

# 三峡库区优异稻种资源遗传多样性及群体结构分析

唐如玉, 邹玉霞, 陈 娇, 雷丽霞, 唐江红, 甘 露, 张佳妮, 罗 兰, 沈 航, 台琳玉, 赵正武  
(重庆师范大学生命科学学院 / 重庆市特色作物资源工程技术研究中心, 重庆 401331)

**摘要:** 为了阐明三峡库区优异稻种资源的遗传多样性和群体结构, 本研究利用 25 对 SSR 多态性分子标记对三峡库区不同地理来源和不同类型的 81 份优异稻种资源进行了遗传多样性和群体结构分析。研究结果显示, 上述标记能够高效鉴别参试材料的遗传多样性水平。共检测到 56 个等位基因, 每个位点检测到的等位基因数为 2~5, 平均为 2.44; 有效等位基因数变异范围为 1.077~2.582, 平均为 1.757; 多态性信息量 ( $PIC$ ) 为 0.069~0.539, 平均为 0.332; Shannon 信息指数为 0.158~1.017, 平均为 0.625; Nei's 基因多样性指数为 0.071~0.665, 平均为 0.407。进一步分析发现, 地方品种的平均有效等位基因数高于选育品种, 而选育品种的平均等位基因数和 Shannon 信息指数高于地方品种, 两者的基因多样性指数、多态信息含量和期望杂合度极为相近。聚类分析、群体结构分析和主成分分析显示供试材料可分为 2 个类群, 3 种分类结果大致相同, 各类群聚集的地域性规律不明显, 品种的聚类关系较复杂。分子方差分析表明居群间的变异和品种间的变异百分率相当, 变异来源于居群间和品种间。

**关键词:** 水稻; 三峡库区; 微卫星标记; 遗传多样性; 群体结构

## Unlocking the Genetic Diversity and Population Structure of Excellent Rice Germplasm in the Three Gorges Reservoir Area

TANG Ru-yu, ZOU Yu-xia, CHEN Jiao, LEI Li-xia, TANG Jiang-hong, GAN Lu, ZHANG Jia-ni,  
LUO Lan, SHEN Hang, TAI Lin-yu, ZHAO Zheng-wu  
(College of Life Science, Chongqing Normal University/  
Chongqing Engineering Research Center of Specialty Crop Resource, Chongqing 401331)

**Abstract:** In order to elucidate the genetic diversity and population structure of superior rice species resources in the three gorges reservoir area, this study used 25 pairs of SSR polymorphism molecular markers to analyze the genetic diversity and population structure of 81 superior rice species resources, which were collected from different geographical sources and types in the three gorges reservoir area. The results showed that the above markers could effectively identify the level of genetic diversity of the tested materials. A total of 56 alleles were detected, and the number of alleles detected at each locus was 2~5, with an average of 2.44; The number of effective alleles varied from 1.077 to 2.582, with an average of 1.757; the polymorphism information ( $PIC$ ) ranged from 0.069 to 0.539, with an average of 0.332; the Shannon index ranged from 0.158 to 1.017, with an average of 0.625; and the Nei's gene diversity index ranged from 0.071 to 0.665, with an average of 0.407. Further analysis showed that the average effective allele number of landrace was higher than that of cultivars, while the average allele number and Shannon index of cultivars were higher than that of landrace. However both of them are very similar in terms of gene diversity index, polymorphic information content and expected heterozygosity.

收稿日期: 2019-02-18 修回日期: 2019-03-04 网络出版日期: 2019-04-09

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20190218001>

第一作者研究方向为水稻分子育种, E-mail: ruyutang@foxmail.com; 邹玉霞为共同第一作者

通信作者: 赵正武, 研究方向为遗传育种, E-mail: zhaozhengwu513@sina.com

**基金项目:** 重庆市高校优秀成果转化资助项目 (KJZH17114); 国家自然科学基金项目 (31670326); 重庆高校创新团队 (CXTDX201601018); 重庆市技术创新与应用发展专项 (cstc2019jscx-msxmX0353)

**Foundation project:** Chongqing University Excellent Achievements Transformation Project (KJZH17114), National Natural Science Foundation of China (31670326), Chongqing University Innovation Team (CXTDX201601018), Technology Innovation and Application Development Program in Chongqing (cstc2019jscx-msxmX0353)

By the cluster analysis, population structure analysis and principal coordinate analysis, the tested materials were roughly assigned to two groups. The regional law of the aggregation of various groups was not obvious, and the clustering relationship of varieties was relatively complex. The results of molecular variance analysis showed that the variation between populations was the same as that between varieties, and the variation between populations and varieties was the source of variation.

**Key words:** *Oryza sativa* L.; three gorges reservoir area; microsatellite markers; genetic diversity; population structure

作物种质资源及遗传多样性是作物新基因发掘与新品种培育等研究的重要基础<sup>[1-2]</sup>,了解和掌握资源的丰度、差异性 & 亲缘关系是培育水稻品种的必要条件。中国作为亚洲栽培稻的起源地之一,水稻种质资源类型颇丰,数量庞大,至今在国家作物种质库中收集保存的水稻种质资源已超过 8 万份,而这些丰富稻种资源在水稻育种中的利用效率仍较低,其原因可能是没有清晰地了解这些种质资源的遗传背景<sup>[3]</sup>。早期人们对水稻资源多样性研究多数基于表型和同工酶标记<sup>[4-5]</sup>,近些年随着分子生物学技术的发展,利用分子标记技术研究水稻资源越来越受到重视<sup>[6-7]</sup>。SSR 标记由于其简便、稳定、多态性高、廉价等优点,已被广泛应用于水稻遗传多样性和亲缘关系研究<sup>[8-11]</sup>。林春雨等<sup>[12]</sup>通过对太湖流域、黑龙江和越南的水稻群体遗传多样性研究指出,亚洲不同生态区水稻群体的血缘不是独立的而是相互渗透的。张媛媛等<sup>[3]</sup>研究指出中国不同省份籼稻地方品种的聚类与品种所处的地理位置相关,同一省份和相距较近省份的品种聚集在同一类。杨玉蓉等<sup>[13]</sup>对 1950-2013 年期间 6 个阶段的主栽水稻品种的遗传多样性比较发现,不同年代宁夏水稻遗传多样性有较大差异,2005 年后宁夏水稻品种的遗传多样性趋于变小。孙建昌等<sup>[14]</sup>利用 SSR 标记对云南地方稻种的遗传多样性研究发现,绝大部分地方品种群体内的 SSR 多态性、等位基因数、基因遗传多样性指数以及杂合度高于选育品种。三峡库区地理及气候条件独特,当地水稻生长受到较多因素的影响<sup>[15-16]</sup>,库区内高、中、低海拔均有水稻的种植,常有干旱、洪涝、高温、寒潮、暴风雨、冰雹等自然灾害发生,病虫害发生亦十分频繁。特异的气候条件和生态环境使三峡库区保留着不少古老的地方品种和优异水稻资源,这些水稻品种或许是育种利用的宝贵资源,然而至今却没有这些水稻资源遗传多样性的研究报导。本研究以在三峡库区 31 个区县收集的 368 份稻资源,按《水稻种质资源描述规范和数据标准》<sup>[17]</sup>初步鉴定评价后筛选出的 81 份优异

