



东北三省 2021 年水稻审定品种的核心亲本遗传多样性与籼粳分化

刘 丹¹, 王嘉宇^{2*}, 冯章丽¹, 冯 博³, 陈温福²

(1 遵义师范学院 生物与农业科技学院, 贵州遵义 563006; 2 沈阳农业大学 水稻研究所/农业农村部东北水稻生物学与遗传育种重点实验室, 沈阳 110866; 3 遵义师范学院 资源与环境学院, 贵州遵义 563006)

摘 要: 为了阐明东北三省近年育成水稻品种的遗传基础, 该研究通过对 2021 年育成的 256 个水稻新品种的系谱进行分析, 确定了 20 个材料为育种核心亲本, 并利用 44 对多态性 SSR 分子标记和 34 对 InDel 籼粳特异性分子标记分析了它们的遗传多样性和籼粳分化程度。结果表明: (1) SSR 标记能够高效评价参试材料的多样性水平, 共检测到 130 个等位基因, 每个位点检测等位基因 (N_a) 变异为 2~5 个, 平均为 2.95 个; 基因多样性指数 (H) 变异为 0.10~0.75, 平均为 0.41; 多态性信息含量 (PIC) 变异为 0.09~0.70, 平均为 0.36。 (2) 遗传多样性分析表明, 东北三省 20 份水稻核心亲本的整体多样性水平较低, 黑龙江省核心亲本多样性略高于辽宁省和吉林省。 (3) NJ 聚类分析表明, 20 份核心亲本可以划分为 3 个类群, 分别为辽宁类群、吉林类群和黑龙江类群。 (4) 遗传结构分析表明, 20 份核心亲本可划分为 2 个稳定的类群, 其中辽宁省核心亲本均处于 A 类群, 黑龙江省核心亲本均处于 B 类群。 (5) 籼粳分化分析表明, 20 份核心亲本遗传背景均为粳稻类型, 但都含有少数籼型位点, 其籼型基因频率 F_x 在 0.01~0.19 范围内。研究认为, 东北三省水稻育种核心亲本遗传基础狭窄、使用频率较高是导致育成品种遗传多样性水平较低的可能原因, 在育种中亟待挖掘新种质、引入新资源, 丰富遗传背景。

关键词: 粳稻; 核心亲本; 系谱; 遗传多样性; 籼粳分化

中图分类号: Q789; S511.2

文献标志码: A

Genetic Diversity and *Xian-geng* Differentiation of Core Parents from 2021 Approved Rice Varieties in Northeast China

LIU Dan¹, WANG Jiayu^{2*}, FENG Zhangli¹, FENG Bo³, CHEN Wenfu²

(1 College of Biology and Agriculture, Zunyi Normal College, Zunyi, Guizhou 563006, China; 2 Rice Research Institute of Shenyang Agricultural University/Key Laboratory of Northeast Rice Biology, Genetics and Breeding of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shenyang 110866, China; 3 College of Resources and Environment, Zunyi Normal College, Zunyi, Guizhou 563006, China)

Abstract: In order to clarify the genetic basis of rice varieties bred in the three provinces of Northeast China in recent years, 20 materials were selected as the breeding core parents by analyzing the pedigree of 256 approved rice varieties which bred in 2021. And 44 SSR polymorphic markers and 34 InDel *xian-geng* specific markers were used to analyze on their genetic diversity and *xian-geng* differentiation. The results showed that: (1) all selected markers can be applied extensively for the genetic diversity level of rice. A

收稿日期: 2022-01-18; 修改稿收到日期: 2022-05-09

基金项目: 遵义师范学院博士基金(遵师 BS[2019]45 号); 遵义市科技局、遵义师范学院联合科技研发项目(遵市科合 HZ 字[2020]11 号, 遵市科合 HZ 字[2020]18 号); 遵义师范学院“2021 年学术新苗培养及创新探索”培育项目(遵师 XM[2021]1 号-8); 赤水河流域动物资源保护与应用研究特色重点实验室 2021 年度开放课题(黔教合 KY 字[2013]111-09 号)

作者简介: 刘 丹(1984—), 男, 博士研究生, 副教授, 主要从事水稻种质资源利用研究。E-mail: danlius@163.com

* 通信作者: 王嘉宇, 研究员, 博士生导师, 主要从事水稻分子设计育种研究。E-mail: wangjiayu@syau.edu.cn; ricewjy@126.com

total of 130 alleles were detected between these varieties, and the alleles (N_a) per locus ranged from 2 to 5 with the mean value of 2.95. The gene diversity indices (H) varied from 0.10 to 0.75 with an average of 0.41. The polymorphism information content (PIC) was changed from 0.09 to 0.70 with the average of 0.36. (2) Genetic diversity analysis showed that the overall diversity level of the test materials in Northeast China at a lower level, and the diversity of the core parents in Heilongjiang was slightly higher than that in Liaoning and Jilin. (3) The NJ cluster analysis indicated that all tested materials could be divided into three groups, such as Liaoning group, Jilin group and Heilongjiang group. (4) The genetic structure analysis showed that the 20 core parents could be divided into two stable groups. The core parents of Liaoning Province were in group A, and the core parents of Heilongjiang Province were in group B. (5) Analysis of *xian-geng* differentiation found that the 20 materials were *geng* type, but all of these materials contained a few number of *xian* loci, and the *xian* gene frequency (F_x) range was 0.01–0.19. Studies have shown that the possible reasons for the low level of genetic diversity of breeding varieties is the narrow genetic basis and high utilization frequency of breeding core parents in the three provinces of Northeast China. It is urgent to excavate new germplasm, introduce new resources in breeding to broaden the genetic background.

