关性研究中。

科学家们深信,对这种相关性的研究和应用最终必将产生一种在作物育种实践中行之有效的、可操作性良好的杂种优势预测方法。玉米研究中, Lee 等<sup>[14]</sup>和 Smith 等<sup>[15]</sup>发现,亲本间 RFLP 遗传距离和杂种优势有着强烈的正相关性; Godshalk 等<sup>[16]</sup>和 Dudley<sup>[17]</sup>等则观测到亲本间 RFLP 的遗传距离和  $F_1$  杂种产量的相关性很低。Melchinger 等<sup>[18]</sup>和 Boppenmaier 等<sup>[19]</sup>指出,亲本间 RFLP 的遗传距离和  $F_1$  表现的关系取决于研究中所用的亲本来源,亲本来源于相同的杂种优势组 (heterotic group) 时,相关性高;亲本来源于不同的杂种优势组时,相关性低。水稻研究中,张启发等<sup>[20,21]</sup>提出了两种评价亲本异质性的方法:一般异质性 (general heterozygosity) 是指利用研究中所有分子标记而计算出的亲本异质性;特殊异质性 (specific heterozygosity) 是指仅仅依据对性状有显著效应的分子标记 (用单向方差分析法研究确定) 而分析的亲本异质性。他们发现,亲本间一般异质性和  $F_1$  杂种表现的相关性通常较低,而亲本间的特殊异质性和  $F_1$  杂种优势 (以中亲值作为评价标准) 呈极显著正相关。Saghai Maroof 等<sup>[22]</sup>用 82 个 RFLP 和 26 个 SSR 标记对 8 个水稻亲本材料进行评价,发现  $F_1$  杂种分子标记的杂合性同  $F_1$  的稻谷产量和完整米产量具有显著正相关,相关系数分别为 0.79, 0.82, 同时这两个性状的杂种优势也呈显著正相关,相关系数分别为 0.47, 0.58, 这种相关应归功于组合亲本间的具有高水平的杂合性。DNA 分子标记的异质性同杂种  $F_1$  表现的相关程度及方式取决于研究中所用的遗传材料,理论上 Bernardo<sup>[23]</sup>对此已做出了解释,实践中玉米、水稻的研究也表明了这一点。

### 2.2 与杂种优势有关的 QTL

de Vicente 和 Tanksley<sup>[24]</sup>对利用栽培番茄材料 Vendor TM2a (作母本), 和野生番茄材料 LA716 (作父本) 杂交所得到的  $F_1$  进行 RFLP 研究, 发现  $F_1$  在第一真叶出现时间 (d)、株高、发育良好的分枝数 (第一真叶出现 45 d 后) 记载上述两个性状, 下同) 上表现出杂种优势, 但没有鉴别出与这些性状表达有关的具有超显性的 RFLP 标记;  $F_1$  中没有表现杂种优势的那些性状, 却检测到与性状表达相关的具有显著超显性的数量性状位点 (QTL);  $F_1$  的株高杂种优势最强, 然而与之相关的 QTL 没有一个表现为超显性;  $F_1$  的干重累积量具有杂种优势, 并鉴定出两个与之有关的 QTL (dw1, dw2), 将这两个与干重累积量有关的 QTL 回交转移进栽培番茄, 获得了超亲个体, 并且超亲个体的出现与这两个

QTL有关。这说明,与性状杂种优势有关的 QTL并不一定表现为超显性;分子标记可以应用于鉴别与杂种优势有关的 QTL,并可选择性地将其转移进栽培品种中。徐云碧和朱立煌<sup>[25]</sup>据此认为,这种标记——QTL连锁信息为改良现有组合的杂种优势提供了一条新途径。

### 3 研究展望

#### 3.1 杂种优势遗传机理

利用分子生物学技术的一些研究<sup>[3-6,8]</sup>,揭示出了许多以往鲜为人知的现象,给长期没有明显进展的杂种优势机理研究带来了勃勃生机。 $F_1$ 中某些基因表达方式和双亲存在差异,这易于理解,因为双亲杂交后形成了一个新的遗传体系,来自双亲的基因表达自然有所变化。 $F_1$ 中某些基因的一级结构异于双亲;父本的细胞质基因渗漏到杂种一代,这些新的研究发现有助于人们更加深一层次地理解 $F_1$ 的遗传结构特性。这更有力地说明,双亲杂交后形成 $F_1$ 的过程中尚存在许多遗传现象未被认识。可以肯定的是, $F_1$ 中基因结构、表达特性改变与杂种优势有关,但 $F_1$ 中和双亲相同的基因与杂种优势有无关系以及存在何种相关关系有待今后深入研究。

