

东南亚国家引进水稻种质的遗传多样性和遗传结构分析

张晓丽¹, 吕荣华², 唐茂艳¹, 王强¹, 陈雷^{1,3}, 郭辉¹, 梁天锋¹, 高国庆¹

¹广西农业科学院水稻研究所/广西水稻遗传育种重点实验室, 南宁 530007;

²广西农业科学院国际合作处, 南宁 530007; ³广西大学农学院, 南宁 530004)

摘要:用 72 对 SSR 引物对 316 份东南亚不同地理来源的水稻种质资源进行遗传多样性和遗传结构分析。结果表明, 共检测到 387 个等位基因, 平均每对引物检测到 5.375 个, 变幅在 2~12 之间; 其中频率 <5% 的稀有等位基因有 293 个, 占全部等位基因数的 75.7%。Nei 基因多样性指数 (H_e) 变化幅度在 0.055~0.855 之间, 平均为 0.623。 H_e 以菲律宾的种质资源最为丰富 ($H_e=0.619$), 其余国家的 H_e 大小依次是越南 ($H_e=0.515$) > 老挝 ($H_e=0.467$) > 柬埔寨 ($H_e=0.455$); 聚类分析显示分为籼粳稻两大群体, 地理分组不是特别清晰。AMOVA 分析表明, 遗传变异主要来源于不同地理类群间, 且遗传分化极显著。遗传结构分析结果显示 K=2 时, 有相对明显的遗传结构。其次是 K=5 时, 显示菲律宾群体分为了 3 个比较明显的小类群, 存在较为明显的遗传分化结构。东南亚引进水稻种质资源丰富的遗传多样性和遗传结构为后期水稻育种的亲本选择提供依据。

关键词: 水稻; 种质资源; 遗传多样性; 遗传结构; 东南亚

Genetic Diversity and Genetic Structure in Rice Germplasm from Southeast Asian Countries

ZHANG Xiao-li¹, LV Rong-hua², TANG Mao-yan¹, WANG Qiang¹,
CHEN Lei^{1,3}, GUO Hui¹, LIANG Tian-feng¹, GAO Guo-qing¹

¹Rice Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Guangxi Key Laboratory of Rice Genetics and Breeding,

Nanning 530007; ²Division of International Cooperation, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007;

³Agriculture College of Guangxi University, Nanning 530004)

Abstract: Genetic diversity and structure of 316 accessions of rice germplasm from Southeast Asian countries was assessed using 72 pairs SSR markers. A total of 387 alleles were detected ranging from 2 to 12 per locus with the mean of 5.375, and there were 293 rare alleles in frequency <5%, accounting for 75.7% of all alleles. The Nei's gene diversity indices (H_e) ranged from 0.055 to 0.855, with the average of 0.623. The H_e of rice germplasms in the Philippines was the highest, the rest counties' H_e sequence were in Vietnam ($H_e=0.515$), Laos ($H_e=0.467$) and Cambodia ($H_e=0.455$) in order. The analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that genetic variation came from different geographical groups, and between different groups with significant difference at 0.001 probability level. Neighbor-joining trees based on Nei's (1973) genetic distance showed that 316 rice germplasm could be distinguished as *indica* and *japonica*, but could not be classified better into groups according to geographical regions. The result of population structures analysis indicated that will have a relatively obvious genetic structure when

收稿日期: 2017-06-20 修回日期 2017-07-19 网络出版日期: 2017-12-26

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20171226.1503.010.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31560363); 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科合 15104001-27); 广西自然科学基金 (2016GXNSFBA380171); 广西农业重点科技计划项目 (201530); 广西农业科学院科技成果转化项目 (2017NZ03)

第一作者研究方向水稻栽培与生理研究。E-mail: zhangxiaoli@gxaas.net

通信作者: 高国庆, 主要从事水稻分子育种及水稻新技术国际转移研究工作。E-mail: gqgao@gxaas.net

K = 2. The secondly is K = 5, it showed that Philippines population is divided into 3 small distinct groups with obvious genetic differentiation structure. The present study verified that rice germplasm from Southeast Asian countries have rich genetic diversity and structure which is an excellent basis for rice breeding in selecting parents.

Key words: rice germplasm; genetic diversity; genetic structure; Southeast Asian countries

种质资源是水稻品种选育及产业化的源头和基础。近些年,中国水稻育种在产量、抗性和品种方面都遇到不同程度的选育瓶颈,与种质资源的遗传基础狭窄、同质化严重等有着直接关系^[1],因此野生品种、地方品种和国外种质资源的收集和引进已受到广大科研工作者的重视^[2]。世界水稻品种资源多数分布在亚洲低纬度地区,特别是东南亚山区^[3]。本研究团队通过与越南、老挝、柬埔寨等国家高校和科研单位的国际合作交流,引进部分东南亚国家的种质资源。前人对国外野生稻、地方品种、选育品种及其亲本的遗传多样性研究较多^[4-7],而

