

庞瑞华,王 玲,李小宁,等. 信阳地区水稻资源的遗传多样性分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(7):113-116.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.030

信阳地区水稻资源的遗传多样性分析

庞瑞华,王 玲,李小宁,彭 波,任培培,武世强

(信阳师范学院生命科学院,河南信阳 464000)

摘要:以信阳稻区水稻育种的主要亲本为试验材料,利用 RAPD 分子标记技术对其遗传多样性进行分析。结果表明,筛选出的 17 条多态性引物在 43 份水稻材料中共有 126 个位点条带,其中多态性条带有 118 条,其多态性比率为 93.6%;每个引物可扩增出 3~8 条多态性条带,平均产生多态性条带 5.5 条。43 个品种(品系)间遗传相似系数变化范围为 0.402~0.937。基于 RAPD 标记,利用 NTSYS.pc2.11 构建了聚类树状图谱,遗传距离为 0.68,将 43 份水稻资源聚成 4 大类群。该研究为信阳水稻种质资源的鉴定及水稻新品种的选育等方面提供重要依据。

关键词:水稻;种质资源;RAPD;遗传多样性;聚类分析

中图分类号:S511.032 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)07-0113-03

水稻是人类最重要的粮食作物之一,世界上超过一半的人口以其为主食^[1]。河南省信阳稻区常年种植水稻面积在 43.3 万 hm^2 以上,约占全省水稻种植面积的 70%,是河南水稻的主产区。目前,对信阳地区水稻的研究主要集中在高产栽培及病虫害防治方面^[2-4],而对水稻种质资源分子遗传多样性的研究非常薄弱。水稻种质资源是水稻育种的基础,充分了解和掌握当地资源的丰度、差异性、亲缘关系等是培育水稻品种的必要条件。随机扩增多态性 DNA (RAPD) 技术于 1990 年由美国 Williams 首先报道^[5],该技术是建立在 PCR 基础上的一种可对整个未知序列的基因进行多态性分析的分子技术。由于具有 DNA 用量少、灵敏度高、快捷、检测容易和标记的数量多等优点,已被广泛应用于评价水稻种质的遗传多样性和亲缘关系^[6-9]。

对现有材料进行遗传多样性研究,可有效减少相似遗传背景的组合,减少育种的工作量,对于亲本的杂交组合配置具有重要的指导意义^[10]。本研究拟以信阳稻区保存的 43 份水稻亲本为试验材料,选用 40 条 RAPD 随机引物对供试材料扩增,旨在从 DNA 分子水平上探讨这些材料之间的遗传多样性程度,从而为信阳地区水稻育种实践提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的水稻种质 43 份,包括 42 份常规粳稻和 1 份常规籼稻;有 7 份审定品种,其他 36 份为中间育种材料。材料编号、名称及来源见表 1。材料均由信阳农林学院水稻研究所

提供。

1.2 试验方法

1.2.1 水稻基因组 DNA 的提取 将收集的水稻种子在实验室中发苗,然后取幼嫩的新鲜叶片,采用 CTAB (十六烷基三甲基溴化铵)法提取叶片基因组 DNA, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.2 RAPD 引物的筛选 选出 40 条 10 个碱基长度的寡核苷酸随机引物^[6-7],委托江苏南京金斯瑞生物科技公司合成。对上述提取后的样本基因组 DNA 进行 RAPD 预扩增,从中筛选出多态性高、条带清晰和重复性好的引物。

1.2.3 RAPD 反应体系及扩增程序 反应体系包括 10 μL 2 \times Power Taq PCR Master Mix (北京百泰克生物技术有限公司,内含 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、 MgCl_2 以及反应缓冲液等),20~50 ng DNA 模板,1 μL (10 mmol/L) 引物,补双蒸水至总体积 20 μL 。扩增程序如下:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,36 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min,45 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。采用 1.5% 的琼脂糖凝胶(加入 Gold View I 型核酸染色剂)电泳检测 PCR 扩增产物。

1.2.4 数据的统计与分析 DNA 图谱中,在同一迁移位置,有 DNA 扩增带的量化为 1,无扩增带的量化为 0,列出二元数据矩阵。应用 NTSYSpc2.10e 统计分析软件计算品种间的遗传相似系数(genetic similarity,GS),根据遗传相似系数的数据集,采用 UPGMA(非加权配对算术平均法)构建遗传关系树状图。

