

引文格式: 陈越, 付坚, 张敦宇, 等. 程式指数法和 InDel 分子指数法对云南元江稻属资源籼粳分化的比较研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(2): 185–192. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202107025](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202107025)

程式指数法和 InDel 分子指数法对云南元江稻属资源籼粳分化的比较研究*

陈 越, 付 坚, 张敦宇, 李婷婷**, 陈 玲**

(云南省农业科学院 生物技术与种质资源研究所, 云南省农业生物技术重点实验室,
农业农村部西南作物基因资源与种质创制重点实验室, 云南 昆明 650205)

摘要:【目的】研究云南元江普通野生稻及其后代的籼粳属性及籼粳分化程度, 为探索普通野生稻的起源演化、遗传分化及育种利用等提供理论依据。【方法】利用程式指数法和 InDel 分子指数法从表型到分子水平对云南元江普通野生稻 (*Oryza rufipogon*)、栽培稻合系 35 号及 354 份渗入系后代进行籼粳属性分析。【结果】程式指数法分析结果表明: 普通野生稻总分 11 分, 为偏粳型; 合系 35 号总分 24 分, 为粳型; 354 份渗入系中有粳型材料 179 份、偏粳型 76 份、粳型 25 份和偏粳型 74 份; 经 InDel 分子指数法鉴定发现: 普通野生稻和合系 35 号的籼型基因频率分别为 0.32 和 0.04, 分别属于偏粳型和典型粳稻; 在 354 份渗入系中有典型粳稻 113 份、籼稻 84 份、偏粳 36 份、中间类型 29 份、偏粳 21 份、粳稻 24 份和典型粳稻 47 份。综合程式指数法和 InDel 分子指数法分析结果表明: 2 种方法的拟合度高达 92.42%, 仅普通野生稻及 26 份渗入系的籼粳类型划分结果存在偏差。【结论】程式指数法和 InDel 分子指数法鉴定稻属资源籼粳属性的结果基本一致, 2 种方法结合应用可有效分析普通野生稻及其渗入系后代的籼粳属性; 普通野生稻籼粳属性在表型和分子水平上存在一定差异, 可能与普通野生稻籼粳分化不彻底有关。云南元江普通野生稻渗入系后代的籼粳类型丰富、分化明显, 是重要的育种材料, 也是研究普通野生稻起源、进化及分类的宝贵资源。

关键词: 云南元江普通野生稻; 渗入系; 籼粳属性; 程式指数法; InDel 分子指数法

中图分类号: S511.024

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2022) 02-0185-08

Comparative Study on the *Indica-japonica* Differentiation of *Oryza* L. Resources in Yuanjiang, Yunnan Province by Cheng's Index and InDel Molecular Index

CHEN Yue, FU Jian, ZHANG Dunyu, LI Tingting, CHEN Ling

(Biotechnology and Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Provincial
Key Lab of Agricultural Biotechnology, Key Lab of Southwestern Crop Gene Resources and Germplasm
Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Kunming 650205, China)

Abstract: [Purpose] To study the *indica-japonica* characteristics and the degree of *indica-japonica*

收稿日期: 2021-07-12

修回日期: 2021-10-13

网络首发日期: 2022-03-10

*基金项目: 云南省应用基础研究面上项目 (202001AT070005, 202001AT070015, 202001AT070003); 云南省万人计划产业技术领军人才培养计划项目 (YNWR-CYJS-2018-002); 2021 年云南省农业科学院科技创新及成果转化试点专项 (202102AE090036-05)。

作者简介: 陈越 (1985—), 女, 安徽蚌埠人, 硕士, 助理研究员, 主要从事稻属资源种质创新研究。

E-mail: chenyuebeyond@163.com

**通信作者 Corresponding authors: 李婷婷 (1980—), 女, 云南建水人, 硕士, 副研究员, 主要从事作物种质资源研究。E-mail: 591807832@qq.com; 陈玲 (1986—), 女, 云南宣威人, 硕士, 助理研究员, 主要从事作物遗传育种研究。E-mail: 422263675@qq.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20220310.0938.002.html>