Key words: *geng* rice; core parents; pedigree; genetic diversity; *xian-geng* differentin

核心亲本在品种的更替过程中起重要的推动作用,它们具有使用频率高、综合性状好的特点,利用它们作为亲本容易培育出性状优良的新品种。近年来,随着种业保卫战和种子“卡脖子”问题的提出,研究核心亲本的形成和利用过程,分析核心亲本的遗传背景已成为农业领域的研究热点。目前,前人已经对马铃薯^[1]、大豆^[2]、甘薯^[3]、油菜^[4]等农作物核心亲本的演化和利用开展了相关研究,但至今为止有关东北三省粳稻核心亲本的系统研究报道相对较少。

东北三省是中国优质粳稻的主产区,水稻种植面积占中国粳稻总面积的 50% 以上^[5],培育出优良粳稻新品种对保障国家粮食安全意义重大。尽管相关数据统计表明^[6],近三年来,东北三省共审定水稻新品种 628 个,品种审定数量很大,但同质现象严重,大部分品种的推广应用率低,缺乏具有突破性的主导新品种。核心亲本的遗传多样性是影响能否育成突破性品种的关键。遗传多样性越丰富,物种对环境变化的适应能力越强^[7],用于选育新品种的潜力就越大。已有的研究表明,东北三省水稻育成品种的血缘关系比较集中,遗传基础狭隘,大部分材料具有相同的遗传背景^[8–11],但对相关的育种核心亲本的遗传多样性水平还知之甚少。因此,深入分析东北三省水稻育种核心亲本的遗传关系,有效拓宽东北三省水稻杂交亲本的遗传基础,对于育成突破性新品种已势在必行。

开展亚种间杂交,引入籼稻血缘,为拓宽粳稻遗传背景提供了新途径。Sun 等^[12]和高虹等^[13]研究认为籼稻血缘为中国粳型超级稻增产做出了重要贡献。刘丹等^[14]研究结果表明,15 份东北三省育成的粳型超级稻品种均含有一定的籼型血缘。然而,

目前对籼稻血缘在东北育种核心亲本基因组所占比重和利用固定区域都不明确。因此,量化东北粳稻核心亲本的血缘组成,对于充分发挥籼粳亚种间杂种优势,精准改良育种核心亲本,丰富东北稻区粳稻遗传基础具有重要的参考价值。目前,随着分子生物学的快速发展,利用分子标记从 DNA 水平上进行遗传基础解析已成为一种重要技术手段。为了更深入地从分子层面剖析水稻的籼粳遗传分化,研究者们根据籼粳稻亚种间的基因组序列差异,开发出了不同类型的分子标记^[15–19],其中 InDel 分子标记属于共显性标记,具有简单、高效、可重复性好的特点,已广泛应用于水稻的籼粳分化研究。

本研究通过对 2021 年东北三省审定水稻新品种的系谱进行分析,确定 20 份育种材料为核心亲本,并利用 SSR 标记和 InDel 标记对其遗传多样性和籼粳分化进行研究,研究结果旨在为东北地区粳稻育种的核心亲本保护、选择和利用提供重要参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验以从东北三省 2021 年审定的 256 个水稻新品种的系谱分析中筛选出的 20 份育种核心亲本为材料,其中辽宁省核心亲本 6 份,吉林省核心亲本 5 份,黑龙江省核心亲本 9 份,详细信息如表 1。

1.2 水稻基因组 DNA 提取

在田间每份参试材料选取一个单株,于抽穗期取剑叶叶片装于自封袋,置于冰盒中带回实验室备用。取出一片叶去掉叶脉后剪碎,装于 2 mL 离心管,加入钢珠,利用细胞震荡破碎仪进行细胞破碎,然后采用 2% CTAB 法提取 DNA,操作步骤参照 Doyle 等^[20]。

1.3 分子标记选择及检测

试验选取覆盖水稻 12 条染色体上的 78 对引物进行分析,包括来源沈阳农业大学水稻研究所的 44 对 SSR 多态性引物和 34 对 InDel 粳梗特异性引

物^[16],引物委托北京六合华大基因合成。PCR 扩增体系为 15 μ L,包含 DNA(20 ng/L)2 μ L,前后引物各 2 μ L,2 $\times$ Mix 混合体系 7.5 μ L,ddH₂O 1.5 μ L。SSR 引物 PCR 扩增程序为:94 $^{\circ}$ C 5 min,94 $^{\circ}$ C 40 s,

表 1 试验材料相关信息

Table 1 Relative information of experimental materials

编号 No.	材料名称 Materials name	系谱 Pedigree	地区来源 Origin	培育单位 Bred unit	审定时间 Release time
1	辽梗 5 Liaogeng 5	丰锦////矮脚南特/Bada//藤坂 5 号////矮脚南特/Bada//越路早生////沈苏 6 号 Toyonishiki////Aijiaonantie/Bada//Tengban 5 ///Aijiaonantie/Bada//Yueluzaosheng////Shensu 6	辽宁省 Liaoning Province	辽宁省沈阳市浑河农场 Shenyanghunhe Farm of Liaoning	1981
2	辽梗 454 Liaogeng 454	辽梗 326/84-240 Liaogeng 326/84-240		辽宁省稻作研究所 Rice Research Institute of Liaoning Province	1996
3	辽星 1 Liaoxing 1	辽梗 454/沈农 9017 Liaogeng 454/Shennong 9017			2005
4	盐丰 47 Yanfeng 47	AB005S//丰锦/辽梗 5 AB005S// Toyonishiki /Liaogeng 5		辽宁省盐碱地利用研究所 Liaoning Saline-alkaline Land Utilization and Research Institute	2001
5	铁梗 7 Tiegeng 7	辽梗 207//78-T37/辽梗 244 Liaogeng 207//78-T37/Liaogeng 244		铁岭市农业科学院 Tieling Academy of Agricultural Sciences	2005
6	沈农 265 Shennong 265	辽梗 326//1308/02428 Liaogeng 326//1308/02428		沈阳农业大学 Shenyang Agricultural University	2001
7	长白 9 Changbai 9	吉梗 60 号/东北 125 Jigeng 60 /Dongbei 125	吉林省 Jilin Province	吉林省农业科学院水稻研究所 Rice Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences	1994
8	吉玉梗 Jiyugeng	恢 73/秋光 Hui 73/Akihikari			1996
9	吉梗 83 Jigeng 83	东北 141/D4-41 Dongbei 141/D4-41			2002
10	吉梗 88 Jigeng 88	奥羽 346/长白 9 Aoyu 346/Changbai 9			2005
11	长白 19 Changbai 19	吉梗 89/特优 11 Jigeng 89 /Tieyou 11			2007
12	合江 19 Hejiang 19	虾夷/合江 12//京引 58 Xiayi/Hejiang 12//Jingyin 58	黑龙江省 Heilongjiang Province	黑龙江省农业科学院水稻研究所 Rice Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences	1978
13	龙梗 10 Longgeng 10	龙花 84-106/藤系 138//雪光 Longhua 84-106/Tengxi 138//Xueguang			2000
14	龙梗 31 Longgeng 31	龙梗 13//垦稻 8 Longgeng 13 /Kendao 8			2011
15	垦稻 10 Kendao 10	富士光/合交 7811-2 Fujihikari/Hejiao 7811-2		黑龙江省农垦科学院水稻研究所 Rice Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Reclamation Sciences	2002
16	绥梗 4 Suigeng 4	莲香 1 号/合 R12-34-1//松前/吉粘 2 号 Lianxiang 1 /He R12-34-1// Matsumae/Jinian 2		黑龙江省农业科学院绥化农科所 Suihua Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences	1999
17	五优稻 1 号 Wuyoudao 1 hao	辽梗 5/合江 20 Liaogeng 5/Hejiang 20		黑龙江省农业科学院第二水稻研究所 The Second Rice Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences	1999
18	龙稻 5 Longdao 5	牡丹江 22/龙梗 8 Mudanjiang 22/Longgeng 8		黑龙江省农业科学院耕作栽培研究所 Institute of Crop Cultivation and Tillage, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences	2006
19	龙梗 21 Longgeng 21	龙交 91036-1//龙花 95-361/龙花 91-340 Longjiao 91036-1//Longhua 95-361/Longhua 91-340		黑龙江省农业科学院佳木斯水稻研究所 Jiamusi Rice Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences	2008
20	五优稻 4 号 Wuyoudao 4 hao	辽梗 5/合江 20 Liaogeng 5/Hejiang 20		黑龙江省五常市中粮美裕长粒香水稻研究所 Rice Research Institute of Zhong Liang Mei Yu Chang Li Xiang, Heilongjiang Wuchang	2009

