

朱小品, 徐婷婷, 孟 珊, 等. 基于核心 KASP 标记的江苏粳稻品种 DNA 指纹图谱构建[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(9): 1569-1585.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.09.001

# 基于核心 KASP 标记的江苏粳稻品种 DNA 指纹图谱构建

朱小品, 徐婷婷, 孟 珊, 杨 雪, 杨 欣, 朱 银, 狄佳春, 郭春滨, 王 宁, 颜 伟  
(江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所/江苏省农业种质资源保护与利用平台/江苏省农业生物学重点实验室, 江苏南京 210014)

**摘要:** 为了建立江苏粳稻品种 DNA 指纹图谱数据库, 本研究利用水稻 10K 液相芯片对 314 份来源广泛的水稻种质资源进行 SNP 基因分型, 筛选出一系列高多态性的 SNP 位点并开发出 122 个 KASP 标记。利用 122 个 KASP 标记对 38 份江苏粳稻品种进行检测, 以多态性信息量 ( $PIC$ )  $> 0.3$ , 最小等位基因频率 ( $MAF$ )  $> 0.2$ , 检出率  $> 0.9$  为筛选标准, 筛选出 56 个具有高效鉴别效率的核心 KASP 标记。遗传距离相关性分析结果表明, 基于 56 个核心 KASP 标记的江苏粳稻品种的遗传距离与基于 122 个高多态性 KASP 标记的江苏粳稻品种的遗传距离相关系数为 89.1%, 呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 表明 56 个核心标记可以有效代替 122 个高多态性标记进行品种鉴定。进一步利用 56 个核心 KASP 标记对 102 份江苏粳稻品种的遗传多样性进行分析, 并构建了 102 份品种的 DNA 指纹图谱和分子身份证二维码, 本研究结果为江苏地区粳稻品种鉴定、选育和种质资源高效利用提供了参考。

**关键词:** 水稻; KASP 标记; DNA 指纹图谱; 品种鉴定; 遗传多样性分析

**中图分类号:** S511.2<sup>+</sup>2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)09-1569-17

## Construction of DNA fingerprint for *japonica* rice varieties in Jiangsu based on core KASP markers

ZHU Xiaopin, XU Tingting, MENG Shan, YANG Xue, YANG Xin, ZHU Yin, DI Jiachun, GUO Chunbin, WANG Ning, YAN Wei

(Institute of Germplasm Resources and Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Provincial Platform for Conservation and Utilization of Agricultural Germplasm/Jiangsu Key Laboratory for Agrobiology, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** In order to establish the DNA fingerprinting database of *japonica* rice varieties in Jiangsu province, SNP genotyping was carried out in 314 rice germplasm resources by using GenoBaits rice 10K panel, a series of SNP loci with high polymorphism were screened and 122 KASP markers were developed. Thirty-eight *japonica* rice varieties in Jiangsu province were tested with 122 KASP markers, and 56 core KASP markers with high identification efficiency were selected with polymorphism information content ( $PIC$ )  $> 0.3$ , minor allele frequency ( $MAF$ )  $> 0.2$ , and detection rate  $> 0.9$  as screening criteria. The results of genetic distance correlation analysis showed that the correlation coefficient between the genetic distance of Jiangsu *japonica* rice varieties based on 56 core KASP markers and the genetic distance of Jiangsu *japonica* rice varieties based on 122 highly polymorphic KASP markers was 89.1%, showing a very significant positive correlation ( $P < 0.01$ ). The results indicated that 56 core markers could effectively replace 122 highly polymorphic markers for variety identification. The genetic diversity of 102 *japonica* rice varieties in Jiangsu province was

收稿日期: 2024-04-27

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK20210151); 江苏省种质资源精准鉴定评价项目 (005012691230229)

作者简介: 朱小品 (1989-), 女, 河南商丘人, 博士, 助理研究员, 主要从事水稻种质资源遗传多样性及种子休眠与萌发的生物学机理研究。(E-mail) zxp1028@126.com

通讯作者: 颜 伟, (E-mail) yanwei@jaas.ac.cn

genetic distance of Jiangsu *japonica* rice varieties based on 56 core KASP markers and the genetic distance of Jiangsu *japonica* rice varieties based on 122 highly polymorphic KASP markers was 89.1%, showing a very significant positive correlation ( $P < 0.01$ ). The results indicated that 56 core markers could effectively replace 122 highly polymorphic markers for variety identification. The genetic diversity of 102 *japonica* rice varieties in Jiangsu province was

further analyzed by using 56 core KASP markers, and the DNA fingerprints and molecular ID codes of 102 varieties were constructed. The results of this study provide a reference for the identification, breeding and efficient utilization of *japonica* rice germplasm resources in Jiangsu province.

**Key words:** *Oryza sativa* L.; KASP marker; DNA fingerprint; cultivar identification; genetic diversity analysis

水稻是中国主要的粮食作物之一,近年来,得益于育种技术的进步,水稻品种更新换代的速度不断加快,全国每年审定的水稻新品种有上千个(中国种业大数据平台)。然而,随着育成品种数的日益增多,品种同质化问题日益凸显,而真正具有突破性的新品种则相对稀缺。建立快速、高效、低成本的品种分子鉴定体系,有助于保护、筛选、利用种质资源,推进水稻品种原始创新,同时有利于维护育种者的权益。

传统的品种真实性鉴定基于田间的表型性状,数据调查、整理分析需要消耗大量的精力,且该方法周期长,易受环境影响,难以实现大规模快速鉴定<sup>[1]</sup>。DNA 分子标记特异性强、稳定性高,不易受外界环境影响,是品种鉴定和遗传分析强有力的工具<sup>[2]</sup>。DNA 分子标记经历了几代的发展,目前已有数十种,如 RFLP 标记、RAPD 标记、AFLP 标记、SSR 标记、SNP 标记等<sup>[3]</sup>。其中 SSR 标记和 SNP 标记是最经典且应用最广泛的 2 类分子标记,被国际植物品种权保护联盟(UPOV)确定为构建 DNA 指纹数据库的推荐标记<sup>[4]</sup>。

SSR 标记存在难以实现高通量、数据整合复杂以及可选用标记分布有限等问题,这些问题限制了 SSR 标记技术在现代育种工作中的进一步应用和发展。相比之下,SNP 标记具有分布广泛、分布均匀、二态性等优点,更易实现高通量位点和高通量样品的检测,适于数据整合和共享<sup>[5-7]</sup>。2021 年《水稻品种真实性鉴定 SNP 标记法》通过了农业行业审定<sup>[8]</sup>。目前,SNP 标记已在水稻、小麦、玉米、豆类、棉花等主要作物品种鉴定以及遗传多样性分析中被广泛应用<sup>[9-13]</sup>。全基因组重测序和基因芯片扫描是高通量检测 SNP 位点的重要方法,但这两种方法的检测成本高,检测得到的数据量庞大,需要高性能计算机进行存储和分析,同时对检测人员的数据分析能力要求较高。

基于等位基因特异性 PCR 的竞争性扩增技术(Kompetitive allele-specific PCR, KASP)在 SNP 分型方面具有高精度、低成本和高效率的优势,并且该

技术可以根据检测群体设计特定的组合标记,也可以根据特定功能位点开发功能分子标记,检测位点和检测样本具有很大的灵活性<sup>[14]</sup>。陆海燕等<sup>[15]</sup>利用玉米全基因组高密度 SNP 基因分型数据,筛选并开发 202 个 KASP 标记,群体遗传距离相关性分析和群体结构分析结果表明,202 个高多态信息含量(PIC)的 KASP 标记可用于玉米种质资源的研究。孙正文等<sup>[13]</sup>利用棉花 CottonSNP63K 芯片筛选出 393 个核心 KASP 标记并构建品种特异的分子指纹图谱,表明 KASP 分子标记在棉花遗传改良中具有广泛的应用前景。以上研究结果表明,筛选高效 KASP 标记进行品种鉴定和遗传多样性分析,可以在降低成本的同时保证检测准确性和灵敏度,是一种更经济、高效的方案。

本研究利用水稻 10K 液相芯片对 314 份来源广泛的水稻种质资源进行全基因组扫描,通过层层筛选,获得了 56 个高多态性的核心 KASP 标记。基于 56 个 KASP 核心标记对 102 份江苏粳稻品种的遗传多样性进行分析,构建了江苏粳稻品种的 DNA 指纹图谱数据库和品种分子身份证二维码。本研究结果将为江苏地区粳稻种质资源的科学管理、高效利用以及品种鉴定和品种创新提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究所用试验材料均来自江苏省农作物种质资源中期库,主要为江苏地区的主要水稻品种,包括南粳系列、淮稻系列、徐稻系列、镇稻系列、武运粳系列、武育粳系列、武香粳系列、盐稻系列、盐粳系列以及扬粳系列等 102 份江苏地区种植的主要水稻品种,具体品种名称和育成单位信息如表 1 所示。

### 1.2 SNP 位点筛选及 KASP 标记开发

利用博瑞迪开发的 10K 液相芯片对 314 份水稻种质资源进行全基因组扫描,对得到的基因型数据进行过滤,以多态性信息含量(PIC)>0.4 筛选高多态性 SNP 位点,并根据 SNP 位点在染色体的分布情况,最终筛选出 170 个候选 SNP 位点,根据 SNP

