

东北地区杂草稻与栽培稻的遗传多样性及籼粳分化

刘丹^{1,2}, 王嘉宇², 马殿荣², 孙健², 柴永山¹, 孙玉友¹, 魏才强¹,
解忠¹, 李洪亮¹, 张巍巍¹, 程杜娟¹, 孙国宏¹, 陈温福²

(¹黑龙江省农业科学院牡丹江分院, 牡丹江 157041;

²沈阳农业大学水稻研究所/农业部东北水稻生物学与遗传育种重点实验室, 沈阳 110866)

摘要: 利用 88 对籼粳特异性分子标记对收集于我国东北三省的 35 份杂草稻和 36 份栽培稻遗传基础及籼粳分化进行研究, 结果表明上述标记能够高效地鉴别稻属资源的籼粳属性, 共检测到 156 个等位基因, 平均有效等位基因 (N_a) 为 1.773。遗传多样性分析表明, 东北地区杂草稻多样性水平略高于当地栽培稻, 其中杂草稻的等位基因数 (N_a)、杂合度 (H_e)、基因多样性 (H_{sk}) 以及多态性信息含量 (PIC) 分别为 1.659、0.006、0.076 和 0.085, 而东北栽培稻分别为 1.557、0.004、0.060 和 0.067。遗传结构和聚类分析结果表明, 东北地区杂草稻与栽培稻具有较近的亲缘关系, 均存在一定程度的籼粳分化。进一步对籼粳血缘进行相对量化分析发现, 杂草稻的籼型基因型频率 ($F_i = 0.050$) 略高于当地栽培稻 ($F_i = 0.043$)。东北三省籼型基因型频率变化趋势为: 辽宁杂草稻 (0.062) > 辽宁栽培稻 (0.058) > 吉林栽培稻 (0.048) > 黑龙江杂草稻 (0.041) > 吉林杂草稻 (0.024) > 黑龙江栽培稻 (0.020)。

关键词: 杂草稻; 栽培稻; 分子标记; 籼粳分化; 籼型基因型频率

Genetic Diversity and *Indica-Japonica* Differentiation between Weedy Rice and Cultivars in Northeast of China

LIU Dan^{1,2}, WANG Jia-yu², MA Dian-rong², SUN Jian², CHAI Yong-shan¹, SUN Yu-you¹,
WEI Cai-qiang¹, XIE Zhong¹, LI Hong-liang¹, ZHANG Wei-wei¹,
CHENG Du-juan¹, SUN Guo-hong¹, CHEN Wen-fu²

(¹Mudanjiang Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang 157041; ²Rice Research Institute of Shenyang Agricultural University/Key Laboratory of Northeast Rice Biology, Genetics and Breeding of Ministry of Agriculture, Shenyang 110866)

Abstract: In order to analyze the genetic basis and *indica-japonica* differentiation of 35 weedy rice and 36 japonica rice in northeast of China, 88 pairs of molecular markers were used. The results indicated that the 88 selected markers can be applied extensively for the *indica-japonica* classification of rice, and total of 156 alleles identified by 88 markers with the average N_a value of 1.773. Genetic diversity analysis revealed a little higher diversity level of weedy rice to the cultivars in northern China, with the average N_a , H_e , H_{sk} and PIC value of 1.659, 0.006, 0.076, 0.085 for weedy rice, and 1.557, 0.004, 0.060, 0.067 for the cultivars, respectively. Genetic structure and NJ cluster analysis indicated that both weedy rice and cultivars had *indica-japonica* differentiation, which implied they had near relationships. Furthermore, the *indica* genotype frequency (F_i) of weedy rice was 0.050 which was higher than cultivars of 0.043. The trends for the F_i levels of weedy rice and cultivars in northeast of China were: weedy rice from Liaoning province (0.062) > cultivars from Liaoning province (0.058) > cultivars from Jilin

收稿日期: 2016-06-11 修回日期: 2016-09-11 网络出版日期: 2017-02-17

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170217.1427.036.html>

基金项目: 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); 黑龙江省科技厅项目 (GA14B102-05)

第一作者研究方向为水稻种质资源利用。E-mail: rice_ld@163.com; 王嘉宇为共同第一作者。E-mail: ricewjy@126.com

通信作者: 陈温福, 研究方向为水稻超高产育种。E-mail: wfchen5512@126.com

province(0.048) > weedy rice from Heilongjiang province(0.041) > weedy rice from Jilin province(0.024) > cultivars from Heilongjiang province(0.020).

