

研究报告

Research Report

水稻定向选择后代的 SSR 标记遗传多样性分析

李晓光^{1,2}, 金正勋¹, 刘洪亮¹, 黄星¹, 徐美兰¹, 赵书宇¹, 张忠臣¹

1 东北农业大学 农学院, 哈尔滨, 150030

2 通化市农业科学研究院, 海龙, 135007

✉ 通讯作者及电子邮件: zxjin326@hotmail.com; ✉ 作者

分子植物育种, 2010 年, 第 8 卷, 第 10 篇 DOI: 10.5376/mpb.cn.2010.08.0010

收稿日期: 2010 年 09 月 20 日

接受日期: 2010 年 10 月 25 日

发表日期: 2010 年 11 月 03 日

这是一篇开放获取的论文, 其论文发布和传播接受《Creative Commons Attribution License》所有条款。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许和同意第三方无条件的使用、传播以及任何媒介的复制或再制作。

建议最佳引用格式:

李晓光等, 2010, 水稻定向选择后代的 SSR 标记遗传多样性分析, 分子植物育种 Vol.8 No.10 (DOI: 10.5376/mpb.cn.2010.08.0010)

摘要 本研究从分布于水稻 12 条染色体的 120 对 SSR 引物中筛选出 108 对引物对两个杂交组合中的 44 份高低稻米直链淀粉和蛋白质含量后代品系及亲本的遗传多样性进行分析。研究结果表明, 杂交后代材料在蒸煮食味品质和产量性状上彼此间有显著或极显著的遗传差异。利用筛选出的 108 对多态性引物对杂种后代进行 SSR 分析, 共扩增出 659 个等位基因, 平均每对 SSR 引物可扩增出 6.2 个, 供试亲本间染色体多态性有差异。在两个杂交组合中, 组合 II 比组合 I 具有更为丰富的遗传多样性, 稻米直链淀粉含量株系后代均比蛋白质含量株系后代遗传变异丰富。稻米直链淀粉含量株系后代 SSR 高多态性主要发生在第 6、第 9 号染色体上, 低多态性主要发生在第 3、第 7 号染色体上。稻米蛋白质含量株系后代 SSR 高多态性主要发生在第 7、第 10 号染色体上, 低多态性主要发生在第 1、第 3 号染色体上。聚类分析结果表明, 稻米直链淀粉和蛋白质含量高的后代株系大都与高亲聚在一起, 而稻米直链淀粉和蛋白质含量低的后代株系大都与低亲聚在一起。因此, 通过稻米直链淀粉和蛋白质含量的定向选择, 可以获得遗传背景不同的后代材料。

关键词 水稻; 杂种后代; 直链淀粉和蛋白质含量; SSR 标记

Analysis of Genetic Diversity of Rice Directional Selection Progeny by SSR Markers

Li Xiaoguang^{1,2}, Jin Zhengxun¹, Liu Hongliang¹, Huang xing¹, Xu Meilan¹, Zhao Shuyu¹, Zhang Zhongchen¹

1 Agricultural College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030

2 Tonghua Academy of Agricultural science, Hailong 135007

✉ Corresponding author, zxjin326@hotmail.com; ✉ Authors

Abstract In this article, we have analyzed genetic diversity of 44 rice filial generations from two hybridized combination with high or low content of amylose and protein by using a set of 120 SSR molecular markers located on 12 chromosomes of rice. The results indicated that there were significant genetic difference among eating quality, cooking quality and yields traits in tested filial generation materials. Then we detected 659 alleles by 108 SSR primers with polymorphism and 6.2 alleles were amplified on every primer, and it also showed the difference of chromosomal polymorphism in both parent plant. In two cross combinations, combination II had more genetic diversity than combination I, rice hybrid progeny with different amylase content had more genetic diversity than rice hybrid progeny of different protein progeny. SSR primer polymorphic analysis showed that high-polymorphic in rice amylose progeny emerged mainly at chromosome 6 and chromosome 9 while low-polymorphic emerged at chromosome 3 and chromosome 7, high-polymorphic in rice protein progeny emerged mainly at chromosome 7 and chromosome 10 while low-polymorphic emerged at chromosome 1 and chromosome 3. Cluster analysis of parents and progenies indicated that rice high amylose progenies and high parent could cluster together, rice low amylose progenies and low parent could cluster together. Accordingly, progenies of different genetic background would be attained by directional selection of rice amylose and protein content.

Keywords Rice, Hybrid progeny, Content of Amylose and protein, SSR maker

研究背景

水稻是重要的粮食作物, 研究水稻遗传多样性对合理选择杂交亲本及新品种选育具有重要意义。

在分子水平上对水稻遗传多样性进行检测, 是目前最为活跃的一个领域。SSR 标记属共显性标记, 具有简便、快速、稳定性高和等位基因多态性高的特点,

在玉米(张雪原等,2009)、小麦(陈先红等, 2008; Song Q J et al.,2005 ;Atsushi T et al., 2006)、大豆(刘金等, 2008)和甜菜(王华忠等, 2008)等作物中已有广泛的应用。

在水稻中, SSR 标记已被证实是一种有效的分子标记技术 (Hearne C et al. ,1993; Akaji H et al. ,1996; Neelu Jain et al., 2006; 朱作峰等,2002;郑景生等, 2004), 利用 SSR 标记对水稻品种遗传多样性进行分析已有很多报道 (鲍根良等, 2005; 宣云等,2007)。应杰政等 (2007) 应用 24 个微卫星标记分析 63 个主栽常规稻品种的遗传变异, 共检测到 135 个等位基因, 平均每个标记 5.6 个, 多态性频率变动范围为 0.486~0.840, 平均 0.682。常规籼稻品种遗传多样性较常规粳稻品种的高, 聚类分析表明籼稻品种和粳稻品种表现出明显的地域分布特点。华蕾等 (2007) 采用 40 个 SSR 标记, 比较分析了 151 份常规稻主栽品种的遗传差异, 表明籼粳亚种间 SSR 多样性差异明显, 籼稻平均等位基因数和 Nei 基因多样性指数均高于粳稻品种。然而, 以往的研究在试验材料的选择上都采用遗传背景差异大的不同基因型品种, 而采用遗传背景相近、且稻米直链淀粉和蛋白质含量差异明显的杂种后代做供试材料进行研究的尚未见报道。