2 结果与分析

2.1 RAPD 标记结果分析

从 50 条引物当中筛选出了 17 条扩增稳定、多态性丰富的引物(表 2)。所有的材料共扩增出 126 条带,其中多态性条带 118 条,占总扩增片段的 93.6%。每个引物可扩增出 3~11 条多态性条带,平均产生多态性条带 6.9 条(图 1)。由表 2 可知,扩增位点最少的引物是 Rp16,仅有 3 个扩增位点。图 1 显示 17 条引物在 43 个水稻品种中的多态性比率均高于 80%,可用于水稻种质资源的品种鉴定及亲缘关系分析。如图 1 是利用引物 Rp15 得到的部分材料的 RAPD 标记图谱。

收稿日期:2015-10-19

基金项目:河南省重点科技攻关项目(编号:152102110100);河南省教育厅自然科学研究项目(编号:2008A180030);信阳师范学院青年基金(编号:2013-QN-069);信阳师范学院大学生科研基金(编号:2014-DXS-143)

作者简介:庞瑞华(1973—),女,河南西平人,博士,讲师,主要从事水稻种质资源和遗传改良研究。Tel:(0376)6391380;E-mail:pruih2008@163.com。

表 1 43 份水稻种质材料编号及名称

编号	品种名称	类型	来源
1	香梗 33	梗型常规香稻	河南信阳农林学院
2	广陵香梗	梗型常香规稻	江苏扬州大学
3	1682	梗型常规稻	河南省农业科学院
4	长香梗	梗型常规香稻	东北地区
5	香宝 3 号	籼型常规香稻	河南信阳农林学院
6	新香糯 1 号	梗型常规香稻	河南新乡农业科学院
7	香宝 2 号	梗型常规稻	河南信阳农林学院
8	1812 香糯	梗型常规香稻	河南省农业科学院
9	香宝 1 号	梗型常规香稻	河南信阳农林学院
10	11 梗-4	梗型常规稻	河南信阳农林学院
11	J1396 香稻	梗型常规香稻	河南省农业科学院
12	矮秆香稻丸	梗型常规香稻	河南息县农业科学所
13	白羊梗	梗型常规香稻	河南原阳
14	宁梗 3 号	梗型常规稻	南京农业大学
15	农香梗 4 号	梗型常规香稻	河南农业大学
16	信长梗	梗型常规稻	河南信阳农林学院
17	信梗 46	梗型常规稻	河南信阳农业科学院
18	豫农 31	梗型常规稻	河南信阳农林学院
19	豫农 32	梗型常规稻	河南信阳农林学院
20	豫农 9	梗型常规稻	河南信阳农林学院
21	豫梗 12	梗型常规香稻	河南信阳农林学院
22	郑香梗 11	梗型常规香稻	河南省农业科学院
23	武香梗 14	梗型常规香稻	江苏常州市稻麦育种场
24	农香梗 24	梗型常规香稻	河南农业大学
25	黑香糯 192	梗型型常规香稻	河南信阳农林学院
26	武香梗 23	梗型常规香稻	江苏里下河地区农业科学研究所
27	郑早 10 号	梗型常规早稻	河南省农业科学院
28	伊拉泰 104	梗型常规稻	法国
29	津稻 293	梗型常规稻	天津
30	mors	梗型常规稻	美国
31	新丰 3 号	梗型常规稻	河南新乡农业科学院
32	梗 106	梗型常规稻	河南信阳农林学院
33	P018	梗型常规稻	河南农业科学院
34	梗 20	梗型常规稻	河南信阳农林学院
35	宁梗 43	梗型常规稻	宁夏
36	方欣 1 号	梗型常规稻	河南农业大学
37	黄金晴	梗型常规稻	日本
38	梗 635	梗型常规稻	河南信阳农林学院
39	梗 21	梗型常规稻	河南信阳农林学院
40	淮稻 12	梗型常规稻	安徽
41	原早 3 号	梗型常规稻	河南原阳
42	扬稻 1538	梗型常规稻	江苏里下河地区农业科学研究所
43	丹早糯 53	梗型常规早糯稻	丹东农业科学院