differentiation of *Oryza rufipogon* in Yuanjiang, Yunnan Province and its consanguineous introgression line, providing a theoretical basis for exploring the origin, evolution, genetic differentiation, breeding and utilization of *O. rufipogon*. [Methods] Using the Cheng's index and InDel molecular index to analyze the characteristics of *indica-japonica* from *O. rufipogon* in Yuanjiang, Hexi 35 and 354 introgression lines from the phenotype to molecular level. [Results] The analysis result of Cheng's index showed that the total score of *O. rufipogon* was 11, which was *indicaclinous*, and the total score of Hexi 35 was 24, which was *japonica*. Among 354 introgression lines, there were 179 *indica*, 76 *indicaclinous*, 25 *japonica* and 74 *japonicaclinous*. By InDel molecular index method, it was found that the *indica* gene frequencies of *O. rufipogon* and Hexi 35 were 0.32 and 0.04, respectively, belonging to *japonicaclinous* and typical *japonica*. Among 354 introgression lines, there were 113 typical *indica*, 84 *indica*, 36 *indicaclinous*, 29 intermediate types, 21 *japonicaclinous*, 24 *japonica* and 47 typical *japonica*. The results of Cheng's index and InDel molecular index showed that the fitting degree of the two methods was as high as 92.42%, and there was only a deviation in the classification results of *indica-japonica* types of *O. rufipogon* and 26 introgression lines. [Conclusion] The results of Cheng's index and InDel molecular index were basically consistent. The combination of the two methods can effectively analyze the *indica-japonica* characteristics of *O. rufipogon* and its introgression line offspring. There are some differences in the *indica-japonica* characteristics of *O. rufipogon* at the phenotypic and molecular levels, which may be related to the incomplete *indica-japonica* differentiation of *O. rufipogon*. The progenies of introgression lines of *O. rufipogon* in Yuanjiang have rich *indica-japonica* types and obvious differentiation. They are not only important breeding materials, but also valuable resources in the origin, evolution and classification of *O. rufipogon*.

Keywords: *Oryza rufipogon* in Yuanjiang, Yunnan Province; introgression lines; *indica-japonica* characteristics; Cheng's index; InDel molecular index

普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.) 的基因组为 AA, 是栽培稻的祖先近缘种, 在长期野外恶劣环境中蕴含着如抗病、抗虫和抗各种非生物逆境等诸多优良性状, 是维系稻种资源种质创新的重要资源库^[1-2]。云南元江普通野生稻生长在海拔 780 m 的高原, 且在其原生境保护点周围 5 km 范围内从未发现和种植任何稻种资源, 是现存世界上分布海拔最高、保存最完整、最原始的普通野生稻居群之一^[3-4]。亚洲栽培稻由普通野生稻进化而来, 籼粳分化是亚洲栽培稻分化的主流。籼、粳稻是在自然和人工双重选择压力下经历漫长历史过程演化形成的在基因组及形态性状都发生深刻变化的 2 个亚种^[5-6]。栽培稻的籼粳亚种分别从已分化的普通野生稻独立演化而来, 即普通野生稻在演化成栽培稻之前就已经发生了籼粳分化, 因此, 探究普通野生稻及其渗入系后代的籼粳属性及分化程度是研究栽培稻籼粳亚种起源的基础^[1,7-9]。

鉴定稻属资源籼粳属性通常采用形态学鉴定

和分子标记分类法。形态学鉴定主要采用程侃声等^[10-11]在前人基础上建立的以籼粳亚种间具有明显差别且易于观测的 6 个形态性状 (稃毛、酚反应、第 1~2 穗节间长、抽穗时壳色、叶毛及谷粒长宽比) 为主要指标的“程式指数法”, 是广泛应用于育种及农业实践生产的籼粳鉴定方法。近年来, 越来越多的分子标记被应用于稻属资源的籼粳分类研究, 但早期使用较多的 SSR^[12]、RFLP^[13]、RAPD^[14]及 ILP^[15]等均不是针对籼、粳稻在 DNA 水平上的差异而设计的分子标记, 故籼粳分类的准确性不高。随着分子生物学技术的迅猛发展, LU 等^[16]根据籼稻 9311 和粳稻日本晴基因组序列比对而设计出可区分籼粳类型的 InDel 分子标记, 在籼粳鉴定方面具有扩增效果好、稳定性高、扩增产物分离效果明显和操作简单等诸多优点, 该标记不仅可以定性籼粳属性, 还可以精准地量化籼粳分化程度。自上世纪 80 年代以来, 王象坤等^[7]、陈成斌等^[17]、李小湘等^[18]及董铁博^[19]

