

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2016.11.001

# 日本晴与 5 个优良恢复系的多态性 标记筛选及遗传差异分析<sup>①</sup>

赵芳明, 郭超, 魏霞, 杨正林, 凌英华,  
桑贤春, 王楠, 张长伟, 李云峰, 何光华

西南大学 水稻研究所/农业部西南作物遗传改良与育种重点开放实验室, 重庆 400715

**摘要:** 遗传基因的分离需要供、受体亲本间较大的遗传差异. 该文利用均匀分布于水稻 12 条染色体的 429 个 SSR 标记, 分析了日本晴与 5 个自育优良恢复系之间的多态性标记及分布密度, 进而评价它们间的遗传差异性. 结果显示, 日本晴与西恢 18 号、缙恢 35、R225、R232 和 R250 之间的多态性标记数分别为 263, 253, 253, 255 和 240 个; 多态率分别为 61.31%, 58.97%, 58.97%, 59.44% 和 55.94%; 每个标记间的平均物理距离分别为 1.59, 1.61, 1.62, 1.62 和 1.72 Mb. 每个 SSR 位点可检测到的等位基因数目为 2~5 个, 平均每对 SSR 引物检测到 2.35 个等位基因. 各亲本之间的遗传距离在 0.121 7~0.896 7 之间, 日本晴与 5 个恢复系间的平均遗传距离为 0.857 6. 聚类分析也将日本晴与 5 个恢复系分为两大亚类, 表明它们之间存在极大的遗传差异. 这些材料和结果对水稻遗传基因的分离具有重要意义.

**关键词:** SSR 标记; 多态性; 日本晴; 恢复系; 遗传差异

**中图分类号:** S511

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2016)11-0001-07

水稻是世界上最主要的粮食作物之一, 全球种植面积超过  $1.5 \times 10^8 \text{ hm}^2$ , 总产量接近  $6.0 \times 10^8 \text{ t}$ <sup>[1]</sup>. 水稻以其较小的基因组、成熟的遗传转化体系、高密度的遗传连锁图谱、全基因组已经测序完成等优势, 已成为单子叶植物遗传研究的模式植物<sup>[2]</sup>. 水稻许多重要的农艺性状, 如产量、抗性、品质等都是由微效多基因控制的数量性状, QTL 的定位和克隆促进了人们对这些复杂性状的理解与应用<sup>[3-5]</sup>.

然而, 利用传统作图群体进行 QTL 定位和克隆费时费力, 次级作图群体更有利于 QTL 作图和图位克隆<sup>[6]</sup>, 尤其是定位结果可直接应用于育种实践, 大大加强了遗传学家与育种学家间的联系<sup>[7-8]</sup>. 用于次级作图群体构建的受体亲本和供体亲本的选择至关重要, 首先二者的遗传差异要足够大. SSR 标记具有多态性高、稳定性好、操作简单、快捷、DNA 需求量少等优点, 适合遗传资源间的遗传多样性分析、分子定位及辅助选择等领域<sup>[9-14]</sup>. 许凤等<sup>[9]</sup>利用 SSR 标记将云南 39 份蔷薇野生种分为 10 个组. 姚启伦等<sup>[10]</sup>利用 SSR 标记将 15 个玉米地方品种划分成 3 类. 陈英等<sup>[11]</sup>以 SSR 标记分析了三系杂交稻亲本间的遗传多样性. 王志敏等<sup>[12]</sup>以 RAPD 和 ISSR 标记分析了生姜二倍体和四倍体的遗传差异. 可见, SSR 标记用于遗传差异分析、品种鉴定和资源分类很有效.

本研究利用 SSR 标记分析了日本晴与 5 个优良恢复系之间的多态性及遗传差异, 为水稻次级作图群体的构建提供重要的理论基础.

① 收稿日期: 2015-09-15

基金项目: 重庆市科技攻关计划重点项目(CSTC2012ggC80002).

