

农户保存与种质库保存的同近名地方 稻品种的遗传多样性研究

金建楚¹, 李小湘^{1,2,3}, 黎用朝^{1,2,3}, 潘孝武^{2,3}, 刘文强^{2,3}, 段永红^{2,3}, 余亚莹^{2,3}, 盛新年^{2,3}, 赵文锦¹, 魏秀彩¹

(¹ 湖南大学研究生院隆平分院, 长沙 410125; ² 湖南省农业科学院水稻研究所, 长沙 410125;

³ 农业部长江中下游水稻遗传育种重点实验室, 长沙 410125)

摘要:通过对湖南农户自留种原地保存(简称农户保存)与异地低温保存在湖南种质库(简称种质库保存)的 92 份同近名水稻材料(7 组, 同近名材料 6 组)间的表现型及基因型进行分析, 鉴定同近名品种间遗传距离, 为之后有效保存、针对性供种、高效利用提供理论依据。结果表明, 供试同近名材料间, 及农户保存与种质库保存的同近名材料间在表现型性状上都有极显著差异。通过 SSR 标记基因型比较农户保存与种质库保存湖南同近名材料, 发现除 E 组外, 其他组都是农户保存的等位基因变异数小于种质库保存的等位基因变异数, 说明农户保存的材料在年复一年的种植、收种过程中经历了自然选择和人工选择留种, 进行了加代纯化。除 C、E 组外, 在同近名组内 SSR 标记遗传相似系数显示, 农户保存的材料间 > 种质库保存的材料间 > 农户保存材料与种质库保存材料, 表明农户自留种保存的同近名水稻资源值得收集评价。

关键词: 水稻; 同名地方稻; SSR 标记; 表现型性状; 遗传相似性

Genetic Similarity Analysis of Hunan Rice Landraces with the Same or Similar Name between Households and Genebank Conservations

JIN Jian-chu¹, LI Xiao-xiang^{1,2,3}, LI Yong-chao^{1,2,3}, PAN Xiao-wu^{2,3}, LIU Wen-qiang^{2,3},
DUAN Yong-hong^{2,3}, Yu Ya-ying^{2,3}, SHENG Xin-nian^{2,3}, ZHAO Wen-jin¹, WEI Xiu-cai¹

(¹ Long Ping Branch, Graduate School of Hunan University, Changsha 410125; ² Hunan Institute of Rice Research, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125; ³ Key Laboratory of Indica Rice Genetics and Breeding in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River Valley, Ministry of Agriculture, Changsha 410125)

Abstract: In this study, we analyzed the phenotypic and genetic similarity between household rice (*Oryza sativa* L.) landraces and their hypothermic counterparts in genebank in Hunan province. A total of ninety-two accessions was divided into 7 groups according to their local name, but the morphological traits showed large variations even within the same group. Furthermore, obvious differences in the morphological traits between households and genebank conservations were visible. SSR marker analysis showed that, except for the E group, the allelic variations within each subgroup of households were less than those of genebank conservations within the same group, indicating the existence of natural and artificial selections in the process of cultivation year after year. Consistently, the similarity coefficient among households rice landraces were the highest except for the C、E group. Thus, this dataset suggested that the farmers' retention of the same name rice resources is valuable for collection and evaluation.

Key words: rice; rice landraces with the same or similar name; SSR marker; phenotypic traits; genetic similarity

收稿日期: 2018-01-12 修回日期: 2018-02-07 网络出版日期: 2018-04-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180417.1131.024.html>

基金项目: 农业部物种资源保护费项目(1120162130135252036); 第三次全国农作物种质资源普查与收集行动; 国家现代农业产业技术体系建设专项(nycyt-001)

第一作者研究方向为水稻种质资源评价。E-mail: 879878589@qq.com

通信作者: 李小湘, 研究方向为水稻种质资源评价。E-mail: xiaoxiang66196@126.com

水稻是我国最重要的粮食作物之一,而且我国是全球水稻生产和消费大国。据统计,有 60% 以上的人口以水稻为主食。地处长江中游的湖南,由于复杂的环境和生态条件造就了水稻资源的丰富性^[1-2]。20 世纪 80 年代以来,随着矮秆、高产品种的成功选育,杂交稻新老品种更替频繁和新品种地强力推广,工业化、城镇化、交通化进程加快以及农业种植结构调整和气候环境变化等,使得大量地方老品种在生产、市场上逐渐消失。但有些地方稻品种具有农户喜好的优异特性,农户通过自留种子,连续种植 15 年以上。由于农户的人工选择和当地特殊生态条件的自然选择,这些品种可能发生了变异,亟需进行普查和征集。2015-2017 年通过实施第三次全国农作物种质资源普查与收集行动项目,收集湖南老地方品种、种植 15 年以上的自留种共计 253 份。其中有不同来源地的同名品种,也有与种质库保存资源同近名的品种,这些同近名品种遗传差异没有确定,从而影响针对性供种和资源的有效利用。国内外已有一些同名材料间遗传差异分析的报道。M. S. Ahmed 等^[3]研究发现同名水稻资源的表现型差异较大; C. Brondani 等^[4]、M. Y. Zhu 等^[5]研究发现同名但不同来源地的地方稻品种间遗传差异较大; M. J. Thomson 等^[6]通过 SSR 分子标记研究发现来源于同一个岛屿的同名水稻品种还是有 40% 的品种遗传差异大。李小湘等^[7]对湖南作物种质资源库保存的不同来源的同近名湖南地方稻种质,通过分子标记及农艺性状比较分析,发现同近名材料有明显变异,即使同名但也都值得保存。S. C. Wong 等^[8]等研究发现从不同地方收集的同名品种并未聚类在一起,而不同名品种反而遗传相似性高。已报道的同名材料间遗传差异分析大多采用 SSR 标记分析法,或单一采用表现型分析,而地方稻材料是经过长期驯化与选择而形成的稳定群体,同名材料间的遗传差异有可能是 1 个或几个基因突变所致,单一采用 SSR 标记若数量较少很可能将有差异的品种误判成同一品种而剔除了具有优异特性,如抗病的同名材料,若数量较多考虑到成本也非经济手段;而单一采用表现型分析可能因环境与基因型共同作用而导致误判。

