

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00087

微卫星标记分析水稻地方品种 30 年的遗传变异

严红梅¹, 董超², 张恩来², 汤翠凤², 阿新祥², 杨文毅², 杨雅云², 张斐斐², 徐福荣²

1. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 昆明 650223;
2. 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 农业部西南作物基因资源与种质创制重点实验室, 昆明 650223

摘要: 为揭示水稻(*Oryza sativa*)地方品种 30 年的遗传变异状况, 文章通过 60 个 SSR 标记, 对元阳哈尼梯田农户在 20 世纪 70 年代种植的 6 个(简称“过去的品种”)和近 10 年间种植的对应 6 个(简称“当前的品种”)代表性水稻地方品种进行检测。结果表明, 共检测到 159 个等位基因(N_a), 等位基因数 1~4 不等, 当前的品种较过去的品种减少 7 个等位基因。平均每个标记检测到的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、基因型多样性(H')和位点多态信息含量(PIC)4 个指标均为过去的品种高于当前的品种, 分别是(N_a)为 2.567>2.450, (N_e)为 2.052>1.968, (H')为 0.768>0.722, (PIC)为 0.469>0.439。基于 60 个 SSR 标记, 过去 6 个品种间的遗传相似性系数(GS)平均值为 0.437, 变幅为 0.117~0.667, 而当前 6 个品种间平均值为 0.473, 变幅为 0.200~0.700。总的来说, 水稻地方品种经过 30 年自然和人工选择, 遗传多样性降低, 不同品种存在等位基因大小的差异程度不同。

关键词: 元阳哈尼梯田; SSR 标记; 遗传多样性; 等位基因位点; 水稻

Analysis of genetic variation in rice paddy landraces across 30 years as revealed by microsatellite DNA markers

YAN Hong-Mei¹, DONG Chao², ZHANG En-Lai², TANG Cui-Feng², A Xin-Xiang², YANG Wen-Yi², YANG Ya-Yun², ZHANG Fei-Fei², XU Fu-Rong²

1. Institute of Agricultural Quality Standard and Testing Technology, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China;
2. Key Lab of Southwestern Crop Gene Resources and Germplasm Innovation, Ministry of Agriculture, Institute of Biotechnology and Germplasm Resources, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China

Abstract: To reveal the genetic variation of rice paddy landraces across 30 years, we compared the genetic variation of between 6 paddy rice landraces grown in Yuanyang Hani's terraced fields in Yuanyang County, Yunnan Province in the 1970s (past-grown landraces) and 6 paired ones that have been grown during the past decade (current-grown landraces) using 60 SSR markers. The results showed that one to four alleles were amplified in 60 loci and 159 alleles in all the landraces tested. The number of alleles from the current-grown landraces decreased by 7 alleles compared to the past-grown

收稿日期: 2011-04-10; 修回日期: 2011-10-21

基金项目: 科技部重大基础性研究专项(编号: 2006FY110700), 国家高技术研究发展计划项目(“863”计划)(编号: 2010AA101805), 云南省科技创新强省计划项目(编号: 2007C0219Z), 云南省社会发展科技计划项目(编号: 2010CC009)和云南省人才引项目(编号: 2008PY049)资助

作者简介: 严红梅, 学士, 助理研究员, 研究方向: 农产品安全。E-mail: hongmeiy99@yahoo.com.cn

通讯作者: 徐福荣, 博士, 研究员, 研究方向: 稻种资源。E-mail: xfrong99@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2011-11-30 10:34:41

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20111130.1034.001.html>

landraces. The average number of alleles (N_a), effective number of alleles (N_e), locus polymorphism information content (PIC), and genotype diversity (H') of the past-grown landraces were higher than those of the current-grown landraces, with N_a of $2.567 > 2.450$, N_e of $2.052 > 1.968$, PIC of $0.469 > 0.439$, and H' of $0.768 > 0.722$. The average genetic similarity coefficient (GS) of the past-grown landraces was 0.437 with a range from 0.200 to 0.700 based on the 60 SSR markers, and the average GS of the current-grown landraces was 0.473 with a range from 0.117 to 0.667. In conclusion, the genetic diversity in current-grown landraces was decreased compared to the past-grown landraces, and the degree of variation in some of the allele locus varied in different rice landraces as a result of 30 years' natural and artificial selection.

Keywords: Yuanyang Hani's terraced fields; SSR markers; genetic diversity; alleles; paddy rice landraces

水稻是全球近 50%人口的主要粮食作物, 其中 90%的水稻产于亚洲, 并在亚洲等发展中国家或地区消费^[1]。水稻是我国第一大粮食作物, 约占粮食总产量的 40%^[2]。水稻生产对保障全球粮食安全发挥着重要的作用^[3]。但是, 自 20 世纪 60 年代绿色革命以来, 许多改良品种(如 IR8、IR36 和汕优 63 等)的大面积推广的单一化趋势日益明显, 大量地方品种被替代, 造成大量等位基因的遗失和遗传多样性的降低^[4-8]。因此, 保护水稻品种的遗传多样性, 促进水稻生产的可持续发展任务非常迫切。20 世纪后半叶, 世界各国花费了相当大的努力, 将这些宝贵的稻种资源进行收集、保存于种质库(即异地保存), 做出了巨大贡献。全球保存于不同国家(地区)的稻种资源约 25 万份, 我国保存稻种资源 71 970 份^[9]。

