

# 稻属多倍体的研究历史及存在问题

<sup>1</sup>包颖\* <sup>2</sup>葛颂

<sup>1</sup>(曲阜师范大学生命科学院 曲阜 273165)

<sup>2</sup>(系统与进化植物学国家重点实验室, 中国科学院植物研究所 北京 100093)

## Historical retrospect and the perplexity on the studies of the *Oryza* polyploids

<sup>1</sup>Ying BAO\* <sup>2</sup>Song GE

<sup>1</sup>(College of Life Science, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

<sup>2</sup>(State Key Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

**Abstract** The genus *Oryza* belongs to the tribe Oryzeae, subfamily Oryzoideae of the grass family Poaceae, consisting of more than 20 species. Among the species, about half are polyploids. These polyploids include BC, CD, HJ and HK genomic constitutions and are distributed in Asia, Oceania, Africa and Latin America. Because of its economic and theoretic significance, *Oryza* has attracted enormous attentions from scientists worldwide. Correspondingly, many research data are accumulated for the polyploid members in the genus. In this paper, we have reviewed the history of *Oryza*, especially the study of the polyploids. Based on our recent molecular studies on the origin and phylogeny of *Oryza* species, we summarized the current status of the investigations on the classification and phylogeny of the polyploid species. In addition, we discussed the perplexity and future direction of the studies on the *Oryza* polyploids.

**Key words** *Oryza*, polyploid, historical perspective, perplexity.

**摘要** 稻属*Oryza*隶属于禾本科Poaceae稻亚科Oryzoideae稻族Oryzeae, 包括20多个种, 其中近1/2的种类为异源多倍体植物。这些多倍体不但数量多而且涉及BC、CD、HJ和HK等多种染色体组构成, 广泛分布于热带亚洲、非洲、大洋洲和拉丁美洲。由于具有重要的经济和理论研究价值, 稻属植物一直在植物学研究中备受瞩目。相应地, 稻属多倍体植物的研究也积累了丰富的资料。本文通过回顾以往对稻属植物的研究历史, 特别关注有关多倍体的研究, 结合我们最近的研究总结了稻属多倍体分类和系统发育关系研究的最新进展, 同时对稻属多倍体研究中存在的问题及未来研究方向进行了讨论。

**关键词** 稻属; 多倍体; 历史回顾; 存在问题

稻属*Oryza* L.隶属于禾本科Poaceae稻亚科Oryzoideae稻族Oryzeae (刘亮等, 2002)。包括两个栽培种(亚洲栽培稻*O. sativa* L.和非洲栽培稻*O. glaberrima* Steud.)和大约20多个野生种, 广泛分布于热带亚洲、非洲、大洋洲和拉丁美洲。其中亚洲栽培稻*O. sativa* L.是全球30亿人口的主要粮食, 而非洲栽培稻也在促进非洲的文明中起到了重要作用。作为栽培物种遗传改良最直接的基因源, 稻属中的野生种类无疑成为提高栽培稻遗传品质的重要物质保证, 因此越来越受到关注。

资料表明, 稻属现存种类是一个明显的单系类群, 和其近缘属假稻属*Leersia* Sw.大约在距今1400

万年前分离并演化至今(Ge et al., 1999, 2001a, b; 2002, 2005; Guo & Ge, 2005)。稻属虽然是一个进化历史并不久远的小属, 却蕴含着大量的遗传多样性。观察染色体的形态, 特别是减数分裂中期的配对行为, 证明稻属植物中包含着从A、B、C、BC、CD、E和F共7种染色体组类型(Morinaga, 1964; Nayar, 1973)。随后, 利用分子生物学手段, Aggarwal等(1997)和Ge等(1999)又分别鉴定出稻属G、HJ和HK染色体组类型。因此, 目前稻属物种中已经发现10种染色体组。研究还发现, 稻属中的倍性关系也十分复杂, 除了染色体组构成分别为A、B、C、E、F和G的二倍体物种外, 还有染色体组构成分别为BC、CD、HJ和HK的四倍体物种(表1)。尽管这些四倍体在倍性水平上和二倍体不同, 并且在系统发

2007-05-08收稿, 2007-07-02收修稿。

\* E-mail: <baoying@qfnu.edu.cn>.

育关系上, 相对于具有A染色体组的栽培稻而言也较远, 但是这些野生多倍体中孕育的大量遗传多样性却是栽培稻分子育种不可多得的宝贵资源。目前通过胚拯救等手段, 一些多倍体中的有益基因已经被成功地转移到栽培稻中(Amante-Bordeos et al., 1992; Brar et al., 1996; Multani et al., 2003)。但是这些应用仅仅涉及多倍体本身大量遗传多样性中的极少部分, 更多的有益基因还有待深入开发。因此加强对这些多倍体的研究, 是合理利用这部分资源的重要前提。正是基于此种原因, 众多学者在长达两个半世纪里从整个稻属的角度, 对其中的多倍体植物开展了较为广泛的研究(Roschevicz, 1931; Tateoka, 1963; Vaughan, 1989, 1994, 2003; Morishima et al., 1992; Wang et al., 1992; Aggarwal et al.,

1999; Ge et al., 1999; Buso et al., 2001; Li et al., 2001a, b; Thomas et al., 2001; Bao & Ge, 2004)。本文通过简单回顾稻属多倍体的研究历史, 结合我们最近的研究成果, 介绍了稻属多倍体分类和系统发育关系研究的最新进展, 同时对稻属多倍体研究中存在的问题及未来研究方向进行了讨论。

## 1 稻属多倍体的分类和系统发育关系

稻属中大约有10个多倍体物种, 分布在亚洲、非洲、拉丁美洲和大洋洲(图1)。按照形态分类(具体的形态学差异见稻属多倍体形态检索表)和含染色体组构成的不同, 可大致划分成4类(表1)。

表1 稻属物种的染色体组构成和地理分布(Vaughan, 1989, 1994, 2003b; 卢宝荣等, 2001)

Table 1 Genomic constitutions and geographical distributions of *Oryza* species (Vaughan, 1989, 1994, 2003b; Lu et al., 2001)

