

基于 SSR 标记研究香谷繁殖更新群体量和发芽率临界值

李霞, 黎毛毛, 刘进, 周慧颖, 胡佳晓, 王晓玲, 余丽琴*

(江西省农业科学院水稻研究所/江西省农作物种质资源研究中心, 南昌 330200)

摘要: 对地方水稻品种繁殖更新群体量和发芽率临界值进行研究, 有利于为种质库中地方水稻品种繁殖更新适宜群体量和发芽率临界值的制定提供科学依据。利用地方水稻品种香谷为试验材料, 通过人工老化处理获得不同发芽梯度的香谷群体, 采用农艺性状观察和 SSR 分子标记分析繁殖更新群体大小与发芽率水平对其遗传完整性的影响。农艺性状观察表明保持香谷遗传结构完整的繁殖更新群体量为 60~140 株, 利用 SSR 分子标记进一步分析表明, 繁殖群体扩大到 200 株时, 更利于保证种质遗传完整性。同时, SSR 分析表明发芽率低于 60% (50% 与 $\leq 30\%$) 群体的等位基因数、有效等位基因数、基因多样性指数、香农指数均与对照呈极显著差异; 发芽率为 60%~70% 的群体除香农指数与对照达到了显著差异外, 等位基因数、有效等位基因数、基因多样性指数与对照差异不显著。地方水稻品种香谷适宜的繁殖更新群体量为 200 株, 繁殖更新的发芽率临界值为 60%~70%。

关键词: 水稻; 香谷; 繁殖更新群体量; 发芽率临界值; 遗传完整性

中图分类号: S511

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2022)03-0412-06

Study on regeneration population size and the germination rate threshold of Xianggu by SSR markers

LI Xia, LI Maomao, LIU Jin, ZHOU Huiying, HU Jiexiao, WANG Xiaoling, YU Liqin

(Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences /Crop Germplasm Resources Research Center of Jiangxi Province, Nanchang 330200)

Abstract: The study on the regeneration population size and the germination rate threshold of rice landraces will provide a scientific basis for the establishment of the size of reproduction population and the critical value of germination rate during the reproduction and renewal of rice landraces germplasm resources in the seed bank. Xianggu, a rice landrace, was used as experiment material, and the effects of regeneration population size and germination rate on the genetic integrity of rice landrace were studied by combined investigation of agronomic traits and SSR molecular marker analysis. The investigation of agronomic traits showed that: to maintain the integrity of Xianggu genetic structure, the appropriate regeneration population size was 60 - 140. Further verification by SSR molecular markers showed that when the regeneration population expanded to 200 plants, it was benefit to guarantee the genetic integrity of germplasm. Meanwhile, the number of alleles, number of effective alleles, gene diversity and Shannon index of populations with germination rate below 60% (50% and $\leq 30\%$) were extremely significantly lower than those of the control. Except the Shannon index, the number of alleles, number of effective alleles and gene diversity index of populations with germination rate 60% - 70% were not significantly different from those of the control. The Shannon index of the population with 60% - 70% germination rate was significantly lower than that of the control. The result indicated that the optimal regeneration population size of Xianggu was 200 and the critical value of germination rate was 60% -70% during reproductive renewal of Xianggu.

Key words: rice; Xianggu; regeneration population; critical value of germination rate; genetic integrity

作物种质资源中蕴藏着非常丰富的可利用基因, 是促进农业技术创新和种业发展的重要物质基

收稿日期: 2021-09-06

基金项目: 国家作物种质资源库“野生稻江西分库”(NCGRC-2020-050), 江西省农业科学院博士启动项目(20181CBS0030)和水稻生物学国家重点实验室开放课题(20200201)共同资助。