资源为试验材料,利用 SSR 标记研究其遗传多样性和群体结构,来阐明种质间的亲缘关系,以期为这些水稻资源有效利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本试验以通过鉴定初步筛选并入国家长期库保存的 81 份三峡库区优异水稻种质为材料,材料搜集于三峡库区沿线的 31 个区县,详细信息见表 1。

### 1.2 DNA 提取、PCR 扩增及产物检测

取单株水稻幼嫩叶片,参照 Murray 等<sup>[18]</sup>的 CTAB 法提取 DNA。参照 Temnykh 等<sup>[19]</sup>的方法筛选分布于水稻 12 条染色体上的 38 对 SSR 引物进行试验,从中筛选出 25 对多态性高、条带清晰的 SSR 引物用于参试材料的 SSR 标记分析。PCR 反应体系为 15  $\mu\text{L}$ , 含 10 mg/L 模板 DNA 2  $\mu\text{L}$ , 2.5 mmol/L 的 dNTP 0.375  $\mu\text{L}$ , 10  $\times$  PCR Buffer (不含  $\text{Mg}^{2+}$ ) 1.5  $\mu\text{L}$ , 前、后引物浓度均为 10 mmol/L 的混合液 0.75  $\mu\text{L}$ , 5 U/L 的 Taq DNA 聚合酶 0.375  $\mu\text{L}$ , 0.375  $\mu\text{L}$  的  $\text{Mg}^{2+}$ , 双蒸水 9.625  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应程序为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  下变性 45 s, 55  $^{\circ}\text{C}$  左右退火 45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  下延伸 1 min, 30 个循环,最后 72  $^{\circ}\text{C}$  下延伸 10 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  保存,其中反应体系中的退火温度视具体引物而定。扩增产物用 3% 的琼脂糖凝胶检测,在凝胶成像系统进行图像记录和分析。

### 1.3 数据分析

每对 SSR 引物检测 1 个位点,可视每条多态性条带为 1 个等位基因,依据 SSR 扩增产物在电泳凝胶上的相对位置对扩增条带进行记录,在相同迁移位置上有带赋值为 1,无带赋值为 0,建立相关数据库。应用 GenAlEx 6.501 和 PowerMarker 软件计算等位基因数、有效等位基因数、Nei's 基因多样性指数、Shannon 信息指数和标记位点多态信息量 PIC (Polymorphism information content) 等<sup>[20-21]</sup>,并用 GenAlEx 6.501 软件进行分子方差

表 1 本研究所用试验材料

Table 1 Experimental materials for this study

序号 Serial number	全国统一编号 National uniform number	种质名称 Accession name	种质类别 Biological status of accession	来源地 Source	序号 Serial number	全国统一编号 National uniform number	种质名称 Accession name	种质类别 Biological status of accession	来源地 Source
1	32-00107	金麻粘	地方品种	贵州	42	32-00112	黄鞭粘	地方品种	重庆
2	ZD06710	黔恢 15	选育品种	贵州	43	32-00111	黄壳谷	地方品种	重庆
3	ZD06711	黔恢 718	选育品种	贵州	44	32-00086	开州 2 号	地方品种	重庆
4	ZD06673	77D	地方品种	湖北	45	32-00100	科恢 675	地方品种	重庆
5	32-00089	仙香 B	地方品种	湖北	46	32-00088	牛虱粘	地方品种	重庆
6	ZD06703	桂 99	选育品种	湖南	47	32-00115	糯 89-1	地方品种	重庆
7	32-00095	奇妙香	地方品种	四川	48	32-00083	三百棒	地方品种	重庆
8	32-00081	十里香	地方品种	四川	49	32-00082	三九九	地方品种	重庆
9	ZD06672	46B	选育品种	四川	50	32-00085	乌节黄谷	地方品种	重庆
10	ZD06682	CDR22	选育品种	四川	51	32-00087	无名谷	地方品种	重庆
11	ZD06683	D62B	选育品种	四川	52	32-00113	新香稻	地方品种	重庆
12	ZD06684	D62B 异	选育品种	四川	53	32-00101	鸭鹏子	地方品种	重庆
13	ZD06685	G2480B	选育品种	四川	54	32-00094	阳层谷	地方品种	重庆
14	ZD06706	辐恢 130	选育品种	四川	55	32-00096	宜居稻	地方品种	重庆
15	ZD06707	辐恢 838	选育品种	四川	56	32-00092	早黄矮	地方品种	重庆
16	ZD06692	江恢 151	选育品种	四川	57	32-00108	粘稻	地方品种	重庆
17	ZD06699	金 23B	选育品种	四川	58	32-00109	粘稻 69-1	地方品种	重庆
18	ZD06688	乐恢 101	选育品种	四川	59	32-00110	粘稻 69-3	地方品种	重庆
19	ZD06689	乐恢 188	选育品种	四川	60	32-00097	忠州 1 号	地方品种	重庆
20	ZD06696	泸恢 17	选育品种	四川	61	ZD06678	184 异	选育品种	重庆
21	ZD06704	密阳 46	选育品种	四川	62	ZD06679	355-2	选育品种	重庆
22	ZD06705	绵恢 527	选育品种	四川	63	ZD06669	44C	选育品种	重庆
23	ZD06691	汕 B	选育品种	四川	64	ZD06670	44D(1)	选育品种	重庆
24	ZD06708	蜀恢 162	选育品种	四川	65	ZD06671	44D(2)	选育品种	重庆
25	ZD06709	蜀恢 527	选育品种	四川	66	ZD06680	481 选	选育品种	重庆
26	ZD06693	杨福 6 号	选育品种	四川	67	ZD06681	486 异	选育品种	重庆
27	ZD06694	宜恢 1577	选育品种	四川	68	ZD06674	88/金麻粘	选育品种	重庆
28	ZD06695	宜香 B	选育品种	四川	69	ZD06675	89-1/527	选育品种	重庆
29	32-00080	197	地方品种	重庆	70	ZD06676	89-1/CDR22	选育品种	重庆
30	32-00114	矮黄谷	地方品种	重庆	71	ZD06677	89-1/桂 99	选育品种	重庆
31	32-00091	白水谷	地方品种	重庆	72	ZD06700	科恢 10	选育品种	重庆
32	32-00090	半边粘	地方品种	重庆	73	ZD06701	科恢 26	选育品种	重庆
33	32-00098	杯子糯	地方品种	重庆	74	ZD06702	科恢 36	选育品种	重庆
34	32-00084	丰优 788	地方品种	重庆	75	ZD06712	糯 89-1/725	选育品种	重庆
35	32-00102	涪 9B	地方品种	重庆	76	ZD06713	糯 89-1/838	选育品种	重庆
36	32-00103	涪引 1 号	地方品种	重庆	77	ZD06690	冉恢	选育品种	重庆
37	32-00104	涪引 2 号	地方品种	重庆	78	ZD06686	万恢 86	选育品种	重庆
38	32-00105	涪引 3 号	地方品种	重庆	79	ZD06687	万恢 910	选育品种	重庆
39	32-00106	涪引 4 号	地方品种	重庆	80	ZD06697	育 69-1	选育品种	重庆
40	32-00093	红苗香	地方品种	重庆	81	ZD06698	郑 B	选育品种	重庆
41	32-00099	洪谷	地方品种	重庆					

