

SSR 荧光标记毛细管电泳分析 24 个广西常规香稻品种的遗传多样性

唐梅^{1,2}, 孙富^{1,2}, 何聪^{1,2}, 卢宏琮^{1,2}, 黄鹂³, 夏秀忠¹, 唐忠平³,
钟志坚³, 陆桂耀³

1. 广西壮族自治区农业科学院水稻研究所/广西水稻遗传育种重点实验室/广西水稻优质化育种研究人才小高地, 广西南宁 530007; 2. 广西壮族自治区农业科学院种子质量检测中心, 广西南宁 530007; 3. 广西种子管理站, 广西南宁 530022

摘要: 分析香稻品种的遗传多样性和理清香稻品种之间的亲缘关系, 可为选育优质香稻品种提供参考。为分析广西审定的 24 个常规香稻品种的遗传多样性, 明确其遗传差异, 本研究利用 SSR 荧光标记毛细管电泳技术对 24 个广西常规香稻品种进行遗传多样性分析。结果表明, 48 对 SSR 引物共检测出 170 个等位基因位点; 遗传多样性参数中观测等位基因数 (N_a) 变化幅度为 1~9, 平均为 3.54; 有效等位基因数 (N_e) 的变化幅度为 1~4.5534, 平均为 2.0736, 其中有效等位基因数最高是 RM21, 其次是 RM481、RM493 和 RM258, 说明这 4 对引物有较高的检测效率; Shannon's 指数 (I) 的变化幅度为 0~1.7942, 平均为 0.7726; 多态信息含量 (PIC) 值的变化幅度为 0~0.7541, 平均为 0.3732, 属于中度多态位点, 说明 24 个广西常规香稻品种具有一定的遗传变异。24 个品种遗传相似系数范围为 0.3299~0.9600, 其中 '三香 628' 与 '农香 32' 遗传相似系数最小, 说明这 2 个品种遗传基础差异最大, 亲缘关系最远, '万香 696' 与 '广粮香 2 号' 遗传相似性系数最大, 说明这 2 个品种遗传基础差异较小, 亲缘关系接近。聚类分析结果显示 24 个广西常规香稻品种在相似系数 0.504 处可以分为 3 个大类群和 4 个亚类群, 第 I 大类 2 个品种, 第 II 大类 19 个品种, 第 III 大类 3 个品种; 第 II 大类在相似系数 0.624 处可分为 4 个亚类, 第 i 亚类 1 个品种, 第 ii 亚类 14 个品种, 第 iii 亚类 3 个品种, 第 iv 亚类 1 个品种。研究结果表明 24 个广西常规香稻品种具有一定的遗传多样性, 但不够丰富。以数字编码形式构建 24 个广西常规香稻品种的 DNA 指纹图谱。其分析结果可为广西常规香稻品种选育和鉴定提供参考。

关键词: 广西; 常规香稻; SSR 荧光标记; 毛细管电泳; 遗传多样性

中图分类号: S511 文献标识码: A

Genetic Diversity Analysis of 24 Guangxi Common Aromatic Rice Varieties by Fluorescent SSR Marker Capillary Electrophoresis

TANG Mei^{1,2}, SUN Fu^{1,2}, HE Cong^{1,2}, LU Hongcong^{1,2}, HUANG Li³, XIA Xiuzhong¹, TANG Zhongping³,
ZHONG Zhijian³, LU Guiyao³

1. Rice Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences / Guangxi Key Laboratory of Rice Genetics and Breeding / Guangxi Talent Base for Rice Breeding Research, Nanning, Guangxi 530007, China; 2. Seed Quality Testing Center, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China; 3. Guangxi Seed Association, Nanning, Guangxi 530022, China

Abstract: The analysis of the genetic diversity of aromatic rice varieties and clarification of the genetic relationship of aromatic rice varieties can provide references for breeding high-quality aromatic rice varieties. 24 conventional aromatic rice varieties approved in Guangxi was used in the study. The genetic diversity of the varieties was analyzed by SSR fluorescence labeled capillary electrophoresis in this study. The results showed that a total of 170 alleles were detected

收稿日期 2022-04-24; 修回日期 2022-07-11

基金项目 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD20159088); 广西农业科学院基本科研业务专项 (桂农科 2020YM71); 广西农业科学院稳定资助科研团队项目 (桂农科 2021YT034)。

作者简介 唐梅 (1979—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 水稻品种的真实性和纯度鉴定, E-mail: tangmei@gxaas.net。

by 48 SSR primers. The number of alleles (N_a) varied from 1 to 9, with an average of 3.54. The range of effective allele number (N_e) ranged from 1 to 4.5534, with an average of 2.0736. The highest effective allele number was RM21, followed by RM481, RM493 and RM258. Four pairs of primers had high detection efficiency. Shannon's index (I) ranged from 0 to 1.7942 with an average of 0.7726. The variation range of polymorphic information content (PIC) ranged from 0 to 0.7541 with an average value of 0.3732, indicating that the 24 varieties had certain genetic variation. The genetic similarity coefficient of the 24 varieties ranged from 0.3299 to 0.9600, among which the genetic similarity coefficient of 'Sanxiang 628' and 'Nongxiang 32' was the lowest, indicating that the genetic basis difference of the two varieties was the greatest and the genetic relationship was the furthest. The genetic similarity coefficient of 'Wanxiang 696' and 'Guangliangxiang 2' was the greatest, indicating that the genetic basis difference of the two varieties was small and the genetic relationship was close. Cluster analysis showed that the 24 cultivars could be divided into three large groups and four subgroups at the similarity coefficient of 0.504. There were two varieties in the I category, 19 varieties in the II category and 3 varieties in the III category. Category II could be divided into 4 subclasses at the similarity coefficient of 0.624, including 1 variety in Subclass i, 14 varieties in subclass ii, 3 varieties in subclass iii, and 1 variety in subclass iv. The results showed that there was a certain genetic diversity in the 24 varieties, but it was not rich enough. The DNA fingerprints of the 24 varieties were constructed in the form of digital coding. The results could provide references for breeding and identification of conventional aromatic rice varieties in Guangxi.