对东南亚国家水稻地方品种的遗传结构报道较少,因此,针对 316 份来自菲律宾、越南、老挝、柬埔寨等东南亚国家水稻种质资源的遗传多样性和遗传结构进行评估,加强对其遗传基础的了解,旨在从分子水平上为水稻育种的亲本选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试的水稻材料共 316 份(表 1),其中 196 份来自菲律宾,22 份来自越南,41 份来自老挝,50 份来自柬埔寨,7 份来自中国广西,均为地方品种。

表 1 引进资源的编号、品种名称和来源国家

Table 1 The ID, variety name and origin country of imported resources

编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country	编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country	编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country
ID001	10124-1-1	老挝	ID024	10898	老挝	ID047	Te com 6	越南
ID002	10124-1-2	老挝	ID025	10899	老挝	ID048	Te com 7	越南
ID003	10132-3-1	老挝	ID026	10900	老挝	ID049	Te com 8	越南
ID004	10132-3-2	老挝	ID027	10901	老挝	ID050	Te com 9	越南
ID005	10132-3-3	老挝	ID028	10902	老挝	ID051	NV2	越南
ID006	10132-3-4	老挝	ID029	10903	老挝	ID052	NV3	越南
ID007	10132-3-5	老挝	ID030	10907	老挝	ID053	NV4	越南
ID008	10132-6	老挝	ID031	10921-1	老挝	ID054	N2—1	越南
ID009	10147	老挝	ID032	10924	老挝	ID055	N2—2	越南
ID010	10165	老挝	ID033	10947	老挝	ID056	N5	越南
ID011	10222-1	老挝	ID034	10995	老挝	ID057	TK90	越南
ID012	10222-2	老挝	ID035	11004	老挝	ID058	KNL	越南
ID013	10299	老挝	ID036	11079	老挝	ID059	BM9603	越南
ID014	10739-1-1	老挝	ID037	11111	老挝	ID060	NCHV	越南
ID015	10767-2-1	老挝	ID038	CN500	老挝	ID061	HT1	越南
ID016	10811	老挝	ID039	CN911	老挝	ID062	VTC1	越南
ID017	10861	老挝	ID040	CC711	老挝	ID063	BAC	越南
ID018	10879	老挝	ID041	HCOQ	老挝	ID064	C1	柬埔寨
ID019	10883	老挝	ID042	Te com 1	越南	ID065	C2	柬埔寨
ID020	10884	老挝	ID043	Te com 2	越南	ID066	C3	柬埔寨
ID021	10884-3	老挝	ID044	Te com 3	越南	ID067	C4	柬埔寨
ID022	10894	老挝	ID045	Te com 4	越南	ID068	C5	柬埔寨
ID023	10895	老挝	ID046	Te com 5	越南	ID069	C6	柬埔寨

表 1(续)

编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country	编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country	编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country
ID070	C7	柬埔寨	ID111	CA6	柬埔寨	ID152	LC141	菲律宾
ID071	C8	柬埔寨	ID112	农家种	柬埔寨	ID153	LC143	菲律宾
ID072	C9	柬埔寨	ID113	香米	柬埔寨	ID154	LC144	菲律宾
ID073	C10	柬埔寨	ID114	LC102	菲律宾	ID155	LC145	菲律宾
ID074	C11	柬埔寨	ID115	LC103	菲律宾	ID156	LC146	菲律宾
ID075	C12	柬埔寨	ID116	LC104	菲律宾	ID157	LC147	菲律宾
ID076	C13	柬埔寨	ID117	LC105	菲律宾	ID158	LC148	菲律宾
ID077	C14	柬埔寨	ID118	LC106	菲律宾	ID159	LC149	菲律宾
ID078	C15	柬埔寨	ID119	LC107	菲律宾	ID160	LC150	菲律宾
ID079	C16	柬埔寨	ID120	LC108	菲律宾	ID161	LC151	菲律宾
ID080	C17	柬埔寨	ID121	LC109	菲律宾	ID162	LC152	菲律宾
ID081	C18	柬埔寨	ID122	LC110	菲律宾	ID163	LC153	菲律宾
ID082	C19	柬埔寨	ID123	LC111	菲律宾	ID164	LC154	菲律宾
ID083	C20	柬埔寨	ID124	LC112	菲律宾	ID165	LC155	菲律宾
ID084	C21	柬埔寨	ID125	LC113	菲律宾	ID166	LC156	菲律宾
ID085	C22	柬埔寨	ID126	LC114	菲律宾	ID167	LC157	菲律宾
ID086	C23	柬埔寨	ID127	LC115	菲律宾	ID168	LC158	菲律宾
ID087	C24	柬埔寨	ID128	LC116	菲律宾	ID169	LC159	菲律宾
ID088	C25	柬埔寨	ID129	LC117	菲律宾	ID170	LC160	菲律宾
ID089	C26	柬埔寨	ID130	LC118	菲律宾	ID171	LC161	菲律宾
ID090	C27	柬埔寨	ID131	LC119	菲律宾	ID172	LC162	菲律宾
ID091	C28	柬埔寨	ID132	LC120	菲律宾	ID173	LC163	菲律宾
ID092	C29	柬埔寨	ID133	LC121	菲律宾	ID174	LC164	菲律宾
ID093	C30	柬埔寨	ID134	LC122	菲律宾	ID175	LC166	菲律宾
ID094	C31	柬埔寨	ID135	LC123	菲律宾	ID176	LC167	菲律宾
ID095	C32	柬埔寨	ID136	LC124	菲律宾	ID177	LC168	菲律宾
ID096	C33	柬埔寨	ID137	LC126	菲律宾	ID178	LC169	菲律宾
ID097	C34	柬埔寨	ID138	LC127	菲律宾	ID179	LC171	菲律宾
ID098	C35	柬埔寨	ID139	LC128	菲律宾	ID180	LC172	菲律宾
ID099	C36	柬埔寨	ID140	LC129	菲律宾	ID181	LC173	菲律宾
ID100	C41	柬埔寨	ID141	LC130	菲律宾	ID182	LC174	菲律宾
ID101	C42	柬埔寨	ID142	LC131	菲律宾	ID183	LC175	菲律宾
ID102	C43	柬埔寨	ID143	LC132	菲律宾	ID184	LC176	菲律宾
ID103	C44	柬埔寨	ID144	LC133	菲律宾	ID185	LC177	菲律宾
ID104	C45	柬埔寨	ID145	LC134	菲律宾	ID186	LC178	菲律宾
ID105	C46	柬埔寨	ID146	LC135	菲律宾	ID187	LC179	菲律宾
ID106	C47	柬埔寨	ID147	LC136	菲律宾	ID188	LC180	菲律宾
ID107	C48	柬埔寨	ID148	LC137	菲律宾	ID189	LC181	菲律宾
ID108	C49	柬埔寨	ID149	LC138	菲律宾	ID190	LC182	菲律宾
ID109	CA1	柬埔寨	ID150	LC139	菲律宾	ID191	LC183	菲律宾
ID110	CA3	柬埔寨	ID151	LC140	菲律宾	ID192	LC184	菲律宾