分析 (AMOVA)。用 PowerMarker 软件计算 Nei 遗传距离, 采用 Neighbor-joining 法绘制聚类图, 并用 MEGA 7 软件进行观察。群体结构分析采用基于贝叶斯模型的 Structure 2.3.4 软件<sup>[22-23]</sup>, 参照 Hubisz 等<sup>[24]</sup>的方法设置参数, 设置类群数 1~10, 6 次重复。将 MCMC 开始时的不作数迭代设为 10000 次, 将不作数迭代后的 MCMC 迭代设为 100000 次, 并允许混合和相关的模型等位基因频率。Structure 计算结果用 Structure Harvester 网页工具<sup>[25]</sup>分析, 根据  $\ln P(D)$  或  $\Delta K$  的值确定最可能的 K 值。使用 NTSYS-pc 2.1 软件进行主成分分析 (PCA)。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 标记多态性及遗传多样性分析

选择分布于水稻 12 条染色体上的 38 个 SSR 标记位点, 对供试的 81 份水稻材料进行 SSR 多态性分析 (表 2)。共检测到多态性位点 25 个, 多态性比率平均为 66%, 共检测到 56 个等位基因, 各材料的不同位点等位基因数不等, 68% 的引物

检测出 2 个等位基因, 24% 的引物检测出 3 个等位基因, 即 RM17、RM210、RM267、RM202、RM304 和 RM327, 另有 8% 的引物检测出的等位基因数大于 3, 即 RM278 和 RM336 分别检测到 4 个和 5 个, 每位点平均检测的等位基因数为 2.44。有效等位基因数变化范围在 1.077~2.582 之间, 平均为 1.757, 其中 RM336 的有效等位基因数最高。Nei's 基因多样性指数变幅为 0.071~0.665, 平均为 0.407, 其中 RM267、RM336、RM210、RM278、RM304 及 RM17 的 Nei's 基因多样性指数较高, 均在 0.5 以上。期望杂合度变化范围为 0.071~0.613, 平均为 0.400。Shannon 信息指数变化范围为 0.158~1.017, 平均为 0.625。SSR 基因座多态性信息量 ( $PIC$ ) 范围为 0.069~0.539, 平均为 0.332。由 Bostsein 等<sup>[26]</sup>提出的衡量基因变异程度高低的  $PIC$  指标, 当  $PIC \geq 0.5$  时该位点为高度多态位点,  $0.25 \leq PIC < 0.5$  时为中度多态位点,  $PIC < 0.25$  时为低度多态位点。在本次的试验中, 共检测到高度多态位点 3 个, 中度多态位点 18 个, 在一定程度上说明 81 份供试材料的遗传差异较小, 遗传基础相对狭窄。

表 2 SSR 位点的遗传多样性统计

Table 2 Genetic diversity statistics of SSR loci

位点 Locus	染色体 Chromosome	有效等位 基因数 Effective Allele No.	等位基因数 Allele No.	基因多样性 指数 Gene diversity	期望杂合度 Expected heterozygosity	Shannon 信息指数 Shannon Index	多态信息 含量 Polymorphic information content
RM297	1	1.416	2.000	0.294	0.294	0.470	0.251
RM1	1	1.528	2.000	0.346	0.346	0.530	0.286
RM208	2	1.624	2.000	0.384	0.384	0.572	0.310
RM213	2	1.813	2.000	0.448	0.448	0.641	0.348
RM341	2	1.976	2.000	0.494	0.494	0.687	0.372
RM71	2	1.528	2.000	0.346	0.346	0.530	0.286
RM327	2	1.925	3.000	0.480	0.480	0.840	0.432
RM85	3	1.231	2.000	0.188	0.188	0.336	0.170
RM232	3	1.906	2.000	0.475	0.475	0.668	0.362
RM274	5	1.826	2.000	0.452	0.452	0.645	0.350
RM267	5	2.457	3.000	0.593	0.593	0.989	0.522
RM162	6	1.104	2.000	0.094	0.094	0.197	0.090
RM190	6	1.307	2.000	0.235	0.235	0.397	0.207
RM103	6	1.560	2.000	0.359	0.359	0.545	0.295
RM214	7	1.077	2.000	0.071	0.071	0.158	0.069

表 2(续)