作者简介: 李霞, 助理研究员。E-mail: lixia0711@163.com

* 通信作者: 余丽琴, 研究员。E-mail: lqyu480@163.com

础,也是保障国家粮食安全的战略性资源^[1-2]。据统计,全球现拥有 1 750 多座种质库,累计收集和储藏的种质资源达 740 万余份^[3]。随着种质资源种类与数量的日益增长,种质繁殖更新问题亦提上日程。种质安全保存的核心问题是必须要维持其遗传完整性。种子是长期保存种质资源最常用和最经济的方法之一,但随着保存时间的延长,种子会不可避免地发生老化,即发芽率降低的过程^[4],如果降低到关键节点时不及时进行繁殖更新,就会引起种质原有群体遗传完整性的降低。在种质繁殖更新过程中,合适的群体量也是必须考虑的因素^[5],适宜的繁殖群体量不仅对种质资源遗传完整性的保持有益,而且也益于繁殖更新工作量和成本的降低^[6-7]。关于繁殖更新群体大小对种质资源遗传完整性的研究已在多种作物中相继开展^[5-16],不同物种合适的繁殖更新群体量大小间差异较大,同一物种不同品种间繁殖更新群体量亦存在差异,一般野生种质高于普通种质,地方品种高于育成品种。对作物适宜的繁殖更新发芽率临界值也已有一些研究,不同作物间发芽率临界值差异较大,多数集中在 70% 以上^[17-20],少数在 20%~40% 之间^[21-23]。

水稻种质资源是开展水稻研究的重要物质基础,收集和保存稻种资源是发掘和利用有重要价值的稻种资源的首要前提^[24-25]。目前,对水稻种质繁殖更新群体大小和发芽率临界值的研究多以种子生活力快速降低拐点作为其繁殖更新发芽率临界值^[1,17],还鲜见从分子水平开展相关研究的报道。我国国家长期种子库保存的稻种资源中的 71.38% 为地方品种^[24],地方品种资源的多态性指数显著高于育成品种和国外引进品种,育种价值较高^[26]。然而这些地方品种入库后,什么时候进行繁殖更新、繁殖更新的群体大小是多少,目前还比较缺少研究。本研究以地方水稻品种香谷为试验材料,通过表型性状观察和 SSR 分子标记分析,探讨了香谷种子老化处理后不同繁殖群体量和发芽率水平对其遗传完整性的影响,以期对种质库中种质资源繁殖更新时群体的大小及发芽率临界值的制定提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为中国农业科学院作物科学研究所提供的地方水稻品种香谷,香谷的遗传多样性比较丰富,主要表型特点为中熟麻壳,还有少量的迟熟长芒和早熟黄壳类型。供试种子是 2016 年从 200 株繁殖群体混合脱粒后的种子中随机取样获得的,种子

含水量小于 14%,储藏于室温干燥器中。

1.2 方法

1.2.1 人工老化处理 试验于 2017 年 5 月在江西省农业科学院水稻研究所进行,根据前期预备试验的结果,将发芽率 $\geq 90\%$ 的香谷种子在高温、高湿条件下(RH 85%, T 43 °C)老化处理 9、12、14 和 16 d,获得发芽率为 80%~85%、60%~70%、50%和发芽率 $\leq 30\%$ 的种子。为使所有发芽率梯度处理同时结束老化,采用倒序法进行老化处理,即老化时间最长的种子先行处理,老化时间最短的种子最后处理,以发芽率 $\geq 90\%$ 的种子为对照。其中水稻种子入库发芽率最低要求为 90%,水稻生产用的种子发芽率最低要求为 80%,其余发芽率依次降低 20%。

1.2.2 田间试验 将老化处理后的种子在 25 °C 恒温箱内平衡 2 d 水分后连同对照一起浸种、催芽、播种、移栽,每个处理种植一个小区,每个小区种植 200 株,单本栽插,行株距 16 cm \times 20 cm,肥水管理与大田生产相同。分蘖盛期每个小区按单株顺序编号分别取叶片放置于 -70 °C 超低温冰箱里保存备用;种子成熟期对各单株的主要表型性状进行观察记载并收获种子。

1.2.3 SSR 标记分析 从水稻基因数据库中选择 650 对均匀分布于水稻 12 条染色体上的 SSR 引物,委托鼎国生物有限公司合成。利用合成的 SSR 引物对发芽率 $\geq 90\%$ 的 200 个单株群体进行 DNA 检测,筛选存在多态性的引物;然后再利用筛选出的多态性引物分别对发芽率为 80%~85%、60%~70%、50%和 $\leq 30\%$ 的群体进行标记检测。

