

湖北省糯稻地方品种 SSR 遗传多样性研究

姚国新^{1,2},段俊枝³,邹礼平^{1,2},李长春^{1,2},卢磊^{1,2},黄明军^{1,2}

(1. 特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室,湖北 孝感 421000; 2. 湖北工程学院 生命科学技术学院,湖北 孝感 432000; 3. 河南省农业科学院,河南 郑州 450002)

摘要: 为评价湖北糯稻地方品种的遗传多样性,利用 36 对 SSR 标记对 50 份湖北地方糯稻品种进行 PCR 扩增和遗传多样性分析。结果表明,湖北糯稻地方品种的平均遗传多样性指数为 0.710 7,多态信息含量平均为 0.686 1,多样性较高。SSR 标记聚类分析表明,湖北糯稻地方品种中遗传资源丰富,特别是籼粳糯稻成分互渗的品种,可广泛用于糯稻育种。

关键词: 糯稻地方品种; 遗传多样性; SSR 标记; 湖北省

中图分类号: S511 文献标志码: A 文章编号: 1004 - 3268(2015)03 - 0019 - 04

Research on Genetic Diversity of Glutinous Rice in Hubei by SSR Marker

YAO Guoxin^{1,2}, DUAN Junzhi³, ZOU Liping^{1,2}, LI Changchun^{1,2}, LU Lei^{1,2}, HUANG Mingjun^{1,2}

(1. Hubei Key Laboratory of Quality Control of Characteristic Fruits and Vegetable, Xiaogan 421000, China;
2. School of Life and Science Technology, Hubei Engineering University, Xiaogan 432000, China;
3. Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: In this paper, the genetic diversity of glutinous rice was analyzed with fifty germplasms of glutinous rice of Hubei with thirty six SSR markers. The results indicated that the average diversity index and average polymorphic information contents (PIC) were 0.710 7 and 0.686 1, respectively. The cluster analysis with molecular marker showed that there was abundant genetic resource in glutinous rice of Hubei province. This phenomenon would be in favor of glutinous rice breeding, especially for subspecies breeding.

Key words: glutinous rice landrace (*Oriza sativa* L.) varieties; genetic diversity; SSR marker; Hubei province

我国是水稻种植大国,也是水稻种质资源大国。据报道,目前我国保存有 7 万多份水稻种质,广泛分布于各水稻种植地^[1]。由于长期育种中过于追求产量等性状的提升,与地方品种相比,育成品种中丢失了许多优异基因。地方品种由于受到人为选择的强度轻,还保留着部分育成种中缺失的基因。糯稻是水稻籼粳分化后产生的变异类型,其支链淀粉含量高达 98% 以上,广泛用于食品加工,例如汤圆、米酒等,深受人们的喜爱。湖北是我国糯稻种植面积和产量最大的省份,约占全国糯稻种植面积和产量的 1/10^[2],保存和种植了大量的糯稻地方种。对地方稻种的遗传多样性分析,有助于更全面地利用和保护稻种资源,SSR 等

分子标记在研究水稻种质遗传多样性方面应用广泛^[3-7],但在湖北糯稻遗传多样性方面的研究报道很少。为系统研究湖北糯稻地方品种的多样性,本试验征集了 50 份湖北糯稻地方品种,利用常用的 36 对 SSR 标记^[8]进行分析,旨在为湖北糯稻地方品种的保护和利用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

共收集湖北省糯稻地方品种 50 份,广泛分布于湖北各县市。糯稻名称、来源及籼粳属性见表 1,籼、粳糯稻各 25 份。

收稿日期:2014 - 08 - 24
基金项目:湖北省教育厅科学技术研究项目(D20132704);国家级大学生创新创业训练计划项目(201310528008)
作者简介:姚国新(1977 -),男,湖北当阳人,副教授,博士,主要从事水稻遗传多样性研究。
E - mail: guoxiny2004@hbeu.edu.cn