作者简介: 赵芳明(1972-), 男, 山西宁武人, 博士, 研究员, 主要从事水稻遗传育种研究.

通信作者: 何光华, 教授, 博士研究生导师.

# 1 材料与方法

## 1.1 试验材料

日本晴和优良恢复系西恢 18 号、缙恢 35、R225、R232、R250。5 个恢复系均由西南大学水稻研究所选育。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 田间种植方法

2013 年,在重庆种植日本晴、西恢 18 号、缙恢 35、R225、R232、R250。每个材料种植 3 行,每行栽 10 株,行、株距分别为 26.4 cm 和 16.5 cm。常规管理,栽秧后 2 周,每个材料取 2 片叶。

### 1.2.2 DNA 提取方法

DNA 提取采用 CTAB 法进行<sup>[15]</sup>,略加改进。

### 1.2.3 PCR 反应及电泳

选取均匀覆盖水稻全基因组的 429 对 SSR 引物对日本晴和供体亲本恢复系进行多态性分析。PCR 反应总体积为 12.5  $\mu\text{L}$ ,包括 1.25  $\mu\text{L}$  的  $10\times$ PCR buffer, 0.65  $\mu\text{L}$  的 25 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ , 0.5  $\mu\text{L}$  的 2.5 mmol/L dNTPs, 8.0  $\mu\text{L}$  的 ddH<sub>2</sub>O, 1.0  $\mu\text{L}$  的 10  $\mu\text{mol/L}$  引物, 1.0  $\mu\text{L}$  的模板 DNA 和 0.1  $\mu\text{L}$  的 5 U/ $\mu\text{L}$  Taq DNA 聚合酶。PCR 反应程序为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min 后, 94  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 56  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  40 s, 35 个循环, 最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 7 min。对 PCR 产物经 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和快速银染后进行观察<sup>[16]</sup>。

### 1.2.4 数据统计与分析

首先对电泳条带进行多态性分析,将日本晴带型标记为“1”,与之相同记为“1”,如不同标记为“2”,与“2”不同,则依次标记为“3”、“4”、“5”。凡不同的带型表示二者间存在多态性。

选取亲本间多态性好的 271 对分子标记,每一对分子标记引物检测一个位点,每一条多态性带视为一个等位基因列出二元数据矩阵。每两份材料之间的遗传差异按 NEI<sup>[17]</sup>的方法计算材料间的遗传距离( $D$ )。

$$D = 1 - 2M_{xy} / (M_x + M_y)$$

其中  $M_x$  和  $M_y$  分别为两材料的总 DNA 片段数,  $M_{xy}$  为两材料的公共片段数。根据所得的遗传距离,利用 DPS7.05 软件中聚类分析的 UPGMA 法(Unweighed pairgroup method with arithmetic mean, 算术平均非加权配组法)进行遗传相似性聚类分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 日本晴与 5 个水稻恢复系之间的 SSR 标记多态性分析

### 2.1.1 日本晴与 5 个恢复系之间的 SSR 标记及在染色体上的分布

使用了均匀分布于水稻 12 条染色体的 429 个 SSR 标记,分析了日本晴和供体恢复系间的多态性。筛选出日本晴与西恢 18 号、缙恢 35、R225、R232 和 R250 之间的多态性标记数分别为 263, 253, 253, 255 和 240。多态率分别为 61.31%, 58.97%, 58.97%, 59.44% 和 55.94% (表 1)。

同一恢复系的多态性标记在 12 条染色体上分布不同。多态性标记分布较多的染色体为第 1, 2, 3, 5 和 10 染色体, 分布较少的为第 11, 4, 6, 8 和第 9 染色体。

从表 1 还可看出,在同一染色体上,日本晴与不同恢复系之间的多态性标记数也各不相同。如在第 1 染色体上,日本晴与西恢 18 号、缙恢 35、R225、R232 和 R250 之间的多态性标记数分别为 40, 33, 35, 36 和 36。

