

# 黑龙江省部分育成粳稻资源的遗传多样性分析

刘丹<sup>1,2</sup>, 王嘉宇<sup>2</sup>, 刘进<sup>3</sup>, 孙玉友<sup>1</sup>, 柴永山<sup>4</sup>, 魏才强<sup>1</sup>, 解忠<sup>1</sup>,  
李洪亮<sup>1</sup>, 程杜娟<sup>1</sup>, 徐德海<sup>1</sup>, 冯章丽<sup>1</sup>, 陈温福<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 黑龙江省农业科学院牡丹江分院, 牡丹江 157041; <sup>2</sup> 沈阳农业大学水稻研究所, 沈阳 110866;

<sup>3</sup> 江西省农业科学院水稻研究所, 南昌 330200; <sup>4</sup> 黑龙江省农业科学院, 哈尔滨 150086)

**摘要:** 为了阐明黑龙江省不同育种单位育成粳稻间的亲缘关系, 本研究利用 45 对 SSR 多态性分子标记对收集于黑龙江省 8 个育种单位的 104 份粳稻资源的遗传多样性和群体结构进行了分析。结果表明, 上述标记能够高效鉴别参试材料的多样性水平, 共检测到 154 个等位基因, 每个位点检测等位基因 ( $N_a$ ) 变异范围为 2~8, 平均为 3.42; 基因多样性指数 ( $H$ ) 变异范围为 0.02~0.77, 平均为 0.38; 多态性信息含量 ( $PIC$ ) 变异范围为 0.02~0.73, 平均为 0.34。进一步分析发现, 黑龙江省农业科学院黑河分院育成材料的遗传多样性水平较高, 平均多态性信息含量 ( $PIC$ ) 为 0.33, 而东北农业大学育成材料的多样性水平较低, 平均多态性信息含量 ( $PIC$ ) 为 0.18。UPGMA 聚类分析和遗传结构分析表明, 黑龙江省农业科学院黑河分院材料与其他单位材料间亲缘关系较远, 而黑龙江省农垦科学院水稻研究所与黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所的材料间亲缘关系则较近。建议在今后的育种中, 应该加强引入亲缘关系较远的外单位水稻种质资源用作杂交亲本, 以期丰富本地区粳稻的遗传多样性水平。

**关键词:** 粳稻; 遗传多样性; SSR; 黑龙江省; 育种单位

## Analysis on Genetic Diversity for Part of Japonica Resources in Heilongjiang Province

LIU Dan<sup>1,2</sup>, WANG Jia-yu<sup>2</sup>, LIU Jin<sup>3</sup>, SUN Yu-you<sup>1</sup>, CHAI Yong-shan<sup>4</sup>, WEI Cai-qiang<sup>1</sup>, XIE Zhong<sup>1</sup>,  
LI Hong-liang<sup>1</sup>, CHENG Du-juan<sup>1</sup>, XU De-hai<sup>1</sup>, FENG Zhang-li<sup>1</sup>, CHEN Wen-fu<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> *Mudanjiang Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang 157041;*

<sup>2</sup> *Rice Research Institute of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866;*

<sup>3</sup> *Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200;*

<sup>4</sup> *Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Haerbin 150086*)

**Abstract:** The objective of this paper is to clarify the genetic relationship of japonica rice resources from different breeding units of Heilongjiang province. Genetic diversity and population structure of 104 japonica rice which collected from 8 different breeding units were analyzed by 45 pairs of polymorphisms molecular markers in this study. The results showed that all selected markers can be applied extensively for the genetic diversity level of rice, a total of 154 alleles were detected between these varieties, and the alleles ( $N_a$ ) per locus ranged from 2 to 8 with the mean value of 3.42. The gene diversity indices ( $H$ ) varied from 0.02 to 0.77 with an average

收稿日期: 2018-07-25 修回日期: 2018-09-04 网络出版日期: 2018-10-18

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20181017.1441.007.html>

第一作者研究方向为水稻种质资源利用, E-mail: rice\_ld@163.com

通信作者: 王嘉宇, 研究方向为水稻分子设计育种, E-mail: ricewjy@126.com

**基金项目:** 黑龙江省农业科学院基金项目 (2018YYYF007); 黑龙江省农业科学院牡丹江分院青年基金项目 (mdj-2017); 黑龙江省农业科学院博士科研启动金项目 (201507-52); 国家水稻产业技术体系建设专项 (CARS-01-41); 国家重点研发计划重点专项 (SQ2018YFD030041)

**Foundation project:** Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Fund Project (2018YYYF007), Youth Fund Project for Mudanjiang Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences (mdj-2017), PhD Research Startup Foundation of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences (201507-52), Construction Project of National Rice Industrial Technology System (CARS-01-41), National Program on Key Research Project of China (SQ2018YFD030041)

of 0.38. The polymorphism information content ( $PIC$ ) was changed from 0.02 to 0.73 with the average of 0.34. Further analysis found that the genetic diversity of rice varieties from Heihe Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences was highest, while the Northeast Agricultural University was lowest, the polymorphism information content ( $PIC$ ) were 0.33 and 0.18, respectively. UPGMA Cluster and genetic structure analysis indicated that the rice cultivars had further relationships between Heihe Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences and the other units, while there were closer relationship between Rice institute of Heilongjiang Agricultural Reclamation Academy and Jiamusi Rice Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences. Thus, it is suggested that the breeders should strengthen the utilization efficiency of hybrid parents with large genetic differences from other units in future, so that it is possible to enrich the rice genetic diversity in this region.

