

DOI:CNKI:61-1390/S.20111025.2130.022

网络出版时间:2011-10-25 21:30

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20111025.2130.022.html>

水稻地方品种群体内的遗传多样性分析

孙建昌^{1,2,3}, 曹桂兰², 李亚非², 马 静³, 陈耀锋¹, 韩龙植²

(1 西北农林科技大学 农学院, 陕西 杨凌 712100; 2 中国农业科学院 作物科学研究所/国家农作物基因资源与基因改良
重大科学工程/农业部作物种质资源利用重点开放实验室, 北京 100081; 3 宁夏农林科学院 农作物研究所, 宁夏 永宁 750105)

[摘 要] **【目的】**研究水稻地方品种群体内的遗传多样性, 为水稻地方品种的有效保护和利用提供理论依据。**【方法】**以来自云南省不同地区的齐头谷、大白糯、香谷、九月糯、接骨糯、冷水谷、黄版所、麻线谷等 8 个水稻地方品种为试验材料, 分析 7 个主要农艺性状在群体内的表型变异, 利用 11 对 SSR 引物进行水稻地方品种群体内的遗传多样性分析。**【结果】**在 7 个主要农艺性状中, 穗抽度、有效穗数和穗粒数在地方品种群体内的变异系数较大, 分别为 37.5%~950.1%, 32.0%~49.4% 和 17.8%~37.5%, 而剑叶宽和株高在地方品种群体内的变异系数较小, 分别为 8.2%~13.7% 和 4.5%~14.3%。8 个水稻地方品种各群体内等位基因数的变幅为 27~55 个, 每个位点的平均等位基因数为 2.45~5.00 个; 稀有等位基因(基因频率小于 5%)比率除麻线谷较小(26.0%)外, 其余地方品种均较大, 为 43.2%~69.0%; 平均 Nei 基因多样性指数变异在 0.108 3~0.534 2, 平均为 0.281 3, 在各地地方品种间表现出极显著差异。AMOVA 分析表明, 地方品种群体间的变异率为 65.9%, 而群体内的变异率为 34.1%; 11 对 SSR 引物中, RM333、RM257 和 RM180 在各群体内既表现出较多的等位基因数(N_a), 分别为 7.50、5.63 和 4.50 个; 又表现出较高的 Nei 基因多样性指数(H_e), 分别为 0.503 6、0.413 9 和 0.350 3。**【结论】**穗抽度、有效穗数和穗粒数在地方品种群体内的表型多样性较高, 而剑叶宽和株高在地方品种群体内的表型多样性较低。水稻地方品种群体内具有较高的遗传多样性, 且在地方品种间表现出显著差异; AMOVA 对水稻地方品种群体的遗传变异分析表明, 有 1/3 的差异来源于群体内; RM333、RM257、RM180 适合用于云南水稻地方品种群体内的遗传多样性检测。

[关键词] 水稻; 地方品种; SSR; 遗传多样性

[中图分类号] S511.01

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2011)12-0145-08

Analysis of genetic diversity within populations of rice (*Oryza sativa* L.) landraces

SUN Jian-chang^{1,2,3}, CAO Gui-lan², LI Ya-fei², MA Jing³,
CHEN Yao-feng¹, HAN Long-zhi²

(1 College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop Germplasm Resources and Utilization,
Ministry of Agriculture/The National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081, China;

3 Institution of Crop Research, Ningxia Academy of Agricultural Sciences, Yongning, Ningxia 750105, China)

Abstract: **【Objective】**In this paper, we studied genetic diversity within rice landraces. The objective is to provide theoretical basis for protecting genetic integrity of rice landraces effectively. **【Method】**Using 11 pairs of SSR markers and 7 agronomic traits, Qitougu, Dabainuo, Xianggu, Jiuyuenuo, Jiegunuo, Leng-

* [收稿日期] 2011-05-30

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD13B01); 农业部作物种质资源保护项目(NB09-2130135-1-1)