位点 Locus	染色体 Chromosome	有效等位 基因数 Effective Allele No.	等位基因数 Allele No.	基因多样性 指数 Gene diversity	期望杂合度 Expected heterozygosity	Shannon 信息指数 Shannon Index	多态信息 含量 Polymorphic information content
RM18	7	1.655	2.000	0.396	0.396	0.585	0.317
RM336	7	2.582	5.000	0.665	0.613	1.017	0.539
RM223	8	1.496	2.000	0.332	0.332	0.514	0.277
RM210	8	2.284	3.000	0.562	0.562	0.944	0.495
RM278	9	2.473	4.000	0.632	0.596	0.987	0.520
RM304	10	1.983	3.000	0.562	0.496	0.689	0.373
RM202	11	1.663	3.000	0.413	0.399	0.588	0.319
RM209	11	1.624	2.000	0.384	0.384	0.572	0.310
RM224	11	1.700	2.000	0.412	0.412	0.602	0.327
RM17	12	2.198	3.000	0.545	0.545	0.910	0.474
平均 Mean		1.757	2.440	0.407	0.400	0.625	0.332

对三峡库区优异稻种地方品种和选育品种的 SSR 标记进行多样性分析。地方品种检测到平均有效等位基因数为 1.787, 选育品种检测到的为 1.719, 地方品种略高; 选育品种和地方品种检测到的平均等位基因数分别为 2.240 和 2.200, 选育品种略高; 两种类型水稻种质的基因多样性指数和期望杂合度极为相近, 差异在 0.005 之内; 选育品种的 Shannon 信息指数为 0.615, 比地方品种的高, 地方品种的是 0.609; 两种类型水稻种质的多态信息含量很相近, 分别为地方品种 0.327 和选育品种 0.326。这说明了两种类型水稻种质群体内的遗传变异水平相差不大。

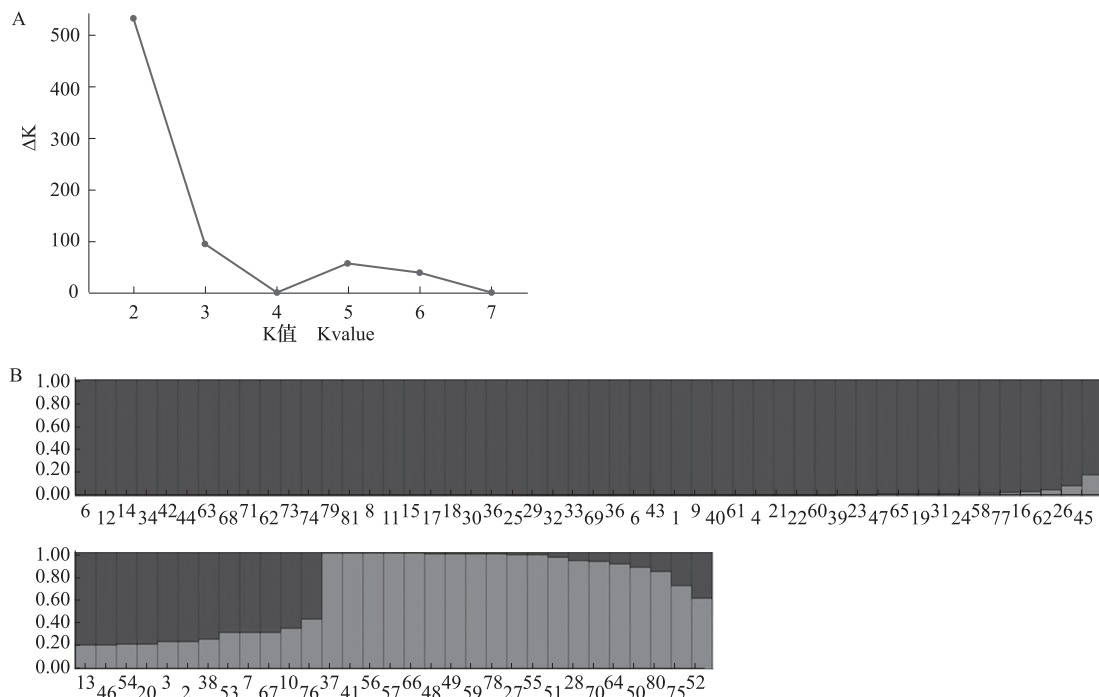
## 2.2 群体结构分析

采用基于数学模型的 Structure 软件对 81 份稻种资源进行种群划分。每个 K 值 6 次重复, 当 K=2 时, 统计量  $\Delta K$  出现峰值(图 1A), 由此可推断全部材料可划分为 2 个群体(图 1B), 分别命名为 P1 和 P2。分析各类群发现, P1 由 11 份地方品种和 8 份选育品种组成, 包含重庆地方品种 11 份, 重庆选育品种 6 份和四川选育品种 2 份; 486 异和糯 89-1/838 共 2 份材料隶属于 P1 和 P2 类群的概率均小于 0.6, 因而被归类到混合群中; 剩余的 60 份材料均归属于 P2 类群, P2 类群由 26 份地方品种和 34 份选育品种组成。由于 P2 由不同地理来源的 60 份水稻种质组成, 对该类群进行独立的群体结构分析, 结果显示  $\Delta K$  在 K=4(图 2A) 时出现峰

值, 表明 P2 类群可以分为 4 个子群(图 2B), 分别命名为 P2-1, P2-2, P2-3 及 P2-4。P2 的 4 个子群中, P2-1 由四川、重庆、贵州三省的水稻种质组成, 共计 20 份; P2-2 由四川、重庆两地水稻种质组成, 共计 9 份; P2-3 由重庆、湖北两地地水稻种质组成, 共计 9 份; P2-4 由重庆、湖南的水稻种质组成, 共计 9 份; 另有 13 份材料遗传构成较复杂, 归属于混合类群。观察发现贵州、湖北、湖南 3 个相隔较远省份的水稻种质分散聚集于不同群体, 地理位置相隔较近的四川和重庆的水稻种质则无明显分离聚集趋势。

