

知識天地

水稻的親戚—野生稻

鍾美珠研究員 (植物暨微生物學研究所)

當你在院區散步走過生態池旁的實驗田時，一定曾經好奇那一叢一叢看似水稻的「雜草」是甚麼？它們是水稻的親戚—野生稻。

農民栽種的水稻學名為*Oryza sativa*，分類學上屬於禾本科(Poaceae)之稻屬(*Oryza*)，稱為亞洲栽培稻，分布在亞洲地區及除了非洲以外的世界各地。在非洲地區栽種的水稻為*Oryza glaberrima*，稱為非洲栽培稻。除了這兩個栽培稻物種(domesticated species)外，還有22個野生稻物種(wild species)，分布遍及亞洲、非洲及中南美洲。亞洲栽培稻可分成秈稻(ssp. *indica*)、粳稻(ssp. *japonica*)和分布在印尼的爪哇稻(ssp. *javanica*)等三個亞種。秈稻俗稱在來稻，穀粒細長，而粳稻就是我們熟知的蓬萊米，粒型較為圓短。胚乳(白米)的澱粉中的直鏈澱粉(amylose)及支鏈澱粉(amylopectin)的比例會影響米飯的口感，粳米的澱粉中含有支鏈澱粉的比例較秈米為高，因此粳米飯比較軟黏，秈米飯則較為乾鬆。廣受消費者喜愛、吃起來有點黏又不太黏的臺梗九號米是秈粳雜交的後代，為臺中區農業改良場選育命名的品種(cultivar)。用來製作各式點心的糯米有長糯(秈)和圓糯(粳)兩種，所煮成的糯米飯比秈/粳米飯更為軟黏。受單一突變基因(糯性基因，*waxy*)影響，糯米胚乳的澱粉以支鏈澱粉為主，直鏈澱粉含量少於3%。養生五穀飯中的紫米也是基因突變種，有大量的花青素累積在種皮細胞。有些突變種甚至全株植物都呈現紫色，你是否想起來曾經在實驗田看見過這樣的紫稻？

依染色體的數目和彼此間雜交產生後代的難度、雜交後代之染色體配對的比例和基因轉移的難度等，24個稻物種可分成十個基因組型，二元體物種(diploid, $2n=24$)分為AA、BB、CC、EE、FF和GG等六型，異源四元體(allotetraploid, $2n=48$)則分為BBCC、CCDD、JJHH和JJKK等四型。稻屬各物種的核型(karyotype)相似，依據染色體的數目和染色體的形態無法辨識所屬物種，在演化中染色體結構顯然未曾經歷過大規模的改變。然而，稻屬各物種的基因組大小(genome size)[註1]差異頗大，例如，基因組最小的是非洲栽培稻(AA, 357 Mb)，最大者為*O. ridleyi* (HHJJ, 1,283 Mb)，兩者之間的差異達3.6倍。高等生物基因組含有大量不同類型的重複序列(repetitive sequences)，以各式各樣的組合、重複次數及編組(organization)構築成不同的基因組。理論上，近緣物種之間基因組的相似度會比遠緣物種間來得高些。基因組內重複序列的種類和重複次數的不同可能使得近緣物種之間基因組有明顯的差異，有些重複序列可能只出現在某一基因組或聚集在某特定染色體上，而成為基因組專一或染色體專一的分子標記。這類具有專一性的分子標記序列可用來辨識基因組或染色體、研究物種演化的親緣關係或追蹤親本基因組在種間雜交後代的痕跡。

