

寒地粳稻指纹图谱的构建及聚类分析

李志彬^{1,2,3}, 刘欣¹, 曾强⁴, 何广生^{1,2}, 亓娜^{1,2}, 朱崑^{1,2}, 东丽¹,
华泽田¹

(1. 国家粳稻工程技术研究中心, 天津 300457; 2. 天津天隆种业科技有限公司, 天津 300457; 3. 沈阳农业大学, 沈阳 110866; 4. 江苏天隆科技有限公司, 江苏 苏州 211700)

摘要:用6对INDEL标记及10对SSR标记对74份黑龙江及吉林的粳稻资源材料进行检测,通过分子标记构建每份材料的指纹图谱,利用Structure及Powermarker V3.25软件对供试材料进行分群及聚类分析。结果表明参试材料可以分成两个大群,细分为4个小群,在聚类分析图中,黑龙江和吉林品种中的龙粳30、垦稻20、通823等品种与籼型对照品种9311及偏籼型材料C418聚在一群,其余的粳稻品种分布在不同的3个小群,3个小群中的粳稻材料遗传差异较小,亲缘关系较近,试验结果与田间表现及测定结果相一致,在实际育种中,可以参照聚类图中信息,选择亲缘关系稍远的偏籼型材料进行杂交配组。

关键词:INDEL标记; SSR标记; 寒地粳稻; 亲缘分析

中图分类号: S511.2⁺2

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2017)04-0015-05

Fingerprints Chromatogram of Cold Japonica and Cluster Analysis

LI Zhibin^{1,2,3}, LIU Xin¹, ZENG Qiang⁴, HE Guangsheng^{1,2}, QI Na^{1,2}, ZHU Wei^{1,2}, DONG Li¹, HUA Zetian¹

(1. China National Japonica Rice Research Center, Tianjin 300457; 2. Tianjin Tianlong Seeds Science and Technology Co., Ltd., Tianjin 300457; 3. Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866; 4. Jiangsu Tianlong Science & Technology Co., Ltd., Suzhou 211700, China)

Abstract: Clustering analysis of 74 japonica rice materials grown in Heilongjiang and Jilin Province were detected and marked with 6 pairs of INDEL markers and 10 SSR markers. The results of the fingerprint of each material were analyzed and clustered by using Structure and Powermarker V 3.25 software. The results showed that the tested materials were divided into two groups, subdivision for the 4 group. In the clustering analyzed, a few varieties of indica cultivar with 9311 and partial indica type material C418 gathered in the group, the rest of the rice varieties in 3 different groups. The smaller the genetic diversity of Japonica group was, the closer genetic relationship. The experimental results was consistent with our field observation. In practical breeding, we could refer to the clustering map information and selecting materials with farther relationship to cross.

Key words: INDEL Marker; SSR Marker; Genetic analysis; Japonica rice

栽培稻(*Oryza sativa* L.)是全球主要粮食作物之一^[1],在长期的栽培驯化过程中,形成了明显的籼、粳稻之分^[2-4]。大量的研究表明,由于籼粳亚种间具有较远的遗传关系,两者间杂交子一代具有明显的杂种优势,若能成功地利用亚种间的杂种优势,预计产量可超越现有品种30%~50%^[4-6]。实际育种中,要有效利用籼粳间的杂种

优势,首先要了解育种亲本的籼粳属性,了解其遗传信息。分子标记近些年取得飞速发展,DNA分子标记中的SSR、INDEL标记因其特异性、稳定性、检测结果快速准确的特点被广泛用于品种真实性检测、纯度检测、遗传分析及分子标记辅助选择等方面。育种人员越来越多地借助分子标记技术进行新品种选育,并取得了显著的成效。本研究旨在利用少量SSR及INDEL标记对寒地粳稻育种质资源进行初步的鉴定,利用聚类分析软件对育成的粳稻品种进行亲缘分析,为水稻育种者准确、高效地选择亲本提供科学依据。

收稿日期: 2017-02-27

基金项目: 科技部国家重点研发计划项目(2016YFD0101106)

作者简介: 李志彬(1982-),男,农艺师,博士,主要从事杂交粳稻育种及配套应用技术研究。

1 材料与方法

1.1 供试水稻材料

用74份粳稻品种做试验材料(见表1),试验

粳稻由国家粳稻工程技术研究中心提供。吉林、黑龙江寒稻地区育种亲本材料,在这些材料中有4份对照品种,粳稻对照越光,籼稻对照9311,粳型中间型材料52A,籼型中间材料C418。