表 1(续)

编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country	编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country	编号 ID	代号/名称 Code/name	来源国家 Origin country
ID193	LC185	菲律宾	ID235	LC227	菲律宾	ID277	LC273	菲律宾
ID194	LC186	菲律宾	ID236	LC228	菲律宾	ID278	LC274	菲律宾
ID195	LC187	菲律宾	ID237	LC229	菲律宾	ID279	LC275	菲律宾
ID196	LC188	菲律宾	ID238	LC230	菲律宾	ID280	LC276	菲律宾
ID197	LC189	菲律宾	ID239	LC231	菲律宾	ID281	LC277	菲律宾
ID198	LC190	菲律宾	ID240	LC232	菲律宾	ID282	LC278	菲律宾
ID199	LC191	菲律宾	ID241	LC233	菲律宾	ID283	LC279	菲律宾
ID200	LC192	菲律宾	ID242	LC234	菲律宾	ID284	LC280	菲律宾
ID201	LC193	菲律宾	ID243	LC235	菲律宾	ID285	LC281	菲律宾
ID202	LC194	菲律宾	ID244	LC236	菲律宾	ID286	LC282	菲律宾
ID203	LC195	菲律宾	ID245	LC237	菲律宾	ID287	LC283	菲律宾
ID204	LC196	菲律宾	ID246	LC238	菲律宾	ID288	LC284	菲律宾
ID205	LC197	菲律宾	ID247	LC239	菲律宾	ID289	LC285	菲律宾
ID206	LC198	菲律宾	ID248	LC240	菲律宾	ID290	LC286	菲律宾
ID207	LC199	菲律宾	ID249	LC242	菲律宾	ID291	LC292	菲律宾
ID208	LC200	菲律宾	ID250	LC243	菲律宾	ID292	LC293	菲律宾
ID209	LC201	菲律宾	ID251	LC244	菲律宾	ID293	LC294	菲律宾
ID210	LC202	菲律宾	ID252	LC245	菲律宾	ID294	LC295	菲律宾
ID211	LC203	菲律宾	ID253	LC246	菲律宾	ID295	LC296	菲律宾
ID212	LC204	菲律宾	ID254	LC247	菲律宾	ID296	LC297	菲律宾
ID213	LC205	菲律宾	ID255	LC248	菲律宾	ID297	LC298	菲律宾
ID214	LC206	菲律宾	ID256	LC249	菲律宾	ID298	LC299	菲律宾
ID215	LC207	菲律宾	ID257	LC251	菲律宾	ID299	LC300	菲律宾
ID216	LC208	菲律宾	ID258	LC252	菲律宾	ID300	LC301	菲律宾
ID217	LC209	菲律宾	ID259	LC255	菲律宾	ID301	LC302	菲律宾
ID218	LC210	菲律宾	ID260	LC256	菲律宾	ID302	LC303	菲律宾
ID219	LC211	菲律宾	ID261	LC257	菲律宾	ID303	LC304	菲律宾
ID220	LC212	菲律宾	ID262	LC258	菲律宾	ID304	LC305	菲律宾
ID221	LC213	菲律宾	ID263	LC259	菲律宾	ID305	LC306	菲律宾
ID222	LC214	菲律宾	ID264	LC260	菲律宾	ID306	LC307	菲律宾
ID223	LC215	菲律宾	ID265	LC261	菲律宾	ID307	LC308	菲律宾
ID224	LC216	菲律宾	ID266	LC262	菲律宾	ID308	LC309	菲律宾
ID225	LC217	菲律宾	ID267	LC263	菲律宾	ID309	LC310	菲律宾
ID226	LC218	菲律宾	ID268	LC264	菲律宾	ID310	柳州墨米	中国河池
ID227	LC219	菲律宾	ID269	LC265	菲律宾	ID311	东兰墨米	中国河池
ID228	LC220	菲律宾	ID270	LC266	菲律宾	ID312	桂林红米	中国桂林
ID229	LC221	菲律宾	ID271	LC267	菲律宾	ID313	农家种	中国广西
ID230	LC222	菲律宾	ID272	LC268	菲律宾	ID314	黑糯	中国百色
ID231	LC223	菲律宾	ID273	LC269	菲律宾	ID315	玉林黑米	中国玉林
ID232	LC224	菲律宾	ID274	LC270	菲律宾	ID316	农家品种	中国玉林
ID233	LC225	菲律宾	ID275	LC271	菲律宾			
ID234	LC226	菲律宾	ID276	LC272	菲律宾			