55℃ 40 s,72℃ 1 min,32个循环,72℃ 7 min,4℃ 保存。InDel引物PCR扩增程序为:94℃ 5 min,94℃ 40 s,55℃ 45 s,72℃ 40 s,40个循环,72℃ 8 min,4℃ 保存。采用6%聚丙烯酰胺变性凝胶电泳和3%琼脂糖凝胶电泳对PCR扩增产物进行检测。

1.4 数据统计分析

以“0、1、9”统计SSR扩增带型,在相同迁移率位置上,有带记为“1”,无带记为“0”,缺失记为“9”,建立相应的数据矩阵。利用PowerMarker V3.25软件^[21]计算主要等位位点频率(Maf)、等位基因数(Na)、基因多样性指数(H)及多态性信息含量(PIC),计算频率自举树,并利用MEGA7.0.21^[22]软件进行NJ聚类分析。利用Structure 2.3.4软件^[23-24]完成参试材料的遗传结构分析,将MCMC开始时的不作数迭代设为10 000次,将不作数迭代后的MCMC迭代设为100 000次,K值设置为1~10,每个K值都独立运算了10次。根据Structure的运算结果计算ΔK值,计算公式为ΔK = mean [|L'(K)|]/sd[L(K)],根据ΔK值确定最可能的K值,数据处理和计算均在Excel2010上进行。

以“XX、GG、XG”统计InDel扩增带型,扩增产物带型以典型籼稻9311和典型粳稻‘日本晴’的带型为对照。同一位点上条带与9311带型一致的记为“XX”,与‘日本晴’带型一致的记为“GG”,杂合带型记为“XG”。参试材料的籼(粳)型基因频率F_x

(F_g)计算公式为:

籼型基因频率: $F_x = \frac{2 \sum_1^N M_{xx} + \sum_1^N M_{xg}}{2N}$

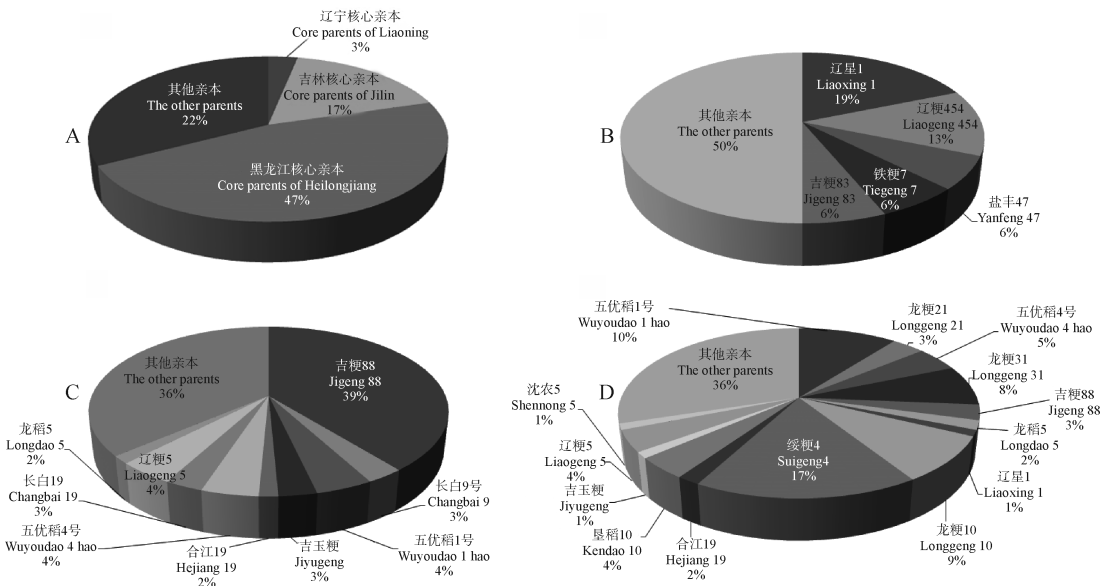
粳型基因频率: $F_g = \frac{2 \sum_1^N M_{gg} + \sum_1^N M_{xg}}{2N}$

其中M_{xx}为纯合籼稻基因型(XX)数目;M_{gg}为纯合粳稻基因型(GG)数目;M_{xg}为籼粳稻杂合基因型(XG)数目;N为所包括引物对(位点)的数目^[16]。

2 结果与分析

2.1 东北三省2021年审定水稻品种的系谱分析

根据国家水稻数据中心^[6](中国水稻品种及其系谱数据库,http://www.ricedata.cn/variety/)发布的结果,东北三省2021年审定水稻品种共256个,其中辽宁省审定水稻品种16个,吉林省审定水稻品种69个,黑龙江省审定水稻品种171个。对256份审定材料的系谱进行追溯和分析,选择出20份育种核心亲本,由它们育成的品种数量172个,占育成品种数的67%(图1,A)。选择出的20份核心亲本中,辽宁省核心亲本6个,育成品种8个,水稻品种核心亲本使用占比50.00%(图1,B);吉林省核心亲本9个,育成品种44个,水稻品种核心亲本使用占比63.77%(图1,C);黑龙江省核心亲本14个,



育成品种 120 个,水稻品种核心亲本使用占比 70.18%(图 1,D)。进一步分析发现,核心亲本‘辽星 1’、‘吉粳 88’、‘五优稻 1 号’、‘五优稻 4 号’、‘辽粳 5’、‘龙稻 5’和‘吉玉粳’这 7 个品种至少在两省份都得到利用。