[作者简介] 孙建昌(1975—), 男, 宁夏盐池人, 在读博士, 主要从事水稻遗传育种研究。E-mail: nxsjch@163.com

[通信作者] 韩龙植(1962—), 男, 黑龙江东宁人, 研究员, 博士生导师, 主要从事水稻种质资源研究。

E-mail: lzhan58@yahoo.com.cn

陈耀锋(1956—), 男, 陕西岐山人, 教授, 博士生导师, 主要从事农业生物技术研究。E-mail: chenyf3828@126.com

shuigu, Huangbansuo and Maxiang 8 rice landraces collected from Yunnan province were analyzed. 【Result】 Among 7 agronomic traits, coefficient of variation of panicle exertion, panicles per plant and spikelets per panicle were higher, respectively ranging from 37.5% to 950.1%, 32.0% to 49.4% and 17.8% to 37.5%, while flag leaf width and plant height were lower, ranging from 8.2% to 13.7%, 4.5% to 14.3%, respectively. Among 8 rice landraces, the genetic diversity indexes (He) were significantly different, ranging from 0.108 3 to 0.534 2, with the average of 0.281 3. The number of alleles (Na) among rice landrace populations ranged from 27 to 55, with the average from 2.45 to 5.00. The percentage of rare alleles (genetic frequency less than 5%) was higher from 43.2% to 69.0% except for Maxiang (26.0%) among rice landrace populations. The percentage of variation among populations of rice landraces was 65.9%, while that within populations reached 34.1% using AMOVA. RM333, RM257 and RM180 had higher He and Na than others among 11 SSR markers. The average of He was 0.503 6, 0.413 9, 0.350 3, respectively, and the average of Na was 7.50, 5.63 and 4.50, respectively. 【Conclusion】 Panicle exertion, panicles per plant and spikelets per panicle which were high coefficient of variation had rich phenotypic diversity within rice landraces, while flag leaf width and plant height were low. Genetic diversity within rice landraces was significantly different; Rice landrace within populations was high genetic diversity and contains a wealth of variations; AMOVA showed that the one-third genetic differences among populations of rice landraces were from within the populations. RM333, RM257 and RM180 were suitable for the testing of genetic diversity within rice landraces of Yunnan using 11 SSR markers.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); landrace; SSR; genetic diversity

种质资源是植物遗传育种的重要物质基础。回顾水稻育种的发展历程,从矮秆资源到野败型不育系,再到光温敏核不育和新株型资源,每一次水稻育种的重大突破都与水稻优异种质资源的发掘与利用有着直接的关系。地方品种是我国水稻种质资源的主要组成部分,截至 2010 年,我国整理编目的水稻种质资源共有 80 654 份,其中地方稻种占 66.70%。地方品种是在水稻驯化过程中自然和人为长期选择的产物,与育成品种相比,地方品种蕴藏着大量的抗病、抗逆、优质、高产等优异基因^[1-3],在水稻新品种选育中具有重要的利用价值。作为骨干亲本,矮子占、胜利籼、陆财号、低脚乌尖、鸡对伦等水稻地方品种在我国水稻育种中得到广泛利用,为我国水稻育种的快速发展发挥了重要的作用^[4]。因此,水稻地方品种群体的遗传多样性研究对地方品种的有效保护和利用具有重要意义。前人对水稻地方品种的表现型、生化标记、分子标记等进行了较多的研究^[5-9]。Zhang 等^[7]利用 SSR 标记对云南 692 份核心地方品种的分析认为,地方品种具有丰富的遗传多样性,籼粳亚种差异显著,且思茅、临沧、西双版纳地区是云南地方品种的遗传多样性中心。Thomson 等^[8]对印度尼西亚东加里曼丹岛屿的水稻地方品种进行遗传多样性分析,认为当地的土著文化、风俗习惯及生态气候条件是水稻地方品种具有丰富遗传多样性

的重要原因。张立娜等^[9]对 158 份早稻地方品种和 20 份巴西早稻种质的研究表明,其平均 Nei 基因多样性指数为 0.615 3,地方品种群体具有较高的遗传多样性,并认为籼型早稻地方品种的基因多样性显著高于粳型早稻地方品种。综观现有研究成果,当前关于水稻地方品种的遗传多样性研究仅局限于地方品种间的遗传多样性,而关于单个地方品种群体内遗传多样性的研究报道甚少。本研究选取中国稻种最大的遗传和生态多样性中心——云南省^[5-6,10-13]的 8 个水稻地方品种,研究水稻地方品种群体内的遗传多样性和遗传结构,旨在为我国水稻地方品种的有效保护和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为 2007 年在云南省收集的 8 个水稻地方品种,分别为齐头谷、大白糯、香谷、九月糯、接骨糯、冷水谷、黄版所和麻线谷,来源于遗传多样性丰富的滇西南的临沧、德宏、思茅和滇东南的红河 4 个州(市)。2008—2009 年将上述材料种植于海南省三亚市南滨农场中国农业科学院作物科学研究所南繁试验基地,每份材料的群体大小为 110~151 个单株,详见表 1。在分蘖盛期每个单株取 3~4 片叶装入自封塑料袋,置于超低温冰箱于 -70℃ 保存,

用于 DNA 提取。抽穗 15 d 后调查每个群体内各单株的株高、穗长、有效穗数、穗粒数、穗抽出度、剑叶长、剑叶宽等主要农艺性状。

表 1 供试 8 个水稻地方品种的群体大小及来源

Table 1 The size of populations and origins for rice landraces selected in Yunnan province

种质名称 Germplasm name	群体大小 Number of single plants	原产地 Origin
齐头谷 Qitougu	132	澜沧县-思茅地区 Lancang county,Simao state
大白糯 Dabainuo	114	澜沧县-思茅地区 Lancang county,Simao state
香 谷 Xianggu	110	金平县-红河地区 Jinping county,Honghe state
九月糯 Jiuyuenuo	151	元阳县-红河地区 Yuanyang county,Honghe state
接骨糯 Jiegunuo	117	澜沧县-思茅地区 Lancang county,Simao state
冷水谷 Lengshuigu	127	元阳县-红河地区 Yuanyang county,Honghe state
黄版所 Huangbansuo	126	腾冲县-德宏地区 Tengchong county,Dehong state
麻线谷 Maxiangu	107	永德县-临沧地区 Yongde county,Lincang state

