

镉低积累水稻资源的镉积累稳定性及遗传相似性分析

赵文锦¹, 黎用朝^{1,2,3}, 李小湘^{1,2,3}, 潘孝武^{1,2,3}, 刘文强^{1,2,3}, 熊海波^{2,3}, 董 铮^{2,3}, 魏秀彩¹,
刘利成^{2,3}, 刘三雄^{2,3}, 闵 军^{2,3}, 段永红^{2,3}, 余亚莹^{2,3}, 盛新年^{2,3}

(¹ 湖南大学研究生院隆平分院, 长沙 410125; ² 湖南省农业科学院水稻研究所, 长沙 410125;

³ 农业部长江中下游水稻遗传育种重点实验室, 长沙 410125)

摘要: 以 9311 为高镉对照, 湘晚籼 12 号为相邻低镉对照, 2014-2017 年经田间鉴定筛选出的 15 份镉低积累水稻资源为参试材料, 鉴定精米的相对降镉率并筛选出年度间相对降镉率差异不显著的资源; 采用 45 对 SSR 引物检测 15 份资源的遗传多样性, 提出遗传距离大且相对降镉率高的育种可用资源。2018 年试验结果表明, 15 份低镉水稻资源的精米镉含量都低于湘晚籼 12 号, 相对降镉率大于 50% 的有 10 份, 变幅为 50.8%~83.5%; 小于 50% 的有 5 份, 变幅为 1.9%~49.8%; 2019 年试验结果表明, 7 份生育期相近的资源, 相对降镉率都大于 50%, 变幅为 60.1%~78.7%; 2 年试验结果的综合分析表明, 4 份低镉资源 BS82、X211、7W172、7W216 的镉积累在年度间无显著性差异, 且相对降镉率都在 50% 以上。15 份镉低积累资源总体遗传多样性较为丰富 ($N_a=4.311$ 、 $N_e=3.257$ 、 $H_o=0.041$ 、 $H_e=0.657$ 、 $I=1.207$ 、 $Nei's=0.639$ 、 $PIC=0.612$); 遗传相似系数 (GS) 的平均值为 0.377, BS82 和 X211、BS82 和 7W172 (7W216)、X211 和 7W172 (7W216) 的遗传相似系数分别为 0.319、0.447、0.426, 表明亲缘关系较远。由上说明 BS82、X211、7W172、7W216 是镉低积累新品种选育的可利用的宝贵资源。

关键词: 镉低积累; 水稻; 鉴定; 遗传多样性

Stability of Cadmium Accumulation and Genetic Similarity Analysis in Low-accumulation Rice Resources

ZHAO Wen-jin¹, LI Yong-chao^{1,2,3}, LI Xiao-xiang^{1,2,3}, PAN Xiao-wu^{1,2,3}, LIU Wen-qiang^{1,2,3},
XIONG Hai-bo^{2,3}, DONG Zheng^{2,3}, WEI Xiu-cai¹, LIU Li-cheng^{2,3}, LIU San-xiong^{2,3},
MIN Jun^{2,3}, DUAN Yong-hong^{2,3}, YU Ya-ying^{2,3}, SHENG Xin-nian^{2,3}

(¹Long Ping Branch, Graduate School of Hunan University, Changsha 410125; ²Rice Research Institute, Hunan Academy of Agriculture Science, Changsha 410125; ³Key Laboratory of Indica Rice Genetics and Breeding in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River Valley, Ministry of Agriculture, P.R.China, Changsha 410125)

Abstract: With rice variety (cv.) 9311 as the high-Cd control and cv. Xianwanxian 12 as the adjacent low-Cd control, we investigated the cadmium accumulation of 15 Cd low-accumulating rice germplasm resources from 2014 to 2017 and identified the relative Cd-reduction rate of polished rice and screened the resources with no significant difference in the annual relative Cd-reduction rate. In addition, 45 SSR markers were used to detect the genetic diversity of 15 rice accessions, in order to identify the resources available for breeding with a great genetic distance and high relative Cd-reduction rate. The results showed that in 2018, Cd content in 15 low-Cd polished rice was lower than cv. Xianwanxian 12. Ten samples represented relative Cd-reduction rate of more than 50%, ranging from 50.8% to 83.5%, while 5 samples were less than 50%, ranging from 1.9% to 49.8%. In 2019, the relative Cd-reduction rate in 7 rice samples with similar growth period was higher than 50%, variable

收稿日期: 2019-12-26 修回日期: 2020-02-02 网络出版日期: 2020-02-19

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191226001>

第一作者研究方向为植物遗传学与品种选育, E-mail: 727278622@qq.com; 黎用朝为共同第一作者

通信作者: 李小湘, 研究方向为水稻种质资源评价, Email: xiaoxiang66196@126.com

基金项目: 国家和湖南省财政专项镉低积累水稻品种选育; “十三五”国家重点研发项目 (2016YFD0100101-12)