然而, 对于水稻地方品种, 在农家保护(on-farm conservation, 即农家持续种植, 对其进行选择作用下)与种质库保存两种状态下, 经过多年后, 它们的遗传多样性及其等位基因变化等研究未见报道。本

研究采用云南元阳哈尼梯田农户近 10 年来仍在持续种植, 以及 20 世纪 70 年代收集于该地, 具有相同名称, 表型性状基本一致, 认为其是一一对应品种, 现保存于种质库的水稻地方品种为供试材料。利用 SSR 标记比较其遗传多样性, 及其等位基因变异状况, 为水稻地方品种的保护遗传学研究, 以及制订水稻地方品种安全有效的保护措施提供参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

2006~2007 年期间, 通过参与式半问卷调查方法, 从云南省元阳县调查收集了农户当时种植于哈尼梯田的 6 个水稻地方品种(简称“当前品种”, 编号为 1-1~6-1); 以及 20 世纪 70 年代收集(征集)于元阳县, 经鉴定后保存于云南省农科院农作物种质资源库的 6 个水稻地方品种(简称“过去品种”, 编号为 1-2~6-2), 详见表 1。

表 1 供试品种的来源

| 编号 | 品种名称 | 采集号/保存编号 | 来源 |
|-----|------|------------|-----------------|
| 1-1 | 老梗糯 | Y7 | 元阳县上新乡城箭竹林村 |
| 1-2 | | 21-1197 | 云南省农业科学院种质库 |
| 2-1 | 花谷 | Y46 | 元阳县胜村乡多依树村猴子寨 |
| 2-2 | | 21-1231 | 云南省农业科学院种质库 |
| 3-1 | 冷水谷 | Y51 | 元阳县胜村乡麻栗寨村上马点 |
| 3-2 | | 21-1263 | 云南省农业科学院种质库 |
| 4-1 | 长毛香 | Y103 | 元阳县小新街乡新鲁沙村瑶人老寨 |
| 4-2 | | 21-1204 | 云南省农业科学院种质库 |
| 5-1 | 红早谷 | Y87 | 元阳县逢春岭乡大鱼塘村唐家寨 |
| 5-2 | | 21-1214 | 云南省农业科学院种质库 |
| 6-1 | 矮脚谷 | 2007533417 | 元阳县新街镇水卜龙村 |
| 6-2 | | 21-1239 | 云南省农业科学院种质库 |

1.2 方法

1.2.1 表型性状调查

2008 年春季将 12 个水稻地方品种按编号顺序种植于云南省元阳县新街镇土锅盖村, 3 月 21 日播种, 5 月 7 日移栽。每个品种种植 1 行, 每行 20 株, 单本栽插, 株行距 10.0 × 20.0 cm, 两次重复。田间管理按当地常规管理方法进行。在田间生长期和收获后, 按照《水稻种质资源描述规范和数据标准》^[10]分别测定了各供试品种的 13 个主要农艺性状, 包括有效穗、株高、穗长、穗伸出度、剑叶长、剑叶宽、穗粒数、结实率、千粒重、粒长、粒宽、粒长宽比和种皮色等共 13 个性状(调查结果表省略)。

1.2.2 DNA 提取及 PCR 产物检测

参照已发表文章中多态性较高, 针对供试的 6 对品种进行了标记筛选, 从中选出水稻全基因组 12 条染色体上分布较均匀且多态性好的标记, 每条染色体上选择 3~7 个共计 60 个 SSR 标记用于该研究。引物序列由上海英骏生物技术有限公司合成。按 Edwards 等^[11]且稍有改进的 CTAB 法提取 DNA, 并进行 DNA 的纯化。PCR 体系(总反应体积为 10 μL)含 1.5 μL 10×PCR 缓冲液(含 Mg²⁺), 0.4 μL 2.5 mmol/L dNTPs, 0.2 μL 5 U/μL Taq DNA 聚合酶, 1.0 μL 10 μmol/L SSR 引物, 2.0 μL 20 ng/μL DNA, 4.9 μL

ddH₂O。扩增程序为 95℃ 5 min; 95℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 45 s, 共 30 个循环; 然后 72℃ 10 min, 4℃ 保存备用。采用 8% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染法检测扩增结果。

1.2.3 数据统计

以 0、1 统计 SSR 扩增带型, 并建立相应的数据库。在相同迁移率位置上, 有带记为“1”, 无带记为“0”。等位基因位点数(*Na*)为群体内等位变异的总数; 有效等位基因位点数(Effective number of alleles, *Ne*)^[12], $Ne=1/\sum(pi)^2$; 多态性信息量(Polymorphism index contents, *PIC*)^[13], $PIC=1-\sum(pi)^2$; 基因型多样性(*H'*), $H'=-\sum Pi \ln Pi$ 。式中 *P_i* 为第 *i* 个多态位点上的基因频率。数据经转化后用 Popgene 32 程序进行遗传相似性分析, 根据遗传相似性矩阵用 NTSYS pc V2.2 进行 UPGMA 聚类分析。