本研究通过对农户自留种保存的同近名品种间,农户自留种保存与种质库保存的同近名品种间的表现型差异显著性以及 SSR 标记遗传相似性比较分析,鉴定同近名品种间遗传距离,旨在研究湖南省第三次普查收集的同近名资源遗传结构和遗传多样性,为之后有效保存、针对性供种、高效利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究共计 92 份材料,其中“第三次全国农作物种质资源普查与收集行动”项目收集的湖南农户自留种原地保存(简称农户保存)的水稻资源 63 份,湖南作物种质资源库低温保存(简称种质库保存)的湖南省第一次(1955 年)、第二次(1981 年)种质资源普查收集的地方稻中与第三次收集农户保存同近名的品种 29 份。所用试验材料均为在大田通过观察初步选出主要性状表现型相似的品种。P1、P2 分别为日本晴、9311,作为 SSR 标记分析的对照。R 组材料全为农户保存品种;组号 A、B、C、D、E、F 为同一英文字母代表品种同近名(表 1)。

1.2 表现型性状评价和数据统计

将 92 份材料于 2016 年 5 月 10 日播种,5 月 29 日移栽至湖南省水稻研究所试验田,单株移栽。试验按随机区组设计,每份材料种植 3 行 × 10 株,共 30 株,3 次重复;株行距 20 cm × 20 cm。田间调查始穗期、齐穗期、株高、剑叶长、剑叶宽。成熟时每小区取有代表性的 3 株,观测与计算有效穗数、穗长、结实率、每穗总粒数、每穗实粒数、谷粒长、谷粒宽、谷粒直径、千粒重。谷粒长、谷粒宽、谷粒直径用万深 SC-E 检测仪测定。评价标准参照韩龙植等^[9]编写的《水稻种质资源描述规范和数据标准》。14 个表现型性状按所采用的评价标准进行规范化处理,采用 DPS 9.50 软件进行聚类分析,聚类距离系数的计算采用卡方距离,聚类方法采用离均差平方和法。

1.3 SSR 标记分析

1.3.1 引物筛选 SSR 引物参照本实验室筛选出的多态性较好的引物,在水稻 12 条染色体上平均选取 3 ~ 5 对,共计 49 对,其中 44 对引物能够进行籼粳鉴别。引物序列由上海生工合成。

1.3.2 DNA 提取及 PCR 反应 每份试验材料取粒型一致的 10 粒种子,经 32 °C 催芽后放 25 °C 室温培养至 3 叶期,混合取叶片,使用 SDS 方法^[10]并略加改进提取材料总 DNA,利用 Implen NanoPhotometer 微量核酸蛋白分析仪检测 DNA 的浓度和质量,将 DNA 浓度稀释为 150 ng/μL, -20 °C 保存备用。PCR 体系为 10 μL,含模板 DNA 1 μL,5 μmol/L 正、反向引物各 2 μL, Mix 为 5 μL。扩增程序为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 45 s, 55 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 个循环;最后 72 °C 延伸 8 min, 4 °C 保存。采用 6% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离和快速银染法染色检测扩增产物, HP Scanjet G4050 扫描仪拍照记录。

表 1 供试水稻品种名称及保存方式

Table 1 The name and conservation methods of selected rice landraces

编号 Code	品种名称 Variety name	普查号/湘号 Census number/ Xiang No.	保存方式 Storage method	编号 Code	品种名称 Variety name	普查号/湘号 Census number/ Xiang No.	保存方式 Storage method
R1	贵子矮	P431221001	农户保存	A1	红谷	P430524025	农户保存
R2	桂朝	P430527019	农户保存	A2	红谷	P430524050	农户保存
R3	本地粘稻	P433123025	农户保存	A3	红谷	480	种质库保存
R4	南坪糯谷	2015432217	农户保存	A4	红谷	1763	种质库保存
R5	水稻	P431021001	农户保存	A5	红谷	2288	种质库保存
R6	水稻	P431021006	农户保存	A6	红谷	6157	种质库保存
R7	水稻糯谷	2016431302	农户保存	A7	红谷	6112	种质库保存
R8	水稻糯谷	2016431360	农户保存	A8	红谷	2166	种质库保存
R9	水稻	P430221001	农户保存	A9	红谷	6021	种质库保存
R10	水稻	P430221022	农户保存	A10	红谷	2011	种质库保存
R11	特三矮	P431228004	农户保存	A11	红谷	3059	种质库保存
R12	铁山矮	P431221024	农户保存	A12	红谷	6311	种质库保存
R13	圆稻	2016431645	农户保存	B1	红米冬粘	P430724002	农户保存
R14	常规稻	P431225004	农户保存	B2	红米冬占	P430723020	农户保存
R15	马坝油粘	P431026003	农户保存	B3	红米冬粘	5454	种质库保存
R16	三颗寸	P433030008(2)	农户保存	B4	红米冬占	6525	种质库保存
R17	水稻	P431021009	农户保存	B5	红米冬粘	5462	种质库保存
R18	水稻籼米	2016431319	农户保存	B6	红米冬粘	5297	种质库保存
R19	水稻	2016431323	农户保存	B7	红米冬粘	5408	种质库保存
R20	大禾谷	2016433278	农户保存	C1	三颗寸	P433030008(1)	农户保存
R21	大禾米	P431026006	农户保存	C2	三粒寸稻	P430524034(1)	农户保存
R22	水稻	2016431456	农户保存	C3	三颗寸	14743	种质库保存
R23	大江糯谷	2016432306	农户保存	C4	三粒寸	6721	种质库保存
R24	荆糯谷	2015432222	农户保存	C5	三粒寸	1427	种质库保存
R25	闽晚糯	P431223001	农户保存	C6	三粒寸	6160	种质库保存
R26	糯稻	2016431604	农户保存	C7	三粒寸	7123	种质库保存
R27	三粒寸稻	P430524034(2)	农户保存	C8	三粒寸	1691	种质库保存
R28	水稻(糯)	2016431387	农户保存	C9	三颗寸	4027	种质库保存
R29	红米	2016431167	农户保存	C10	三粒寸	4028	种质库保存
R30	水稻	2015432137	农户保存	D1	本地糯谷	P430525037	农户保存
R31	金糯	P431027039	农户保存	D2	本地糯	P433126001	农户保存
R32	荆糯 6 号	2016433309	农户保存	D3	本地糯谷	2015433296	农户保存
R33	水稻	P430424011	农户保存	D4	本地糯谷	2015433255	农户保存
R34	余迟	P431321012	农户保存	D5	本地糯谷	2015433246	农户保存
R35	余赤	P430724001	农户保存	E1	红米	P430626001	农户保存
R36	余赤	P430724004	农户保存	E2	红米	2016432001	农户保存
R37	糯米	2016431265	农户保存	E3	湘晚籼 12 号	11379	种质库保存
R38	浠水糯	P430623028	农户保存	E4	红米	P433125035	农户保存
R39	新晃矮秆稻	P431227001	农户保存	E5	红米(南洞)	P431026001	农户保存
R40	尖糯	P431221030	农户保存	E6	红米(高秆)	P431281013	农户保存
R41	排山糯谷	2016432491	农户保存	E7	红米	7064	种质库保存
R42	早原丰-3	P432423001	农户保存	F1	桂朝	P431228003	农户保存
R43	籼稻(旱稻)	2015431140	农户保存	F2	桂朝 13	8325	种质库保存
R44	雁南糯谷	2016432688	农户保存	F3	桂朝 13 号	7088	种质库保存
R45	农垦 58	2016433379	农户保存	F4	桂朝 2 号	6893(2)	种质库保存
R46	农胜晚粳 29	2016432716	农户保存	F5	桂朝 2 号	6893(1)	种质库保存