Foundation project: National and Hunan Provincial Financial Special Breeding of Low-accumulation Rice Varieties, China National Key Research & Development Program During the 13th Five-year (2016YFD0100101-12)

from 60.1% to 78.7%. Based on the two-year test results, no significant difference was found among four low-Cd rice samples BS82, X211, 7W172, 7W216, and the relative Cd-reduction rate was higher than 50%. The overall genetic diversity in 15 low Cd-accumulating rice population indicated relatively abundant ($Na=4.311$, $Ne=3.257$, $Ho=0.041$, $He=0.657$, $I=1.207$, $Nei's=0.639$, $PIC=0.612$). The mean genetic similarity (GS) was 0.377, suggesting distant genetic relationship. For examples, the GS in pairs of samples BS82 and X211, samples BS82 and 7W172 (7W216) as well as samples X211 and 7W172 (7W216) were 0.319, 0.447 and 0.426, respectively. Therefore, four rice germplasm resources BS82, X211, 7W172, 7W216 are available in future breeding for new varieties with low Cd-accumulation.

Key words: low Cd-accumulating; rice; identify; genetic diversity

水稻是我国种植面积最大的粮食作物。全国约 2/3 的人口以稻米为主食。随着经济的发展,工农业等人为活动致使中国的耕地受污染面积增大,2014 年 4 月环境保护部和国土资源部发布了《全国土壤污染状况调查公报》,全国土壤总的点位超标率为 16.1%,耕地点位超标率为 19.4%,污染物中镉 (Cd) 的点位超标率达到 7%。土壤中的镉会在水稻的根和茎中积累,转移到籽粒中^[1],最终通过食物链进入人体,从而引起一系列人类健康问题。因此,鉴定筛选镉低积累水稻种质资源,培育低镉水稻新品种,对提高稻米质量安全水平、保障稻米消费者健康水平具有重要的意义。

拥有遗传多样性丰富的种质资源是选育水稻新品种的基础和前提。大规模的镉低积累资源品种鉴定筛选在湖南已开展多年,大量研究表明品种资源之间的镉积累特性差异显著,已筛选到一批比通用的低镉对照品种湘晚籼 12 号镉积累更低的资源,也有在一定栽培条件下达到国家稻米镉含量标准的一些资源。但是因田间平整度不一、土壤镉含量不均匀、始穗期不一致导致鉴定结果重复性差^[2-4],采用每个参试样本间种植一个对照品种,用相对降镉率评价资源的镉低积累差异。

分子标记分析低镉积累资源遗传多样性还少见报道。SSR (simple sequence repeat) 分子标记技术已被广泛地应用于包括水稻在内的各种作物遗传结构和遗传多样性分析^[5-7]。本研究对筛选出的 15 份低镉水稻品种进行相对降镉率精准鉴定,并利用 SSR 标记分析其遗传多样性,旨在了解镉低积累水稻资源的镉低积累特性的稳定性及各种质间的亲缘关系,为镉低积累水稻育种亲本的选配提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与种植设计

研究材料是本课题组 2014-2017 年在湖南省

湘阴县农科所和长沙县北山镇试验田 4 年 2 点试验的基础上,筛选出的 15 份镉低积累水稻资源,包括地方稻种、创制的种质和国外品种,以湘晚籼 12 号作为相邻低镉对照,9311 为高镉对照,同时 9311 作为亲缘分析的籼型对照,日本晴作为粳型对照。种子由湖南省水稻研究所种质资源室提供。湘晚籼 12 号是由湖南省水稻研究所选育的中熟偏早晚籼优质品种。该品种具有米质优、高产稳产、抗逆性好、适应性广等优点。被湖南省农委选定为“VIP”低镉水稻试验品种及“湘米工程”高档优质稻试验品种。试验点位于湖南省长沙县北山镇试验田,2018 年、2019 年的土壤 pH 平均值都为 5.3,2 年镉含量平均值分别为 0.69 mg/kg、0.55 mg/kg,高于国家土壤环境质量标准 (GB15618-1995)^[8] 0.3 mg/kg (pH<6.5)。

研究材料于 2018 年 5 月 8 日播种,播种后 22 d 移栽至试验田;2019 年 5 月 17 日播种,播种后 27 d 移栽至试验田。田间试验按随机区组排列,每份材料 7 行区、每行栽 9 株,3 次重复,株行距 16.67 cm × 16.67 cm,样品间空 2 行。在田间调查全生育期、株高。成熟时每小区取有代表性的 3 株,测量千粒重。田间取回的稻谷,自然晒干后,净稻谷用精米机加工成精米,用高速粉碎机粉碎成粉末。样品经优级纯硝酸和高氯酸混合溶液 (4:1) 消化后,用石墨炉原子吸收光谱仪 (ThermoFisher iCE3500) 测定 Cd 浓度。利用公式 $Cd = (Cd_{\text{相邻对照}} - Cd_{\text{样品}}) / Cd_{\text{相邻对照}} \times 100\%$ 计算相对降镉率。

1.2 总 DNA 的提取

选取水稻嫩叶为基因组 DNA 提取材料,采用经改进的 CTAB 法^[9] 提取水稻基因组 DNA, -20 °C 保存备用。利用 Implen NanoPhotometer 微量核酸蛋白分析仪检测 DNA 的浓度和纯度,将 DNA 浓度稀释为 150 ng/μL, -20 °C 保存备用。