**Key words:** japonica rice; genetic diversity; SSR; Heilongjiang province; breeding unit

遗传多样性是进行水稻种质资源评价和利用的重要研究内容。种质资源具有丰富的多样性水平,不仅有利于杂交亲本的选择,而且对于防止和减轻病虫害的大面积发生具有重要意义。黑龙江省作为我国优质粳稻的主栽区,年水稻种植面积达 400 万  $\text{hm}^2$ 。近年来,由于一些优良品种的大面积推广,品种单一化程度日益严重,许多优良等位基因丢失,粳稻品种的遗传多样性水平下降,极易导致稻瘟病大面积流行发生,引起产量降低和品质下降<sup>[1]</sup>。为了深入了解黑龙江省粳稻的遗传背景和亲缘关系,前人已对黑龙江省部分粳稻品种的遗传多样性进行了研究。相关结果表明,黑龙江省粳稻资源的血缘关系比较集中,遗传基础狭隘,大部分材料具有相同的遗传背景<sup>[2-5]</sup>。如何有效拓宽黑龙江省粳稻的遗传基础,是研究者当前亟待解决的关键问题。

育种单位是开展育种科研工作的基础。目前,黑龙江省拥有各类企事业水稻育种研究单位 30 多家,推广种植的粳稻品种超过了 370 个<sup>[6]</sup>。由于这些审定品种具有适应在黑龙江省特殊的气候条件下生长的共同特征,在育种过程中其杂交后代性状稳定较快,利用相对更为容易,但这些品种间往往又具有较近的亲缘关系,遗传背景极为相似,利用起来又会导致后代材料遗传背景狭窄,优良等位基因丢失,难以育成突破性品种。因此,明确各育种单位育种材料的亲缘关系,筛选出遗传差异较大的材料,特别是获得潜在优势的等位基因材料,是拓宽黑龙江省现有粳稻遗传基础关键所在。基于此,本研究利用 SSR 分子标记对黑龙江省 8 个育种单位培育的 104 份粳稻材料的遗传多样性进行了分析,并系统评价了 8 个育种单位育成材料的亲缘关系,旨在为今后育种单位进行水稻种质资源的有效利用、多样性保护以及新品种的选育工作提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验选用了黑龙江省 8 个水稻科研事业单位培育的 104 份粳稻材料(表 1),其中黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所(GZZPS)4 份,东北农业大学(DN)4 份,黑龙江省农业科学院五常水稻研究所(WCS)19 份,黑龙江省农业科学院牡丹江分院(MDJFY)27 份,黑龙江省农垦科学院水稻研究所(NKSDS)18 份,黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所(NKYSDS)15 份,黑龙江省农业科学院绥化分院(SHFY)7 份,黑龙江省农业科学院黑河分院(HHFY)10 份。

### 1.2 水稻基因组 DNA 提取

在田间每份材料选取 1 个单株,装于 5 号自封袋,置于冰盒中带回实验室,放  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱保存备用。取 1 片叶去掉叶脉后剪碎,装于 2 mL 离心管,加入钢珠,液氮冷冻处理后,迅速利用细胞震荡破碎仪进行细胞破碎,然后加入预热的 CTAB,按照 2%CTAB 法进行 DNA 的提取。当 DNA 在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  下静置 0.5 h 后,用灭菌的黄色枪头,挑出析出的 DNA 白色絮状物,放入新的 1.5 mL 离心管中,再用 70% 乙醇洗涤 1~2 次,将洗涤后的 DNA 沉淀风干备用,操作步骤参照 Doyle 等<sup>[7]</sup>的描述。

### 1.3 分子标记选择、PCR 扩增及电泳检测

在本实验室前期工作的基础上<sup>[8-10]</sup>,结合前人相关的研究报道<sup>[11-12]</sup>,试验选取覆盖水稻 12 条染色体的 45 对 SSR 多态性引物进行分析。利用 GRAMENE 网站<sup>[13]</sup>获得引物序列信息,并委托华大基因合成相关引物。PCR 扩增体系为 15  $\mu\text{L}$ ,包含 DNA (20 ng/L) 2  $\mu\text{L}$ ,前后引物各 2  $\mu\text{L}$ , $2\times$  混合体系 7.5  $\mu\text{L}$ , $\text{ddH}_2\text{O}$  1.5  $\mu\text{L}$ 。PCR 扩增程序为:  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  5 min,  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  40 s,  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  40 s,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  1 min, 32 个循环,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  7 min,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。采用 6% 聚丙烯酰胺变性凝胶电泳对 PCR 扩增产物进行检测。