2.2 SSR 扩增多态性分析

选取的 44 对 SSR 多态性引物对 20 份育种核心亲本进行扩增。共检测到 130 个等位基因,每个引物位点扩增等位基因(*N*_a)变幅为 2~5 个,平均等位基因数为 2.95 个(表 2)。主要等位位点频率(*Maf*)变幅为 0.30~0.95,平均主要等位位点频率为 0.68。基因多样性指数(*H*)变幅为 0.10~0.75,平均主要等位位点频率为 0.41。多态性信息含量(*PIC*)变幅为 0.09~0.70,平均主要等位位点频率为 0.36。由此可见,参试材料的遗传多样性水平较

低,遗传基础不够丰富。此外,引物 RM259、RM246、PSM132、RM44 以及 RM536 等位点检测到的遗传多样性参数值较大,表明这些位点能够较好地反映出参试核心亲本材料的遗传多样性。

2.3 核心亲本遗传多样性分析

东北三省水稻育种核心亲本在 44 个 SSR 位点的遗传多样性分析(表 3)显示,3 个省份核心亲本的等位基因变幅为 1.95~2.27,基因多样性指数变幅为 0.30~0.34,多态性信息含量变幅为 0.25~0.30。其中黑龙江省核心亲本的等位基因数、基因多样性指数和多态性信息含量均表现最高,表明东北三省中,黑龙江省核心育种亲本的遗传多样性最为丰富。

2.4 核心亲本聚类分析

利用 44 对多态性 SSR 分子标记的结果,根据 Nei’s 遗传距离,进行 NJ 聚类分析。20 份参试材料

表 2 SSR 多态性标记的遗传多样性信息
Table 2 Genetic diversity information of polymorphic SSR markers

位点 Locus	<i>Maf</i>	<i>N</i> _a	<i>H</i>	<i>PIC</i>	位点 Locus	<i>Maf</i>	<i>N</i> _a	<i>H</i>	<i>PIC</i>
RM495	0.95	2.00	0.10	0.09	RM125	0.70	2.00	0.42	0.33
RM1	0.85	3.00	0.27	0.25	RM408	0.95	2.00	0.10	0.09
RM283	0.60	2.00	0.48	0.36	RM152	0.75	4.00	0.41	0.38
RM259	0.60	5.00	0.60	0.56	RM25	0.75	2.00	0.38	0.30
RM312	0.95	2.00	0.10	0.09	RM44	0.40	5.00	0.69	0.64
RM5	0.40	4.00	0.69	0.63	RM223	0.30	4.00	0.75	0.70
RM246	0.40	5.00	0.71	0.65	RM284	0.65	3.00	0.49	0.41
RM237	0.95	2.00	0.10	0.09	RM433	0.80	2.00	0.32	0.27
RM154	0.75	3.00	0.40	0.35	RM447	0.70	3.00	0.45	0.38
RM327	0.45	4.00	0.63	0.55	PSM338	0.50	3.00	0.58	0.49
PSM122	0.60	3.00	0.52	0.42	RM215	0.45	4.00	0.70	0.65
RM208	0.45	3.00	0.62	0.53	PSM406	0.30	4.00	0.74	0.69
RM338	0.85	2.00	0.26	0.22	RM271	0.80	4.00	0.35	0.33
PSM132	0.40	5.00	0.72	0.67	RM171	0.90	2.00	0.18	0.16
RM55	0.90	3.00	0.19	0.18	RM484	0.55	3.00	0.57	0.48
RM514	0.85	2.00	0.26	0.22	RM20B	0.50	2.00	0.50	0.38
RM307	0.95	2.00	0.10	0.09	RM536	0.35	5.00	0.74	0.70
PSM326	0.42	3.00	0.64	0.57	RM287	0.95	2.00	0.10	0.09
RM413	0.95	2.00	0.10	0.09	RM21	0.45	4.00	0.68	0.62
RM161	0.85	2.00	0.26	0.22	RM247	0.90	2.00	0.18	0.16
RM334	0.95	2.00	0.10	0.09	RM277	0.95	2.00	0.10	0.09
RM454	0.70	2.00	0.42	0.33	Mean	0.68	2.95	0.41	0.36
RM162	0.75	3.00	0.41	0.37					

注:*Maf*. 主要等位位点频率; *N*_a. 等位基因数; *H*. 基因多样性指数; *PIC*. 多态性信息含量;下同
Note:*Maf*. Major allele frequency; *N*_a. Number of alleles; *H*. Index of gene diversity; *PIC*. Polymorphism information content; The same as below

表 3 东北三省核心亲本遗传多样性

Table 3 The genetic diversity of core parents in Northeast China

省份 Province	群体大小 Sample size	主要等位位点频率 Maf	等位基因数 N _a	基因多样性指数 H	多态性信息含量 PIC
辽宁省 Liaoning Province	6	0.77	1.95	0.30	0.25
吉林省 Jilin Province	5	0.77	1.89	0.31	0.26
黑龙江省 Heilongjiang Province	9	0.74	2.27	0.34	0.30

可分为 3 个类群,其中第Ⅰ类群材料包括 4 份材料,分别为‘吉玉粳’、‘吉梗 88’、‘吉梗 83’以及‘长白 19’,均来自于吉林省。第Ⅱ类群材料包括 10 份材料,可以再细划分为 2 个亚类群,其中第Ⅱ-1 亚群包括 5 份材料,来自于吉林省和黑龙江省,分别为‘长白 9’、‘五优稻 1 号’、‘龙稻 5’、‘五优稻 4 号’、‘龙梗 10’;第Ⅱ-2 亚群包括 5 份材料,均来自于黑龙江省,分别为‘龙梗 31’、‘龙梗 21’、‘垦稻 10’、‘合江 19’以及‘绥梗 4’。第Ⅲ类群材料包括 6 份材料,可以再细划分为 2 个亚类群,其中第Ⅲ-1 亚群包括 5 份材料,均来自于辽宁省,分别为‘铁梗 7’、‘辽梗 5’、‘沈农 265’、‘辽梗 454’、‘辽星 1’;第Ⅲ-2 亚群包括 1 份材料,为来自于辽宁省的‘盐丰 47’。由此可见,‘盐丰 47’与其他材料间亲缘关系较远,且东北三省 20 份核心亲本基本形成了各自独立的类群(图 2)。进一步对这 20 份材料的系谱进行分析(图 3),参试 20 份材料的血缘均可追溯到最早期的日本水稻材料亲本,如‘丰锦’、‘爱国’、‘黎明’、‘筐锦’、‘石狩白毛’、‘早生坊主’等。‘合江 19’和‘垦稻 10’的血缘都有一部分来自于‘合江 12’,它们具有较近的亲缘关系,这与 NJ 聚类图结果相符。