本研究利用稻米直链淀粉和蛋白质含量有差异的粳稻品种间杂交, 经定向选择形成遗传背景相近、稻米直链淀粉和蛋白质含量差异明显的后代株系为研究对象, 利用 SSR 引物对这些材料的遗传多样性进行分析, 探讨水稻定向选择后代遗传多样性, 以期水稻新品种选育和种质资源创新提供理论依据。

1 结果与分析

1.1 定向选择后代蒸煮食味品质和产量性状变异

方差分析结果表明 (表 1, 表 2), 除组合 I 中蛋白质含量选择后代的回冷粘滞性恢复值和每株穗数及组合 II 中稻米直链淀粉含量选择后代的每株穗数和稻米蛋白质含量选择后代的最高粘度、回冷粘滞性恢复值、糊化开始温度、每株穗数、结实率等性状外, 其余蒸煮食味品质和产量性状的 F 值均达到显著或极显著水平。说明定向选择后代蒸煮食味品质和产量性状彼此间有显著或极显著的遗传差异。

由稻米直链淀粉和蛋白质含量的变幅可见, 在

组合 I 中稻米直链淀粉含量选择后代分别为 9.0~19.3%和 6.78~8.85%, 蛋白质含量选择后代分别为 15.35~21.22%和 9.37~12.67%; 在组合 II 中稻米直链淀粉含量选择后代分别为 10.0~21.4%和 7.18~8.03%, 稻米蛋白质含量选择后代分别为 10.97~19.71%和 7.37~11.1%。说明通过稻米直链淀粉和蛋白质含量的连续定向选择可以显著提高或降低杂种后代的稻米直链淀粉和蛋白质含量。由食味值和淀粉谱特性及产量性状的变幅可见, 在组合 I 中稻米直链淀粉和蛋白质含量选择后代的食味值分别为 34~63 和 42~62, 下降粘度值分别为 65.1~169.7 和 79.1~215.7, 粘滞峰消减值分别为 -116~80.5 和 -107.4~13.9, 单株粒重分别为 6.45~26.83 克和 9.0~23.1 克; 在组合 II 中稻米直链淀粉和蛋白质含量选择后代的食味值分别为 33~63 和 34~60, 下降粘度值分别为 75.8~134.5 和 82.8~188.0, 粘滞峰消减值分别为 -48.3~47.5 和 -127.3~38.4, 单株粒重分别为 8.38~28.08 克和 13.2~31.7 克。说明通过稻米直链淀粉和蛋白质含量的连续定向选择可以提高或降低杂种后代的食味值和淀粉谱特性及产量性状。

1.2 多态引物的筛选与亲本间遗传多样性比较分析

利用分布于个水稻 12 条染色体的 120 对引物对杂交亲本进行 SSR 分析, 从中筛选出亲本间扩增条带清晰, 重复性好, 多态性稳定的引物 108 对(组合 I 56 对, 组合 II 52 对), 共扩增出 659 个等位基因, 平均每对 SSR 引物可扩增出 6.2 个。

从表 3 可知, 组合 I 亲本的平均基因多样性指数为 0.403, 组合 II 亲本的平均基因多样性指数为 0.446。组合 I 亲本的平均多态性信息含量为 0.322, 组合 II 亲本的平均多态性信息含量为 0.338。由表 4 可知, 组合 I 亲本的最大 PIC 为 0.364, 出现在 9 号染色体上, 最小 PIC 为 0.141, 出现在 3 号染色体上; 组合 II 亲本最大 PIC 为 0.391, 出现在 11 号染色体上, 最小 PIC 为 0.268, 出现在 1 号染色体上。说明不同亲本间染色体多态性有一定差异。

表 1 组合 I 定向选择后代表型性状分析

Table 1 Analysis on property of directional selection progeny in combination I

性状 Property	组合 I Combination I							
	直链淀粉含量选择后代 Amylose content progeny				蛋白质含量选择后代 Protein content progeny			
	变幅 Range	平均值 Mean	变异系数 CV (%)	F 值 F value	变幅 Range	平均值 Mean	变异系数 CV (%)	F 值 F value
直链淀粉含量 (%) Amylose content (%)	9.0~19.3	14.8	25.9	42.17**	15.35~21.22	17.71	9.85	6.61**
蛋白质含量 (%) Protein content (%)	6.78~8.85	7.95	7.6	16.8**	9.37~12.67	10.8	10.0	5.8**
食味值 Taste meter value	34~63	47.2	16.8	16.1**	42~62	50.3	14.5	14.4**
最高粘度 Peak viscosity	245.9~337.4	279.9	10.5	176.51* *	152.2~317.7	218.6	21.9	443.1**
最低粘度 Through viscosity	154.1~198.4	179.9	7.6	93.26**	173.0~252.0	192.6	15.9	27.3**
最终粘度 Final viscosity	221.4~337.6	291.1	13.9	786.59* *	232.9~360.3	291.3	13.6	22.6**
下降粘度值 Breakdown viscosity	65.1~169.7	100.1	31.9	644.16* *	79.1~215.7	126.5	34.9	42.9**
粘滞峰消减值 Setback viscosity	-116~80.5	11.1	525.6	602.32* *	-107.4~13.9	-27.8	134.3	14.2**
回冷粘滞性恢复值 Recovery value of glutinousness	53.8~145.5	111.2	26.1	852.98* *	82.5~108.3	95.3	9.3	2.1
糊化开始温度 Gelatinization start temperatur (°C)	52.9~63	60.4	5.0	11.61**	64.9~71.1	69.4	6.8	61.8**
每株穗数 Ears a plant	4.33~15.33	8.76	33.5	5.27*	5.3~8.7	6.7	15.3	2.26
每穗粒数 Grains a ear	24~152	95	48.3	31.19**	43.3~131	87.2	28.7	6.70*
结实率 Seed set propagation coefficient (%)	77.19~94.13	85.62	10.3	4.80*	49.8~92.9	77.4	18.2	3.48*
千粒重 (克) 1 000-seed weight (g)	18.11~31.09	24.60	19.4	15.9**	23.0~30.5	26.7	10.2	10.8**
单株粒重 (克) Grain weight (g)	6.45~26.83	17.99	39.0	11.4**	9.0~23.1	15.5	33.3	4.41**

注: **表示 1% 的显著水平, *表示 5% 的显著水平, 表 2 同表 1。

Note:**indicate significance at 1% level,* indicate significance at 5% level.