表1 试验材料及来源

Table 1 The materials and their origin

编号 No.	名称 Name	来源 Source	编号 No.	名称 Name	来源 Source	编号 No.	名称 Name	来源 Source
1	龙稻3	GZZPS	36	牡丹江12	MDJFY	71	垦糯2	NKSDS
2	龙稻4	GZZPS	37	牡丹江13	MDJFY	72	垦鉴稻6	NKSDS
3	龙稻5	GZZPS	38	牡丹江14	MDJFY	73	龙粳2	NKYSDS
4	龙稻6	GZZPS	39	牡丹江15	MDJFY	74	龙粳8	NKYSDS
5	东农415	DN	40	牡丹江16	MDJFY	75	龙粳10	NKYSDS
6	东农416	DN	41	牡丹江17	MDJFY	76	龙粳13	NKYSDS
7	东农419	DN	42	牡丹江18	MDJFY	77	龙粳14	NKYSDS
8	东农425	DN	43	牡丹江19	MDJFY	78	龙粳18	NKYSDS
9	松粳3	WCS	44	牡丹江20	MDJFY	79	龙粳20	NKYSDS
10	松粳4	WCS	45	牡丹江21	MDJFY	80	龙粳21	NKYSDS
11	松粳5	WCS	46	牡丹江22	MDJFY	81	龙粳25	NKYSDS
12	松粳6	WCS	47	牡丹江23	MDJFY	82	龙粳26	NKYSDS
13	松粳7	WCS	48	牡丹江24	MDJFY	83	龙粳27	NKYSDS
14	松粳8	WCS	49	牡丹江25	MDJFY	84	龙粳29	NKYSDS
15	松粳9	WCS	50	牡丹江26	MDJFY	85	龙粳30	NKYSDS
16	松粳10	WCS	51	牡丹江27	MDJFY	86	龙粳31	NKYSDS
17	松粳11	WCS	52	牡丹江28	MDJFY	87	龙粳32	NKYSDS
18	松粳12	WCS	53	牡丹江30	MDJFY	88	绥粳3	SHFY
19	松粳13	WCS	54	牡丹江31	MDJFY	89	绥粳4	SHFY
20	松粳14	WCS	55	垦稻8	NKSDS	90	绥粳7	SHFY
21	松粳15	WCS	56	垦稻9	NKSDS	91	绥粳8	SHFY
22	五优稻4	WCS	57	垦稻10	NKSDS	92	绥粳9	SHFY
23	松粳香2	WCS	58	垦稻11	NKSDS	93	绥粳10	SHFY
24	松01-173	WCS	59	垦稻12	NKSDS	94	绥粳13	SHFY
25	松粳1号	WCS	60	垦稻13	NKSDS	95	黑河品系1	HHFY
26	稻花香	WCS	61	垦稻14	NKSDS	96	黑河品系2	HHFY
27	五优稻1号	WCS	62	垦稻15	NKSDS	97	黑河品系3	HHFY
28	牡丹江4	MDJFY	63	垦稻16	NKSDS	98	黑河品系4	HHFY
29	牡丹江5	MDJFY	64	垦稻17	NKSDS	99	黑河品系5	HHFY
30	牡丹江6	MDJFY	65	垦稻18	NKSDS	100	黑河品系6	HHFY
31	牡丹江7	MDJFY	66	垦稻19	NKSDS	101	黑河品系7	HHFY
32	牡丹江8	MDJFY	67	垦稻20	NKSDS	102	黑河品系8	HHFY
33	牡丹江9	MDJFY	68	垦稻21	NKSDS	103	黑河品系9	HHFY
34	牡丹江10	MDJFY	69	垦稻22	NKSDS	104	黑河品系10	HHFY
35	牡丹江11	MDJFY	70	垦糯1	NKSDS			

#### 1.4 数据统计分析

以0、1、9统计SSR扩增带型,在相同迁移率位置上,有带记为1,无带记为0,缺失记为9,建立相应的数据矩阵。利用POWERMARKER Version

3.25软件<sup>[14]</sup>计算主要等位点频率( $Maf$ ),等位基因数( $Na$ ),基因多样性指数( $H$ )和多态性信息含量( $PI$ );利用MEGA4.0<sup>[15]</sup>软件进行UPGMA聚类分析。采用STRUCTURE Version2.3.4软件<sup>[11-16]</sup>完成

参试材料的遗传结构分析,将MCMC开始时的不作数迭代设为10000次,将不作数迭代后的MCMC迭代设为100000次,每个K值都独立运算3次。将Structure运算结果的Results.zip提交到在线工具Structure Harvester以判断群体的Clusters数<sup>[17]</sup>,并根据 $\Delta K$ 值确定最可能的K值, $\Delta K$ 计算公式为 $\Delta K = \text{mean}(|L'(K)|) / \text{sd}(L(K))$ 。其他数据处理和计算均在Excel 2010上进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR扩增多态性分析

选取的45对SSR多态性引物对参试材料均

能进行有效扩增。由表2可知,共检测到154个等位基因,每个引物位点扩增等位基因数( $N_a$ )变幅为2~8个,平均等位基因数为3.42,其中引物PSM132扩增的等位基因数最多,为8个;而引物RM495、RM312、RM237、RM452、RM514、RM510、RM454、RM125、RM11、RM447、RM316、RM105、RM171扩增的等位基因数最少,均为2个。主要等位位点频率( $Maf$ )变幅为0.32~0.99,平均主要等位位点频率为0.71。基因多样性指数( $H$ )变幅为0.02~0.77,平均基因多样性指数为0.38。多态性信息含量( $PIC$ )变幅为0.02~0.73,平均多态性信息含量为0.34。