傳統細胞遺傳學研究中常以核仁染色體(nucleolar chromosome)作為標竿(landmark)來探討近緣物種的染色體演化，因為核仁染色體上經常附著一個核仁(nucleolus)或呈現次縊痕(secondary constriction)[註2]，相對容易辨認。事實上，在和核仁相連的染色體片段上有數百甚至上千個核糖體RNA(ribosomal RNA, rRNA)基因(rDNA)串連排列聚集於此。這些rDNA轉錄產生45S rRNA前驅物，包含三個rRNA分子(18S, 5.8S, 25-28S)和兩個轉錄區間隔(internal transcribed spacer, ITS1/ITS2)。經過轉錄修飾作用，這三種rRNA分子和由另一個基因轉錄產生的5S rRNA分子以及多種蛋白質組成核仁，並在此組裝核糖體(ribosome)，因此，這個有一長串45S rDNA聚集的染色體片段稱為核仁導體區(nucleolar organizing region, NOR)。由於45S rDNA的轉錄及轉錄後修飾作用包括一些特殊的嗜銀蛋白，因此，利用硝酸銀染色法可以標示NOR在染色體上的位置。以一般的染色方法觀察染色體時，染色體上次縊痕的位置顏色較為淺淡，這是因為NOR的rDNA仍維持在「轉錄中」，故染色體較為鬆散。換句話說，依據染色體上核仁附著的位置(NOR)、次縊痕的位置或硝酸銀染色結果等所能辨認的為具有轉錄活性的rDNA基因座。越來越多的報導指



圖1 各種野生稻的穀粒(穎果, caryopsis)。

出在單套基因組內可能有一個以上的rDNA基因座，而且，並非每一個rDNA基因座均可進行轉錄。基因組內若有多個rDNA基因座，轉錄活性的調控機制十分複雜，在此按下不談。然而，基因組內出現多個rDNA基因座以及在近緣物種間rDNA基因座的數目及位置可能有明顯的差異等等證據指出rDNA的變異可能為物種演化中的一環。

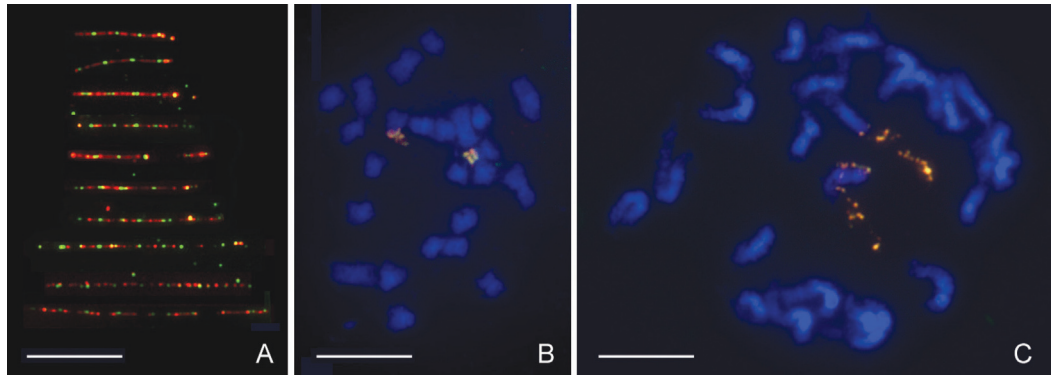


圖2 [A]FISH訊號顯示45S rDNA(紅色, 4kb)間雜著IGS(綠色, 1kb)成串排列在染色體細絲上。[B,C]以FISH標記45S rDNA基因座(紅色)和IGS序列(綠色)在[B] *O. brachyantha* (362 Mb)和[C] *O. australiensis* (965 Mb)的染色體(藍色)上的位置。在同樣的倍率下，染色體的大小說明兩者基因組大小的差別。(標尺=10 μm)

近代的細胞遺傳學研究利用DNA 雙螺旋結構中鹼基互補配對的特性以螢光原位雜合技術(fluorescence in situ hybridization, FISH)標記DNA片段在染色體上的位置，因其準確度及靈敏度與基因的轉錄活性無關，近來被廣為利用來偵測rDNA在染色體上的位置。我們的FISH結果顯示，45S rDNA基因座之數目和位置在稻屬各物種間的變異兼具分歧與保守的特質。例如，在所有的稻物種的第九對染色體短臂的末端均有45S rDNA基因座(保守)，不同的稻物種各有1~8對的45S rDNA基因座(分歧)。有些45S rDNA基因座的位置為基因組所特有，例如，在第四對染色體短臂的末端的rDNA基因座只出現在BB基因型物種，在第五對染色體短臂的末端的rDNA基因座為CC基因型物種所特有。在第十對染色體短臂的末端的rDNA基因座出現在AA、BB和CC基因型物種，然而在梗稻(AA)和非洲栽培稻(AA)卻已缺失。這些結果也說明在水稻物種的演化過程中雖未見有大規模的染色體結構改變，但可確信曾經有過基因擴增、缺失、移位(transposition)及倒置(inversion)等事件(Chung *et al.*, 2008)。