表 2 组合 II 定向选择后代表型性状分析

Table 2 Analysis on property of directional selection progeny in combination II

性状 Property	组合 II combination II							
	直链淀粉含量选择后代 Amylose content progeny				蛋白质含量选择后代 Protein content progeny			
	变幅 Range	平均值 Mean	变异系数 CV(%)	F value	变幅 Range	平均值 Mean	变异系数 CV(%)	F value
直链淀粉含量 Amylose content(%)	10.0~21.4	14.4	29.8	58.9**	10.97~19.71	16.61	16.3	2.71*
蛋白质含量 (%)Protein content(%)	7.18~8.03	7.55	5.1	8.04*	7.37~11.1	9.18	17.0	8.15**
食味值 Taste meter value	33~63	49.7	15.8	25.9**	34~60	50.2	16.3	32.7**
最高粘度 Peak viscosity	264.9~315.4	294.3	6.7	75.9**	280.1~361.5	324.4	11.3	2.30
最低粘度 Through viscosity	170.7~205.3	187.9	6.5	18.5**	137.6~219.3	186.2	16.3	10.8**
最终粘度 Final viscosity	258.7~342	301.2	9.1	27.9**	198.4~354.2	294.5	16.6	49.81**
下降粘度值 Breakdown viscosity	75.8~134.5	106.4	19.8	140.7**	82.8~188.0	138.2	24.2	3.94*
粘滞峰消减值 Setback viscosity	-48.3~47.5	6.9	530.7	8.99**	-127.3~38.4	-29.9	167.4	6.07**
回冷粘滞性恢复值 Recovery value of glutinousness	82.9~136.8	113.3	16.6	18.7**	90.9~131.7	115.2	9.7	0.15
糊化开始温度 Pasting temperature(°C)	56.6~62.0	59.7	3.1	30.2**	57.2~70.7	67.65	4.8	1.4
每株穗数 Ears a plant	6.0~9.66	7.9	17.2	1.49	6~9.7	8.7	18.0	1.73
每穗粒数 Grains a ear	39~171	101	39.3	23.3**	63~130.3	102.3	25.4	2.47*
结实率 Seed set propagation coefficient (%)	69.95~96.60	84.65	12.4	5.38*	67.7~95.9	86.7	10.4	1.98
千粒重(克) 1 000-seed weight (g)	17.93~28.57	24.42	13.1	5.69**	22.9~26.9	25.4	5.0	2.86*
单株粒重(克) Grain weight(g)	8.38~28.08	18.26	34.0	13.24**	13.2~31.7	22.8	31.0	2.73*

表 3 亲本遗传多样性比较

Table 3 Compare genetic diversity of parent

亲本 Parents	基因频率 Allele Frequency	平均基因多样性指数 Average of Hs	平均基因多态性信息量 Average of PIC
系选 1 号 Xixuan 1	0.682	0.403	0.322
通 769 Tong769	0.682	0.403	0.322
藤系 Tengxi180	0.656	0.426	0.338
东农 423 Dongnong423	0.656	0.426	0.338

表 4 亲本中不同染色体上的 SSR 遗传多样性比较

Table 4 Comparison of SSR genetic diversity of different chromosome in parent plant

染色体 Chromosome	组合 I 亲本 Parent in combination I			组合 II 亲本 Parent in combination II		
	基 因 频 率 Allele frequency	平均基因多样 性指数 Hs	平均基因多态 性信息量 PIC	基 因 频 率 Allele frequency	平均基因多样 性指数 Hs	平均基因多态 性信息量 PIC
	1	0.678	0.415	0.333	0.771	0.330
2	0.672	0.407	0.335	0.653	0.416	0.324
3	0.917	0.153	0.141	0.667	0.433	0.350
4	0.625	0.433	0.331	0.646	0.414	0.321
5	0.677	0.405	0.318	0.656	0.419	0.327
6	0.692	0.411	0.309	0.669	0.419	0.333
7	0.723	0.381	0.303	0.730	0.351	0.302
8	0.646	0.448	0.347	0.625	0.452	0.348
9	0.652	0.444	0.364	0.638	0.441	0.347
10	0.656	0.429	0.351	0.656	0.428	0.339
11	0.649	0.441	0.347	0.584	0.493	0.391
12	0.625	0.438	0.340	0.742	0.356	0.294

1.3 不同组合间遗传多样性比较分析

由表 5 可见,所选用的 SSR 引物在组合 I 中共检测到 332 个等位变异,每对引物检测到的等位变异数为 2~17 个,平均 6.0 个,基因多样性指数变幅为 0.165~0.632,平均 0.417,平均基因多态性信息量变幅为 0.152~0.554,平均 0.336;在组合 II 中共检测到 327 个等位变异,每对引物检测到的等位变异数为 2~13 个,平均 6.3 个,基因多样性指数变幅为 0.298~0.616,平均 0.439,平均基因多态性信息量变幅为 0.253~0.542,平均 0.350。说明组合 II 的

遗传多样性比组合 I 丰富。

由表 6 可见,组合 I 中 7 号染色体上的平均等位基因数最多,为 7.5 个,3 号染色体的平均等位基因数最少,为 4.3 个;组合 II 中 8 号染色体上的平均等位基因数最多,为 9.5 个,5 号染色体的平均等位基因数最少,为 4.5 个。各条染色体上的平均等位基因数均值组合 II 为 6.3,组合 I 为 6.0,说明组合 II 的各条染色体上的平均等位基因数均值略大于组合 I。

表 5. 2 个杂交组合间遗传多样性比较

Table 5 Comparison of genetic diversity between two cross combination

组合 Combination	多态性引物 Poly-primers	基因频率 Allele frequency	等位基 因变幅 Range of allele	平均等位 基因数 Average of allele	基因多样性 指数变幅 Range of Hs	平均基 因多样 性指数 Hs	基因多态性信 息量变幅 Range of PIC	平均基 因多态 性信息 量 PIC
I	56	0.672	2~17	6.0	0.165~0.632	0.417	0.152~0.554	0.336
II	52	0.666	2~13	6.3	0.298~0.616	0.439	0.253~0.542	0.350