### 2.1.2 在每条染色体上日本晴与 5 个水稻恢复系的多态标记分布密度

从表 2 可知,日本晴与西恢 18 号、缙恢 35、R225、R232 和 R250 的多态性标记间平均物理距离相差不大,分别为 1.59, 1.61, 1.62, 1.62 和 1.72 Mb/标记。然而,同一供体亲本与日本晴在 12 条染色体上的标记分布密度存在明显差异。日本晴与西恢 18 号之间在第 10, 2, 5 和 1 染色体上的多态标记分布密度较大,每标记间的平均物理距离分别为 0.88, 0.91, 1.07 和 1.08 Mb; 而在第 11, 4, 6 和 8 染色体上多态标记分布密度较小,分别为 2.87, 2.52, 2.31 和 2.00 Mb。日本晴与缙恢 35 之间在第 10, 2, 5 和 12 染色体上多态标记分布密度较大,每标记间的平均物理距离分别为 0.88, 0.94, 1.21, 1.27 Mb; 而在第 11, 4, 6 和 8 染色体上多态标记分布密度较小,分别为 3.23, 2.21 和 1.88 和 1.86 Mb。日本晴与恢复系 R225 之间在第 10, 2, 12 和 9 染色体分布较密,每标记间的平均物理距离分别为 0.92, 0.99, 1.16 和 1.19 Mb; 而在第 11, 4, 6 和 8

染色体上多态标记分布密度较低, 分别为 3.23, 2.36, 2.00 和 2.00 Mb. 日本晴与恢复系 R232 之间在第 2, 10, 1 染色体上多态标记的分布密度较大, 每标记间的平均物理距离分别为 0.91, 0.92 和 1.19 Mb; 而在第 11, 8, 4 和 6 染色体上多态标记分布密度较低, 分别为 3.23, 2.15, 2.08 和 2.00 Mb. 日本晴与 R250 之间在第 2, 10, 1 和 9 染色体上多态标记分布密度较大, 每标记间的平均物理距离分别为 0.96, 1.09, 1.19 和 1.19 Mb; 而在第 11, 6, 4 和 8 染色体上多态标记分布密度较低, 分别为 3.23, 2.73, 2.21 和 2.00 Mb. 可见, 所有供体亲本与日本晴的多态性标记在 12 条染色体上的分布有一共性, 都在第 10, 2, 1, 5 染色体分布密度较大, 而在第 11, 4, 6 和 8 染色体上多态标记分布密度较低.

从表 2 还可看出, 在同一染色体上, 不同恢复系与日本晴之间的多态性标记分布密度也存在差异. 如 在第 1 染色体上, 日本晴与西恢 18、缙恢 35、R225、R232 和 R250 多态标记的平均距离分别为 1.08, 1.30, 1.23, 1.19 和 1.19 Mb, 而在第 11 染色体的分布密度除西恢 18 号较小外, 其他 3 个供体亲本间相同, 平均距离均为 3.23 Mb.

表 1 日本晴与各水稻恢复系间的总标记数和多态性标记及在各染色体上的分布

染色体	标记数	西恢 18 号	缙恢 35	R225	R232	R250
Chr1	58	40	33	35	36	36
Chr2	56	38	37	35	38	36
Chr3	49	24	27	27	28	26
Chr4	25	14	16	15	17	16
Chr5	42	26	23	23	23	21
Chr6	24	13	16	15	15	11
Chr7	27	17	16	15	15	17
Chr8	27	14	15	14	13	14
Chr9	29	19	15	18	15	18
Chr10	44	26	26	25	25	21
Chr11	16	9	8	8	8	8
Chr12	32	23	21	23	22	16
合计	429	263	253	253	255	240
多态率/%	—	61.31	58.97	58.97	59.44	55.94