1.3.3 统计方法 根据扩增产物电泳结果,在相同迁移位置上,有带记为1,无带记为0,建立0-1矩阵。遗传相似性与UPGMA(unweighted pair-group method with arithmetic means)聚类分析采用NTSYSpc 2.10e软件。

2 结果与分析

2.1 组内表现型遗传距离分析

表现型遗传距离越小表示材料间的差异越小。14个表现型性状聚类分析表明(表2),材料间没有表现型遗传距离为0的成对材料,说明供试材料中没有表现型完全一致的,各组材料的表现型遗传距离数值变化较大,各组最大遗传距离变幅2.11(D1本地糯谷/D2本地糯)~8.50(R1贵子矮/R3本地粘稻),最小遗传距离变幅0.19(R28水稻(糯)/R38泔水糯)~1.51(D2本地糯/D5本地糯谷)。农户保存的同近名品种间,D1(本地糯谷)与D2(本地糯)在株高、剑

叶宽、有效穗上有极显著差异;R1(贵子矮)与R3(本地粘稻)在株高、剑叶宽、结实率、每穗实粒数、穗长、千粒重、谷粒长宽比、谷粒宽、谷粒直径上有极显著差异;R28(水稻(糯))与R38(泔水糯)无显著性差异;D2本地糯与D5本地糯谷在穗粒数、实粒数上有极显著差异。同近名材料组内全生育期相差5d以上的材料是A1(农户保存红谷)/A3(种质库保存红谷)、B2(农户保存红米冬占)/B3(种质库保存红米冬粘)、C2(农户保存三粒寸稻)/C6(种质库保存三粒寸)、F1(农户保存桂朝)/F2(种质库保存桂朝13),其中全生育期相差最大的为农户保存的B2(红米冬占)和种质库保存的B3(红米冬粘),多达30d。这充分说明供试同近名材料间,及农户保存与种质库保存的同近名材料间在表现型性状上都有极显著差异。

对试验材料做聚类分析(图1),当遗传距离为3.2944,可将湖南地方稻聚类成7类。由上往下第I类为7个品种,主要是剑叶较宽、大穗、结实率低的品

表2 各组遗传距离最大材料间和最小材料间的表现型差异

Table 2 Phenotypic differences between two rice landraces with the maximum or the minimum genetic distance in the same group

组号 Group num- ber	材料 Material	资源名称 Resource name	保存方式 Save method	最小遗传 距离 Min. genetic distance	差异显著性状 Traits with statistical significant difference	组号 Group num- ber	材料 Material	资源名称 Resource name	保存方式 Save method	最大遗传 距离 Max. genetic distance	差异显著性状 Traits with statistical significant difference
R	R28/R38	水稻(糯)	农户保存 /泔水糯	0.19	无	R	R1/R3	贵子矮/ 本地粘稻	农户保存	8.50	株高、剑叶宽、结实率、 每穗实粒数、穗长、千 粒重、谷粒长宽比、谷 粒宽、谷粒直径
A	A1/A2	红谷	农户保存	0.67	剑叶长、有效穗数、 谷粒长	A	A1/A3	红谷	农户保存/ 种质库 保存	4.24	株高、剑叶长、穗长、千 粒重、谷粒长宽比、谷粒 长、谷粒宽、谷粒直径
B	B1/B2	红米冬占	农户保存	0.58	剑叶长、有效穗数	B	B1/B3	红米冬占	农户保存/ 种质库保存	3.33	株高、剑叶长、剑叶宽、谷 粒长宽比、谷粒宽、全生 育期
C	C3/C4	三颗寸/种质库保存 三粒寸	农户保存	0.47	穗长、谷粒直径	C	C1/C5	三颗寸/ 三粒寸	农户保存/ 种质库保存	3.50	株高、剑叶长、有效穗 数、穗长、千粒重、谷粒 长宽比、谷粒长、谷粒 宽、谷粒直径
D	D2/D5	本地糯/ 本地糯谷	农户保存	1.51	穗粒数、实粒数	D	D1/D2	本地糯谷/ 本地糯	农户保存	2.11	株高、剑叶宽、有效 穗数
E	E1/E5	红米	农户保存	0.77	无	E	E1/E6	红米	农户保存	3.82	株高、有效穗数、谷粒 长宽比、谷粒长、谷 粒宽
F	F4/F5	桂朝2号	种质库 保存	0.59	无	F	F1/F2	桂朝/ 桂朝13	农户保存/ 种质库 保存	2.85	株高、剑叶长、结实率、 每穗总粒数、每穗实粒 数、有效穗数、穗长、千 粒重、谷粒长宽比、谷 粒长、谷粒宽、谷粒直 径、全生育期