表1 供试74份检测材料

编号	品种名称	种子来源	编号	品种名称	种子来源
1	吉农大815	吉林	38	龙粳36	黑龙江
2	延粳26	吉林	39	垦稻18	黑龙江
3	松粳20	吉林	40	龙粳23	黑龙江
4	通科18	吉林	41	龙粳18	黑龙江
5	吉粳809	吉林	42	垦稻20	黑龙江
6	延321	吉林	43	龙粳香1号	黑龙江
7	吉粳512	吉林	44	绥粳3号	黑龙江
8	吉粳81	吉林	45	上育453	黑龙江
9	吉粳111	吉林	46	龙粳32	黑龙江
10	吉粳88	吉林	47	龙粳21	黑龙江
11	长白23	吉林	48	东农418	黑龙江
12	吉农大878	吉林	49	龙粳30	黑龙江
13	吉农大809	吉林	50	龙粳27	黑龙江
14	延粳207	吉林	51	绥粳4号	黑龙江
15	吉粳511	吉林	52	龙粳24	黑龙江
16	延508	吉林	53	龙粳41	黑龙江
17	吉粳810	吉林	54	龙粳40	黑龙江
18	吉粳513	吉林	55	龙粳20	黑龙江
19	松粳12	吉林	56	延香1号	黑龙江
20	延粳25	吉林	57	上育418	黑龙江
21	吉粳113	吉林	58	龙交104087	黑龙江
22	吉农大868	吉林	59	黑粳2号	黑龙江
23	长白25	吉林	60	延粳19	黑龙江
24	越光	黑龙江	61	延粳14	黑龙江
25	C418	辽宁	62	龙粳48	黑龙江
26	52A	辽宁	63	龙粳47	黑龙江
27	9311	江苏	64	秋田小町	黑龙江
28	延粳22	吉林	65	绥粳5号	黑龙江
29	吉粳301	吉林	66	空育131	黑龙江
30	通823	吉林	67	龙粳25	黑龙江
31	通禾838	吉林	68	垦育88	黑龙江
32	上育397	黑龙江	69	龙稻1号	黑龙江
33	垦稻22	黑龙江	70	丰锦	黑龙江
34	龙粳38	黑龙江	71	龙粳19	黑龙江
35	龙粳29	黑龙江	72	龙稻7号	黑龙江
36	石狩白毛	黑龙江	73	龙粳12	黑龙江
37	龙粳14	黑龙江	74	龙稻21	黑龙江

1.2 基因组DNA提取

采用改良的CTAB-氯仿-异戊醇法进行水稻基因组DNA提取^[7],取水稻嫩叶片0.1g于液氮中研磨,加入CTAB裂解缓冲液(10%CTAB,5mol/L

NaCl,1.0mol/L、pH值8.0Tris-HCl,0.5mol/L EDTA,0.2%巯基乙醇),氯仿/异戊醇(24:1)抽提2次,用异丙醇沉淀、70%乙醇洗涤2次,干燥后加入1×TE缓冲液溶解DNA,保存于-20℃冰箱内备

用。

1.3 检测用分子标记及PCR扩增

从三系杂交水稻及亲本真实性和品种纯度鉴定DNA分析及水稻品种真实性鉴定SSR标准的文献中选择62对SSR标记,INDEL标记参照卢宝荣等^[8]的研究方法,选用多态性较好的INDEL标记19对,SSR及INDEL标记共81对,针对越光、9311、C418、52A等材料进行分子标记的初筛,筛选出扩增效果稳定且能较好地区分对照材料的SSR标记10对,INDEL标记6对(见表2),SSR及INDEL标记由上海生物工程有限公司合成。

表2 供试材料检测标记信息

标记名称	染色体	等位基因数目	标记类型
RM1	1	5	SSR
RM9	1	3	SSR
RM258	10	3	SSR
RM424	2	3	SSR
RM1385	2	6	SSR
RM16	3	2	SSR
RM276	6	4	SSR
RM474	10	3	SSR
RM5095	10	5	SSR
OSR28	9	4	SSR
R1	1	2	indel
R3	2	2	indel
R6	3	2	indel
R8	3	2	indel
R12	7	2	indel
R16	10	2	indel

PCR反应体系10 μ L中包括1.0 μ L(约20 ng)

的模板DNA,5 μ L 2 \times Taq PCR starmix, dd H₂O 3 μ L;反应在PTC-200 ThermalCycler (MJResearch)上进行。扩展条件为SSR标记95 $^{\circ}$ C变性5 min后;95 $^{\circ}$ C下60 s,55 $^{\circ}$ C下60 s,72 $^{\circ}$ C下90 s,35个循环;最后72 $^{\circ}$ C下延伸8 min,4 $^{\circ}$ C保存待测。