染色体组 Genome	分类群 Taxon	染色体数(2n) Chromosome No. (2n)	分布 Distribution
A	<i>O. barthii</i> A. Chev.	24	非洲 Africa
	<i>O. glaberrima</i> Steud.	24	西非 West Africa
	<i>O. glumaepatula</i> Steud.	24	拉丁美洲 South and Central America
	<i>O. longistaminata</i> Chev. & Roehr.	24	非洲 Africa
	<i>O. meridionalis</i> Ng	24	澳大利亚热带 Tropical Australia
	<i>O. nivara</i> Sharma & Shastry	24	亚洲热带、亚热带 Tropical and subtropical Asia
	<i>O. rufipogon</i> Griff.	24	亚洲热带、亚热带, 澳大利亚热带 Tropical and subtropical Asia, Tropical Australia
	<i>O. sativa</i> L.	24	全世界 Worldwide
B	<i>O. punctata</i> Kotschy ex Steud.	24	非洲 Africa
C	<i>O. eichingeri</i> Peter	24	南亚, 东非 South Asia and East Africa
	<i>O. rhizomatis</i> D. A. Vaughan	24	斯里兰卡 Sir Lanka
	<i>O. officinalis</i> Wall ex Watt	24	亚洲热带、亚热带 Tropical and subtropical Asia
E	<i>O. australiensis</i> Domin	24	澳大利亚热带 Tropical Australia
F	<i>O. brachyantha</i> Chev. & Roehr.	24	非洲 Africa
G	<i>O. granulata</i> Nees & Arn ex Wall.	24	南亚, 东南亚 South and Southeast Asia
	<i>O. meyeriana</i> (Zoll. & Mor. ex Steud.) Baill.	24	新喀里多尼亚 New Caledonia
BC	<i>O. malampuzhaensis</i> Kishn. & Chandr.	48	印度 India
	<i>O. minuta</i> J. S. Presl ex C. B. Presl	48	菲律宾, 巴布亚新几内亚 Philippines, Papua New Guinea
	<i>O. punctata</i> Kotschy ex Steud.	48	非洲 Africa
CD	<i>O. latifolia</i> Desv.	48	拉丁美洲 South and Central America
	<i>O. alta</i> Swallen	48	拉丁美洲 South and Central America
	<i>O. grandiglumis</i> (Doell) Prod.	48	拉丁美洲 South and Central America
HJ	<i>O. longiglumis</i> Jansen	48	印尼伊里安查亚, 巴布亚新几内亚 Irian Jaya, Indonesia and Papua New Guinea
	<i>O. ridleyi</i> Hook. f.	48	南亚 South Asia
HK	<i>O. schlechteri</i> Pilger	48	巴布亚新几内亚, 印尼伊里安查亚 Papua New Guinea and Irian Jaya, Indonesia
	<i>O. coarctata</i> Roxb.	48	南亚 South Asia

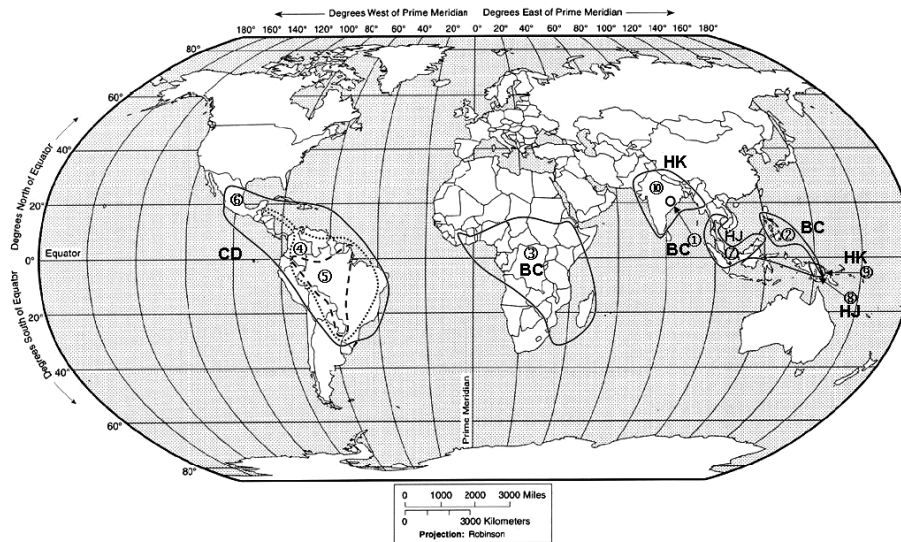


图1 稻属多倍体物种的地理分布(依据Vaughan, 1989, 2003b)

Fig. 1. Geographical distribution of *Oryza* polyploid species (based on Vaughan, 1989, 2003b).

BC genome: ① *O. malampuzhaensis*; ② *O. minuta*; ③ *O. punctata*. CD genome: ④ *O. alta*; ⑤ *O. grandiglumis*; ⑥ *O. latifolia*. HJ genome: ⑦ *O. ridleyi*; ⑧ *O. longiglumis*. HK genome: ⑨ *O. schlechteri*; ⑩ *O. coarctata*.

含BC染色体组的多倍体包括3个物种：*O. punctata* Kotschy ex Steud.、*O. malampuzhaensis* Kishn. & Chandr.和*O. minuta* J. S. Presl ex C. B. Presl.虽然种类较少，但这3个物种间断的地理分布和较不清晰的分类状态使它们成为稻属多倍体中最为复杂的一个类群。分布在非洲的*O. punctata*，是一个同时包括一年生二倍体(BB)细胞型和多年生四倍体(BBCC)细胞型的物种。Sano (1980)通过形态比较认为，植株高度、旗叶宽度、种子长度、宽度、花药长度等16个性状可以区分以上两种细胞型，因此提出应将二倍体和四倍体分别处理为*O. punctata*原种下的不同亚种。也有一些学者用*O. schweinfurthiana* Prod.来指代*O. punctata*的四倍体形式，尽管Prodoehl (1922)首次提出这个种名时并没有考虑染色体数目的问题。事实上，对于非洲现存BC四倍体物种，不同的学者还存在另外的看法(Hu, 1970)。通过对活植物和杂种染色体配对行为的观察，Hu (1970)证明在非洲分布的另外一个物种*O. eichingeri* Peter中也存在四倍体细胞型。但是，在此之前，Tateoka (1965b)对同样编号的样品进行研究时认为在*O. eichingeri*中只存在二倍体。因此，关于*O. eichingeri*中是否存在四倍体细胞型的疑问一直存在。多数学者受Tateoka影响认为这个种只有二倍