1.3 SSR 引物的筛选及 PCR 反应

从水稻基因组 SSR 图谱中挑选出在水稻 12 条

染色体上均匀分布的 SSR 引物,用湘晚粳 12 号、9311、日本晴和 2 个镉低积累品种 (BS82、7W211) 的 DNA 进行电泳,从中筛选条带清晰且多态性明显的 45 对引物用于遗传多样性分析。反应采用 10 μ L 体系,包含模板 DNA 1 μ L, 5 μ mol/L 正、反向引物各 2 μ L, 2 xTap Plus Master MixII 为 5 μ L。扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 30 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 8 min (引物由上海生物工程有限公司合成)。PCR 扩增产物在 8% 聚丙烯酰胺变性凝胶上分离,电泳后的凝胶用 0.1% 硝酸银溶液染色。

1.4 统计方法

典型籼稻 9311 和典型粳稻日本晴作为对照,根据扩增产物电泳结果,在相同迁移位置上,有带记为 1,无带记为 0,建立 0-1 矩阵;同时记录基因型,以大写字母 A、B、C 等表示。应用 POPGENE32 统计软件计算等位基因数、有效等位基因数、Nei' s 基因多样性指数、Shannon 信息指数、期望杂合度、观测杂合度、多态信息含量。用 NT-SYSpC 2.0 计算供试品种的 Dice 遗传相似系数矩阵,采用非加权平均法 (UPGMA, unweighted pair-group method with arithmetic means) 进行聚类分析和主

坐标分析 (PCoA, Principal coordinate analysis)。

2 结果与分析

2.1 低镉水稻资源的相对降镉率及其部分农艺性状表型变异分析

本研究以湘晚粳 12 号为相邻对照,计算 15 份水稻资源的相对降镉率。高镉对照 9311 的镉含量远远大于湘晚粳 12 号,多次结果不稳定,标准差大。15 份水稻品种的低镉积累能力都强于湘晚粳 12 号,其中相对降镉率大于 50% 的有 10 份,相对降镉率的变幅是 50.8%~83.5%; 相对降镉率小于 50% 的有 5 份,相对降镉率的变幅是 1.9%~49.8%。15 份水稻资源株高的变幅 100.3 ~159.6 cm, 千粒重的变幅 16.9 ~45.4 g, 全生育期的变幅 97~118 d。生育期与对照湘晚粳 12 号相差不大于 4 d 的材料有 9 份,其中除了材料 7C2 (1.9%) 和 8X208 (20.2%) 外,其余 7 份资源的相对降镉率都不小于 49.8%; 生育期与对照湘晚粳 12 号相差 9~16 d 的有 6 份,6 份资源的相对降镉率都不小于 18.2% (表 1)。全生育期与镉含量以及相对降镉率均无相关性 ($P>0.05$),说明生育期短不一定镉低积累。

表 1 2018 年镉低积累水稻资源的相对降镉率及其部分农艺性状

Table 1 Relative Cd-reduction rate and phenotypic variation of low Cd-accumulating rice resources in 2018

名称 Name	相对降镉率 (%) Relative Cd-reduction rate	株高 (cm) Plant height	千粒重 (g) 1000-grain weight	全生育期 (d) Whole growth stages
湘晚粳 12 号		117.3 $\pm$ 1.8	22.9 $\pm$ 0.6	114
9311	-138.9 $\pm$ 59.3	125.0 $\pm$ 1.5	29.4 $\pm$ 0.4	118
7H810	83.5 $\pm$ 6.9	130.5 $\pm$ 1.2	23.4 $\pm$ 0.7	101
7W49	56.6 $\pm$ 2.2	145.3 $\pm$ 1.5	29.1 $\pm$ 0.7	111
BS82	69.2 $\pm$ 5.6	110.7 $\pm$ 1.6	16.9 $\pm$ 0.8	110
7W211	65.2 $\pm$ 11.2	115.4 $\pm$ 1.1	23.5 $\pm$ 1.1	101
8X208	20.2 $\pm$ 6.6	149.0 $\pm$ 1.6	22.3 $\pm$ 0.2	114
草禾子	18.2 $\pm$ 6.7	143.8 $\pm$ 1.8	23.8 $\pm$ 0.5	97
细叶苏	41.6 $\pm$ 8.4	129.3 $\pm$ 1.4	23.8 $\pm$ 0.2	97
X211	73.5 $\pm$ 7.1	132.3 $\pm$ 1.6	26.1 $\pm$ 0.4	112
BS114	49.8 $\pm$ 1.3	128.1 $\pm$ 1.5	24.2 $\pm$ 0.4	114
7W172	57.4 $\pm$ 4.1	158.7 $\pm$ 1.6	45.4 $\pm$ 0.3	117
7W216	60.9 $\pm$ 2.1	159.6 $\pm$ 1.4	44.7 $\pm$ 0.7	117
7W217	68.2 $\pm$ 4.8	134.9 $\pm$ 1.6	23.4 $\pm$ 0.8	104
红脚早	50.8 $\pm$ 7.8	150.2 $\pm$ 1.6	20.9 $\pm$ 1.6	102
7C2	1.9 $\pm$ 1.4	117.9 $\pm$ 1.7	22.6 $\pm$ 0.4	112
7C13	64.3 $\pm$ 3.5	100.3 $\pm$ 1.2	20.6 $\pm$ 0.7	113