表2 SSR多态性标记遗传多样性信息

Table 2 Genetic diversity of polymorphic SSR markers

位点 Locus	主要等位 位点频率 $Maf$	等位 基因数 $N_a$	基因多样 性指数 $H$	多态性 信息含量 $PIC$	位点 Locus	主要等位 位点频率 $Maf$	等位 基因数 $N_a$	基因多样 性指数 $H$	多态性 信息含量 $PIC$
RM495	0.98	2	0.04	0.04	RM125	0.56	2	0.49	0.37
RM1	0.70	4	0.48	0.45	RM11	0.99	2	0.02	0.02
RM283	0.60	3	0.50	0.39	RM152	0.63	4	0.53	0.47
RM259	0.37	5	0.74	0.69	RM25	0.52	3	0.54	0.44
RM312	0.99	2	0.02	0.02	RM44	0.46	6	0.68	0.63
RM5	0.35	4	0.71	0.65	RM223	0.38	4	0.69	0.64
RM246	0.74	5	0.43	0.41	RM284	0.56	3	0.50	0.39
RM237	0.98	2	0.04	0.04	RM447	0.94	2	0.11	0.10
RM154	0.82	3	0.32	0.29	RM316	0.98	2	0.04	0.04
RM327	0.59	4	0.57	0.51	RM105	0.96	2	0.07	0.07
RM452	0.94	2	0.11	0.10	PSM338	0.37	4	0.68	0.61
PSM122	0.55	3	0.57	0.49	RM215	0.32	4	0.73	0.68
RM208	0.68	3	0.48	0.42	PSM406	0.58	6	0.62	0.59
OSR13	0.93	4	0.13	0.12	RM271	0.95	3	0.09	0.09
RM338	0.95	3	0.09	0.09	RM171	0.92	2	0.14	0.13
PSM132	0.36	8	0.77	0.73	RM484	0.82	4	0.32	0.30
RM55	0.90	3	0.18	0.16	RM20B	0.50	4	0.54	0.44
RM514	0.84	2	0.27	0.24	RM536	0.66	5	0.52	0.48
PSM326	0.56	3	0.58	0.51	RM287	0.88	3	0.21	0.20
RM161	0.65	3	0.50	0.44	RM21	0.46	5	0.65	0.59
RM334	0.95	3	0.09	0.09	RM247	0.79	5	0.36	0.34
RM510	0.92	2	0.14	0.13	平均值 Mean	0.71	3.42	0.38	0.34
RM454	0.67	2	0.44	0.34	最大值 Max.	0.99	8	0.77	0.73
RM162	0.72	4	0.45	0.42	最小值 Min.	0.32	2	0.02	0.02

$Maf$ : Main allele frequency,  $N_a$ : Number of alleles,  $H$ : Gene diversity,  $PIC$ : Polymorphism information content, the same as below

## 2.2 黑龙江省不同育种单位粳稻遗传多样性分析

对黑龙江省粳稻材料的遗传多样性进行分析发现,黑龙江省粳稻资源整体多样性水平偏低,平均基因多样性指数( $H$ )和多态性信息含量( $PIC$ )分别为0.38和0.34。进一步对不同育种单位粳稻资源的遗传多样性进行分析,由表3可知,8个育种单位育成材料中,黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所和黑龙江省农业科学院黑河分院材料的遗传多样性水平相对较高,平均基因多样性指数( $H$ )均为0.37,平均多态性信息含量( $PIC$ )分别为0.32和0.33;而东北农业大学材料的遗传多样性水平相对

较低,平均基因多样性指数( $H$ )为0.22,平均多态性信息含量( $PIC$ )为0.18。方差分析表明,东北农业大学与黑龙江省农业科学绥化分院在主要等位点频率( $Maf$ )上差异显著;与黑龙江省农业科学院五常水稻研究所、黑龙江省农业科学院牡丹江分院、黑龙江省农垦科学院水稻研究所、黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所以及黑龙江省农业科学院黑河分院在等位基因数( $Na$ )上差异极显著;与黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所和黑龙江省农业科学院黑河分院在基因多样性指数( $H$ )上差异显著,在多态性信息含量( $PIC$ )上差异达到极显著。

表3 不同育种单位粳稻遗传多样性分析

Table 3 Genetic diversity analysis of japonica rice among different breeding units

育种单位 Breeding units	平均主要等位 位点频率 $Maf$	平均等位基因数 $Na$	平均基因多样性 指数 $H$	平均多态性信息 含量 $PIC$
黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所 GZZPS	0.77 abA	1.62 aA	0.26 abA	0.21 abAB
东北农业大学 DN	0.83 aA	1.56 aA	0.22 aA	0.18 aA
黑龙江省农业科学院五常水稻研究所 WCS	0.78 abA	2.47 cBC	0.31 abA	0.27 bcAB
黑龙江省农业科学院牡丹江分院 MDJFY	0.75 abA	2.53 cC	0.33 abA	0.29 bcAB
黑龙江省农垦科学院水稻研究所 NKSDS	0.75 abA	2.40 cBC	0.33 abA	0.29 bcAB
黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所 NKYSDS	0.71 abA	2.56 cC	0.37 bA	0.32 cB
黑龙江省农业科学院绥化分院 SHFY	0.80 bA	1.89 abAB	0.28 abA	0.23 abcAB
黑龙江省农业科学院黑河分院 HHFY	0.70 abA	2.22 bcBC	0.37 bA	0.33 cB
总体水平 Totals	0.71	3.42	0.38	0.34

大小写字母分别表示 1% 和 5% 水平差异显著

Capital and small letters indicate significance at the 1% and 5% levels respectively