1.2.4 数据分析 使用 POPGENE VERSION 1.31 软件进行遗传多样性和遗传结构的分析,采用 SPSS13.0 软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同发芽梯度和繁殖群体大小对香谷表型遗传完整性的影响

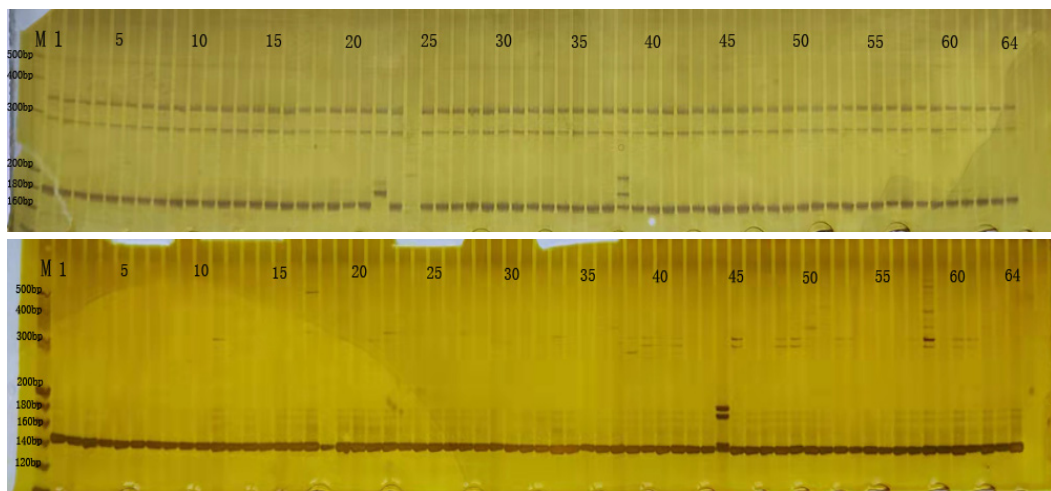
随着人工老化时间的延长,香谷种子活力与发芽率逐渐下降。对 3 个不同发芽梯度下不同繁殖群体中迟熟长芒和早熟黄壳植株数的调查情况见表 1。由表 1 可知,繁殖群体大小对迟熟长芒和早熟黄壳单株数的出现频率存在明显影响。不同发芽梯度下,迟熟长芒和早熟黄壳出现 1 株的最小繁殖群体为 60 株;迟熟长芒和早熟黄壳出现 2 株的最小繁殖群体为 140 株。发芽率 $\geq 90\%$ 、80%~85%时,迟熟长芒和早熟黄壳出现 1 株的群体量为 40 株,出现 2 株的群体量为 80 株,出现 3 株的群体量为 100 株。

发芽率 60%~70%及 50%时, 迟熟长芒和早熟黄壳出现 1 株的群体量为 60 株, 出现 2 株的群体量为 80 株, 出现 3 株的群体量为 160 株。发芽率 \leq 30%时, 迟熟长芒和早熟黄壳出现 1 株的群体量为 60 株, 出现 2

株的群体量为 140 株, 出现 3 株的群体量为 200 株。分析表明, 为了维持地方水稻品种的遗传多样性, 繁殖更新群体量为 60~140 株, 发芽率越低, 繁殖群体量越大; 反之, 发芽率越高, 繁殖群体量越小。