表 2 日本晴与 5 个水稻恢复系在每条染色体上多态标记的分布密度

染色体	物理距离/ Mb	平均物理距离/Mb					平均距离/ Mb
		日本晴与 西恢 18 号	日本晴与 缙恢 35	日本晴与 R225	日本晴与 R232	日本晴与 R250	
Chr1	43.01	1.08	1.30	1.23	1.19	1.19	1.20
Chr2	34.67	0.91	0.94	0.99	0.91	0.96	0.94
Chr3	35.12	1.46	1.30	1.30	1.25	1.35	1.33
Chr4	35.33	2.52	2.21	2.36	2.08	2.21	2.27
Chr5	27.79	1.07	1.21	1.21	1.21	1.32	1.20
Chr6	30.01	2.31	1.88	2.00	2.00	2.73	2.18
Chr7	28.59	1.68	1.79	1.91	1.91	1.68	1.79
Chr8	27.93	2.00	1.86	2.00	2.15	2.00	2.00
Chr9	21.41	1.13	1.43	1.19	1.43	1.19	1.27
Chr10	22.96	0.88	0.88	0.92	0.92	1.09	0.94
Chr11	25.85	2.87	3.23	3.23	3.23	3.23	3.16
Chr12	26.6	1.16	1.27	1.16	1.21	1.66	1.29
平均	28.27	1.59	1.61	1.62	1.62	1.72	1.63

## 2.2 日本晴与 5 个恢复系之间的遗传差异分析

### 2.2.1 多态性标记、染色体位置及等位基因数目

通过对 271 对多态性较好的标记扩增结果进行统计分析, 在 6 份水稻材料中, 共检测到 648 对等位基因. 每个 SSR 位点可检测到的等位基因数目为 2~5 个不等, 在试验中未出现零等位现象, 平均每对 SSR 引物检测到 2.35 个等位基因(表 3). 其中第 1~12 染色体分别有 89, 65, 66, 51, 70, 42, 45, 30, 45, 64, 22 和 59 个等位基因. 分布的等位基因数与标记数呈极显著线性相关( $r=0.97$ ).