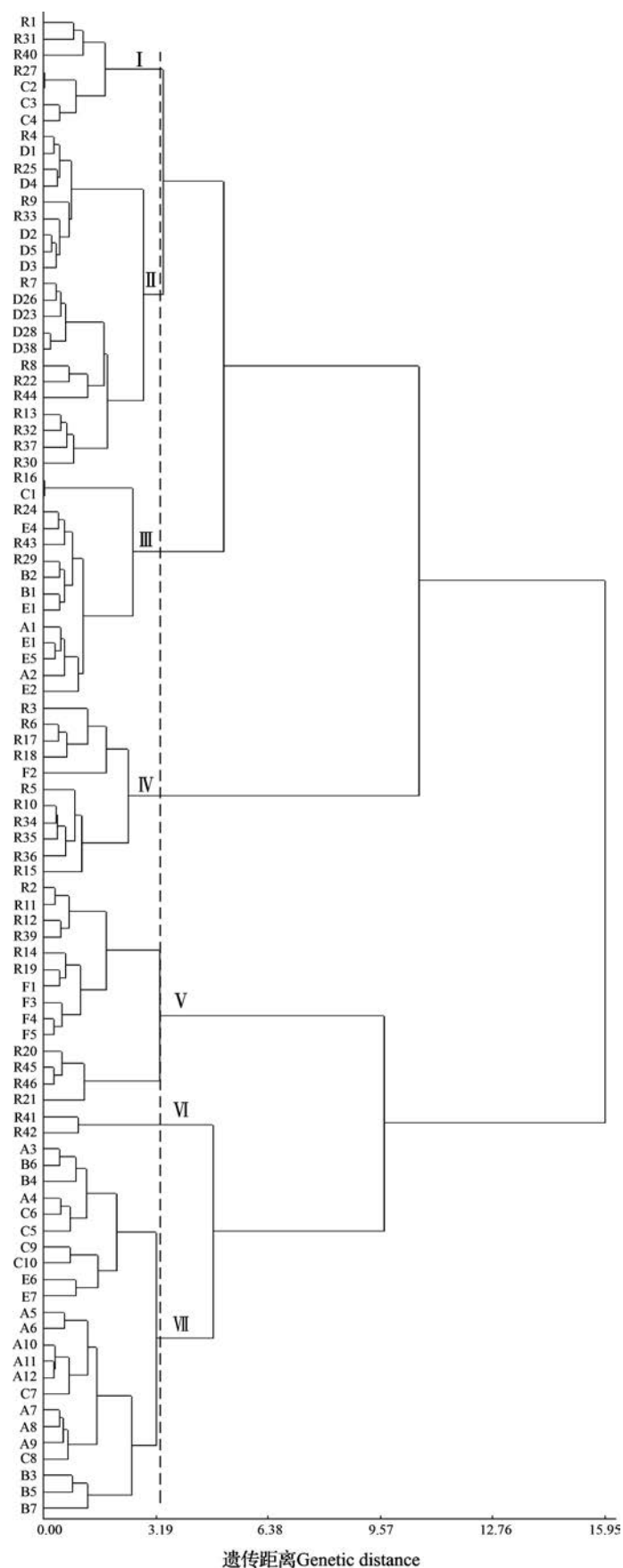


图 1 基于表现型遗传距离聚类图

Fig. 1 Cluster diagram based on phenomental genetic distance

种;第Ⅱ类为 21 个,在这类中各性状表现比较适中;第Ⅲ类为 14 个品种,主要是结实率较高、谷粒最短的品种;第Ⅳ类为 11 个品种,表现为结实率高、大穗、小粒;第Ⅴ类为 14 个品种,表现为大穗、谷粒细长;第Ⅵ类为 2 个品种,表现为生育期短、株高半矮秆、剑叶短、穗粒数少;第Ⅶ类为 23 个品种,表现为株高最高、大穗。

2.2 组内 SSR 遗传相似性分析

表 3 显示,49 对 SSR 引物在各组材料中检测到的等位基因变异数、平均每个位点等位基因变异数不同;不同位点的等位基因变异数有差异,等位基因变异数变幅 52(D 组)~145(R 组),平均每个位点等位基因变异数变幅 1.06(D 组)~2.96(R 组);各

组等位基因变异数最多的引物有差异,RM72、RM228、RM271、RM16,在 2~4 组材料中等位基因变异数有 3~7 个。不同组材料等位基因变异数为 1 的位点数变幅 0(R 组)~48(D 组),说明本研究所用的 49 对 SSR 引物鉴别不同组同名材料时有等位基因变异的引物对数差别大,变幅是 1 对(D 组)~49 对(R 组),除了 D 组,其他各组内材料间至少有 19 对引物表现多态性。通过比较农户保存与种质库保存的湖南地方稻同近名品种,发现除 E 组外,其他组都是农户保存的等位基因变异数小于种质库保存的等位基因变异数,说明农户保存的材料在年复一年的种植、收种过程中可能经历了自然选择和人工选择留种,即进行了加代纯化。

表 3 SSR 标记分析的等位基因变异数差异
Table 3 The difference of alleles number based on SSR markers analysis