Key words: weedy rice; cultivars; molecular marker; *indica-japonica* differentiation; F_i

杂草稻常与水稻伴生在稻田里,与其争夺养分和空间,直接影响着水稻的产量和品质。近年来,东北地区杂草稻发生呈蔓延趋势,已严重影响到我国粳稻的产量。相关数据表明,仅黑龙江省2000年因杂草稻造成的经济损失就有3亿~4亿元人民币^[1]。研究发现,杂草稻密度为1~9株/m²时,栽培稻减产1.37%~44.65%^[2],10~20株/m²可导致栽培稻减产50%^[3],35~40株/m²可使高秆栽培稻的产量减产60%,矮秆品种产量最高可减少90%^[4],如何有效地防治杂草稻的进一步发生是当前水稻生产中亟待解决的问题。此外,杂草稻由于长期处于恶劣的野生状态中,经受各种灾害和不良环境的选择,又具有许多优良性状,如抗寒^[5-6]、耐旱^[7]、耐盐碱^[8-9]和耐老化^[10]等,前人通过对杂草稻资源的鉴定和综合评价,已获得了可以用于育种的优异杂草稻资源^[11]。合理有效地利用杂草稻的这些有利性状,可为水稻遗传改良和抗性育种提供新的思路。

遗传多样性是生物多样性的的重要组成部分,是物种进化的直接体现。对栽培稻及其伴生杂草稻的遗传多样性进行研究,将有助于阐明杂草稻的起源,为杂草稻的有效防治和利用奠定基础。前人已经利用SSR、SRAP和RAPD等不同的分子标记对杂草稻

的遗传多样性进行了相关研究^[12-15],但利用粳稻亚种间特异性的分子标记对杂草稻进行分析的研究报道还很少见。粳稻亚种间特异性的分子标记具有简单、高效、易操作、重复性好的特点,利用粳稻特异性分子标记对东北粳稻及其伴生杂草稻进行粳稻血缘相对量化分析,对于明确东北粳稻育种中粳稻血缘的引入量和在粳稻分化水平上阐明杂草稻与栽培稻之间的亲缘关系具有重要意义。基于此,本研究利用粳稻粳稻特异性分子标记,对东北地区杂草稻和栽培稻的多样性水平进行了分析,并相对量化分析了杂草稻与栽培稻的粳稻分化水平,旨在为有效开展东北杂草稻的防治和保障东北粳稻稳定生产提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验共选用71份材料(表1),包括35份杂草稻和36份栽培稻,其中35份杂草稻材料包括辽宁省杂草稻材料(WL)19份,吉林省杂草稻材料(WJ)5份,黑龙江省杂草稻材料(WH)11份;36份栽培稻材料包括辽宁省栽培稻材料(CL)19份,吉林省栽培稻材料(CJ)4份,黑龙江省栽培稻材料(CH)13份。

表1 试验材料及来源

Table 1 The materials and their origin

编号 No.	材料名称 Materials name	来源 Source	编号 No.	材料名称 Materials name	来源 Source
1	W03-3	辽宁	13	W04-36	辽宁
2	W03-18	辽宁	14	W04-43-2	辽宁
3	W03-12	辽宁	15	W05-4	辽宁
4	W03-26	辽宁	16	W05-6	辽宁
5	W03-33	辽宁	17	W05-15	辽宁
6	W03-36	辽宁	18	W05-20	辽宁
7	W03-45	辽宁	19	W05-33	辽宁
8	W04-1	辽宁	20	W1	吉林
9	W04-5	辽宁	21	W5	吉林
10	W04-7	辽宁	22	W12	吉林
11	W04-14	辽宁	23	W20	吉林
12	W04-22	辽宁	24	W24	吉林

表 1(续)

编号 No.	材料名称 Materials name	来源 Source	编号 No.	材料名称 Materials name	来源 Source
25	W55	黑龙江	49	秋光*	辽宁
26	W69	黑龙江	50	丰锦*	辽宁
27	W76	黑龙江	51	一目惚*	辽宁
28	W78	黑龙江	52	屈锦*	辽宁
29	W86	黑龙江	53	里歌*	辽宁
30	W90	黑龙江	54	日本晴*	辽宁
31	W97	黑龙江	55	吉粳 88	吉林
32	W102	黑龙江	56	吉粳 83	吉林
33	W104	黑龙江	57	长白 9	吉林
34	W108	黑龙江	58	秋田小町*	吉林
35	W116	黑龙江	59	松粳 9	黑龙江
36	沈农 265	辽宁	60	龙粳 14	黑龙江
37	沈农 606	辽宁	61	龙粳 18	黑龙江
38	沈农 016	辽宁	62	龙粳 21	黑龙江
39	千重浪 2	辽宁	63	龙稻 5	黑龙江
40	辽星 1	辽宁	64	垦稻 11	黑龙江
41	铁粳 7	辽宁	65	牡丹江 18	黑龙江
42	沈农 9816	辽宁	66	牡丹江 21	黑龙江
43	沈农 159	辽宁	67	松粳 3	黑龙江
44	辽粳 5	辽宁	68	普选 10	黑龙江
45	辽粳 454	辽宁	69	东农 415	黑龙江
46	辽粳 294	辽宁	70	富士光*	黑龙江
47	辽盐 2	辽宁	71	空育 131*	黑龙江
48	辽粳 326	辽宁			