表 6 引物在染色体上的分布及等位基因数

Table 6 Distribution of primers on chromosome and allele numbers

染色体 Chromosome	组合 I Combination I			组合 II Combination II		
	位点数 Number of loci	等位变异总数 Number of alleles	平均等位变异丰度 Average genetic richness	位点数 Number of loci	等位变异总数 Number of alleles	平均等位变异丰度 Average genetic richness
1	6	38	6.3	2	10	5.0
2	7	32	4.6	3	16	5.3
3	3	13	4.3	4	20	5.0
4	3	20	6.7	4	24	6.0
5	4	28	7.0	4	18	4.5
6	8	46	5.8	6	32	5.3
7	4	30	7.5	2	14	7.0
8	2	14	7.0	2	19	9.5
9	6	42	7.0	7	43	6.1
10	5	29	5.8	9	71	7.9
11	6	30	5.0	4	32	8.0
12	2	10	5.0	5	28	5.6
平均 Average	4.7	27.7	6	4.3	27.3	6.3

1.4 组合内稻米直链淀粉和蛋白质含量选择后代遗传多样性比较分析

从表 7 可知, 在组合 I 中, 稻米直链淀粉含量选择后代的平均基因多样性指数变幅为 0.153~0.667, 平均为 0.417, 平均基因多态性信息量变幅为 0.141~0.592, 平均为 0.335; 稻米蛋白质含量选择后代的平均基因多样性指数变幅为 0.153~0.611, 平均为 0.388, 平均基因多态性信息量变幅为 0.141~0.536, 平均为 0.309。在组合 II 中, 稻米直链淀粉含量选择后代的平均基因多样性指数变幅为 0.153~0.625, 平均为 0.431, 平均基因多

态性信息量变幅为 0.141~0.555, 平均为 0.340; 稻米蛋白质含量选择后代的平均基因多样性指数变幅为 0.153~0.653, 平均为 0.420, 平均基因多态性信息量变幅为 0.141~0.579, 平均为 0.335。由组合 I 和组合 II 结果可知, 稻米直链淀粉含量选择后代的基因多样性总体上大于稻米蛋白质含量选择后代, 但稻米蛋白质含量选择后代的个别染色体的基因多样性大于稻米直链淀粉含量选择后代。说明稻米直链淀粉含量选择后代比蛋白质含量选择后代具有更为丰富的遗传多样性。

表 7 不同后代遗传多样性比较

Table 7 Comparison of genetic diversity of different progeny

组合 Combination	基因频率 Allele frequency	基因多样性指 数变幅 Range of Hs	平均基因多样 性指数 Average of Hs	基因多态性信 息量变幅 Range of PIC	平均基因多态性信 息量 Average of PIC
I 直链淀粉含量选择后代 Progeny of Amylose content selection	0.667	0.153~0.667	0.417	0.141~0.592	0.335
蛋白质含量选择后代 Progeny of protein content selection	0.697	0.153~0.611	0.388	0.141~0.536	0.309
II 直链淀粉含量选择后代 Progeny of amylose content selection	0.659	0.153~0.625	0.431	0.141~0.555	0.340
蛋白质含量选择后代 Progeny of amylose content selection	0.652	0.153~0.653	0.420	0.141~0.579	0.335

由表 8、表 9 可知, 组合 I 中稻米直链淀粉含量选择后代最大 PIC 为 0.376, 发生在第 9 号染色体上, 最小 PIC 为 0.141, 发生在第 3 号染色体上。稻米蛋白质含量选择后代最大 PIC 为 0.354, 发生在第 10 号染色体上, 最小 PIC 为 0.141, 发生在第 3 号染色体上。组合 II 中稻米直链淀粉含量选择后代最大 PIC 为 0.382, 发生在第 6 号染色体上, 最小 PIC 为 0.141, 发生在第 7 号染色体上。稻米蛋白质含量选择后代最大 PIC 为 0.464, 发生在第 7 号染色体上, 最小 PIC 为 0.190, 发生在第 1 号染色体上。

根据平均基因多样性指数和平均基因多态性信息量从大到小, 以 0.1 为组距, 把稻米直链淀粉含量和蛋白质含量选择后代的 12 条染色体可分为几个组。组合 I 中, 稻米直链淀粉含量和蛋白质含量选择后代的 12 条染色体可分为 3 个组。稻米直链淀粉含量选择后代第 I 组为 1、2、4-6、8-12 号染色体, 其多态性最大, 其次是第 II 组为 7 号染色体, 第 III 组为 3 号染色体其多态性最小; 稻米蛋白质含量选择后代第 I 组为 1、2、7-12 号染色体, 其多态性最大, 其次是第 II 组为 4-6 号染色体, 第 III 组为 3 号染色体其多态性最小。同理, 组合 II 中, 稻米直链淀粉含量选择后代的 12 条染色体可分为 3 个组, 稻米蛋白质含量选择后代的 12 条染色体可分为 4 个组。稻米直链淀粉含量选择后代第 I 组为 1、2、4、6、8-11 号染色体, 其多态性最大; 其次

是第 II 组为 3、5、12 号染色体; 第 III 组为 7 号染色体其多态性最小; 稻米蛋白质含量选择后代第 I 组为 3、7、11 号染色体, 其多态性最大; 其次是第 II 组为 5、8-10 号染色体; 第 III 组为 2、4、6、12 号染色体, 第 IV 组为 1 号染色体多态性最小。

1.5 杂种后代 SSR 分子标记聚类分析

由组合 I 和组合 II 的稻米直链淀粉和蛋白质含量选择后代聚类图 (图 1、2) 可见, 组合 I 亲本及杂种后代在遗传相似系数为 0.5 时, 组合 II 亲本及杂种后代在遗传相似系数为 0.49 时, 都被聚成 2 大类 4 亚类。在组合 I 中, 第一大类为母本与稻米直链淀粉含量高、低后代及稻米蛋白质含量低的后代株系聚在一起, 第二大类为父本与稻米蛋白质含量高的后代株系聚在一起。第一亚类为稻米直链淀粉含量高的后代株系、第二亚类为稻米直链淀粉含量低的后代株系、第三亚类为稻米蛋白质含量低的后代株系、第四亚类为稻米蛋白质含量高的后代株系。在组合 II 中, 第一大类为母本与稻米高直链淀粉含量后代及稻米高、低蛋白质含量的后代株系聚在一起, 第二大类为父本与稻米低直链淀粉含量后代株系聚在一起。第一亚类为稻米直链淀粉含量高的后代株系、第二亚类为稻米蛋白质含量高的后代株系、第三亚类为稻米蛋白质含量低的后代株系、第四亚类为稻米直链淀粉含量低的后代株系。

表 8 组合 I 中不同染色体上的 SSR 遗传多样性比较

Table 8 Comparion of SSR genetic diversity of different chromosome in combination I