表 1 不同发芽梯度下香谷种群繁殖群体大小对表型遗传完整性的影响

| 群体大小/株 | 发芽率/% | 迟熟长芒/株 | 早熟黄壳/株 | 群体大小/株 | 发芽率/% | 迟熟长芒/株 | 早熟黄壳/株 |
|--------|-----------|--------|--------|--------|-----------|--------|--------|
| 20 | ≥ 90 | 0 | 0 | 120 | ≥ 90 | 4 | 4 |
| | 80~85 | 0 | 0 | | 80~85 | 4 | 3 |
| | 60~70 | 1 | 0 | | 60~70 | 3 | 2 |
| | 50 | 0 | 1 | | 50 | 2 | 3 |
| | ≤ 30 | 0 | 0 | | ≤ 30 | 1 | 4 |
| 40 | ≥ 90 | 1 | 1 | 140 | ≥ 90 | 5 | 4 |
| | 80~85 | 1 | 1 | | 80~85 | 5 | 3 |
| | 60~70 | 1 | 0 | | 60~70 | 3 | 2 |
| | 50 | 0 | 1 | | 50 | 2 | 3 |
| | ≤ 30 | 0 | 0 | | ≤ 30 | 2 | 4 |
| 60 | ≥ 90 | 3 | 1 | 160 | ≥ 90 | 5 | 4 |
| | 80~85 | 3 | 1 | | 80~85 | 5 | 3 |
| | 60~70 | 3 | 1 | | 60~70 | 3 | 5 |
| | 50 | 2 | 1 | | 50 | 3 | 3 |
| | ≤ 30 | 1 | 1 | | ≤ 30 | 2 | 4 |
| 80 | ≥ 90 | 3 | 2 | 180 | ≥ 90 | 5 | 5 |
| | 80~85 | 3 | 2 | | 80~85 | 6 | 3 |
| | 60~70 | 3 | 2 | | 60~70 | 3 | 5 |
| | 50 | 2 | 2 | | 50 | 3 | 4 |
| | ≤ 30 | 1 | 3 | | ≤ 30 | 2 | 6 |
| 100 | ≥ 90 | 3 | 3 | 200 | ≥ 90 | 6 | 5 |
| | 80~85 | 3 | 3 | | 80~85 | 6 | 4 |
| | 60~70 | 3 | 2 | | 60~70 | 3 | 8 |
| | 50 | 2 | 2 | | 50 | 4 | 6 |
| | ≤ 30 | 1 | 4 | | ≤ 30 | 5 | 7 |



M: 500 bp DNA Marker; 1—64: 材料编号。

图 1 引物 RM154 和 RM6334 对香谷群体部分材料的扩增结果

Figure 1 Amplified results by primers RM154 and RM6334 to part marterials of Xianggu population

2.2 不同发芽率水平及繁殖群体的 SSR 分析

对研究表型性状的 3 个发芽梯度处理的种质进行 SSR 标记分析, 650 对 SSR 引物对发芽率 $\geq 90\%$ 含 200 个单株的群体进行 DNA 检测, 共筛选出存

在多态性 SSR 引物 16 对; 利用它们分别对发芽率为 60%~70%和 $\leq 30\%$ 的群体各 200 个单株进行 DNA 检测。不同发芽水平和繁殖群体下, 16 对多态性 SSR 引物出现的次数与所占比率见表 2。

由表 2 可知, 随着繁殖群体量增加, 不同发芽率水平下香谷的多态性引物数和出现频率呈上升趋势。繁殖群体量为 50 株和 100 株时, 3 种不同发芽梯度下群体的多态性水平都较低, 当繁殖群体量达到 200 株时, 3 个不同发芽梯度下群体的多态性水平都达到比较高的水平, 多态性引物数分别为 16 对、14 对和 8 对所占比率分别为 100%、87.5%和 50%。在同一发芽率水平下, 随着繁殖群体的扩大, 多态性引物数及多态性引物出现的次数均表现增加趋势。发芽率 \leq

30%时, 随着繁殖群体量增加, 群体多态性增长较慢, 繁殖群体量达 200 株时, 多态性引物数及其出现次数和所占比率仍较低, 群体多态性水平较低; 发芽率在 60%~70%和 \geq 90%两个水平下, 随着繁殖群体扩大, 群体多态性引物数及其出现次数都明显增加, 群体多态性水平较高。分析表明, 较低的繁殖群体量不利于香谷群体多态性的保持, 繁殖群体扩大到 200 株时, 香谷群体多态性引物个数及出现频率均更高, 更利于保证其种质遗传完整性。