表 1 50 份湖北省糯稻地方品种信息

编号	名称	来源	亚种 类型	编号	名称	来源	亚种 类型	编号	名称	来源	亚种 类型
1	红安里粒谷	红安县	籼	18	爷驼崽	咸宁市	籼	35	阳成糯	通山县	籼
2	巴茅糯	麻城市	粳	19	早糯	咸宁市	粳	36	湖南糯	阳新县	粳
3	红壳糯	英山县	粳	20	五八糯	咸宁市	粳	37	皇红	钟祥县	粳
4	乌嘴糯	浠水县	籼	21	蜜蜂糯	嘉鱼县	粳	38	湖南谷	秭归县	籼
5	浠水乌嘴糯	浠水县	粳	22	宝塔糯	嘉鱼县	粳	39	秭归麻壳糯	秭归县	籼
6	罗田早糯	罗田县	籼	23	红小糯	蒲圻市	籼	40	杯儿糯	长阳县	粳
7	乌嘴糯	罗田县	粳	24	歪八担	蒲圻市	籼	41	矮白糯	恩施市	籼
8	罗田麻壳糯	罗田县	粳	25	金小红糯	蒲圻市	籼	42	贵州糯	恩施市	粳
9	泥轨头	蕲春县	籼	26	蒲圻白壳糯	蒲圻市	粳	43	万寨糯 1	鹤峰县	籼
10	矮脚溜	蕲春县	籼	27	红糯	蒲圻市	粳	44	毫干	恩施市	籼
11	千斤糯	蕲春县	籼	28	崇阳糯	通城县	籼	45	矮杆鹊	保康县	籼
12	杈糯	黄梅县	粳	29	桐籽糯	通城县	籼	46	开封糯	竹溪县	籼
13	十八擂	黄梅县	籼	30	通城桐籽糯	通城县	籼	47	红小糯	竹溪县	籼
14	徽州谷 2	黄梅县	粳	31	罗竹白	通城县	籼	48	朝阳糯	竹溪县	粳
15	五百林	大悟县	粳	32	大糯谷 1 号	通城县	籼	49	矮杆稻	竹溪县	粳
16	高粱稻	安陆县	粳	33	泡壳糯一号	通城县	粳	50	姬糯	咸丰县	粳
17	碑子糯	汉川县	粳	34	浙江糯	通城县	粳				

1.2 种植及管理

所有材料均于 2013 年 5 月种植于湖北孝感,按照常规的栽培技术进行种植管理。

1.3 DNA 提取、PCR 扩增和电泳

于 3 叶期取幼叶,用液氮研磨,采用 CTAB 法^[9]提取 DNA,将 DNA 稀释至 25 ng/μL 备用。PCR 扩增采用 10 μL 体系,成分如下: *Tap* 酶 0.10 μL (2.5 U/μL)、引物 1.2 μL (10 μmol/L)、dNTP 0.12 μL

(10 μmol/L)、DNA 1 μL (25 ng/μL)、H₂O 7.58 μL。扩增程序为:95 ℃ 预变性 5 min;95 ℃ 30 s、55 ℃ 40 s、72 ℃ 50 s,共 35 个循环。8% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 50 min,银染显色读带^[10]。