2.5 核心亲本遗传结构分析

基于 Structure2.3.4 模型,将群体数目(K)设定为 1~10,10 次重复,对参试材料进行群体遗传结构分析。由图 4 可知,当 $K=2$ 时, ΔK 值为 652.17,此处出现最大拐点,由此可以判断出 20 份核心亲本可以划分为两个稳定的类群。

当 $K=2$ 时,20 份核心亲本的遗传结构和群体组成分析(图 5)显示,20 份参试材料被划分成 A 和 B 两个类群,其中 A 类群包含 11 份材料,B 类群包含 9 份材料。进一步分析发现,参试材料中,辽宁省育种核心亲本均处于 A 类群,黑龙江省育种核心亲本均处于 B 类群,而吉林省核心亲本分布于 A 类群之中。

2.6 核心亲本的粳籼分化

利用 34 对 InDel 标记计算参试 20 份材料的粳型基因频率(F_x)。由表 4 可知,尽管 20 份核心亲本

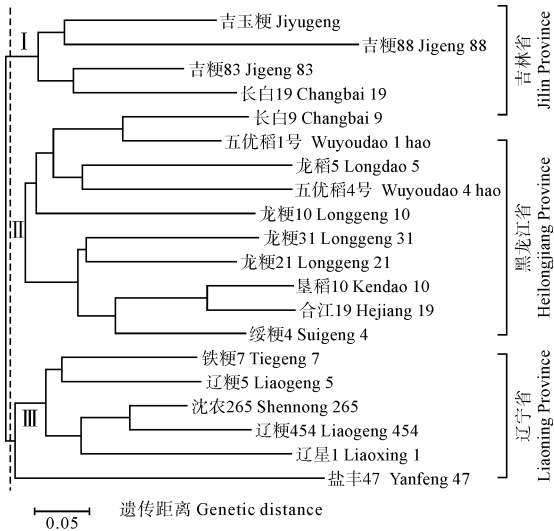


图 2 东北三省 20 份水稻核心亲本的 NJ 聚类

Fig. 2 NJ cluster of 20 rice core parents in Northeast China

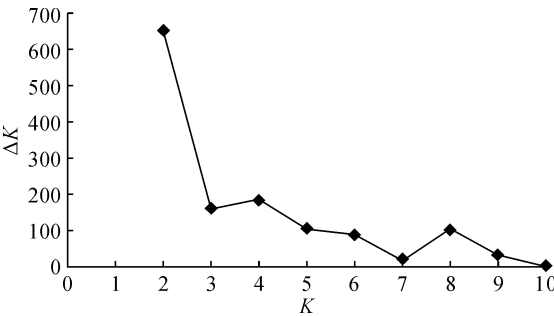


图 4 ΔK 值随亚群数 K 的变化曲线

Fig. 4 The change curve of ΔK based on the K value of subgroup numbers

遗传背景均为粳稻类型,但均含有一定的粳型血缘位点。参试材料的粳型基因频率 F_x 在 0.01~0.19 范围内,其中‘龙梗 21’的 F_x 最大为 0.19,而‘垦稻 10’的 F_x 值最小为 0.01。进一步分析东北三省不同核心亲本的粳型基因频率可知,辽宁省、吉林省、黑龙江省核心亲本粳型基因频率 F_x 平均分别为 0.07、0.08、0.05,黑龙江省核心亲本的粳型血缘位点低于辽宁省和吉林省。

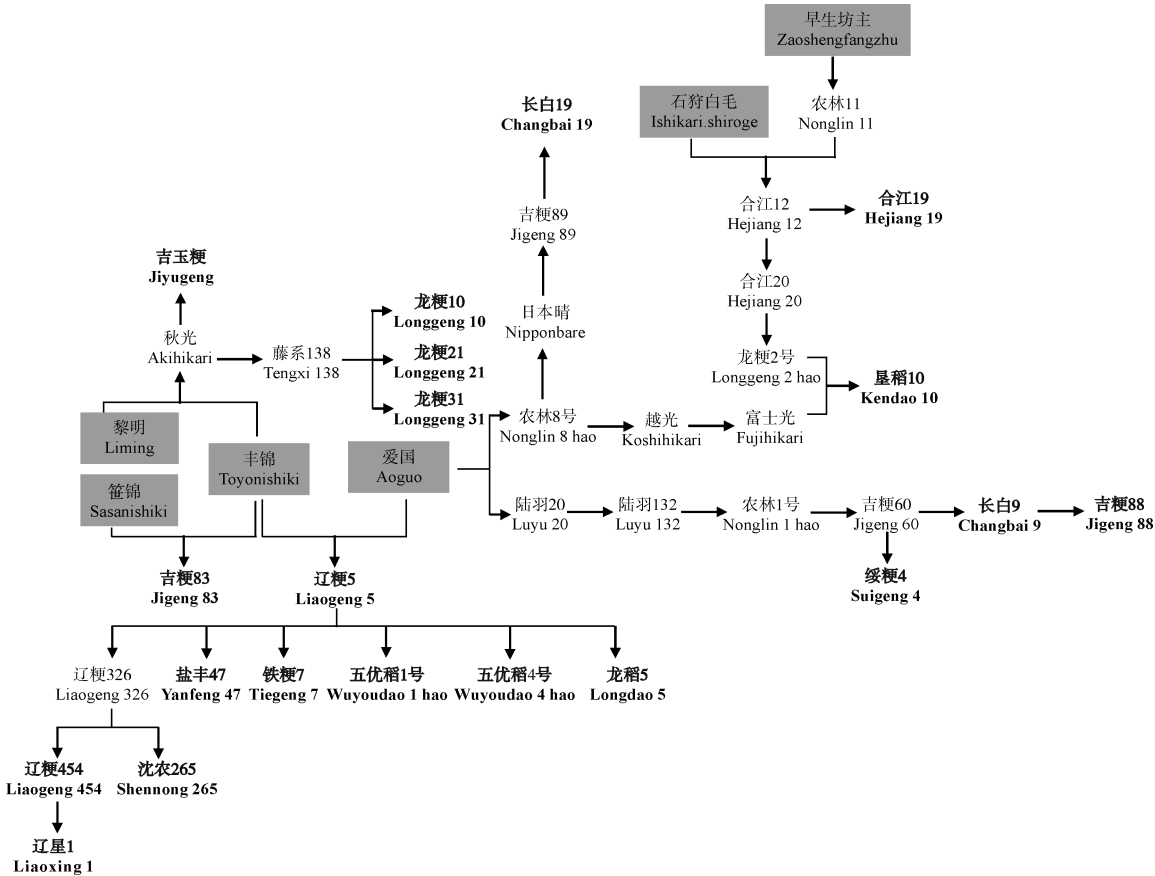
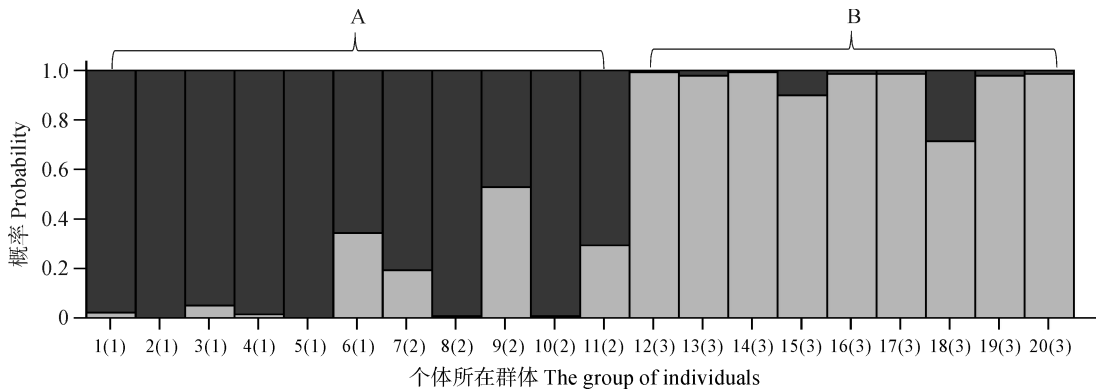