Keywords: Guangxi; conventional aromatic rice; fluorescent SSR marker; capillary electrophoresis detection; genetic diversity

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.03.007

随着近年来消费者对稻米品质要求的不断提高,优质香稻品种以饭香浓郁和营养丰富等优异品质越来越受到市场的青睐。从 1980 年我国开始进行香稻育种,目前已经育成一批优质香稻品种^[1]。广西在 2000 年以来也相继育成了‘八桂香’^[2]、‘田东香’^[3]、‘玉香占’^[4]、‘三香 628’^[5]等香稻品种。但由于广西自育香稻品种的优质米达标率低、产量低和抗病性差等原因,推广的香稻品种数量和质量满足不了市场需求^[6]。为了满足当前消费者对稻米品质好闻、好吃、好看、高营养的理想追求,因此广西加快了优质常规香稻新品种的审定。而在香稻育种中,有香味基因的亲本来源较少,且遗传背景较近,从而使得香稻品种的遗传多样性较低^[1]。通过对香稻品种的遗传多样性进行分析,理清香稻品种的亲缘关系,加强香稻品种的遗传特性研究,可为选育广西优质香稻品种提供技术参考。

DNA 分子标记技术分析水稻品种遗传多样性是目前应用最广泛的手段之一,其中简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)标记数量丰富、多态性好、稳定性高、操作方便,可利用 SSR 标记对香稻进行遗传多样性分析^[7-13]。唐傲等^[9]利用 60 个 SSR 标记对国内外 370 份香稻材料的遗传多样性进行了比较分析,结果发现参试材料可分为籼粳两大类。朱勇良等^[10]利用 40 对 SSR 引物对

太湖稻区和国内其他地区的 39 个香稻品种进行遗传多样性分析,试验结果基本反映了不同品种间的亲缘关系。赵凤民等^[13]用 50 对 SSR 分子标记对 42 份黑龙江省香稻种质资源进行遗传多样性研究,结果说明香稻资源的区域特征明显,各类群中的香稻资源亲缘关系较近。

聚丙烯酰胺凝胶电泳检测的方法步骤繁多,耗时耗力且灵敏度低。而 SSR 荧光标记毛细管电泳技术可直接读取目的片段准确大小,大大降低了分辨扩增产物的难度,提高了研究的效率和准确性。利用 SSR 荧光标记毛细管电泳技术用于香稻特别是涉及广西常规香稻品种遗传多样性的研究还未见报道。本研究采用 SSR 荧光标记毛细管电泳检测技术,利用 48 对 SSR 分子标记对广西审定的 24 个常规香稻品种进行遗传多样性分析,以期分析广西常规香稻品种间的遗传多样性,阐明广西常规香稻的遗传多样性特点,为广西常规香稻品种的遗传基础拓展、品种选育和鉴定提供技术参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

以通过广西审定的 24 个常规香稻品种为材料(表 1)。种子由广西壮族自治区种子管理站提供。

1.2 方法

1.2.1 广西常规香稻品种 DNA 的提取 将香稻种子发芽 7 d 后, 剪取新鲜叶片, 采用 CTAB 法提取幼苗叶片中的 DNA。

1.2.2 SSR 荧光引物及 PCR 反应 48 对 SSR 核心标记引物由农业行业标准 (NY/T 1433—2014) 推荐, 荧光引物由上海生工生物公司合成。12 μL 的 SSR 反应体系包括 2 \times PCR Master Mix 5 μL , ddH₂O 5 μL , 上下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.5 μL , DNA 模板 1 μL 。PCR 反应在 T100 PCR 仪 (BIO-RAD, USA) 上进行, PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 10 $^{\circ}\text{C}$ 保温。

1.2.3 产物分析 取 PCR 产物 0.3 μL 、分子量内标 0.5 μL 和去离子甲酰胺 9.5 μL 混合加入 PCR 板, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min, 迅速冷却到 4 $^{\circ}\text{C}$ 后离心, 在 ABI3730XL DNA 遗传分析仪上进行毛细管电泳, 并用 Data Collection 软件收集电泳原始数据。

1.3 数据处理

利用 Genemapper 软件分析原始数据, 计算扩增片段大小。按照毛细管电泳迁移位置, 用 1 和 0 分别代表检测到扩增片段的有无, 建立原始数据表。利用 POPGENE 1.32 软件统计观测等位基因数 (N_a)、Shannon's 信息指数 (I)、有效等位基因数 (N_e), 利用 NTSYS 2.10e 软件对各品种进行遗传相似性分析, 采用 UPGMA (unweighted pair group method with average) 法对各品种进行聚类分析, 利用 PIC-CAL 计算多态信息含量 (PIC)。