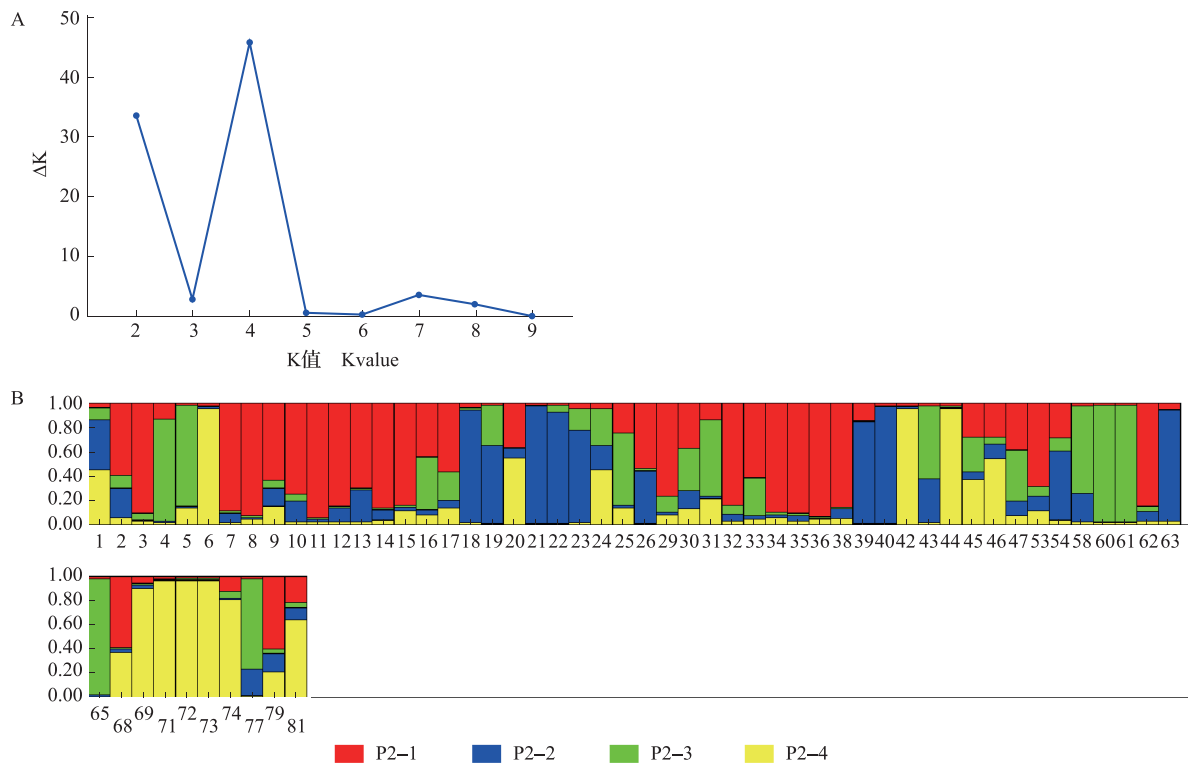
## 2.3 聚类分析

用 PowerMarker 软件计算遗传距离, 对三峡库区 81 份优异水稻种质作系统发生树(图 3)。大部分水稻种质间的遗传距离较近, 聚为 II 类群, 少数材料间的遗传距离较远, 聚为 I 类群。群体结构分析中 P1 群体的材料可明显聚集为 I 类群, P2 和混合群体材料聚集为 II 类群, 除了 P1 群体中的糯 89-1/725 聚集到了 II 类群, P2 群体的鸭鹏子聚集到 I 类群之外, 聚类分析与群体结构分析结构基本一致。I 类群是由 12 份重庆地方品种、5 份重庆选育品种和 2 份四川选育品种组成, 共 19 份水稻材料; II 类群由 25 份地方品种和 37 份选育品种组成, 包含 5 个地理来源的品种。每一类群都有不同地理来源的水稻种质, 同一地理来源的种质也分散聚集于不同类群, 表明类群聚集与地理来源无明显相关性。



A: K 值曲线图; B: 基于模型的 81 份水稻种群结构, 灰色和黑色条框分别代表 P1 和 P2, 图中数字为表 1 中的材料序号, 下同  
 A: Curve diagram of K value, B: Model-based population structure of 81 rice accessions, Gray and black bars represent P1 and P2, respectively, figures in the figure represent the material numbers in Table 1, the same as below

图 1 81 份水稻的遗传结构  
 Fig.1 The genetic structure of 81 rice accessions



A: P2 群体的 K 估计隶属度分数图; B: P2 的 60 份材料的种群结构图  
 A: K-estimation membership scores for P2, B: Population structure of 60 accessions in P2 group

图 2 P2 群体的遗传结构  
 Fig.2 The genetic structure of group P2

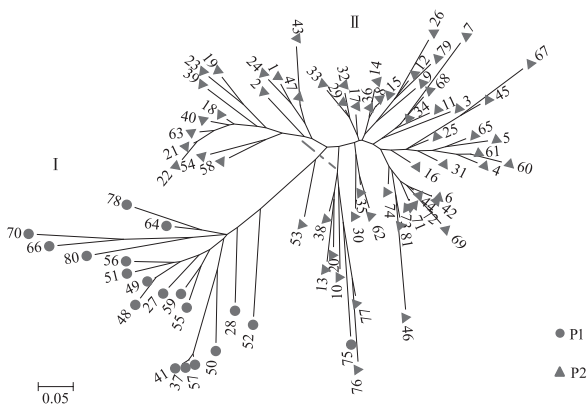


图3 基于 Nei's 遗传距离的系统发生树  
Fig.3 Unrooted neighbor-joining trees based on Nei's genetic distance

2.4 主成分分析

主成分分析 (PCA) 是基于 Nei 距离及相应的遗传相似系数进行的。因此,主成分分析图中各个群体及个体间的位置关系反映它们在遗传上的相似性<sup>[27]</sup>。应用 NTSYS-pc 2.1 对全部参试稻种资源进行主成分聚类分析,得到主成分二维聚类图 (图 4),在 2 个主成分方向上,所有的供试材料可以

分为 2 类,分类结果与 Structure 群体结构分析的结果基本一致。A 类群包含了 P1 的全部 19 份材料、P2 的 2 份材料 (CDR22 和鸭鹏子) 以及 2 个混合品种 (486 异和糯 89-1/838), 共计 23 份材料; B 类群包含了 P2 群体其余的 58 份材料。从图中可以看出,虽然鸭鹏子、CDR22、486 异和糯 89-1/838 在发散方向上与 A 类群一致,被划分到 A 类群,但它们的位置却接近中心点,距离 B 类群更近。在群体结构分析中,486 异和糯 89-1/838 的隶属度概率均低于 60%,属于混合型,CDR22 和鸭鹏子的隶属度概率分别为 0.646 和 0.683,隶属于各类群的概率均较低,主成分分析进一步证实了群体结构划分的结果。