图 3 东北三省 20 份水稻核心亲本系谱
Fig. 3 Pedigree of 20 rice core parents in Northeast China



黑色条框和灰色条框分别代表 A 类群和 B 类群。(1)、(2)、(3) 分别代表辽宁省、吉林省、黑龙江省育种核心亲本
图 5 东北三省 20 份水稻核心亲本的群体结构分析

The black bars and grey bars represent A group and B group. (1), (2), (3) represent core parents of breeding in Liaoning Province, Jilin Province, Heilongjiang Province, respectively

Fig. 5 Population structure analysis on 20 rice core parents in Northeast China

3 讨 论

3.1 东北水稻核心亲本的更替

水稻品种更替对于提高产量,保证水稻生产持续增长十分必要。中国水稻育种取得了举世瞩目的

成就,水稻发展先后经历了矮化育种和杂交稻育种两次技术革命,育成的水稻品种出现了多次新品种的更新换代^[25]。程芳艳等^[26]对黑龙江省 2010~2014 年审定水稻品种的骨干亲本进行追溯,发现不同积温带常以选育品种最多的亲本作为该区最新的骨干

表 4 20 份东北水稻核心亲本的粳型基因频率			
Table 4 F_x of 20 rice core parents in Northeast China			
省份 Province	品种 Variety	粳型基因频率 F_x	平均值 Mean
辽宁省 Liaoning Province	辽星 1 Liaoxing 1	0.06	0.07
	辽粳 454 Liaogeng 454	0.03	
	盐丰 47 Yanfeng 47	0.08	
	铁粳 7 Tiegeng 7	0.06	
	沈农 265 Shennong 265	0.09	
吉林省 Jilin Province	辽粳 5 Liaogeng 5	0.07	0.08
	吉粳 83 Jigeng 83	0.15	
	吉粳 88 Jigeng 88	0.04	
	长白 9 Changbai 9	0.07	
	长白 19 Changbai 19	0.12	
黑龙江省 Heilongjiang Province	吉玉粳 Jiyugeng	0.03	0.05
	合江 19 Hejiang 19	0.04	
	五优稻 4 号 Wuyoudao 4 hao	0.04	
	绥粳 4 Suigeng 4	0.04	
	五优稻 1 号 Wuyoudao 1 hao	0.01	
	龙稻 5 Longdao 5	0.04	
	龙粳 21 Longgeng 21	0.19	
	龙粳 31 Longgeng 31	0.04	
	龙粳 10 Longgeng 10	0.04	
	垦稻 10 Kendao 10	0.01	

亲本,一些早期从日本引进的重要亲本如‘下北’、‘农林 11’和‘屈锦’等,已经退出历史舞台,而像‘富士光’、‘上育 397’和‘空育 131’等日本品种,尽管建国初期在黑龙江省水稻生产和品种选育中具有重要地位,但近年来利用率不断减小,取而代之的是自主育成的品种,如由黑龙江省农业科学院五常水稻研究所选育的优质稻品种‘五优稻 1 号’,已成为近几年利用率较高的骨干亲本。赵一洲等^[25]对辽宁省水稻骨干亲本进行分析,研究表明随着育种时间的推移,骨干亲本不断发生更替,新的骨干亲本不断产生,旧的骨干亲本不断淘汰,且亲本利用愈加向少数骨干亲本集中。本研究通过对东北三省 2021 年审定的 256 个水稻品种进行系谱分析,获得了 20 份育种核心亲本。对这些育种核心亲本的审定时间进行分析,发现 20 份材料的审定时间范围在 1978~2011 年,时间跨度大,核心亲本利用和更替周期较长。20 份核心亲本中,2000 年以来育成的品种 13 份,占比 65%,表明 2000 年以来中国东北粳稻育种也取得了阶段性成就,培育出了一些新的重要核心

亲本材料。同时,进一步分析还发现,20 份育种核心亲本分布情况为辽宁省 6 个,吉林省 5 个,黑龙江省 9 个,且其中的核心亲本‘辽星 1’、‘吉粳 88’、‘五优稻 1 号’、‘五优稻 4 号’、‘辽粳 5’、‘龙稻 5’、‘吉玉粳’这 7 个品种至少在两省中都得到利用,表明优良的品种易被多个育种单位引用作为核心育种亲本,与前人研究结果相符。这可能是导致东北三省现有品种遗传基础狭窄,品种同质性严重的一个重要原因。此外,在核心亲本的利用过程中,一个重要问题就是如何保护和鉴别品种的真伪,更好地服务于育种。曾晓珊等^[27]利用 SSR 标记构建了 27 个水稻核心亲本指纹图谱,为核心亲本的保护,品种真伪和纯度的鉴定提供了可靠依据,这也为我们下一步工作提供了思路。