表 1 试验材料信息
Tab. 1 Materials information

编号 No.	品种 Variety	审定年份 Approval year	亲本 Parent	选育单位 Breeding unit
1	八桂香	2000	桂 713 \times 中繁 21	广西农科院水稻研究所
2	早香一号	2001	早 3 \times 壮香	广西农业科学院水稻研究所
3	桂香 2 号	2004	八桂香 \times 粤香占	广西农业科学院水稻研究所
4	玉香占	2004	281 号 \times 西山香	玉林市农业科学研究所
5	百香 139	2007	早香 18/包选 2 号 \times IR36	南宁百农科技发展有限公司
6	桂莱香 1 号	2008	茉莉香占 \times 早桂 1 号	玉林市农业科学研究所
7	丝香 1 号	2008	丝苗香 \times 西山香/桂 99	玉林市农业科学研究所
8	桂香 3 号	2009	万家香 \times 闻香占	广西农业科学院水稻研究所
9	柳丰香占	2009	丰八占变异株	柳州市农业科学研究所
10	家福香 1 号	2009	桂丝占 \times 丰华占	玉林市农业科学研究所
11	三香 628	2011	闻香占 \times 七桂占	广西农业科学院水稻研究所
12	兆香 1 号	2011	特籼丝苗 \times 97 香占	广西兆和种业有限公司
13	美香新占	2018	美香占 2 号变异	江西兴安种业有限公司, 深圳市金谷美香实业有限公司
14	万香 696	2019	桂 R106 \times 05 占/马坝香占	广西万禾种业有限公司, 南宁市金桂禾农作物研究所, 广西皓凯农作物研究所选育
15	广粮香 2 号	2019	田东香 \times 早香 1 号	广西粮发种业有限公司, 广西农业科学院水稻研究所
16	粮发香丝	2019	黄壳香占 \times 野丝占	广西恒茂农业科技有限公司, 广西粮发种业有限公司, 南宁市恒茂种业科学院
17	万千香占	2020	越南北七香占 \times 田东香占	广西万千种业有限公司
18	万泰香占	2020	泰国丝苗 \times 田东香	广西万川种业有限公司, 广西农业科学院水稻研究所
19	农香 32	2020	AF6-82/R80 \times 三合占/农香 16	湖南省水稻研究所
20	桂野香占	2020	野香占 \times 柳香占	广西农业科学院水稻研究所
21	桂香 99	2020	巴太香占 \times 象牙香占	广西农业科学院水稻研究所
22	桂丰香占	2020	柳丰香占 \times 玉香油占	广西农业科学院水稻研究所
23	桂香 18	2020	美香占 2 号 \times 象牙香占	广西农业科学院水稻研究所
24	广粮香占	2020	黄壳香占 \times 百香 139	广西粮发种业有限公司

2 结果与分析

2.1 48 对 SSR 标记的多态性分析

本研究利用覆盖水稻 12 条染色体的 48 对 SSR 引物对 24 个广西常规香稻品种进行等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、Shannon's 指数 (I) 和多态信息含量值 (PIC) 检测 (表 2)。结果表明, 48 个 SSR 位点在 24 个广西常规香稻品种中检测到 170 个等位基因, 等位基因数 (N_a) 的变化幅度为 1~9 个, 平均为 3.54 个, 说明这些引物可适于 24 个广西常规香稻品种的遗传多样性检测。有效等位基因数 (N_e) 的变化幅度为

1~4.5534, 平均为 2.0736, 其中有效等位基因数最高是 RM21, 其指数为 4.5534, 其次是 RM481、RM493 和 RM258, 其指数分别为 4.5000、4.4825 和 4.1739。说明这 4 对引物有较高的检测效率。Shannon's 指数 (I) 的变化幅度为 0~1.7942, 平均为 0.7726。多态信息含量 (PIC) 大于 0.50 的位点为高度多态位点, 在 0.25~0.50 为中度多态位点, 小于 0.25 时为低度多态位点^[14]。24 个广西常规香稻品种的 PIC 值的变化范围为 0~0.7541, 平均为 0.3732, 属于中度多态位点, 说明 24 个广西常规香稻品种具有一定的遗传变异。

表 2 48 对 SSR 标记的遗传多样性
Tab. 2 Genetic diversity of 48 pairs of SSR primers

标记 Maker	N_a	N_e	I	PIC	标记 Maker	N_a	N_e	I	PIC
RM583	3	2.5543	1.0130	0.5373	RM493	7	4.4825	1.6226	0.7419
RM71	5	2.3086	1.1299	0.5324	RM561	2	1.0868	0.1732	0.0767
RM85	2	1.0868	0.1732	0.0767	RM8277	3	1.9862	0.7924	0.4080
RM471	4	2.0246	0.9010	0.4415	RM551	4	1.4750	0.6417	0.2985
RM274	2	1.6528	0.5841	0.3169	RM598	3	1.9692	0.8435	0.4347
RM190	2	2.0000	0.6931	0.3750	RM176	1	1.0000	0.0000	0.0000
RM336	5	1.8491	0.9036	0.4198	RM432	2	1.7041	0.6036	0.3278
RM72	5	2.7560	1.1996	0.5777	RM331	2	1.0868	0.1732	0.0767
RM219	8	3.8658	1.6117	0.7049	OSR28	2	1.1803	0.2868	0.1411
RM311	5	3.5015	1.3698	0.6678	RM590	3	1.1852	0.3446	0.1504
RM209	4	2.1138	0.9772	0.4791	RM21	7	4.5534	1.6749	0.7488
RM19	2	1.0868	0.1732	0.0767	RM3331	3	1.1840	0.3337	0.1480
RM1195	3	1.7067	0.7004	0.3563	RM443	2	1.0425	0.1013	0.0399
RM208	5	2.7759	1.2228	0.5821	RM490	3	1.4638	0.5819	0.2864
RM232	5	3.7282	1.4579	0.6933	RM424	4	1.5484	0.7097	0.3301
RM119	4	1.4205	0.6309	0.2827	RM423	2	1.1327	0.2338	0.1103
RM267	3	2.0105	0.7619	0.3956	RM571	3	2.5714	1.0114	0.5355
RM253	2	1.0425	0.1013	0.0399	RM231	2	1.4922	0.5117	0.2754
RM481	9	4.5000	1.7942	0.7541	RM567	2	1.1327	0.2338	0.1103
RM339	1	1.0000	0.0000	0.0000	RM289	6	2.2027	1.1515	0.5147
RM278	4	1.7143	0.8370	0.3929	RM542	2	1.9862	0.6897	0.3733
RM258	5	4.1739	1.5066	0.7214	RM316	3	1.8113	0.7781	0.3968
RM224	5	1.8701	0.9401	0.4319	RM332	3	2.9018	1.0820	0.5817
RM17	3	2.2677	0.9070	0.4704	RM7102	3	2.3415	0.9222	0.4788
总计	170	99.5311	37.0868	17.9122	平均值	3.54	2.0736	0.7726	0.3732