1.2 DNA 提取及分子标记选择

参考微量 DNA 提取法^[8]对供试材料进行 DNA 的提取与纯化。

选取分布在每条染色体上的 6~7 对共 72 对水稻 SSR 引物(北京三博远志公司有限公司)进行分析。水稻 PCR 扩增、电泳参考李进波等^[9]的方法, PCR 扩增总体积为 10 μ L, 反应体系含有 10 \times PCR buffer(含 Mg^{2+}) 1.0 μ L, 10 μ mol/L dNTP 0.2 μ L, 5 U/ μ L Taq DNA 聚合酶 0.1 μ L, 10 μ mol/L 上游、下游引物各 0.2 μ L, DNA 模板 1 μ L, ddH₂O 调至总体积 10 μ L。反应流程为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 下延伸 8 min, 扩增产物 4 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物在 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶中恒压电泳 (8 V/cm), 银染^[10]检测。

1.3 数据统计

群体遗传多样性采用软件 PowerMarker ver 3.25^[11]进行相关指数统计, 包括平均等位基因数

(N_a)、Nei 基因多样性指数 (H_e)、多态性信息含量 (PIC) 以及基于 Nei's 遗传距离的 Neighbor-joining 聚类图的构建。群体的遗传结构采用 STRUCTURE ver 2.3.4 软件^[12-13]进行分析。基于每个位点等位基因的差异, 采用 Arlequin ver 3.11 软件^[14]中的 AMOVA (Analysis of Molecular Variance) 程序计算 F 统计量 (F_{st} , F -statistics), 以分析不同地理类群间的遗传分化。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性

针对 316 份东南亚种质资源材料, 试验中所采用的 72 对 SSR 引物均呈现出多态性(表 2), 共检测到 387 个等位基因, 每个位点等位基因数变幅在 2~12 之间, 平均为 5.375 个; 其中频率 < 5% 的稀有等位基因数 (N_{ra} , number of rare alleles) 有 293 个(表 3), 占全部等位基因数的 75.7%。Nei 基因多样性指数变化幅度在 0.055~0.855 之间, 平均数为 0.623, 多态性信息含量 (PIC) 为 0.570。

表 2 72 对 SSR 引物的汇总统计信息

Table 2 Summary statistics for the 72 SSR markers used

引物	染色体	位置(Mb)	等位基因数	Nei 基因多样性指数	多态性信息含量
Locus	Chr. No.	Position	Number of alleles	Nei's gene diversity index	PIC
RM3740	1	2.80	3	0.571	0.508
RM580	1	9.61	11	0.494	0.373
RM129	1	19.01	3	0.374	0.353
RM5	1	23.97	4	0.102	0.097
RM297	1	32.09	7	0.751	0.724
RM315	1	36.73	3	0.785	0.760
RM1067	1	42.92	5	0.508	0.455
RM290	2	10.81	6	0.716	0.684
RM236	2	2.11	3	0.796	0.765
RM341	2	19.50	7	0.628	0.555
RM525	2	28.29	9	0.711	0.654
RM530	2	30.56	4	0.712	0.679
RM208	2	35.16	4	0.678	0.621
RM6297	3	1.75	3	0.692	0.649
RM6849	3	3.72	2	0.549	0.448
RM232	3	9.76	6	0.570	0.506
RM6959	3	14.34	8	0.127	0.119
RM16	3	22.93	7	0.559	0.462
RM5992	3	30.32	2	0.359	0.306
RM8203	3	31.19	4	0.500	0.375
RM514	3	35.07	3	0.748	0.712
RM335	4	0.68	10	0.628	0.552
RM3643	4	20.13	6	0.761	0.729
RM1182	5	0.28	3	0.601	0.529
RM3322	5	4.20	5	0.682	0.635
RM3381	5	9.49	5	0.591	0.550

表 2(续)