表 3 多态性标记、染色体及等位基因数目

分子 标记	染色体	等位 基因数	分子 标记	染色体	等位 基因数	分子 标记	染色体	等位 基因数	分子 标记	染色体	等位 基因数	分子 标记	染色体	等位 基因数	分子 标记	染色体	等位 基因数
RM6464	1	2	RM6141	1	5	RM12177	1	2	RM1358	2	2	RM14327	3	2	RM1155	4	3
RM3426	1	2	RM3362	1	2	RM300	2	3	RM207	2	4	RM14340	3	2	RM119	4	3
RM151	1	2	RM6840	1	2	RM5707	2	4	RM7388	2	2	RM14341	3	2	RM3524	4	2
RM8111	1	2	RM6831	1	2	RM8254	2	3	RM14133	2	2	RM14350	3	3	RM5611	4	2
RM1201	1	2	A68	1	2	RM262	2	2	RM4108	3	2	RM14351	3	2	RM241	4	2
RM259	1	3	RM10605	1	2	RM6843	2	4	RM132	3	2	RM14356	3	2	RM7187	4	2
RM8094	1	2	RM11694	1	2	RM3688	2	2	RM175	3	3	RM14412	3	2	RM317	4	3
RM5638	1	2	RM1216	1	2	RM3874	2	2	RM3766	3	3	RM14396	3	4	RM3474	4	4
RM8260	1	2	RM6648	1	3	RM5804	2	3	RM5928	3	2	RM6849	3	2	RM1100	4	2
RM3475	1	2	RM11722	1	2	RM1920	2	4	RM2917	3	3	RM197	3	2	RM1153	4	3
RM7202	1	2	RM6387	1	3	RM1385	2	2	RM2835	3	2	RM15191	3	3	RM6303	4	2
RM3143	1	2	RM11728	1	2	RM221	2	2	RM1940	3	2	RM15303	3	4	RM2010	5	2
RM433	1	2	RM11762	1	2	RM1342	2	2	RM5864	3	2	RM537	4	3	RM3345	5	3
RM1268	1	2	RM11787	1	2	RM5472	2	2	RM6266	3	2	RM8212	4	3	RM405	5	2
RM6950	1	2	RM5501	1	3	RM112	2	2	RM135	3	3	RM6487	4	2	RM5874	5	2
RM6696	1	4	RM3825	1	3	RM1092	2	3	RM5813	3	2	RM3471	4	3	RM3322	5	3
RM3602	1	3	RM2770	2	3	RM213	2	3	RM3867	3	2	RM3536	4	3	RM5541	5	2
RM6292	1	2	RM3732	2	3	RM3248	2	2	RM1230	3	2	RM3317	4	3	RM3328	5	3
RM5362	1	2	RM8086	1	2	RM6378	2	2	RM3346	3	2	RM5688	4	4	RM5994	5	2
RM5410	1	2	RM529	1	2	RM5699	2	2	RM3585	3	2	RM6314	4	2	RM7293	5	2
RM289	5	3	RM7434	6	3	RM1132	7	3	RM1553	9	3	RM7300	10	2	SWU11-33	11	2
RM169	5	4	RM5957	6	3	RM8261	7	2	RM242	9	2	RM4477	10	3	RM4504	11	2
RM1237	5	3	RM5371	6	2	RM2715	7	3	RM201	9	3	RM4771	10	2	RM5568	12	2
RM459	5	2	RM6458	6	2	RM172	7	3	RM2144	9	2	RM6673	10	2	RM6288	12	3
RM305	5	2	RM2744	6	2	RM337	8	2	RM205	9	2	RM147	10	2	RM247	12	2
RM5642	5	4	RM7412	6	2	RM152	8	2	RM24537	9	2	RM474	10	2	RM7119	12	2
RM178	5	2	RM439	6	2	RM1235	8	2	RM4405	9	2	RM3590	10	2	RM1337	12	4
RM3321	5	3	RM412	6	2	RM3231	8	2	RM7048	9	2	RM5271	10	3	RM1261	12	3
RM3170	5	4	RM103	6	2	RM4085	8	2	RM1553	9	3	RM6404	10	2	RM1246	12	2
RM18115	5	2	RM494	6	3	RM310	8	2	ind1	9	2	RM3882	10	2	RM935	12	2
RM18119	5	2	RM6574	7	2	RM8019	8	2	ind2	9	2	RM7402	10	2	RM3331	12	2
RM18120	5	2	RM6081	7	2	RM8243	8	2	ind3	9	2	RM7217	10	3	RM1103	12	2
nSSR501	5	2	RM5672	7	3	RM7027	8	2	ind4	9	2	RM6271	10	3	RM5609	12	2
nSSR502	5	4	RM3583	7	2	RM6382	8	2	ind5	9	2	RM2504	10	3	RM3739	12	2
nSSR503	5	3	RM1186	7	3	RM223	8	2	ind6	9	2	RM216	10	2	RM17	12	3
nSSR504	5	3	RM6449	7	2	RM3262	8	2	RM5095	10	2	RM311	10	2	RM1226	12	2
nSSR505	5	2	RM5481	7	2	RM6976	8	2	RM2125	10	2	RM25151	10	2	RM1986	12	4
RM1985	6	2	RM1135	7	3	RM6845	8	2	RM8207	10	5	RM3717	11	3	RM6869	12	3
RM2126	6	2	RM445	7	2	RM477	8	2	RM3311	10	3	RM1124	11	3	RM7018	12	2
RM3370	6	3	RM320	7	3	RM8206	9	2	RM8201	10	2	RM3701	11	2	RM7376	12	2
RM5531	6	2	RM2966	7	2	RM7390	9	2	RM5373	10	2	RM4862	11	2	RM3226	12	5
RM3330	6	3	RM3826	7	2	RM5657	9	2	RM171	10	2	RM457	11	2	RM27819	12	2
RM3183	6	2	RM1279	7	2	RM3700	9	2	RM1146	10	3	RM4601	11	2	RM27891	12	4
RM7193	6	3	RM455	7	2	RM1189	9	2	RM591	10	2	SWU11-31	11	2	RM27941	12	2
RM3827	6	2	RM7564	7	2	RM7048	9	2	RM7020	10	2	SWU11-32	11	2	RM519	12	2