2.2 遗传相似性分析

使用 NTSYS 2.10 软件计算 24 个广西常规香稻品种的遗传相似性系数 (表 3), 由表 3 可知, 24 个品种的遗传相似系数介于 0.3299~0.9600 之

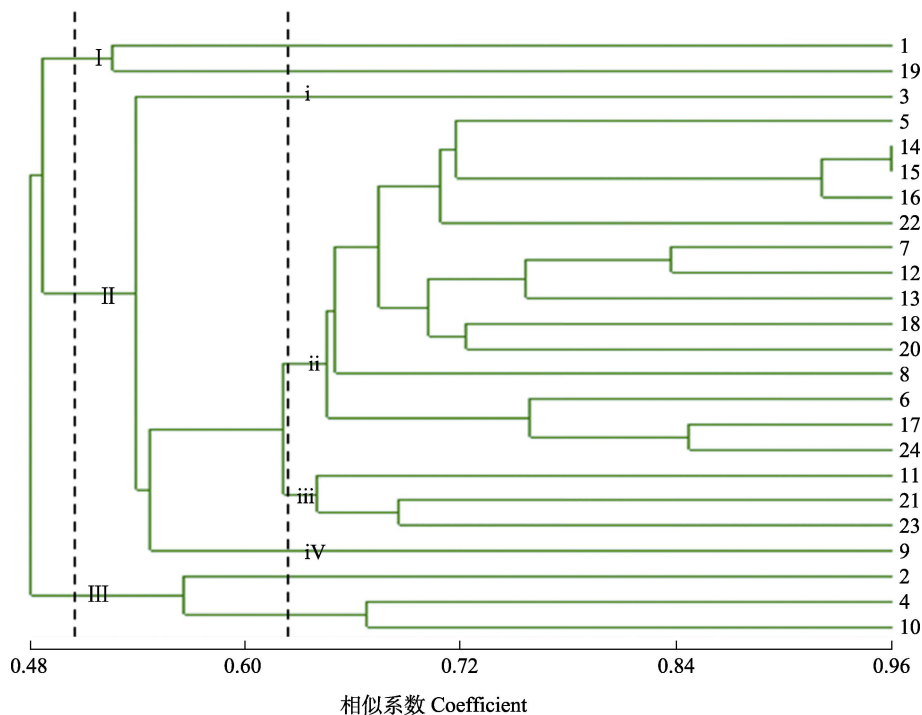
间, 平均值为 0.5790, 其中 '三香 628' (11) 与 '农香 32' (19) 遗传相似系数最小, 为 0.3299, 说明这 2 个品种遗传基础差异最大, 亲缘关系最远; '万香 696' (14) 与 '广粮香 2 号' (15)、'万

香 696' (14) 与 '粮发香丝' (16)、'广粮香 2 号' (15) 与 '粮发香丝' (16) 之间的遗传相似性系数大, 其数值分别为 0.9600、0.9293 和 0.9216, 说明这几个品种遗传基础差异较小, 亲缘关系接近。

2.3 聚类分析

在遗传相似性系数的基础上采用 UPGMA 法对 24 个广西常规香稻品种进行聚类分析 (图 1), 在遗传相似性系数 0.504 处分为三大群类。第 I 大类包括 '八桂香' (1) 和 '农香 32' (19) 2 个品种, 说明这 2 个品种遗传背景较为接近; 第 III

大类包括 '早香一号' (2)、'玉香占' (4) 和 '家福香 1 号' (10) 3 个品种, 说明这 3 个品种具有相近的遗传背景, 与其他品种遗传关系较远; 其余 19 个品种被分到第 II 大类。进一步遗传分析表明, 第 II 大类在遗传相似性系数 0.624 处又可分为 4 个亚类, 第 i 亚类只有 '桂香 2 号' (3) 1 个品种; 第 iii 亚类有 '三香 628' (11)、'桂香 99' (21) 和 '桂香 18' (23) 3 个品种; 第 iv 亚类只有 '柳丰香占' (9) 1 个品种; 剩余 14 个品种划分到第 ii 亚类。本研究基本反映了 24 个常规香稻品种的亲缘关系。



1~24 为对应表 1 的品种编号。

1-24 are variety number corresponding to Tab. 1.

