

华南籼型杂交稻常用恢复系遗传差异分析

阎 勇,黄大辉,秦 钢,梁海福,屈秋明,栗学俊

(广西水稻遗传改良重点开放实验室,广西农科院水稻研究所,国家水稻改良中心南宁分中心,广西 南宁 530007)

摘要: 利用分布于水稻 12 条染色体上已筛选的 24 个微卫星标记,对华南地区常用的 30 份杂交稻恢复系进行遗传差异分析。所有引物检测到的等位基因是 70 个,平均每对引物可检测到 2.5 个等位基因;有效等位基因数介于 1.069~4.000 之间,平均为 2.051;多态信息含量(PIC)变动范围为 0.064~0.750,平均为 0.456。聚类分析表明,30 个水稻恢复系间遗传相似系数在 0.58~0.97 之间,有 4 份材料桂 55、9518、测 315 和 5058 与其他材料间的遗传差异较大,可在强优势组合的培育中加以利用。

关键词: 水稻;恢复系;遗传差异;分子标记

中图分类号: S511.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)06-0067-05

Genetic Diversity of Main Restorer Lines of Hybrid Rice in South China

YAN Yong, HUANG Da-hui, QIN Gang, LIANG Hai-fu, QU Qiu-ming, SU Xue-jun

(Key Laboratory of Rice Genetic Improvement of Guangxi, Rice Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning Subcenter of the National Center for Rice Improvement, Nanning 530007, China)

Abstract: Twenty-four SSR on the 12 chromosomes of rice (*Oryza sativa* L.) were selected to assess the genetic variation among 30 main restorer lines of hybrid rice in South of China. A total of 70 alleles were detected, and per primer pair detected 2.5 alleles on the average. The number of effective alleles ranged from 1.069 to 4.000, on an average of 2.051. The polymorphism information content (PIC) ranged from 0.064 to 0.750, on an average of 0.456. The result of cluster analysis showed that the genetic similarity among 30 rice restorer lines ranged from 0.58 to 0.97. Four restorer lines Gui55, 9518, Ce315 and 5058 showed greater genetic diversity in comparison with the other restorer lines. The above 4 restorer lines could be used to breed hybrid rice with strong superiority.

Key words: Rice (*Oryza sativa* L.); Restorer lines; Genetic diversity; SSR marker

自 20 世纪 70 年代实现三系配套以来,杂交稻生产发展迅速,为粮食增产作出重要的贡献。华南稻区年播种面积和年产量均占全国的 1/5 左右,在我国的水稻生产中占有重要的地位^[1]。据统计,在 1998-2004 年参加南方区试的 110 个来自华南稻区的品种中,杂交稻组合占 93 个,高达 85%^[2]。然而杂交稻经过近 30 年的发展后,杂种优势利用远不如初期时效果明显,其主要原因之一是由于水稻育种基础材料血缘混乱,遗传基础狭窄,导致了当前应用的大部分恢复系来缘于几个共同的祖先。研究表明,华南地区籼稻品种的遗传多样性狭窄且随年代而变化,20 世纪 70 年代以后呈下降趋势^[3-5]。因此,有必要加强新的种质资源的发掘和利用研究,充

分利用多种有利的基因资源来拓宽水稻品种的遗传背景,从而能够有效防止因遗传基础狭窄而带来的潜在的生物脆弱性。研究华南杂交稻主要恢复系的遗传多样性,了解其遗传背景对今后合理选择杂交亲本,有效利用杂种优势,拓宽种质资源,对明确华南稻区杂交稻恢复系的亲缘关系以及今后的育种目标,更好地解决水稻生产中所存在的问题等均有重要意义。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本试验选用近 30 年来华南稻区生产上主要推广的杂交稻恢复系 30 份(表 1),所有材料均为广西

收稿日期:2012-06-02

基金项目:广西自然科学基金项目(2010GXNSFB013033);广西农科院基本业务专项(201010 基)

作者简介:阎 勇(1979-),男,山西忻州人,助理研究员,硕士,主要从事杂交水稻育种研究。

通讯作者:栗学俊(1966-),男,广西南宁人,研究员,硕士,主要从事杂交水稻育种研究。

农科院水稻研究所保存。

1.2 试验方法

试验选用分布于水稻 12 条染色体的 24 个多态性高、带型清晰且重复性好的 SSR 标记^[6] (每条染色体 2 个)。采用卢扬江^[7]和 Zheng 等^[8]方法,提取水稻基因组总 DNA。PCR 反应及银染参照施勇烽等^[6]的方法进行。