* :日本引进品种

* :Indicated the introduced varieties from Japan

1.2 叶片基因组 DNA 提取及分子标记类型

于 2013 年 7 月初取材,在田间每个品种(材料)选取一个单株,取 3 片叶装在 5 号自封袋中,放于冰盒后带回实验室,存放在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中备用。取一片叶去掉叶脉后剪碎,称取约 0.5 g 新鲜叶片,按照 CTAB 方法提取 DNA,操作步骤参照 J. J. Doyle 等^[16]的描述,略有改进。根据前人的研究报告,试验选取覆盖水稻 12 条染色体的 34 对 InDel 特异性引物和 54 对 ILP 引物^[17-18]进行分析,引物委托华大基因合成。

1.3 PCR 扩增及电泳检测

PCR 扩增反应体系 15 μL ,含 DNA (20 ng/L) 2 μL ,引物各 2 μL ,2 μL 10 \times PCR buffer(含 Mg^{2+}), 0.4 μL dNTP,0.3 μL Taq 酶,不足以 ddH₂O 补充。

InDel 扩增程序为:94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 40 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 45 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 40 s,40 个循环,72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min,12 $^{\circ}\text{C}$ 保存;ILP 扩增程序为:94 $^{\circ}\text{C}$ 5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,59 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,25 个循环;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,56 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,15 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min,12 $^{\circ}\text{C}$ 保存。目标片段差异大于 15 bp 的 PCR 扩增产物在 3% 琼脂糖凝胶上分离,小于 15 bp 的 PCR 扩增产物在 6% 聚丙烯酰胺变性凝胶上分离。

1.4 数据统计分析

扩增产物读带标准参考典型籼稻 93-11 和典型粳稻日本晴的条带位置。按照同一位点上条带与日本晴带型一致的记为“*jj*”,与 9311 带型一致的记为“*ii*”,杂合带型记为“*ij*”。根据所有位点 (*N*) 上各样品的基因型数据(*jj*, *ii* 和 *ij*) 对杂草稻

和栽培稻样品进行籼粳类型的确定,计算所有标记位点的籼型基因频率(F_i)或粳型基因频率(F_j)^[17]。

$$F_i = \frac{2 \sum_1^N X_{ii} + \sum_1^N X_{ij}}{2N}; \quad F_j = \frac{2 \sum_1^N X_{jj} + \sum_1^N X_{ij}}{2N}$$

利用 POWER MARKER V3.25^[19] 软件计算等位基因数(N_a)、杂合度(H_e)、多态性信息含量(PIC)和基因多样性指数(H_{sk});利用 MEGA4.0^[20] 软件进行 NJ 聚类分析,绘制进化树;利用 Structure2.3.4^[21-22] 软件进行群体结构分析;其他数据处理和计算均在 Excel2010 上进行。

2 结果与分析

2.1 InDel 和 ILP 扩增多态性分析

试验选用的 88 对籼粳稻亚种间特异性分子标记(34 对 InDel 和 54 对 ILP),分布于水稻的 12 条染色体上,每条染色体上标记数量最少为 4 个,最多为 12 个,平均每条染色体上分布引物 7.333 个。利用 88 对引物对参试的 71 份材料进行 PCR 扩增,扩增产物均能得到稳定的电泳图谱,每个位点扩增等位基因变幅为 1~2 个,共检测到 156 个等位基因,每个引物位点平均等位基因数(N_a)为 1.773 个;平均多基因多样性指数(H_{sk})为 0.080;平均杂合度(H_e)为 0.005(表 2)。对两种标记的多态性进行比较发现,ILP 标记的等位基因数和多态性信息含量要高于 InDel,但差异未达到显著水平。12 条染色体的多态性信息含量(PIC)变化范围为 0.013~0.139,平均 PIC 为 0.073,其中第 4 染色体上变异最小,而第 8 染色体变异程度最高(图 1)。

表 2 InDel 和 ILP 两种分子标记多态性比较

Table 2 Comparison of polymorphism between InDel and ILP molecular markers

分子标记 Molecular marker	等位基因数 N_a	杂合度 H_e	基因多样 性指数 H_{sk}	多态性 信息含量 PIC
InDel	1.677aA	0.095aA	0.081aA	0.072aA
ILP	1.833aA	0.002bB	0.080aA	0.073aA
InDel + ILP	1.773aA	0.005bAB	0.080aA	0.073aA

大小写字母分别表示 1% 和 5% 水平差异显著,下同

Capital and small letters indicate significance at the 1% and 5% levels respectively, the same as below

N_a : Number of alleles, H_e : Heterozygosity, H_{sk} : Gene diversity, PIC : Polymorphism information content