位点侧翼100~200 bp 序列,使用网站 <http://www.snpway.com/>设计 KASP 引物,进行 KASP 标记筛选。KASP 引物组合包含两条特异性引物  $F_1$ 、 $F_2$  和一条通用引物 R,其中  $F_1$  引物 5'端连接与 FAM 荧光结合的特异性序列 5'-GAAGGTGACCAAGTTCATGCT-3',

用于检测参考基因组上的等位基因; $F_2$  引物 5'端连接与 HEX 荧光结合的特异性序列 5'-GAAGGTCG-GAGTCAACGGATT-3',用于检测变异位点上的等位基因。

表 1 102 份江苏粳稻品种名称及选育单位

Table 1 Names and breeding institutions of 102 japonica rice varieties in Jiangsu

编号	品种名称	选育单位	编号	品种名称	选育单位
B18	南粳 34	江苏省农业科学院粮食作物研究所	B42	武运粳 8 号	常州市武进区农业科学研究所
B21	南粳 35	江苏省农业科学院粮食作物研究所	B45	优辐粳	江苏省太湖地区农业科学研究所
B25	武香粳 1 号	常州市武进区农业科学研究所	B46	盐粳 6 号	盐城市盐都区农业科学研究所
B27	秀水 04	嘉兴市农业科学研究院	B55	镇稻 99 号	江苏丘陵地区镇江农业科学研究所
B28	武复粳	常州市武进县湍湖育种场	B59	苏香粳 2 号	江苏省太湖地区农业科学研究所
B29	武育粳 2 号	常州市武进区稻麦育种场	B60	苏粳 2 号	江苏省太湖地区农业科学研究所
B33	武粳 4 号	常州市武进区稻麦育种场	B61	武粳 13 号	常州市武进区稻麦育种场
B35	镇稻 88	江苏丘陵地区镇江农业科学研究所	B63	南粳 41	江苏省农业科学院粮食作物研究所
B40	香粳 111	江苏里下河地区农业科学研究所	B66	徐稻 3 号	江苏徐淮地区徐州农业科学研究所
B43	武运粳 7 号	常州市武进区农业科学研究所	B67	连嘉粳 1 号	连云港市农业技术推广中心
B44	淮稻 6 号	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所	B69	淮稻 7 号	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所
B47	苏香粳 1 号	江苏太湖地区农业科学研究所	B70	常农粳 4 号	常熟市农业科学研究所
B52	南粳 39	江苏省农业科学院粮食作物研究所	B71	宁粳 1 号	南京农业大学
B53	武运粳 11 号	常州市武进区农业科学研究所	B74	盐稻 9 号	江苏沿海地区农业科学研究所
B54	连粳 3 号	连云港市农业技术推广中心	B77	扬辐粳 8 号	江苏里下河地区农业科学研究所
B62	武香粳 14 号	常州市武进区稻麦育种场;江苏省农业科学院粮食作物研究所	B78	扬辐粳 7 号	江苏里下河地区农业科学研究所
B72	淮稻 5 号	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所	B79	淮稻 9 号	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所
B76	华粳 5 号	江苏省大华种业集团有限公司	B81	南粳 44	江苏省农业科学院粮食作物研究所
B82	武运粳 21 号	常州市武进区农业科学研究所	B83	盐粳 9 号	江苏沿江地区农业科学研究所
B89	常农粳 5 号	常熟市农业科学研究所	B84	华粳 6 号	江苏省大华种业集团有限公司
B90	南粳 46	江苏省农业科学院粮食作物研究所	B87	连粳 20	连云港市农业科学院
B93	淮稻 11 号	江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所	B91	扬粳 4038	江苏里下河地区农业科学研究所
B94	宁粳 3 号	南京农业大学	B97	盐稻 10 号	江苏沿江地区农业科学研究所
B95	武香粳 19	常州市武进区农业科学研究所	B98	盐粳 11 号	盐城市盐都区农业科学研究所
B96	武粳 15	常州市武进区稻麦育种场	B101	宁粳 4 号	南京农业大学
B100	连粳 6 号	连云港市黄淮农作物育种研究所	B102	武陵粳 1 号	扬州大学农学院,武进区稻麦育种场,江苏省种子管理站
B104	盐粳 10 号	江苏沿海地区农业科学研究所	B103	南粳 45	江苏省农业科学院粮食作物研究所
B105	镇稻 12 号	江苏丘陵地区镇江农业科学研究所	B108	中稻 1 号	中国农业科学院作物科学研究所,连云港市农业科学院
B107	武运粳 24 号	常州市武进区农业科学研究所	B109	连粳 7 号	连云港市农业科学院
B110	镇稻 11 号	江苏丘陵地区镇江农业科学研究所	B116	通粳 981	江苏沿江地区农业科学研究所
B114	南粳 5055	江苏省农业科学院粮食作物研究所	B117	镇稻 14 号	江苏丰源种业有限公司,江苏丘陵地区镇江农业科学研究所

续表1 Continued1

编号	品种名称	选育单位	编号	品种名称	选育单位
B115	扬育粳 2 号	江苏沿海地区农业科学研究所	B118	武运粳 27	常州市武进区农业科学研究所
B119	连粳 9 号	连云港市农业科学院	B123	南粳 9108	江苏省农业科学院粮食作物研究所
B120	连粳 11 号	连云港市黄淮农作物育种研究所	B124	镇稻 18 号	江苏丘陵地区镇江农业科学研究所,江苏丰源种业有限公司
B121	南粳 49	江苏省农业科学院粮食作物研究所	B125	武运粳 30	常州市武进区农业科学研究所
B129	南粳 51	江苏省农业科学院粮食作物研究所	B126	南粳 52	江苏省优质水稻工程技术研究中心,江苏省农业科学院粮食作物研究所
B130	武运粳 31 号	常州市武进区农业科学研究所	B128	常农粳 8 号	常熟市农业科学研究所
B134	盐粳 16 号	江苏沿海地区农业科学研究所	B131	南粳 0212	江苏省农业科学院粮食作物研究所,江苏焦点农业科技有限公司
B13	桂花黄	江苏太湖地区农业科学研究所	B132	宁粳 6 号	南京农业大学
B16	南粳 23	江苏省农业科学院粮食作物研究所	B133	苏香粳 100	江苏太湖地区农业科学研究所
B20	盐粳 2 号	江苏沿海地区农业科学研究所	B135	宁粳 7 号	南京农业大学
B22	紫金糯	江苏省农业科学院	B136	宁粳 8 号	南京农业大学
B24	早单八	江苏太湖地区农业科学研究所	B138	连粳 18 号	连云港市农业科学院
B30	太湖糯	江苏太湖地区农业科学研究所	B139	中种香糯	连云港市农业科学院,中国种子集团有限公司
B31	武育粳 3 号	常州市武进区稻麦育种场,江苏省农业科学院粮食作物研究所	B141	镇稻 4 号	江苏丘陵地区镇江农业科学研究所
B32	扬粳 186	江苏里下河地区农业科学研究所	B142	徐稻 5 号	江苏徐淮地区徐州农业科学研究所
B34	太湖粳 2 号	常熟市农业科学研究所	B143	徐稻 4 号	江苏徐淮地区徐州农业科学研究所
B36	武育粳 5 号	江苏省武进市稻麦育种场	B144	徐稻 7 号	江苏徐淮地区徐州农业科学研究所
B38	早丰 9 号	江苏省武进市稻麦育种场	B145	徐稻 8 号	江苏徐淮地区徐州农业科学研究所
B39	盐粳 5 号	江苏省盐城稻麦育种试验站	B146	徐稻 9 号	江苏徐淮地区徐州农业科学研究所
B41	武香粳 9 号	常州市武进区农业科学研究所	B147	镇稻 21	江苏丘陵地区镇江农业科学研究所,江苏丰源种业有限公司

利用 CTAB 法提取水稻幼苗 DNA,使用核酸微量测定仪进行 DNA 质量浓度测量和质量检测,将 DNA 质量浓度稀释至 10~20 ng/ $\mu$ L。将稀释的 DNA 转到 96 孔 PCR 样品板上,每板中 2 个孔加 ddH<sub>2</sub>O 作为对照 (NTC)。KASP 反应体系为:每孔 0.8  $\mu$ L DNA,每孔 0.75  $\mu$ L 2 $\times$ KASP Master mix (LGC)+0.05  $\mu$ L 引物。KASP 反应程序为:第一步,预变性 94  $^{\circ}$ C,15 min;第二步,变性 94  $^{\circ}$ C,20 s,复性/延伸 61~55  $^{\circ}$ C (每循环 1 次下降 0.6  $^{\circ}$ C),60 s,共 10 个循环;第三步,变性 94  $^{\circ}$ C,20 s,复性/延伸 61~55  $^{\circ}$ C,60 s,26 个循环。PCR 反应结束后,利用 IntelliQube (LGC) 机器进行荧光数据读取和分析。

1.3 数据分析

将 102 份水稻品种的基因型数据整理成 HapMap 格式,利用 PowerMaker3.25 软件计算每个标记的最小等位基因频率 (MAF)、多态性信息量 (PIC),利用 TASSEL v5.0 软件的邻接算法计算水稻品种间

的遗传距离,利用 Figtree v1.4.3 构建聚类图。

在 Excel 中,根据基因分型结果,将每份材料的基因型进行数字化赋值,将 SNP 标记基因型分为 AA、TT、CC、GG、杂合、缺失 6 种情况,分别用 1、2、3、4、0、9 表示,在 Excel 中对基因型数据进行数字化赋值后,每份材料的基因型信息由一串 56 位数字构成,构建了每份材料的分子指纹数据,并利用在线软件草料二维码生成器 (<http://cli.im/>) 将分子指纹数据生成分子指纹二维码。