染色体 Chromosome	组合 I Combination I			组合 I Combination I		
	直链淀粉含量选择后代 Amylose content progeny			蛋白质含量选择后代 Protein content progeny		
	基因频率 Allele requency	平均基因多样性 指数 Hs	平均基因多态 性信息量 PIC	基因频率 Allele requency	平均基因多样 性指数 Hs	平均基因多态 性信息量 PIC
1	0.688	0.413	0.325	0.667	0.417	0.340
2	0.688	0.403	0.352	0.655	0.411	0.318
3	0.917	0.152	0.141	0.917	0.153	0.141
4	0.556	0.491	0.370	0.694	0.375	0.292
5	0.625	0.438	0.338	0.729	0.372	0.298
6	0.597	0.449	0.351	0.786	0.372	0.266
7	0.778	0.324	0.264	0.667	0.438	0.341
8	0.583	0.486	0.368	0.708	0.410	0.325
9	0.650	0.450	0.376	0.653	0.438	0.351
10	0.708	0.396	0.347	0.604	0.462	0.354
11	0.667	0.438	0.350	0.631	0.443	0.343
12	0.500	0.5	0.375	0.75	0.375	0.305

表 9 组合 II 中不同染色体上的 SSR 遗传多样性比较

Table 9 Comparion of SSR genetic diversity of different chromosome in combination II

染 色 体 Chromosome	组合 II Combination II			组合 II Combination II		
	直链淀粉含量选择后代 Amylose content progeny			蛋白质含量选择后代 Protein content progeny		
	基 因 频 率 Allele requency	平均基因多样 性指数 Hs	平均基因多态 性信息量 PIC	基 因 频 率 Allele requency	平均基因多样 性指数 Hs	平均基因多态 性信息量 PIC
1	0.667	0.444	0.346	0.875	0.215	0.190
2	0.583	0.471	0.363	0.722	0.361	0.285
3	0.771	0.351	0.288	0.563	0.514	0.411
4	0.604	0.469	0.359	0.688	0.358	0.283
5	0.729	0.372	0.298	0.583	0.465	0.356
6	0.611	0.482	0.382	0.726	0.355	0.283
7	0.917	0.153	0.141	0.542	0.549	0.462
8	0.667	0.431	0.336	0.583	0.472	0.360
9	0.679	0.423	0.335	0.597	0.458	0.359
10	0.656	0.432	0.336	0.656	0.424	0.342
11	0.667	0.444	0.346	0.500	0.542	0.435
12	0.75	0.354	0.288	0.733	0.357	0.300

由上结果可知, 稻米直链淀粉含量高的后代株系聚为一类, 稻米直链淀粉含量低的后代株系聚为一类, 稻米蛋白质含量高的后代株系聚为一类, 稻米蛋白质含量低的后代株系聚为一类。

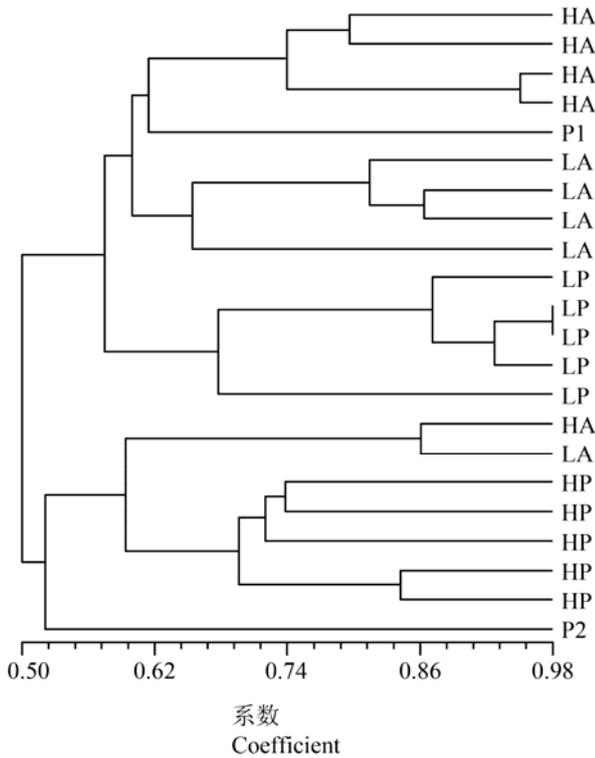


图 1 组合 I 中高低直链淀粉和蛋白质含量后代 SSR 聚类图
 Figure 1 The dendrogram generated of SSR on high and low amylose and protein progeny in combination I
 注: 图中 HA,LA 表示高、低直链淀粉含量, HP,LP 表示高、低蛋白质含量。图 2 同图 1。
 Note:HA,LA indicate high and low of amylose content,HP,LP indicate high and low of protein content.

2 讨论

来源于不同染色体微卫星标记的多态性表现不一致。Ni (2002) 等研究 40 个粳稻品种表明, 高多态性在 6、7 号染色体上, 低多态性在 2 号染色体上。张建勇等 (2005) 研究 93 份水稻品种表明, 高多态性在 9、10 号染色体上, 低多态性在 12 号染色体上。肖小余等 (2006) 利用微卫星标记对四川省主推杂交水稻品种进行了 DNA 指纹图谱构建和品种鉴定研究表明, 不同染色体的微卫星分析的多态性不同, 第 9、10 染色体微卫星的多态性高于其他染色体, 第 12 染色体上的微卫星标记的

多态性最差, 仅为 46.15%。杨静等 (2008) 选用分布于水稻 12 条染色体上的 52 对 SSR 引物, 对 54 份材料进行遗传多样性分析表明, 2、5、7、11 号染色体多态性高, 6、8、10、12 号染色体多态性低。