1.4 SSR 标记

采用构建中国水稻核心和微核心种质库的 36 对 SSR 标记^[8],每条染色体 3 对,引物信息如表 2 所示。

表 2 遗传多样性研究引物序列信息

染色体编号	标记名称	正向序列(5′—3′)	反向序列(5′—3′)
1	RM23	CATTGGAGTGGAGGCTGG	GTCAGGCTTCTGCCATTCTC
1	RM5	TGCAACTTCTAGCTGCTCGA	GCATCCGATCTTGATGGG
1	RM81A	GAGTGCCTGTGCAAGATCCA	CTTCTTCACTCATGCAGTTC
2	RM211	CCGATCTCATCAACCAACTG	CTTCACGACCATCTCAAAGG
2	RM262	CATTCCGTCTCGGCTCAACT	CAGAGCAAGGTGGCTTGC
2	RM71	CTAGAGGCGAAAACGAGATG	GGGTGGGCGAGGTAATAATG
3	RM60	AGTCCCATGTTCCACTTCG	ATGGCTACTGCCTGTACTAC
3	RM231	CCAGATTATTTCTGAGGTC	CACTTGCATAGTTCTGCATTG
3	RM251	GAATGGCAATGGCGCTAG	ATGCGGTTCAAGATTCCGATC
4	RM335	GTACACACCCACATCGAGAAG	GCTCTATCGAGTATCCATGG
4	RM255	TGTTGCGTGTGGAGATGTG	CGAAACCGCTCAGTTCAAC
4	RM241	GAGCCAAATAAGATCGCTGA	TGCAAGCAGCAGATTTAGGGTG
5	RM267	TGCAGACATAGAGAAGGAAGTG	AGCAACAGCACAACTTGATG
5	RM164	TCTTGCCGCTCACTGCAGATATCC	GCAGCCCTAATGCTACAATTCTTC
5	RM249	GGCGTAAAGGTTTTGCATGT	ATGATGCAATGAAGGTCAGC
6	RM190	CTTTGTCTATCTCAAGACAC	TTGCAGATGTTCTTCCTGATG
6	RM225	TGCCCATATGGTCTGGATG	GAAAGTGGATCAGGAAGGC
6	RM253	TCCTTCAAGAGTGCAAAACC	GCATTGTCATGTCGAAGCC
7	RM134	ACAAGGCCGCGAGAGGATTCCG	GCTCTCCGGTGGCTCCGATTGG
7	RM82	TGCTTCTTGTC AATTCGCC	CGACTCGTGGAGGTACGG
7	RM18	TTCCCTCTCATGAGCTCCAT	GAGTGCTGGCGCTGTAC
8	RM25	GGAAAGAATGATCTTTTCATGG	CTACCATCAAAAACCAATGTTT
8	RM223	GAGTGAGCTTGGGCTGAAAC	GAAGGCAAGTCTTGGCACTG
8	RM42	ATCCTACCGTGACCATGAG	TTTGGTCTACGTGGCGGTACA

续表 2 遗传多样性研究引物序列信息

染色体编号	名称	正向序列(5′—3′)	反向序列(5′—3′)
9	RM219	CGTCCGATGATGTAAAGCCT	CATATCGGCATTGCGCTG
9	RM242	GGCCAACGTGTGTATGTCTC	TATATGCCAGCACGGATGGG
9	RM296	CACATGGCACCAACCTCC	GCCAAGTCATTCACTACT
10	RM244	CCGACTGTTCTGCTTATCA	CTGCTCTCGGCTGAACAT
10	RM258	TGCTGTATGTAGCTCGCACC	TGGCCTTAAAGCTGTCGC
10	RM216	GCATGGCCGATGGTAAAG	TGTATAAAACCACACGGCCA
11	RM206	CCCATGCGTTTAACTATTCT	CGTTCCATCGATCCGTATGG
11	RM224	ATCGATCGATCTTCACGAGG	TGCTATAAAAGGCATTCGGG
11	RM254	AGCCCCGAATAAATCCACCT	CTGGAGGGAGCATTTGGTAGC
12	RM235	AGAAGCTAGGGCTAACGAAC	TCACCTGGTCAGCCTCTTTC
12	RM247	TAGTGCCGATCGATGTAACG	CATATGGTTTTGACAAAGCG
12	RM270	GGCCGTTGTTCTAAATC	TGCGCACTATCATCGGCGAG

1.5 遗传多样性分析

按照引物扩增后产物分子质量大小进行编号,数据录入在 Excel 2010 中完成,遗传多样性指数和聚类分析均在 PowerMarker V3.25^[11]中完成。

2 结果与分析

2.1 等位基因扩增及多样性分析

36 对 SSR 标记在 50 份湖北糯稻地方种中扩增出 367 个等位位点,平均每个标记等位位点 10 个,最少的位点 2 个,最多的位点 20 个(表 3)。

RM219、RM296、RM270 等标记的等位位点扩增数目较多,变异度高;而 RM255、RM164、RM249、RM25、RM223 等标记的等位位点扩增数目较少,较为保守。以染色体作为统计单位(图 1),第 3、9、10、11、12 号染色体的等位位点数目多。基因多样性指数(GD)以 RM270、RM254、RM296 等较高,所有位点的平均多样性指数较高(为 0.710 7),多态信息含量(PIC)丰富(平均为 0.686 1),湖北省糯稻地方品种的遗传变异丰富(表 3)。