已先后对中国主要普通野生稻居群的籼粳属性进行了鉴定, 但有关原始性较高的云南元江普通野生稻籼粳属性的报道相对较少, 且这些报道大多仅采取单一的鉴定方法进行籼粳分类, 鲜有同时采用 2 种分类方法对云南元江普通野生稻及其渗入系后代资源的籼粳鉴定报道。本研究首次同时从表观形态学和分子水平探讨云南元江普通野生稻及其渗入系后代的粳籼类型, 对普通野生稻籼粳遗传背景的深入研究以及探索普通野生稻在栽培稻起源演化、遗传分化和育种应用等具有重要意义, 同时也为充分发掘利用普通野生稻及其渗入系后代奠定科学基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料共计 356 份, 包括合系 35 号 1 份、云南元江普通野生稻 1 份及其渗入系代表材料 354 份(编号为 YN1~YN354)。渗入系代表材料由云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所云南元江普通野生稻为父本、合系 35 号为母本进行远缘杂交, 经胚挽救成苗后回交 2 次、自交 15 次, 同时结合染色体原位杂交技术和分子标记辅助选择技术获得 4 006 份渗入系材料, 从中通过田间筛选淘汰性状不稳定及综合性状较差的材料后最终获得。以粳稻日本晴和籼稻 9311 作为对照。

1.2 方法

1.2.1 材料种植

普通野生稻种植于云南省农业科学院玉溪市元江基地普通野生稻保护圃。渗入系和合系 35 号种植于云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所易门实验基地, 于 2019 年 3 月播种, 5 月单穴单苗移栽, 每份材料种植 4 行, 每行 10 株, 行株距为 20 cm×25 cm, 田间水肥管理与当地大田生产一致。

1.2.2 形态学鉴定

按照程侃声等^[10-11]的“程式指数法”, 每份资源标记中间行生长状态一致的 5 株, 抽穗期调查其主穗抽穗时壳色和叶毛, 成熟时取各株的主穗带回实验室调查其稃毛、酚反应、第 1 和第 2 穗节间长及谷粒长宽比等指标。

1.2.3 InDel 分子标记鉴定

基因组 DNA 提取及 PCR 扩增: 于分蘖盛期采集 356 份材料及对照品种的剑叶叶片, 参照陈越等^[5]的方法提取 DNA 及 PCR 扩增。

InDel 引物筛选: 以普通野生稻、合系 35 号及两者渗入系后代中表型差异较大的 20 份材料与粳稻日本晴和籼稻 9311 全基因组 DNA 序列比对获得的 45 对 InDel 分子标记^[16]进行筛选, 最终筛选出 36 对用于籼粳鉴定(表 1)。这 36 对 InDel 标记均匀分布于水稻的 12 条染色体, 且在云南元江普通野生稻、合系 35 号以及表型差异较大的 20 份渗入系后代材料中均带型清晰、容易判读、无杂带。

表 1 用于云南元江稻属资源籼粳鉴定的 InDel 分子标记

Tab. 1 InDel molecular markers used to identify *indica-japonica* of *Oryza* L. resources in Yuanjiang, Yunnan Province

标记 marker	扩增长度/bp amplified length	标记 marker	扩增长度/bp amplified length	标记 marker	扩增长度/bp amplified length
R1M7	37	R4M13	32	R8M33	38
R1M20	42	R4M17	51	R8M46	30
R1M30	49	R4M30	40	R9M10	43
R1M37	53	R4M43	34	R9M20	40
R1M47	51	R4M50	33	R9M42	48
R2M10	48	R5M13	32	R10M17	31
R2M26	38	R6M14	34	R10M30	19
R2M37	65	R6M30	34	R10M40	33
R2M50	42	R6M44	34	R11M23	42
R3M10	37	R7M7	67	R11M40	41
R3M23	36	R7M20	66	R12M27	33
R3M53	35	R8M23	36	R12M43	30

注: 扩增长度为扩增籼稻9311与粳稻日本晴的差异片段长度。
Note: Amplified length is the length of fragment difference between *indica* 9311 and *japonica* Nipponbare.