表 1 试验所用材料

Tab.1 Restore lines used in this experiment

编号 Code	名称 Name	系谱 Pedigree
1	明恢 70	IR54/明恢 63
2	R859	R815/桂
3	847	
4	298	
5	辐恢 838	226/γ552
6	测 315	测 64-49/密阳 46
7	测 258	IR661/田东野生稻//IR56/IR36
8	测 253	IR36/田东野生稻//IR2061///IR24/ 古 154
9	明恢 1273	多系 1 号/明恢 86
10	139	
11	黄占	香恢 1 号/广恢 880
12	桂 99	龙野 5-3//IR661/IR2061
13	明恢 63	IR30 /圭 630
14	广恢 998	R1333/ R1361
15	玉 175	
16	R278	
17	R273	测 64-7/08 ce64-7/08
18	9518	
19	桂 55	
20	R1202	测 1018 /测 64-7
21	TO974	测 64/水源 287//二六窄早/To498
22	R211	明恢 63//湛 15/桂 99
23	TO463	To974/R402
24	R148	明恢 86/台农 67//多系 1 号
25	R8813	特青/287
26	蜀恢 527	圭 630/古 154//IR1544-28-2-3///辐 36-2/IR24
27	闽恢 3119	多系 1 号/明恢 86
28	明恢 86	P18/gk148
29	明恢 1259	明恢 86// K59/K1729
30	5058	桂 99/多系 1 号//广 12/明恢 63

1.3 数据分析

统计 SSR 产物银染结果,根据每个个体产生的带型,有带标记为“1”,无带记为“0”。利用 POP-GENE32 计算 SSR 座位的等位基因数(Number of alleles ,A)、有效等位基因数(Effective number of Alleles ,E)和各标记等位基因频率。根据 Simth 等^[9]报道的方法计算多态信息含量 (Polymorphism index

content ,PIC) 值,公式: $PIC = 1 - \sum f_i^2$, f_i 表示 i 位点的等位基因频率。同时,应用软件 NTSYS^[10]计算供试材料间的遗传相似系数,然后用加权平均数 UPG-MA 方法(Unweight pair-group method using arithmetic average) 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 SSR 标记多态性

利用随机分布于水稻 12 条染色体上的 SSR 引物 24 对,对 30 份华南稻区常用的杂交水稻恢复系材料进行分析,共检测出 70 个等位基因,每个 SSR 位点可检测到的等位基因数介于 2~8 之间,平均每对 SSR 引物检测到 2.5 个等位基因;有效等位基因数 E 介于 1.069~4.000 之间,平均为 2.051;PIC 值的变动范围为 0.064~0.750,平均为 0.456(表 2)。有效等位基因数与 PIC 的变化趋势相一致,有效等位基因数多的标记,其相应的多态信息含量 PIC 较高。

从表 2 可以看出,在检测的 24 个标记中,仅 RM71 达到 8 个等位基因,3 个标记(RM274、RM72、RM219) 检测到 4 个等位基因,其他标记只检测到 2~3 个等位基因,说明华南地区水稻恢复系的遗传多样性较低,这种现象可能是在育种过程中,育种家们选用在生产上表现突出的材料及性状作为杂交亲本或育种目标造成的。但从多态信息含量来看,有 3 个引物(RM71、RM274、RM72) 的 PIC 达到 0.7 以上,表现出非常好的多态性和检测效率(图 1),所以在育种及生产过程中可以利用这 3 个引物产生的谱带进行种子纯度鉴定。