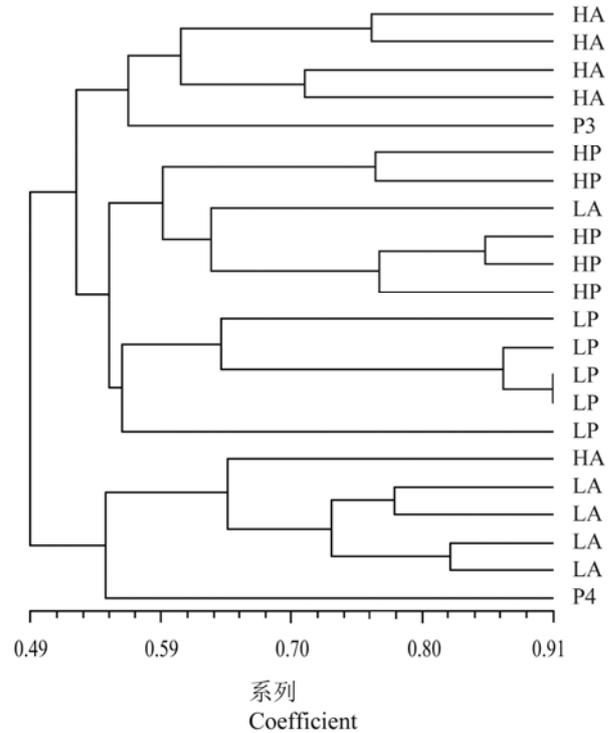


图 2 组合 II 中高低直链淀粉和蛋白质含量后代 SSR 聚类图
 Figure 2 The dendrogram generated of SSR on high and low amylose and protein progeny in combination II
 注: 图中 HA,LA 表示高、低直链淀粉含量, HP,LP 表示高、低蛋白质含量。图 2 同图 1。
 Note: HA,LA indicate high and low of amylose content,HP,LP indicate high and low of protein content.

本试验对亲本及通过定向选择形成的后代染色体多态性比较分析表明, 组合 I 亲本的高多态性发生在 9 号染色体上, 低多态性发生在 3 号染色体上; 组合 II 亲本高多态性发生在 11 号染色体上, 低多态性发生在 1 号染色体上。组合 I 中稻米直链淀粉含量选择后代 SSR 高多态性主要发生在 9 号染色体上, 低多态性主要发生在 3 号染色体上; 稻米蛋白质含量选择后代 SSR 高多态性主要发生在 10 号染色体上, 低多态性主要发生在 3 号染色体上。组合 II 中稻米直链淀粉含量选择后代 SSR 高多态性主要发生在 6 号染色体上, 低多态性主要发生在 7 号染色体上; 稻米蛋白质含量选择后代 SSR 高多

态性主要发生在 7 号染色体上, 低多态性主要发生在 1 号染色体上。结果与 Ni(2002)、张建勇(2005)、肖小余(2006)、杨静(2008) 研究结果不完全一致。这可能与供试品种来源和类型不同有关。定向选择后代染色体基因多态性与其亲本也不完全一致, 说明在定向选择过程中基因发生了重组或交换, 导致染色体位点发生变化。

通过 SSR 分子标记的聚类分析, 可将不同遗传背景的材料进行类群的划分(杨致荣,2008;杨致荣,2008;Tereza Cristina de Oliveira Borba ,2009; M. Ravi et al., 2003;吕建珍, 2008;彭锁堂,2008;张武汉,2008;叶胜海,2008;罗小金,2006; 杨慧, 2008), 遗传背景相似的材料大多聚为一类。本试验聚类分析结果表明, 稻米直链淀粉含量高的后代株系聚为一类, 稻米直链淀粉含量低的后代株系聚为一类, 稻米蛋白质含量高的后代株系聚为一类, 稻米蛋白质含量低的后代株系聚为一类。说明通过稻米直链淀粉和蛋白质含量的定向选择, 可以获得遗传背景不同的后代材料。

3 材料与方法

3.1 供试材料

试验在东北农业大学哈尔滨香坊试验农场进行。供试材料为 P1: 系选 1 号 (18%, 7%)、P2: 通 769 (16%, 9%)、P3: 东农 423 (16%, 9%)、P4: 藤系 180 (10%, 7%) (括弧内分别为亲本的稻米直链淀粉和蛋白质含量), 组合 I 为 P1×P2、组合 II 为 P3×P4。从 F₂ 起以籽粒直链淀粉和蛋白质含量作为选择指标, 向高、低两个方向进行连续定向选择, 构建稻米直链淀粉和蛋白质含量有显著差异的 F₇ 后代株系群体。田间试验设 3 次重复, 3 m 行长, 单行区, 插秧规格为 30 cm×15 cm, 每穴插 1 株, 每行种植 20 株。2008 年 4 月 16 日播种, 普通旱育苗, 5 月 25 日插秧, 于分蘖盛期在每个株行取 20 个单株叶片, 液氮冷冻后-20℃保存。

3.2 稻米品质测定方法

直链淀粉测定方法参照农业部颁布的标准 (NY/T83-88), 蛋白质测定用半微量凯氏定氮法, 换算系数为 5.95, 以干基表示。用日本静岡制机株式会社生产的 PS-500 型食味仪测定食味值。用澳

大利亚 Newport Scientific 仪器公司生产的 4-D 型粘度速测仪测定粘特性。

3.3 DNA 提取与引物筛选

本实验采用改良的 SDS 法提取 DNA (金正勋等, 2005)。根据本实验室的研究结果, 每条染色体上选取多态性好的引物各 10 条, 共 120 对引物。

3.4 PCR 扩增及电泳

PCR 反应体系为 10×PCR buffer 2μl, dNTP 0.5μl, Tag 0.1μl, Primer 0.4μl, DNA 1μl, 无菌水 7μl。

PCR 反应条件为 94℃预变性 5min; 35 个循环 (94℃, 30s; 55℃, 30s; 72℃, 30s); 72℃延伸 5min。扩增产物采用 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳。

3.5 数据处理

用 DPS 软件计算表型数据的 *F* 值, 用 PowerMarker Ver 3.25 (liu K et al, 2005) 软件统计平均等位基因数、基因多样性指数 (*H_s*) (Nei M.,1973)、多态性位点百分率、基因多态性信息量 (PIC)。采用 NTSYS2.1 软件进行聚类分析, 并绘制聚类图。

作者贡献

金正勋是项目的负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改; 李晓光、刘洪亮、黄星是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 李晓光、徐美兰及赵书宇完成数据分析, 论文初稿的写作; 张忠臣参与实验设计。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由东北农业大学创新团队发展计划项目 (CXT001-1-2) 和黑龙江省教育厅项目 (11531017) 资助。

参考文献

- Akagi H., Yokozeki Y., Inagaki A., and Fujimura T., 1996, Microsatellite DNA markers for rice chromosome, *Theor Appl Genet*, 93(7): 1071-1077
- Torada A., Koike M., Mochida K., and Ogihara Y., 2006, SSR-based linkage map with new markers using an intraspecific population common wheat, *Theoretical and Applied Genetics*, 112(6): 1042-1051
- Bao G.L., Kobayashi A., Fu T.G., Jin Q.S., Zhang X.M., Yan W.C., and Ye S.H., 2005, Polymorphism Analysis of