2.5 分子方差分析

基于 Structure 群体结构划分结果对群体的遗传变异进行分子方差分析 (表 3),品种间的总变异百分率占比最高,为 41%;品种内的总变异百分率最低,为 19%;居群间的总变异百分率为 40%,与品种间的总变异率相近。说明变异主要存在于品种间和居群间,品种内的变异较低。

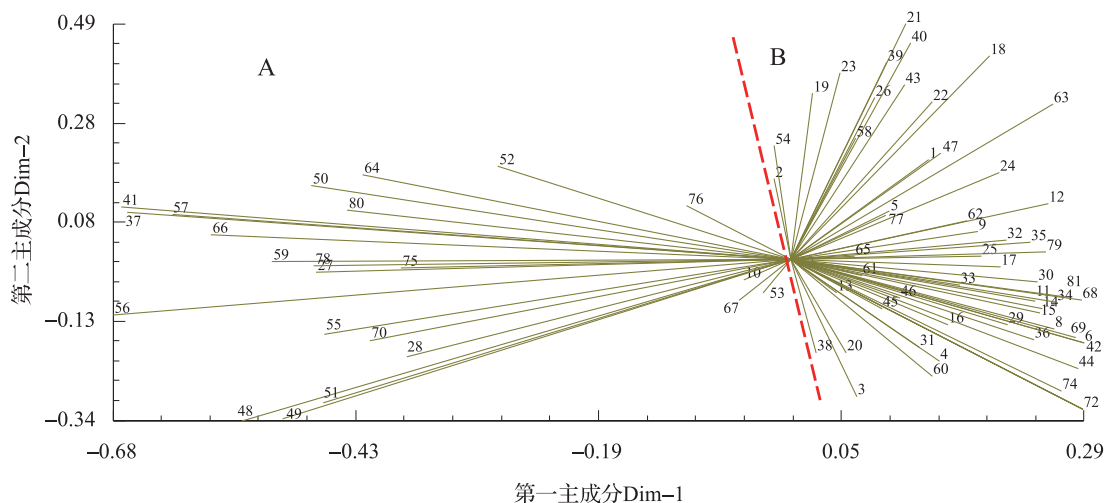


图4 基于 25 对 SSR 引物的 81 份水稻材料二维主成分分析  
Fig.4 Two-dimensional PCoA analysis of 81 rice materials based on 25 pairs of SSR primers

表 3 AMOVA 分析结果

Table 3 Results of analysis of molecular variance

变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom	总方差和 Sum of squares	均方差 Mean squared deviation	变异成分 Variance component	总变异百分率 (%) Percentage of total variation
居群间 Among pops	1	163.954	163.954	2.722	40
品种间 Among indiv	77	527.761	6.854	2.762	41
品种内 Within indiv	79	105.000	1.329	1.329	19

### 3 讨论

#### 3.1 三峡库区优异稻种资源遗传多样性分析

前人对水稻遗传多样性已有较多研究,如 Salgotra 等<sup>[28]</sup>对从喜马拉雅山西北地区收集的 141 份巴斯马蒂稻 (*Solanum sativa* L.) 利用 SSR 标记进行遗传多样性和群体结构分析;韩迎春等<sup>[29]</sup>利用 38 对 SSR 引物对河南主要推广种植的 10 个旱稻品种进行了遗传多样性分析;邓宏中等<sup>[8]</sup>利用 98 对 SSR 标记对 202 份中国水稻地方品种和选育品种的遗传多样性进行比较分析。纵观前人研究结果,对我国籼稻与粳稻、地方品种与选育品种以及某个省份和地区水稻遗传多样性研究的报道已有很多,但对三峡库区稻种资源遗传多样性的报道却几乎没有。本研究首次报道了三峡库区优异稻种资源的遗传多样性,利用筛选出的 25 个多态性好的 SSR 标记鉴定出了 56 个等位基因,多态性比率为 66%,多态信息含量平均为 0.332,期望杂合度平均为 0.400,表明材料的等位变异较低,遗传多样性水平较低。原因可能有如下几点,首先,应用微卫星标记鉴定种质资源的遗传多样性受到被选引物多态性的影响,在本试验中,共测试了 38 对 SSR 引物,从中仅筛选出 25 对多态性高、条带清晰的引物,选用的引物过少可影响测试材料的遗传多样性水平;其次,研究所用材料是在农民家中收集的栽培稻,栽培稻的遗传多样性除受生物因素影响外,种植者的管理和偏好也极大地影响着遗传多样性的分布和基因流水平,农民在种植过程中将品质好、抗性强的品种保留了下来而将品质差、抗性低的品种淘汰了,长期的人工选择必然造成当地水稻群体遗传多样性水平的降低。最后,从材料的组成来看,研究的 81 份材料包括 44 份选育品种和 37 份地方品种,选育品种占据了 54.3% 的比例,水稻选育品种本是为了某些特定的性状而人为选择繁衍的,人为的选择导致遗传信息的丢失和遗传多样性的降低<sup>[30]</sup>,选育品种本身携带遗传信息的局限性进一步造成了水稻种质遗传多样性的降低。因此,为丰富三峡库区水稻种质的多样性,获得高产、优质的水稻,在今后的育种工作中应加大外来品种的引进力度,拓宽育种材料的遗传基础,以培育出优质杂交水稻。

#### 3.2 三峡库区优异稻种资源群体结构分析

Structure 软件基于模型的分析方法常被人们用于水稻种群结构研究,刘承晨等<sup>[31]</sup>对 2012 年在云南哈尼梯田收集的 47 份水稻材料进行群体结构分

析,将 47 份参试材料分成了籼稻和粳稻 2 个类群。Roy 等<sup>[32]</sup>对印度东北部不同地区收集的 107 份香米和优质水稻,将 107 份种质分成了 3 个类群,各群体的分离表现出地域性;Das 等<sup>[33]</sup>将来自印度东部和东北部的 91 份水稻地方品种划分为 4 个类群。本研究将种群结构划分为 2 个类群 (P1 和 P2),其中 23.4% 的种质属于 P1 类群,74.1% 的种质属于 P2 类群,另有 2.5% 的种质属于混合类型。三峡库区属于南方籼稻生态区,以籼稻种植为主,本试验所选材料也大部分是籼稻,因而群体结构分析所揭示的 2 个类群未表现出籼、粳亚种的分离。此外,基于遗传阈值的类群基因型分配在不同的研究群体中存在差异,Zhao 等<sup>[34]</sup>和 Courtois 等<sup>[35]</sup>使用 80% 的祖先阈值来识别属于特定类群的种质,Liakat 等<sup>[36]</sup>将阈值提高了 60% 并鉴定出 33 份种质为混合型,相比之下 80% 的阈值会将更多的基因型判为混合型。本研究中,以 60% 为遗传阈值将 2 个种质基因型划分为混合型,具有合理性。从群体划分与地理来源上看,P1 类群中 89.5% 的种质来源地为重庆且为地方品种,10.5% 的种质是来源于四川的选育品种,由此可推测 P1 类群的种质为地理位置相隔近、遗传背景较单一的种质。P2 类群包含 5 个地理来源的种质,既有地方品种也有选育品种,可推测这些种质的遗传背景较为复杂。因而在新品种亲本选配时,应当选择不同类群内的种质组合,利用杂种优势培育出性状优良的子代,进而培育出优质水稻新品种。