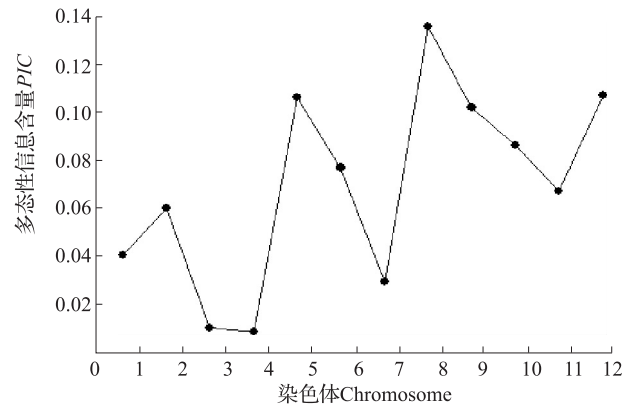


图 1 不同染色体的 PIC 变化曲线

Fig.1 The variation of PIC value in different chromosomes

2.2 杂草稻与栽培稻遗传多样性分析

对东北地区杂草稻与栽培稻的遗传多样性进行对比分析。由表 3 可知,东北地区杂草稻的多样性水平略高于东北栽培稻,其中杂草稻的等位基因数(N_a)、杂合度(H_e)、基因多样性(H_{sk})以及多态性信息含量(PIC)分别为 1.659、0.006、0.076 和 0.085,而栽培稻分别为 1.557、0.004、0.060 和 0.067。方差分析表明,辽宁、吉林和黑龙江三省间杂草稻的等位基因数存在极显著差异,而辽宁栽培稻的等位基因数与吉林和黑龙江两省也均存在极显著差异,但吉林和黑龙江两省之间差异却不显著。

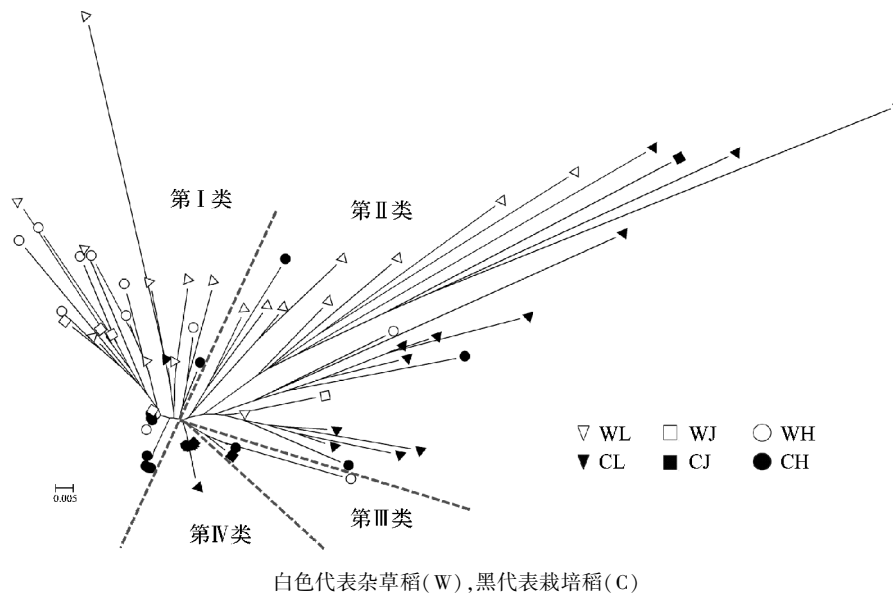
2.3 聚类分析

基于 88 个位点的分子标记结果,根据 Nei (1972) 遗传距离,进行 NJ (Neighbor-Joining) 聚类分析。由图 2 可知,参试材料可分为 4 个类群,其中第 I 类群包括 32 份材料,对该类群进一步分析,它们又可划分到 6 个亚类群中,其中第 I-1 亚群包括 2 份杂草稻(W12 和 W69)和 4 份栽培稻(垦稻 11、牡丹江 18、日本晴和松粳 3);第 I-2 亚群包括 10 份杂草稻,它们来自于东北 3 个省份中,又可划分为 3 个亚亚群,其中 W5、W102、W104 和 W04-7 为 I-2-1 亚亚群, W1、W04-36、W90、W24 和 W108 为 I-2-2 亚亚群,而 W04-14 独自构成 I-2-3 亚亚群;第 I-3 亚群包括 4 份杂草稻,分别为 W78、W55、W86 和 W04-1;第 I-4 亚群包括 4 份栽培稻,分别为龙粳 18、空育 131、龙粳 21 和富士光;第 I-5 亚群包括 4 份杂草稻(W05-20、W04-43-2、W05-4 和 W03-3)和 1 份栽培稻(秋光);第 I-6 亚群包括 2 份杂草稻(W76 和 W04-22)和 1 份栽培稻(普选 10);第 II 类群包括 27 份材料,可以再划分为 3 个亚亚群,其中

表3 杂草稻与栽培稻遗传多样性分析

Table 3 Genetic diversity analysis between weedy rice and cultivars

群体类型 Population	省份 Provinces	等位基因数 <i>N_a</i>	杂合度 <i>H_e</i>	基因多样性指数 <i>H_{sk}</i>	多态性信息含量 <i>PI_C</i>
杂草稻 Weedy rice	辽宁 L	1.546aA	0.008aA	0.101aA	0.088aA
	吉林 J	1.091cC	0.002bcAB	0.031cB	0.025cB
	黑龙江 H	1.284bB	0.003abcAB	0.063bcAB	0.054bcAB
总体水平 Totals		1.659	0.006	0.076	0.085
栽培稻 Cultivars	辽宁 L	1.500aA	0.008abAB	0.078abAB	0.068abAB
	吉林 J	1.171bcBC	0.000cB	0.064bcAB	0.052bcAB
	黑龙江 H	1.171bcBC	0.001cAB	0.033cB	0.029cB
总体水平 Totals		1.557	0.004	0.060	0.067