组号 Group number	等位基因变异数 (农户保存/种质库保存) Alleles numbe(Farmers keep/Germplasm storager)	总计等位 基因变异数 Total alleles number	平均每个位点等 位基因变异数 Average allele number per loci	等位基因变异数最多的引物 Primers with the greatest value of allele number		等位基因变异数为 1 的引物数量 No. of SSR primers with allele number of 1
				位点名称 Names of SSR primers	等位基因 变异数 No. of alleles	
R	145/0	145	2.96	RM72	7	0
A	50/104	108	2.20	RM18、RM228、 RM271、RM264、 RM219、RM16	4	11
B	52/86	96	1.96	RM228	5	18
C	65/124	130	2.65	RM13、RM71、 RM72、RM224、 RM248、RM253、 RM271、RM16	4	1
D	52/0	52	1.06	RM72	4	48
E	74/67	82	1.67	RM16	4	22
F	49/65	69	1.41	RM72	3	30

根据 SSR 标记扩增电泳结果计算遗传相似系数(表 4),绘制聚类图(图 2),结果显示,在同近名组内 SSR 标记遗传相似系数,除 C、E 组外,农户保存的材料>种质库保存的材料>农户保存材料与种质库保存材料。92 份供试材料平均遗传相似系数为 0.797,各组材料的遗传相似系数差异大,最小遗传相似系数变幅为 0.471~0.983,最大遗传相似系数变幅为 0.983~1.000。遗传关系紧密的有 R1/R2、R11/R12、R23/R25/R26、R24/R28/R31、R35/R36、D1/D3/D4、E1/E2、F3/F4/F5,遗传相似系数为 1.000,这些材料不管是否同近名,都判为同一品

种。例如,农户保存的 R1(贵子矮)与 R2(桂朝)不同名,种质库保存的 F3(桂朝 13 号)、F4 和 F5(桂朝 2 号)近名。同组内同名材料并不一定聚在一起,而是同名与近名材料交叉聚类,例如 B1 名称是红米冬粘,与名称是红米冬占的 B2 间的遗传相似系数是 0.983,而与组内其他同近名品种遗传相似系数≤0.805,说明农户保存的近名材料 B1 与 B2 间比种质库保存的 B 组其他同名材料间遗传距离近。C 组材料中种质库保存的 C9、C10 与其他 8 份同近名材料遗传相似系数在 0.471~0.609 之间,遗传距离远,说明地方稻在交流过程中存在错误命名的现象。

表 4 基于 SSR 标记的遗传相似系数

Table 4 The Nei's genetic similarity coefficient based on SSR markers

组号 Group number	最小值(材料编号) Min. (Material code)	最大值(材料编号) Max. (Material code)	平均遗传相似系数(农户保存/ 农户与种质库保存/种质库保存) Average genetic similarity coefficient (Preservation of farmers/farmers and Germplasm storage/Germplasm storage)	组内所有品种平均 遗传相似系数 Average genetic similarity coefficient of all varieties in the group
R	0.471 (R5/R46)	1.000 (R1/R2, R11/R12,R23/R25/R26, R24/R28/R31,R35/R36)	0.818/无/无	0.818
A	0.736 (A8/A12)	0.994 (A10/A11)	0.989/0.787/0.822	0.814
B	0.747 (B3/B5)	0.983 (B1/B2)	0.983/0.786/0.823	0.813
C	0.471 (C5/C9)	0.994 (C3/C4)	0.816/0.722/0.691	0.704
D	0.983 (D2/D1,D2/D3,D2/D4, D2/D5,D5/D1,D5/D3,D5/D4)	1.000 (D1/D3/D4)	0.989/无/无	0.989
E	0.799 (E4/E6)	1.000 (E1/E2)	0.905/0.883/0.839	0.895
F	0.816 (F2/F3,F2/F4,F2/F5)	1.000 (F3/F4/F5)	无/0.876/0.908	0.895