基于 Nei's 遗传距离的聚类分析揭示了品种间的亲缘关系,聚类分析揭示出的 2 个类群与群体结构划分结果极为一致。地理位置相隔较近的四川和重庆的水稻相互聚集,未表现出单独聚集趋势,地理位置相隔较远的湖北、湖南、贵州三省的材料则分别聚集在不同小类群中。这与唐傲等<sup>[37]</sup>对香稻品种遗传多样性的研究结果相似,他们认为品种的亲缘关系与地理位置有着一定的相关性和规律性,地理位置相近的品种遗传距离较近,相同地域(稻区)、相邻省份的香稻品种基本归为一类。主成分分析揭示的 2 个类群与群体结构划分结果也极为一致,其中主成分分析将群体结构分析中隶属度较低的材料划分到另一群体。3 种软件分析的结果基本趋于一致并互为补充。

基于 SSR 标记的三峡库区优异稻种资源遗传多样性分子标记研究结果显示,81 份水稻种质可分为 2 个类群,各居群间和品种间的总变异百分率相当,变异存在于品种间和类群间。聚类分析、种群结



构划分和主成分分析揭示品种的聚集关系复杂,地域性规律总体不明显。因此,在今后的育种工作中,可参考群体划分结果选择遗传关系较远的材料作亲本,此外,还应引进新的外来品种,拓宽育种材料的遗传基础,为新品种的选育奠定基础。

#### 参考文献

- [1] Zhao K Y, Tung C W, Eizenga G C, Wright M H, Ali L M, Price A H, Norton G J, Islam M R, Reynolds A, Mezey J, McClung A M, Bustamante C D, Mccouch S R. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. *Nature Communications*, 2011, 2: 467
- [2] Glaszmann J C, Kilian B, Upadhyaya H D, Varshne R K. Accessing genetic diversity for crop improvement. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, (2): 167-173
- [3] 张媛媛, 束爱萍, 张立娜, 曹桂兰, 韩龙植. 中国不同省份水稻地方品种的遗传结构分析. *作物学报*, 2011, 37(12): 2173-2178  
Zhang Y Y, Shu A P, Zhang L N, Cao G L, Han L Z. Analysis of genetic structure for indica rice landraces from different provinces in China. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37(12): 2173-2178
- [4] Glaszmann J C. Isozymes and classification of Asian rice varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 1987, 74(1): 21-30
- [5] Li Z, Rutger J N. Geographic distribution and multilocus organization of isozyme variation of rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 101(3): 379-387
- [6] Yuan X P, Yu H Y, Wang Y P, Xu Q, Tang S X, Wei X H. Temporal changes in SSR allelic diversity of major rice cultivars in China. *Journal of Genetics and Genomics*, 2009, 36(6): 363-370
- [7] Thomson M J, Septiningsih E M, Suwardjo F, Santoso T J, Silitonga T S, Mccouch S R. Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 114(3): 559-568
- [8] 邓宏中, 王彩红, 徐群, 袁筱萍, 冯跃, 余汉勇, 王一平, 魏兴华. 中国水稻地方品种与选育品种的遗传多样性比较分析. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(3): 433-442  
Deng H Z, Wang C H, Xu Q, Yuan X P, Feng Y, Yu H Y, Wang Y P, Wei X H. Comparative analysis of genetic diversity in landrace and improved rice varieties in China. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(3): 433-442
- [9] 赵庆勇, 张亚东, 朱镇, 赵凌, 陈涛, 王才林. 30个粳稻品种 SSR 标记遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2010, 11(2): 218-223  
Zhao Q Y, Zhang Y D, Zhu Z, Zhao L, Chen T, Wang C L. Analysis on genetic diversity of 30 japonica rice varieties using SSR Markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2010, 11(2): 218-223
- [10] 张立娜, 曹桂兰, 韩龙植. 中国不同地理来源早稻地方品种的遗传相似性研究. *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. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(17): 3481-3488
- [11] 马作斌, 王昌华, 王辉, 付亮. 不同国家水稻品种的遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(3): 540-545  
Ma Z B, Wang C H, Wang H, Fu L. Analysis on genetic diversity of rice varieties from different countries. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(3): 540-545
- [12] 林春雨, 梁晓宇, 马淑梅, 王洋. 亚洲不同生态区水稻群体遗传多样性与特异性分析. *中国农学通报*, 2018, 34(14): 1-5  
Lin C Y, Liang X Y, Ma S M, Wang Y. Genetic diversity and specificity of rice population in different Asian ecological areas. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2018, 34(14): 1-5
- [13] 杨玉蓉, 孙建昌, 王兴盛, 韩龙植. 宁夏不同年代水稻品种的遗传多样性比较. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(3): 457-464  
Yang Y R, Sun J C, Wang X S, Han L Z. Comparative analysis of genetic diversity for different period rice varieties in Ningxia. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(3): 457-464
- [14] 孙建昌, 余滕琼, 汤翠凤, 曹桂兰, 徐福荣, 韩龙植. 基于 SSR 标记的云南地方稻种群体内遗传多样性分析. *中国水稻科学*, 2013, 27(1): 41-48  
Sun J C, Yu T Q, Tang C F, Cao G L, Xu F R, Han L Z. Analysis of genetic diversity with populations of rice landraces from Yunnan using microsatellite markers. *Chinese Journal of Rice Science*, 2013, 27(1): 41-48
- [15] 马骏, 李昌晓, 魏虹, 马朋, 杨予静, 任庆水, 张雯. 三峡库区生态脆弱性评价. *生态学报*, 2015, 35(21): 7117-7129  
Ma J, Li C X, Wei H, Ma P, Yang Y J, Ren Q S, Zhang W. Dynamic evaluation of ecological vulnerability in the three gorges reservoir region in chongqing municipality, China. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(21): 7117-7129
- [16] 钟海玲, 高荣, 张强. 三峡库区农业气候生产潜力评价. *安徽农业科学*, 2009, 37(6): 2818-2822  
Zhong H L, Gao R, Zhang Q. Evaluation of the climate production potential of agriculture in three gorges reservoir area. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37(6): 2818-2822
- [17] 韩龙植, 魏兴华. 水稻种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社, 2006: 1-119  
Han L Z, Wei X H. Descriptors and data standard for rice (*Oryza sativa* L.). Beijing: China Agricultural Press, 2006: 1-119
- [18] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 1980, 8(19): 4321-4326
- [19] Temnykh S, Park W D, Ayres N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho Y G, Ishii T, Mccouch S R. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100(5): 697-712
- [20] Smith J S C, Chin E C L, Shu H, Smith O S, Wall S J, Senior M L, Mitchell S E, Kresovich S, Ziegler J. An evolution of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with date from RELPs and pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, 95(1-2): 163-173
- [21] Kimura M, Ohta T. Mutation and evolution at the molecular level. *Genetics*, 1973, 73(S): 19-35
- [22] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000,