2 结果与分析

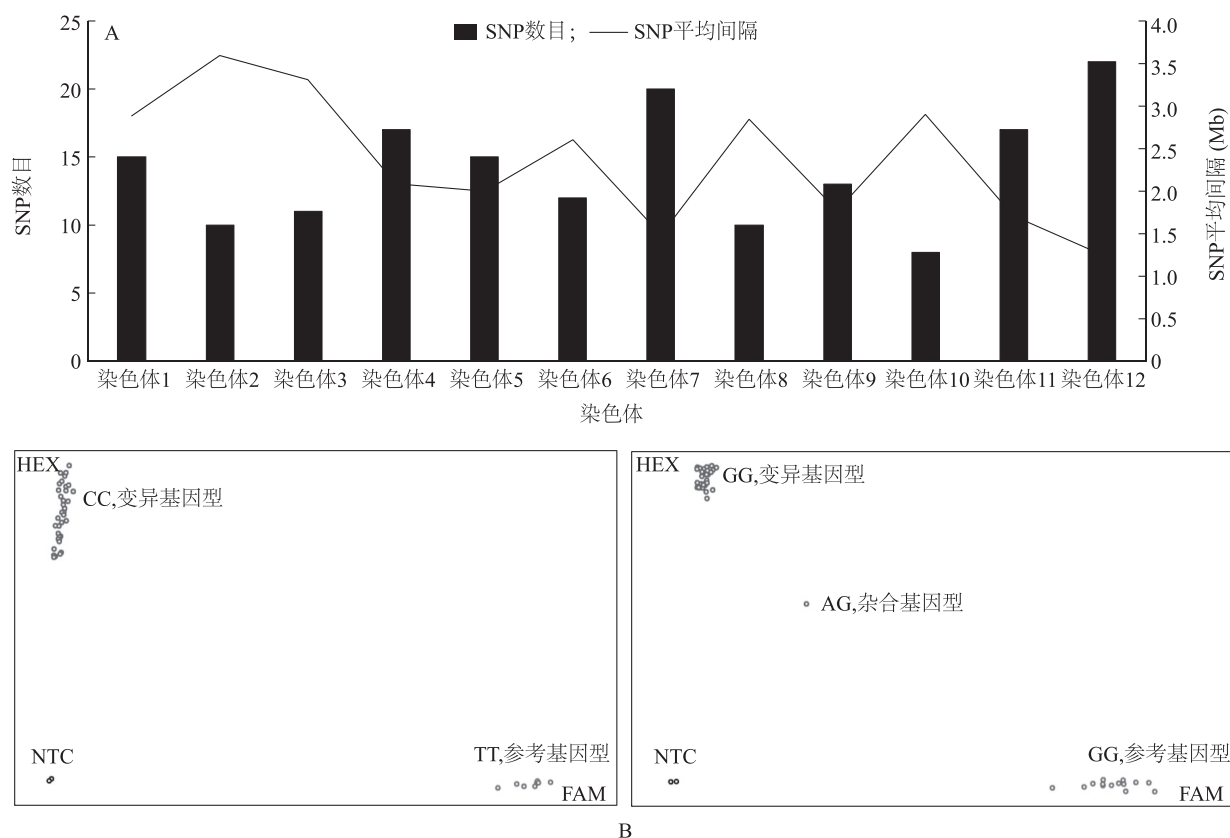
2.1 高多态性 SNP 位点筛选及 KASP 标记开发

利用博瑞迪开发的水稻 10K 液相芯片 (GenoBaits rice 10K panel) 对 314 份来源广泛的水稻种质资源进行全基因组扫描,获得了水稻基因组上分布的 33 580 个 SNP 位点。对获得的总 SNP 位点进行过滤筛选,去除 SNP 缺失率 >10%,最小等位



基因频率 (Minor allele frequency, MAF)  $< 0.05$ , 样本缺失率  $> 10\%$  的位点, 共筛选出 20 260 个高质量 SNP 位点, 这些位点均匀分布在水稻基因组上。多态性信息量 (PIC) 可以衡量 DNA 分子标记在品种群体中的多态性, 以  $PIC > 0.4$  为条件进行筛选, 获得了 1 192 个高多态性 SNP 位点作为候选位点。从 1 192 个候选 SNP 位点中筛选出位点前后 100 bp 均没有其他变异位点的 SNP 位点, 再结合染色体分布情况, 最终筛选出 170 个高 PIC 的 SNP 位点用于 KASP 标记开发。170 个 SNP 位点在基因组的分布情况如图 1A 所示, SNP 位点平均间隔 2.2 Mb。

以 Nip\_MSU7.0 为参考基因组, 从基因组数据库网站 Jbrowse (<https://www.mbkbase.org/jbrowse/?data>) 下载 170 个高多态性 SNP 位点侧翼 100 bp 的序列, 利用 KASP 引物开发网站 SNPWay (<http://www.gentides.cn/snpprimer/>) 设计 KASP 引物。为了检验 KASP 引物的有效性, 选择表 1 中前 38 份江苏粳稻品种作为检测群体, 分析每个 KASP 标记的基因分型效果, 图 1B 中左上方和右下方聚集的点分别代表等位基因型和参考基因型, 中间聚集的点代表杂合基因型, 左下方的黑色点代表阴性对照 (NTC)。最终从 170 个 KASP 标记中, 筛选出 122 个准确性较高的 KASP 标记。



A: 170 个高多态性 SNP 位点分布情况; B: KASP 分子标记的基因分型图。右下方聚集的圆点表示具有 FAM 荧光标记的基因型的品种, 为参考基因组类型; 左上方聚集的圆点表示具有 HEX 荧光标记的基因型的品种, 为变异类型; 中心圆点表示具有杂合基因的品种, 为杂合类型; 左下方的圆点表示不含模板的空白对照 (NTC)。HEX: 六氯荧光素; FAM: 6-羧基荧光素。

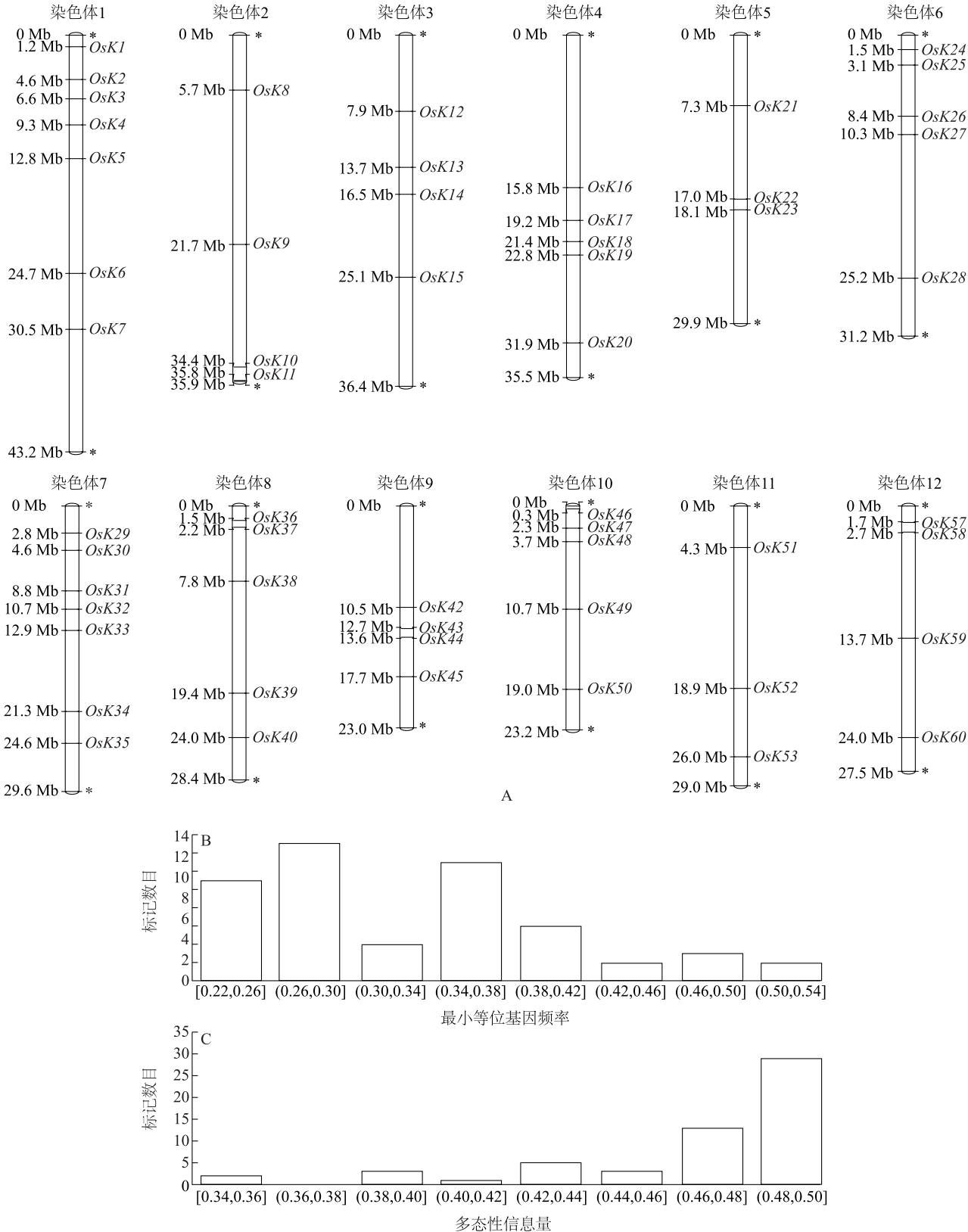
图 1 170 个 SNP 位点在染色体上的分布和 KASP 标记的基因分型

Fig.1 Distribution of 170 SNP loci on chromosomes and genotyping of KASP markers

## 2.2 核心 SNP 位点筛选及 KASP 标记开发

为了进一步筛选在粳稻品种中高多态性的核心标记<sup>[16]</sup>。首先分析 122 个 KASP 标记对 38 份水稻种质资源的基因型分型结果, 以最小等位基因频率 (MAF)  $> 0.20$ 、多态性信息量 (PIC)  $> 0.3$ 、检出率  $> 90\%$ 、杂合率  $< 5\%$  为筛选标准, 并结合 KASP 标记在染色体上的分布