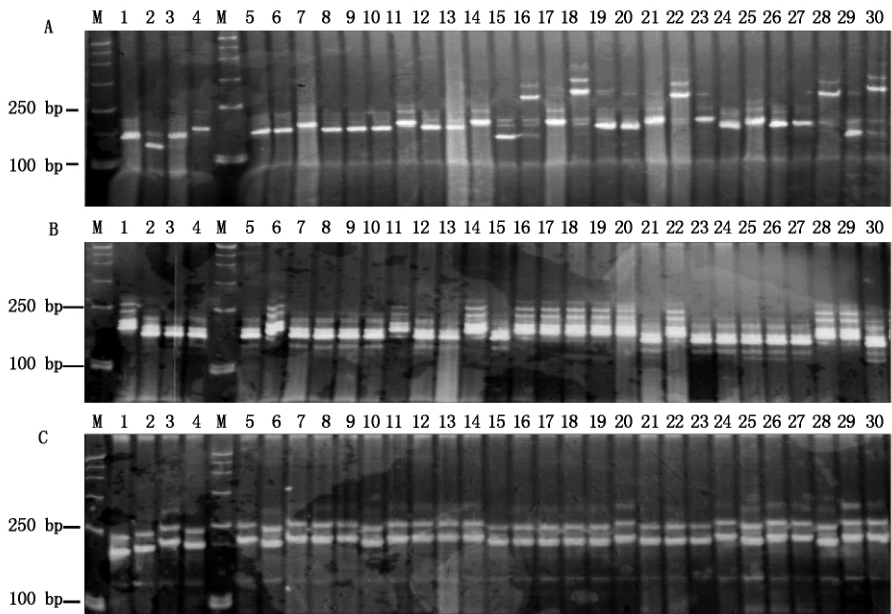
2.2 常用恢复系遗传差异分析

根据 24 对 SSR 引物对 70 个等位基因的检测结果,将 30 个华南籼型杂交稻常用恢复系进行聚类分析,并绘制树状图(图 2)。从图 2 可以看出,以遗传相似系数 0.59 为标准,可将 30 份水稻材料分为三大类:第一类包括桂 55 和 9518 共 2 个恢复系;测 315 单独形成第二类型的恢复系;其余的 27 份恢复系材料组成第三类型。这三大类群均含有 IR 系统的血缘。第一类材料(桂 55 和 9518) 和第二类材料(测 315) 与其他材料表现出较大的遗传差异性。如果以 0.71 为阈值,第三类型的 27 份材料可以分为 5 个亚群:亚群 I 包括 298、TO947、TO463、R278、R211、明恢 86、R273、黄占、广恢 998 和明恢 1259;亚群 II 包括测 258、桂 99 和 R1202;5058 单独形成亚群 III;亚群 IV 包括 847、明恢 63、辐恢 838、测 253、R148、闽恢 1273、蜀恢 527 和闽恢 3119;亚群 V 包括

明恢 70、R859、139、玉 175 和 R8813。5 个亚群材料 大的遗传差异。
中 ,5058 单独形成亚群Ⅲ ,与其他亚群材料间有较

表 2 SSR 标记的等位基因数、有效等位基因数和多态信息含量位点的遗传多态性

Tab.2 No. of alleles ,No. of effective alleles and polymorphism information content for the markers tested							
引物 Marker	等位基 因数 A No. of alleles	有效等位 基因数 E No. of effective alleles	多态信息含量 Polymorphism information content	引物 Marker	等位基 因数 A No. of alleles	有效等位 基因数 E No. of effective alleles	多态信息含量 Polymorphism information content
RM71	8	3.352	0.702	RM18	2	1.991	0.498
RM85	2	1.385	0.278	RM273	2	1.991	0.498
RM274	4	3.798	0.734	RM278	2	1.991	0.498
RM5414	2	1.965	0.491	RM337	3	2.261	0.558
RM72	4	4.000	0.75	RM224	3	1.495	0.331
RM190	2	1.142	0.125	RM258	3	1.948	0.487
RM336	2	1.923	0.48	RM17	2	1.991	0.498
RM290	3	2.406	0.584	RM297	2	1.069	0.064
RM219	4	2.195	0.544	RM209	3	2.332	0.571
RM19	3	1.448	0.309	RM237	2	1.385	0.268
RM1195	3	1.484	0.326	RM311	3	2.133	0.531
RM208	3	2.151	0.535	RM232	3	1.402	0.287
平均 Mean	2.5	2.051	0.456				



M. 分子量标记; 1 ~ 30. 品种编号同表 1。
M. DNA Marker DL2000; 1 ~ 30. The code of rice lines the same as Tab. 1.

图 1 引物 RM71(A)、RM274(B)、RM72(C)对 30 个水稻恢复系的扩增结果

Fig.1 The profile of 30 restorer lines amplified by SSR primer RM71(A) ,RM274(B) and RM72(C)

从聚类分析结果不难看出 ,华南地区的杂交稻恢复系遗传改良都是围绕少数骨干亲本来进行的 ,这直接影响到恢复系的遗传多样性下降。然而 ,部分系谱相近的恢复系材料 ,其标记检测的结果却存在一定差异 ,例如明恢 1259 和闽恢 3119 2 个材料具有同样的亲本 ,但遗传系数却为 0.79 ,这一现象的出现 ,可能是受到育种过程中育种家主观选择的影响。