- Closely Related japonica Rice Varieties by Using SSR Markers, *Zhongguo Shuidao Kexue(Chin. J. Rice Sci.)*, 19(1): 21-24(鲍根良, 小林麻子, 富田桂, 金庆生, 张小明, 严文潮, 叶胜海, 2005, 粳稻近缘品种的 SSR 分析, *中国水稻科学*, 19(1): 21-24)
- Chen X.H., Xu L.Y., Peng J.S., Du W.P., Yu G.R., Zhong C.S., Qu J.P., and Hu F.L., 2008, SSR Analysis of Genetic Diversity for Wheat Cultivars(Lines) in the Southwest of China, *Mailei Zuowu Xuebao(Journal of Triticeae Crops)*, 28(1):6-1 (陈先红, 徐利远, 彭正松, 杜文平, 余桂蓉, 钟昌松, 曲继鹏, 胡凤林, 2008, 中国西南地区小麦品种(系)遗传多样性的 SSR 分析, *麦类作物学报*, 28(1): 6-1)
- Hearne C., Ghosh S., and Todd J., 1993, Microsatellites for linkage analysis of genetics traits, *Trend Genet*, 8: 288-294
- Hua L., Yuan X.P., Yu H.Y., Wang Y.P., Xu Q., Tang S.X., and Wei X.H., 2007, A Comparative Study on SSR Diversity in Chinese Major Rice Varieties Planted in 1950s and During the Most Recent Ten Years, *Zhongguo Shuidao Kexue(Chin. J. Rice Sci.)*, 21(2): 150- 154(华蕾, 袁筱萍, 余汉勇, 王一平, 徐群, 汤圣祥, 魏兴华, 我国水稻主栽品种 SSR 多样性的比较分析, *中国水稻科学*, 21(2): 150- 154)
- Jin Z.X., Jiang W.Z., Jin J.X., and Gao X.Z., 2005, Analysis on Genetic Distance Based on RAPD Marker as Related to the Taste Meter and RVA Properties in indica Rice Hybrids, *Zhongguo Shuidao Kexue(Chin. J. Rice Sci.)*, 19(1):29-35(金正勋, 姜文洙, 晋重玄, 高熙宗, 籼稻 RAPD 标记遗传距离与杂种后代稻米味度及 RVA 普特性的相关分析, *中国水稻科学*, 19(1): 29-35)
- liu K., and Muse S.V., 2005, Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, 21: 2128-2129
- Liu J., Guan J.P., Xu D.X., Zhang X.Y., Gu J., and Zong X.X., 2008, Analysis of Genetic Diversity and Population Structure in Lentil(Lens cu-linaris Medik.)Germplasm by SSR Markers,Zuowu Xuebao(ACTA AGRONOMICA SINICA), 34(11): 1901-1909(刘金, 关建平, 徐东旭, 张晓艳, 顾竟, 宗绪晓, 2008, 小扁豆种质资源 SSR 标记遗传多样性及群体结构分析, *作物学报*, 34(11): 1901-1909)
- Lu J.Z., Zhang X.L., Wang H.G., Yuan X.P., Xu Q., Wang Y.P., Yu H.Y., and Wei X.H., 2008, SSR Analysis on Diversity of AA Genome Oryza Species in the Southeast and the South Asia, *Zhongguo Shuidao Kexue(Chin. J. Rice Sci.)*, 22(3):249-254 (吕建珍, 张晓丽, 王海岗, 袁筱萍, 徐群, 王一平, 余汉勇, 魏兴华, 2008, 东南亚与南亚稻属 AA 基因组种间的遗传多样性差异, *中国水稻科学*, 22(3): 249-254)
- Luo X.J., He H.H., Fu J.R., Chen X.R., Sun J.L., Zhang H.L., and Li Z.C., 2006, Studies on Dividing Heterotic Groups in Indica Rice with SSR Molecular Markers, *Zajiao Shuidao(Hybrid Rice)*, 21(1):61- 64(罗小金, 贺浩华, 付军如, 陈小荣, 孙俊立, 张洪亮, 李自超, 2006, 利用 SSR 分子标记划分籼型水稻杂种优势群, *杂交水稻*, 21(1): 61- 64)
- Ravi M., Geethanjali S., Sameeyafarheenl F., and Maheswaran M., 2003, Molecular Marker based Genetic Diversity Analysis in Rice(Oryza sativa L.) using RAPD and SSR markers, *Euphytica*, 133(2): 243-251
- Neelu J., Sunita J., Navinder S., and Rajinder K., 2006, SSR analysis of chromosome 8 regions associated with aroma and cooked kernel elongation in Basmati rice, *Euphytica* , 152:259-273
- Nei M., 1973, Analysis of gene diversity in subdivided populations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70: 3321-3323
- Ni J.J., Colouit P.M., and Mackill D.J., 2002, Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers, *Crop Science*, 42: 601-607
- Peng S.T., Wang H.G., Wei X.H., Lu J.Z., Zhang X.L., Yuan X.P., and Yang W.D., 2008, SSR Diversity and Genetic Structure of Main Male Sterile Lines of Three-Line Hybrid Rice in China, *Zhongguo Shuidao Kexue(Chin. J. Rice Sci.)*, 22(4): 365-369(彭锁堂, 王海岗, 魏兴华, 吕建珍, 张晓丽, 袁筱萍, 杨武德, 2008, 我国三系杂交稻主要不育系的微卫星标记多样性和遗传结构分析, *中国水稻科学*, 22(4): 365-369)
- Song Q.J., Shi J.R., Singh S., 2005, Development and mapping of microsatellite(SSR) markers in wheat, *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 550-560
- de Oliveira Borba T.C., Brondani RP, Rangel PH, and Brondani C., 2009, Microsatellite marker-mediated analysis of the EMBRAPA Rice Core Collection genetic diversity, *Genetica*, 137(3): 293-304, doi: 10.1007/s10709-009-9380-0
- Wang H.Z., Wu Z.D., Wang X.W., and Fang Z.Y., 2008, Analysis of the Genetic Diversity in Different Types of Sugar Beets by SRAP and SSR Markers, *Zuowu Xuebao(ACTA AGRONOMICA SINICA)*, 34(1):37-46(王华忠, 吴则东, 王晓武, 方智远, 2008, 利用 SRAP 与