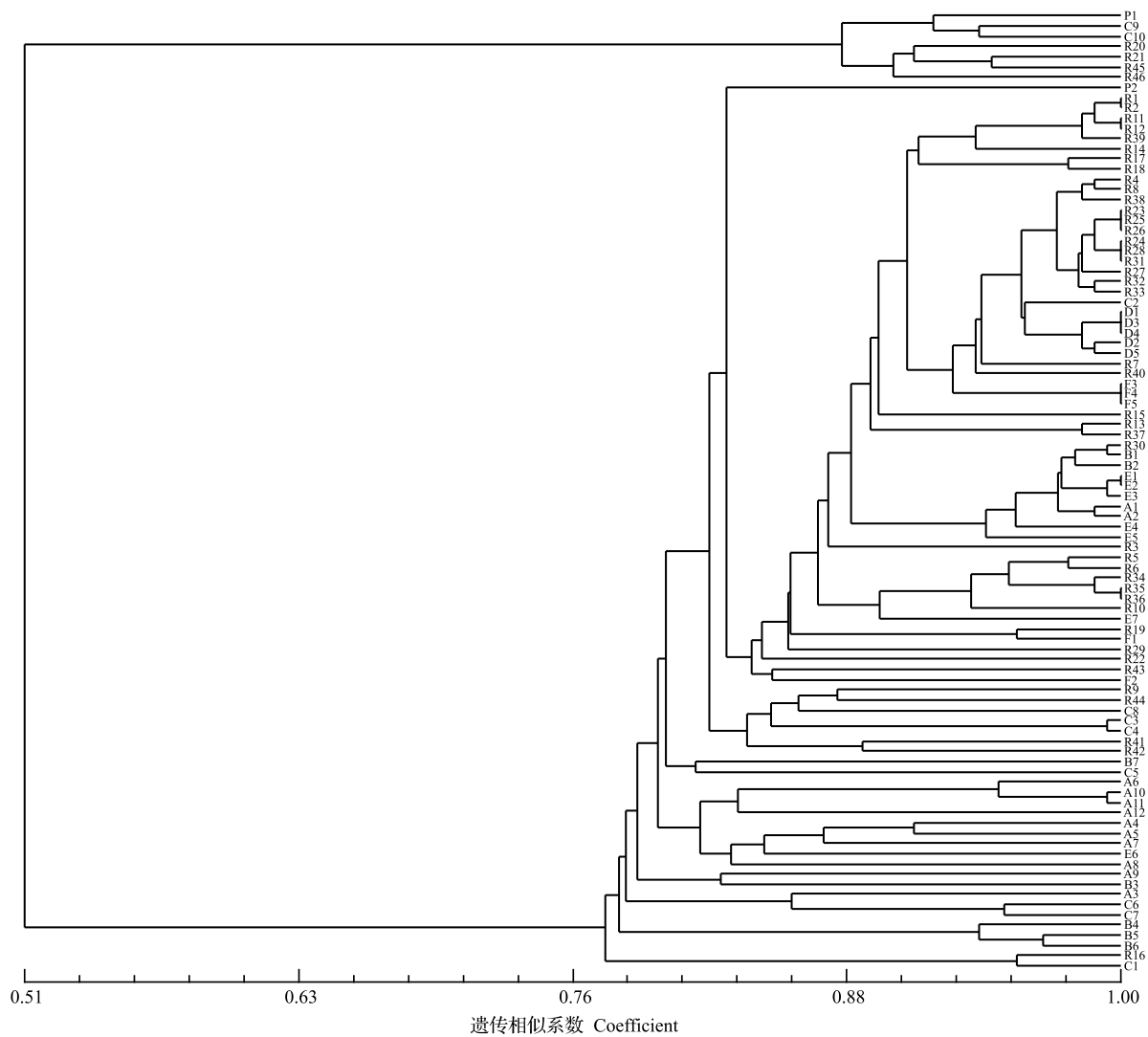


图 2 92 份湖南地方稻品种的 SSR 聚类分析

Fig. 2 SSR dendrogram of 92 varieties of Hunan landrace

在本研究中选用的 49 对 SSR 引物,有 5 对引物(RM11、RM408、RM471、RM6872、RM4862)未检测出籼粳稻特异带型,在图 2 中可以看出,所有供试材料在遗传相似系数 0.51 处聚为两类,一类与日本晴聚在一起,一类与 9311 聚在一起,可以初步划分为粳稻亚群和籼稻亚群。籼粳亚群材料之间的遗传相似系数均在 0.431~0.609 之间,遗传相似程度低,说明两亚群材料之间的遗传差异较大。粳稻亚群仅包含 6 份材料,编号为 R20(大禾谷)、R21(大禾米)、R45(农垦 58)、R46(农垦晚粳 29)、C9(三颗寸)、C10(三粒寸),亚群内平均遗传相似系数为 0.889,说明这 6 份材料之间的遗传差异小;其余 86 份材料全部归入籼稻亚群,亚群内平均遗传相似系数为 0.837,遗传相似度较高,说明材料间的遗传异质程度不高。

2.3 表现型与 SSR 标记分析综合比较

基于表现型性状遗传距离分析供试材料,研究发现来源于同一个地方的同名材料有极显著差异,如来源于宜章县农户保存的 D3/D4/D5(本地糯谷),来源于隆回县农户保存的 A1/A2(红谷),来源于平江县农户保存的 E1/E2(红米)。来源于不同地方的同名材料也有极显著差异,如 D 组 5 份同名材料,来源于 3 个地方。来源于不同地方不同名称的材料,从遗传相似性上有的为同一品种,如来源于新晃县农户保存品种 R28(水稻(糯))与来源于华容县农户保存品种 R38(浠水糯)。通过图 1、图 2,本研究发现农户保存与种质库保存的同名材料间,SSR 标记遗传相似系数普遍较低,表现型遗传距离较大。如 C1(农户保存)与 C9(种质库保存),SSR 标记遗传相似系数为 0.6034,表现型遗传距离达 3.50。A1、A2(农户保存)与组内其他同名品种(种质库保存)的表现型遗传距离为 4.24, B1、B2(农户保存)与组内其他同名品种(种质库保存)的表现型遗传距离为 3.33。

综合比较基于 49 对 SSR 标记遗传相似性分析与基于 14 个表现型性状差异显著性和遗传距离分析数据(表 5),结果表明:(1)本研究材料组内没有 SSR 标记遗传相似系数为 1,且表现型遗传距离为 0 的同近名材料;SSR 标记遗传相似系数 0.95 以上,且表现型性状差异不显著的同近名材料有 F4/F5、E1/E3/E5, R28/R38,在种质资源中、长期库保存、分发利用时,同名用其中之一;农户保存的 E1、E5 实际上是近年商品种子,与种质库

保存但近年作为低镉积累应急品种投入市场的湘晚籼 12 号(E3)是同一品种;R28/R38 不同名也不同来源地,说明越是商品种子,农户保存年限很短。(2)基于表现型性状遗传距离与基于 SSR 标记遗传相似系数判别组内材料间遗传关系的结果有一致的,也有存在一定差异的。B1(红米冬粘)与 B2(红米冬占), C3(三颗寸)与 C4(三粒寸), F4 与 F5(桂朝 2 号)是组内 SSR 标记遗传相似系数最大,表现型遗传距离最小的成对材料,两种方法判别都是组内材料间遗传关系最近的材料;D1(本地糯谷)与 D2(本地糯)是组内 SSR 标记遗传相似系数最小,表现型遗传距离最大的成对材料,两种方法判别都是组内材料间遗传关系最远的材料(表 2、表 4)。比较其他组材料的聚类图,基于表现型性状遗传距离与基于 SSR 标记遗传相似系数进行组内材料分小组的结果也大多一致。但是, R1(贵子矮)/R2(桂朝), R11(特三矮)/R12(铁山矮), R23(大江糯谷)/R25(闽晚糯)/R26(糯稻), R24(荆糯谷)/R28(水稻(糯))/R31(金糯), R35(余赤)/R36(余赤), D1/D3/D4(本地糯谷), E1/E2(红米), F3(桂朝 13 号)/F4(桂朝 2 号)/F5(桂朝 2 号)的 SSR 标记遗传相似系数为 1,而其表现型除了 F4/F5(桂朝 2 号)、E1(红米)/E3(湘晚籼 12 号)/E5(红米),其他却存在 1~7 个性状有极显著差异(表 5)。根据 14 个性状的表现型分析, R1(贵子矮)/R3(本地粘稻)、A1/A3(红米)、B1/B3(红米冬粘)、C1(三颗寸)/C5(三粒寸)、D1(本地糯)/D2(本地糯谷)、E1/E6(红米)、F1(桂朝)/F2(桂朝 13)在组内表现型遗传距离最大,而以上材料除了 D1/D2 其他并不是同组内 SSR 标记遗传相似系数最小的。这说明分析材料间遗传相似性或鉴别同名材料是否是同一品种时,SSR 标记分析不能完全取代表现型分析。