体(CC)形式(Vaughan, 1989, 1994, 2003a, b; Aggarwal et al., 1999; Buso et al., 2001)。根据我们(Bao et al., 2005)和其他学者(Aggarwal et al., 1999; Buso et al., 2001)的研究，菲律宾国际水稻研究所(IRRI)的种子库中，一些已经被鉴定为*O. eichingeri*的样品中，确实存在染色体组为BC的四倍体类型。但是由于缺少进一步的形态学证据，对这种现象的通常解释都是认为这些样品可能是*O. punctata*的误定(Aggarwal et al., 1999; Buso et al., 2001; Bao et al., 2005)。

与非洲含BC染色体组的物种不同，稻属另外两个BBCC物种都没有二倍体细胞型，分布区域也相对局限(图1)，而且它们在形态上都和同域分布的二倍体物种*O. officinalis* Wall ex Watt多多少少发生联系。其中，*O. minuta*只在亚洲的菲律宾和大洋洲的巴布亚新几内亚分布(Vaughan, 1989, 1994, 2003)。因为该种在菲律宾中部的玻尔(Bohol)岛和莱特(Leyte)岛的分布区与广泛分布在东南亚、南亚及中国华南和西南的*O. officinalis*的分布区相互重叠，加之这两个物种的形态也存在一定程度的相似，因此一些分类学家曾建议将它们作为同种对待(Backer, 1946; Duistermatt, 1987)。但是，Tateoka (1962)在对这两个种的77份标本进行了详细的形态

比较后指出,这两个种可以从小穗在圆锥花序下部分枝上的起始位置、圆锥花序的形状、花序基部分枝形式、植物习性以及植株大小等特征上相互区分。另外, *O. minuta* 的染色体组构成为BBCC也不同于 *O. officinalis* 的CC。鉴于这些形态和细胞学的特点,将二者作为不同种的处理方式后来被大多数植物学家接受(Nayar, 1973; Vaughan, 1989, 1994, 2003a, b; 卢宝荣等, 2001)。

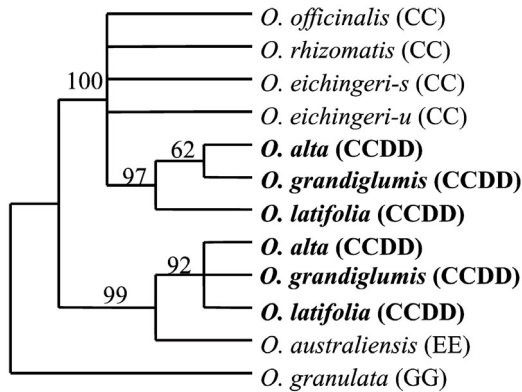


图2 基于 *Adh1*, *Adh2* 和 *GPA1* 基因合并数据的最简约树(引自 Bao & Ge, 2004)(树长=916, CI=0.93, RI=0.94), 分支上的数值为大于50%的自展支持率, 黑体表示CCDD四倍体。

Fig. 2. The single most parsimonious tree inferred from the combined *Adh1*, *Adh2* and *GPA1* data sets (from Bao & Ge, 2005). Numbers above branches indicate bootstrap values above 50%; boldface indicates the allotetraploid species with CCDD genome.

*Oryza malampuzhaensis* Kishn. & Chandr. 是目前已知分布区最为局限的BBCC四倍体, 只在印度南部的西高止山脉(Western Ghats)的少量居群中保持特有分布。尽管因为具有稍长的小穗、有毛的叶舌和较晚的花期被 Krishnaswamy 和 Chandrasekharan (1958) 作为新种进行描述, 但长久以来对于它的分类地位一直没能达成统一的看法。Tateoka 在 1962 年, 对 *O. malampuzhaensis* 的两份标本进行了研究, 承认这个类群在形态和染色体数目上和通常的 *O. officinalis* 不同, 但是认为二者之间缺少足够的形态间断, 因此将 *O. malampuzhaensis* 降为 *O. officinalis* 的变种。Vaughan (1989) 在研究药用野生稻复合体时, 将 *O. malampuzhaensis* 作为 *O. officinalis* 的四倍体居群进行描述, 但是他也指出, 鉴于当时的标本和种质库稻属其他类群的资源有限, 澄清这个四倍体类群的分类地位还需要和复合体内其他物种进行深入的比较。通过染色体组原位杂交

(GISH) 技术, Li 等(2001b) 从全基因组的角度证明 *O. malampuzhaensis* 的染色体组构成为BBCC, 与染色体组为CC的二倍体物种 *O. officinalis* 有显著差异, 同时通过栽培实验, Li 等也找到了 *O. malampuzhaensis* 和 *O. officinalis* 在花序的形状和基部分枝等形态方面的间断(Li et al., 2001a, b), 因此建议恢复 *O. malampuzhaensis* 的种级地位。Thomas 等(2001) 在 Joseph 等(1999) 对 11 个 *O. malampuzhaensis* 自然居群的收集和评价的基础上, 综合形态和分子标记重点研究了 *O. malampuzhaensis* 和 *O. officinalis* 的遗传学关系, 结果表明二者之间存在非常显著的差异, 因此支持将 *O. malampuzhaensis* 处理为一个单独的分类实体。根据染色体记数和利用特定基因的限制性片段长度多态性(RFLP) 分析等结果(Bao et al., 2005), 我们进一步确定了 *O. malampuzhaensis* 染色体组的BBCC构成, 综合形态和已有的其他基因数据, 我们也赞同将 *O. malampuzhaensis* 作为独立的物种对待。