1.3 统计分析

程式指数法以稃毛、酚反应、第 1~2 穗节间长、抽穗时壳色、叶毛及谷粒长宽比等 6 个性状

的综合分值判断 356 份资源的粳籼属性，总积分≤8 为籼型、9~13 为偏籼型、14~18 为偏粳型、>18 为粳型 (表 2)。

表 2 程氏指数法鉴别稻属资源籼粳属性的性状及评分标准

性状 characters	评分及其标准 score and standard				
	0	1	2	3	4
稃毛 lemma hair	短、齐、硬、直、匀 short, neat, hard, straight and even	硬、稍齐、稍长 hard, slightly homogeneous, slightly long	中或较长、不太齐、色略深 medium or long, uneven, slightly dark color	长、稍软、欠齐、不齐 long, slightly soft, uneven, irregular	长、乱、软 long, messy, soft
酚反应 phenol reaction	黑 black	灰黑或褐黑 greyish black or brownish black	灰 gley	微染色 micro staining	不染色 no staining
第1~2穗节间长/cm internode length of the first and second panicle	<2	2.1~2.5	2.6~3.0	3.1~3.5	>3.5
抽穗时壳色 glume color at heading	绿白 green white	白绿 white green	黄绿 yellow green	浅绿 light green	绿 green
叶毛 leaf hair	很多 a lot of	多 many	中 middle	少 few	无 not have
籽粒长宽比 grain length width ratio	>3.5	3.5~3.1	3.0~2.6	2.5~2.1	<2

InDel 分子标记法以粳稻日本晴和籼稻 9311 扩增产物的带型为标准，条带统计及籼、粳型基因频率的计算方法参考陈越等^[5]的报道；按照 LU 等^[16]的方法计算并统计 356 份稻属资源在 36 对 InDel 分子标记的籼型或粳型基因频率；按照表 3 中 InDel 分子标记籼粳属性的分类标准划分稻属资源的籼粳类别。

表 3 按照基因频率鉴定籼稻或粳稻的 InDel 分类标准

类型 type	基因频率 gene frequency	
	籼型 indica type	粳型 japonica type
典型粳稻 typical japonica	≥0.10	≤0.90
粳稻 japonica	0.11~0.25	0.75~0.89
偏粳 japonicaclinous	0.26~0.39	0.61~0.74
中间类型 intermediate type	0.40~0.60	0.40~0.60
偏籼 indicaclinous	0.61~0.74	0.26~0.39
籼稻 indica	0.75~0.89	0.11~0.25
典型籼稻 typical indica	≤0.90	≥0.10

2 结果与分析

2.1 稻属资源的程式指数法鉴定结果

由图 1、2 可知：程式指数法的 6 项指标在普通野生稻、合系 35 号及来自同一亲本材料的渗入系后代之间差异明显。按照程式指数法的评

分标准 (表 2) 分别统计 356 份稻属资源的分值并对其进行籼粳类型进行划分，结果显示：普通野生稻 6 项指标的总分为 11 分，属偏籼型；合系 35 号的总分为 24 分，为粳型；在 354 份渗入系后代资源中有籼型 179 份，占有后代材料的 50.56%；偏籼型 76 份，占 21.47%；粳型 25 份，占 7.06%；偏粳型 74 份，占 20.90%。程式指数法的鉴定结果表明：354 份普通野生稻与合系 35 号杂交得到渗入系后代资源的籼粳分化明显，但大部分后代材料以籼型稻 (籼型和偏籼型) 资源为主。

2.2 稻属资源的 InDel 分子指数法鉴定结果

筛选出的 36 对引物均具有较好的籼粳特异性，356 份稻属资源均能扩增出 1 条与日本晴/9311 位置一致的带型，或 2 条位置分别与日本晴和 9311 一致的杂合带型。部分稻属资源引物扩增结果见图 3。亲本资源普通野生稻和合系 35 号的籼粳类型分别为偏粳型和典型粳稻，其籼型、粳型基因频率依次为 0.32、0.68 和 0.04、0.96。由普通野生稻的 PCR 扩增电泳结果可知：在 36 对 InDel 标记中，R1M30、R1M37、R1M47、R2M26、R2M37、R3M23、R3M53、R4M13、R4M17、R4M30、R6M14、R6M44、R7M7、R8M33、R9M10、R9M42、R10M17、R10M30、R10M40、R11M23、R12M27 和 R12M43 等 22 对标记扩增出纯合粳型基因型带型，R1M7、R1M20、R2M10、R2M50、R3M10、R4M43、R5M13、R8M23 和



注: H. 合系 35 号; Y. 云南元江普通野生稻; a) 稃毛; b) 酚反应; c) 第 1~2 穗节间的长度; d) 抽穗时壳色; e) 叶毛; f) 籽粒宽度; g) 籽粒长度; 下同。

Note: H. Hexi 35; Y. *O. rufipogon* in Yuanjiang, Yunnan Province; a) lemma hair; b) phenol reaction; c) internode length of the first and second panicle; d) glume color at heading; e) leaf hair; f) grain width; g) grain length; the same as below.