3 讨论

从 20 世纪 70 年代至今 ,经过 30 多年的发展 ,我国杂交水稻育种专家已先后育成了大量的能够与不同胞质源的水稻雄性不育系组配出杂交组合的恢复系。从数量上来看 ,恢复系资源非常丰富 ,仅华南稻区常用的恢复系就有 30 多个 ,但在生产中能与不同不育系组配出多个较强优势组合的恢复系不多。

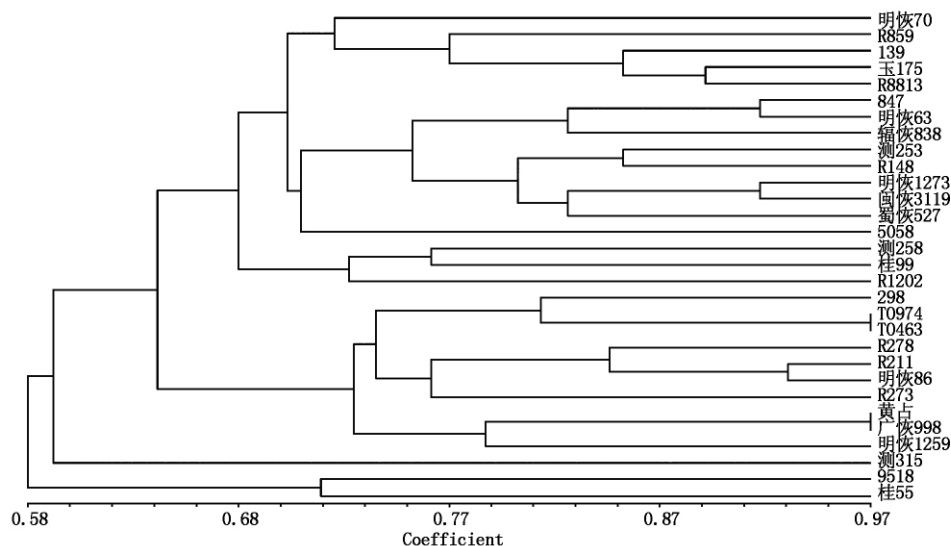


图2 供试30个水稻恢复系的聚类树状图

Fig. 2 Dendrogram of 30 rice restorer lines based on the UPGMA method

杂种优势利用的基础是通过具有遗传差异的2个亲本杂交而获得综合性状比双亲表现出优势的杂交种。研究表明,在一定范围内,杂种优势的大小主要决定于双亲的遗传差异和性状互补,差异愈大,杂种优势愈明显^[11]。而我国生产中推广的与籼型不育系组配的恢复系基本上含有来自国际水稻研究所培育出的品种或品系的遗传成分,其亲源均可追溯到IR系统和明恢63、测64-7等少数几个优良亲本。王三良等^[12]分析了我国“八五”期间通过杂交选育的18个恢复系的亲缘关系,有6个来自于测64-7,8个是明恢63后代,其他4个来自IR系统。我国“八五”期间通过杂交选育的恢复系主要来自测64-7和明恢63作亲本的杂交后代。段世华等^[13]对我国杂交水稻主要的35个恢复系的DNA多态性研究表明,在遗传相似系数0.45附近,35个恢复系可以聚为两大类群,这两大类群均含有IR系统的血缘,而作为明恢63衍生的恢复系如多系1号、辐恢838等,均与明恢63聚为一类,其系谱基本吻合。本研究表明,以遗传相似系数0.59为标准,30个恢复系材料可以聚为3个大类型,这3个类型均含有IR系统的血缘。以遗传相似系数0.71为阈值,明恢63衍生的恢复系以辐恢838和含多系1号为亲本之一的R148、明恢1273、闽恢3119等,均与明恢63聚为一类,亚群IV。而多系1号是明恢63衍生的恢复系。同样以遗传相似系数0.71为阈值,明恢86的衍生恢复系R211和明恢1259等,均与明恢86聚为一类,亚群I。由此可见,当前华南稻区常用的主要恢复系,均含有IR系统的血缘,材料之间的遗传相似系数较大,反映出华南稻区常用恢复系遗传基础狭窄、单一的问题。杂种优势的大小主要决定于双