引物 Locus	染色体 Chr. No.	位置(Mb) Position	等位基因数 Number of alleles	Nei 基因多样性指数 Nei's gene diversity index	多态性信息含量 <i>PIC</i>
RM164	5	19. 11	5	0. 750	0. 713
RM31	5	28. 45	7	0. 694	0. 639
RM5973	5	23. 23	4	0. 498	0. 432
RM7399	6	1. 05	4	0. 758	0. 729
RM204	6	3. 17	4	0. 815	0. 789
RM003	6	19. 15	7	0. 671	0. 616
RM3827	6	21. 95	7	0. 604	0. 537
RM6071	6	24. 64	4	0. 768	0. 732
RM340	6	28. 22	10	0. 696	0. 657
RM1353	7	3. 35	3	0. 499	0. 374
RM542	7	12. 66	9	0. 753	0. 716
RM11	7	19. 20	6	0. 733	0. 688
RM436	7	21. 04	2	0. 659	0. 611
RM7351	7	23. 93	2	0. 606	0. 540
RM248	7	29. 29	9	0. 855	0. 839
RM38	8	2. 11	7	0. 552	0. 470
RM3572	8	3. 92	3	0. 804	0. 777
RM337	8	14. 70	6	0. 719	0. 667
RM515	8	20. 28	7	0. 753	0. 719
RM447	8	26. 54	5	0. 677	0. 623
RM316	9	1. 02	3	0. 714	0. 662
RM5526	9	7. 26	5	0. 786	0. 755
RM566	9	14. 65	11	0. 563	0. 481
RM257	9	17. 67	8	0. 660	0. 593
RM278	9	19. 32	4	0. 466	0. 390
RM474	10	1. 80	6	0. 388	0. 360
RM5348	10	8. 08	7	0. 759	0. 721
RM5620	10	16. 96	4	0. 723	0. 677
RM258	10	17. 57	5	0. 629	0. 559
RM3123	10	21. 32	4	0. 514	0. 438
RM333	10	21. 92	7	0. 641	0. 605
RM590	10	22. 59	2	0. 499	0. 375
RM6334	10	24. 97	2	0. 539	0. 477
RM286	11	0. 38	6	0. 703	0. 654
RM3717	11	1. 17	6	0. 566	0. 481
RM167	11	4. 06	2	0. 634	0. 580
RM206	11	21. 63	12	0. 512	0. 462
RM224	11	26. 80	7	0. 687	0. 627
RM20	12	0. 97	3	0. 658	0. 597
RM3483	12	1. 61	4	0. 572	0. 531
RM247	12	3. 19	8	0. 787	0. 762
RM101	12	8. 83	4	0. 055	0. 054
RM1337	12	12. 04	9	0. 589	0. 501
RM519	12	19. 97	3	0. 820	0. 800
RM3726	12	23. 31	5	0. 497	0. 374
RM235	12	26. 18	6	0. 845	0. 826
平均值 Mean			5. 375	0. 623	0. 570

表 3 不同国家供试群体的遗传多样性比较

Table 3 Comparison of genetic diversity of different country populations based on 72 SSR loci

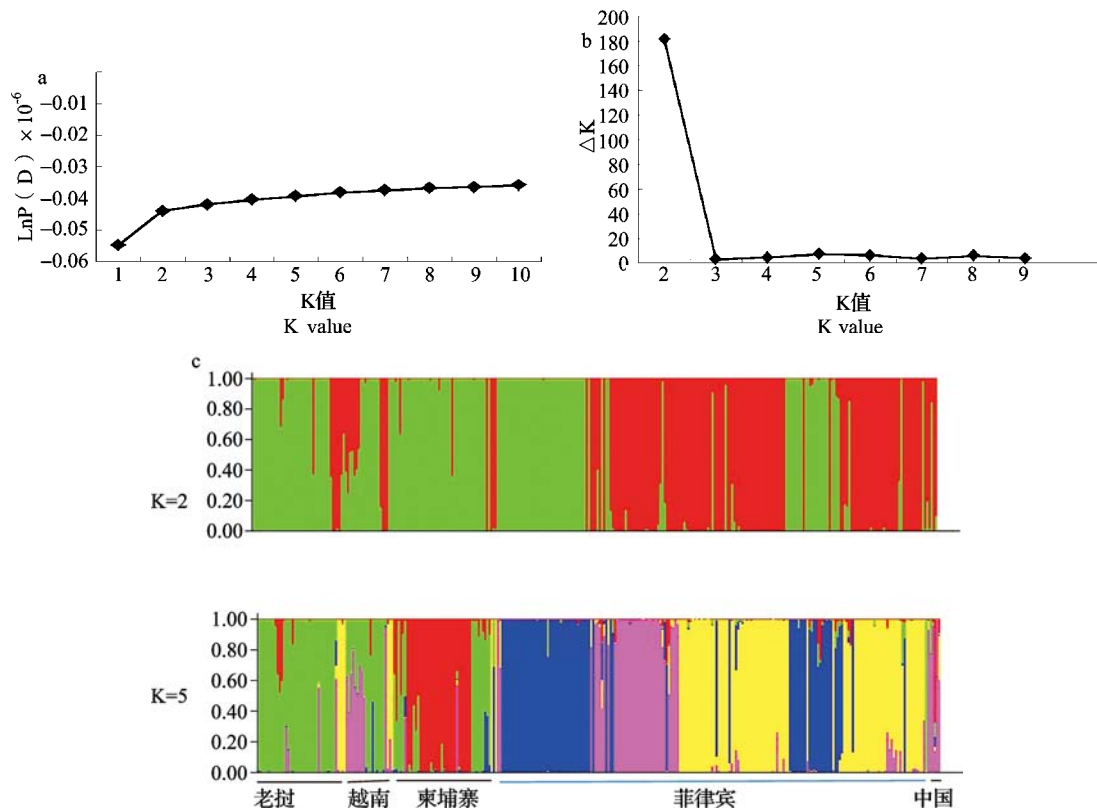
群体 Population	等位基因总数 Number of alleles (N_a)	Nei 基因多样性指数 Nei's genetic diversity index (H_e)	稀有等位基因数 No. of rare alleles (N_{ra})	多态性信息含量 PIC
老挝 Laos	274	0.467	71	0.417
越南 Vietnam	244	0.515	48	0.448
柬埔寨 Cambodia	294	0.455	84	0.412
菲律宾 Philippines	358	0.619	90	0.565