图 1 云南元江普通野生稻和合系 35 号的程式指数法 6 个指标形态比较

Fig. 1 Comparison of the six indexes of the Cheng's index of *Oryza rufipogon* in Yuanjiang, Yunnan Province and Hexi 35

R8M46 等 9 对标记扩增出纯合籼型基因型带型, 而 R4M13、R4M50、R7M20、R9M20 和 R11M40 等 5 对引物则扩增出籼—粳杂合基因型带型, 说明普通野生稻已发生一定程度的籼粳分化。

InDel 分子标记所划分的 7 种籼粳类型在 354 份渗入系后代中均有出现, 其中典型籼稻 113 份、籼稻 84 份、偏籼 36 份、中间类型 29 份、偏粳 21 份、粳稻 24 份和典型粳稻 47 份, 普通野生稻渗入系资源中含有籼型血缘的籼型稻数量最多 (233 份), 表明 354 份渗入系资源籼粳分化明显,

但大部分资源以籼型稻为主。

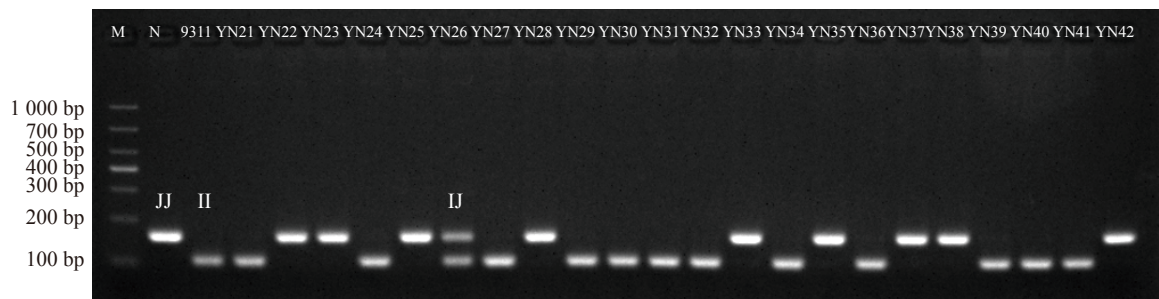
2.3 程式指数法与 InDel 分子指数法对稻属资源籼粳分类的比较分析

除普通野生稻和 26 份渗入系后代外, 其他稻属资源经 2 种籼粳鉴定方法得到的结果基本一致。程式指数法和 InDel 分子指数法分别将普通野生稻划分为偏籼和偏粳; 在鉴定结果不一致的 26 份渗入系后代中, YN351、YN343、YN334 和 YN344 经程式指数法分别鉴定为粳稻、籼稻、籼稻和籼稻, 而 InDel 分子指数法则将这些资源分



图 2 部分云南元江普通野生稻渗入系资源的程式指数法的指标形态比较

Fig. 2 Comparison index patterns of the Cheng's index for some introgression lines of *O. rufipogon* in Yuanjiang, Yunnan Province



注: M. DL1000 DNA Marker; N. 梗稻日本晴; 9311. 籼稻 9311; JJ. 纯合梗稻带型; II. 纯合籼稻带型; IJ. 籼梗杂合带型。

Note: M. DL1000 DNA Marker; N. *japonica* Nipponbare; 9311. *indica* 9311; JJ. homozygous *japonica* banding pattern; II. homozygous *indica* banding pattern; IJ. heterozygous type of *indica-japonica*.

图 3 InDel 引物 R1M47 扩增 22 份云南元江普通野生稻渗入系的多态性

Fig. 3 InDel primer R1M47 amplified polymorphisms of 22 introgression lines of *O. rufipogon* in Yuanjiang, Yunnan Province

别划分为典型籼稻、梗稻、偏梗和偏粳; YN33、YN45、YN56、YN83、YN84、YN91、YN92、YN104、YN105、YN109、YN116、YN123、YN126、YN129、YN208、YN211、YN214、YN293、YN338、YN340、YN348 和 YN354 等 22 份资源经 2 种方法鉴定后划分的籼粳类型也都存在不同程度的差异。由此可见, 程式指数法和 InDel 分子指数法的拟合度较高, 可达 92.42%, 进一步表明这 2 种籼粳属性的鉴定方法都具有较高的准确性。2 种籼粳分类方法均在 354 份渗入系后代中鉴定出较多的籼型稻资源, 其中, 程式指数法鉴定出籼型稻 (籼稻和偏粳) 255 份 (占有后代资源的 72.03%), In-