表 2 不同发芽率水平及繁殖群体的 SSR 分析

Table 2 SSR analysis on populations with different levels of germination rates and different sizes

| 引物 | 发芽率 \geq 90% | | | | 发芽率 60%~70% | | | | 发芽率 \leq 30% | | | |
|--------|----------------|-------|-------|-------|-------------|-------|-------|-------|----------------|-------|-------|-------|
| | 50 株 | 100 株 | 150 株 | 200 株 | 50 株 | 100 株 | 150 株 | 200 株 | 50 株 | 100 株 | 150 株 | 200 株 |
| RM110 | 4 | 8 | 10 | 11 | 2 | 3 | 4 | 6 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| RM118 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM296 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| RM339 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM5819 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM175 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM406 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM6 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| RM351 | 1 | 1 | 1 | 3 | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| RM552 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| RM154 | 3 | 4 | 8 | 9 | 2 | 3 | 3 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM6334 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| RM471 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| RM565 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RM24 | 1 | 1 | 2 | 3 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| RM282 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 特异引物数 | 6 | 11 | 15 | 16 | 4 | 8 | 10 | 14 | 0 | 1 | 5 | 8 |
| 所占比率/% | 37.5 | 68.75 | 93.75 | 100 | 25 | 50 | 62.5 | 87.5 | 0 | 6.25 | 31.25 | 50 |

表 3 香谷 5 个发芽率水平 SSR 分析的遗传变异

Table 3 Genetic variation of five germination rate levels in Xianggu by SSR analysis

| 发芽率/% | 等位基因数 | 多态性等位基因数 | 多态性条带百分率/% |
|-----------|-------|----------|------------|
| \geq 90 | 35 | 35 | 100 |
| 80~85 | 35 | 35 | 100 |
| 60~70 | 35 | 33 | 94.28 |
| 50 | 35 | 29 | 82.86 |
| \leq 30 | 35 | 25 | 71.43 |

2.3 不同发芽率水平的遗传完整性鉴定

利用筛选出的多态性 SSR 标记对 5 个不同发芽率梯度群体进行标记检测 (图 1)。对照和各处理扩增出的等位基因数均为 35 个, 平均每个位点等位基因数均为 2.19 个; 80%~85%、60%~70%、50%及 \leq 30%的处理扩增出的多态等位基因数分别为 35 个、33 个、29 个和 25 个, 多态性等位基因数随发芽率降低而下降。从表 3 可以看出, 若将发芽率 \geq 90%, 对照群体的多态性条带百分率记为 100%, 发

芽率为 80%~85%、60%~70%、50%及 \leq 30%群体的多态性条带百分率分别对应为 100%、94.28%、82.86%和 71.43% (表 3)。分析认为, 地方水稻品种香谷在不同发芽梯度下遗传完整性存在显著差异, 随着发芽率降低, 群体的多态性等位基因数和多态性条带百分率呈逐渐下降的趋势; 当发芽率降为 50%时, 多态性等位基因数和多态性条带百分率迅速下降。因此, 当发芽率下降到 60%~70%时, 应及时对香谷种质进行繁殖更新。

应用 SSR 标记对香谷 5 个不同发芽率水平群体的遗传多样性进行分析。结果 (表 4) 表明, 对照群体的等位基因数、有效等位基因数、基因多样性和香农指数均为最高, 分别为 $2.187 5 \pm 0.447 2$ 、 $1.081 6 \pm 0.110 0$ 、 $0.580 8 \pm 0.290 9$ 和 $0.147 7 \pm 0.010 7$ 。与对照相比, 发芽率 80%~85%、60%~70%、50%及 \leq 30%群体的等位基因数、有效等位基因数、基因多样性和香农指数的数值都有所下降, 各群体这些遗传多样性参数值均呈降序排列。发芽率为 60%~70%

的群体除香农指数与对照达到了显著差异外, 等位基因数、有效等位基因数、基因多样性指数与对照差异不显著; 发芽率低于 60% (50%与 $\leq 30\%$) 群体的等位基因数、有效等位基因数、基因多样性指数、香农指数均与对照呈极显著差异。分析认为, 发芽

率大于 80%以上时种质群体遗传多样性仍较好, 当发芽率降至 50%及以下时, 等位基因数、有效等位基因、基因多样性指数和香农指数均快速下降, 初步推测维持地方水稻种质遗传多样性和遗传完整性的繁殖更新临界发芽率为 60%~70%。