白色代表杂草稻(W),黑代表栽培稻(C)
White label imply weedy rice,black label imply cultivated rice

图2 杂草稻与栽培稻 NJ 聚类

Fig. 2 Cluster of weedy rice and cultivated rice using NJ

第 II-1 亚群包括 4 份杂草稻 (W05-6、W05-15、W03-18 和 W03-12) 和 1 份栽培稻 (龙粳 14); 第 II-2 亚群包括 3 份杂草稻 (W20、W04-5 和 W116) 和 11 份栽培稻 (铁粳 7、沈农 606、千重浪 2、辽粳 294、松粳 9、沈农 159、沈农 265、辽粳 454、沈农 9816、沈农 016 和龙稻 5); 第 II-3 亚群包括 5 份杂草稻 (W03-45、W03-33、W03-26、W05-33 和 W03-36) 和 3 份栽培稻 (辽盐 2、吉粳 88 和辽星 1); 第 III 类群包括 3 份材料, 分别为 W97、东农 415 和长白 9; 第 IV 类群包括 9 份栽培稻材料, 分别为丰锦、辽粳 5、吉粳 83、牡丹江 21、里歌、屈锦、辽粳 326、一目惚和秋田小町。由此可见, 东北三省杂草稻与栽培稻既形成了独立的类群, 又存在一定的相互交叉, 当地杂草稻与栽培稻具有较近的亲缘关系。

2.4 遗传结构分析

对参试材料进行群体遗传结构分析, 设置 $K = 1 \sim 20$, 10 次重复。由图 3 可知, 对数似然函数值 $\ln P(D)$ 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。进一步利用 $\ln P(D)$ 值计算 ΔK 值, 发现当 $K = 2$ 时, ΔK 值为 95.26, 此处出现最大拐点, 由此可以判断参试 71 份材料可以划分为 2 个类群。

基于 Structure 2.3.4 模型, 获得 $K = 2$ 时的群体结构图 (图 4)。图中参试材料被划分为 2 个类群, 其中红色条框代表粳稻 A 类群, 绿色条框代表偏粳稻 B 类群。由此可知, 东北地区杂草稻材料和栽培稻材料在群体遗传结构上均表现为粳型和偏粳型两种类型, 71 份参试材料间遗传差异较小, 这也体现出

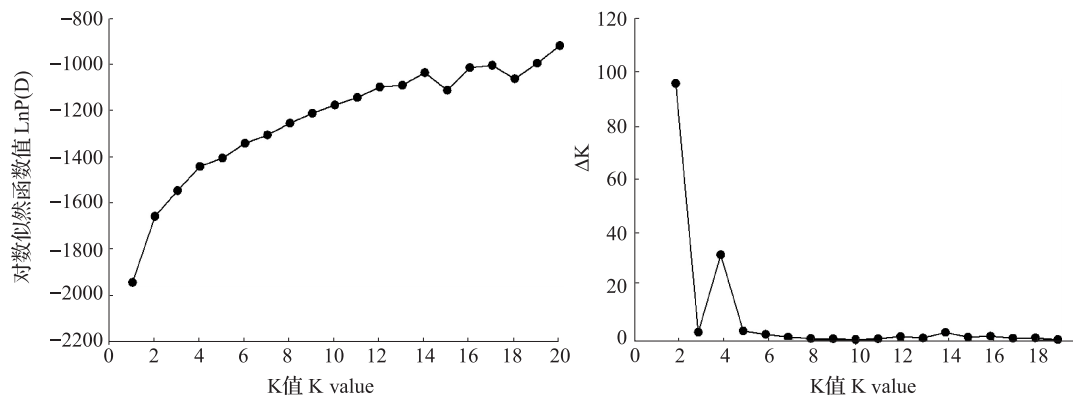
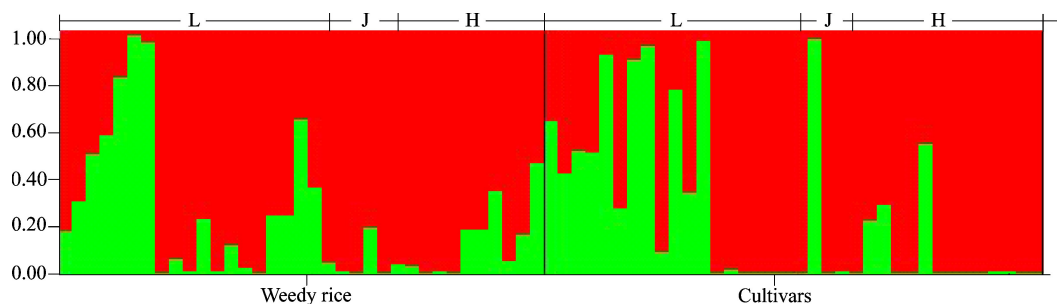