情况<sup>[15]</sup>, 筛选出 56 个高 PIC 的 SNP 位点。56 个 SNP 位点覆盖了水稻基因组的 12 条染色体, 平均间隔 6.6 Mb (图 2A)。38 份水稻种质资源中, 这些位点 PIC 为 0.34~0.50, 平均值为 0.47; 利用这 56 个 SNP 位点开发出 56 个核心 KASP 标记 (表 2)。MAF 为 0.22~0.50, 平均值为 0.40 (图 2B、图 2C)。



A:56 个 SNP 位点在染色体上的分布,单位 Mb;B:56 个 SNP 位点的最小等位基因频率( *MAF* );C:56 个 SNP 位点的多态性信息量( *PIC* )。

图 2 56 个 SNP 位点在染色体上的分布及遗传多态性

Fig.2 Distribution of 56 SNP loci on chromosomes and genetic polymorphism of 56 SNP loci

表 2 56 个核心 KASP 标记信息

Table 2 The information of 56 core KASP markers

标记	等位碱基变异	染色体	物理位置 (bp)		引物序列 (5'→3')
<i>Osk1</i>	G/A	1	1 228 512	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGCAATCTATTTTCACTTGAATCCG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGGCAATCTATTTTCACTTGAATCCA
				R	AGGAGAAAAATACAGCCCCTAAGG
<i>Osk2</i>	G/A	1	4 645 481	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCTCACCATCCGTGCACCTG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTCTCACCATCCGTGCACCTA
				R	CGTGGATTCAAACATGTTCCGTAT
<i>Osk3</i>	C/A	1	6 644 387	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTCATCACTACTCTCGATCTCTGTC
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTTCATCACTACTCTCGATCTCTGTA
				R	AATCACTGACAATGAGGACGAAGA
<i>Osk4</i>	G/A	1	9 305 876	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTACTACTGACTTGAAGATATGCCAG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTACTACTGACTTGAAGATATGCCAA
				R	CATCTTCATCTTCATCCTTGCTGC
<i>Osk5</i>	C/G	1	12 854 426	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTTTTCCACGACAAAAACGC
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGTTTTCCACGACAAAAACGG
				R	AAAAACGTCTTTGCTTTCGTCGTC
<i>Osk6</i>	A/G	1	24 749 480	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTTAGCTGCCGTTGCTTCTTCA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTTAGCTGCCGTTGCTTCTTTCG
				R	CGAAGACTAAACGCAACTCCAATT
<i>Osk7</i>	A/G	1	30 545 662	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTATCGAAGCGTGGCAGATGA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGTATCGAAGCGTGGCAGATGG
				R	GTCGATCACGAAAAAGAAGTCC
<i>Osk8</i>	G/A	2	5 785 532	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTCTCGAGTGCCACAAATTTCTCG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTTCTCGAGTGCCACAAATTTCTCA
				R	ACTAACAAATGCAGCTTCTGCTAGA
<i>Osk9</i>	G/C	2	21 772 969	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAATAATCTGAGTTGAAGTGGCTCG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTAATAATCTGAGTTGAAGTGGCTCC
				R	CTTCACCTGTCTACTACCAGACC
<i>Osk10</i>	C/A	2	34 474 061	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTAGTCAACCCATTAACACGC
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGTAGTCAACCCATTAACACGA
				R	TCGTACCACCGCTCATAATAATGA
<i>Osk11</i>	A/G	2	35 882 696	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCTGACCTGGTGTCCCTCA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGGTGACCTGGTGTCCCTCG
				R	TCTAAGGATGTCACCCACCAAAAA
<i>Osk12</i>	G/A	3	7 956 017	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTAGCGCCCAAGTTCGTGG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTAGCGCCCAAGTTCGTCA
				R	TTTGTAACCTTCCCCTGCTAGA
<i>Osk13</i>	G/A	3	13 775 121	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGTGTCATGGGAATTTAGGGAATTG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTGTGTCATGGGAATTTAGGGAATTG
				R	TGAGGCTAACGGAGATTCTTATGG
<i>Osk14</i>	G/A	3	16 579 520	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTGAGCAAGTAAAGCAAGAGGATG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGTGAGCAAGTAAAGCAAGAGGATA
				R	TATAAGTGGTGTCCATAGGCATCG
<i>Osk15</i>	A/G	3	25 181 277	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTCAATGTAGATTGATGAAGGGCTCA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTCAATGTAGATTGATGAAGGGCTCG
				R	GTTGATGGTAAGGAGCTAGGAAGT
<i>Osk16</i>	T/C	4	15 846 017	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCTTCCCAAACCGCTAAATGCTGT

续表2 Continued2

标记	等位碱基变异	染色体	物理位置(bp)	引物序列(5'→3')	
Osk17	T/C	4	19 209 543	F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTCTTCCCAAACCGCTAAATGGTGC
				R	ACATTTTCTAAAAGCAACCTTCGT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTACCTGTCGTGTCCTCCCAT
Osk18	A/G	4	21 469 290	F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTACCTGTCGTGTCCTCCAC
				R	AGAAGACGAGCACACTAGCAAG
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGATTTCCCATGAGAGTTGCACA
Osk19	A/G	4	22 842 238	F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGATTTCCCATGAGAGTTGCACG
				R	GGGAAGATCAGGCTTTATACACCA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCGGGCACACAAGTACACCA
Osk20	T/C	4	31 997 187	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCGGGCACACAAGTACACCG
				R	GTTCTAGGAATAGGATGTGCTGA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCCTCGGTCATTTCCATGCCTT
Osk21	T/C	5	7 384 864	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCCTCGGTCATTTCCATGCCTC
				R	GCTATAGTTCGGAGGGTAATTCTG
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTACATCGTTTCAATTTCAACCAAACCTT
Osk22	T/C	5	17 035 145	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTACATCGTTTCAATTTCAACCAAACCTC
				R	GTCGTGAAGACTGAAGAGTATACT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCATTGGTGCCGTACAAAATTCT
Osk23	G/C	5	23 305 515	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCATTGGTGCCGTACAAAATTCC
				R	AAAATGTCTCCTACCAGAACACCT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGAGTAAGCTGGGAGGAATGTTCTG
Osk24	G/T	6	1 529 649	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGAGTAAGCTGGGAGGAATGTTCTC
				R	TCTCGCGGTACACACAAAACATA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGCCCATGTATACTAGACATACCG
Osk25	T/C	6	3 166 267	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGCCCATGTATACTAGACATACCT
				R	TAAATACAAGCGCGATAAATGCCA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGGAAAATCGGGTGTATATACATGT
Osk26	A/G	6	8 454 606	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGGAAAATCGGGTGTATATACATGC
				R	AGAAAATCACTGGACCACAAAACCT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTATCAACGACTTCTCCTTTTCTCA
Osk27	G/A	6	10 345 230	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTATCAACGACTTCTCCTTTTCTCG
				R	CGAGATCAAGGTAAGCAGAGAGAA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGGGTGAGGGCCTGCAAG
Osk28	T/C	6	25 220 061	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGGGTGAGGGCCTGCAAA
				R	AGACTTGAAAACCTTGGTGCAATT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCTAGATGTGGAGAAGGAAGATCGT
Osk29	A/G	7	2 865 195	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCTAGATGTGGAGAAGGAAGATCGC
				R	CATTACAACATATTCCCATGCCCC
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGTCTTTCATCTCCGTTTCAATACA
Osk30	T/A	7	4 660 773	F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGTCTTTCATCTCCGTTTCAATACG
				R	TTATATTTTGGGACGGAGGGATCC
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCATGCATGAAATTTGCTTCAGCT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCATGAAATTTGCTTCAGCA
				R	AACTGATGGGTACATAGCAACTGT