表 2 17 个引物的碱基序列及扩增结果

引物编号	引物序列 (5'→3')	总条带数 (条)	多态性条带数 (条)	多态性 (%)
Rp1	TCGGACGTGA	7	7	100.0
Rp3	CCAAGCTTCC	7	6	85.7
Rp4	CCTCTAAGCC	6	5	83.3
Rp5	TCCCGGTGAG	7	7	100.0
Rp6	GAGTCTCACG	8	6	75.0
Rp7	ACAACGCCTC	11	10	90.9
Rp10	ACATCGCCCA	8	8	100.0
Rp11	TGACCCGCCT	8	8	100.0
Rp12	ACAACGCCTC	9	9	100.0
Rp13	GGCGTTGTC	7	7	100.0
Rp14	CCATTCCCCA	7	6	85.7
Rp15	GGGCTACTCA	7	6	85.7
Rp16	GAGCGTCGCT	3	3	100.0
Rp17	TCCCACGAGT	6	6	100.0
Rp18	GATGCGATGG	8	8	100.0
Rp19	ACCCCCACAC	10	9	90.0
Rp20	GTCCACACGG	7	7	100.0
总数		126	118	93.6

2.2 不同材料间的遗传相似性分析

根据 17 条引物在 43 份供试材料中所获得的 126 条扩增条带,应用 NTSYSpc2.10 软件包计算供试品种间的遗传相似系数。所有供试品种间的遗传相似系数变化范围为 0.402 ~ 0.937,材料间表现出显著的遗传变异。淮稻 12 与长香梗之间的遗传相似系数($GS = 0.402$)最小,反应出两者的遗传异质性较大;P078 和黄金晴之间的遗传系数高达 0.937,表明这 2 个材料间的遗传相似性较大;香宝 3 号(表 1 中编号为 5)籼稻与大部分供试品种具有很大的差异性,遗传相似系数在 0.4 ~ 0.7 之间。

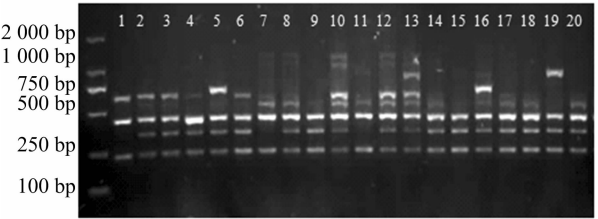
2.3 聚类分析

由图 2 可知,当以遗传相似系数 0.68 为阈值时,43 份常规稻材料可以分为四大类。第Ⅰ类包含 24 份材料。以遗传相似系数 0.73 为阈值,24 份材料可分为 2 个亚组,分别以Ⅰ-1、Ⅰ-2 表示。Ⅰ-1 组包括香梗 33 等 23 个品种,由表 1 可知,这 23 个品种均为梗稻,且来源地大多为河南信阳。Ⅰ-2 组类仅包括 1 份材料:黑香糯 192(编号为 25),米粒黑色,为常规梗稻。第Ⅱ类中只有香宝 3 号(编号为 5)1 份材料,为常规籼稻。第Ⅲ类包括武香梗等 16 个品种。第Ⅳ类包括 2 份材料:伊拉泰 104(编号为 28)和津稻 293(编号为 29)。

3 讨论

3.1 水稻材料间遗传多样性

本研究对 43 份水稻材料的遗传多样性分析中,17 个引物共扩增出 126 条带,其中多态性条带 118 条,多态性程度达到约 93.6%,远高于 49 份早稻(81.6%)^[6]和贵州 19 份水稻(84%)^[7]的遗传多样性。如此高的遗传多态性,一方面与本研究材料的来源地广泛有关:不仅有国内,还有国外材料,40 份常规稻来自于国内 4 个省(河南、江苏、天津和安徽),其余 3 份常规稻分别来源于法国、美国和日本;另一方面和材料的性状类型丰富有关:试验材料除了普通常规稻外,还有早稻、