## 2.3 聚类分析

利用 45 对 SSR 分子标记结果,根据 Nei (1972) 遗传距离,进行 UPGMA 聚类分析。由图 1 可知,参试材料可分为 3 个类群,第 I 类群材料包括 10 份材料,可再细划分为 4 个亚类群,其中第 I-1 亚群包括 4 份材料,来自于黑龙江省农业科学院黑河分院(黑河品系 6、黑河品系 7、黑河品系 8 和黑河品系 10);第 I-2 亚群包括 2 份材料,分别来自于黑龙江省农垦科学院水稻研究所(垦稻 19)和黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所(龙粳 14);第 I-3 亚群包括 1 份材料,来自于黑龙江省农业科学院牡丹江分院(牡丹江 5);第 I-4 亚群包括 3 份材料,分别来自于黑龙江省农业科学院五常水稻研究所(松粳 12、松 01-173)和黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所(龙粳 30)。第 II 类群材料包括 91 份材料,可再细划分为 3 个亚类群,其中第 II-1 亚群包括 35 份材料,来自于除黑龙江省农业科学院黑河分院外的其他 7 个育种单位;第 II-2 亚群包括 3 份材料,来

自于黑龙江省农业科学院黑河分院(黑河品系 2、黑河品系 3 和黑河品系 9);第 II-3 亚群包括 53 份材料,来自于 8 个育种单位。第 III 类群材料包括 3 份材料,可再细划分为 2 个亚类群,其中第 III-1 亚群包括 1 份材料,来自于黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所(龙粳 20);第 III-2 亚群包括 2 份材料,来自于黑龙江省农业科学院黑河分院(黑河品系 1、黑河品系 4)。由此可见,黑龙江省 8 个育种单位育成材料间既形成了独立的类群,又存在一定的相互交叉,同一育种单位育成材料间具有较近的亲缘关系。

进一步对 8 个育种单位粳稻材料的亲缘关系进行分析(图 2),黑龙江省农垦科学院水稻研究所与黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所的亲缘关系较近;黑龙江省农业科学院五常水稻研究所与黑龙江省农业科学院牡丹江分院的亲缘关系也较近;而黑龙江省农业科学院黑河分院与这些育种单位材料的亲缘关系则较远。