含CD染色体组的物种有3种: *O. alta* Swallen、*O. grandiglumis* (Doell) Prod. 和 *O. latifolia* Desv., 全部局限分布在中美洲和南美洲, 其分布区彼此重叠(图1), 其中 *O. latifolia* 的分布区最大, *O. grandiglumis* 的分布区最小。尽管在形态上, 因为具有高大的植株和宽阔的叶片(>2 cm), CCDD 多倍体和稻属其他物种非常容易区分, 但是它们彼此之间却没有特别明显的形态差异。另外, 这3个物种彼此杂交可育, 缺少物种之间必要的生殖隔离(Gopalakrishnan & Sampath, 1967)。因此是否应该将它们处理为3个种的争论一直没有停止。Tateoka (1962) 比较详细地研究了这3个分类群, 认为小穗长度(*O. latifolia* 具有稍短的小穗)和外稃的大小(*O. grandiglumis* 具有较大的不育外稃)是最好的区分性状。但是 Tateoka 也同时指出, 是否将 *O. alta*、*O. grandiglumis* 和 *O. latifolia* 处理为3个种还是将前两个处理成后一个的亚种(变种)只是选择问题, 他选择了保持3个独立的种。利用扩增片段多态性的指纹图谱, Aggarwal 等(1999) 指出, 3个CCDD物种彼此存在着比稻属其他物种更近的亲缘关系并且在3个物种中, *O. alta* 和 *O. grandiglumis* 的系统发育关系更近。通过种内和种间遗传距离的比较, Aggarwal 等支持 *O. alta* 和 *O. grandiglumis* 以种级对待。此后, 一系列分子研究同样揭示了3个四倍体彼此之间较近的系统发育关系

(Wang et al., 1992; Ge et al., 1999; Buso et al., 2001; Federici et al., 2002; Bao & Ge, 2004)。最近, Vaughan等(2003a)提出, 从形态学角度看, 传统的区分以上3个物种的关键性状是不稳定的。他特别指出在亚马逊河流域存在一个*O. alta*和*O. grandiglumis*的混合居群。因此认为CCDD染色体组的物种更应该是具有不同生态型的种复合体。根据近年来多基因的研究(Ge et al., 1999; Bao & Ge, 2003b; Bao & Ge, 2004), 我们进一步验证了3个物种彼此之间密切的亲缘关系, 并且证明这3个物种是历史上一次物种形成的产物。

含HJ染色体组的物种包括2个, *O. longiglumis* Jansen仅在印度尼西亚和巴布亚新几内亚有狭小分布, 而*O. ridleyi* Hook. f.则广泛分布在除菲律宾以外的东南亚各国(卢宝荣等, 2001)。这两个种因为具有光滑的、刚毛状的不孕外稃而容易和稻属其他物种相区别(Vaughan, 1989)。传统的分类一直用不孕外稃和可育小穗的长度比例作为区分以上两个种的关键特征, 即在*O. ridleyi*中不孕外稃的长度仅有小穗的一半, 而在*O. longiglumis*中不孕外稃的长度等于或长于小穗的长度。但是Vaughan (1990)在检查了一份似是而非的*O. longiglumis*标本后认为, 以上区分这两个物种的关键性状有时可能存在中间过渡类型, 因此建议将*O. longiglumis*归入*O. ridleyi*作为一个亚种。最近, Naredo等(2003)利用形态、分

子和种间杂交实验等证据重新评价了这两个种的分类状态, 结果支持*O. longiglumis*和*O. ridleyi*作为独立种的处理。

含HK染色体组的物种目前被认为仅包括*O. schlechteri* Pilger和*O. coarctata* Roxb. (Ge et al., 1999), 前者仅在印度尼西亚和巴布亚新几内亚分布, 是稻属中小穗长度最短(<2 mm), 而且茎节上具毛的物种; 而后者分布于南亚热带的沿海地区, 耐盐性极强。在稻属此类染色体组构成的物种中, 争论最大的为*O. coarctata*的归属问题。由于其独特的生境、坚硬直立的革质叶片和特殊的种子和叶片解剖结构等特征, Tateoka在1965年将*O. coarctata*从稻属中移到单型属*Porteresia*之下。但是一些研究(Sarker et al., 1993; Jena, 1994; Brar et al., 1998)表明, 相对稻族其他属下物种, *O. coarctata*是唯一能够比较容易和稻属植物进行种间杂交的物种。近年来, 包括线粒体、叶绿体和核基因等一系列分子证据(Ge et al., 1999, 2001a, b; 郭亚龙, 葛颂, 2004)也进一步证明, *O. coarctata*不但含有和稻属植物*O. schlechteri*一样的染色体组构成HK, 而且彼此之间也具有较近的系统发育关系(Ge et al., 1999, 2001a, b; 郭亚龙, 葛颂, 2004; Lu & Ge, 2005)。但是, 相对于其他染色体组, *O. schlechteri*和*O. coarctata*在形态和生境上的确存在明显的差异, 因此二者之间的系统发育关系还有待深入的研究。

### 稻属多倍体形态检索表

- |                                       |                           |
|---------------------------------------|---------------------------|
| 1a. 小穗短于2 mm, 茎节具毛.....               | <b>Oryza schlechteri</b>  |
| 1b. 小穗长于2 mm, 茎节通常无毛.....             | 2                         |
| 2a. 不孕外稃针状或刚毛状.....                   | 3                         |
| 2b. 不孕外稃线形、线状披针形.....                 | 4                         |
| 3a. 叶狭线形、革质, 能够在含盐较高的生境下生活.....       | <b>O. coarctata</b>       |
| 3b. 叶线形或披针形、非革质; 不能在含盐较高的生境下生活.....   | 5                         |
| 4a. 植株高大, 叶片通常宽于2 cm.....             | 6                         |
| 4b. 植株相对矮小, 叶片窄于2 cm.....             | 7                         |
| 5a. 叶舌短, 顶端平截, 叶耳无毛, 小穗等于或长于不孕外稃..... | <b>O. longiglumis</b>     |
| 5b. 叶舌长, 顶端尖, 叶耳有毛, 小穗短于不孕外稃.....     | <b>O. ridleyi</b>         |
| 6a. 不孕外稃几乎等长于可孕花之内稃.....              | <b>O. grandiglumis</b>    |
| 6b. 不孕外稃远远短于可孕花之内稃.....               | 8                         |
| 7a. 花序的基部通常具2或更多(3-5)长度相近的分枝.....     | <b>O. punctata</b>        |
| 7b. 花序的基部通常不具轮生的分枝, 一般为1-2分枝.....     | 9                         |
| 8a. 叶片窄于5 cm, 小穗短于7 mm.....           | <b>O. latifolia</b>       |
| 8b. 叶片宽于5 cm, 小穗长于7 mm.....           | <b>O. alta</b>            |
| 9a. 叶舌光滑无毛.....                       | <b>O. minuta</b>          |
| 9b. 叶舌上部边缘有毛.....                     | <b>O. malampuzhaensis</b> |