1.2 DNA 提取和 SSR 标记

按 Edwards 等^[14]的 CTAB 法,稍作改进后提取 DNA,并进行 DNA 的纯化。根据杨志奇^[15]、Shu 等^[16]和 Zhu 等^[17]的研究结果,初步筛选出多态性较高的 80 对 SSR 引物,并在试验材料中随机选择 6 个群体,每个群体随机抽取 10 个样本,共选择 60 个样本对初选的 80 对引物进行多态性试验,从中最终筛选出多态性较高的分布于水稻 10 条染色体上的 11 对 SSR 引物,用于本试验的 DNA 分析。PCR 体系总反应体积为 20 μL,其中含 10×PCR Buffer(含 Mg²⁺) 2.0 μL,2.5 mmol/L dNTP 1.5 μL,5 U/μL Taq 0.5 μL,2 μmol/L SSR 引物 2.0 μL,20 ng/μL DNA 2.0 μL,ddH₂O 12.0 μL。扩增程序为 94 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s,55~62 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共 37 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。待温度降至 10 ℃后,取出放入 4 ℃冰箱内备用。采用 6 g/L 的聚丙烯酰胺进行凝胶电泳及银染法检测^[18]。

1.3 数据分析

每 1 对 SSR 引物检测 1 个位点,每 1 条多态性带为 1 个等位基因,参照 <http://www.gramene.org/>提供的 SSR 信息进行记录,建立相应的数据库。SSR 数据应用 Popgene 32 统计软件^[19]计算等位基因数(*Na*)和 Nei 基因多样性指数(*He*),采用 ARLEQUIN ver 3.0 软件^[20]中的 AMOVA(Analysis of Molecular Variance)程序分析地方品种群体间和群体内遗传结构的差异。利用 SAS 9.0 进行数据统计与分析。*Na* 和 *He* 由以下公式计算:

$$Na=\frac{\sum_{i=1}^n a_i}{n}。$$

式中:*a_i* 表示第 *i* 个位点的等位变异数,*n* 为检测的位点总数。

$$He=\sum_{i=1}^n \frac{1-\sum_{j=1}^m p_{ij}^2}{n}。$$

式中:*p_{ij}* 表示第 *i* 个位点上第 *j* 个等位变异的频率,*n* 为检测位点数,*m* 表示第 *i* 个位点的等位变异总数。

2 结果与分析

2.1 水稻地方品种群体内主要农艺性状的表型变异

对参试 8 个云南水稻地方品种群体株高、穗长、有效穗数、穗粒数、穗抽出度、剑叶长、剑叶宽的表型变异进行分析,结果见表 2。由表 2 可以看出,8 个地方品种株高的变幅为 130.1~165.9 cm,群体内变异系数的变幅为 4.5%~14.3%;穗长的变幅为 21.8~26.6 cm,群体内变异系数的变幅为 9.5%~21.4%;有效穗数的变幅为 7.9~12.3,群体内变异系数的变幅为 32.0%~49.4%;穗粒数的变幅为 92.9~170.3 粒,群体内变异系数的变幅为 17.8%~37.5%;穗抽出度的变幅为-0.6~10.4 cm,群体内变异系数的变幅为 37.5%~950.1%;剑叶长的变幅为 27.7~38.6 cm,群体内变异系数的变幅 17.4%~20.8%;剑叶宽的变幅为 1.43~1.90 cm,群体内变异系数的变幅为 8.2%~13.7%。由以上群体内 7 个主要农艺性状的变异系数可见,穗抽出度、有效穗数、穗粒数在群体内的变异较大,而剑叶宽、株高的变异系数相对较小,说明穗抽出度、有效穗数和穗粒数在地方品种群体内表现出较高的表型多样性,而剑叶宽和株高在地方品种群体内表现为较低的表型多样性。在供试群体间,7 个主要农艺性状群体内变异系数的差异很大。九月糯、黄版所和大白糯各农艺性状群体内的变异系数较大,其变幅分别为 7.0%(株高)~950.1%(穗抽出度)、9.6%(株高)~175.9%(穗抽出度)、9.7%(株高)~

表 2 云南水稻地方品种群体内主要农艺性状的变异分析

Table 2 Analysis of some agronomic traits within rice landraces from Yunnan province

地方品种 名称 Landraces name	株高		穗长		有效穗数		穗粒数	
	Plant height		Panicle length		Panicles per plant		Spikelets per panicle	
	平均值/cm Mean	变异 系数/% Coefficient variation	平均值/cm Mean	变异 系数/% Coefficient variation	平均值 Mean	变异 系数/% Coefficient variation	平均值 Mean	变异 系数/% Coefficient variation
齐头谷 Qitougu	161.5±7.3	4.5	22.9±2.9	12.8	9.9±3.2	32.0	150.2±26.7	17.8
大白糯 Dabainuo	143.8±14.0	9.7	24.1±3.5	14.5	8.5±3.0	35.5	144.0±37.1	25.7
香谷 Xianggu	130.1±18.6	14.3	21.8±4.7	21.4	13.5±6.6	48.6	92.9±26.1	28.1
九月糯 Jiuyuenuo	165.1±11.6	7.0	26.6±3.4	13.0	7.9±3.1	39.1	170.3±53.2	31.2
接骨糯 Jiegunuo	141.8±7.3	5.1	25.3±2.4	9.5	9.7±4.5	46.4	129.9±30.6	23.5
冷水谷 Lengshuigu	165.9±11.6	7.0	24.5±3.4	13.9	11.3±5.3	46.7	168.9±48.3	28.6
黄版所 Huangbansuo	147.9±14.3	9.6	25.4±4.0	15.6	8.7±4.3	49.4	110.2±41.3	37.5
麻线谷 Maxiang	157.7±10.6	6.7	24.2±2.7	11.1	12.3±5.0	40.7	94.3±23.9	25.3