王得元提出的遗传振动合成学说的基础是:杂种优势现象具有的过程性特点和作物基因的分子生物学特性(结构、表达、作用机制)。此学说尚待用实验进一步证实。实际上,研究并证实单个基因产物的优势变化规律就等于证明了该学说,因为最初某一基因的产物也可以认为是作物的一个性状。这样可以应用光子计数电子摄像机<sup>[13]</sup>对单细胞中某一基因的表达规律进行实时检测研究,这方面的工作笔者正在着手进行。

#### 3.2 杂种优势预测方法

遗传杂合性是杂种优势的遗传基础。杂种优势的表达是与整个基因组杂合性有关,还是只与部分基因组位点的杂合性有关呢?孙其信等<sup>[26]</sup>的研究指出,QTL杂合性可以表现杂种优势,而且随着QTL的增加,杂种优势有进一步提高的趋势。这揭示出杂种优势的表达更重要的是与控制性状的QTL杂合性有关。

利用分子标记进行杂种优势的预测研究将是一项非常有希望的育种新方法,对提高作物育种效率、加速育种进程具有重要意义。为了卓有成效地建立这项育种技术,作者认为至少应进行下列研究。

- 1) 建立与目标农艺性状基因紧密连锁的、经济有效的分子标记,要求鉴定出的分子标记对目标性状的贡献率大于 90%;
- 2) 研究亲本某一目标性状的分子标记间的异质性,同 $F_1$ 该性状杂种优势的相关关系,确定各分子标记对杂种优势的影响程度;
- 3) 研究亲本其他分子标记间的异质性同 $F_1$ 该性状杂种优势的关系,确定其他分子标记对该性状杂种优势的影响程度;
- 4) 验证这些标记与杂种优势的相关关系;
- 5) 以鉴定出的对某性状具有决定作用的分子标记来进行种质资源筛选

## 参 考 文 献

- 1 蔡 旭. 植物遗传育种学. 北京: 科学出版社, 1988. 459~ 500
- 2 黎文汕, 祁建民. 作物杂种优势预测方法及其在育种上的应用. 福建农学院学报, 1987, 16(3): 251~ 257
- 3 程宁辉, 高燕萍, 杨金水, 等. 水稻杂种一代与亲本基因表达差异的分析. 植物学报, 1997, 39(4): 379~ 382
- 4 程宁辉, 杨金水, 高燕萍, 等. 玉米杂种一代与亲本基因表达差异的初步研究. 科学通报, 1996, 41(5): 451~ 454
- 5 Wagner D B, Dong J, Carlson M R, et al. Paternal leakage of mitochondrial DNA in *Pinus*. Theor Appl Genet, 1991, 62: 510~ 514
- 6 Shen Y, Xu R, Gao M, et al. Polymorphism of mitochondrial DNA from cytoplasmic male sterile and fertile lines in rice. 浙江农业大学学报, 1996, 22(5): 441~ 447
- 7 Williams J G K, Kubelk A R, Livak K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res, 1990, 18: 6531~ 6535
- 8 王得元. 辣椒抗烟草花叶病毒基因工程和杂种优势分子机理研究. [博士学位论文]. 陕西杨凌: 西北农业大学园艺系, 1997. 34~ 37
- 9 陈 洪, 钱 前, 朱立煌, 等. 杂交水稻汕优 63 杂种纯度的 RAPD 鉴定. 科学通报, 1996, 41(9): 833~ 836
- 10 杨剑波, 李 莉, 汪秀峰, 等. 利用 RAPD 技术检测杂交稻种子纯度 II. 汕优 63 与其三系 DNA 扩增产物的区别. 安徽农业科学, 1996, 24(4): 297~ 298
- 11 王得元, 王 鸣. 杂种优势过程性研究的基本模型. 陕西农业科学, 1995, (2): 30
- 12 程炜中. 小麦过氧化物同工酶的表达特性与遗传. 西北农业大学学报, 1990, 18(3): 7~ 13
- 13 Masuko M, Suzuki M, Hayakawa T, et al. Real time monitoring of gene expression in single cells. Nature, 1994, 369(6481): front pages
- 14 Lee M, Godshalk E B, Lamkey K R, et al. Association of restriction fragment length polymorphisms among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. Crop Sci, 1989, 29: 1067~ 1071
- 15 Smith O S, Smith J S C, Bowen S L, et al. Similarities among a group of elite inbreds as measured by pedigree, F<sub>1</sub> grain yield, grain yield heterosis and RFLPs. Theor Appl Genet, 1990, 80: 833~ 840
- 16 Godshalk E B, Lee M, Lamkey K R. Relationship of restriction fragment length polymorphisms to single cross hybrid performance of maize. Theor Appl Genet, 1990, 80: 273~ 280
- 17 Dudley J W, Saghai Maroof M A, Rufener G K. Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs. Crop Sci, 1991, 31: 718~ 723
- 18 Melchinger A E, Lee M, Lamkey K R, et al. Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms Relation to estimated genetic effects in maize inbreds. Crop Sci, 1990, 30: 1033~ 1040
- 19 Boppenmaier J, Melchinger A E, Seitz G, et al. Genetic diversity for RFLPs in European maize inbreds III. Performance of crosses within versus between heterotic groups for grain traits. Plant Breeding, 1993, 111: 217~ 226
- 20 Zhang Q, Gao Y L, Yang S H, et al. A diallel analysis of heterosis in elite hybrid rice based on RFLPs and Microsatellite. Theor Appl Genet, 1994, 89: 185~ 192
- 21 Zhang Q, Gao Y J, Saghai Maroof M A, et al. Molecular divergence and hybrid performance in rice. Molecular Breeding, 1995, 1: 133~ 142
- 22 Saghai Maroof M A, Yang G P, Zhang Q, et al. Correlation between molecular marker distance and hybrid performance in U S Southern long grain rice. Crop Sci, 1997, 37: 145~ 150
- 23 Bernardo R. Relationship between single cross performance and molecular marker heterozygosity. Theor Appl Genet, 1992, 83: 628~ 634
- 24 de Vicente M C, Tanksley S D. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. Genetics, 1993, 134: 585~ 596