Key to allotetraploid species of the genus *Oryza*

1a. Spikelets shorter than 2 mm; nodes hairy.....	<b>O. schlechteri</b>
1b. Spikelets longer than 2 mm; nodes usually not hairy.....	2
2a. Sterile lemma subulate or setaceous.....	3
2b. Sterile lemma linear or lanceolate.....	4
3a. Leaves narrowly linear, coriaceous, erect, occurs in brackish water.....	<b>O. coarctata</b>
3b. Leaves linear or lanceolate, not coriaceous; not occurs in brackish water.....	5
4a. Plants large, leaves wider than 2 cm.....	6
4b. Plants relatively small, leaves narrower than 2 cm.....	7
5a. Ligule short, tip truncate, auricles glabrous, spikelet as long as or longer than sterile lemmas.....	<b>O. longiglumis</b>
5b. Ligule long, tip acute, auricles hairy, spikelet shorter than sterile lemmas.....	<b>O. ridleyi</b>
6a. Sterile lemma almost as long as the fertile lemma.....	<b>O. grandiglumis</b>
6b. Sterile lemma much shorter than the fertile lemma.....	8
7a. Panicle base usually with 2 or more (often 3–5) equally long branches.....	<b>O. punctata</b>
7b. Panicle base lacking whorl of branches, usually 1–2 branches.....	9
8a. Leaves narrower than 5 cm; spikelets shorter than 7 mm.....	<b>O. latifolia</b>
8b. Leaves wider than 5 cm; spikelets longer than 7 mm.....	<b>O. alta</b>
9a. Ligule glabrous.....	<b>O. minuta</b>
9b. Ligule hairy in upper margin.....	<b>O. malampuzhaensis</b>

## 2 稻属多倍体的起源和网状进化

稻属多倍体不但种类多、全部异源起源、涉及了4种不同的染色体组构成,而且地理分布样式复杂,这些特点使这些多倍体的起源和进化也呈现出多种多样的进化规律,特别是在含BC染色体组的物种中甚至出现网状进化的现象(Wang et al., 1992; Aggarwal et al., 1997; Ge et al., 1999)。

最早涉及这些四倍体起源问题的研究来自叶绿体DNA资料。在比较了栽培稻和野生稻中叶绿体DNA分子多样性后, Dally和Second (1990)指出, BC染色体组物种具有不同的起源方式,其中四倍体*O. punctata*和C染色体组的二倍体表现出较近的遗传关系,而四倍体*O. minuta*和*O. malampuzhaensis*却和B染色体组的二倍体表现出类似的遗传关系。根据稻属叶绿体母系遗传的特点, Dally和Second (1990)首次提出稻属BC染色体组物种非单系起源的观点。其后, Wang等(1992)通过核基因的RFLP,在分析稻属21个种93个样品多态性和系统发育关系的基础上,利用遗传距离作为标准,推测了稻属多倍体和所有现存二倍体的遗传关系,认为3个BBCC四倍体种*O. punctata*、*O. minuta*和*O. malampuzhaensis*或者是各自单独起源或者是经历了同域具C染色体组的二倍体的基因渗入。Ge等(1999)充分利用叶绿体在稻属中的母系遗传以及核基因的双亲遗传的特点,通过一个叶绿体片段和两个低拷贝核基因全面探讨了稻属的系统发育关系,首次从

多基因序列比较的角度阐述了异源四倍体的起源问题。特别提出BC染色体组物种具有网状的分子进化模式,即不同BBCC物种分别具有B染色体组或C染色体组的母系亲本来源。Aggarwal等(1999)利用RAPD的指纹图谱研究了稻属的系统发育关系,并进一步提出BBCC四倍体的*O. minuta*/*O. malampuzhaensis*和*O. punctata*的CC二倍体祖先可能分别是来自亚洲的*O. officinalis*和来自非洲的*O. eichingeri*。最近,利用微卫星标记(Bao et al., 2006),我们发现BBCC四倍体的起源似乎和其分布地有密切关系。*O. minuta*与同在亚洲分布的*O. officinalis*,以及*O. malampuzhaensis*与斯里兰卡分布的*O. eichingeri*和*O. rhizomatis*表现出较近的亲缘关系,而分布在非洲的*O. punctata*也和同域分布的*O. eichingeri*表现出密切的谱系关系。

关于CCDD物种的起源问题,以Wang等(1992)、Aggarwal等(1999)和Ge等(1999)为代表的研究支持3个CCDD四倍体起源于一次成种事件,它们的母本是具有C染色体组的物种,父本是具有D染色体组的物种,并且倾向于支持D染色体组和现存于二倍体*O. australiensis*中的E染色体组具有较近的遗传关系。但是,利用全染色体组原位杂交的方法, Fukui等(1997)却发现,以标记的CC染色体组(来自二倍体的*O. officinalis*)的总DNA为探针,同CCDD染色体组(*O. latifolia*)的中期染色体杂交,杂交信号的强度在C和D染色体组之间没有明显差异。因此, Fukui等(1997)推测, C和D染色体组在核苷酸



序列上存在着高度的同源性, 并认为D染色体组可能起源于C染色体组。Li等(2001)利用同样的技术进一步发现, E染色体组和C以及D染色体组相比, 其分化程度都相当大, 因此推测E染色体组不可能是CCDD四倍体物种的直接祖先。但是根据3个低拷贝核基因*Adh1*、*Adh2*和*GPA1*构建的分别和合并的系统发育树(Bao & Ge, 2004), 我们发现D和E染色体组具有非常密切的系统发育关系。图2是基于上述3个基因合并数据构建的最简约系统发育树, 从这棵树可以看出, 3个CCDD四倍体物种是以100%的支持率毫无争议地和E染色体组的物种聚合在一个共同的分支中的。由于*GPA1*和*Adh*是没有直接关联的核基因, 由它构建的系统发育树进一步印证了我们以往的只根据*Adh*基因进行系统发育分析得到的观点, 即两个染色体组是来自同一最近的祖先。

对于含HJ和HK染色体组的多倍体, 目前没有任何证据提供这些染色体组的可能来源。Ge等(1999)分别构建的*Adh1*、*Adh2*和*matK*基因系统发育树上都清楚地表明, 这些染色体组和稻属内现存所有二倍体都没有明显的遗传关系, 因此推测含H、J和K的二倍体物种或者已灭绝或者还没有被发现。