M—DL2000; 1~20 表示试验材料编号,与表 1 中材料编号相同

图 1 引物 Rp15 对部分水稻材料的扩增结果

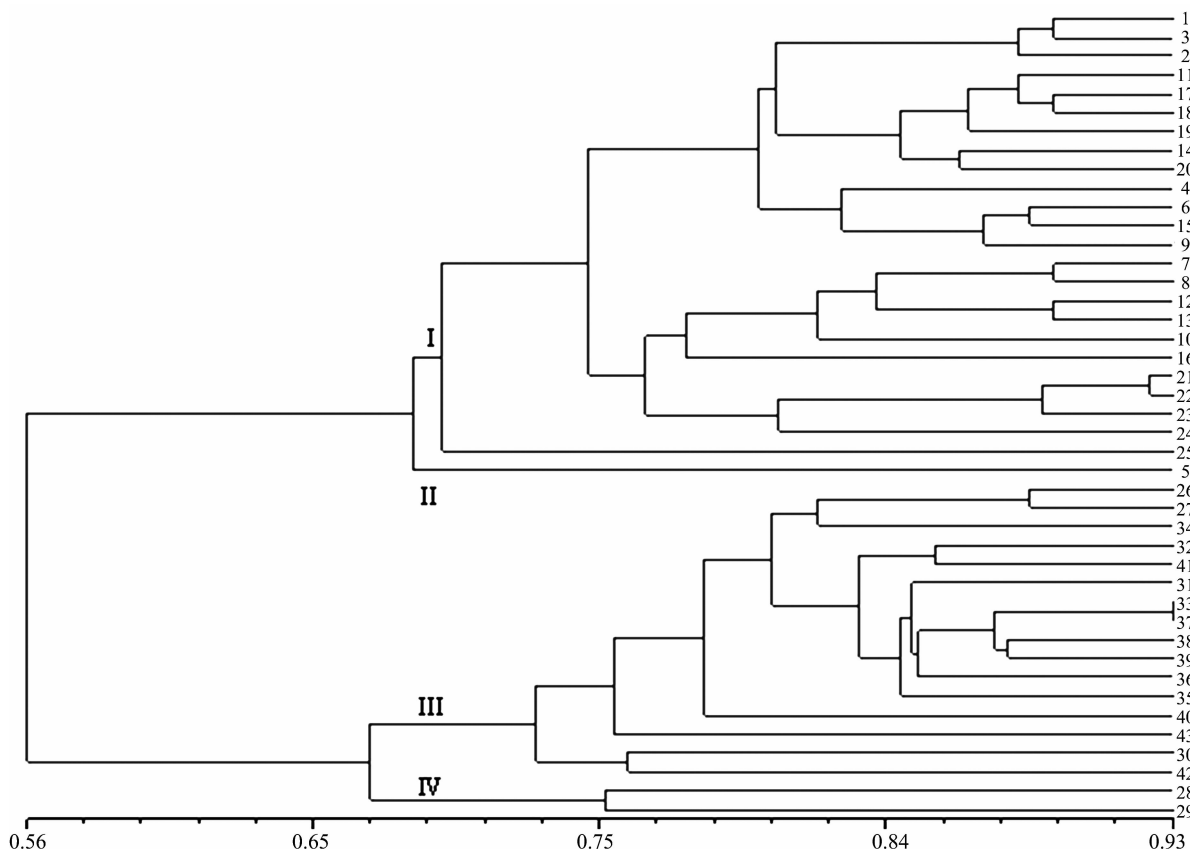


图2 43 份水稻种质遗传相似系数 UPGMA 聚类结果

香稻和黑稻等材料。从多态性比例看,本研究的 43 份材料存在着较大的遗传差异和丰富的遗传多样性,这正是进行杂交育种可利用的遗传资源。

3.2 43 份水稻材料的聚类分析

本试验的聚类结果基本反应了材料间的系谱关系。当以遗传相似系数 0.69 为阈值,43 份常规稻亲本材料可以分为 4 大类,其中香宝 3 号(5 号)单独聚为一类,原因是 42 份材料均为粳稻,而 5 号为籼稻。这与王英等利用 RAPD 对 49 份早稻种质的聚类结果^[6]相一致。同一单位的育成品种遗传差异较小,容易归为一类^[11];来自信阳农林学院的 10 份水稻聚到第 I 类,4 份材料聚到了第 III 类。本研究材料中共有 17 份香稻,其中 16 份聚到第一大类,表明这些香稻具有一致的遗传背景和起源。然而,白现广等对云南的 10 个香稻品种、45 个非香稻地方栽培品种利用 SSR 进行聚类,发现 10 个香稻品种并没有聚在一起^[12],这与云南现有的香稻栽培品种并非为单一的遗传来源,而是从多个祖先分别起源有关。