图3 对数似然函数值 $\text{LnP}(D)$ 和 ΔK 值随亚群数 K 的变化曲线

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



红色条框和绿色条框分别代表粳稻类群和偏粳稻类群

The red bars and green bars represent the japonica rice group and indica rice group respectively

图4 参试71份材料的群体结构分析

Fig. 4 Population structure analysis on 71 materials

了NJ聚类中 N_{ei} 遗传距离较小。对东北三省参试材料进行分析发现,无论是杂草稻还是栽培稻都以辽宁地区参试材料的绿色成分较多,而黑龙江和吉林较少,说明辽宁材料多表现为偏粳类型,其含有籼稻血缘比例多于黑龙江和吉林材料。进一步分析可知,辽宁材料中以 W03-33、W03-36 和 W03-45 等杂草稻材料和沈农 265、沈农 9816 和沈农 159 等栽培稻所含籼稻血缘比例最高;而吉林和黑龙江材料所含籼稻血缘比例很少,仅吉粳 88 检测出含有较高的籼稻血缘,暗示辽宁参试材料籼稻血缘含量高于其他两个地区,与其他两省材料之间遗传分化较大,亲缘关系较远,这一点也印证了聚类分析的结果。

2.5 籼粳血缘相对量化分化

基于 InDel 和 ILP 两种籼粳稻特异性分子标记对东北杂草稻和栽培稻的籼粳血缘进行量化分析。由表 4 可知,在 88 个籼粳稻特异性分化位点上,杂草稻的籼型基因型频率 ($F_i = 0.050$) 略高于栽培稻 ($F_i = 0.043$),其中在参试 35 份杂草稻材料中,以辽宁杂草稻检测到的籼稻型等位基因最多,其次是黑

龙江,最少为吉林,它们对应的籼稻基因型频率 F_i 分别为 0.062、0.041 和 0.024。对于参试的 36 份栽培稻而言,检测到的籼型基因型频率以辽宁栽培稻最高,其次是吉林,最低为黑龙江,它们对应的籼稻基因型频率 F_i 分别为 0.058、0.048 和 0.020。进一步方差分析发现,尽管各地杂草稻与栽培稻籼型基因型频率存在大小差异,但未到达显著水平。

3 讨论

3.1 东北杂草稻与栽培稻的遗传多样性分析

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是屡见不鲜。前人对东北地区杂草稻的遗传多样性已经开展了相关研究。马殿荣等^[23]利用 30 对 SSR 标记分析了中国辽宁地区杂草稻的遗传多样性,认为该地区杂草稻具有较高的多样性水平。曹前进^[24]利用 20 对 SSR 引物对辽宁杂草稻遗传多样性分析的结果显示,总体上辽宁杂草稻表现出较高的遗传多样性水平,并且在不同地区和同一地区的不同居群间遗传多样性水平有较

表 4 东北地区杂草稻与栽培稻籼型等位基因频率比较

Table 4 Frequency of *indica*-genotype alleles in weedy rice and cultivated rice of northern China

群体类型 Population	省份 Local origins	位点数 Loci number	籼稻型等位基因数 <i>Indica</i> -type alleles	等位基因总数 Sum of alleles	籼型基因型频率 F_i
杂草稻 Weedy rice	辽宁 L	88	206	3344	0.062aA
	吉林 J	88	21	880	0.024aA
	黑龙江 H	88	79	1936	0.041aA
平均值 Means	—	—	—	—	0.050
栽培稻 Cultivars	辽宁 L	88	193	3344	0.058aA
	吉林 J	88	34	704	0.048aA
	黑龙江 H	88	45	2288	0.020aA
平均值 Means	—	—	—	—	0.043

大的差异。俞国琴^[15]利用 RAPD 和 SSR 分子标记分析了辽宁省杂草稻的遗传多样性,认为辽宁杂草稻基因多样性水平很低,但各群体间分化程度较大,尤其是丹东和沈阳两地之间分化更为明显。不难发现,上述这些研究多是针对东北某一个特定地区/省份(如辽宁省),至今为止对东北三省杂草稻材料的系统研究报道还很少见。蔡堃^[25]利用 32 个 SSR 标记对东北三省 19 个杂草稻群体进行了遗传多样性分析,认为参试材料总的遗传多样性较低,不同省份间杂草稻的遗传多样性从大到小分别为辽宁省、吉林省、黑龙江省,这与本研究结果不尽相同。本研究表明,东北三省中,以辽宁杂草稻的遗传多样性水平最高,其次是黑龙江省,最低的为吉林省,分析原因可能与本研究所收集的吉林省杂草稻样本量较少有关,也可能与所用的分子标记类型有关。