### 3 稻属多倍体研究中存在的问题

尽管经过几代植物系统学家的不懈努力, 稻属多倍体起源和系统发育关系的基本框架已经形成(Tateoka, 1963; Nayar, 1973; Vaughan, 1989, 1994, 2003a, b; Dally & Second, 1990; Wang et al., 1992; Aggarwal et al., 1997, 1999; Fukui et al., 1997; Ge et al., 1999, 2001a, b; Buso et al., 2001; Li et al., 2001a, b; 卢宝荣等, 2001; Bao & Ge, 2003a, b, 2004; Guo & Ge, 2004; Bao et al., 2005), 但一些系统发育的细节问题以及各类群的起源和扩散模式仍然没有解决。

#### 3.1 分类和物种鉴定的困难

稻属多倍体物种的分类和鉴定非常困难, 特别是当把那些同域分布的二倍体物种或细胞型考虑在内时, 这种现象尤其严重。例如, 在非洲广泛分布的异源四倍体*O. punctata*和本地另外一个二倍体物种*O. eichingeri*有着非常相近的形态特征, 必须综合多项指标, 如小穗宽度, 叶舌长度、质地、颜色、分裂否, 秆基部直径、硬度、是否海绵质, 芒

弯曲否、是否有细毛, 圆锥花序的形式, 以及外稃的形状等等(Tateoka, 1965a)才能将它们分开。即使这样, 由于自然杂交和基因渗入, 它们之间的中间类型也常出现, 无疑增加了分类的难度。另外, *O. punctata*还具有二倍体细胞型, 在形态上也和上述植物彼此交叉, 同时*O. eichingeri*中是否存在四倍体也众说纷纭(Tateoka, 1965b; Hu et al., 1970; Vaughan, 1989, 1994), 这些都造成了四倍体*O. punctata*鉴定和利用的难度。类似情况也发生在四倍体*O. malampuzhaensis*、*O. minuta*和二倍体*O. officinalis*之间。对于只有四倍体的美洲CCDD多倍体物种, 因为形态、地理分布的交叉更为明显, 分类和鉴定它们同样困难。

#### 3.2 多倍体物种复杂的物种起源

尽管在研究整个稻属的系统发育关系时, 许多学者(Wang et al., 1992; Aggawal et al., 1996, 1999; Ge et al., 1999)都涉及稻属多倍体的起源, 但由于这些研究均着眼于整个稻属或染色体组, 一些关键性的问题仍有待深入探讨。

BC染色体组的物种包括分布在亚洲的*O. malampuzhaensis*和同时分布在亚洲和大洋洲的*O. minuta*以及分布在非洲的*O. punctata*。叶绿体分子资料(Dally & Second, 1990; Ge et al., 1999)表明, 这3种四倍体具有不同的母本, *O. malampuzhaensis*、*O. minuta*的母本染色体组为B, 而*O. punctata*的母本染色体组为C。由于具有染色体组B的二倍体(*O. punctata*)只在非洲分布, 具有染色体组C的二倍体又涉及3个物种(表1), 其中*O. officinalis*和*O. rhizomatis*分布在亚洲, 而*O. eichingeri*除主要分布在非洲外, 也间断分布在亚洲的斯里兰卡。因此具有不同分布区的3个BBCC四倍体是如何起源并成为如今的分布格局就显得十分复杂。

同样的疑问也出现在CD染色体组的物种中。稻属中CCDD物种包括3个物种, 其中分布最广的*O. latifolia*仅局限在中美洲和南美洲以及加勒比群岛。另两个种*O. alta*和*O. grandiglumis*只在南美洲亚马逊河流域发现(Vaughan, 1989, 1994)。早期曾通过观察种间杂种减数分裂中期的染色体配对行为来确定染色体组, 结果表明, 这3个四倍体物种中包含了2个异源染色体组C和D (Morinaga, 1964; Nayar, 1973)。那么, 按照一般的规律, 这些CCDD物种最可能由含C和D染色体组的二倍体物种杂交和多倍

化形成。但是,在稻属现存的物种中,只找到3个含C染色体组的二倍体物种(表1),而且都分布在美洲大陆以外。有关这3个含C染色体组的二倍体物种如何和美洲的CCDD物种发生联系,而且各自在CCDD物种形成中承担了什么样的角色等,是CCDD物种起源中比较难于理解的问题;使这一问题更为复杂的是,尽管在世界范围内开展了大量的调查和收集,目前在稻属中仍没有发现含D染色体组的二倍体物种(Vaughan, 1989; Fukui et al., 1997),即D染色体组仅在美洲的3个四倍体物种中存在(表1)。那么D染色体组是如何进入到这些物种体内自然成为CCDD物种起源中更引人注意的难题。尽管如前所述,有许多关于D染色体组起源的争论,但彼此矛盾的结果使人们对这一问题一直没有达成共识。根据叶绿体基因和多个基因序列的综合研究(Bao & Ge, 2004),我们发现亚洲的CC二倍体物种(*O. officinalis*和*O. rhizomatis*)与CCDD物种中的C具有更近的亲缘关系,而染色体组E和D更可能来自共同的祖先。但是正如前面提到的,这些分布在亚洲的C和分布在大洋洲的E(D)染色体组的可能祖先是在何时何地进行杂交并多倍化成种,又是如何散布到美洲大陆等问题依然悬而未决。最近,Zhang和Ge(2007)采用多基因序列的群体遗传学分析,探讨了3个二倍体C染色体组物种的遗传多样性和物种形成方式,为进一步探讨含C染色体组多倍体的起源和进化提供了有益的资料。

由于目前仍没有找到合适的二倍体物种作为参照,使含HJ和HK染色体组多倍体的起源和分子进化成为稻属中最让人困惑的难题。针对以上研究中存在的问题,我们认为应该在以下几个方面加大研究的力度:(1)重视传统的形态分类,在寻找关键性状上狠下工夫;同时结合分子生物学手段,充分利用分子标记简单、准确、快捷和不受植物生长周期限制等优势发展合适的分子鉴定体系;(2)开展更为广泛的资源调查,和国外相关机构密切合作,彻底理清稻属植物在全球的分布状况;(3)寻找合适的基因、DNA片段甚至可以通过全基因组的资料进行比较分析,从分子角度整理多倍体起源的信息;(4)综合化石和分子证据,深入开展多倍体的生物地理学研究。