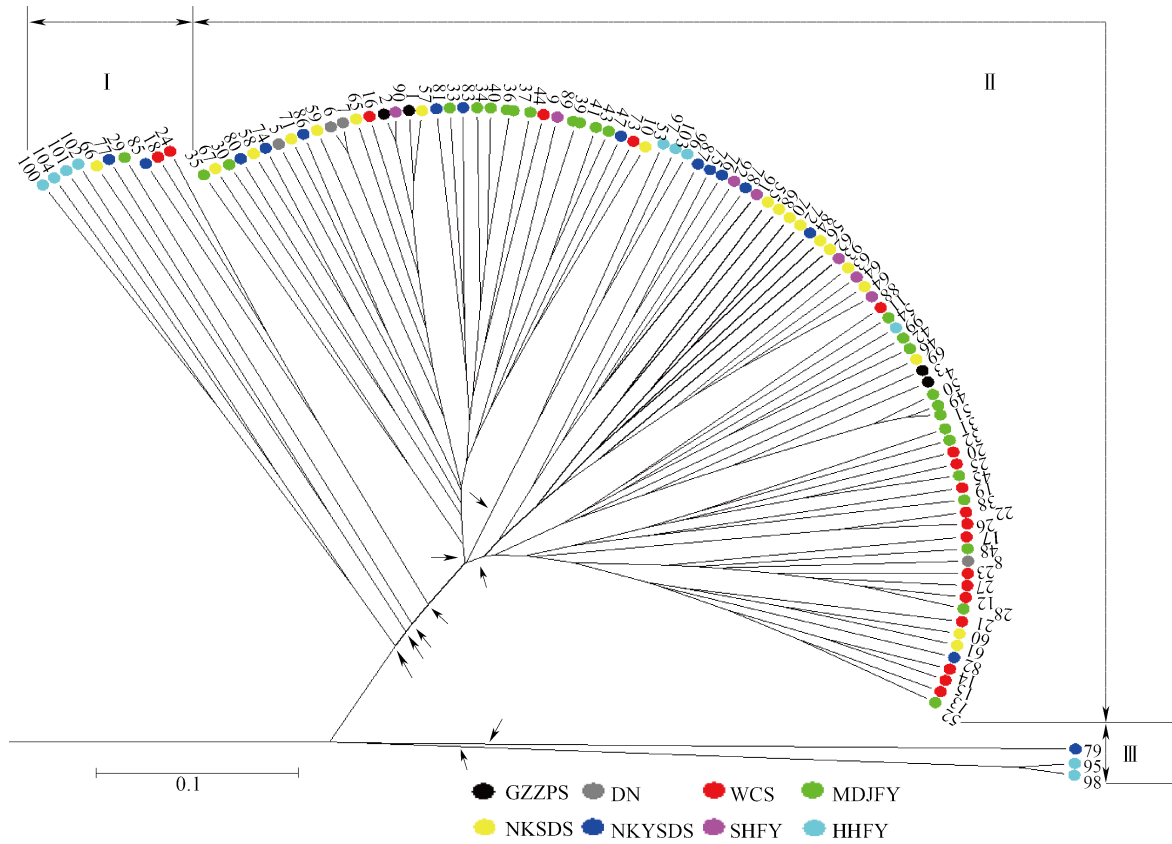


图 1 参试粳稻资源的 UPGMA 聚类

Fig. 1 Cluster of japonica rice resources using UPGMA

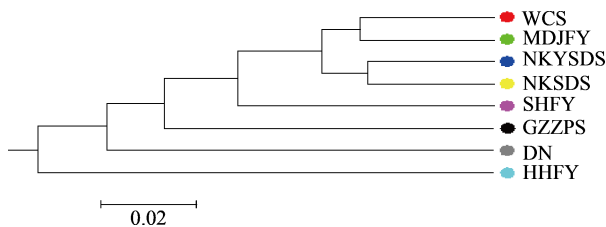


图 2 育种单位的 UPGMA 聚类

Fig. 2 Cluster of breeding units using UPGMA

### 2.4 遗传结构分析

基于 Structure2.3.4 模型,将群体数目(K)设定为 1~20,3 次重复,对参试材料进行群体遗传结构分析。由图 3 可知,对数似然函数值  $\text{LnP}(D)$  随着 K 值的增加而呈现增加趋势,没有出现明显的最大值拐点,因此需要进一步利用  $\text{LnP}(D)$  值计算  $\Delta K$  值。通过分析发现,当  $K=2$  时,  $\Delta K$  值为 87.34,此处出现最大拐点,由此可以判断出参试 104 份粳稻资源可以划分为两个稳定的类群。

对  $K=2$  时的 104 份材料类群的遗传结构和群体组成进行分析。由图 4 可知,8 个育种单位的参试材料均被划分成 2 个类群,其中红色条框代表 A 类群,绿色条框代表 B 类群。由此可知,除黑龙江

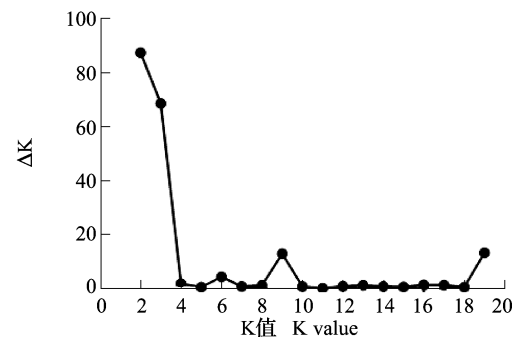
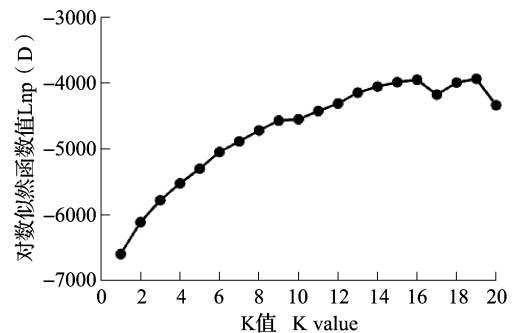
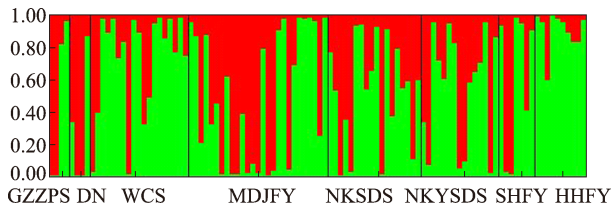


图 3 对数似然函数值  $\text{LnP}(D)$  和  $\Delta K$  值随亚群数 K 的变化曲线

Fig. 3 The change curve of Log-likelihood function value  $\text{LnP}(D)$  and  $\Delta K$  based on the K value of subgroup numbers



红色条框和绿色条框分别代表 A 类群和 B 类群

The dark grey bars and light gray bars represent A group and B group

图 4 参试 104 份材料的群体结构分析

Fig. 4 Population structure analysis on 104 materials

省农业科学院黑河分院材料均为 B 类群外,其他 7 个单位材料均存在 A 类群和 B 类群两种,表明黑龙江省农业科学院黑河分院材料与其他单位材料亲缘关系较远;而黑龙江省农垦科学院水稻研究所与黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所材料的遗传结构和群体组成相似,表明它们之间具有较近的亲缘关系,这也与上述 UPGMA 聚类结果一致。

### 3 讨论

#### 3.1 黑龙江省粳稻的遗传多样性分析

遗传多样性是进行品种资源评价和利用的重要组成部分,也是开展新品种选育工作的基础。随着分子生物学的快速发展,利用分子标记技术进行遗传多样性分析已屡见不鲜。近年来,前人对黑龙江省粳稻资源的遗传多样性已开展了相关研究,普遍认为黑龙江省粳稻遗传多样性水平较低,遗传基础狭窄<sup>[2-5,9-10]</sup>。本研究结果表明,参试 104 份黑龙江省粳稻资源的遗传多样性水平较低,亲缘关系较近。45 对 SSR 多态性引物共检测到 154 个等位基因,单个引物检测等位位点数 2~8 个,平均等位基因数 ( $N_a$ ) 为 3.42,这与前人研究结果相似。深入分析黑龙江省粳稻遗传基础狭窄的原因可能与其特殊的气候环境有关。由于黑龙江省地处我国最北端,昼夜温差大,水稻生育期短,低温冷害频繁,严重限制了外引亲本材料的选择范围,其主要育种材料亲本来源于日本,含有较多日本品种血缘。有研究表明,在黑龙江省 1990-2002 年水稻生产中大面积推广的品种中,有 25% 的品种为日本水稻品种直接利用,有 75% 的品种是间接利用日本稻种资源为亲本进行常规杂交育成。在这些日本稻种资源的亲本中,石狩白毛、虾夷、藤系 138、富士光、农林 11、下北、上育 397、富士光等骨干亲本的细胞核贡献值均较大<sup>[18-19]</sup>。就本研究而言,从参试水稻材料的遗传系谱看(图 5),参试的 104 份材料均含有日本品种血缘,其中有 52 份材料含有石狩白毛的血缘。