图 1 24 个广西常规香稻品种 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA cluster analysis of 24 aromatic rice varieties in Guangxi

2.4 SSR 指纹图谱的构建

从 48 对标记中筛选出 14 对等位基因数、基因多样性指数、Shannon's 指数和 PIC 值较高的标记, 根据检测到的引物等位基因差异, 建立 24 个广西常规香稻品种的指纹图谱。对 14 个标记的扩增片段按分子量大小排列, 并进行数字编码 (表 4)。按表 4 顺序将 14 对标记对应的编码组合, 每个品种可得到唯一的数字编码, 组成每个品种的 DNA 指纹图谱 (表 5)。如 '三香 628' (11) 的 SSR 指纹编码如下, 毛细管电泳检测到 14 个标记

在 '三香 628' (11) 中的扩增片段大小 (bp) 为 192/192、148/148、169/169、194/194、170/170、179/179、162/162、147/147、136/136、263/263、148/148、186/186、106/106、164/164, 转换成 28 位的指纹数字代码为 1122 5511 2244 4411 3366 3333 3311, 其中第 1、第 2 位的 "1、1" 表示标记 RM583 在 '三香 628' (11) 中的扩增片段 (192/192) 在其多态性片段中 2 个片段排第 1 位, 第 3、第 4 位的 "2、2" 表示标记 RM71 的 2 个扩增片段 (148/148) 在其多态性片段中 2 个片段

表 3 24 个广西常规香稻品种遗传系数
Tab. 3 Genetic distance and genetic similarity coefficient of 24 conventional aromatic rice variety of Guangxi

编号 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
2	0.4486	-																							
3	0.4118	0.5347	-																						
4	0.4706	0.6337	0.5208	-																					
5	0.5234	0.5283	0.5149	0.5149	-																				
6	0.5000	0.3964	0.5283	0.4528	0.6486	-																			
7	0.5049	0.4706	0.5155	0.4948	0.6078	0.6168	-																		
8	0.4587	0.4444	0.5243	0.4660	0.6111	0.6372	0.6731	-																	
9	0.5049	0.3529	0.4948	0.3918	0.5098	0.6729	0.5510	0.5385	-																
10	0.4902	0.4950	0.4792	0.6667	0.4950	0.3774	0.5979	0.4466	0.3918	-															
11	0.4510	0.4356	0.5000	0.4792	0.5941	0.6038	0.7423	0.5825	0.4330	0.5000	-														
12	0.4854	0.4314	0.4948	0.5361	0.6078	0.6916	0.8367	0.6923	0.5918	0.4742	0.6598	-													
13	0.4660	0.3725	0.4948	0.5361	0.5882	0.5981	0.7143	0.6923	0.6122	0.4536	0.5773	0.7959	-												
14	0.4902	0.4950	0.6250	0.5208	0.7327	0.6792	0.7010	0.6796	0.4948	0.5000	0.6667	0.7010	0.6804	-											
15	0.5094	0.5143	0.6200	0.5400	0.7429	0.6909	0.7129	0.6729	0.4950	0.5200	0.6400	0.7129	0.6931	0.9600	-										
16	0.5333	0.4808	0.6061	0.4848	0.6731	0.6606	0.7800	0.6604	0.5200	0.5455	0.6869	0.7600	0.6800	0.9293	0.9126	-									
17	0.5505	0.4259	0.5049	0.5243	0.6111	0.7611	0.6346	0.6000	0.5962	0.4660	0.5825	0.6346	0.5962	0.6796	0.6415	0.6415	-								
18	0.5490	0.4950	0.6042	0.6458	0.6139	0.6604	0.6598	0.5825	0.5155	0.4583	0.5833	0.7216	0.6598	0.7083	0.7400	0.6667	0.6214	-							
19	0.5243	0.3922	0.5155	0.5361	0.5098	0.4673	0.4082	0.4231	0.4694	0.4536	0.3299	0.4082	0.4694	0.4536	0.4752	0.4000	0.5385	0.4948	-						
20	0.5437	0.4902	0.5567	0.5773	0.5882	0.6168	0.7347	0.6538	0.5510	0.5155	0.6186	0.7347	0.6939	0.7010	0.6931	0.7200	0.6346	0.7216	0.4694	-					
21	0.5333	0.4034	0.5614	0.4561	0.6555	0.6774	0.6783	0.5950	0.5913	0.5088	0.6316	0.6609	0.5913	0.6667	0.6780	0.6838	0.6116	0.6316	0.5217	0.5913	-				
22	0.5294	0.4554	0.5208	0.5417	0.6931	0.6604	0.6186	0.5631	0.5155	0.5208	0.6667	0.7010	0.5773	0.7292	0.7000	0.7071	0.6019	0.6458	0.5155	0.6392	0.6667	-			
23	0.5524	0.4423	0.5253	0.4444	0.5385	0.5321	0.6800	0.6226	0.5000	0.4848	0.6465	0.6000	0.5200	0.6061	0.5825	0.6078	0.5849	0.6263	0.4200	0.6000	0.6838	0.5253	-		
24	0.5273	0.4220	0.4808	0.4615	0.6606	0.7544	0.6476	0.6667	0.5714	0.4423	0.6346	0.6476	0.5905	0.7308	0.7222	0.6916	0.8468	0.5962	0.4952	0.6095	0.6230	0.5962	0.5607	-	

注: 1~24 为对应表 1 的品种编号。
Note: 1~24 are variety number corresponding to Tab. 1.