$\pm$: 前、后的数据分别为平均值、标准差。下同

$\pm$: The front and back data are mean and *SD*, respectively. The same as below

2.2 年度间降镉能力分析

在 15 份低镉资源中筛选出生育期基本一致的 7 份资源,比较 2018 年和 2019 年 2 年间相对降镉率的差异,用 DPS9.01 进行 t 检验。7 份资源在 2019 年的相对降镉率都大于 50%,2 年间有 4 份低镉资源 BS82、X211、7W172、7W216 差异不显著,且相对降镉率都在 50% 以上。2 年间 3 份低镉资源的相对降镉率 7W49、BS114、7C13 有显著性差异,其中材料 BS114 在 2018 年的相对降镉率为 49.8%,而在 2019 年的相对降镉率高于 50%;7W49 和 7C13 在 2 年的相对降镉率都高于 50%(表 2)。说明 BS82、X211、7W172、7W216 在 2 年间的降镉能力比较稳定。

表 2 年度间的相对降镉率的比较

Table 2 Comparison of relative Cd-reduction rate among years

名称 Name	相对降镉率(%) Relative Cd- reduction rate		P 值 P value
	2018 年 In 2018	2019 年 In 2019	
7W49	56.6 ± 2.2	65.1 ± 3.8*	0.046
BS82	69.2 ± 5.6	73.8 ± 6.6	0.408
X211	73.5 ± 7.1	72.4 ± 1.1	0.854
BS114	49.8 ± 1.3	66.9 ± 4.2*	0.012
7W172	57.4 ± 4.1	61.9 ± 0.6	0.243
7W216	60.9 ± 2.1	60.1 ± 3.1	0.781
7C13	64.3 ± 3.5	78.7 ± 4.0**	0.003

*,** 分别表示 2019 年与 2018 年间差异达 0.05 和 0.01 显著水平
*,**Significant difference between 2019 and 2018 at 0.05 and 0.01 levels, respectively

2.3 镉低积累水稻资源 SSR 标记位点的遗传多样性分析

利用 45 对 SSR 引物对 15 份水稻种质进行遗传多样性分析(表 3)。共检测到 194 个等位基因,品种间不同位点等位基因数目不等,等位基因数的平均值是 4.311,变幅为 2~9,标记 RM297 检测到的等位基因数最多, RM13、RM16、RM19、RM85、RM240、RM348、RM455 检测到的等位基因数最少。有效等位基因数的平均值为 3.257,变幅为 1.588(RM71)~6.480(RM297);基因频率的平均值为 0.232,其中标记 RM25 的 A 等位变异的频率最低,为 0.028, RM71 的 B 等位变异的频率最高,为 0.778;观测杂合度平均值为 0.041,除 RM4 为 0.833、RM25 为 1 外,其他标记都为 0;期望杂合度平均值为 0.657,变幅为 0.381(RM71)~0.870

(RM297); Shannon 信息指数平均值为 1.207,变幅为 0.591(RM240)~2.014(RM297); Nei's 基因多样性指数平均值为 0.639,变幅为 0.370(RM71)~0.846(RM297),各位点大小和多态性信息含量值基本相同。以上结果表明, SSR 标记在供试品种中的遗传多样性较高。

2.4 镉低积累水稻资源的遗传相似性分析

根据 SSR 标记数据得到的供试品种遗传相似系数的变幅为 0.065~0.957,平均为 0.377。材料 7W172 和 7W216 的遗传相似系数(GS)最大(0.957),其次是材料草禾子和细叶苏(0.745)。材料草禾子和 7W172、材料草禾子和 7W216 遗传相似系数最小,均为 0.065。遗传相似系数小于 0.5 的有 76 对,小于 0.2 的有 30 对。说明上述品种之间的亲缘关系较远,揭示本研究低镉水稻品种的遗传基础较为丰富。材料 7W172 和 7W216 的遗传相似系数极大,对两者部分农艺性状(相对降镉率、千粒重、株高、生育期、谷粒长、谷粒宽、米皮色)进行比较,发现 7W172 和 7W216 上述性状的差异不显著($P>0.05$),表明其在种质库异名,但为同一品种。在 2 年间降镉能力比较稳定的 4 个材料分别是 BS82、X211、7W172、7W216,材料 BS82 和 X211 的遗传相似系数为 0.319,材料 BS82 和 7W172(7W216)的遗传相似系数为 0.447,材料 X211 和 7W172(7W216)遗传相似系数为 0.426,说明这些品种间亲缘关系都较远。