事實上，比起基因座的數目和位置的變異，rDNA序列上的分歧更是廣泛地被引用來探討物種的親緣關係，因為在rDNA的轉錄區(45S rDNA)，尤其是基因的編碼區(18S, 5.8S, 25-28S rDNA)的核苷酸序列非常保守，即使在遠緣物種間亦頗為相似，但是在串連排列的rDNA之間的非轉錄基因間隔(intergenic spacer, IGS)之核苷酸序列就相對分歧。我們發現*O. australiensis* (EE)和*O. brachyantha* (FF)等兩個野生稻的IGS之核苷酸序列和結構與其他稻物種截然不同。在分類上，*O. australiensis* (EE)和基因組為AA的物種(包括栽培稻)以及基因組為BB的物種相近，而*O. brachyantha* (FF)則和所有的水稻物種都屬遠緣關係。有趣的是，兩者只有一對45S rDNA基因座位在第九對染色體短臂的末端，和梗稻(AA)及非洲栽培稻(AA)一樣。還有，*O. australiensis* (EE)的基因組為965 Mb而*O. brachyantha* (FF)只有362 Mb，兩者基因組大小差異懸殊(2.7倍)。這些結果說明，IGS的歧異化也參與稻屬物種的演化(Chang *et al.*, 2010)。

野生稻具有一些包括抗病蟲害和抗逆境等重要的農藝性狀，但是要將這些基因轉移至栽培水稻品種中仍非一蹴可幾。因此，在栽培稻之全基因組DNA序列解讀完成之後(IRGSP, 2005)，比較稻屬各物種基因組的計畫(Oryza Map Alignment Project, OMAP)接著展開(Wing *et al.*, 2005)。OMAP將解讀11野生稻和非洲栽培稻的基因組序列，目標為瞭解稻物種的親緣演化關係以及比較稻物種的基因連鎖圖，進而尋找分子標記用以輔助育種選拔和選殖重要性狀的基因。我們利用RAPD (random amplified polymorphic DNA) 方法、基因組分析及FISH定位得到三個BB基因組特有的重複序列，核苷酸序列顯示這三個基因組專一性重複序列各為不同逆轉錄轉位子(Ty3-gypsy retrotransposons)的部份片段。一般認為，逆轉錄轉位子為種化過程(speciation)中的要角，某些逆轉錄轉位子的擴增/消滅會改變基因組的大小，也可能成為物種特有的重複序列(基因組專一性之分子標記)，而逆轉錄轉位子的移位會改變基因組的編組。這三個BB基因組特有的分子標記可以輔助種間雜交育種工作，用來追蹤在雜交後代中BB基

因組轉移或漸滲(genome introgression)的程度(Cheng *et al.*, 2007; Fang *et al.*, 2011)。

目前，在分生所及生化所前原有的實驗田正進行院區環境改善工程，不久之後除了實驗田的規模將會縮減，四分溪畔將展現不同的風貌，當您走過時，別忘了停下腳步，看看這些來自不同地區的野生稻!

註1：高等生物體細胞之細胞核含有兩套基因組(2n)，以單套基因組(n)的DNA含量(mega base-pairs, Mb)定義為基因組的大小(genome size)。

註2：主縊痕(primary constriction)為中節(centromere)。

參考文獻

Chang KD, *et al.*, *Genomics* 96(2010), 181-190.

Cheng YY, *et al.*, *Botanical Studies* 48 (2007) 263-271.

Chung MC, *et al.*, *Theor Appl Genet* 116 (2008) 745-753.

Fang SA, *et al.*, *Plant Science* 181 (2011) 300-308.

International Rice Genome Sequencing Project (IRGSP). *Nature* 436 (2005) 793-800.

Wing RA, *et al.*, *Plant Mol. Bio.* 59 (2005) 53-62.