Del 分子指数法鉴定出籼型稻 (典型籼稻、籼稻和偏粳) 233 份 (占有后代资源的 65.82%), 表明在渗入系后代资源中以带有籼型血缘的资源为主。

3 讨论

栽培稻的籼粳分化是栽培稻经历漫长历史演化后形成的 2 类在农业生态环境、表观形态以及基因组水平上均存在较大差异的栽培稻类型^[6, 20]。稻属资源的籼粳鉴定通常采用形态学鉴定和 DNA 水平上的分子标记法。目前, 形态学鉴定主要采用经典的程式指数法, 该法大多适用于遗传背景相对简单的籼型或粳型材料鉴定, 具有观测和鉴

别简便等优点,是农业育种生产上应用较为广泛的传统方法,但此法对操作者要求较高,需要具有一定经验才能准确判断调查对象的籼粳属性^[20]。随着分子生物学的不断发展,SSR、RAPD、RFLP 和 ILP 等分子标记成为稻属资源籼粳分类的有效方法,但这些标记并非根据籼稻和粳稻的差异而设计,极大影响了鉴定结果的准确性^[6,12-15]。随着粳稻日本晴和籼稻 9311 全基因组测序的完成,针对籼、粳稻基因组序列的特异性差异而设计的 InDel 标记为稻属资源的籼粳鉴定提供了成熟、准确的方法,该方法不仅可以准确、高效地鉴定籼粳类型,还可以精准地计算籼粳分化程度^[21-22]。王友林等^[6]、李小湘等^[18]和刘丹等^[23]先后验证了 InDel 标记在偏籼、偏粳、渗入大量亚种片段的中间型栽培稻、稻属的野生种及近缘种等遗传背景复杂资源籼粳属性鉴定的准确性。程式指数法是根据研究对象 6 个形态指标的综合分值将其分为籼型、偏籼型、偏粳型和粳型等 4 种类型;而 InDel 分子标记则根据研究对象的籼、粳基因频率将其进一步划分为 7 种类型(典型籼稻、籼稻、偏籼、中间型、偏粳、粳稻及典型粳稻)。本研究采用程式指数法和 InDel 分子指数法同时对 356 份稻属资源的籼粳类别进行鉴定,除遗传背景较为复杂、原始性较强的云南元江普通野生稻和极少部分渗入系后代外,其他 329 份稻属资源经 2 种籼粳鉴定方法所划分的籼粳类别基本一致,拟合度高达 92.42%,证实了程式指数法和 InDel 分子指数法在鉴定稻属资源籼粳属性上均具有较高的可靠性。此外,InDel 分子指数法鉴定籼粳属性时仅需小部分叶片即可分析,鉴定过程不需要经历完整的水稻生育期,受外界环境影响不大;而程式指数法比较简便、易于观测,可广泛应用于田间大规模水稻选育工作。

普通野生稻 (*O. ruipogon* Griff.) 是栽培稻的重要野生祖先种,具有极其丰富的变异类型和基因资源,是所有野生稻中研究和育种利用较为广泛和成熟的资源,普通野生稻在水稻起源进化、遗传分化、分类、重要基因发掘及维系稻种资源多样性等方面具有重要地位^[6-9]。近年来,中国主要普通野生稻居群籼粳分化研究工作相继展开。李小湘等^[18]以 38 对 InDel 籼粳特异性标记对江永普通野生稻 3 个不同年份(1982 年、2008 年及 2017 年)样本的籼粳属性及籼粳分化程度进行鉴