同时,大量研究表明,东北粳稻遗传多样性水平较低,遗传基础狭窄^[26-28]。本研究发现,东北粳稻的基因多样性指数仅为 0.060,低于东北杂草稻的 0.076。对东北三省栽培稻遗传多样性分析发现,辽宁和吉林栽培稻遗传多样性水平高于黑龙江省,这一点与玄英实等^[26]的研究结果一致,可见利用籼粳特异性分子标记分析遗传多样性的结果与 SSR 标记结果具有一致性。此外,本研究还发现,辽宁省和黑龙江省杂草稻的遗传多样性水平均略高于当地栽培稻,由于杂草稻与栽培稻具有较近的亲缘关系^[29],因此,合理利用东北杂草稻资源将为改变和丰富东北粳稻日益狭窄的遗传背景提供新的思路。

3.2 东北地区杂草稻与栽培稻的籼粳血缘相对量化分析

籼粳稻亚种间杂交所表现出的强大优势使得对

材料的籼粳亚种属性划分具有重要的意义。大量研究表明,杂草稻也具有籼粳分化的特性,且不同地区杂草稻籼粳分化差异明显^[14,30-32]。本研究结果表明,东北三省杂草稻均呈粳稻属性,这一点与刘丹等^[14]研究结果相同。进一步对杂草稻籼稻血缘相对量化分析发现,参试其籼型基因型频率以辽宁省最高为 0.062,其次是黑龙江省为 0.041,吉林省最低为 0.024,而 J. Sun 等^[33]的研究结果表明,辽宁省和吉林省籼型基因型频率最高均为 0.07,黑龙江省最低为 0.05,可见两者结果略有不同,分析原因可能与选取的材料数量和引物数量有关,有待于进一步的验证分析。

近年来,我国东北地区在粳型超级粳稻育种方面,利用籼粳稻杂交技术在粳稻中引入籼稻血缘,拓展了东北粳稻的遗传基础,选育理想株型与优势利用相结合的超级稻的育种理论与技术已取得重大突破^[34-40]。孙健^[41]研究表明,籼型血缘含量与水稻单株有效穗数呈极显著负相关,与每穗粒数呈极显著正相关。刘迪等^[42]研究表明,20 世纪 80 年代后籼粳杂交育种实践引入的籼稻基因不仅丰富了东北粳稻的遗传构成,而且指出“适量”籼稻血缘的应用对今后北方粳稻育种有重要作用。刘丹等^[43]研究也表明,东北地区近年来育成的粳型超级稻品种均含有一定的籼型血缘,且随着时间的推移,近现代以来育成品种的籼型基因频率逐渐增加。本研究结果表明,东北地区栽培稻均为粳稻类型,但含有一定的籼稻血缘,其平均籼型基因型频率为 0.043,其中以辽宁省籼型基因型频率最高为 0.058,其次是吉林省为 0.048,黑龙江省最低为 0.020。辽宁粳稻所含籼稻血缘最高,黑龙江最低,可能与其地理纬度有关,也可能与辽宁省是本地区开展的籼粳杂交育种工作最多和最早有关,查询近年来辽宁省审定的粳型超

级稻品种系谱,发现诸多品种都含有籼稻血缘,如沈农265、沈农606和辽星1号等都含有矮脚南特血缘,沈农9816含有江西丝苗血缘。

此外,本研究还表明,东北地区杂草稻的籼型基因型频率($F_i=0.050$)高于栽培稻($F_i=0.043$),且辽宁和黑龙江两省均表现出相同的趋势,暗示杂草稻的籼粳分化水平高于栽培稻,这可能与杂草稻较高的柱头外露率和异交习性有关,有待于今后更深入的研究。