RAPD 标记是从分子水平上揭示种质间的遗传差异,比传统的遗传标记准确度要高,因此本研究采用 RAPD 技术分析 43 份水稻材料的遗传多样性。近年来,随着水稻基因组测序的完成,另一种分子标记技术简单重复序列 SSR 正被广泛应用于水稻遗传多样性的研究中^[13-15]。分类收集更多的信阳水稻种质,结合不同的分子标记方法和农艺性状对其进行多样性分析将是下一步研究的内容。

参考文献:

[1] Tian Z X, Qian Q, Liu Q Q, et al. Allelic diversities in rice starch bio-

synthesis lead to a diverse array of rice eating and cooking qualities [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(51): 21760-21765.

[2] 陈俊华,熊建伟,史洪中,等. 频振式杀虫灯对信阳稻区水稻害虫的控制作用[J]. 河南农业科学, 2015, 44(3): 93-96.

[3] 宁万光,谢 瑛,史洪中,等. 信阳市水稻稻瘟病发生规律及基于灰色预测模型的预测预报[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(6): 89-90.

[4] 雷振山,肖荣英,卫云飞,等. 豫南丘陵区施氮与密度对水稻产量及氮肥利用率的影响[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(14): 3247-3250.

[5] Williams J G K, Kubelik A R, Liark K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker [J]. Nucleic Acid Res, 1990, 18(2): 6531-6535.

[6] 王 英,叶 通,邱海燕,等. 49 份早稻种质 RAPD 标记遗传多样性分析[J]. 中国农学通报, 2011, 27(24): 21-28.

[7] 陶 刚,刘作易,朱 英,等. 贵州优质水稻的遗传多样性 RAPD 分析[J]. 贵州农业科学, 2005, 33(1): 10-12.

[8] Skaria R, Sen S, Muneer P M A. Analysis of genetic variability in rice varieties (*Oryza sativa* L.) of Kerala using RAPD markers [J]. Genetic Engineering and Biotechnology Journal, 2011(1): 1-9.

[9] Sadiq T, Zahida H P, Ashiq R. Molecular characterization of traditional and improved rice cultivars based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) markers [J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(45): 10297-10304.

[10] 赖 勇,王鹏喜,范贵强,等. 大麦 SSR 标记遗传多样性及其与农艺性状关联分析[J]. 中国农业科学, 2013, 46(2): 233-242.

[11] 钮玉伟,杨志刚,罗 兵,等. 太湖稻区 32 个水稻品种 DNA 指

常凯丽,裴红宾,张永清,等.大蒜根系水提液对不同品种红小豆幼苗生长及生理特性的影响[J].江苏农业科学,2016,44(7):116-120.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.031

大蒜根系水提液对不同品种红小豆幼苗生长及生理特性的影响

常凯丽¹,裴红宾¹,张永清^{1,2},秦成¹,史冬冬¹

(1.山西师范大学生命科学学院,山西临汾 041000; 2.山西师范大学城市与环境科学学院,山西临汾 041000)

摘要:为了更有效缓解红小豆连作障碍问题,为建立合理的轮作方式(大蒜—红小豆)提供理论依据,采用室内培养皿生物测量法和盆栽试验法,以10个红小豆品种为材料,记录大蒜根系水提液培养下不同品种红小豆种子萌发数,测定幼苗株高、叶面积、生物量、SOD、POD活性、MDA含量。结果表明,(1)30 g/L大蒜根系水提液对不同基因型红小豆种子的发芽率有显著影响;(2)30 g/L大蒜根系水提液对10个红小豆品种幼苗生长呈现了不同基因型差异;(3)综合效应指数评价结果表明,与对照比较,经30 g/L大蒜根系水提液处理后,对红小豆白红6号、B1789、京农6号幼苗形态指标的促进作用最为明显;(4)从10个红小豆品种幼苗的生理特性可以看出,30 g/L大蒜根系水提液可以促进较多品种的SOD、POD活性,降低MDA含量,且与对照差异显著。