表 4 SSR 标记对香谷 5 个不同发芽率水平的遗传多样性分析

Table 4 Genetic diversity analysis of 5 populations with different germination rates by SSR markers

| 发芽率/% | 等位基因数 | 有效等位基因数 | 基因多样性指数 | 香农指数 |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| ≥ 90 | 2.1875 ± 0.4472 | 1.0816 ± 0.1106 | 0.5808 ± 0.2909 | 0.1477 ± 0.0107 |
| 80~85 | 2.0625 ± 0.2500 | 1.0737 ± 0.1680 | 0.5693 ± 0.0752 | 0.1044 ± 0.0151 |
| 60~70 | 2.0000 ± 0.5000 | 1.0723 ± 0.1814 | 0.5571 ± 0.1032 | $0.0876 \pm 0.0164^*$ |
| 50 | $1.8125 \pm 0.5439^{**}$ | $1.0383 \pm 0.1092^{**}$ | $0.5488 \pm 0.0992^{**}$ | $0.0668 \pm 0.0133^{**}$ |
| ≤ 30 | $1.5000 \pm 0.5164^{**}$ | $1.0232 \pm 0.0626^{**}$ | $0.5315 \pm 0.0728^{**}$ | $0.0411 \pm 0.0175^{**}$ |

注: *和**分别表示 5%和 1%水平上显著差异。

3 讨论与结论

繁殖群体量是影响作物种质资源遗传完整性的重要因素之一。从理论上讲, 繁殖群体大, 遗传漂变的可能性就愈小, 越能保证种质资源的遗传完整性。但在实际操作中, 适宜的繁殖群体量是必须要考虑的因素^[5,27]。形态标记具有简单直观的优点, 因此常被作为资源鉴定与育种材料选择的主要手段之一^[28]。香谷的遗传多样性比较丰富, 主要特征特性为中熟、麻壳, 部分有短芒, 迟熟长芒和早熟黄壳的类型所占比例很少; 如果繁殖后代仍有迟熟长芒和早熟黄壳株系, 说明低频率基因得到保持, 以少数类型的迟熟长芒和早熟黄壳性状作为形态标记可以从一定程度上说明香谷遗传完整性的保持水平。一般来说, 种子发芽率下降会引起部分表型性状的类型及相关强度发生改变^[28]。本研究表明, 当发芽率低于 30%时, 繁殖群体量低于 40 株的群体中未发现迟熟长芒和早熟黄壳的植株; 当繁殖群体量为 60 株时, 3 个发芽梯度对应的群体都至少发现有一株迟熟长芒和早熟黄壳的植株。因此, 从形态指标看, 繁殖群体量在 60 株以上即可保持香谷的遗传完整性; 当繁殖群体超过 140 株时, 出现 2 株及以上形态标记植株, 更能保障香谷的遗传完整性。由于形态标记受环境影响比较大, 仅通过形态标记法可能不能充分代表群体的遗传完整性。为提出论据更充分、更合适的繁殖更新群体量, 特结合分子标记方法进一步分析繁殖群体大小与香谷遗传完整性的关系。本研究利用检测出来的 16 对 SSR 多态性引物在不同发芽率 ($\geq 90\%$ 、60%~70%和 $\leq 30\%$) 下分别设置不同繁殖群体量 (50、100、150 和 200) 对香谷开展遗传多样性分析, 结果表明繁

殖群体量需要扩大到 200 株才更能保持香谷的遗传完整性, 这与王述民等^[29]基于统计学和控制取样误差频率提出水稻品种适宜群体量不低于 150 株的观点相吻合。