续表2 Continued2

标记	等位碱基变异	染色体	物理位置(bp)		引物序列(5'→3')
<i>Osk31</i>	A/G	7	8 809 828	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTACTGCTGGAGTGTGGGGAA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTACTGCTGGAGTGTGGGGAG
				R	ACAGACCTTCTTTCCGACAGTAAT
<i>Osk32</i>	A/T	7	10 756 612	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGCTTTGATCCAATTAATCCAGGA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTAGCTTTGATCCAATTAATCCAGGT
				R	GTTGGGATTTCTTTTGGAGTGT
<i>Osk33</i>	G/A	7	12 924 029	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCTTGACAAAGATCGGACTGGGTG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTCTTGACAAAGATCGGACTGGGTA
				R	TTGCTTCAGAATGAGATGTACCCT
<i>Osk34</i>	T/C	7	21 324 970	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGCTCCGGTTCTCTCTGT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTTGCTCCGGTTCTCTCTGC
				R	GATGAGCGAGCAAGCGTAGG
<i>Osk35</i>	T/C	7	24 622 118	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGATTGGACAGCACGAGTACT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTGGATTGGACAGCACGAGTACC
				R	GATGTGTGAGGAACAGTTTGAG
<i>Osk36</i>	C/T	8	1 530 355	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGTAATATCTCAAATACTATGTGGAAGTTC
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTAGTAATATCTCAAATACTATGTGGAAGTTT
				R	CAGTGACTGGATAATAAGGTGGGA
<i>Osk37</i>	T/C	8	2 275 008	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCAACAACACTGATTGAGCTGCAT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTCAACAACACTGATTGAGCTGCAC
				R	TCGATCTGTTGATTGCTCGATAT
<i>Osk38</i>	A/G	8	7 890 733	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCGCAAAGTTTGAATTTGCTTAAAAATTA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTGCGCAAAGTTTGAATTTGCTTAAAAATTG
				R	CAGTCCTTTTCCATCACATCAACC
<i>Osk39</i>	G/A	8	19 466 177	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTTATTTCTTGGAATACGGTGCAG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTTTATTTCTTGGAATACGGTGCAA
				R	AAGCATGTATAACTGCCAGAGGAA
<i>Osk40</i>	G/A	8	24 070 735	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGTCCAATGAATCTAGACAAAGCG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTAGTCCAATGAATCTAGACAAAGCA
				R	CTTGTGACGGTAAATGATCCATC
<i>Osk42</i>	T/C	9	10 515 653	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCAACGGCTTTCATGGTCATTTGTT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTCAACGGCTTTCATGGTCATTTGTC
				R	GCGTGTGCACAATACGTAATTTT
<i>Osk43</i>	T/C	9	12 725 653	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCCTCAACATTTTGATGTTACTGTTTTGT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTCTCAACATTTTGATGTTACTGTTTTGC
				R	GGAGATCAACAGAAGACATGAAGC
<i>Osk44</i>	A/C	9	13 665 180	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTTGTCAATAGTGAGTCGTCCGA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTGTTGTCAATAGTGAGTCGTCCGC
				R	CATATGTCATAAAACCCATGGGCC
<i>Osk45</i>	A/G	9	17 753 206	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTGGTGTCCGATTTTCTGTTTTA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTGTGGTGTCCGATTTTCTGTTTTG
				R	GTATCGGGATTAGTCAGTCGTCA
<i>Osk46</i>	T/C	10	369 133	F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGAGTAGTCATCTATTAAGTAGATAGTACT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTGCGAGTCAACGGATTTGAGTAGTCATCTATTAAGTAGATAGTACC

续表2 Continued2

标记	等位碱基变异	染色体	物理位置(bp)		引物序列(5'→3')
<i>Osk47</i>	C/T	10	2 335 637	R	GCACACCAATCCAATGTCACCTTAA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTATTGTTGAGGCACCTCCCCC
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTATTGTTGAGGCACCTCCCT
<i>Osk48</i>	T/C	10	3 787 248	R	AACTGCCCATCTAATGAACTGGAT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCCAGCAGAGCTCACCGT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGCCAGCAGAGCTCACCGC
<i>Osk49</i>	T/G	10	10 724 291	R	TTGAGAAATCAAGCTGTACCTCCA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGAAGAATAGCTTAAAGAAAAATAAAACACTATT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGAAGAATAGCTTAAAGAAAAATAAAACACTATG
<i>Osk50</i>	C/T	10	19 029 893	R	TGGTATTGACGATATGCCATGAT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGGTCACATAAATAATCTGTGTTCAAC
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTAGGTCACATAAATAATCTGTGTTCACT
<i>Osk51</i>	C/T	11	4 374 875	R	GCATTTGTGAAACAAGAGGGTACA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTCCGTGACACGTACGTAC
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGTCCGTGACACGTACGTAT
<i>Osk52</i>	G/A	11	18 935 157	R	CAACTGAACGGAGAGGCAAGCTAT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCAAGTCTCTCTCACAAAGGAGGG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTCAAGTCTCTCTCACAAAGGAGGA
<i>Osk54</i>	G/A	11	26 085 857	R	GCAAATGCTTGAGAGAGATTCTGG
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGTGAAGCGTACTATAGAGACATG
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTAGTGAAGCGTAGTATAGAGACATA
<i>Osk57</i>	T/G	12	1 794 727	R	TACTCGATTATGAGGCTCAGCTC
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGCACAATGTTCTGTTTTCACTCTT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTAGCACAATGTTCTGTTTTCACTCTG
<i>Osk58</i>	A/T	12	2 738 115	R	GAAGGCTGTGTCTTTTTCTTGA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAAGTGCAAGCCTTTGAAATTGAAA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTAAAGTGCAAGCCTTTGAAATTGAAT
<i>Osk59</i>	A/G	12	13 784 750	R	TGATCAAGACAAGTGTAGCCAAGA
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCGGTGCAAGGCTCTCGTGA
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGCGTGAAGGCTCTCGTGG
<i>Osk60</i>	T/C	12	24 090 217	R	CCGACCCGACTACTATGAAGTTAT
				F <sub>1</sub>	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTTGCTCACTGAACCTGTATTAAT
				F <sub>2</sub>	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGTTGCTCACTGAACCTGTATTAAC
				R	CTAGAAACCACAACCACTCCAAAC

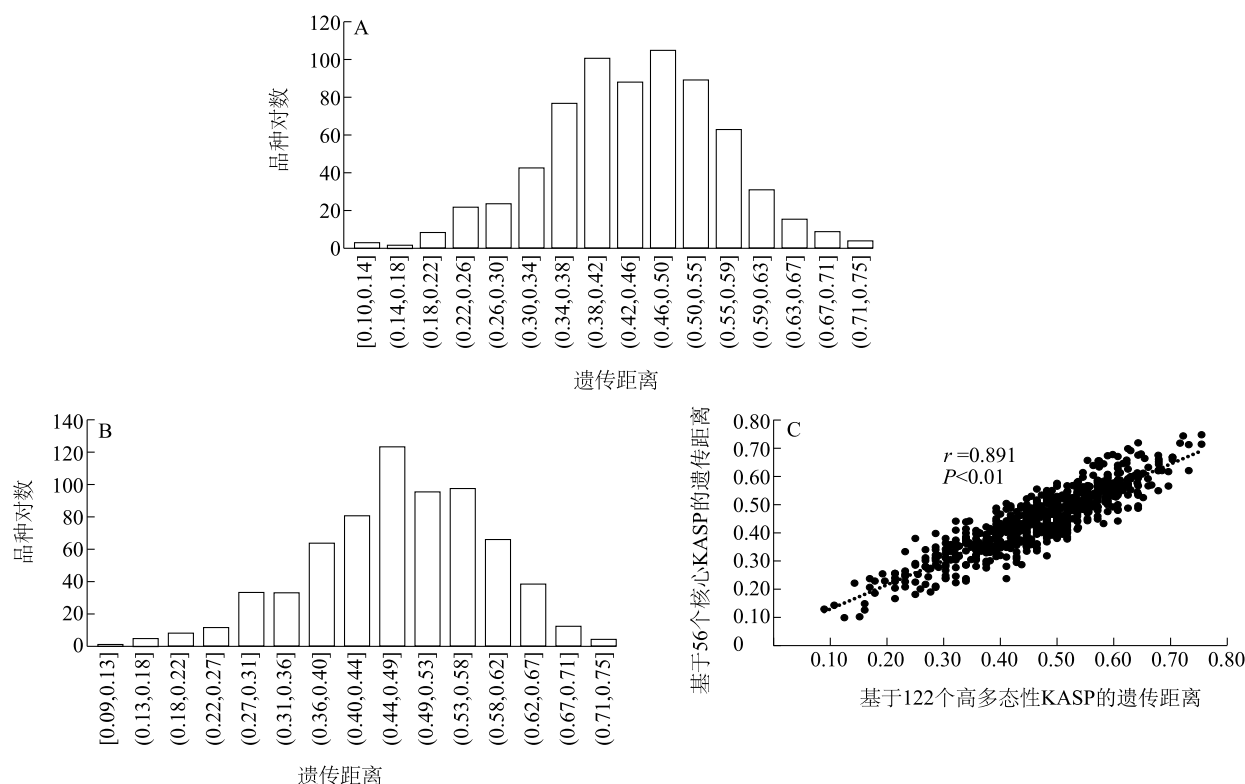
F<sub>1</sub>:正向引物 1;F<sub>2</sub>:正向引物 2;R:反向引物。

为验证 56 个核心 KASP 标记对水稻品种的区分效率,利用 122 个高多态性的 KASP 标记和 56 个核心 KASP 标记对 38 份江苏粳稻品种进行基因分型,计算品种间的遗传距离。基于 122 个高多态性 KASP 标记,38 份江苏育成粳稻品种的两两遗传距离为 0.10~0.75,遗传距离平均值为 0.46,对 38 份粳稻品种的区分效率为 100%。有 696 对粳稻品种间的遗传距离小于 0.7,占总对数的 99%;有 7 对粳