3.2 东北水稻核心亲本遗传多样性

遗传多样性是进行品种资源评价的重要手段,也是水稻育种亲本选育的前提和基础。赵一洲等^[28]对辽宁省水稻骨干亲本遗传多样性进行分析,发现骨干亲本间表型变化差异较小,亲缘关系较近。李修平等^[29]对寒地水稻种质资源遗传多样性进行分析,认为参试寒地水稻种质遗传多样性较低。齐永文等^[30]对中国水稻选育品种遗传多样性及其近 50 年变化趋势进行研究,结果表明在表型、同工酶和 SSR 水平上,东北稻区粳稻品种均表现出较低的多样性。本研究结果表明,参试的东北三省 2021 年审定水稻品种的核心亲本遗传多样性较低,亲缘关系较近,这一点与前人研究结果一致。NJ 聚类 and 品种系谱分析表明,东北地区水稻育种核心亲本遗传基础狭窄以及这些核心亲本的高频率利用,可能是导致现有育成品种亲缘关系较近的主要原因之一。因此,要扩大现有品种的遗传多样性水平,根本在于丰富育种核心亲本的多样性水平,创新和挖掘新的优良核心种质资源。此外,本研究还发现东北三省水稻育种核心亲本中,以黑龙江省材料的遗传多样性略高于吉林和辽宁两省,这与李红宇等^[8]的研究结果类似,但与王海泽^[31]研究结果存在差异,分析原因可能与样本材料的类型和数量有关。

3.3 东北水稻核心亲本的粳籼分化

自 20 世纪 50 年代杨守仁在辽宁省开展粳籼杂交育种研究以来,中国东北稻区育种家利用粳籼杂交技术,在粳稻中引入籼稻血缘,拓宽东北粳稻遗传基础,培育出理想株型与优势利用相结合的超级稻品种取得了重大突破^[32-36]。由于籼稻与粳稻对温度、光照的响应存在差异,明确籼稻血缘在东北水稻

中的含量变化,对于东北粳稻中籼稻血缘的利用具有重要指导意义。刘丹等^[14]研究表明,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,且随着时间的推进,近现代以来育成品种的籼型基因频率逐渐增加。刘迪等^[37]研究也指出,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“适量”籼稻血缘的应用对今后北方粳稻育种有重要作用。本研究表明,东北三省水稻育种核心亲本存在籼粳分化,20 份参试核心亲本均为粳稻类型,但都含有籼

型血缘。对东北三省不同地区核心亲本的籼型基因频率进行分析,发现三省核心亲本籼型基因频率 F_x 大小趋势为:吉林省>辽宁省>黑龙江省,这可能与吉林省的特殊地理位置和气候条件有关。

综上所述,核心亲本在东北水稻育种工作中发挥着极其重要的作用。今后,如何更好地拓宽水稻育种核心亲本的遗传背景,挖掘新的核心亲本资源,推进品种的更替,是摆在我们面前的一项重要工作,也是解决东北水稻种子“卡脖子”技术难题的关键所在。

参考文献:

[1] 韩志刚,郝文胜,谢 锐,等. 基于全基因组重测序 SNP 标记的 148 份马铃薯种质遗传多样性分析[J]. 西北植物学报, 2021, **41**(8): 1 302-1 314.
HAN Z G, HAO W S, XIE R, *et al.* Analysis of genetic diversity of 148 potato germplasm based on SNP markers from whole genome resequencing[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, **41**(8): 1 302-1 314.

[2] 王自力,张吉顺,郭呈宇,等. 大豆 3 个核心亲本及其衍生品系基于 PAV 分子标记的亲缘关系研究[J]. 大豆科学, 2016, **35**(1): 1-10.
WANG Z L, ZHANG J S, GUO C Y, *et al.* Genetic relationship of three soybean core parents and their derived breeding lines detected by presence/absence variation markers[J]. *Soybean Science*, 2016, **35**(1): 1-10.

[3] 李 强,马代夫,刘庆昌,等. 中国北方薯区甘薯育种核心亲本初步构建与利用[J]. 西北农业学报, 2010, **19**(12): 48-52.
LI Q, MA D F, LIU Q C, *et al.* Construction and primary utilization of core parents for sweetpotato breeding in Northern China[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2010, **19**(12): 48-52.

[4] 杨 勇. 甘蓝型油菜遗传多样性分析及核心亲本的指纹图谱构建[D]. 武汉:华中农业大学, 2013.

[5] 阮俊梅,张 俊,刘猷红,等. 田间开放式增温对东北水稻氮素利用的影响[J]. 作物学报, 2022, **48**(1): 193-202.
RUAN J M, ZHANG J, LIU Y H, *et al.* Effects of free air temperature increase on nitrogen utilization of rice in Northeastern China[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2022, **48**(1): 193-202.

[6] 国家水稻数据中心,中国水稻品种及其系谱数据库, <http://www.ricedata.cn/variety/>.

[7] 季维智,宿 兵. 遗传多样性研究的原理与方法[M]. 杭州:浙江科学技术出版社, 1999: 1-7.

[8] 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.
LI H Y, HOU Y M, CHEN Y H, *et al.* Evaluation on genetic diversity of the commercial rice varieties in Northeast China by microsatellite markers[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2009, **23**(4): 383-390.

[9] LIU D, WANG J Y, WANG X X, *et al.* Genetic diversity and

elite gene introgression reveal the *Japonica* rice breeding in Northern China[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015, **14**(5): 811-822.

[10] 姜树坤,王政海,钟 鸣,等. 辽宁省近 15 年的部分水稻主栽品种的简单重复序列(SSR)多态性分析[J]. 植物生理学通讯, 2007, **43**(1): 69-72.
JIANG S K, WANG Z H, ZHONG M, *et al.* Simple sequence repeat (SSR) analysis of main rice (*Oryza sativa* L.) cultivars in Liaoning Province in the last 15 years[J]. *Plant Physiology Communications*, 2007, **43**(1): 69-72.

[11] 张 科,魏海锋,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.
ZHANG K, WEI H F, ZHUO D L, *et al.* Genetic diversity analysis of registered rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Heilongjiang Province based on SSR markers[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, **17**(3): 447-454.

[12] SUN J, LIU D, WANG J Y, *et al.* The contribution of intersubspecific hybridization to the breeding of super-high-yielding *Japonica* rice in Northeast China[J]. *Theor Appl Genet*, 2012, **125**(6): 1 149-1 157.