### 2.2.2 日本晴与 5 个恢复系之间的遗传距离聚类分析

根据 271 对 SSR 引物在 6 个水稻亲本扩增的多态性位点, 计算出不同个体之间的扩增片段遗传距离(D), 采用标准遗传距离进行分析. 结果表明, 各亲本之间的遗传距离在 0.121 7~0.896 7 之间, R232 与缙恢 35 之间遗传距离最小为 0.121 7, 日本晴与西恢 18 号之间的遗传距离最大为 0.896 7. 6 个亲本之间的平均遗传距离为 0.532 6. 日本晴与 5 个供体恢复系间的平均遗传距离为 0.857 6(图 1), 表明 5 个恢复系与日本晴间存在极大的遗传差异.

进一步利用遗传距离对 6 份亲本材料进行聚类分析, 将所有材料分为两大亚类(图 1). 受体亲本日本晴为一亚类, 5 个恢复系供体为另一亚类. 在恢复系一亚类中, 西恢 18 号与其他 4 个恢复系遗传差异较大, 可再分为一亚类, 差异最小的为 R232 与缙恢 35.

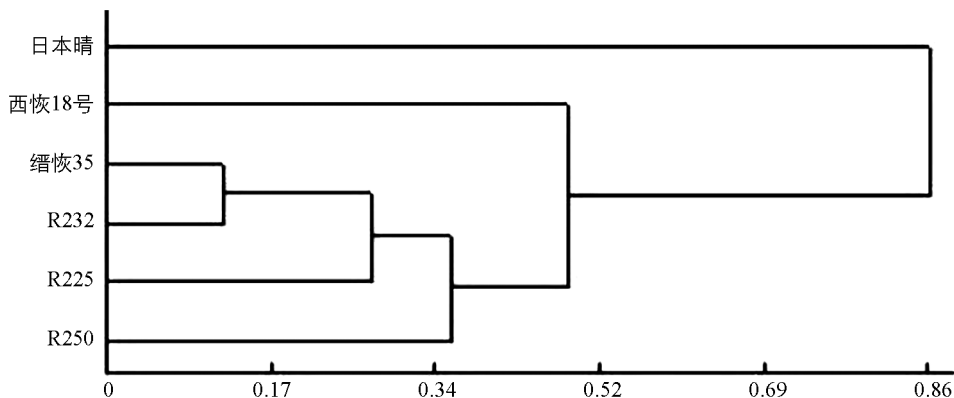


图 1 6 个水稻材料的遗传距离树状图

## 3 讨论与结论

利用次级作图群体已成为 21 世纪鉴定和分离 QTL 及研究 QTL 互作的主要手段<sup>[18]</sup>. 作图群体的构建首要在于受体亲本和供体亲本的选择. 二者间遗传差异大、多态性标记多更利于 QTL 定位和克隆. 张晨昕等<sup>[19]</sup>在珍汕 97B 和野生稻(*O. rufipogon*)亲本间共检测到 325 个 SSR 标记, 筛选到多态性引物 204 对, 多态性比例为 62.8%, 标记间的平均距离为 8.2 cM. 何风华等<sup>[20]</sup>研究结果表明, 华粳 74 与 6 个供体亲本(苏御糯、IR64、IRAT261、成龙水晶米、Lemont 和 IAPAR9)的多态标记之间的平均图距都小于或等于 10.0 cM. 徐华山等<sup>[21]</sup>在 9311 和日本晴之间共获得有多态性的标记 125 对, 多态性为 41.7%, 平均图距为 14.0 cM. 曾瑞珍等<sup>[22]</sup>发现 12 个供体亲本与受体亲本华粳 74 的平均多态率为 50%. 其中南洋占与华粳 74 之间的多态率高达 70%, 而中 4188, IR58025B 和赣香糯较低, 均小于 40%. 可见, 作图群体受、供体亲本间的多态率高低与图距大小有直接关系, 如果分子标记多态率高, 遗传图谱的平均图距则小, 检出 QTL 的准确率就较高. 因此, 受、供体间的遗传差异大小直接影响到所构建的作图群体能检出 QTL 的能力, 进而决定其在育种中的应用价值. 因此, 用于群体构建的遗传资源多样性的评价具有非常重要的意义.