亲的遗传差异和性状互补,因而这种遗传基础的狭窄性是限制杂交水稻发展,较难培育出更多强优势组合的重要原因之一。李云海等^[11]利用SSR标记对我国杂交水稻主要亲本进行遗传差异分析,也认为利用生产上常用的恢复系与籼型水稻雄性不育系中难发掘出超高产组合,充分利用籼粳间的遗传变异和引进外源基因将是行之有效的途径。

作为一种较为成熟的标记技术,近年来SSR标记在杂交水稻亲本的遗传多样性研究中得到了广泛应用。王胜军等^[14]利用SSR标记对41份杂交籼稻骨干亲本和部分新育成的亲本进行了类群划分,将供试材料划分为早、中熟和中、晚熟两大类群、6个亚群。邱福林等^[15]利用15对SSR引物对北方杂交粳稻骨干亲本进行了遗传差异鉴定和籼性程度分析,结果表明,29个亲本可分成5组,各组间亲本的遗传差异相对较大。华蕾等^[16]采用了40个SSR标记比较分析了151份我国常规稻主栽品种的遗传差异,发现10年间我国常规稻主栽品种丢失了一部分等位基因,认为水稻育种应加强更广泛的种质亲本的选择。在本研究我们利用SSR分子标记对华南稻区常用的30个恢复系进行遗传多样性分析,结果表明,这些恢复系材料遗传基础较为狭窄,但是桂55、9518、测315和5058与其他材料间有较大的遗传差异较大,可在强优势组合的培育中加以利用。

参考文献:

- [1] 邓国富,梁世荣,周萌,等.弱感光型优质杂交稻新组合美优1025的选育及应用[J].中国种业,2004(5):32-34.
- [2] 杨仕华,程本义,沈伟峰.我国南方稻区杂交水稻育种进展[J].杂交水稻,2004,19(5):1-5.

- [3] 刘传光, 张桂权. 用 SSR 标记分析 1949 – 2005 年华南地区常规籼稻主栽品种遗传多样性及变化趋势 [J]. 作物学报, 2010, 36(11): 1843 – 1852.
- [4] 段世华, 毛加宁, 朱英国. 用微卫星 DNA 标记对我国杂交水稻主要恢复系遗传差异的检测分析 [J]. 遗传学报, 2002, 29(3): 250 – 254.
- [5] 王颖姮, 朱永生, 吴方喜. 杂交水稻骨干恢复系的遗传多样性分析 [J]. 分子植物育种, 2009, 7(2): 279 – 282.
- [6] 施勇烽, 应杰政, 王 磊, 等. 鉴定水稻品种的微卫星标记筛选 [J]. 中国水稻科学, 2005(19): 195 – 201.
- [7] 卢扬江, 郑康乐. 提取水稻 DNA 的一种简易方法. 中国水稻科学, 1992(6): 47 – 48.
- [8] Zheng K L, Huang N, Bennett J *et al.* PCR-based marker-assisted selection in rice breeding [M] // IRRI Discussion Paper Series No. 12. Phillips, International Rice Research Institute.
- [9] Smith J S C, Chin E C L, Shu H *et al.* An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.) : comparisons with data from RFLPS and pedigree [J]. Theor Appl Genet, 1997, 95: 163 – 173.
- [10] NTSYS pc Version 2. 11Q. Copyright (C) 2000 – 2003 Applied Biostatistics Inc [Z]. New York.
- [11] 李云海, 肖 晗, 张春庆, 等. 用微卫星 DNA 标记检测中国主要杂交水稻亲本的遗传差异 [J]. 植物学报, 1999, 41(10): 1061 – 1066.
- [12] 王三良, 许 可. 我国籼型杂交水稻育种现状、问题与对策 [J]. 杂交水稻, 1996(3): 1 – 4.
- [13] 段世华, 毛加宁, 朱英国. 利用 RAPD 分子标记对我国杂交水稻主要恢复系的 DNA 多态性研究 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2001, 47(14): 508 – 512.
- [14] 王胜军, 陆作楣, 万建民. 采用表型和分子标记聚类研究杂交籼稻亲本的遗传多样性 [J]. 中国水稻科学, 2006, 20(5): 475 – 480.
- [15] 邱福林, 庄杰云, 华泽田. 北方杂交粳稻骨干亲本遗传差异的 SSR 标记检测 [J]. 中国水稻科学, 2005, 19(2): 101 – 104.
- [16] 华 蕾, 袁筱萍, 余汉勇. 我国水稻主栽品种 SSR 多样性的比较分析 [J]. 中国水稻科学, 2007, 21(2): 150 – 154.