定分析,结果表明:江永普通野生稻居群大部分属于粳稻,少数属偏粳型,且随着年份的增加粳稻逐渐向偏粳型分化。陈芬等^[24]对 174 份粤北普通野生稻的 SSR 籼粳特异性鉴定表明:除 2 份粤北普通野生稻资源为偏籼外,其余 172 份资源均为偏粳型。崔莹莹等^[14]和尹昭坤等^[25]先后用 22 对 SSR 引物和 ITS 序列克隆测序技术对海南普通野生稻居群的籼粳类型进行划分,结果表明:海南普通野生稻存在一定的籼粳分化。袁平荣等^[26]、孙传清等^[27]及李亚莉等^[4]先后采用 RFLP 标记、形态特征、同工酶和亲和性及 SSR 标记对云南元江普通野生稻的籼粳进行鉴定,结果表明:云南元江普通野生稻居群比较纯且原始,已经发生了籼粳分化但不明显,部分群体偏粳。本研究分别采用传统形态学鉴定的程式指数法和 InDel 分子指数法对云南元江普通野生稻、合系 35 号及两者杂交得到的 354 份渗入系后代的籼粳属性进行分析,程式指数法将普通野生稻划分为偏籼,而 InDel 分子指数法则根据各个 InDel 位点上的条带位置和籼、粳基因频率将其划分为偏粳,此结果与袁平荣等^[26]以形态特征和同工酶分析得到的结果相似。本研究中普通野生稻经程式指数法鉴定为偏籼而 InDel 分子标记则将其划分为偏粳,其原因可能是普通野生稻籼粳分化不明显,在形态上部分表型性状籼粳分化进度不一致,但 2 种籼粳属性的鉴定结果均表明普通野生稻中既有粳型血缘也有籼型血缘,充分体现了云南元江普通野生稻的原始性和分化不彻底性。

本研究中,程式指数法鉴定普通野生稻 6 项指标的总分为 11 分,属偏籼型,合系 35 号总分为 24 分,属粳型;而 InDel 分子指数法鉴定出的普通野生稻和合系 35 号的籼型基因频率分别为 0.32 和 0.04,被划分为偏粳和典型粳稻。可见,在 2 种亲本材料中籼型成分较少。而在 354 份渗入系后代中,经 2 种籼粳鉴定分类的结果均是带有籼型血缘的材料居多,其原因可能与 354 份渗入系资源有关。这 354 份渗入系是从普通野生稻和合系 35 号杂交得到的 4 006 份资源中经多年田间调查筛选后留下的综合性状较优、遗传稳定的渗入系代表材料,即这些材料都经过人工选择,所以才有了亲本籼型成分不多但含有较多籼型材料后代的结果。

4 结论

云南元江普通野生稻已发生籼粳分化, 其形态学特征偏籼, 但 InDel 分子指数法鉴定出的结果总体偏粳, 充分说明普通野生稻的原始性和分化不彻底性。程式指数法和 InDel 分子指数法对其渗入系后代的籼粳鉴定结果基本一致, 拟合度高达 92.42%, 其渗入系后代材料的籼粳分化明显, 且以带有籼型血缘的材料居多, 此结果与杂交后代筛选时的人工选择有关。

[参考文献]