表 4 14 个标记的多态性片段及其编码
Tab. 4 Code of polymorphism fragments amplified by 14 markers

标记 Maker	毛细管电泳多态性片段及编码 Code of capillary electrophoresis polymorphism fragments/bp								
RM583	(1)192	(2)195	(3)198						
RM71	(1)139	(2)148	(3)151	(4)202	(5)213				
RM72	(1)154	(2)160	(3)163	(4)166	(5)169				
RM219	(1)194	(2)196	(3)198	(4)200	(5)202	(6)214	(7)216	(8)220	
RM311	(1)166	(2)170	(3)180	(4)182	(5)186				
RM208	(1)167	(2)175	(3)177	(4)179	(5)181				
RM232	(1)144	(2)150	(3)160	(4)162	(5)164				
RM481	(1)147	(2)150	(3)153	(4)156	(5)159	(6)162	(7)165	(8)168	(9)177
RM258	(1)128	(2)132	(3)136	(4)138	(5)146				
RM493	(1)212	(2)233	(3)236	(4)244	(5)251	(6)263	(7)266		
RM21	(1)126	(2)128	(3)148	(4)158	(5)160	(6)162	(7)164		
RM571	(1)180	(2)184	(3)186						
RM289	(1)88	(2)104	(3)106	(4)109	(5)110	(6)112			
RM332	(1)164	(2)167	(3)176						

表 5 基于 14 个标记构建的 24 个广西常规香稻品种 DNA 指纹图谱
Table. 5 Construction of fingerprint of 24 Guangxi common aromatic rice varieties based on 14 markers

编号 No.	标记 Maker													
	RM583	RM71	RM72	RM219	RM311	RM208	RM232	RM481	RM258	RM493	RM21	RM571	RM289	RM332
1	22	23	34	88	11	33	11	55	11	44	77	22	22	11
2	33	11	25	44	11	33	33	66	33	11	22	11	33	11
3	33	44	33	55	55	11	33	77	11	11	22	33	33	22
4	33	11	55	11	55	55	22	11	55	11	22	11	66	11
5	11	22	44	77	44	44	34	89	44	44	22	11	33	11
6	12	45	13	28	45	45	55	19	44	33	56	22	33	12
7	11	22	55	11	22	44	33	11	22	67	66	11	33	33
8	22	55	55	26	24	55	35	44	25	26	77	11	33	33
9	22	44	33	88	44	55	55	33	44	33	55	22	11	33
10	33	11	55	11	22	22	33	11	11	44	22	11	66	22
11	11	22	55	11	22	44	44	11	33	66	33	33	33	11
12	11	22	55	17	55	55	55	33	22	66	66	11	33	33
13	11	22	33	11	55	55	33	33	25	66	77	11	66	33
14	11	22	55	77	55	44	33	11	55	44	22	22	33	22
15	11	22	35	77	55	44	33	19	55	44	22	12	33	22
16	11	22	55	77	55	44	33	11	55	46	22	22	33	22
17	23	25	11	33	55	44	55	11	44	33	55	12	44	11
18	11	22	33	11	55	55	22	99	55	55	66	33	33	22
19	22	22	33	88	44	44	22	66	11	11	44	11	66	22
20	11	22	55	11	22	55	33	44	55	44	55	11	55	22
21	12	22	33	11	34	24	14	12	11	13	66	22	13	22
22	11	22	55	77	44	44	44	33	55	44	66	22	33	22
23	22	22	55	11	11	44	11	44	11	33	11	33	33	33
24	12	55	11	77	25	44	55	11	44	33	55	11	33	11

排第 2 位(表 4), 其余 24 位类推。

3 讨论

广西香稻的种植历史比较悠久^[6], 早在南宋时靖西香糯就被列为朝廷贡品, 目前仍是驰名中外的优良品种。但是由于近年来广西市场上可用的香稻品种不多, 无法满足消费者对香稻的需求。因此加快广西香稻品种的选育和推广对广西香稻产业有着十分重要的意义。而研究广西常规香稻品种的遗传多样性, 分析香稻品种之间的亲缘关系, 挖掘和利用香稻的优异基因, 可为广西优质常规香稻品种选育提供技术参考。

已有的水稻品种遗传多样性研究中, SSR 扩增产物主要由聚丙烯酰胺凝胶电泳检测^[15-17], 较难准确读出扩增片段大小, 并且整合不同试验批次和不同胶板的数据是个难题, 容易出现人为的误读或错读。SSR 荧光标记毛细管电泳检测可直接读出扩增的目标片段大小, 检测数据更为准确^[18-20], 便于遗传多样性分析数据整合及分析。

本研究利用国家农业行业标准(NY/T 1433—2014)推荐的 48 对 SSR 引物, 应用 SSR 荧光标记毛细管电泳检测技术对 24 个广西常规香稻品种进行遗传多样性, 可准确有效地分析 24 个广西常规香稻品种遗传多样性。结果表明, 在 48 个 SSR 位点上检测到等位基因数 170 个, 等位基因数变化幅度为 1~9 个, 平均为 3.54 个; 比云南地方香稻品种^[21]检测到的平均等位基因 5.44 个和黑龙江香稻^[13]检测到的平均等位基因 4.08 个低。PIC 值的变化范围为 0~0.7541, 平均值为 0.3732, 比云南地方香稻^[21]的 0.4300 和黑龙江香稻^[13]的 0.4649 低。说明广西审定的常规香稻品种的遗传背景比较接近, 其遗传多样性不够丰富。这与陈远孟等^[22]的研究结果相似。

本研究利用 NTSYS 2.10 软件计算 24 个广西常规香稻品种的遗传相似性系数, 结果显示 24 个品种的遗传相似系数介于 0.3299~0.9600 之间, 平均为 0.5790, 低于太湖地区香稻品种的 0.6400^[10], 但高于云南地区香稻的 0.4700^[21], 进一步说明广西香稻品种具有一定的遗传多样性, 但不够丰富。在遗传相似性系数的基础上采用 UPGMA 法对 24 份广西常规香稻品种进行聚类分析。结果发现在遗传相似性系数 0.504 处 24 个品种可分为三大群类, 第 I 大类包括 2 个品种, 第 II 大类包括 19 个