2.5 镉低积累水稻资源的聚类分析

根据遗传相似值矩阵,按 UPGMA 进行聚类分析,得到 18 份水稻种质的聚类图(图 1),在遗传相似系数为 0.40 水平上,参试品种分为 2 大类。分别是与 9311 聚在一起的 I 类群(偏粳型)和与日本晴聚在一起的 II 类群(偏粳型),I 类群的平均降镉能力低于 II 类群。在遗传相似系数为 0.52 水平上, I 类群可再分为 2 个亚群。材料草禾子、细叶苏、红脚早与 9311 和湘晚粳 12 号聚在一起归为 I-1 亚类,此类种质较其他几类平均相对降镉率最低,变幅为 18.2%~50.8%;材料 BS114 单独归为 I-2 亚类,相对降镉率为 49.8%, II 类群再分为 3 个小类群,材料 7H810、7W211、8X208、7W172、7W216、7W217 和日本晴被聚为第 II-1 亚类,除材料 8X208 的相对降镉率为 20.2% 外,此类种质较其他几类平均相对降镉率最高,变幅为 57.4%~83.5%;材料 7W49、X211、7C2、7C13 归为第 II-2 亚类,相对降镉率变幅为 1.9%~73.5%;材料 BS82 单独归为第

表 3 SSR 标记扩增产物的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity by using SSR markers

位点 Locus	等位基因数 <i>Na</i>	有效等位基因数 <i>Ne</i>	观测杂合度 <i>Ho</i>	期望杂合度 <i>He</i>	Shannon 信息指数 <i>I</i>	Nei's 基因 多样性指数 <i>Nei's</i>	多态性 信息含量 <i>PIC</i>
RM4	3	2.830	0.833	0.665	1.067	0.647	0.647
RM13	2	1.800	0	0.457	0.637	0.444	0.444
RM16	2	1.906	0	0.489	0.668	0.475	0.475
RM18	3	2.160	0	0.552	0.854	0.537	0.537
RM19	2	1.906	0	0.489	0.668	0.475	0.475
RM23	3	1.976	0	0.508	0.849	0.494	0.494
RM25	4	2.582	1	0.630	1.065	0.613	0.613
RM71	3	1.588	0	0.381	0.684	0.370	0.370
RM72	7	4.500	0	0.800	1.692	0.778	0.778
RM85	2	1.800	0	0.457	0.637	0.444	0.444
RM130	4	3.177	0	0.705	1.259	0.685	0.685
RM201	3	1.906	0	0.489	0.787	0.475	0.475
RM208	3	2.000	0	0.514	0.868	0.500	0.500
RM209	4	3.177	0	0.705	1.259	0.685	0.685
RM212	3	1.976	0	0.508	0.849	0.494	0.494
RM217	6	5.226	0	0.832	1.721	0.809	0.809
RM219	6	3.600	0	0.743	1.504	0.722	0.722
RM223	5	3.767	0	0.756	1.441	0.735	0.735
RM224	7	6.231	0	0.864	1.879	0.840	0.839
RM225	4	3.600	0	0.743	1.322	0.722	0.722
RM228	7	4.909	0	0.819	1.754	0.796	0.796
RM229	6	4.909	0	0.819	1.673	0.796	0.796
RM234	4	2.946	0	0.679	1.186	0.661	0.661
RM240	2	1.670	0	0.413	0.591	0.401	0.401
RM242	4	3.306	0	0.718	1.249	0.698	0.698
RM245	3	1.976	0	0.508	0.849	0.494	0.494
RM247	5	3.682	0	0.749	1.426	0.728	0.728
RM249	4	2.793	0	0.660	1.162	0.642	0.642
RM249	6	3.857	0	0.762	1.533	0.741	0.741
RM250	6	3.767	0	0.756	1.504	0.735	0.735
RM258	3	2.000	0	0.514	0.868	0.500	0.500
RM259	4	2.946	0	0.679	1.186	0.661	0.661
RM264	7	6.231	0	0.864	1.879	0.840	0.839
RM278	6	4.378	0	0.794	1.615	0.772	0.772
RM297	9	6.480	0	0.870	2.014	0.846	0.846
RM311	6	4.629	0	0.806	1.648	0.784	0.784
RM337	3	2.314	0	0.584	0.937	0.568	0.568
RM348	2	2.000	0	0.514	0.693	0.500	0.500
RM408	3	2.051	0	0.527	0.828	0.512	0.512
RM455	2	1.800	0	0.457	0.637	0.444	0.444
RM471	5	3.000	0	0.686	1.301	0.667	0.667
RM590	4	3.177	0	0.705	1.228	0.685	0.685
RM1231	5	3.767	0	0.756	1.436	0.735	0.735
RM3826	5	4.263	0	0.787	1.523	0.765	0.765
RM5414	7	6.000	0	0.857	1.875	0.833	0.833
平均值 Mean	4.311	3.257	0.041	0.657	1.207	0.639	0.612
标准差 SD	1.769	1.379	0.192	0.144	0.416	0.140	0.140

Na: Observed number of alleles, *Ne*: Effective number of alleles, *Ho*: Observed heterozygosity, *He*: Expected heterozygosity, *I*: Shannon's information index, *Nei's*: Nei's expected heterozygosity, *PIC*: Polymorphism information content