[13] 高 虹,林 晗,孙 健,等. 北方粳型超级稻中籼粳杂交优势贡献的分子基础[J]. 沈阳农业大学学报, 2012, **43**(4): 394-400.
GAO H, LIN H, SUN J, *et al.* Molecular basis of utilization of *Indica-Japonica* hybridization to *Japonica* super-rice breeding in North China[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2012, **43**(4): 394-400.

[14] 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.
LIU D, WANG J Y, SUN J, *et al.* Genetic components analysis on super *Japonica* rice using InDel and SSILP molecular markers[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2014, **28**(2): 148-154.

[15] 赵向前,吴为人. 水稻 ILP 标记遗传图谱的构建[J]. 遗传, 2008, **30**(2): 225-230.
ZHAO X Q, WU W R. Construction of a genetic map based on ILP markers in rice[J]. *Hereditas*, 2008, **30**(2): 225-230.

[16] 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): 628-638.
- LU B R, CAI X X, JIN X. Efficient molecular identification methods between *indica* and *japonica* rice and its significance in rice breeding and evolution research [J]. *Progress in Natural Science*, 2009, **19**(6): 628-638.
- [17] 蔡星星, 刘 晶, 仇吟秋, 等. 籼稻 93-11 和粳稻日本晴 DNA 插入缺失差异片段揭示的水稻粳-籼分化[J]. 复旦学报(自然科学版), 2006, **45**(3): 309-315.
- CAI X X, LIU J, QIU Y Q, *et al.* Differentiation of *Indica-japonica* rice revealed by insertion/deletion fragments obtained from comparative genomic study of DNA sequences between 93-11 (*indica*) and Nipponbare (*japonica*) [J]. *Journal of Fudan University (Natural Science)*, 2006, **45**(3): 309-315.
- [18] 郑向华, 叶俊华, 程朝平, 等. 利用 SNP 标记进行水稻品种粳籼鉴定[J]. 作物学报, 2022, **48**(2): 342-352.
- ZHENG X H, YE J H, CHENG C P, *et al.* Xian-geng identification by SNP markers in *Oryza sativa* L [J]. *Acta Agonomica Sinica*, 2022, **48**(2): 342-352.
- [19] 毛 艇, 徐 海, 郭艳华, 等. 利用 SSR 分子标记进行水稻粳籼分类体系的初步构建[J]. 华北农学报, 2009, **24**(1): 119-124.
- MAO T, XU H, GUO Y H, *et al.* Establishment of sub species classification of *indica* and *japonica* system by SSR markers [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2009, **24**(1): 119-124.
- [20] 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.
- [21] LIU K J, MUSE S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis [J]. *Bioinformatics*, 2005, **21**(9): 2 128-2 129.
- [22] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7. 0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, **33**(7): 1 870-1 874.
- [23] EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study [J]. *Molecular Ecology*, 2005, **14**(8): 2 611-2 620.
- [24] 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.
- ZHANG L N, CAO G L, HAN L Z. Analysis of genetic diversity of *Japonica* rice Landrace in China with microsatellite marker [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, **45**(3): 405-413.
- [25] 汤圣祥, 王秀东, 刘 旭. 中国常规水稻品种的更替趋势和核心骨干亲本研究[J]. 中国农业科学, 2012, **45**(8): 1 455-1 464.
- TANG S X, WANG X D, LIU X. Study on the renewed tendency and key backbone-parents of inbred rice varieties (*O. sativa* L.) in China [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, **45**(8): 1 455-1 464.
- [26] 程芳艳, 王继亮, 孙翊轩, 等. 2010—2014 年黑龙江审定水稻品种骨干亲本分析[J]. 中国稻米, 2019, **25**(2): 46-49.
- CHENG F Y, WANG J L, SUN Y X, *et al.* Analysis of the backbone parents of rice varieties registered in Heilongjiang Province between 2010 and 2014 [J]. *China Rice*, 2019, **25**(2): 46-49.
- [27] 曾晓珊, 彭 丹, 石媛媛, 等. 利用 SSR 标记构建水稻核心亲本指纹图谱[J]. 作物研究, 2016, **30**(5): 481-486.
- ZENG X S, PENG D, SHI Y Y, *et al.* Fingerprinting construction of rice core parental lines with SSR markers [J]. *Crop Research*, 2016, **30**(5): 481-486.
- [28] 赵一洲, 李正茂, 路洪彪, 等. 辽宁省水稻骨干亲本演变及遗传多样性分析[J]. 河南农业科学, 2014, **43**(12): 28-33.
- ZHAO Y Z, LI Z M, LU H B, *et al.* Evolution and genetic diversity of rice founder parents in Liaoning Province [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2014, **43**(12): 28-33.
- [29] 李修平, 刘 琪, 邵 红, 等. 寒地水稻种质资源遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2021, **19**(16): 5 528-5 534.
- LI X P, LIU Q, SHAO H, *et al.* Analysis of genetic diversity of rice germplasm resources in cold region [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, **19**(16): 5 528-5 534.
- [30] 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.
- QI Y W, ZHANG D L, ZHANG H L, *et al.* Genetic diversity and change trend in recent 50 years of breeding rice varieties in China [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, **51**(6): 693-699.
- [31] 王海泽. 东北不同年代产量和品质与粳籼血缘的关系[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2015.
- [32] 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.
- [33] 杨守仁, 张龙步, 沈扬英, 等. 三十六年来粳籼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.
- YANG S R, ZHANG L B, SHEN Y Y, *et al.* Research on rice breeding through crossing *indica* and *japonica* and its evolution in the past thirty six years [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 1987, **18**(3): 3-9.
- [34] 杨守仁. 粳籼稻杂交育种的进展及前景[J]. 中国农业科学, 1986, **19**(5): 15-18.
- YANG S R. Advances in rice cross breeding between *indica* and *japonica* and its prospect [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1986, **19**(5): 15-18.
- [35] 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.
- CHEN W F, XU Z J, ZHANG L B, *et al.* Theories and practices of breeding *japonica* rice for super high yield [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, **40**(5): 869-874.
- [36] 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): 1 407-1 413.
- XU Z J, CHEN W F, ZHANG W Z, *et al.* New plant type breeding for super-high yielding northern *japonica* rice [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, **37**(10): 1 407-1 413.
- [37] 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, (7): 1-6.
- LIU D, LI H Y, SUN J, *et al.* Evaluation on genome structure in different periods Northeast China rice (*Oryza sativa* L. var. *japonica*) by SSR marker [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2011, (7): 1-6.

(编辑:宋亚珍)