品种, 第 III 大类包括 3 个品种。而第 II 大类在遗传相似系数 0.624 处又可分为 4 个亚类。聚类分析结果表明, 虽然三大类群间部分品种存在一定遗传差异, 但遗传多样性还不够丰富, 其原因可能是广西香稻种质资源遗传基础较窄, 且育种单位的亲本材料遗传背景相近^[22]。因此在育种的亲本选择上可引入国内外地缘关系较远和遗传背景差异较大的香稻种质资源。

DNA 指纹图谱具有特异性, 比表型鉴定更能准确地鉴定品种(系), 可为品种选育和鉴定提供参考^[23]。本研究利用 SSR 荧光标记毛细管电泳对 24 个广西香稻品种进行 SSR 荧光标记毛细管电泳检测, 从 48 对 SSR 引物中筛选出 14 对多态性较好的 SSR 构建了 24 个广西常规香稻品种的 DNA 指纹图谱。可完全将 24 个广西常规香稻品种区别开来, 适于 24 个广西常规香稻品种的品种鉴定。本研究建立的 24 个广西常规香稻品种 DNA 指纹图谱, 可大幅提高 24 个香稻品种鉴定的准确度, 对广西香稻品种的保护具有现实意义。

虽然广西香稻品种具有一定的遗传多样性, 但由于其亲本来源较单一, 遗传基础狭窄。因此要培育更好的香稻品种或进行品种改良, 应多引进国内外丰富的香稻资源, 挖掘更多的优异基因导入到广西香稻品种中, 以拓宽广西香稻品种的遗传基础, 从而培育更好更优异的知名香稻品种, 打响广西香米品牌。本研究结果可为广西香稻品种的育种亲本选配和开发新的遗传资源提供参考。

参考文献

- [1] 胡培松, 唐绍清, 顾海华, 王晓焰. 水稻香味的遗传研究与育种利用[J]. 中国稻米, 2006(6): 1-5.
HU P S, TANG S Q, GU H H, WANG X Y. Genetic studies and breeding utilization of rice fragrance[J]. China Rice, 2006(6): 1-5. (in Chinese)
- [2] 韦善富, 李维科. 优质香稻八桂香的选育和应用[J]. 中国农学通报, 2005, 21(9): 188-189, 241.
WEI S F, LI W K. Breeding for fine quality aromatic rice Baguixiang and its application[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(9): 188-189. (in Chinese)
- [3] 黄常解. 优质稻田东香的特性及栽培[J]. 广西农业科学, 2002(5): 263.
HUANG C J. Characteristics and cultivation of high quality rice Tiandongxiang[J]. Journal of Southern Agriculture,

- 2002(5): 263. (in Chinese)
- [4] 莫振勇. 早籼优质香稻新品种玉香占的选育与应用[J]. 广西农业科学, 2004, 35(6): 453-454.
MO Z Y. Breeding and application of a new early indica high quality fragrant rice variety Yuxiangzhan[J]. Journal of Southern Agriculture, 2004, 35(6): 453-454. (in Chinese)
- [5] 唐梅, 莫海玲, 陈荣林, 孙富. 优质香稻品种三香 628 选育与推广[J]. 中国种业, 2014(3): 75-76.
TANG M, MO H L, CHEN R L, SUN F. Breeding and popularization of high quality rice variety Sanxiang 628[J]. China Seed Industry, 2014(3): 75-76. (in Chinese)
- [6] 陈传华, 李虎, 刘广林, 陈远孟, 罗群昌. 广西香稻育种现状及发展策略[J]. 中国稻米, 2017, 23(6): 117-120.
CHEN C H, LI H, LIU G L, CHEN Y M, LUO Q C. Breeding status and development strategy of fragrant rice in Guangxi province[J]. China Rice, 2017, 23(6): 117-120. (in Chinese)
- [7] 陈远孟, 张向军, 陈传华, 杨新庆, 李容柏, 李杨瑞. 用 SSR 标记分析广西香稻与南亚香稻的遗传多样性[J]. 广西植物, 2008, 28(2): 154-159.
CHEN Y M, ZHANG X J, CHEN C H, YANG X Q, LI R B, LI Y R. Assessment of genetic diversity of aromatic rice (*Oryza sativa*) from Guangxi and South Asia by using SSR markers[J]. Guihaia, 2008, 28(2): 154-159. (in Chinese)
- [8] 张涛, 郑家奎, 徐建第, 蒋开锋, 吴先军, 汪旭东. 香稻品种的遗传多样性研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(3): 625-635.
ZHANG T, ZHENG J K, XU J D, JIANG K F, WU X J, WANG X D. Genetic diversity of aromatic rice varieties based on markers of functional genes and SSR[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(3): 625-635. (in Chinese)
- [9] 唐傲, 邵高能, 焦桂爱, 罗炬, 吴建利, 唐绍清, 胡培松. 香稻资源遗传多样性的比较[J]. 遗传, 2009, 31(4): 412-419.
TANG A, SHAO G N, JIAO G A, LUO J, WU J L, TANG S Q, HU P S. Comparative assessment of SSR diversity in aromatic rice germplasm[J]. Hereditas, 2009, 31(4): 412-419. (in Chinese)
- [10] 朱勇良, 谢裕林, 黄凌哲, 吴建祥, 乔中英, 王建平, 黄荫, 陈培峰. 太湖稻区及国内部分香稻 SSR 指纹图谱构建及遗传多样性初析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(4): 666-671.
ZHU Y L, XIE Y L, HUANG L Z, WU J X, QIAO Z Y, WANG J P, HUANG M, CHEN P F. Establishment of SSR fingerprint map and preliminary analysis of genetic diversity among aromatic rice from Taihu and other areas in China[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2012, 13(4): 666-671. (in Chinese)
- [11] 余亚莹, 邵高能, 圣忠华, 蒋汉伟, 贺记外, 孙园园, 蔡怡聪, 胡培松, 唐绍清. 国内外香稻资源遗传多样性研究[J]. 植物分类与资源学报, 2015, 37(6): 871-880.
YU Y Y, SHAO G N, SHENG Z H, JIANG H W, HE J W, SUN Y Y, CAI Y C, HU P S, TANG S Q. Genetic diversity of global aromatic rice varieties[J]. Plant Diversity and Resources, 2015, 37(6): 871-880. (in Chinese)
- [12] 刘之熙, 朱克永, 赵杨, 陈彦成. 5 个常规香稻品种的指纹图谱及遗传相似性分析[J]. 湖南农业科学, 2017(2): 6-9.
LIU Z X, ZHU K Y, ZHAO Y, CHEN Y C. Construction of DNA fingerprints and analysis of genetic similarity for 5 inbred aromatic rice varieties[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2017(2): 6-9. (in Chinese)
- [13] 赵凤民, 李修平, 薛菁芳, 王立楠, 马文东, 张献国, 单莉莉, 郭俊祥. 黑龙江省香稻资源遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(12): 4120-4127.
ZHAO F M, LI X P, XUE J F, WANG L N, MA W D, ZHANG X G, SHAN L L, GUO J X. Analysis of genetic diversity of aromatic rice germplasm resources in Heilongjiang province[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(12): 4120-4127. (in Chinese)
- [14] DAVID B, RAYMOND L W, MARK S, DAVIS R W. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314-331.
- [15] 从夕汉, 施伏芝, 阮新民, 张效忠, 罗志祥. 东南亚 62 个籼型水稻亲本 SSR 遗传多样性分析[J]. 核农学报, 2016, 30(5): 859-868.
CONG X H, SHI F Z, RUAN X M, ZHANG X Z, LUO Z X. Analysis of genetic diversity of 62 indica rice parents from Southeast Asia based on microsatellite marker[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2016, 30(5): 859-868. (in Chinese)
- [16] 陈越, 陈玲, 李春花, 张敦宇, 付坚, 程在全. 中国南方地区水稻资源 SSR 指纹数据库的构建及遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(19): 6502-6517.
CHEN Y, CHEN L, LI C H, ZHANG D Y, FU J, CHENG Z Q. Construction of SSR fingerprint database and genetic diversity analysis of rice resources in southern China[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(19): 6502-6517. (in Chinese)
- [17] 董俊杰, 曾宇翔, 季芝娟, 梁燕, 杨长登. 273 份水稻种质资源的遗传多样性、群体结构与连锁不平衡分析[J]. 中国水稻科学, 2021, 35(2): 130-140.
DONG J J, ZENG Y X, JI Z J, LIANG Y, YANG C D. Analysis on genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium of 273 rice germplasms[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2021, 35(2): 130-140. (in Chinese)
- [18] 程本义, 夏俊辉, 龚俊义, 杨仕华. SSR 荧光标记毛细管