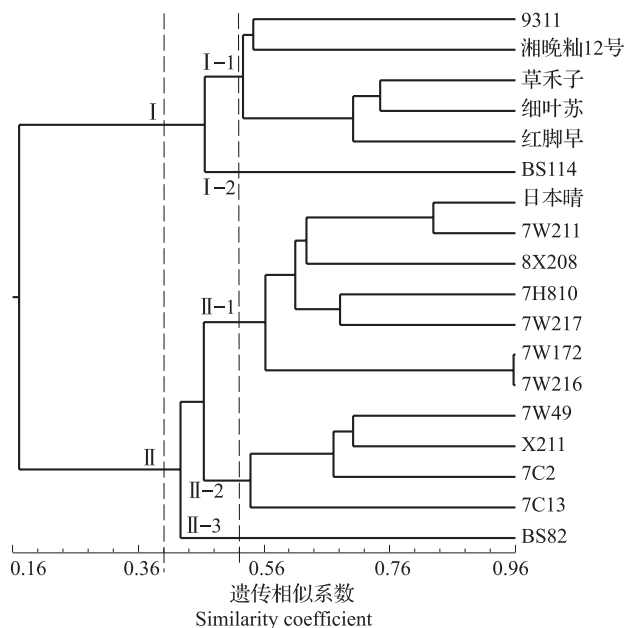


图1 基于 SSR 标记结果的 18 份水稻品种的聚类分析

Fig.1 Dendrogram of 18 accessions of rice using SSR markers

II -3 亚类, 相对降镉率为 69.2%。根据主坐标分析可知(图 2), 其第一贡献率、第二贡献率分别为 31.80% 和 11.31%, 群体分类结果与聚类分析基本吻合。

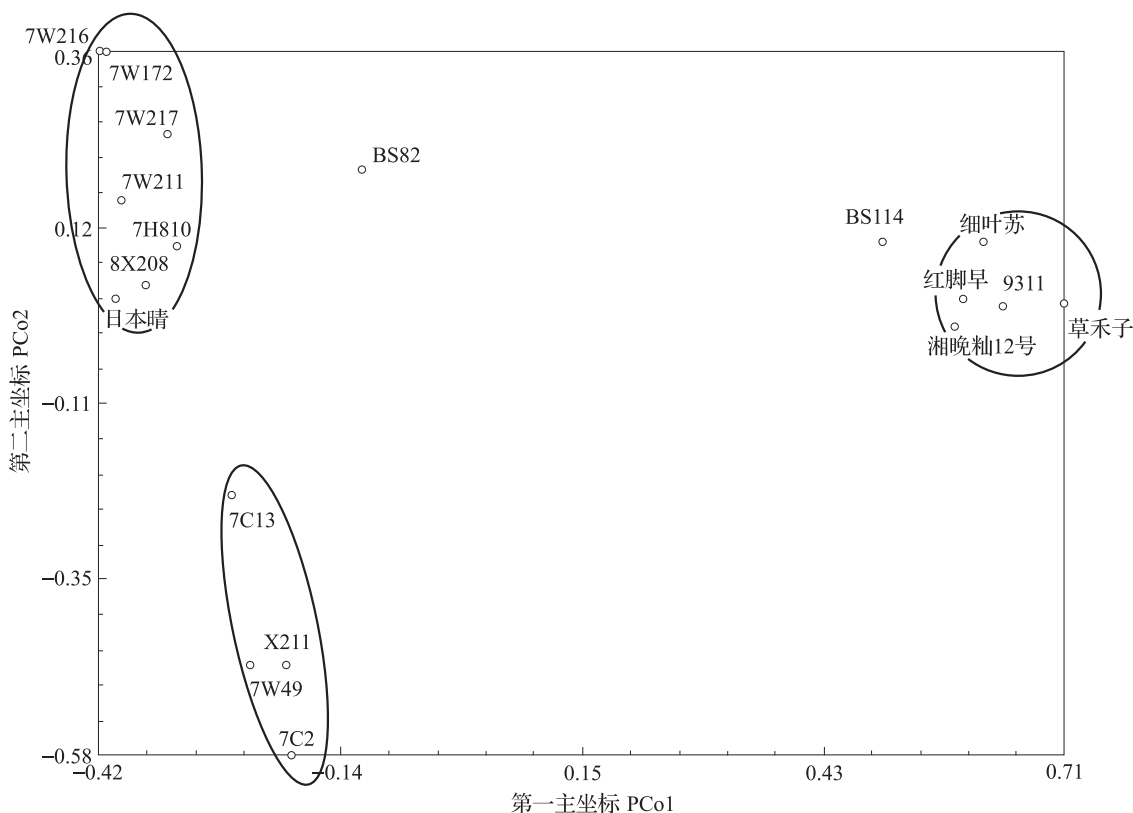


图2 18 份水稻的主坐标分析 (PCoA)