3 讨论

表现型性状分析和 SSR 分子标记方法被广泛用于作物遗传相似性分析,一般认为 SSR 标记分析的结果比表现型性状更为可靠^[11]。因表现型是基因型和环境双重作用的结果,易受自然环境和人为因素等多方面影响。不过在材料较多的种质资源研究中,利用表现型对群体遗传结构和遗传多样性的分析可以节约成本,具有一定的参考价值^[12]。

表 5 SSR 标记分析遗传相似系数大于 0.95 的部分材料表现型比较

Table 5 Comparative analysis on phenotypic traits between accessions which SSR markers genetic similarity coefficient was more than 0.95

材料 Material	SSR 标记 遗传相似系数 Genetic similarity coefficient based on SSR markers	表现型遗传距离 Genetic distance based on phenotypic traits	统计学意义 差异性状 Traits with statistical significant difference	材料 Material	SSR 标记 遗传相似系数 Genetic similarity coefficient based on SSR markers	表现型遗传距离 Genetic distance based on phenotypic traits	统计学意义 差异性状 Traits with statistical significant difference
A1/A2	0.989	0.67	剑叶长、有效穗、 谷粒长	D1/D3	1	2.11	株高、有效穗
A10/A11	0.994	0.80	千粒重	D1/D4	1	1.64	穗长
B1/B2	0.983	0.58	剑叶长、有效穗	D3/D4	1	1.73	结实率、有效穗
B5/B6	0.966	2.73	株高、剑叶宽、结实率、 有效穗、穗长、千粒重、 谷粒长、谷粒宽、 谷粒直径	F3/F4	1	1.56	穗长、谷粒宽、穗长
C3/C4	0.994	0.47	穗长、谷粒直径	F3/F5	1	0.84	穗长
D1/D2	0.983	2.11	株高、剑叶宽	F4/F5	1	0.59	无
D2/D3	0.983	1.76	结实率、千粒重	E1/E2	1	1.29	有效穗
D2/D4	0.983	2.11	株高	R1/R2	1	7.35	剑叶宽、结实率、 实粒数
D2/D5	0.989	1.51	实粒数	R11/R12	1	0.82	株高、剑叶长、 剑叶宽、穗长、 千粒重
D3/D5	0.983	1.51	总粒数	R23/R25	1	0.70	株高、剑叶长、 剑叶宽、有效穗、 穗长
D4/D5	0.983	2.11	穗长	R23/R26	1	0.70	株高
D1/D5	0.983	2.11	谷粒宽	R25/R26	1	2.24	剑叶长、剑叶宽、 穗长、谷粒长、 谷粒直径
D4/D5	0.983	2.11	谷粒宽	R24/R28	1	2.24	株高、剑叶长、 剑叶宽、穗长
E1/E3	0.994	1.02	无	R24/R31	1	3.28	结实率、穗长、 千粒重、谷粒长宽比、 谷粒长、谷粒宽
E1/E4	0.971	1.50	株高	R28/R31	1	3.28	剑叶长、剑叶宽、穗长、 千粒重、谷粒长宽比、 谷粒长、谷粒宽
E1/E5	0.954	0.77	无	R35/R36	1	1.18	穗长
E2/E3	0.994	1.29	穗长、千粒重	E2/E5	0.954	1.29	有效穗、
E2/E4	0.971	1.50	株高、实粒数、 有效穗、谷粒宽、 谷粒直径	E3/E4	0.966	1.50	株高、穗长
				E3/E5	0.96	1.02	无

本研究组内材料间,基于表现型性状的遗传距离与基于 SSR 标记的遗传相似系数并不能完全一一对应。比如 R1(贵子矮)/R2(桂朝),R11(特三矮)/R12(铁山矮),R23(大江糯谷)/R25(闽晚糯)/R26(糯稻),R24(荆糯谷)/R28(水稻(糯))/R31(金糯),R35(余赤)/R36(余赤),D1/D3/D4(本地糯谷),E1/E2(红米),F3(桂朝 13 号)/F4(桂朝 2 号)/F5(桂朝 2 号)的 SSR 标记遗传相似系数为 1,而其表现型除了 F4/F5(桂朝 2 号)、E1(红米)/E3(湘晚粳 12 号)/E5(红米),其他却存在 1~7 个性状有极显著差异。R1(贵子矮)/R3(本地粘稻)、A1/A3(红米)、B1(红米冬粘)/B3(红米冬粘)、C1(三颗寸)/C5(三粒寸)、D1(本地糯)/D2(本地糯谷)、E1/E6(红米)、F1(桂朝)/F2(桂朝 13)在组内表现型遗传距离最大,而以上材料除了 D1/D2 其他并不是同组内 SSR 标记遗传相似系数最小的。可能原因:(1)是本研究中选用的 SSR 标记 49 对数量偏少,不能完全反映 DNA 水平遗传差异;(2)是本研究只分析了 14 个表现型性状,且都为数量性状,抗性、品质性状都没有评价,不能完全反映表现型水平,而且数量性状易受环境影响,不同的人虽然用同一种标准选择,然而可以产生类似于近等基因系材料;(3)是当研究材料从长期生长的生态环境中换到同一试验地点种植时,表现型性状的遗传相似性不能真实的反映 DNA 水平的遗传相似性^[13-16]。本研究中供试的农户保存品种来源于湖南省内各县,农户连续种植多年,原种植地生态环境多样,而本研究在同一试验地点长沙市种植,导致表现型性状不能真实地反映 DNA 水平。通过比较农户保存与种质库保存的湖南同近名材料,发现除 E 组外,其他组都是农户保存的等位基因变异数小于种质库保存的等位基因变异数,E 组例外可能是跟组内含有商品种子,农户保存年限短有关。在同近名组内 SSR 标记遗传相似系数,除 C、E 组外,农户保存的材料间 > 种质库保存的材料间 > 农户保存材料与种质库保存材料间,C 组例外可能是与组内材料 C9、C10 有错误命名有关。