- 电泳检测法在水稻 DNA 指纹鉴定中的应用[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(6): 672-676.
- CHENG B Y, XIA J H, GONG J Y, YANG S H. Application of capillary electrophoresis detection with fluorescent SSR markers in rice DNA fingerprint identification[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2011, 25: 672-676. (in Chinese)
- [19] 陆徐忠, 倪金龙, 李莉, 汪秀峰, 马卉, 张小娟, 杨剑波. 利用 SSR 分子指纹和商品信息构建水稻品种身份证[J]. 作物学报, 2014, 40(5): 823-829.
- LU X Z, NI J L, LI L, WANG X F, MA H, ZHANG X J, YANG J B. Construction of rice variety indentify using SSR fingerprint and commodity information[J]. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(5): 823-829. (in Chinese)
- [20] 翟荣荣, 叶胜海, 朱国富, 余鹏, 王俊梅, 张小明. 浙江省 10 个晚粳稻品种 SSR 指纹图谱的构建及遗传差异分析[J]. 分子植物育种, 2017, 15(3): 944-950.
- ZHAI R R, YE S H, ZHU G F, YU P, WANG J M, ZHANG X M. Establishment of SSR fingerprint map and analysis of genetic diversity among the 10 Zhejiang photo sensitive japonica rice cultivars[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(3): 944-950. (in Chinese)
- [21] 白现广, 程在全, 蔺忠龙, 吕广磊, 黄兴奇. 云南地方香稻与非香稻遗传多样性比较[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(6): 2404-2406.
- BAI X G, CHENG Z Q, LIN Z L, LYU G L, HUANG X Q. Comparison of genetic diversity between local cultivated aromatic and non-aromatic rice in Yunnan Province[J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2009, 37(6): 2404-2406. (in Chinese)
- [22] 陈远孟, 张向军, 陈传华, 李容柏, 李杨瑞. 广西非香地方栽培稻与香稻的遗传多样性比较[J]. 河南农业科学, 2007(8): 21-24.
- CHEN Y M, ZHANG X J, CHEN C H, LI R B, LI Y R. Comparison of genetic diversity between the local cultivated non-aromatic and aromatic rice in Guangxi using SSR markers[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2007(8): 21-24. (in Chinese)
- [23] 张锐剑, 常志远, 叶胜海, 叶靖, 翟荣荣, 张小明. 常规粳稻品种遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建[J]. 分子植物育种, 2020, 18(17): 5765-5775.
- ZHANG R J, CHANG Z Y, YE S H, YE J, ZHAI R R, ZHANG X M. Analysis of genetic diversity and construction of DNA fingerprint for conventional Japonica rice[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(17): 5765-5775. (in Chinese)