- SSR 标记分析不同类型甜菜的遗传多样性, 作物学报, 34(1): 37-46)
- Xiao X.Y., Wang Y.P., Zhang J.Y., Li S.G., and Rong T.Z., 2006, SSR Marker-based Genetic Diversity Fingerprinting of Hybrid Rice in Sichuan, *Zhongguo Shuidao Kexue(Chin. J. Rice Sci.)*, 20(1):1-7 (肖小余, 王玉平, 张建勇, 李仕贵, 荣廷昭, 四川省主要杂交稻亲本的 SSR 多态性分析和指纹图谱的构建与应用, 中国水稻科学, 20(1):1-7)
- Xuan Y., Zhao W., Song F.S., Yi C.X., Ni D.H., Li L., and Yang J.B., 2007, Genetic diversity analysis of some japonica rice varieties with ssr markers, *Henong Xuebao(Journal of Nuclear Agricultural Sciences)*, 21(3): 217-220(宣云, 赵伟, 宋丰顺, 易成新, 倪大虎, 李莉, 杨剑波, 利用 SSR 标记分析部分粳稻品种的遗传多样, 核农学报, 21(3): 217-220)
- Yang J., Liu H.Y., Qian C.R., and Jin Z.X., 2008, Analysis on genetic diversity of rice varieties in Heilongjiang Province by using SSR, *Dongbei Nongye Daxue Xuebao(Journal of Northeast Agricultural University)*, 39(6): 1-10 (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, 39(6): 1-10)
- Yang H., Lu C.M., Jia Y.F., Han G.Y., Li L.G., Duan L., and Wang Y.Y., 2008, Genetic Diversity of Yunnan Glutinous Rice Revealed by SSR Markers, *Fenzi Zhiwu Yuzhong(Molecular Plant Breeding)*, 6(6): 1068-1074(杨慧, 陆春明, 贾亦飞, 韩光煜, 李利国, 段琳, 王云月, 云南糯稻遗传多样性的 SSR 分析, 分子植物育种, 6(6): 1068-1074)
- Yang Z.R., Li R.Z., Wei X.H., 2008, Genetic Diversity Analysis of Japonica Rice Varieties Based on SSR Markers, *Shanxi Nongye Kexue(Journal of Shanxi Agricultural Sciences)*, 36(8): 33-35(杨致荣, 李润植, 魏兴华, 微卫星标记对粳稻品种遗传多样性分析, 山西农业科学, 36(8): 33-35)
- Yang Z.R., Li R.Z., and Wei X.H., 2008, Genetic Diversity Analysis of Indica Rice Varieties Based on SSR Markers, *Shanxi Nongye Daxue Xuebao, Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition)*, (4): 33-35(杨致荣, 李润植, 魏兴华, 微卫星标记对粳稻品种遗传多样性分析, 山西农业大学学报, (4): 33-35)
- Ye S.H., Fu T. G., Kobayashi A., Qi Y.B., Lu Y.T., and Zhang X.M., 2008, Polymorphism analysis of genetic diversity between Zhejiang japonica varieties and Japan japonica varieties by using SSR markers, *Zhejiang Nongye Xuebao(Acta. Agriculturae Zhejiangensis)*, 20(6): 424-427(叶胜海, 富田桂, 小林麻子, 祁永斌, 陆艳婷, 张小明, 浙江粳稻与日本粳稻品种间遗传差异的 SSR 分析, 浙江农业学报, 20(6): 424-427)
- Ying J.Z., Shi Y.F., Zhuang J.Y., and Xue Q.Z., 2007, Microsatellite Marker Evaluation on Genetic Diversity of the Major Commercial Rice Varieties in China, *Zhongguo Nongye Kexue(Scientia Agricultura Sinica)*, 40 (4): 649-654(应杰政, 施勇锋, 庄杰云, 薛庆中, 用微卫星标记评估中国水稻主栽品种的遗传多样性, 中国农业科学, 40 (4): 649-654)
- Zhang X.Y., Zhao P.F., Wang F.G., Sun S.X., and Wang S.C., 2009, Comparison Between the Results of Uniformity Using SSR Molecular Technique and Morphological Traits with Maize Varieties, *Yumi Kexue(Journal of Maize Sciences)*, 17(1): 40~45, 50 张雪原, 赵攀峰, 王风格, 孙世贤, 王守才, 玉米品种 SSR 分子标记与田间小区种植一致性鉴定结果的比较, 玉米科学, 17(1): 40~45, 50)
- Zhang J.Y., Yuan Z.Q., and Li S.G., 2008, The genetic diversity and relationship between indica and japonica rice (*Oryza Sativa L.*) using SSR markers, *Shandong Ligong Daxue Xuebao(Journal of Shandong University of Technology(Natural Science Edition))*, 19(2): 22- 27 (张建勇, 袁左清, 李世贵, 微卫星标记分析籼稻亚种间的遗传多样性, 山东理工大学学报自然科学版, 19(2): 22-27)
- Zhang W.H., Deng H.F., Chen L.B., Shu F., and He Q., 2008, Genetic Diversity in Non-AA Wild Rice Revealed by SSR and ISSR Markers, *Hunan Nongye Daxue(Hunan Agricultural Sciences)*, (6): 7-10 (张武汉, 邓华凤, 陈良碧, 舒服, 何强, 应用 SSR 和 ISSR 标记分析非 AA 型野生稻资源的遗传多样性, 湖南农业科学, 6:7-10)
- Zheng J.S., Chen L.B., Fu W.Y., and Li Y.Z., 2004, Genetic Diversity of Different Wild Rice Genomes Revealed by SSR Markers, *Fenzi Zhiwu Yuzhong(Molecular Plant Breeding)*, 2 (1): 25-33 (郑景生, 陈良兵, 符文英, 李义珍, 野生稻不同基因组的 SSR 多样性分析, 分子植物育种, 2 (1): 25-33)
- Zhu Z.F., Sun C.Q., Fu Y.C., Zhang P.J., and Wang X.K., 2002, Comparison of the Genetic Diversity of Common Wild Rice and Cultivated Rice Using SSR Markers, *Zhongguo Nongye Kexue(Scientia Agricultura Sinica)*, 35(12): 1437-1441 (朱作峰, 孙传清, 付永彩, 张培江, 王象坤, 用 SSR 标记比较亚洲栽培稻与普通野生稻的遗传多样性, 中国农业科学, 35(12): 1437-1441)