对目前保存的同近名异种资源间遗传关系根据已有的报道划分^[7],本研究的 92 份材料中同一品种的为 E1(红米)/E3(湘晚粳 12 号)/E5(红米)、F4/F5(桂朝 2 号),R28(水稻(糯))/R38(浠水糯),R27/C2(三粒寸稻),R16/C1(三颗寸);近似品种的有 A1/A2(红谷)、A10/A11(红谷)、B1/B2(红米冬粘)、C3(三颗寸)/C4(三粒寸)、D 组 5 份材料(本

地糯谷)/R25(闽晚糯)、(E1、E3、E5)/E2(红米)、(E1、E3)/E4(红米)、F3(桂朝 13 号)/(F4、F5 桂朝 2 号)、R1(贵子矮)/R2(桂朝)、R10(水稻)/R35(余赤)/R36(余赤)、R7(水稻糯谷)/R26(糯稻)、R2(桂朝)/R11(特三矮)、R4(南坪糯谷)/R25(闽晚糯)、R13(圆稻)/R37(糯米)、R12(铁山矮)/R39(新晃矮秆稻)、R5/R6(水稻)、B1(红米冬粘)/E3(湘晚粳 12 号)、A1(红谷)/E1(红米)、R19(水稻)/F1(桂朝)。以上同近名品种是否入中期库保存,需进一步评价性状如抗逆性、品质之后来评判,并在数据库标注 SSR 标记遗传相似系数;农户保存的 F1(桂朝)与种质库保存的 F4、F5(桂朝 2 号)的 SSR 标记遗传相似系数小于 0.95,可判定为不同品种,说明在农户保存过程中发生了变异或本不是同一品种,入库时在数据库中标出与早期编目入库同名资源的遗传相似系数,便于供种利用。此外以上划分为同一品种、近似品种中的供试材料除 E3(湘晚粳 12 号)/E 组内品种(红米),其余均仅来源于农户保存或仅来源于种质库保存,这进一步说明了农户保存的材料间 SSR 标记遗传相似系数 > 农户保存材料与种质库保存材料间的 SSR 标记遗传相似系数,种质库保存的材料间 SSR 标记遗传相似系数 > 农户保存材料与种质库保存材料间的 SSR 标记遗传相似系数,E3(湘晚粳 12 号)/E 组内品种(红米)例外可能是与组内农户保存的 E1、E5 是近年商品种子,保存年限短有关。

在本研究中,尽管供试品种的表现型性状有显著的遗传差异,而且不同染色体上选取的 SSR 标记表现的多态性也不一致,但无论是依据表现型性状还是 SSR 分子标记对供试材料进行遗传相似性分析和聚类分析,其结果均表明,大多数供试品种的亲缘关系较近,这可能与所选取的材料大多是同近名材料以及在田间根据主要表现型性状有近似初选出来的有关,也可能与只评价了 14 个性状,远远少于 DUS 评价性状,抗性和品质性状都没有评价有关。

参考文献

- [1] 孙桂芝. 湖南稻种资源分类及遗传性状多样性分析[J]. 作物研究, 1990, 4(4): 12-18
- [2] 段永红, 李小湘, 刘文强, 等. 湖南稻种资源主要特征特性与利用状况[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(6): 1059-1063
- [3] Ahmed M S, Khaleda A, Khalequzzaman M, et al. Diversity analysis in Boro rice (*Oryza sativa* L.) accessions[J]. Bangladesh J Agric Res, 2010, 35(1): 29-36

- (上接第 487 页)

- [4] Brondani C, Borba T C O, Rangel P H N, et al. Determination of genetic variability of traditional varieties of Brazilian rice using microsatellite markers[J]. Genet Mol Biol, 2006, 29(4): 676-684
- [5] 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 Bot Sin, 2004, 46(12): 1458-1467
- [6] 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
- [7] 李小湘, 肖军治, 段永红, 等. 湖南同名地方稻资源 SSR 标记及表现型的比较分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(2): 248-254
- [8] Wong S C, Yiu P H, Bong S T W, et al. Analysis of Sarawak Bario rice diversity using microsatellite markers[J]. Am J Agric Biol Sci, 2009, 4(4): 298-304
- [9] 韩龙植, 魏兴华. 水稻种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 1-119
- [10] 卢扬江, 郑康乐. 提取水稻 DNA 的一种简易方法[J]. 中国水稻科学, 1992, 6(1): 47-48
- [11] 赵一洲, 倪善君, 张战, 等. 辽宁省水稻品种品质性状及亲缘关系变化分析[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(6): 1039-1045
- [12] 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
- [13] 徐福荣, 董超, 杨文毅, 等. 基于表型性状和 SSR 分子标记的云南省水稻主要育成品种(系)的遗传相似性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(5): 700-708
- [14] 张冬玲, 张洪亮, 魏兴华, 等. 贵州栽培稻的遗传结构及其遗传多样性[J]. 科学通报, 2006, 51(23): 2747-2754
- [15] 李红宇, 侯显铭, 陈英华, 等. 用 SSR 标记评估东北三省水稻推广品种的遗传多样性[J]. 中国水稻科学, 2009, 23(4): 383-390
- [16] 齐永文, 张冬玲, 张洪亮, 等. 中国水稻选育品种遗传多样性及其近 50 年变化趋势[J]. 科学通报, 2006, 51(6): 693-699