稻品种间的遗传距离大于 0.7,占总对数的 1%(图 3A)。基于 56 个核心 KASP 标记,38 份粳稻品种两两遗传距离为 0.09~0.75,遗传距离平均值为 0.47,对 38 份粳稻品种的区分效率为 100%。有 799 对粳稻品种的品种间遗传距离小于 0.7,占总对数的 98%;有 11 对粳稻品种的品种间遗传距离大于 0.7,占总对数的 2%(图 3B),并且基于 56 个核心 KASP 标记的遗传距离与基于 122 个高多态性 KASP 标记

的遗传距离呈极显著线性相关( $P<0.01$ ) (图 3C)。结果表明,56 个核心 KASP 标记可以有效代替 122

个高多态性 KASP 标记进行品种鉴定,即 56 个核心 KASP 标记可以有效鉴定江苏粳稻品种。



A:基于 122 个 KASP 标记的 38 份粳稻品种间遗传距离;B:基于 56 个核心 KASP 标记的 38 份粳稻品种间遗传距离;C:基于两组标记的 38 份水稻品种间遗传距离的相关性。

图 3 基于 2 组标记的 38 份粳稻品种间的遗传距离分析

Fig.3 Genetic distance analysis of 38 japonica rice varieties based on two sets of markers

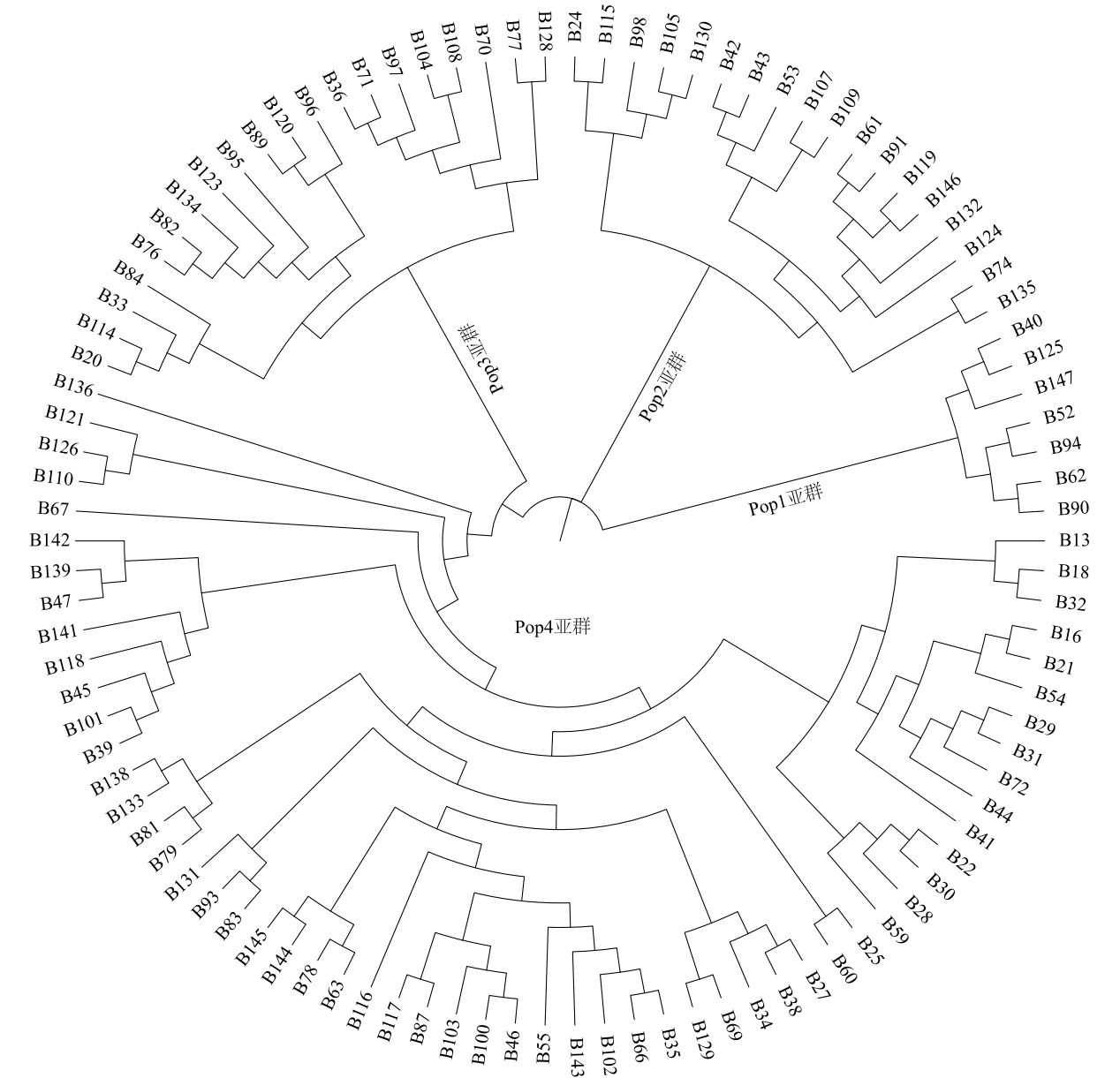
### 2.3 102 份江苏粳稻品种遗传多样性分析

利用 56 个核心 KASP 标记对 102 份江苏粳稻品种进行基因分型,计算品种间的遗传距离,利用邻接法(Neighbor-joining method)构建该群体的聚类进化树,结果显示 102 份水稻品种可以被划分为 4 个亚群,Pop1、Pop2、Pop3、Pop4(图 4)。Pop1 亚群包含 7 份品种,其中有 6 份品种为武运粳 3 号衍生后代,主要为江苏太湖和苏南地区种植的品种,如南粳 46、宁粳 3 号;Pop2 亚群包含 18 份品种,主要为江苏省苏中及宁镇扬丘陵地区推广的品种,如扬育粳 2 号、武运粳 24 号;Pop3 亚群包含 20 份品种,主要为江苏省淮北地区大面积推广品种,包括盐粳和华粳系列;Pop4 亚群包含 57 份品种,该亚群品种数目最多,其中桂花黄、秀水 04、武育粳 3 号、镇稻 88 为江苏粳稻育成品种的早期骨干亲本,系谱分析发现 Pop4 亚群主要为这些骨干亲本及其衍生后代的粳

稻品种。Pop4 亚群中,徐稻 3 号(B66)、徐稻 4 号(B143)、徐稻 7(B144)号、徐稻 8 号(B145)、连粳 20(B87)、连粳 6 号(B100)、镇稻 99(B55)、宁粳 4 号(B101)等 8 份在江苏淮北地区大面积推广的粳稻品种均为镇稻 88(B35)的衍生后代;淮稻 5 号(B72)、淮稻 6 号(B44)、南粳 51(B129)、南粳 0212(B131)均和骨干亲本武育粳 3 号有亲缘关系。以上结果表明 56 个核心 KASP 标记能够将不同品种的粳稻根据亲缘关系进行聚类。

### 2.4 102 份江苏粳稻品种 DNA 指纹图谱构建

根据 56 个核心 KASP 标记对 102 份江苏粳稻品种的基因分型结果构建江苏育成粳稻品种的特异 DNA 指纹图谱数据库。将 KASP 标记基因型分为 AA、TT、CC、GG、杂合、缺失 6 种情况,分别用 1、2、3、4、0、9 表示,在 Excel 中对基因型数据进行数字化赋值后,每份材料的基因型信息由一串 56 个数字构



B13、B16、B18、B20、B21、B22、B24、B25、B27、B28、B29、B30、B31、B32、B33、B34、B35、B36、B38、B39、B40、B41、B42、B43、B44、B45、B46、B47、B52、B53、B54、B55、B59、B60、B61、B62、B63、B66、B67、B69、B70、B71、B72、B74、B76、B77、B78、B79、B81、B82、B83、B84、B87、B89、B90、B91、B93、B94、B95、B96、B97、B98、B100、B101、B102、B103、B104、B105、B108、B107、B109、B110、B114、B115、B116、B117、B118、B119、B120、B121、B123、B124、B125、B126、B128、B129、B130、B131、B132、B133、B134、B135、B136、B138、B139、B141、B142、B143、B144、B145、B146、B147 见表 1。

图 4 102 份粳稻品种的聚类分析  
Fig.4 Cluster analysis of 102 japonica rice varieties

成,如南粳 9108 的分子身份信息数字化表示为“14343411331142433413224421124142132331112343233222444243”,构建 102 份水稻品种的 DNA 指纹图谱(表 3)。对比 102 份粳稻品种的 DNA 指纹数据发现,56 个 KASP 标记将 102 份粳稻品种分为 102 种特异单倍型,即将 102 份

江苏粳稻全部区分,区分效率达到 100%。将分子身份证数据批量导入草料二维码生成软件([https://console.cli.im/nedit?create\\_from=126](https://console.cli.im/nedit?create_from=126))中,分别生成了 102 份水稻品种的分子身份证指纹图谱二维码,图 5 展示了部分粳稻品种的分子身份证二维码。