关键词:大蒜根系水提液;红小豆;形态指标;生理特性;化感作用

中图分类号: S521.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)07-0116-05

红小豆(*Phaseolus angularis*),豆科、豇豆属植物,营养丰富,栽培历史悠久,在中国半干旱、干旱地区具有明显的区位优势和生产优势,特别是在黄土高原地区,从食用到加工出口,从自然资源利用到发展地方经济,都占有非常重要的地位^[1]。

红小豆自毒作用严重,连作障碍成为制约红小豆产量和品质的主要因素之一^[2]。相关研究认为,这也与作物产生的化感物质密切相关。自毒(化感)物质并非在供体与受体植物之间或前、后茬植物之间直接发挥作用,自毒(化感)物质只是诱因,释放到土壤后受到微生物的加工、分解、转化等,并同时根际微生物区系产生影响,最后共同影响受体植物的生长发育^[3]。目前,越来越多的学者认为,根系分泌物生态效应的间接作用及土壤微生物区系紊乱是导致植物连作障碍的主要因素^[4]。生产中连作年限越长,对连作作物生长发育的抑制作用也越强,连作病害发生也会越严重。轮作可以提高土壤有机质含量,增加土壤微生物及土壤酶活性^[5],对改

善土壤环境、减轻连作障碍具有积极作用^[6]。董青松等研究证明,连作导致根际土壤微生物功能多样性显著降低^[7]。马瑞霞等研究发现,大豆(*Glycine max*)连作3年以上,土壤的微生物数量与组成发生变化,细菌数量减少,真菌数量增加,重茬校正茬增加^[8]。

在黄土高原地区,人们常选择小麦作为红小豆的接茬作物。连慧达等研究表明,除传统的红小豆轮作作物小麦外,蔬菜作物萝卜在与红小豆轮作方面也有着很大的应用潜力^[9]。研究证实,大蒜根系水提液中的活性成分对许多植物病原真菌和食物杂菌有较强的抑制作用,对一些病毒、原生生物也有抑制或杀灭活性的作用^[10],是公认的有益前茬作物,研究证明大蒜和马铃薯间作可以促进马铃薯(成熟期除外)的生长^[11],而在北方地区,红小豆在种植时间上允许作为大蒜的后茬作物。目前,前人主要研究了大蒜浸提液对莴苣、辣椒、萝卜、黄瓜、白菜、番茄、菜豆^[12-14]等植物的化感作用,但有关大蒜对红小豆作用方面的研究未见报道。

通过预试验,选用多个浓度大蒜根系水提液,研究对种子萌发的影响。研究发现,当大蒜根系水提液浓度达到30 g/L时,才会对红小豆种子萌发产生影响,考虑到农田中大蒜根系浓度只有达到这个标准才会对植物造成化感效应,因而把30 g/L大蒜根系水提液临界浓度作为研究施用的标准。前人对于化感效应集中于考虑化感物质的浓度研究,研究结果表明,受体作物随浓度的升高呈现低促高抑的效果;化感作用

收稿日期:2016-02-17

基金项目:山西省自然科学基金(编号:2013011030-1);山西师范大学科技开发与应用基金(编号:YK1502)。

作者简介:常凯丽(1992—),女,山西运城人,硕士研究生,主要从事植物生理生态的研究。E-mail:18703477988@163.com。

通信作者:裴红宾,副教授,硕士生导师,主要从事植物生理生态方面的教学与研究。E-mail:bbpei65110@163.com。

纹图谱的构建及遗传多样性分析[J].安徽农业科学,2014,42(36):12833-12835.

[12]白现广,程在全,蔺忠龙,等.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.

[13]邓宏中,王彩红,徐群,等.中国水稻地方品种与选育品种的遗传多样性比较分析[J].植物遗传资源学报,2015,16(3):

433-442.

[14]刘承晨,赵富伟,吴晓霞,等.云南哈尼梯田当前栽培水稻遗传多样性及群体结构分析[J].中国水稻科学,2015,29(1):28-34.

[15]陈惠清,黄荣裕,王天生,等.水稻种质资源的籼粳分类及遗传多样性分析[J].杂交水稻,2014,29(6):62-67.