种子的发芽率随着储藏时间的延长而降低, 低发芽率种质资源更新后往往会引起种质遗传完整性的改变, 主要原因是低发芽率会引起染色体改变、基因组 DAN 损伤、部分 DNA 片段消失、rRNA 的降减等^[30-32]。许多研究已发现发芽率的降低会引起群体内遗传多样性下降, 群体内的部分等位基因可能会减少或丢失, 进而导致种质资源遗传结构发生改变^[15-16, 18, 21, 27, 33-35]。为了有效维持种质库种质资源的遗传完整性, 就必须在种子发芽率降低到会引起变异的发芽率临界值时对种质进行繁种更新。目前, 国内外将发芽率 50%~85% 作为种质库繁殖更新的标准, FAO 推荐将发芽率 65%~85%作为繁殖更新临界值, 印度、英国和美国分别为 75%、70%和 50%^[1, 11, 17]。对入库水稻的生活力进行检测表明, 稻种资源发芽率随储藏时间延长呈下降趋势, 不同储藏条件、不同水稻类型品种安全贮藏年限差异很大^[36-38]。卢新雄等^[17]研究表明, 水稻种子生活力快速下降的发芽率平均值为 73.74%, 并将此作为水稻种子繁殖更新的发芽率标准下限。本研究对香谷种质 5 个不同发芽率水平的 SSR 分析结果表明, 香谷种质的各遗传多样性参数值都随发芽率水平的降低而降低, 本研究中当香谷发芽率为 60%~70%时, 唯有香农指数与对照达到了显著差异, 发芽率低于 60% (50%与 $\leq 30\%$) 时, 群体的等位基因数、有效等位基因数、基因多样性和香农指数均与对照达到极显著差异。另外, 60%~70%发芽率条件下香谷群体多态性百分率达 94.28%, 可以保持较高水平的

遗传多样性。因此,发芽率 60%~70%可作为地方水稻品种香谷繁殖更新的临界值。

通过农艺性状观察与 SSR 分子标记方法分析表明地方水稻香谷合适的繁殖更新群体量为 200 株;地方水稻香谷存储种子的遗传完整性随着种子的发芽率降低而下降,当发芽率小于 60%时,种子的遗传完整性随着发芽率的降低而迅速下降,且达极显著水平。因此,当检测到种子的发芽率接近 60%时,应及时进行繁殖更新。这一研究结果为种质库中地方水稻品种繁殖更新适宜群体量和发芽率临界值的制定提供科学参考。

参考文献:

- [1] 卢新雄, 辛霞, 尹广鹏, 等. 中国作物种质资源安全保存理论与实践[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(1): 1-10.
- [2] 孔宪琴, 张小惠, 李春生, 等. 水稻等重要作物种子的保存与管理体系探究[J]. 中国稻米, 2018, 24(4): 91-95.
- [3] FAO. The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture[M]. Rome: Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010.
- [4] 陶嘉龄, 郑光华. 种子活力[M]. 北京: 科学出版社, 1991.
- [5] 孙建, 颜廷献, 叶艳英, 等. 利用 SRAP 标记研究繁殖群体量对芝麻种质资源遗传完整性的影响[J]. 热带作物学报, 2020, 41(3): 464-473.
- [6] 张艳欣, 王林海, 吕海霞, 等. 基于 EST-SSR 研究芝麻地方种质不同大小繁殖群体间多态性[J]. 中国农学通报, 2011, 27(18): 90-93.
- [7] 李俊, 杨苗苗, 卢萍, 等. SSR 分析燕科 1 号繁殖群体量对其遗传完整性的影响[J]. 中国草地学报, 2018, 40(5): 18-22.
- [8] 杨苗苗, 卢萍, 刘俊青, 等. 裸燕麦种质遗传完整性 SSR 分析中样本量的研究[J]. 中国草地学报, 2017, 39(3): 31-37, 102.
- [9] 许玉凤, 朱远英, 张志娥, 等. 高粱微卫星分析中遗传完整性样本量的确定[J]. 华北农学报, 2012, 27(3): 108-114.
- [10] 马倩. 玉米种质更新过程中遗传完整性变化的影响因素研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2005.
- [11] 张晓宇. 玉米地方品种不同繁殖群体量遗传完整性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010.
- [12] 刘敏, 辛霞, 张志娥, 等. 繁殖群体量及隔离对蚕豆种质遗传完整性的影响[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(2): 175-181.
- [13] 戴志刚, 王凤敏, 杨泽茂, 等. 繁殖群体量及种子老化对红麻种质遗传完整性的影响[J]. 中国麻业科学, 2018, 40(4): 151-161.
- [14] 计怀春, 孙君灵, 周忠丽, 等. 陆地棉繁殖群体大小对遗传完整性的影响[J]. 棉花学报, 2014, 26(2): 145-152.
- [15] 潘应花, 刘艳华, 任民, 等. 烟草种质不同群体量遗传完整性的 SSR 研究[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(5): 979-984.
- [16] 但旭明, 王成然, 武炳超, 等. 种子老化对美洲狼尾草种质资源遗传完整性的影响[J]. 草业科学, 2020, 37(8): 1508-1515.
- [17] 卢新雄, 陈晓玲. 水稻种子贮藏过程中生活力丧失特性及预警指标的研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(8): 975-979.
- [18] 王栋, 卢新雄, 张志娥, 等. SSR 标记分析种子老化及繁殖世代对大豆种质遗传完整性的影响[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(2): 192-199.
- [19] 杨苗苗. 裸燕麦种子老化处理对其种质资源遗传完整性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古师范大学, 2017.
- [20] 李灵芝, 王丽娜, 马华英, 等. 基因库大豆种子繁殖更新阈值研究[J]. 华北农学报, 2001, 16(3): 74-79.
- [21] 王小丽, 李志勇, 李鸿雁, 等. 种子老化对扁蓿豆种质遗传完整性变化的影响[J]. 中国草地学报, 2010, 32(6): 52-57.
- [22] 王欣欣. 种子老化影响老芒麦种质资源遗传完整性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古师范大学, 2016.
- [23] HUANG F, LI J, LI H Y, et al. Assessment of genetic integrity of Siberian wild rye (*Elymus sibiricus* L.) germplasm conserved ex situ and under accelerated aging using microsatellite markers[J]. Genet Resour Crop Evol, 2020, 67(2): 367-379.
- [24] 韩龙植, 曹桂兰. 中国稻种资源收集、保存和更新现状[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(3): 359-364.
- [25] 韩龙植, 黄清港, 盛锦山, 等. 中国稻种资源农艺性状鉴定、编目和繁种入库概况[J]. 植物遗传资源科学, 2002, 3(2): 40-45.
- [26] 魏兴华. 我国水稻品种资源研究进展与展望[J]. 中国稻米, 2019, 25(5): 8-11.
- [27] 李英慧, 常汝镇, 邱丽娟. 保存大豆种质遗传完整性的策略: 基于 SSR 分子标记选择纯系[J]. 中国农业科学, 2010, 43(19): 3930-3936.
- [28] 张晗, 卢新雄, 张志娥, 等. 种子老化对玉米种质资源遗传完整性变化的影响[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(3): 271-275.
- [29] 王述民, 卢新雄, 李立会. 作物种质资源繁殖更新技术规程[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2014.
- [30] DANTAS A F, FASCINELI M L, JOSÉ S C B R, et al. Loss of genetic integrity in artificially aged seed lots of rice (*Oryza sativa* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. Mutat Res Toxicol Environ Mutagen, 2019, 846: 403080.
- [31] 周国栋. 种子老化对老芒麦种质生理特性及遗传完整性变化的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [32] KRANNER I, CHEN H Y, PRITCHARD H W, et al. Inter-nucleosomal DNA fragmentation and loss of RNA integrity during seed ageing[J]. Plant Growth Regul, 2011, 63(1): 63-72.
- [33] 石凤玲, 石凤翎, 高翠萍, 等. 人工老化紫花苜蓿种子活力变化与 ISSR 标记[J]. 中国草地学报, 2015, 37(6): 30-34.
- [34] 董永梅, 谢宗铭, 王志军, 等. 热水老化对棉花种子活力及遗传完整性的影响[J]. 种子, 2018, 37(3): 19-22, 27.
- [35] DANIEL I O, ADABALE O W, ADEBOYE K A, et al. Evaluation of genetic integrity of tomato seeds during ageing by microsatellite markers[J]. Niger J Genet, 2014, 28(2): 29-33.
- [36] 宁秀呈. 稻种资源低温贮藏生活力跟踪监测与种质更新[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(16): 6704-6707.
- [37] 辛霞, 陈晓玲, 张金梅, 等. 国家库贮藏 20 年以上种子生活力与田间出苗率监测[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(6): 934-940.
- [38] 宋超, 辛霞, 陈晓玲, 等. 三种保存条件下水稻和小麦种质资源安全保存期的分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(4): 685-691.