- 155 (2): 945-959
- [ 23 ] Falush D, Stephens M, Pritchard J K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 2003, 164 (4): 1567-1587
- [ 24 ] Hubisz M J, Falush D, Stephens M, Pritchard J K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*. 2009, 9 (5): 1322-1332
- [ 25 ] Earl D A, Vonholdt B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 2012, 4 (2): 359-361
- [ 26 ] Bostein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 1980, 32 (3): 314-331
- [ 27 ] 张晓丽, 郭辉, 王海岗, 吕建珍, 袁筱萍, 彭锁堂, 魏兴华. 中国普通野生稻与栽培稻种 SSR 多样性的比较分析. *作物学报*, 2008, 34 (4): 591-597  
Zhang X L, Guo H, Wang H G, Lyu J Z, Yuan X P, Peng S T, Wei X H. Comparative assessment of SSR allelic diversity in wild and cultivated rice in China. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34 (4): 591-597
- [ 28 ] Salgotra R K, Gupta B B, Bhat J A, Sharma S. Genetic diversity and population structure of basmati rice (*Oryza sativa* L.) germplasm collected from north western himalayas using trait linked SSR markers. *PLoS One*, 2015, 10 (7): e0131858
- [ 29 ] 韩迎春, 李俊周, 杜彦修, 张静, 孙红正, 赵全志. 河南主推旱稻品种 SSR 指纹图谱的构建及遗传差异分析. *分子植物育种*, 2014, 12 (2): 226-232  
Han Y C, Li J Z, Du Y X, , Zhang J, Sun H Z, Zhao Q Z. Establishment of SSR fingerprint map and analysis of genetic diversity among the upland rice of Henan. *Molecular Plant Breeding*, 2014, 12 (2): 226-232
- [ 30 ] 李亚卉, 马静, 吴斌, 孙建昌, 王兴盛, 韩龙植. 宁夏杂草稻的遗传多样性及其亲缘关系分析. *植物遗传资源学报*, 2016, 17 (1): 32-38  
Li Y H, Ma J, Wu B, Sun J C, Wang X S, Han L Z. Analysis of genetic diversity and genetic relationship for the weedy rice in Ningxia province. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17 (1): 32-38
- [ 31 ] 刘承晨, 赵富伟, 吴晓霞, 张昌泉, 朱孔志, 薛达元, 武建勇, 黄绍文, 徐小颖, 金银根, 刘巧泉. 云南哈尼梯田当前栽培水稻遗传多样性及群体结构分析. *中国水稻科学*, 2015, 29 (1): 28-34  
Liu C C, Zhao F W, Wu X X, Zhang C Q, Zhu K Z, Xue D Y, Wu J Y, Huang S W, Xu X Y, Jin Y G, Liu Q Q. Genetic diversity and population structure analysis of currently cultivated rice landraces from hano's terraced fields in Yunnan province. *Chinese Journal of Rice Science*, 2015, 29 (1): 28-34
- [ 32 ] Roy S, Banerjee A, Mawkhlieng B, Misra A K, Pattanayak A, Harish G D, Singh S K, Ngachan S V, Bansal K C. Genetic diversity and population structure in aromatic and quality rice (*Oryza sativa* L.) landraces from north-eastern India. *PLoS One*, 2015, 10 (6): e0129607
- [ 33 ] Das B, Sengupta S, Parida S K, Bipasha R, Ghosh M, Prasad M, Ghose T K. Genetic diversity and population structure of rice landraces from eastern and north eastern states of India. *BMC genetics*, 2013, 14 (1): 71
- [ 34 ] Zhao K, Wright M, Kimball J, Eizenga G, Mcclung A, Kovach M, Tyagi W, Liakat A M, Tung C W, Reynolds A, Bustamante C D, Mccouch S R. Genomic diversity and introgression in *O. sativa* reveal the impact of domestication and breeding on the rice genome. *PLoS One*, 2010, 5 (5): e10780
- [ 35 ] Courtois B, Frouin J, Greco R, Bruschi G, Droc G, Hamelin C, Ruiz M, Clement G, Evrard J C, Coppenole S V, Katsantonis D, Oliveira M, Negrao S, Matos C, Cavigiolo S, Lupotto E, Piffanelli P, Ahmadi N. Genetic diversity and population structure in a European collection of rice. *Crop Science*, 2012, 52 (4): 1663-1675
- [ 36 ] Liakat A M, Mcclung A, Jia M H, Kimball J A, Mccouch S R, Georgia C E. A rice diversity panel evaluated for genetic and agro-morphological diversity between subpopulations and its geographic distribution. *Crop Science*, 2011, 51 (5): 2021-2035
- [ 37 ] 唐傲, 邵高能, 焦桂爱, 罗炬, 吴建利, 唐绍清, 胡培松. 香稻资源遗传多样性的比较. *遗传*, 2009, 31 (4): 412-419  
Tang A, Shao G N, Jiao G A, Luo J, Wu J L, Tang S Q, Hu P S. Comparative assessment of SSR diversity in aromatic rice germplasm. *Hereditas*, 2009, 31 (4): 412-419