地方品种 名称 Landraces name	穗抽出度 Panicle exsertion		剑叶长 Flag leaf length		剑叶宽 Flag leaf width	
	平均值/cm Mean	变异 系数/% Coefficient variation	平均值/cm Mean	变异 系数/% Coefficient variation	平均值/cm Mean	变异 系数/% Coefficient variation
齐头谷 Qitougu	6.0±2.7	45.2	38.6±6.7	17.4	1.60±0.13	8.2
大白糯 Dabainuo	2.4±2.8	112.8	30.9±6.3	20.5	1.80±0.2	13.7
香谷 Xianggu	6.4±6.1	94.7	27.7±5.7	20.5	1.60±0.2	11.2
九月糯 Jiuyuenuo	−0.6±5.3	950.1	37.4±7.0	18.7	1.90±0.2	10.2
接骨糯 Jiegunuo	6.7±2.5	37.5	31.2±6.1	19.4	1.90±0.2	11.2
冷水谷 Lengshuigu	6.3±2.9	46.0	38.4±7.0	18.3	1.60±0.2	9.6
黄版所 Huangbansuo	−2.6±4.6	175.9	35.7±7.4	20.8	1.90±0.2	9.2
麻线谷 Maxiang	10.4±4.5	42.9	27.7±5.1	18.4	1.43±0.13	8.7

2.2 水稻地方品种群体内的 SSR 多样性分析

在 8 个水稻地方品种群体内检测到的等位基因

数见表 3。

表 3 8 个云南水稻地方品种群体内的 SSR 多样性

Table 3 Genetic diversity within 8 Yunnan rice landraces using SSR markers

种质名称 Germplasm name	等位基因数 Number of allele	平均等位基因数 Average of allele	稀有等位基因数 Number of rare allele	平均 Nei 基因 多样性指数 Average of Nei's genetic diversity index
齐头谷 Qitougu	27	2.45	13	0.108 3 Cc
大白糯 Dabainuo	37	3.36	16	0.350 1 Bab
香谷 Xianggu	55	5.00	38	0.214 0 BCbc
九月糯 Jiuyuenuo	49	4.45	26	0.288 0 Bbc
接骨糯 Jiegunuo	45	4.09	25	0.279 0 Bbc
冷水谷 Lengshuigu	42	3.82	23	0.209 6 BCbc
黄版所 Huangbansuo	47	4.27	26	0.267 2 BCbc
麻线谷 Maxiang	50	4.55	13	0.534 2 Aa

注:同列数据后的大写字母表示 5%显著水平,小写字母表示 1%显著水平。

Note: Capital letters represent the 5% significant level,lower case letters represent the 1% significant level.

由表 3 可以看出,每个地方品种群体内等位基因数的变异为 27(齐头谷)~55(香谷),每个位点平均等位基因数为 2.45~5.00 个,各群体间差异不显著($P=0.086$)。在等位基因中检测到的稀有等位基因(基因频率小于 5%)为 13~38 个。除麻线谷稀有等位基因数占等位基因数的比率(26.0%)较小外,其他 7 个群体内稀有等位基因数所占比率均较

大,为 43.2%~69.0%。在 8 个水稻地方品种群体间,各群体内的 Nei 基因平均多样性指数表现出极显著差异($P=0.000\ 3$),其大小顺序为麻线谷(0.534 2)>大白糯(0.350 1)>九月糯(0.288 0)>接骨糯(0.279 0)>黄版所(0.267 2)>香谷(0.214 0)>冷水谷(0.209 6)>齐头谷(0.108 3)。用 LSD 法对 Nei 基因平均多样性指数进行的多重

比较表明,除与大白糯呈显著差异外,麻线谷与其余群体均呈极显著差异;大白糯与齐头谷呈极显著差异,九月糯和接骨糯均与齐头谷呈显著差异。

2.3 水稻地方品种群体间和群体内遗传结构的差异

AMOVA 分析表明(表 4),8 个供试水稻地方

品种群体间和群体内遗传变异差异显著($P<0.001$),其中各品种群体间的变异率为 65.9%,而群体内的变异率达到了 34.1%,表明供试水稻地方品种群体遗传结构的差异中,有 1/3 差异来源于品种群体内,2/3 差异来自于品种群体间。

表 4 不同水稻地方品种群体间和群体内的分子方差分析(AMOVA)