参考文献

- [1] 孟英,魏永海,栾浩文,等.寒地粳水稻发生原因及防御对策[J].黑龙江农业科学,2005(2):55-56
- [2] 杨庆,马殿荣,宋冬明,等.不同密度杂草稻对栽培稻群体形态特征及产量的影响[J].北方栽培稻,2008,38(5):28-31
- [3] Smith R J. Weed thresholds in southern U. S. rice (*Oryza sativa*) [J]. Weed Technol, 1988, 2(3):232-241
- [4] Sam L, Kwon S L, Roy J, et al. Ronald, inference of red rice (*Oryza sativa*) densities in rice (*O. sativa*) [J]. Weed Sci, 1991, 39: 169-174
- [5] 陈惠哲,玄松南,王渭霞,等.丹东杂草稻种子的耐冻能力和低温发芽特性研究[J].中国水稻科学,2004,18(2):109-112
- [6] 邹德堂.黑龙江省杂草稻的特征特性及耐冷性分析[J].农业现代化研究,2008,29(2):235-238
- [7] 丁国华,马殿荣,马巍,等.杂草稻幼苗耐旱性的初步筛选与评价[J].北方水稻,2009,40(1):11-14
- [8] 赵娜,马殿荣,陈温福.北方杂草稻发芽期耐盐性的初步评价[J].中国稻米,2007(3):20-24
- [9] 张丽丽,马殿荣,陈温福,等.杂草稻种子芽期对盐碱胁迫的响应[J].种子,2011,30(8):13-16
- [10] 李茂柏,王慧,朴钟泽,等.杂草稻人工老化和耐储藏特性的初步研究[J].作物杂志,2010(5):30-33
- [11] 张忠林,谭学林,邓安凤.杂草稻种质资源的综合评价[J].植物遗传资源科学,2002,3(4):47-50
- [12] 李亚卉,马静,吴斌,等.宁夏杂草稻的遗传多样性及其亲缘关系分析[J].植物遗传资源学报,2016,17(1):32-38
- [13] 马殿荣,马巍,唐亮,等.吉林省杂草稻遗传多样性及起源的研究[J].沈阳农业大学学报,2012,43(3):265-272
- [14] 刘丹,孙健,马殿荣,等.利用SRAP分子标记分析47份杂草稻样品遗传多样性[J].中国水稻科学,2012,26(1):70-76
- [15] 俞国琴.辽宁杂草稻遗传多样性及群体分化研究[D].杭州:浙江大学,2004
- [16] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull, 1987, 19:11-15
- [17] 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):628-639
- [18] 赵向前,吴为人.水稻ILP标记遗传图谱的构建遗传[J].遗传,2008,30(2):225-230
- [19] Liu K, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis[J]. Bioinformatics, 2005, 21: 2128-2129
- [20] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Mol Biol Evol, 2007, 24:1596-1599
- [21] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study [J]. Mol Ecol, 2005, 14:2611-2620
- [22] 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[J].中国农业科学,2012,45(3):405-413
- [23] 马殿荣,李茂柏,王楠,等.中国辽宁省杂草稻遗传多样性及群体分化研究[J].作物学报,2008,34(3):403-411
- [24] 曹前进.辽宁杂草稻(*Oryza sativa* f. *spontanea*)的遗传多样性及其对水稻的影响[D].上海:复旦大学,2006
- [25] 蔡莹.中国东北三省杂草稻的传播路径分析[D].南京:南京农业大学,2013
- [26] 玄英实,姜文洙,刘宪虎,等.中国东北地区水稻主栽品种的遗传多样性分析[J].植物遗传资源学报,2010,11(2):206-212
- [27] 李红宇,侯昱铭,陈英华,等.用SSR标记评估东北三省水稻推广品种的遗传多样性[J].中国水稻科学,2009,23(4):383-390
- [28] 齐永文,张冬玲,张洪亮,等.中国水稻选育品种遗传多样性及其近50年变化趋势[J].科学通报,2006,51(6):693-699
- [29] 王黎明,李战胜,高旭华,等.杂草稻、栽培稻及野生稻的遗传多样性比较[J].华中农业大学学报,2012,31(3):275-280
- [30] 徐群,许红云,魏兴华,等.基于SSILP, InDel和SSR标记的杂草稻籼粳分类[J].中国水稻科学,2012,26(6):686-692
- [31] 邵菁,戴伟民,张连举,等.江苏省中部地区杂草稻遗传多样性及其起源分析[J].作物学报,2011,37(8):1324-1332
- [32] 陈晓锋,强胜,杨金玲,等.江苏省杂草稻的传播与籼粳分化研究[J].中国水稻科学,2015,29(1):82-90
- [33] Sun J, Qian Q, Ma D R, et al. Introgression and selection shaping the genome and adaptive loci of weedy rice in northern China [J]. New Phytol, 2013, 197:290-299
- [34] 高虹.亚种间杂交对东北粳稻的育种贡献[D].沈阳:沈阳农业大学,2013
- [35] 徐海,陶士博,唐亮,等.栽培稻的籼粳分化与杂交育种研究进展[J].沈阳农业大学学报,2012,43(6):704-710
- [36] 杨守仁,张龙步,沈扬英,等.三十六年来籼粳稻杂交育种的研究及发展[J].沈阳农业大学学报,1987,18(3):3-9
- [37] 杨守仁.籼粳稻杂交育种的进展及前景[J].中国农业科学,1986,19(5):1-18
- [38] 陈温福,徐正进,张龙步,等.北方粳型稻超高产育种理论与实践[J].中国农业科学,2007,40(5):869-874
- [39] 徐正进,陈温福,张文忠,等.北方粳稻新株型超高产育种研究进展[J].中国农业科学,2004,37(10):1407-1413
- [40] 张科,魏海峰,卓大龙,等.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[J].植物遗传资源学报,2016,17(3):447-454
- [41] 孙健.东北粳稻及其伴生杂草稻的遗传演化[D].沈阳:沈阳农业大学,2012
- [42] 刘迪,李红宇,孙健,等.应用SSR分子标记评价不同年代东北三省粳稻基因组遗传构成[J].黑龙江农业科学,2011,2011(7):1-6
- [43] 刘丹,王嘉宇,孙健,等.利用InDel和SSILP标记分析北方粳型超级稻的遗传组成[J].中国水稻科学,2014,28(2):148-154