稻属多倍体的研究成果不仅对于理解有花植物的物种形成和进化具有理论意义,同时稻属作为

水稻遗传改良的重要基因源,理解其多倍体的起源和分子进化机制,对于指导栽培稻的分子育种也具有重要的实践意义。

**致谢** 国家自然科学基金(30470124, 30430030),教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-06-0609),山东省博士基金(2007BS08020),山东省“十一五”重点学科项目,曲阜师范大学博士科研启动基金资助,特此致谢。

## 参考文献

- Aggarwal RK, Brar DS, Huang N, Khush GS. 1996. Differentiation within CCDD genome species in the genus *Oryza* as revealed by total genomic hybridization and RFLP analysis. *Rice Genetics Newsletter* 13: 54-57.
- Aggarwal RK, Brar DS, Huang N, Khush GS. 1997. Two new genomes in the *Oryza* complex identified on the basis of molecular divergence analysis using total genomic DNA hybridization. *Molecular and General Genetics* 254: 1-12.
- Aggarwal RK, Brar DS, Nandi S, Huang N, Khush GS. 1999. Phylogenetic relationships among *Oryza* species revealed by AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 1320-1328.
- Amante-Bordeos A, Sitch LA, Nelson R, Dalmacio RD, Oliva NP, Aswidinor H, Leung H. 1992. Transfer of bacterial blight and blast resistance from the tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa*. *Theoretical and Applied Genetics* 84: 345-354.
- Backer CA. 1946. Wild species of *Oryza* in Malaya Archipelago. *Blumea* 3 (Suppl.): 45-55.
- Bao Y (包颖), Ge S (葛颂). 2003a. Phylogenetic relationships among diploid species of *Oryza officinalis* complex revealed by multiple gene sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 41: 497-508.
- Bao Y, Ge S. 2003b. Identification of *Oryza* species with the CD genome based on RFLP analysis of nuclear ribosomal ITS sequences. *Acta Botanica Sinica* 45: 752-756.
- Bao Y, Ge S. 2004. Origin and phylogeny of *Oryza* species with the CD genome based on multiple-gene sequence data. *Plant Systematics and Evolution* 249: 55-66.
- Bao Y, Lu B-R, Ge S. 2005. Identification of genomic constitutions of *Oryza* species with the B and C genomes by the PCR-RFLP method. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 69-76.
- Bao Y, Zhou H-F, Hong D-Y, Ge S. 2006. Genetic diversity and evolutionary relationships of *Oryza* species with the B- and C-genomes as revealed by SSR markers. *Journal of Plant Biology* 49: 339-347.
- Brar DS, Dalmacio RD, Elloran RM, Aggarwal R, Angeles R, Khush GS. 1996. Gene transfer and molecular characterization of introgression from wild *Oryza* species into rice. In: Khush G S ed. *Rice genetics III*. Manila, the Philippines: International Rice Research Institute. 477-485.
- Brar DS, Elloran RM, Talag JD, Abbasi F, Khush GS. 1998. Cytogenetic and molecular characterization of an