表 3 36 个标记位点的等位基因扩增信息

标记名称	染色体编号	等位位点数/个	GD	PIC	标记名称	染色体编号	等位位点数/个	GD	PIC
RM23	1	7	0.639 7	0.608 7	RM82	7	9	0.828 8	0.806 8
RM5	1	8	0.523 8	0.482 5	RM18	7	6	0.755 1	0.713 5
RM81A	1	10	0.749 4	0.729 1	RM25	8	5	0.238 4	0.228 7
RM211	2	16	0.807 0	0.783 4	RM223	8	3	0.090 7	0.086 6
RM262	2	12	0.850 3	0.833 0	RM42	8	14	0.760 5	0.735 5
RM71	2	6	0.632 7	0.589 4	RM219	9	19	0.886 6	0.876 3
RM60	3	12	0.760 5	0.728 6	RM242	9	8	0.659 6	0.611 2
RM231	3	9	0.857 1	0.840 2	RM296	9	19	0.898 5	0.890 8
RM251	3	11	0.851 2	0.835 2	RM244	10	11	0.785 7	0.755 3
RM335	4	14	0.852 0	0.836 8	RM258	10	14	0.856 9	0.841 7
RM255	4	4	0.672 3	0.620 7	RM216	10	15	0.799 6	0.775 8
RM241	4	7	0.633 8	0.606 8	RM206	11	9	0.761 9	0.739 7
RM267	5	14	0.751 7	0.732 5	RM224	11	15	0.886 1	0.875 4
RM164	5	5	0.565 8	0.507 5	RM254	11	14	0.893 7	0.884 6
RM249	5	2	0.090 7	0.086 6	RM235	12	6	0.630 4	0.568 6
RM190	6	6	0.464 6	0.438 5	RM247	12	11	0.857 7	0.841 8
RM225	6	10	0.809 8	0.784 5	RM270	12	20	0.926 6	0.922 0
RM253	6	7	0.751 4	0.721 2	平均	-	10	0.710 7	0.686 1
RM134	7	9	0.805 8	0.780 8					

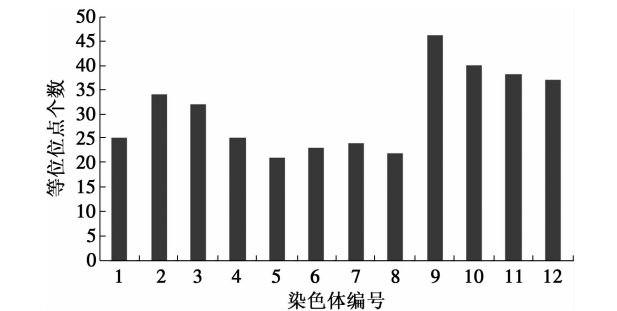


图 1 12 条染色体等位位点分布

2.2 湖北糯稻地方品种聚类分析

将数据按要求录入 PowerMarker V3.25 中,进行聚类,结果如图 2。50 份地方糯稻可分为 2 类,与传统的粳、籼稻划分相似,只是在粳稻和籼稻的 2 类里面均混有表型上为粳或籼糯稻,例如 I 类中大部分是籼糯,但浠水乌嘴糯(5)、杈糯(12)、五八糯(20)、蒲圻白壳糯(26)等都在表型上属于粳糯稻;而在第 II 类的粳稻类群中,红安里粒谷(1)、乌嘴糯