从表 3 中可看出,4 个遗传多样性指标 N_a 、 H_e 、 N_{ra} 和 PIC 值,菲律宾国家的群体均高于其他国家,说明其遗传多样性较为丰富,越南次之,老挝和柬埔寨群体的遗传多样性和中国广西地方品种群体的遗传多样性相差不大,可能与群体样本的选择及数目有一定关系。在稀有等位基因数目上,菲律宾 > 柬埔寨 > 老挝 > 越南,再次证明菲律宾群体中可挖掘利用的等位基因较多。

2.2 遗传结构

根据 SSR 多态性标记分析结果,采用 Structure ver 2.3.4 软件进行群体遗传结构分析,设置分析群

体数 K (the true number of clusters) 为 1 ~ 10,运行的 Length of burn-in Period 和 Number of MCMC Reps after Burn in 分别设置为 50000 和 100000,每个参数运行 5 次,分析结果显示 $\ln P(D)$ 值随着 K 值的持续增加也一直增加(图 1a),并未出现拐点;进一步估算 ΔK 值,发现在 $K=2$ 时 ΔK 值出现峰值,随后在 $K=5$ 时出现次峰值(图 1b),说明当 $K=2$ 时,群体结构分离最佳,表明存在 2 个稳定的群体(图 1c),这与 Neighbor-joining 聚类图所展现的结果相一致,分为 2 个大类群。当 $K=5$ 时,分析其群体分类结果可知,老挝国家资源与越南群体差异不是特别明显,但



a:随着 K 值的增加 $\ln P(D)$ 值的变化趋势;b: ΔK 值评估群体数目;c:316 份水稻种质资源基于模型的遗传结构图
a; $\ln P(D)$ value changes trend with the increase of K value,b;Estimation of the number of populations for K by calculating ΔK values,
c;Genetic structure of 316 rice germplasm resources based on model

图 1 东南亚水稻种质资源遗传结构分析

Fig. 1 Analysis on genetic structure of 316 rice germplasms from Southeast Asian countries

其中混合着其他国家品种的血缘;柬埔寨群体相对独立;而菲律宾群体分为3个比较明显的小类群,中国广西的材料和菲律宾的一小部分材料血缘相似。可见,本研究所采用的东南亚种质资源品种,尤其是菲律宾国家的资源存在较为明显的遗传结构。

同时,为了与 Structure 软件分析结果进行相互比较与印证,本研究采用 Powermarker ver 3.25 软

件,基于 Nei's (1973) 遗传距离,对 316 份试验材料进行 Neighbor-joining 聚类图的构建(图 2)。从图中可以看出,地理特征较为明显,各个国家的试验材料大多数各聚为一类,个别材料参差到其他国家群体内。同时可以看出,供试材料被分为籼稻(*Indica*)和粳稻(*Japonica*)两个类群,与 Structure 软件分析结果相一致。