由此可见,挖掘出新的优良等位基因,并引入到当前水稻育种材料中,是丰富本地区粳稻资源遗传多样性水平的关键。辽宁省和吉林省与黑龙江省水稻均属于东北粳稻,具有一些相同特征,且相关研究表明了辽宁省和吉林省栽培稻遗传多样性水平要高于黑龙江省<sup>[12]</sup>,因此,可以利用辽宁省和吉林省粳稻材料来丰富黑龙江省粳稻的遗传基础。同时,由于黑龙江省杂草稻的遗传多样性水平略高于当地栽培稻<sup>[20-21]</sup>,也可以利用与栽培稻具有较近亲缘关系的杂草稻资源来丰富栽培稻的遗传多样性水平。此外,在本地区不同育种单位间,挖掘出亲缘关系较远的材料,也是进行遗传基础改良的最有效途径。因此,合理分析这些稻属种质资源的遗传背景,将有助于丰富本地区水稻的遗传多样性水平,为今后育成突破性水稻新品种奠定基础。

#### 3.2 不同育种单位育成粳稻资源的亲缘关系分析

育种单位是承载育种工作的实体,明确不同育种单位育成材料的亲缘关系,对于引种单位和材料的选择至关重要。黑龙江省水稻杂交育种工作开始于 1956 年,至今已形成了一大批水稻育种科研单位,包括黑龙江省农业科学院、黑龙江省农垦科学院以及东北农业大学等。目前,有关黑龙江省各粳稻育种单位间种质资源的研究报道极为少见,本研究通过对黑龙江省 8 家长期从事水稻育种的科研事业单位育成的部分水稻品种资源进行分析,发现同一育种单位粳稻材料亲缘关系较近,材料间总体遗传基础狭窄,这与程芳艳等<sup>[22]</sup>研究结果一致。不同育种单位间,粳稻亲缘关系远近存在差异。在 8 个育种单位中,东北农业大学参试材料的遗传多样性水平最低,黑龙江省农业科学院黑河分院参试材料的遗传多样性水平最高,这可能与选择参试品种的亲缘背景和品种数量有关。黑龙江省农垦科学院水稻研究所与黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所的亲缘关系最近,可能与这两个单位均位于佳木斯市,育种过程中受到的环境选择压力高度相似,且两单位之间的材料交换较为容易有关。在黑龙江省粳稻育种过程中,考虑到花期、生育期、分离稳定速率以及耐冷性等问题,通常水稻杂交亲本主要来源为外引日本优良材料,省内育种单位育成的优良品系材料以及自己创制的优良材料。在这些直接利用的杂交亲本中,很多材料都含有日本粳稻血缘,是姊妹系/近等基因系,亲缘关系较近。利用他们进行杂交,尽管能够提高育种效率,避免育种材料后代疯狂分离现象,但随之而来也降低了其他远缘优良等位基





因资源的利用几率。因此,黑龙江省粳稻育种要想取得重大突破,还面临着巨大的挑战。建议在今后水稻育种杂交亲本选择的过程中,不仅要考虑亲本优缺点互补,还需优先考虑利用亲缘关系较远的亲本杂交,在快速培育出优良品种的同时,还应创制积累出一批遗传多样性丰富的优良后代材料,为今后的水稻育种工作奠定基础。