本文采用 429 对 SSR 标记评价了日本晴和 5 个恢复系之间的多态性和遗传差异. 结果筛选出日本晴与西恢 18 号、缙恢 35、R225、R232 和 R250 之间的多态性标记数分别为 263, 253, 253, 255, 240. 多态率分别为 61.31%, 58.97%, 58.97%, 59.44% 和 55.94%. 每个多态性标记间的平均物理距离为 1.63 Mb. 各材料之间的遗传距离在 0.121 7~0.896 7 之间, 日本晴与 5 个供体恢复系间的平均遗传距离为 0.857 6. 聚类分析也将日本晴与 5 个恢复系分为两大类, 表明受体亲本日本晴与 5 个供体恢复系间存在极大的遗传差异, 利于构建密度较均匀的次级作图群体.

## 参考文献:

- [1] DELSENY M, SALSES J, COOKE R, et al. Rice Genomics: Present and Future [J]. *Plant Physiol Bioch*, 2001, 39(3/4): 323–334.
- [2] 万建林, 翟虎渠, 万建民. 水稻基因组研究的现状和展望 [J]. *江西农业大学学报(自然科学版)*, 2002, 24(2): 213–219.
- [3] TANG Shao-qing, SHAO Gao-neng, WEI Xiang-jin, et al. QTL Mapping of Grain Weight in Rice and the Validation of the QTL qTGW3.2 [J]. *Gene*, 2013, 527(1): 201–206.
- [4] YING Jie-zheng, GAO Ji-ping, SHAN Jun-xiang, et al. Dissecting the Genetic Basis of Extremely Large Grain Shape in Rice Cultivar ‘JZ1560’ [J]. *J Genet Genom*, 2012, 39(7): 325–333.
- [5] IKEDA M, MIURA K, AYA K, et al. Genes Offering the Potential for Designing Yield-Related Traits in Rice [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16(2): 213–220.
- [6] EBITANI T, TAKEUCHI Y, NONOUE Y, et al. Construction and Evaluation of Chromosome Segment Substitution Lines Carrying Overlapping Chromosome Segments of Indica Rice Cultivar ‘Kasalath’ in a Genetic Background of Japonica Elite Cultivar ‘Koshihikari’ [J]. *Breed Sci*, 2005, 55(1): 65–73.
- [7] ZHANG Gui-quan, ZENG Rui-zhen, ZHANG Ze-ming, et al. The Construction of a Library of Single Segment Substitution Lines in Rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Rice Genet Newsl*, 2004, 21: 85–87.
- [8] ZHAO Fang-ming, LIU Gui-fu, ZHU Hai-tao, et al. Unconditional and Conditional QTL Mapping for Tiller Numbers at Various Stages with Single Segment Substitution Lines in Rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Sci Agric Sin*, 2008, 7(3): 257–265.
- [9] 许 凤, 李 凌, 邱显钦, 等. 云南 39 个野生蔷薇种间遗传多样性的 SSR 分析 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2009, 31(6): 83–87.
- [10] 姚启伦, 姚成强. 利用 SSR 分子标记分析三峡库区玉米地方品种的遗传关系 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2007, 29(10): 119–123.
- [11] 陈 英, 邱 琳, 涂升斌, 等. 用 SSR 标记检测杂交水稻三系亲本的遗传差异 [J]. *应用与环境生物学报*, 2009, 15(5): 585–590.
- [12] 王志敏, 牛 义, 汤青林, 等. 生姜二倍体与四倍体基因组 DNA 的 RAPD 和 ISSR 分析 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2013, 35(2): 1–5.
- [13] 王晓雯, 苗润隆, 蒋钰东, 等. 水稻穗颈极度缩短突变体 *sui(t)* 的遗传分析与基因定位 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2013, 35(5): 1–6.
- [14] YE G, SMITH K F. Marker-Assisted Gene Pyramiding for Inbred Line Development: Basic Principles and Practical Guidelines [J]. *J Plant Breed*, 2008, 2(1): 1–10.
- [15] ROGERS S O, BENDICH A J. Extraction of DNA from Plant Tissues [J]. *Plant Mol Biol Manual*, 1988, A6: 1–10.
- [16] PANAUD O, CHEN Xiao-hong, MCCOUCH S R. Development of Microsatellite Markers and Characterization of Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) in Rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Mol Gen Genet*, 1996, 252(5): 597–607.
- [17] NEI M. *Molecular Evolution Genetic* [M]. New York: Columbia University Press, 1987.
- [18] 徐建国, 梁国华. 水稻染色体片段代换系群体的构建及应用研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(4): 1935–1938.
- [19] 张晨昕, 邱先进, 董华林, 等. 野生稻染色体片段代换系构建及其效应分析 [J]. *分子植物育种*, 2010, 8(6): 1113–1119.
- [20] 何风华, 席章营, 曾瑞珍, 等. 利用高代回交和分子标记辅助选择建立水稻单片段代换系 [J]. *遗传学报*, 2005, 32(8): 825–831.
- [21] 徐华山, 孙永建, 周红菊, 等. 构建水稻优良恢复系背景的重叠片段代换系及其效应分析 [J]. *作物学报*, 2007, 33(6): 979–986.
- [22] 曾瑞珍, 施军琼, 黄朝锋, 等. 籼稻背景的单片段代换系群体的构建 [J]. *作物学报*, 2006, 32(1): 88–95.