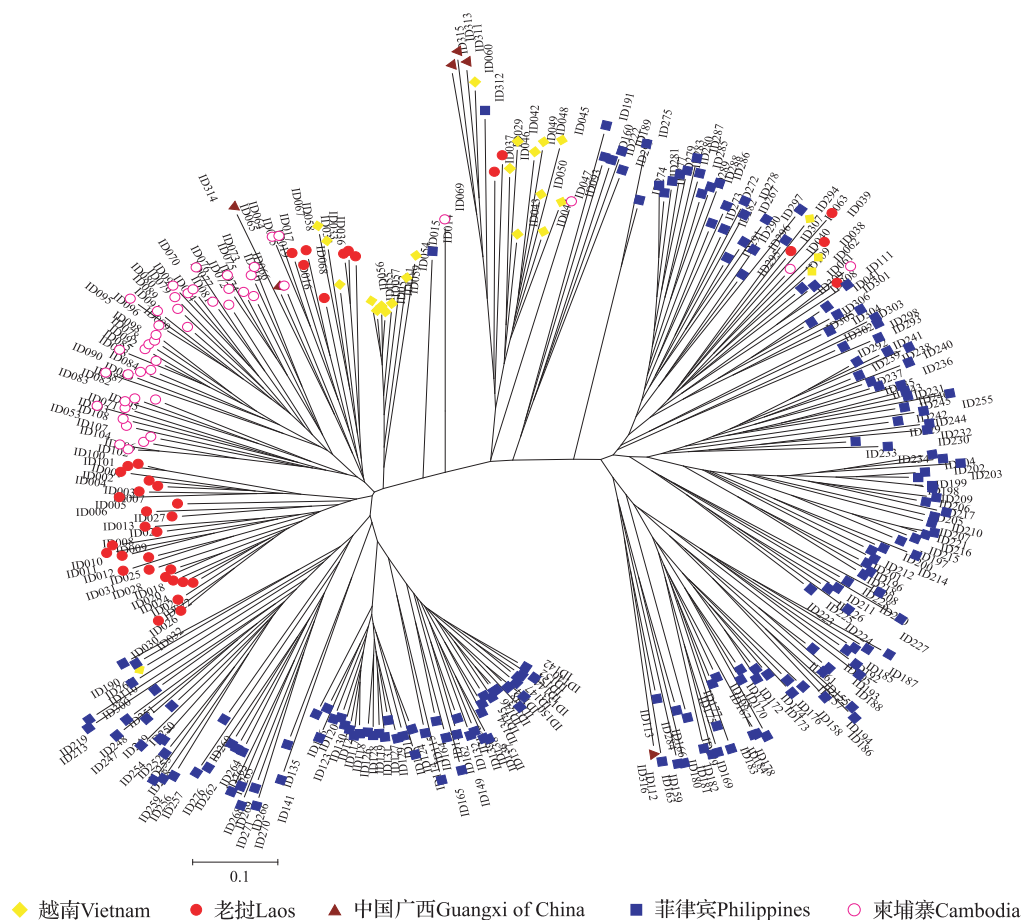


图 2 基于 Nei's (1973) 遗传距离的 Neighbor-joining 聚类分析图

Fig. 2 Neighbor-joining trees based on Nei's (1973) genetic distance

2.3 AMOVA 分析

AMOVA 分析显示,不同位点上东南亚 4 个国家引进的种质资源群体间贡献的遗传分化值(F_{st}) 在 0.1006~0.1583 之间,且差异极显著($P < 0.001$),不同地理群体的遗传变异主要存在于群体内,占 70% 以上,且遗传分化极显著($P < 0.001$) (表 4)。同时,如表 4 中所示,将每两个国家的种质资源群体间在遗传分化过程中丢失和新增加的等位基因数目进行了统计,丢失的等位基因相对较多。

3 讨论

袁筱萍等^[15]发现分析遗传多样性时至少需要

72 对 SSR 引物,分析群体结构时,引物数可减少至 60 对。本文采用了均匀分布在 12 条染色体上的 72 对 SSR 引物来分析东南亚引进的水稻种质资源,能够提供足够的分子差异信息,从一定层面上保障了水稻种质资源评价分析结果的可靠性。

从遗传结构图分析来看,越南和老挝的水稻种质资源遗传相似程度较高,基本可以划分为一个类群,而越南和老挝在地理位置和纬度相近,这与束爱萍等^[16]、李红宇等^[17]研究发现的地理位置相对较近的水稻品种之间具有较近的亲缘关系,且纬度和地理位置相近的国家间粳稻品种的遗传相似系数较大的结果相似。菲律宾引进的水稻种质资源大群体

表 4 东南亚水稻种质资源的分子方差分析
 Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) for rice germplasm in Southeast Asian countries

样本 Sample	变异来源 Source of variance	自由度 <i>df</i>	方差分量 Variance component	变异百分比(%) Percentage variation	遗传分化值 <i>F_{st}</i>	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	丢失的等位基因数目 No. of lost allele gene	新增的等位基因数目 No. of added allele gene
菲律宾和越南 Philippines vs Vietnam	群体间 Between species	1	2.569	10.42	0.1042	<0.001	120	7
	群体内个体间 Among individuals within species	216	20.130	81.66				
	个体内 Within individuals	218	1.952	7.92				
	群体间 Between species	1	3.643	14.49	0.1449	<0.001	97	13
菲律宾和老挝 Philippines vs Laos	群体间 Between species	235	19.568	77.84				
	群体内个体间 Among individuals within species	237	1.928	7.67				
	个体内 Within individuals	1	3.993	15.83	0.1583	<0.001	77	16
	群体间 Between species	244	19.381	76.82				
老挝和越南 Laos vs Vietnam	群体间 Between species	246	1.856	7.36				
	群体内个体间 Among individuals within species	1	2.598	12.63	0.1263	<0.001	48	20
	个体内 Within individuals	61	16.051	78.06				
	群体间 Between species	63	1.913	9.30				
柬埔寨和老挝 Cambodia vs Laos	群体间 Between species	1	1.894	10.06	0.1006	<0.001	46	28
	群体内个体间 Among individuals within species	89	15.277	81.10				
	个体内 Within individuals	91	1.665	8.84				
	群体间 Between species	1	3.187	15.40	0.1540	<0.001	60	10
柬埔寨和越南 Cambodia vs Vietnam	群体间 Between species	70	15.847	76.55				
	群体内个体间 Among individuals within species	72	1.667	8.05				
	个体内 Within individuals							
	群体间 Between species							