变异来源 Source of variation	自由度 Df	方差分量 Variance components	变异率/% Percentage of variation	P
群体间 Among populations	7	2.94	65.9	<0.001
群体内 Within populations	976	1.52	34.1	
合计 Total	983	4.46		

由图 1 可见,11 个 SSR 位点在水稻品种群体内的变异率表现不同(图 1),RM333 和 RM257 的变异率较大,达到 50% 以上,其次是 RM180 和

RM48,而 RM287、RM449 和 RM263 在群体内的变异率较小。

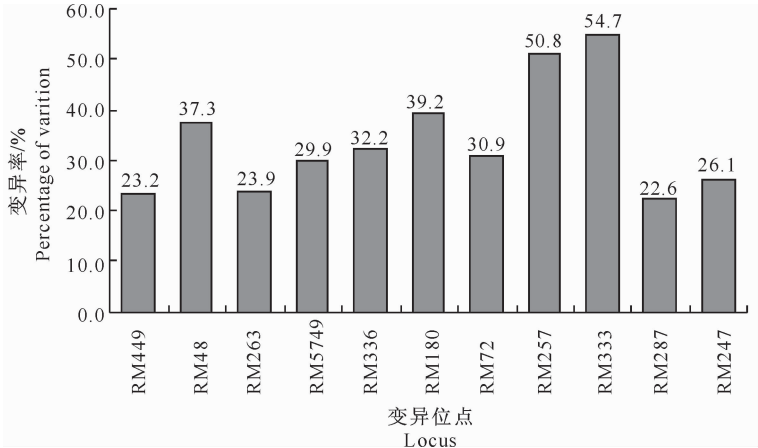


图 1 水稻地方品种群体内不同位点的变异率

Fig. 1 Percentage of variations of locus within populations of rice landraces

2.4 水稻地方品种群体内 SSR 标记遗传多样性的检测效率

利用 11 对 SSR 引物,对齐头谷、大白糯、香谷、

九月糯、接骨糯、冷水谷、黄版所和麻线谷 8 个水稻地方品种群体内的遗传多样性进行分析,所得结果见表 5、6。

表 5 11 对 SSR 引物对云南水稻地方品种群体内的等位基因

引物 Locus	等位基因数 Number of alleles								
	齐头谷 Qitougu	大白糯 Dabainuo	香谷 Xianggu	九月糯 Jiuyuenuo	接骨糯 Jiegunuo	冷水谷 Leng-shuigu	黄版所 Huang-bansuo	麻线谷 Maxianggu	平均 Mean
RM449	2	3	2	3	2	2	3	4	2.63
RM48	2	4	5	4	3	5	3	5	3.88
RM263	2	3	4	5	3	2	8	1	3.50
RM5749	1	2	6	3	3	3	2	4	3.00
RM336	2	5	4	4	5	4	2	6	4.00
RM180	4	1	5	8	3	6	5	4	4.50
RM72	1	4	4	3	5	2	3	3	3.13
RM257	3	4	7	5	7	4	5	10	5.63
RM333	6	7	9	8	7	8	8	7	7.50
RM287	2	2	3	3	2	3	4	2	2.63
RM247	2	2	6	3	5	3	4	4	3.63

表 6 11 对 SSR 引物对云南水稻地方品种群体内的 Nei 基因多样性指数

Table 6 Nei's genetic diversity index of Yunnan rice landraces using different 11 pairs of SSR marker

引物 Locus	Nei 基因多样性指数 Nei's genetic diversity index								
	齐头谷 Qitougu	大白糯 Dabainuo	香谷 Xianggu	九月糯 Jiuyenuo	接骨糯 Jiegunuo	冷水谷 Leng-shuigu	黄版所 Huang-bansuo	麻线谷 Maxianggu	平均 Mean
RM449	0.007 5	0.391 4	0.078 5	0.150 3	0.058 0	0.031 2	0.193 6	0.457 5	0.171 0
RM48	0.439 3	0.150 1	0.171 8	0.299 4	0.033 7	0.141 8	0.069 1	0.729 8	0.254 4
RM263	0.015 0	0.258 1	0.129 3	0.420 2	0.034 9	0.076 2	0.662 6	0	0.199 5
RM5749	0	0.387 8	0.256 9	0.315 0	0.050 3	0.125 8	0.104 9	0.587 1	0.228 5
RM336	0.007 5	0.494 9	0.161 9	0.279 4	0.452 3	0.141 2	0.007 9	0.660 3	0.275 7
RM180	0.080 8	0	0.088 1	0.684 6	0.377 1	0.269 8	0.565 1	0.736 6	0.350 3
RM72	0	0.209 7	0.297 6	0.136 7	0.472 3	0.183 8	0.528 0	0.523 3	0.293 9
RM257	0.087 7	0.519 4	0.455 2	0.390 5	0.760 9	0.322 8	0.069 8	0.704 7	0.413 9
RM333	0.450 3	0.575 3	0.433 3	0.350 7	0.425 4	0.519 8	0.607 0	0.667 2	0.503 6
RM287	0.051 6	0.432 1	0.053 4	0.077 0	0.074 0	0.223 6	0.039 1	0.463 3	0.176 8
RM247	0.052 0	0.432 1	0.228 2	0.064 6	0.330 3	0.269 8	0.092 1	0.346 1	0.226 9