## Polymorphic SSR Markers Screening and Genetic Difference Analysis Between Nipponbare and Five Excellent Restorer Lines

ZHAO Fang-ming, GUO Chao, WEI Xia, YANG Zheng-lin,  
LING Ying-hua, SANG Xian-chun, WANG Nan,  
ZHANG Chang-wei, LI Yun-feng, HE Guang-hua

*Rice Research Institute, Southwest University/Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Breeding of Southwestern China, Ministry of Agriculture, Chongqing 400715, China*

**Abstract:** Dissection of genes needs large genetic differences between recipient and donor parents. In this paper, SSR markers were used to analyze polymorphism and genetic difference between the Nipponbare and 5 excellent rice restorers bred by our own institute. The results showed as follows: The number of polymorphic markers of Nipponbare and Xihui18, Jinhui 35, R225, R232, R250 were 263, 253, 253, 255, 240, respectively. Their polymorphism rates were 61.31%, 58.97%, 58.97%, 59.44% and 55.94%, respectively. Their average physical distances of per marker were 1.59, 1.61, 1.62, 1.62 and 1.72 Mb for Xihui 18, Jinhui 35, R225, R232, and R250. Two to five alleles were detected for each SSR marker and average 2.35 alleles were detected for each SSR. Genetic distances among all parents ranged from 0.121 7—0.896 7. The average genetic distance between Nipponbare and 5 rice restorers was 0.857 6. Moreover, Nipponbare and 5 rice restorers were also divided into two types by cluster analysis, indicating that the genetic differences were all larger between them. These materials and results will be important for dissection of genetic genes in rice.

**Key words:** SSR marker; polymorphism; Nipponbare; Restorer; genetic differences

责任编辑 夏 娟