内,存在3个不同的小类群,从一定程度上讲,其遗传结构分化较丰富,也为后期遗传育种中间材料的选择利用以及进一步的分子领域研究提供了数据支持,最大程度地利用遗传资源间的互补基因,防止遗传脆弱性。此外,可以清晰地看出每个类群中均有不同程度的血缘混杂现象,这可能与不同亚群间基因漂流引起的染色体片段不同程度上的遗传相似性有关^[18]。选用的中国广西的种质资源和菲律宾以及越南部分种质的遗传结构相似,说明这些材料在历史上国际基因交流较为频繁,只是由于国界的限制逐渐形成不同的遗传背景。

遗传多样性及聚类分析的研究结果表明,引进的4个东南亚国家水稻种质资源之间SSR遗传分化出现极显著,其中菲律宾国家种质资源的遗传多样性最为丰富,除了与菲律宾本身拥有较为丰富的农家品种以外,也可能与菲律宾国家的选材数量较多有关。聚类分析对籼稻和粳稻的分化较为明显,但并不能完全清晰地反映不同地理来源下类群的差异,这与王一平等^[19]的研究结果相似,这可能与材料的国际交流有关。

由于AMOVA程序计算遗传分化时不需要做Hardy-weinberg平衡假设,因此避免了数学设置带来的系统误差^[19],本研究的AMOVA分析结果表明,选用的东南亚种质资源的遗传变异存在于不同地理类群之间,且遗传分化极显著。

当前水稻育种进展缓慢的主要原因之一是遗传基础狭窄,多数是以几个骨干亲本进行组合,很难取得育种上的大突破^[20]。通过对东南亚种质资源遗传多样性和遗传结构的分析,不仅可以拓宽遗传基础,防止或打破遗传瓶颈,而且给育种家们在材料选择上提供便利,缩短育种时间。同时,东南亚国家高温高湿的自然环境、多样化气候及其长期的封闭性,造就了其种质资源极高的抗性(抗逆性和抗病虫害)和稳定性极高的农艺性状,具有其独特的遗传背景,充分利用东南亚种质资源,将对目前急需培育多抗性优良水稻品种具有很重要的意义。

参考文献

- [1] 应杰政,施勇烽,庄杰云,等.用微卫星标记评估中国水稻主栽品种的遗传多样性[J].中国农业科学,2007,40(4):649-654
- [2] 王述民,李立会,黎裕,等.中国粮食和农业植物遗传资源状况报告(I)[J].植物遗传资源学报,2011,12(1):1-12
- [3] 张承万.东南亚各国水稻种质资源的收集及保存现状[J].黑龙江农业科学,1995(1):51-52
- [4] 马作斌,王昌华,王辉,等.不同国家水稻品种的遗传多样性分析[J].植物遗传资源学报,2014,15(3):540-545
- [5] 从夕汉,施伏枝,阮新民,等.东南亚62个籼型水稻亲本SSR遗传多样性分析[J].核农学报,2016,30(5):859-868
- [6] 吕建珍,张晓丽,王海岗,等.东南亚与南亚稻属AA基因组间的遗传多样性差异[J].中国水稻科学,2008,22(3):249-254
- [7] 黄瑞,周雷,何卫,等.非洲水稻种质资源SSR指纹图谱的构建及遗传多样性分析[J].分子植物育种,2015,13(7):1476-1486
- [8] Zheng K L, Subudi P K, Domingo J, et al. Rapid DNA isolation for marker-assisted selection in rice breeding[J]. Rice Genet Newsl, 1995, 12:255-258
- [9] 李进波,牟同敏,夏建武,等.利用微卫星标记鉴定两系杂交稻两优培胜的种子纯度[J].中国农学通报,2002,18(6):10-13
- [10] Panaud O, Chen X L, McCouch S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Mol Gen Genet, 1996, 252:597-607
- [11] Liu K J, Muse S V. Powermarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis [J]. Bioinformatics, 2005, 21: 2128-2129
- [12] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. Genetics, 2000, 155:945-959
- [13] Falush D, Stephens M, Pritchard J K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies [J]. Genetics, 2003, 164:1567-1587
- [14] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin, 2007, ver. 3. 11 [EB/OL]. (2017-05-10) [2007-02-19] <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>
- [15] 袁筱萍,王彩红,邓洪中,等.亚洲栽培稻遗传变异分析最少SSR引物数的研究[J].中国水稻科学,2015,29(6):578-586
- [16] 束爱萍,金钟焕,张三元,等.世界不同地理来源粳稻品种的遗传相似性研究[J].中国农业科学,2008,41(7):1879-1886
- [17] 李红宇,侯昱铭,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
- [18] McKeigue P M. Prospects for admixture mapping of complex traits [J]. Am J Hum Genet, 2005, 76:1-7
- [19] 王一平,魏兴华,华蕾,等.不同地理来源早稻种质资源的遗传多样性研究[J].作物学报,2007,33(12):2034-2040
- [20] 李丹婷,农保选,夏秀忠,等.东南亚稻种质资源收集与鉴定评价[J].植物遗传资源学报,2012,13(4):622-625