表 3 102 份江苏粳稻品种的 DNA 指纹图谱

Table 3 DNA fingerprint database of 102 japonica rice varieties in Jiangsu

品种名称	编号	分子身份证信息
桂花黄	B13	41343414431443133413224421421211432331142222233932442112
南粳 23	B16	4431311433141213211223443412121143332144222222223442142
南粳 34	B18	41343414431442122112224221421112132221442223233433442112
盐粳 2 号	B20	14314444314193423449933431131242133234113343333422194143
南粳 35	B21	441131143314424321129344344242421223214422222223442112
紫金糯	B22	44343144331142133412223424121111432321442223232232442112
早单八	B24	11344414314112132143324234124111432324443223322233144242
武香粳 1 号	B25	11144111331143133412223224124112133331142223332232412112
秀水 04	B27	1111344443111313314232423413414212332441222222423412142
武复粳	B28	44314144331142133113223421421111432321443223232232412142
武育粳 2 号	B29	4134311433141212341222322412121143232144322222432442142
太湖糯	B30	4111314433114213311222343412111143332144222322232442112
武育粳 3 号	B31	4434311433141212341222322412121143232144322322232442142
扬粳 186	B32	41313414431442122112334221424111432331442223233433442142
武粳 4 号	B33	44114944314143432419333434131242133234113349223422114243
太湖粳 2 号	B34	1111314433111313311232323412114212332144222222423412112
镇稻 88	B35	1134411143111312314222423412414212323444222232232112112
武育粳 5 号	B36	4431344133141243244232422143121143232444234330222414242
早丰 9 号	B38	1131344143111313314222423413414212332444222222423412142
盐粳 5 号	B39	4131311443141213214222323142121142232144222222233442143
香粳 111	B40	4114341441441342244322422143411142332411234332222114212
武香粳 9 号	B41	4414341433141212314222422413411143233114222222432442142
武运粳 8 号	B42	1434344131414243344332442143121143222141334332223414243
武运粳 7 号	B43	1434344131414243344332422143121143222141334332223414243
淮稻 6 号	B44	44343114331412123413223224121211432321442223333433442113
优辐粳	B45	4131311443144242241232343412111142232144222222233112143
盐粳 6 号	B46	1134311143114213314222423412414213322444222232232112112
苏香粳 1 号	B47	11343111431112133142224234121211423224442223232232142112
南粳 39	B52	1414441131111243244232422143411143232111222332223114243
武运粳 11 号	B53	14313441314412432443324221431211432321412343322233414213
连粳 3 号	B54	44113114431412133113324224121212132321442222322433442112
镇稻 99 号	B55	1134911443114343314222423412414212333444222232932142112
苏香粳 2 号	B59	4431344443111213311222422142411142333444222232222412112
苏粳 2 号	B60	14113141331143123112224221424142133331442223322432412112
武粳 13 号	B61	14343144314412433112324221421211432324442343323233442113
武香粳 14 号	B62	1414441131414243244332422143411142332111022232222414243
南粳 41	B63	1131311443141213314222423442414212322444222229222114212
徐稻 3 号	B66	1134410143111312314222423412414212323444222232232112112
连嘉粳 1 号	B67	1114314431114243314222442412411143232444222222233114212
淮稻 7 号	B69	0434311433141212311222322412124213332444222222232419142
常农粳 4 号	B70	1114344141411343314322422143121142222141322332222414243
宁粳 1 号	B71	1434344143141243344232343143121943232144334322223144243
淮稻 5 号	B72	4134311433141243244222322412121142232144322222433442142



续表3 Continued3

品种名称	编号	分子身份证信息
盐稻 9 号	B74	11343441314142433442323021131211432221443343322232414242
华粳 5 号	B76	14343111314142433413324224124142132221113222233222442112
扬辐粳 8 号	B77	1434344431444213314332443143411142333111222332223444243
扬辐粳 7 号	B78	1111311443141243314302423443414212322444222223222114219
淮稻 9 号	B79	1431311433111213241222423412124212933444222323232449112
南粳 44	B81	4131311433111213214222423412424212333144222222232402112
武运粳 21 号	B82	14343411314142433413324424124142132331113222233222442142
盐粳 9 号	B83	1111411443111243214233322412414212333444322222232144243
华粳 6 号	B84	1414341431414213311332322142414212233141334322223114243
连粳 20	B87	113431114311121331432342341211421322244422223232112112
常农粳 5 号	B89	11114414414142133142324424124212133224443343233222442112
南粳 46	B90	1414341441414243244332422112411142232111222222232414213
扬粳 4038	B91	14343111314142433442324421431211432234443343322232442113
淮稻 11 号	B93	1111411443141243214233322412414212333444322222232144243
宁粳 3 号	B94	14114411431112433442324221431111432321112223322233144243
武香粳 19	B95	14313411414112423413324434124111432331112223232422412112
武粳 15	B96	41113444314112132443323424434211432221412223333422442142
盐稻 10 号	B97	14313441431442432143324224421211432224413222202232114243
盐粳 11 号	B98	04344444314112433142324221424111432331142343322232444212
连粳 6 号	B100	413431114311421331432342341241421332244422223232112112
宁粳 4 号	B101	4131311443141243214233443142121142222141222222223412112
武陵粳 1 号	B102	1134411143111312314222423412414212322444222232232112112
南粳 45	B103	1134311143114213314322423412114213322444222232233112112
盐粳 10 号	B104	11313441314142133142334421421211433221443343233223414243
镇稻 12 号	B105	1434344141414243214322442142411143222444334232223414212
武运粳 24 号	B107	14343411314142432442324221434211423321112343322232414213
中稻 1 号	B108	4131341131414243341333442142121143222144322322223414143
连粳 7 号	B109	14344411314142433442324221421211432331112343322232444213
镇稻 11 号	B110	14344441414112133142324231129142133231442222322223112112
南粳 5055	B114	44014944314143423142333039031242000334113343333422114243
扬育粳 2 号	B115	14344414414113433443324221424111432224442343322233114242
通粳 981	B116	111141413311421231422242341241421233244422223232114212
镇稻 14 号	B117	1134311143111213314323429412414213292444222232232119112
武运粳 27	B118	0111341443111213314293423412421142222144222222223142142
连粳 9 号	B119	14343411311112432412324224421241432931112343322232142112
连粳 11 号	B120	11943141414142132143324424131142123321442223333432412113
南粳 49	B121	14144141414112433443324221434142133324412222322433114212
南粳 9108	B123	14343411331142433413224421124142132331112343233222444243
镇稻 18 号	B124	04343414314142432443324424121211432221112343222232144243
武运粳 30	B125	04143114414412432443324224124111422321112343393233112113
南粳 52	B126	14343411414142133142324231124142132331443222322222142112
常农粳 8 号	B128	14143441314112432142324424421211422331412223232223144213
南粳 51	B129	1131314433141212314222322412114212333444222222432442142
武运粳 31 号	B130	1434341131414243214332422142411143222114234332223444212

续表3 Continued3

品种名称	编号	分子身份证信息
南粳 0212	B131	1111314433111313244232342413414212223444222232232142142
宁粳 6 号	B132	14313411314142432442324421421111432321412343322232442143
苏香粳 100	B133	41313114314112132413323234124242132334412223232222442112
盐粳 16 号	B134	14343411314142433143334421434142132221113223233223444143
宁粳 7 号	B135	14343441314142433412324224134111432221142343322233114242
宁粳 8 号	B136	14344144314112133443224221431211422321142223323233112142
连粳 18 号	B138	01313114314112132413923234124242132334412223232222442112
中种香糯	B139	1134311143111312314222422413414142332144222323232112112
镇稻 4 号	B141	11344114431112130412224431421211433221442223222230442142
徐稻 5 号	B142	11343111431413423142324234424111432321443223222232412112
徐稻 4 号	B143	11344111431113133142224234124142123221442223232232112112
徐稻 7 号	B144	1131311443101302314222423412414212332144222322222412112
徐稻 8 号	B145	11113011411113133143224234124142123234442223222232012112
徐稻 9 号	B146	14343411311112432412324224421241432221142343322232142112
镇稻 21	B147	11113114314142423443324234424111422221412343222232114213

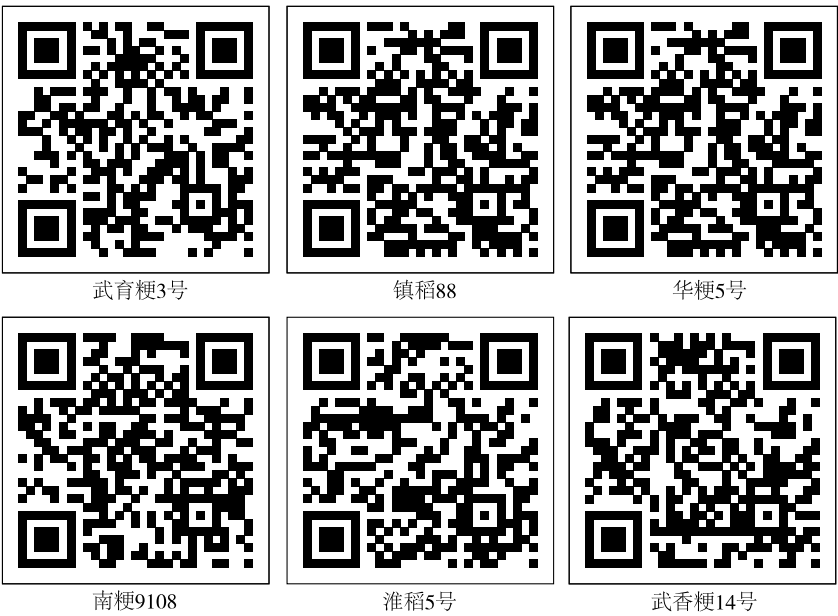


图5 部分江苏粳稻品种的分子身份证二维码  
Fig.5 Two-dimensional code of molecular ID card for some japonica rice varieties in Jiangsu