Fig.2 Principal coordinate analysis of 18 rice

3 讨论

湖南是我国重要的稻米大省和重金属矿区之一, 人们对矿山大量、长期的开采, 生产管理不善, 造成矿区周边特别是湘江流域污染已经成为污染的灾区^[10]。近年来发生的“镉大米”事件, 给湖南粮食生产带来严重影响。前人对镉低积累水稻的选育已经有很多成果, 从 2014 年开始, 湖南开始大规模筛选低镉主栽品种, 通过多年、多点、多重复的大田试验及盆栽试验, 先后从 685 个主栽品种中筛选出了 49 个镉积累相对较低的品种作为应急性镉低积累品种^[11]。滕振宁等^[12]以参加 2015 年湖南省低镉水稻筛选试验的 31 个早稻品种为材料, 对其在 15 个盆栽试验点的数据进行分析, 筛选出品种稻米低镉性能和镉含量稳定性均较好的品种 v20(两优早 17) 和 v23(株两优 706), 适合一般污染区大面积种植。

本研究以 2014-2017 年经田间鉴定筛选出的 15 份镉低积累水稻资源为参试材料, 在 2018 年共鉴定和筛选出 10 个相对降镉率在 50% 以上品种, 其中 7 个品种生育期基本一致, 4 份材料(BS82、X211、7W172、7W216)在 2018 年和 2019 年 2 年间降镉表现稳定, 且 2 年的相对降镉率都大于 50%。

7W49、BS114、7C13 两年间相对降镉率表现不稳定。前期鉴定筛选试验是每隔 30 个鉴定材料种植一个对照品种,而本试验改进方法为每份试验材料都相邻种植 1 个对照品种,并用相对降镉率评价镉低积累水平,较大程度地消除了田间环境差异带来的误差。然而采用改进方法试验的结果表明,在年度间 4 份材料表现稳定,差异不显著;3 份材料表现不稳定,差异显著,推测镉低积累基因可能与环境有互作效应,从而导致年度间有的材料表现为稳定或不稳定。

Sun 等^[13]报道水稻镉积累或吸收与生育期长短具有一定的相关性,但相关系数较低($R=0.13$);陈彩艳等^[11]认为即使生育期相同,稻米镉积累量也有较大的差别,筛选和培育镉低积累品种不受生育期和产量的限制。本研究结果表明二者之间无相关性。这可能是我们在分蘖末期开始用湿湿干干方式管水,部分消除了常规管水方法出现的问题,即同块田同期播种资源,生育期短的资源在成熟期一直处于稻田有水层环境,导致镉积累低,而生育期长的资源成熟期的后期稻田无水层,甚至田土干而有利于镉积累。

有研究认为,常规籼稻中的糙米镉含量大于常规粳稻^[14-16]。本研究精米镉含量的鉴定结果与前人研究有相同趋势,根据聚类分析结果表明,降镉能力较强的种质与日本晴的亲缘关系更近,但材料 BS114 与 9311 聚在同类,偏籼型但降镉率 $\geq 49.8\%$ 。

选择亲本材料是育种工作的基础和前提,分析亲本材料的遗传多样性和比较材料相互间亲缘关系,对镉低积累水稻品质的遗传改良和突破性育种成就有重要意义。SSR 分析结果表明,15 份低镉水稻资源遗传多样性丰富,亲缘关系较远,可作为亲本利用于镉低积累水稻育种等科学研究。材料 BS82、X211、7W172(7W216)分别聚在第 II-3、II-2、II-1 亚群,属于不同小亚群,品种间的遗传相似系数小,在育种选择亲本时可以避免遗传背景狭窄的局限性。参照韩龙植等^[17]编写的《水稻种质资源描述规范和数据标准》,材料 BS82、X211、7W172(7W216)的株高分别为中高、高、高,千粒重级别分别为低、高、极高,在育种中 BS82 具有株高优势,材料 X211、7W172(7W216)具有产量优势。由上说明材料 BS82、X211、7W172、7W216 是镉低积累新品种选育可利用的宝贵亲本资源,应予以加强利用。