- [1] 黄娟, 梁云涛, 陈成斌, 等. 普通野生稻遗传分化及水稻起源关系研究进展[J]. 南方农业学报, 2015, 46(10): 1756. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1191.2015.10.1756.
- [2] 黄娟, 高利军, 高菊, 等. 亚洲6国普通野生稻群体遗传多样性分析[J]. 西南农业学报, 2019, 32(2): 232. DOI: 10.16213/j.cnki.scjas.2019.2.002.
- [3] 杨庆文, 戴陆园, 时津霞, 等. 云南元江普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.) 遗传多样性分析及保护策略研究[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(1): 1. DOI: 10.13430/j.cnki.jpgr.2004.01.001.
- [4] 李亚莉, 杨晓曦, 赵丰萍, 等. 云南元江普通野生稻 (*Oryza rufipogon*) 群体籼粳分化的SSR分析[J]. 中国水稻科学, 2006, 20(2): 137. DOI: 10.16819/j.1001-7216.2006.02.004.
- [5] 陈越, 陈玲, 丁明亮, 等. 基于InDel分子标记的云南地方稻籼粳属性与表型性状相关分析[J]. 南方农业学报, 2020, 51(4): 758. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1191.2020.04.004.
- [6] 王林友, 张礼霞, 勾晓霞, 等. 利用InDel标记鉴定水稻育种材料的籼粳属性[J]. 核农学报, 2013, 27(7): 913. DOI: 10.11869/hnxb.2013.07.0913.
- [7] 王象坤, 才宏伟, 孙传清, 等. 中国普通野生稻的原始型及其是否存在籼粳分化的初探[J]. 中国水稻科学, 1994, 8(4): 205. DOI: 10.16819/j.1001-7216.1994.04.003.
- [8] ZHU Q H, ZHENG X M, LUO J C, et al. Multilocus analysis of nucleotide variation of *Oryza sativa* and its wild relatives: severe bottleneck during domestication of rice[J]. Molecular Biology & Evolution, 2007, 24(3): 875. DOI: 10.1093/molbev/msm005.
- [9] KAWAKAMI S, EBANA K, NISHIKAWA T, et al. Genetic variation in the chloroplast genome suggests multiple domestication of cultivated Asian rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Genome, 2007, 50(2): 180. DOI: 10.1139/G06-139.
- [10] 程侃声, 王象坤, 卢义宣, 等. 云南省稻种资源的综合研究与利用: IX. 论亚洲栽培稻的籼粳分类[J]. 作物品种资源, 1988(1): 1. DOI: 10.19462/j.cnki.1671-895x.1988.01.001.
- [11] 程侃声. 亚洲稻籼粳亚种的鉴别[M]. 昆明: 云南科学技术出版社, 1993.
- [12] 王彩红, 徐群, 于萍, 等. 亚洲栽培稻程氏指数与SSR标记分类的比较分析[J]. 中国水稻科学, 2012, 26(2): 165. DOI: 10.3969/j.issn.1001-7216.2012.02.005.
- [13] 钱惠荣, 沈波, 林鸿宣, 等. 水稻籼粳特异性RFLP标记及广亲和品种亲缘关系分析[J]. 中国水稻科学, 1994, 8(2): 65. DOI: 10.16819/j.1001-7216.1994.02.001.
- [14] 崔莹莹, 郭安平, 王晓玲, 等. RAPD和SSR标记检测海南普通野生稻籼粳分化的比较研究[J]. 热带作物学报, 2009, 30(6): 773. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2009.06.010.
- [15] 许旭明, 梁康迳, 张受刚, 等. 利用ILP标记分析水稻籼粳杂交亲本和衍生系的籼粳分化[J]. 中国农业科学, 2009, 42(10): 3388. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2009.10.002.
- [16] LU B R, CAI X X, JIN X. Efficient *indica* and *japonica* rice identification based on the InDel molecular method: its implication in rice breeding and evolutionary research[J]. Progress in Natural Science, 2009, 19(10): 1241. DOI: 10.1016/j.pnsc.2009.01.011.
- [17] 陈成斌, 李道远, 黄勇, 等. 广西普通野生稻籼粳性状研究[J]. 绵阳农专学报, 1995, 12(3): 1.
- [18] 李小湘, 赵文锦, 黎用朝, 等. 江永普通野生稻遗传多样性和籼粳基因频率监测分析[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(3): 685. DOI: 10.13430/j.cnki.jpgr.20180924001.
- [19] 董铁博. 海南普通野生稻生物学特性和籼粳分化研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [20] 徐建欣, 杨洁, 李美萱, 等. 利用InDel分子标记分析海南山栏稻品种籼粳特性[J]. 中国农学通报, 2017, 33(36): 7. DOI: 10.11924/j.issn.1000-6850.casb17090109.
- [21] 左生力, 彭玉林, 李齐向, 等. 水稻亲本籼粳分化程度与杂种优势的相关性[J]. 南方农业学报, 2019, 50(5): 942. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1191.2019.05.04.
- [22] 桂君梅, 王林友, 范小娟, 等. 基于InDel分子标记的籼粳杂交稻与粳粳杂交稻的杂种优势比较研究[J]. 中国农业科学, 2016, 49(2): 219. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2016.02.003.
- [23] 刘丹, 王嘉宇, 马殿荣, 等. 东北地区杂草稻与栽培稻的遗传多样性及籼粳分化[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(2): 217. DOI: 10.13430/j.cnki.jpgr.2017.02.007.
- [24] 陈芬, 陈雨, 曲延英, 等. 粤北普通野生稻籼粳分化的SSR分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, 28(1): 51.
- [25] 尹昭坤, 廖承红, 徐立新, 等. 基于ITS序列分析对海南普通野生稻籼粳分化的研究[J]. 生物技术进展, 2012, 2(4): 270. DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2012.04.06.
- [26] 袁平荣, 卢义宣, 黄迺威, 等. 云南元江普通野生稻分化的研究: I. 形态及酯酶、过氧化氢酶同工酶分析[J]. 北京农业大学学报, 1995(2): 133.
- [27] 孙传清, 王象坤, 才宏伟, 等. 中国普通野生稻和亚洲栽培稻核基因组的遗传分化[J]. 中国农业大学学报, 1997, 2(5): 65.

责任编辑: 何承刚