(4)、泥轨头(9)、矮脚溜(10)等糯稻在表型上属于籼糯稻。出现这种结果的原因,有可能是早期极少部分表型判定的籼粳分类不准确,而最大可能的原

因是湖北糯稻地方品种的籼粳糯稻基因相互渗入,形成许多偏籼和偏粳类型。

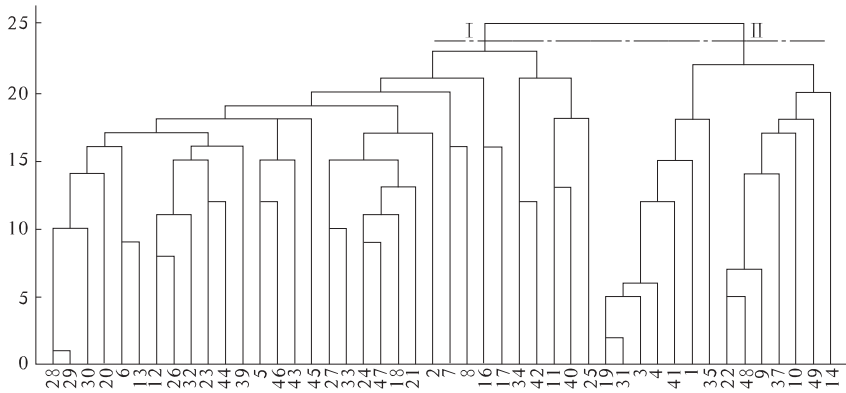


图 2 湖北地方糯稻品种聚类

3 结论与讨论

3.1 湖北糯稻种质遗传多样性丰富

本试验结果显示,湖北的地方糯稻品种遗传多样性丰富,36 个位点的平均多样性指数和多态信息含量分别为 0.710 7 和 0.686 1,高于广西^[4]、贵州^[5]等地,与多样性很高的云南糯稻地方品种相当^[12]。湖北省是我国糯稻种植面积最大的省份^[2],种植糯稻的历史悠久,保存的糯稻地方品种多、血缘复杂,造成了湖北糯稻遗传多样性丰富。

3.2 湖北糯稻籼粳成分互渗材料有利于籼粳亚种间杂种优势利用

湖北省是传统籼稻和粳稻种植区域划分的中间线,因而许多地方既可种植粳稻也可种植籼稻,籼、粳糯稻种植过程中的相互杂交,产生了许多偏籼和偏粳类型的糯稻品种。杂种优势利用中目前主要以籼籼交为主,对具有更大杂种优势的籼粳亚种杂交利用较为困难,主要原因在于亚种间结实率低、F₁代株高偏高和超亲晚熟等,而利用籼粳交中间材料进行搭桥被认为是解决亚种间不育的重要途径^[13-14]。湖北糯稻地方品种中的籼粳互渗种质为实现亚种间杂种优势利用提供了丰富的材料。

参考文献:

[1] Zhang H L, Zhang D L, Wang M X, et al. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* in China [J]. TAG, 2011,122:49-61.
[2] 陈跃,谢春甫,万文田,等. 孝感市糯稻产业现状与发展对策 [J]. 河北农业科学, 2010, 14 (7): 125-127,169.
[3] 杨慧,杨学辉,陆春明,等. 39 份云南糯稻品种抗瘟性

和遗传多样性的相关分析 [J]. 云南农业大学学报, 2011, 26(1):1-5.
[4] 李丹婷,夏秀忠,农保选,等. 广西地方稻种资源核心种质构建和遗传多样性分析 [J]. 广西植物, 2012, 32 (1):94-100.
[5] 范富华,施文娟,阮仁超,等. 贵州地方稻种资源的 IS-SR 遗传多样性评价 [J]. 种子, 2010, 8(29):11-14.
[6] 黎毛毛,黄永兰,余丽琴,等. 利用 SSR 标记构建江西稻种资源核心种质库的研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(6):952-957.
[7] 吕广磊,蒯忠龙,白现广,等. 云南栽培稻种 SSR 遗传多样性比较 [J]. 植物学报, 2009, 44(4):457-463.
[8] Qi Y W, Zhang D L, Zhang H L, et al. Genetic diversity of rice cultivars (*O. sativa* L.) in China and the temporal trends in recent fifty years [J]. Chin Sci Bull, 2006, 51 (6):681-688.
[9] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. Nucl Acids Res, 1980, 8(19):4321-4326.
[10] Panaud O, Chen X, McCouch S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Mol Gen Genet, 1996, 252:597-607.
[11] Liu K, Muse S V. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data [J]. Bioinformatics, 2005,21(9): 2128-2129.
[12] 杨慧,陆春明,贾亦飞,等. 云南糯稻遗传多样性的 SSR 分析 [J]. 分子植物育种, 2008, 6(6):1068-1074.
[13] 杨振玉,张忠旭,华泽田,等. 不同类型籼粳亚种间杂种 F₁ 可利用和非可利用杂种优势的评价利用 [J]. 中国水稻科学, 1991, 4(2):49-55.
[14] 杨振玉,张忠旭,魏耀林,等. 粳型特异亲和恢复系 C418 选育及其特性 [J]. 杂交水稻, 1998, 13(3):31-32.