- intergeneric hybrid between *Oryza sativa* and *Porteresia coarctata* (Roxb.) Tateoka. Rice Genetics Newsletters 15: 43–45.
- Buso GSC, Rangel PH, Ferreira ME. 2001. Analysis of random and specific sequences of nuclear and cytoplasmic DNA in diploid and tetraploid American wild rice species (*Oryza* spp.). Genome 44: 476–494.
- Dally AM, Second G. 1990. Chloroplast DNA diversity in wild and cultivated species of rice (genus *Oryza*, section *Oryza*). Cladistic mutation and genetic distance analysis. Theoretical and Applied Genetics 80: 209–222.
- Duistermaat H. 1987. A revision of *Oryza* (Gramineae) in Malaysia and Australia. Glumea 32: 157–198.
- Federici MT, Shcherban AB, Capdevielle F, Francis M, Vaughan D. 2002. Analysis of genetic diversity in the *Oryza officinalis* complex. Biotechniques 5: 173–181.
- Fukui K, Shishido R, Kinoshita T. 1997. Identification of the rice D-genome chromosomes by genomic *in situ* hybridisation. Theoretical and Applied Genetics 95: 1239–1245.
- Ge S, Guo Y-L, Zhu Q-H. 2005. Molecular phylogeny and divergence of the rice tribe (Oryzaceae), with special reference to the origin of the genus *Oryza*. In: Toriyama K, Heong K L, Hardy B eds. Rice is life: scientific perspectives for the 21st century. Los Banos, the Philippines: International Rice Research Institute. 40–44.
- Ge S, Li A, Lu B-R, Zhang S-Z, Hong D-Y. 2002. A phylogeny of the rice tribe Oryzaceae based on *matK* sequence data. American Journal of Botany 89: 1967–1972.
- Ge S, Sang T, Lu B-R, Hong D-Y. 1999. Phylogeny of rice genomes with emphasis on origins of allotetraploid species. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 96: 14400–14405.
- Ge S, Sang T, Lu B-R, Hong D-Y. 2001a. Rapid and reliable identification of rice genomes by RFLP analysis of PCR-amplified *Adh* genes. Genome 44: 1136–1142.
- Ge S, Sang T, Lu B-R, Hong D-Y. 2001b. Phylogeny of the genus *Oryza* as revealed by molecular approaches. In: Khush GS, Brar DS, Hardy B eds. Rice genetics IV. Proceedings of the Fourth International Rice Genetics Symposium. Los Banos, the Philippines: International Rice Research Institute. 89–105.
- Gopalakrishnan R, Sampath S. 1967. Taxonomic status and the origin of American tetraploid species of the series Latifoliae Tateoka in the genus *Oryza*. Indian Journal of Agricultural Science 37: 465–475.
- Guo Y-L (郭亚龙), Ge S (葛颂). 2004. The utility of mitochondrial nad1 intron in phylogenetic study of Oryzaceae with reference to the systematic position of *Porteresia*. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 42: 333–344.
- Guo Y-L, Ge S. 2005. Molecular phylogeny of Oryzaceae (Poaceae) based on DNA sequences from chloroplast, mitochondrial, and nuclear genomes. American Journal of Botany 92: 1548–1558.
- Hu CH. 1970. Cytogenetic studies of *Oryza officinalis* complex. III. The genomic constitution of *O. punctata* and *O. eichingeri*. Cytologia 35: 304–318.
- Jena KK. 1994. Development of intergeneric hybrid between *O. sativa* and *Porteresia coarctata*. Rice Genetics Newsletter 11: 78–79.
- Joseph L, Kuriachan P, Kalyanaraman K. 1999. Collection and evaluation of the tetraploid *Oryza officinalis* Wall ex Watgt (*O. malampuzhaensis* Krish. et Chand.) endemic to Western Ghats, India. Genetic Resources and Crop Evolution 46: 531–541.
- Krishnaswamy N, Chandrasekharan P. 1958. A new species of *Oryza* L. Madras Agricultural Journal 45: 471–472.
- Li C-B, Zhang D-M, Ge S, Lu B-R, Hong D-Y. 2001a. Differentiation and inter-genomic relationships among C, E and D genomes in the *Oryza officinalis* complex (Poaceae) as revealed by multicolor genomic *in situ* hybridization. Theoretical and Applied Genetics 103: 197–203.
- Li C-B, Zhang D-M, Ge S, Lu B-R, Hong D-Y. 2001b. Identification of genome constitution of *Oryza malampuzhaensis*, *O. minuta*, and *O. punctata* by multicolor genomic *in situ* hybridization. Theoretical and Applied Genetics 103: 204–211.
- Liu L (刘亮), Zhu T-P (朱太平), Chen W-L (陈文俐). 2002. *Oryza* Linn. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press. 9 (2): 3.
- Lu B-R (卢宝荣), Ge S (葛颂), Sang T (桑涛), Chen J-K (陈家宽), Hong D-Y (洪德元). 2001. The current taxonomy and perplexity of the genus *Oryza* (Poaceae). Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 39: 373–388.
- Lu B-R, Ge S. 2005. Taxonomic treatment of *Porteresia coarctata* (Poaceae: Oryzaceae). Nordic Journal of Botany 23: 555–558.
- Morinaga T. 1964. Cytogenetical investigations on *Oryza* species. In: IRRRI ed. Rice genetics and cytogenetics. Amsterdam: Elsevier. 91–102.
- Morishima H, Sano Y, Oka H I. 1992. Evolutionary studies in cultivated rice and its wild relatives. Oxford Surveys in Evolutionary Biology 8: 135–184.
- Multani DS, Khush GS, delos Reyes BG, Brar DS. 2003. Alien gene introgression and development of monosomic alien addition lines from *Oryza latifolia* Desv. to rice, *Oryza sativa* L. Theoretical and Applied Genetics 107: 395–405.
- Naredo MEB, Juliano AB, Lu B-R, Jackson MT. 2003. The taxonomic status of the wild rice species *Oryza ridleyi* Hook. f. and *O. longiglumis* Jansen (ser. *Ridleyanae* Sharma et Shastri) from Southeast Asia. Genetic Resources and Crop Evolution 50: 477–488.
- Nayar NM. 1973. Origin and cytogenetics of rice. In: Caspari EW ed. Advances in genetics. New York, London: Academic Press.
- Prodoehl A. 1922. Oryzaceae monographice describuntur. Botanical Archives 1: 211–224, 231–256.
- Roschevich RI. 1931. A contribution to the study of rice. Bulletin of Applied Botany, of Genetics and Plant Breeding 27: 3–133.
- Sano Y. 1980. Adaptive strategies compared between the diploid and tetraploid forms of *Oryza punctata*. Botanical Magazine of Tokyo 93: 171–180.
- Sarker RH, Samad MA, Seraj ZI, Hoque MI, Islam AS. 1993. Pollen-tube growth in crosses between *Porteresia coarctata* and *Oryza sativa*. Euphytica 69: 129–134.
- Tateoka T. 1962. Taxonomic studies of *Oryza* I. *O. latifolia* complex. Botanical Magazine of Tokyo 75: 418–427.
- Tateoka T. 1963. Taxonomic studies of *Oryza* III. Key to the

- species and their enumeration. Botanical Magazine of Tokyo 76: 165–173.
- Tateoka T. 1965a. A taxonomic study of *Oryza eichingeri* and *O. punctata*. Botanical Magazine of Tokyo 78: 156–163.
- Tateoka T. 1965b. Taxonomic and chromosome number of African representatives of the *Oryza officinalis* complex. Botanical Magazine of Tokyo 78: 198–201.
- Tateoka T. 1965c. *Porteresia*, a new genus of Gramineae. Bulletin of the National Museum, Tokyo 8: 405–406.
- Thomas G, Joseph L, Varghese G, Kalyanaraman K, Philomena K, Das MR. 2001. Discrimination between *Oryza malampuzhaensis* Krish. et Chand. and *Oryza officinalis* Wall ex Watt based on RPAD markers and morphological traits. Euphytica 122: 181–189.
- Vaughan DA. 1989. The genus *Oryza* L., current status of taxonomy. IRRT Res. Paper Ser. no. 138.
- Vaughan DA. 1990. The relatives of rice in Papua New Guinea. Report of collaborative germplasm collecting in Papua New Guinea between the Department of Primary Industry and IRRI. Mimeographed. IRRI library.
- Vaughan DA. 1994. Wild relative of rice: genetic resources handbook. Manila, Philippines: International Rice Research Institute.
- Vaughan DA. 2003. Biosystematics of the genus *Oryza*. In: Smith CW ed. Rice: origin, history, technology, and production. Hoboken: John Wiley & Sons, Incorporation.
- Vaughan DA, Morishima H, Kadowaki K. 2003. Diversity in the *Oryza* genus. Current Opinion in Plant Biology 16: 139–146.
- Wang ZY, Second G, Tanksley SD. 1992. Polymorphism and phylogenetic relationships among species in the genus *Oryza* as determined by analysis of nuclear RFLPs. Theoretical and Applied Genetics 83: 565–581.
- Zhang L-B, Ge S. 2007. Multilocus analysis of nucleotide variation and speciation in *Oryza officinalis* and its close relatives. Molecular Biology and Evolution 24: 769–783.