参考文献

- [1] 喻华,上官宇先,涂仕华,秦鱼生,陈琨,陈道全,刘前聪. 水稻籽粒中镉的来源. 中国农业科学, 2018, 51(10): 1940-1947
Yu H, Shangguan Y X, Tu S H, Qin Y S, Chen K, Chen D Q, Liu Q C. Sources of cadmium accumulated in rice grain. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(10): 1940-1947
- [2] 封文利,郭朝晖,史磊,肖细元,韩晓晴,冉洪珍,薛清华. 控源及改良措施对稻田土壤和水稻镉累积的影响. 环境科学, 2018, 39(1): 399-405
Feng W L, Guo Z H, Shi L, Xiao X Y, Han X Q, Ran H Z, Xue Q H. Distribution and accumulation of cadmium in paddy soil and rice affected by pollutant sources control and improvement measures. Environmental Science, 2018, 39(1): 399-405
- [3] Li J R, Xu Y M. Immobilization remediation of Cd-polluted soil with different water condition. Journal of Environmental Management, 2017, 193: 607-612
- [4] Liao G J, Wu Q H, Feng R W, Guo J K, Wang R G, Xu Y M, Ding Y Z, Fan Z L, Mo L Y. Efficiency evaluation for remediating paddy soil contaminated with cadmium and arsenic using water management, variety screening and foliage dressing technologies. Journal of Environmental Management, 2016, 170: 116-122
- [5] Qi Y W, Zhang D L, Zhang H L, Wang M X, Sun J L, Wei X H, Qiu Z G, Tang S X, Cao Y S, Wang X K, Li Z C. Genetic diversity of rice cultivars (*Oryza sativa*, L.) in China and the temporal trends in recent fifty years. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(6): 681-688
- [6] 唐如玉,邹玉霞,陈娇,雷丽霞,唐江红,甘露,张佳妮,罗兰,沈航,台琳玉,赵正武. 三峡库区优异稻种资源遗传多样性及群体结构分析. 植物遗传资源学报, 2019, 20(6): 1408-1417
Tang R Y, Zou Y X, Chen J, Lei L X, Tang J H, Gan L, Zhang J N, Luo L, Shen H, Tai L Y, Zhao Z W. Unlocking the genetic diversity and population structure of excellent rice germplasm in the three gorges reservoir area. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(6): 1408-1417
- [7] 金建楚,李小湘,黎用朝,潘孝武,刘文强,段永红,余亚莹,盛新年,赵文锦,魏秀彩. 农户保存与种质库保存的同近名地方稻品种的遗传多样性研究. 植物遗传资源学报, 2018, 19(3): 478-487, 497
Jin J C, Li X X, Li Y C, Pan X W, Liu W Q, Duan Y H, Yu Y Y, Sheng X N, Zhao W J, Wei X C. Genetic similarity analysis of Hunan rice landraces with the same or similar name between households and genebank conservations. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(3): 478-487, 497
- [8] 夏家淇,蔡道基,夏增禄,王安康,武玫玲,梁伟. 土壤环境质量标准: GB 15616-1995. 北京: 中国环境科学出版社, 1995
Xia J Q, Cai D J, Xia Z L, Wang H K, Wu M L, Liang W. Environmental quality standard for soils: GB15616-1995. Beijing: China Environmental Science Press, 1995
- [9] 苏代群. 水稻 SSR 分析快速提取总 DNA 法. 种子世界, 2013(11): 28-30
Su D Q. Methods of rapid total DNA extraction from rice for SSR Analysis. Seed World, 2013(11): 28-30

- [10] 雷丹. 湖南重金属污染现状分析及其修复对策. 湖南有色金属, 2012, 28(1): 57-60
Lei D. Analysis on heavy metals pollution status in Hunan province and its remediation strategy. Hunan Nonferrous Metals, 2012, 28(1): 57-60
- [11] 陈彩艳, 唐文帮. 筛选和培育镉低积累水稻品种的进展和问题探讨. 农业现代化研究, 2018, 39(6): 156-163
Chen C Y, Tang W B. A perspective on the selection and breeding of low-Cd rice. Research of Agricultural Modernization, 2018, 39(6): 156-163
- [12] 滕振宁, 张玉烛, 方宝华, 刘洋, 孙姣辉, 杨坚, 何小娥. 秩次分析法在低镉水稻品种筛选中的应用. 中国稻米, 2017, 23(2): 21-26
Teng Z N, Zhang Y Z, Fang B H, Liu Y, Sun J H, Yang J, He X E. Rank analysis method utilization on screening low cadmium rice varieties. China Rice, 2017, 23(2): 21-26
- [13] Sun L, Xu X X, Jiang Y R, Zhu Q H, Yang F, Zhou J Q, Yang Y Z, Huang Z Y, Li A H, Chen L H, Tang W B, Zhang G Y, Wang J R, Xiao G Y, Huang D Y, Chen C Y. Genetic diversity, rather than cultivar type, determines relative grain Cd accumulation in hybrid rice. Frontier in Plant Science, 2016, 7: 1407
- [14] 杨祥田, 周翠, 何贤彪, 胡亮亮, 唐建军. 田间试验条件下不同基因型水稻对 Cd 和 Pb 的吸收分配特征. 农业环境科学学报, 2013, 32(3): 438-444
Yang X T, Zhou C, He X B, Hu L L, Tang J J. Uptake and partition of cd and pb among rice genotypes in contaminated paddy soil. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(3): 438-444
- [15] 曾翔, 张玉烛, 王凯荣, 周立军, 张岳平, 谢建红, 屠乃美. 不同品种水稻糙米含镉量差异. 生态与农村环境学报, 2006, 22(1): 67-69, 83
Zeng X, Zhang Y Z, Wang K R, Zhou L J, Zhang Y P, Xie J H, Tu N M. Genotype difference of brown rices in Cd content. Journal of Ecology and Rural Environment, 2006, 22(1): 67-69, 83
- [16] 李坤权, 刘建国, 陆小龙, 杨建昌, 张祖建, 朱庆森. 水稻不同品种对镉吸收及分配的差异. 农业环境科学学报, 2003, 22(5): 529-532
Li K Q, Liu J G, Lu X L, Yang J C, Zhang Z J, Zhu Q S. Uptake and distribution of cadmium in different rice cultivars. Journal of Agro-environmental Science, 2003, 22(5): 529-532
- [17] 韩龙植, 魏兴华. 水稻种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2006: 66-69
Han L Z, Wei X H. Descriptors and data standard for rice (*Oryza sativa* L.). Beijing: China Agriculture Press, 2006: 66-69