由表 5 可见,除引物 RM5749 和 RM72 在齐头谷群体内表现为单态位点, RM180 和 RM263 分别在大白糯和麻线谷群体内表现为单态位点外,其余引物在 8 个水稻地方品种群体中均表现为多态性。RM257 在麻线谷群体内等位基因最多,为 10 个。RM333 是 8 个水稻地方品种群体中表现为最多的等位基因,变幅为 6~9 个,平均 7.50 个;其次是 RM257,变幅为 3~10 个,平均 5.63 个。RM180 和 RM336 也表现为较多的等位基因,平均分别为 4.5 和 4.0 个;RM449 和 RM287 的等位基因最少,平均只有 2.63 个。由表 6 可见, RM257 在接骨糯群体内的 Nei 基因多样性指数最大,为 0.760 9; RM333 在 8 个地方品种群体中表现为最高的 Nei 基因多样性指数,变异为 0.350 7~0.667 2,平均为 0.503 6;其次是 RM257 和 RM180,变异分别为 0.069 8~0.760 9 和 0~0.736 6,平均分别为 0.413 9 和 0.350 3。平均 Nei 基因多样性指数最低的是 RM449,变异在 0.007 5~0.457 5,平均为 0.171 0。由以上分析可见,在 11 对 CSR 引物中, RM333、RM257、RM180 等 3 对引物表现为较多的等位基因数和较高的 Nei 基因多样性指数,对 8 个水稻地方品种群体内异质性的检测效果较好。

3 讨 论

3.1 水稻地方品种群体内主要农艺性状的表型变异

农艺性状变异系数的大小可以反映品种群体内的遗传变异程度,但农艺性状作为数量性状,容易受环境条件的影响,因此当群体较大时才能准确反映群体内的遗传多样性。本试验选择 8 个水稻地方品种的群体较大,为 110~151,其变异系数能够反映

各群体内的遗传多样性。本研究中 7 个主要农艺性状在供试群体间和群体内的差异较大,表现出较丰富的表型多样性。在单个水稻地方品种群体内,穗抽出度、有效穗数、穗粒数的变异系数较大,表现出较高的表型多样性,而剑叶宽、株高的变异系数较小,表现出较低的表型多样性。说明在水稻地方品种的演化过程中,穗抽出度、有效穗数、穗粒数更易变异。金伟栋等^[21]通过调查 19 个农艺性状,对 823 份太湖流域粳稻地方品种遗传多样性的分析表明,单株产量、有效穗数、穗总粒数、穗实粒数、着粒密度、穗颈长的变异系数值居各性状前列,均超过了 20%,表明其具有更大的变异程度,与本试验结果一致。在本研究供试的 8 个地方品种中,九月糯、黄版所和大白糯各农艺性状在群体内的变异系数表现较大,表现出较高的表型多样性,而齐头谷、接骨糯和麻线谷各农艺性状在群体内的变异系数相对较小,表现出较低的表型多样性,表明云南水稻地方品种群体内的表型多样性差异较大。对表型与 SSR 遗传多样性的比较结果表明,除麻线谷外,品种表型多样性与 SSR 标记遗传多样性有较好的一致性。SSR 分子标记因不受环境条件限制,表达稳定,具共显性、重现性好等诸多优点,利用 SSR 标记能更准确地揭示品种群体的遗传多样性^[22-23]。

3.2 水稻地方品种群体内的遗传多样性

已有研究表明,水稻地方品种检测到的等位基因数和遗传多样性指数显著高于现代育成品种^[6,24-25],但这些研究主要以多个水稻地方品种组成的群体为研究对象。本试验选择 8 个云南水稻地方品种群体为研究材料,结果表明,云南水稻地方品种群体内的平均等位基因数为 2.45~5.00 个, Nei 多样性指数变异在 0.108 3~0.534 2,平均为

0.281 3,说明水稻地方品种群体内遗传基础比较复杂,表现出较高的遗传多样性。陈英华等^[26]对东北地区的 79 份水稻品种进行了 SSR 标记,结果表明,其平均等位基因数为 2.94 个,Nei 多样性指数为 0.375 3;金伟栋等^[27]对 137 份太湖流域粳稻地方品种的分析认为,其平均等位基因数为 4.08 个,Nei 多样性指数为 0.378;吕广磊等^[28]采用 64 个 SSR 标记对 96 份云南水稻地方品种和选育品种进行比较分析认为,其平均等位基因数为 11.57 个,Nei 多样性指数为 0.56。本研究供试水稻地方品种群体内的平均等位基因数与陈英华等^[26]和金伟栋等^[27]的结果接近,但小于吕广磊等^[28]的结果。8 个供试云南水稻地方品种群体内的平均 Nei 多样性指数较小,但麻线谷的 Nei 多样性指数大于陈英华等^[26]和金伟栋等^[27]的研究结果,且与吕广磊等^[8]的结果接近,说明与由多个水稻地方品种组成的群体相比,单个地方品种群体内同样具有较高的遗传多样性,证明水稻地方品种群体内同样具有较丰富的基因资源可供挖掘和利用。本研究还表明,8 个供试地方品种间 Nei 多样性指数表现出极显著差异,说明单个品种群体内的遗传多样性因品种的不同而有很大的差异,这种差异可能与收集地的气候条件、当地习俗、农民对地方品种的提纯复壮程度等因素密切相关。