1.4 电泳检测

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳,使用DYC-30电泳仪及DYY-III垂直板电泳槽。扩增后吸取PCR产物2 μ L上样,电泳缓冲液为1 \times TBE。用8%的聚丙烯酰胺凝胶电泳,稳压110 V。当溴酚蓝指示剂距凝胶下沿1 cm时,结束电泳,快速银染显色,在扫描仪上扫描记录。

2 结果与分析

利用Structure及Powermarker v3.25软件及对试验数据进行分群及遗传聚类分析,Structure分析时参数选择K=4时,将供试材料分为4个群最适合,同Powermarker v3.25的聚类图一致。从图1可以看出试验材料分为2大群,一群为偏粘群,另一群为粳稻群,粳稻的大群中又划分为3个群(见图2)。9311、C418等粘型材料与绥粳4号、绥粳5号、龙粳18、龙粳21、龙粳30、龙粳38、松粳12、松粳20分在一个群,但粘型材料间的粘性成分存在差异,这部分材料在粳稻育种中价值较大;越光与空育131两个日本引进品种在聚类图中距离最近,与实际血缘一致,寒地粳稻材料大部分都聚在粳型大群中,但两两间的遗传差异不同,分布在不同的小群中,在育种时可以参考聚类分析图中材料的遗传信息来选择使用辅助育种。

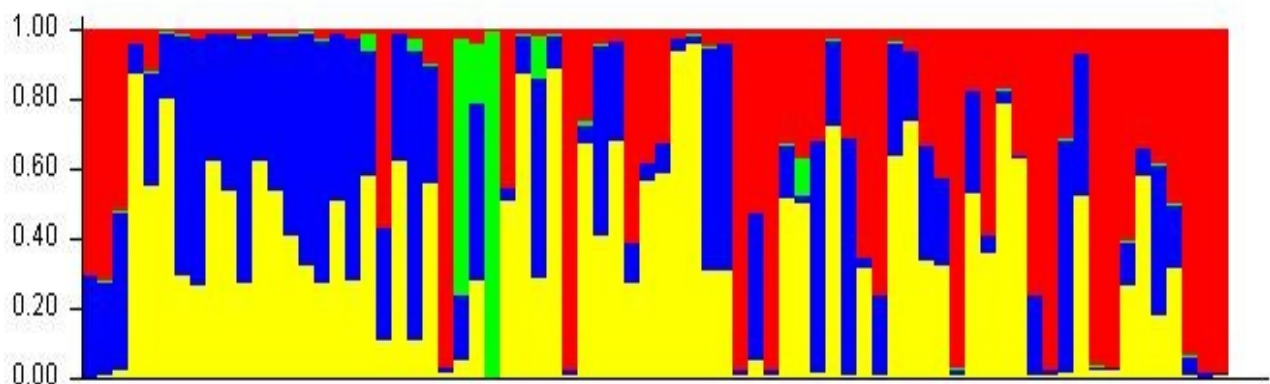


图1 STRUCTURE K=4 供试材料的分群及每个材料在每个群的成分比例

地粳稻区的杂交后代优势。

参考文献:

- [1] 虞国平. 水稻在我国粮食安全中的战略地位分析[J]. 新西部, 2009(11): 31-33.
- [2] 丁颖. 中国栽培稻种的分类[A]. 丁颖稻作论文集[C]. 北京: 农业出版社, 1983: 74-93.
- [3] Oka H L. Origin of cultivated rice [M]. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1988: 138-205.
- [4] 马荣荣, 许德海, 王晓燕, 等. 籼稻亚种间杂交稻甬优6号超高产株形特征与竞争优势分析[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(3): 281-286.
- [5] Stuber C W. Heterosis in plant breeding [J]. Plant Breeding Reviews, 1994(12): 227-251.
- [6] 袁隆平. 水稻的雄性不孕性[J]. 科学通报, 1966, 17(4): 43-46.
- [7] Liu L W, Guo W Z, Zhu X, et al. Inheritance and fine mapping of fertility-restoration for cytoplasmic male sterility in *Gossypium hirsutum* L. [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106: 461-469.
- [8] 卢宝荣, 蔡星星, 金鑫. 籼稻和粳稻的高效分子鉴定方法及其在水稻育种和进化研究中的意义[J]. 自然科学进展, 2009, 19(6): 628-638.

(责任编辑: 王昱)