25 徐云碧,朱立煌.分子数量遗传学.北京:中国农业出版社,1994.205-207

26 孙其信,倪中福,陈希勇,等.冬小麦部分基因杂合性与杂种优势表达.中国农业大学学报,1997,2(1):64,116

## Advances in Crop Heterosis Studies using Molecular Biology Techniques

Wang Deyuan Yin Qiumiao Li Ying Zheng Jinrong Huang Aixing

(Institute of Vegetable Crops, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Wushan, Guangzhou 510640)

**Abstract** Advances in crop heterosis studies using plant molecular biology techniques were summarized from the following aspects genetic mechanisms included 1) differences in the quality and quantity of gene expression, 2) changes in the primary structures of genes in  $F_1$  and 3) the resultant genetic vibration theory; prediction method aspects contained 1) parent heterozygosity and  $F_1$  heterosis and 2) QTLs associated with heterosis. Suggestions on the forthcoming studies were also made in the present paper.

**Key words** crop heterosis, molecular mechanisms, molecular prediction methods

· 简 讯 ·

### 非 1B/1R 类型 K 型小麦雄性不育系的 选育方法获国家发明专利

西北农业大学农学系博士生导师何蓓如教授 1994 年报申的发明专利——一种选育小麦雄性不育保持系和不育系的方法,经过国家专利局 4 年的审查,日前被正式授予发明专利权。

何蓓如教授领导的课题组,从 1990 年开始进行非 1B/1R 类型 K 型不育系的染色体转移方法的研究,经过 4 年的辛勤耕耘,于 1994 年完成并报申专利。该方法可有目的地将带有 K 型不育基因的野生变种“斯卑尔脱小麦” 1B 染色体的有关片段,导入任何优良小麦基因组,选育非 1B/1R 类型 K 型不育系。课题组利用该方法把 2 个 K 型恢复系和 2 个 1B/1R 类型保持系,改造成非 1B/1R 类型保持系并转育成不育系。试验证明:用该方法选育的非 1B/1R 类型 K 型不育系不产生单倍体,其恢复度平均比 1B/1R 类型不育系高 17.4%。

这一发明解决了 1B/1R 类型小麦多数感病、品质不佳等潜在问题,可追踪小麦育种的进步,将任意适于作为杂交小麦母本的优良材料选育成非 1B/1R 类型 K 型不育系,打破了 K 型不育系应用中的保持系资源局限,有利于选育更高水平的杂交小麦组合。

(温晓平 供稿)