Wei 等^[29]利用 AMOVA 比较了粳亚种的遗传结构差异性,表明亚种间的变异率为 51.3%,亚种内的变异率为 48.7%。华蕾等^[30]分析了 20 世纪 50 年代和近 10 年水稻主栽品种的差异性,表明时期间的变异率仅为 1.9%。本试验的 AMOVA 分析表明,1/3(34.1%)的遗传差异性来源于地方品种群体内的差异。本试验 8 个参试水稻地方品种群体内表现出较高的遗传差异性,表明地方品种群体内具有较高的异质性和丰富的变异。由于本试验材料来自云南水稻多样性中心的临沧、德宏、思茅和红河地区,复杂的生态地理环境条件可能是当地水稻地方品种群体内异质性较高的主要原因之一。

11 对 SSR 引物中, RM333 的等位基因数最多,其次是 RM257 和 RM180; RM333 的平均 Nei 多样性指数最高,其次是 RM257 和 RM180。上述 3 对引物的等位基因数和 Nei 遗传多样性指数表现基本一致,可认为 RM333、RM257、RM180 适合用于云南水稻地方品种群体内的多样性检测。不同位点的 SSR 多样性分析结果,与 AMOVA 分析所得的地方品种群体内位点变异的结果一致。

3.3 水稻地方品种的有效保护和利用

水稻地方品种是经过长期自然与人工双重选择而保留下来的宝贵资源。长期以来,通过当地农民的栽培管理创造和积累了大量的变异,这些地方品种资源对不同环境具有较强的适应性,是抗逆、抗病虫害、优质、特异等优异基因的源泉^[1-4]。如何有效保护和利用这些资源,是科学家们一直关注的课题。前人许多研究已经证明,地方品种在品种间具有较高的遗传多样性^[1,5-9,17,21-22,25]。而本研究又表明,单个地方品种群体内同样具有较高的遗传多样性,且品种间差异较大。因此,为了制定水稻地方品种的有效保护策略,应明确该地区各水稻地方品种的遗传多样性丰度,根据遗传多样性丰度来确定其保存和更新繁殖群体的大小,以便更有效地保护地方品种资源的遗传完整性。在每个地方品种群体内,虽然其表型性状表现基本一致,但群体内各单株间表现出较高的 SSR 位点的异质性,说明水稻地方品种群体内包含着较多的异质株系。在利用水稻地方品种时,对已鉴定筛选出的优异地方品种,有必要对其内部的株系进行进一步的筛选,以期获得更优、更纯的株系供育种利用。

4 结 论

本研究表明,穗抽出度、有效穗数、穗粒数在云南水稻地方品种群体内的表型变异较大,而剑叶宽、株高在水稻地方品种群体内的表型变异较小。云南水稻地方品种群体内表现出较高的遗传多样性,且在这些地方品种间表现出显著差异。AMOVA 分析表明,云南水稻地方品种群体的遗传差异性有 1/3 来源于群体内。RM333、RM257 和 RM180 适合用于云南水稻地方品种群体内遗传多样性的检测。

[参考文献]

- [1] 曾亚文,李自超,申时全,等. 云南地方稻种的多样性及优异种质研究 [J]. 中国水稻科学, 2001, 15(3): 169-174.
Zeng Y W, Li Z C, Shen S Q, et al. Diversity and good germplasm of indigenous rice varieties in Yunnan Province [J]. Chinese J Rice Sci, 2001, 15(3): 169-174. (in Chinese)
- [2] Dai L Y, Lin X H, Ye C R, et al. Identification of quantitative trait loci controlling cold tolerance at the reproductive stage in Yunnan landrace of rice, Kunmingxiaobaigu [J]. Breeding Science, 2004, 54: 253-258.
- [3] 杨志奇,杨春刚,汤翠凤,等. 中国粳稻地方品种孕穗期耐冷性评价及聚类分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(4): 485-491.
Yang Z Q, Yang C G, Tang C F, et al. Evaluation of cold tolerance at booting stage and cluster analysis for Japonica rice