3 讨论

种质鉴定是种质保存和新品种审定的重要环节<sup>[17-19]</sup>,建立快速、准确的品种鉴定体系对种质鉴定具有重要意义。利用 DNA 指纹技术<sup>[20]</sup>可以实现品种的快速、准确鉴定,该技术在种质鉴定和产权纠纷中发挥重要作用。此外,通过 DNA 指纹鉴定技

术,不仅可以有效鉴别出种质库中的重复种质资源,还可以快速、准确地进行种质资源的鉴定与评价,大大提高种质资源的保存质量与利用效率<sup>[21]</sup>。  
SSR 和 SNP 分子标记为国内外公认的农作物 DNA 指纹鉴定技术,SSR 标记的基因分型过程包括 PCR 扩增、凝胶电泳和银染或荧光检测等多个步骤,操作繁琐且耗时较长,特别是在高通量检测中,

需要同时分析大量样本,传统 SSR 基因分型方法无法满足这种需求<sup>[22]</sup>。SNP 位点在基因组中分布广泛,随着测序技术的发展,SNP 位点的检测方法也越来越多样。全基因组测序可以对品种进行准确鉴定,但重测序文库的建立成本较高,且数据量庞大,对研究人员的数据分析能力要求更高<sup>[23]</sup>。芯片微阵列技术可以检测全基因组 SNP 位点,但是其检测成本较高,在品种鉴定中不够灵活。与其他 SNP 检测方法相比,KASP 技术灵活性较高,且检测成本低<sup>[24]</sup>。近年的研究表明,提取核心 SNP 位点可以实现对品种的有效鉴定<sup>[16]</sup>。魏中艳等<sup>[25]</sup>利用 12 个高多态性 KASP 标记与 2 个特异等位变异 KASP 标记组成了大豆核心标记组合 GlySNP14,利用 GlySNP14 对 599 份大豆种质进行鉴定,其中 100 份大豆种质能被准确区分,表明确定核心 KASP 标记可以降低鉴定成本,同时保证鉴定的准确性。

由于同一种植区往往集中利用少数骨干优良亲本进行育种,导致遗传背景狭窄,育成品种同质化严重,因此需要建立特定区域育成品种的分子指纹图谱,一方面可以鉴定种质的真实性,另一方面也可以为亲本选择提供指导<sup>[26-27]</sup>。江苏地区作为中国主要的粳稻栽培区,具有悠久的种植历史和丰富的种质资源。构建江苏地区粳稻品种 DNA 指纹图谱,有助于提高品种鉴定的准确率和效率,避免传统鉴定方法中的主观性和误差,同时也有助于发掘和利用江苏地区的优良种质资源,推动粳稻产业的可持续发展。

## 4 结 论

本研究利用 10k 液相芯片对 314 份遗传多样性丰富的粳稻种质资源进行全基因组扫描结果,筛选出 170 个在 12 条染色体均匀分布、高多态性的 SNP 位点,其中根据 122 个 SNP 位点设计出 122 个 KASP 标记。以 38 个江苏主要育成粳稻品种作为检测群体,筛选出 56 个核心 KASP 标记。遗传距离相关性分析结果表明,基于 56 个核心 KASP 标记的江苏粳稻品种遗传距离与基于 122 个高多态性 KASP 标记的江苏粳稻品种遗传距离呈极显著线性相关( $P < 0.01$ ),表明 56 个核心 KASP 标记可以有效代替 122 个高多态性 KASP 标记进行品种鉴定,大大降低了检测成本。利用 56 个核心 KASP 标记对江苏 102 份主要育成粳稻品种进行品种检测,发

现 56 个标记组合在 102 份品种中可以形成 102 个特异的单倍型,说明 102 份材料能够被完全区分,表明 56 个核心 KASP 标记可以有效区分江苏区域的粳稻品种,同时 56 个核心 KASP 标记可以用于江苏粳稻分子指纹数据库构建。本研究结果对江苏地区粳稻品种的高效鉴定和资源高效利用具有重要意义。

## 参考文献:

- [1] 李阳阳,李 剑,周欣兴,等. 新时期水稻新品种保护和 DUS 测试现状与问题探讨[J]. 中国稻米,2024,30(2):51-56.
- [2] 孔维国,王俊峰,丁汉凤. DNA 指纹数据库在我国主要农作物种质资源中的应用[J]. 山东农业科学,2014,46(4):131-135.
- [3] 唐立群,肖层林,王伟平. SNP 分子标记的研究及其应用进展[J]. 中国农学通报,2012,28(12):154-158.
- [4] 王富强,樊秀彩,张 颖,等. SNP 分子标记在作物品种鉴定中的应用和展望[J]. 植物遗传资源学报,2020,21(5):1308-1320.
- [5] ALEXANDROV N, TAI S S, WANG W S, et al. SNP-Seek Database of SNPs derived from 3000 rice genomes [J]. Nucleic Acids Research,2015,43:1023-1027.
- [6] CHEN H D, XIE W B, HE H, et al. A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding [J]. Molecular Plant,2014,7(3):541-553.
- [7] 李巧英. 农作物种子检测中 SSR 与 SNP 分子标记方法的比较分析[J]. 中国种业,2021(12):48-50.
- [8] 中国水稻研究所,中国科学院分子植物科学卓越创新中心,全国农业技术推广服务中心. 水稻品种真实性鉴定 SNP 标记法:NY/T 2745-2021[S]. 北京:中国农业出版社,2021.
- [9] 颜廷进,蒲艳艳,张文兰,等. 基于 SNP 标记的菜豆品种真实性和纯度鉴定技术[J]. 山东农业科学,2019,51(12):111-119.
- [10] KUMAR D, CHHOKAR V, SHEORAN S, et al. Characterization of genetic diversity and population structure in wheat using array based SNP markers [J]. Molecular Biology Reports,2020,47(1):293-306.
- [11] TAM N T, DWIYANTI M S, KOIDE Y, et al. Profiling SNP and nucleotide diversity to characterize mekong delta rice landraces in southeast asian populations [J]. Plant Genome,2019,12(3):1-11.
- [12] TIAN H L, YANG Y, YI H M, et al. New resources for genetic studies in maize (*Zea mays* L.): a genome-wide Maize6H-60K single nucleotide polymorphism array and its application [J]. Plant Journal,2021,105(4):1113-1122.
- [13] 孙正文,匡 猛,马峙英,等. 利用 CottonSNP63K 芯片构建棉花品种的指纹图谱[J]. 中国农业科学,2017,50(24):4692-4704.
- [14] 杨青青,唐家琪,张昌泉,等. KASP 标记技术在主要农作物中的应用及展望[J]. 生物技术通报,2022,38(4):58-71.

- [15] 陆海燕,周玲,林峰,等. 基于高通量测序开发玉米高效 KASP 分子标记[J]. 作物学报,2019,45(6):872-878.
- [16] 李乐晨,朱国忠,苏秀娟,等. 适于海岛棉指纹图谱构建的 SNP 核心位点筛选与评价[J]. 作物学报,2019,45(5):647-655.
- [17] 石晗,陈子义,陈珏,等. 54 份蚕豆种质资源主要农艺性状的综合鉴定与评价[J]. 江苏农业科学,2023,51(20):67-76.
- [18] 周玉杰,贺治洲,林秋云,等. 热带水稻种质资源全生育期耐盐性鉴定与评价[J]. 南方农业学报,2023,54(7):1944-1952.
- [19] 许园园,邢苗苗,严继勇,等. 甘蓝黑腐病致病菌分离与种质资源抗性鉴定[J]. 江苏农业科学,2022,50(10):98-103.
- [20] 周彩霞,罗培四,孔方南,等. 木奶果种质资源的遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建[J]. 南方农业学报,2022,53(5):1207-1215.
- [21] 马小定,崔迪,韩冰,等. 水稻种质资源全基因组 DNA 指纹鉴定方法研究[J]. 植物遗传资源学,2023,24(4):1106-1113.
- [22] CASTELLANA S, RANZINO L, BERITOGNOLO I, et al. Genetic characterization and molecular fingerprint of traditional umbrian tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces through SSR markers and application for varietal identification[J]. Genetic Resources and Crop Evolution,2020,67(7):1807-1820.
- [23] HUANG X H, HAN B. Natural variations and genome-wide association studies in crop plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 2014,65:531-551.
- [24] SEMAGN K, BABU R, HEARNE S, et al. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP):overview of the technology and its application in crop improvement[J]. Molecular Breeding,2014,33(1):1-14.
- [25] 魏中艳,李慧慧,李骏,等. 应用 SNP 精准鉴定大豆种质及构建可扫描身份证[J]. 作物学报,2018,44(3):315-323.
- [26] 孔维国,王俊峰,丁汉凤,等. DNA 指纹数据库在我国主要农作物种质资源中的应用[J]. 山东农业科学,2014,46(4):131-135.
- [27] 吴则东,江伟,马龙彪. 分子标记技术在农作物品种鉴定上的研究进展及未来展望[J]. 中国农学通报,2015,31(33):172-176.

(责任编辑:成纾寒)