#### 参考文献

- [1] 束爱萍,金钟焕,张三元,曹桂兰,南钟浩,李圭星,卢勤,高熙宗,韩龙植.世界不同地理来源粳稻品种的遗传相似性研究.中国农业科学,2008,41(7):1879-1886
- [2] 孙健,王敬国,刘化龙,杨亮,赵雪,谢冬微,邹德堂.黑龙江省主栽水稻品种的遗传多样性分析.作物杂志,2011(1):63-66
- [3] 杨静,刘海英,钱春荣,金正勋.黑龙江省水稻品种 SSR 标记遗传多样性分析.东北农业大学学报,2008,39(6):1-10
- [4] 张科,魏海峰,卓大龙,张晓敬,张帆,周永力,黎志康.黑龙江省近年审定水稻品种基于 SSR 标记的遗传多样性分析.植物遗传资源学报,2016,17(3):447-454
- [5] 徐振华,金正勋,张忠臣,刘海英,曲莹,王俊,郑艳双.黑龙江省粳稻种质资源遗传结构分析.作物杂志,2014(1):38-44
- [6] 国家水稻数据中心.中国水稻品种及其系谱数据库,http://www.ricedata.cn/variety/
- [7] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull, 1987, 19: 11-15
- [8] Jiang S K, Huang C, Zhang X J, Wang J Y, Chen W F, Xu Z J. Development of a highly informative microsatellite (SSR) markers framework for rice (*Oryza sativa* L.) genotyping. Agricultural Science in China, 2010, 9(12): 1697-1704
- [9] 刘丹.东北粳稻遗传多样性及穗部性状基因定位研究.沈阳:沈阳农业大学,2014
- [10] 李红宇,张龙海,刘梦红,徐正进,赵子成,王海洋,赵明辉,徐海,王嘉宇.利用 SSR 标记分析黑龙江水稻区域试验品系的遗传多样性.华北农学报,2012,27(2):105-110
- [11] 张立娜,曹桂兰,韩龙植.利用 SSR 标记揭示中国粳稻地方品种遗传多样性.中国农业科学,2012,45(3):405-413
- [12] 玄英实,姜文洙,刘宪虎,程正海,Hee-Jong Koh,元东林.中国东北地区水稻主栽品种的遗传多样性分析.植物遗传资源学报,2010,11(2):206-212
- [13] Gramene: A comparative resource for plants. [2018-07-01]. http://news.gramene.org/
- [14] Liu K, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics, 2005, 21: 2128-2129
- [15] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24: 1596-1599
- [16] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology, 2005, 14: 2611-2620
- [17] Earl D A, VonHoldt B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources, 2012, 4(2): 359-361
- [18] 刘化龙.寒地粳稻品种骨干亲本遗传演变及耐冷性研究.沈阳:沈阳农业大学,2012
- [19] 刘宝海,宋福金,高存启,于良斌.黑龙江大面积推广水稻品种遗传基础研究.作物杂志,2004(2):48-52
- [20] 王黎明,李战胜,高旭华,沈雪峰,方越,陈勇.杂草稻、栽培稻及野生稻的遗传多样性比较.华中农业大学学报,2012,31(3):275-280
- [21] 刘丹,王嘉宇,马殿荣,孙健,柴永山,孙玉友,魏才强,解忠,李洪亮,张巍巍,程杜娟,孙国宏,陈温福.东北地区杂草稻与栽培稻的遗传多样性及籼粳分化.植物遗传资源学报,2017,18(2):217-224
- [22] 程芳艳,李春光,刘永巍,孙翊轩,王继亮,孟昭河,徐正进.寒地部分粳稻的遗传多样性及遗传结构分析.沈阳农业大学学报,2014,45(6):649-654
- based analysis of rice varieties in regional yield trial of Heilongjiang province. Acta Agriculturae Boreali-sinica, 2012, 27(2): 105-110
- Zhang L N, Cao G L, Han L Z. Analysis of genetic diversity of japonica rice landrace in China with microsatellite marker. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(3): 405-413
- Xuan Y S, Jiang W Z, Liu X H, Cheng Z H, Koh H J, Yuan D L. Comparative analysis of genetic diversity of commercial rice cultivars in northeastern China. Journal of Plant Genetic Resources, 2010, 11(2): 206-212
- Gramene: A comparative resource for plants. [2018-07-01]. http://news.gramene.org/
- Liu K, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics, 2005, 21: 2128-2129
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24: 1596-1599
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology, 2005, 14: 2611-2620
- Earl D A, VonHoldt B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources, 2012, 4(2): 359-361
- 刘化龙.寒地粳稻品种骨干亲本遗传演变及耐冷性研究.沈阳:沈阳农业大学,2012
- Liu H L. A study on heredity and cold-resistant capabilities of the founder parent strains of Japonica rice in cold regions of Heilongjiang. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2012
- 刘宝海,宋福金,高存启,于良斌.黑龙江大面积推广水稻品种遗传基础研究.作物杂志,2004(2):48-52
- Liu B H, Song F J, Gao C Q, Yu L B. Genetic basic research of widespread rice variety in Heilongjiang province. Crops, 2004(2): 48-52
- 王黎明,李战胜,高旭华,沈雪峰,方越,陈勇.杂草稻、栽培稻及野生稻的遗传多样性比较.华中农业大学学报,2012,31(3):275-280
- Wang L M, Li Z S, Gao X H, Shen X F, Fang Y, Chen Y. Genetic diversities among weedy rices, cultivated rices and wild rices. Journal of Huazhong Agricultural University, 2012, 31(3): 275-280
- 刘丹,王嘉宇,马殿荣,孙健,柴永山,孙玉友,魏才强,解忠,李洪亮,张巍巍,程杜娟,孙国宏,陈温福.东北地区杂草稻与栽培稻的遗传多样性及籼粳分化.植物遗传资源学报,2017,18(2):217-224
- Liu D, Wang J Y, Ma D R, Sun J, Chai Y S, Sun Y Y, Wei C Q, Xie Z, Li H L, Zhang W W, Cheng D J, Sun G H, Chen W F. Genetic diversity and indica-japonica differentiation between weedy rice and cultivars in Northeast. Journal of Plant Genetic Resources, 2017, 18(2): 217-224
- 程芳艳,李春光,刘永巍,孙翊轩,王继亮,孟昭河,徐正进.寒地部分粳稻的遗传多样性及遗传结构分析.沈阳农业大学学报,2014,45(6):649-654
- Cheng F Y, Li C G, Liu Y W, Sun Y X, Wang J L, Meng Z H, Xu Z J. Analysis of genetic diversity and genetic structure about rice materials from cold region. Journal of Shenyang Agricultural University, 2014, 45(6): 649-654