- landraces in China [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2008, 9(4): 485-491. (in Chinese)
- [4] 林世成, 闵绍楷. 中国水稻品种及其系谱 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991.
- Lin S C, Min S K. Rice varieties and their genealogy in China [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press, 1991. (in Chinese)
- [5] Zeng Y W, Shen S Q, Li Z C, et al. Ecogeographic and genetic diversity based on morphological characters of indigenous rice (*Oryza sativa* L.) in Yunnan, China [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2003, 50: 567-577.
- [6] Zeng Y W, Zhang H L, Li Z C, et al. Evolution of genetic diversity of rice landraces (*Oryza sativa* L.) in Yunnan, China [J]. Breeding Science, 2007, 57: 91-99.
- [7] Zhang H L, Sun J L, Wang M X, et al. Genetic structure and phylogergraphy of rice landraces in Yunnan, China: Revealed by SSR [J]. Genome, 2006, 50: 72-83.
- [8] Thomson M J, Polato N R, Prasetyono J, et al. Genetic diversity of isolated populations of indonesian landraces of rice (*Oryza sativa* L.) collected in east kalimantan on the island of Borneo [J]. Rice, 2009, 2(1): 80-92.
- [9] 张立娜, 曹桂兰, 韩龙植. 中国不同地理来源旱稻地方品种的遗传相似性研究 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(17): 3481-3488.
- Zhang L N, Cao G L, Han L Z. Analysis of genetic similarity for upland landrace rices from different geographical origins in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(17): 3481-3488. (in Chinese)
- [10] Chang T T. The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asia and African rice [J]. Euphytica, 1976, 25: 425-441.
- [11] Chang T T. The origins and early cultures of the cereal grains and food legumes [M]//The Origins of Chinese Civilization. Berkeley, Los Angeles, London: University of California Press, 1983: 65-94.
- [12] Nakagahra K. The differentiation, classification and center of genetic diversity of cultivated rice (*Oryza sativa* L.) by isozyme analysis [J]. Tropical Agricultural Research Series, 1978, 11: 77-82.
- [13] 王象坤, 孙传清. 中国栽培稻的起源与演化研究专集 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1996: 1-233.
- Wang X K, Sun C Q. Origin and evolution album of cultivated rice in China [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1996: 1-233. (in Chinese)
- [14] Edwards K, Johnstone C, Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis [J]. Nucleic Acids Research, 1991, 19(6): 1349.
- [15] 杨志奇. 中国粳稻地方品种孕穗期耐冷性鉴定及遗传多样性分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2008: 1-63.
- Yang Z Q. Evaluation of cold tolerance at the booting stage and analysis of genetic diversity for *Japonica* rice landrace in China [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008: 1-63. (in Chinese)
- [16] Shu A P, Kim J H, Zhang S Y, et al. Analysis on genetic similarity of *Japonica* rice variety from different origins of geography in the world [J]. Agricultural Sciences in China, 2009, 8(5): 513-520.
- [17] Zhu M Y, Wang Y Y, Zhu Y Y, et al. Estimating genetic diversity of rice landraces from Yunnan by SSR assay and its implication for conservation [J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(12): 1458-1467.
- [18] Panaud O, Chen X, McCouch S R. Development of a microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*O. sativa* L.) [J]. Mol Gen Genet, 1996, 252: 597-607.
- [19] Nei M. Genetic distance between populations [J]. American Naturalist, 1972, 106: 283-292.
- [20] Excoffier L, Laval L G, Schneide S, Arlequin ver 3. 0: An integrated software package for population genetics data analysis [J]. Evol Bioinformatic Online, 2005, 1: 47-50.
- [21] 金伟栋, 洪德林. 太湖流域粳稻地方品种遗传多样性研究 [J]. 生物多样性, 2006, 14(6): 479-487.
- Jin W D, Hong D L. Genetic diversity in japonica rice landraces (*Oryza sativa* L.) from the Taihu Lake region [J]. Biodiversity Science, 2006, 14(6): 479-487. (in Chinese)
- [22] McCouch S R, Chen X L, Panaud O, et al. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding [J]. Plant Molecular Biology, 1997, 35: 89-99.
- [23] 赵庆勇, 张亚东, 朱 镇, 等. 采用 SSR 标记和表型性状聚类对杂交粳稻亲本的遗传多样性研究 [J]. 杂交水稻, 2010, 25(4): 68-74.
- Zhao Q Y, Zhang Y D, Zhu Z, et al. Genetic diversity of parental lines in *Japonica* hybrid rice based on cluster analysis of SSR markers and phenotypic characters [J]. Hybrid Rice, 2010, 25(4): 68-74. (in Chinese)
- [24] Qi Y W, Zhang D L, Zhang H L, et al. Genetic diversity of rice cultivars (*Oryza sativa* L.) in China and the temporal trends in recent fifty years [J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(6): 681-688.
- [25] Thomson M J, Septiningsih E M, Suwardjo F, et al. Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers [J]. Theor Appl Genet, 2007, 114: 559-568.
- [26] 陈英华, 李红宇, 侯昱铭, 等. 东北地区水稻种质资源遗传多样性分析 [J]. 华北农学报, 2009, 24(3): 165-173.
- Chen Y H, Li H Y, Hou Y M, et al. Genetic diversity of rice germplasm resources in northeast region of China [J]. Acta Agriculturae Boreali Sinica, 2009, 24(3): 165-173. (in Chinese)
- [27] 金伟栋, 程保山, 洪德林. 基于 SSR 标记的太湖流域粳稻地方品种遗传多样性研究 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(11): 3822-3830.
- Jin W D, Cheng B S, Hong D L. Genetic diversity analysis of *Japonica* rice landraces (*Oryza sativa* L.) in Tai Lake region based on SSR markers [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(11): 3822-3830. (in Chinese)