2 结果与分析

2.1 SSR 位点多态性信息比较

基于 60 个 SSR 标记, 供试的 12 个水稻地方品种检测到 159 个等位基因数(*Na*), 等位基因数 1~4 不等, 当前的品种较过去的品种减少 7 个等位基因。过去与当前种植的品种位点多态性信息比较结果表明, 在过去的 6 个品种中共检测出 154 个(表 2),

表 2 农户当前与过去种植品种的 SSR 位点多态性信息

| 标记 | 染色体 | 等位基因数 (<i>Na</i>) | | | 有效等位基因数 (<i>Ne</i>) | | 基因型多样性 (<i>H'</i>) | | 位点多态信息含量 (<i>PIC</i>) | |
|-------|-----|------------------------|------|-----|--------------------------|-------|-------------------------|-------|----------------------------|-------|
| | | 过去品种 | 当前品种 | 差异数 | 过去品种 | 当前品种 | 过去品种 | 当前品种 | 过去品种 | 当前品种 |
| | | | | | | | | | | |
| RM1 | 1 | 4 | 4 | 0 | 3.600 | 3.000 | 1.330 | 1.242 | 0.722 | 0.667 |
| RM23 | 1 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM84 | 1 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM246 | 1 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.000 | 1.011 | 0.868 | 0.611 | 0.500 |
| RM259 | 1 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM29 | 2 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM145 | 2 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM207 | 2 | 3 | 3 | 0 | 3.000 | 3.000 | 1.099 | 1.099 | 0.667 | 0.667 |
| RM208 | 2 | 2 | 2 | 0 | 2.000 | 2.000 | 0.693 | 0.693 | 0.500 | 0.500 |
| RM213 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM250 | 2 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.000 | 1.011 | 1.242 | 0.611 | 0.500 |
| RM263 | 2 | 3 | 3 | 0 | 2.000 | 2.571 | 0.868 | 1.011 | 0.500 | 0.611 |
| RM16 | 3 | 3 | 3 | 0 | 2.000 | 2.000 | 0.868 | 0.868 | 0.500 | 0.500 |
| RM143 | 3 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM218 | 3 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.800 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.444 |

续表 2

| 标记 | 染色体 | 等位基因数 (N_a) | | | 有效等位基因数 (N_e) | | 基因型多样性 (H') | | 位点多态信息含量 (PIC) | |
|--------|-----|--------------------|-------|-----|----------------------|---------|--------------------|-------|-----------------------|--------|
| | | 过去品种 | 当前品种 | 差异数 | 过去品种 | 当前品种 | 过去品种 | 当前品种 | 过去品种 | 当前品种 |
| RM251 | 3 | 4 | 2 | 2 | 3.600 | 2.000 | 1.330 | 0.693 | 0.722 | 0.500 |
| RM570 | 3 | 3 | 3 | 0 | 2.000 | 2.000 | 0.868 | 0.868 | 0.500 | 0.500 |
| RM252 | 4 | 2 | 2 | 0 | 2.000 | 1.800 | 0.693 | 0.637 | 0.500 | 0.444 |
| RM303 | 4 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM1153 | 4 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM13 | 5 | 2 | 4 | 2 | 1.385 | 3.600 | 0.451 | 1.330 | 0.278 | 0.722 |
| RM153 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1.800 | 1.800 | 0.637 | 0.637 | 0.444 | 0.444 |
| RM164 | 5 | 3 | 2 | 1 | 2.571 | 1.385 | 1.011 | 0.451 | 0.611 | 0.278 |
| RM249 | 5 | 2 | 1 | 1 | 1.385 | 1.000 | 0.451 | 0.000 | 0.278 | 0.000 |
| RM289 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM405 | 5 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM162 | 6 | 2 | 2 | 0 | 1.800 | 1.385 | 0.637 | 0.451 | 0.444 | 0.278 |
| RM217 | 6 | 4 | 4 | 2 | 3.000 | 3.000 | 1.242 | 1.242 | 0.667 | 0.667 |
| RM253 | 6 | 2 | 3 | 1 | 1.800 | 2.571 | 0.637 | 1.011 | 0.444 | 0.611 |
| RM528 | 6 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM10 | 7 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM11 | 7 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM18 | 7 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM167 | 7 | 3 | 3 | 0 | 2.000 | 2.571 | 0.868 | 1.011 | 0.500 | 0.611 |
| RM234 | 7 | 3 | 2 | 1 | 2.000 | 1.800 | 0.868 | 0.637 | 0.500 | 0.444 |
| RM248 | 7 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM336 | 7 | 3 | 3 | 0 | 3.000 | 2.571 | 1.099 | 1.011 | 0.667 | 0.611 |
| RM25 | 8 | 3 | 2 | 1 | 2.000 | 1.800 | 0.868 | 0.451 | 0.500 | 0.444 |
| RM229 | 8 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM339 | 8 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 0.451 | 0.611 | 0.611 |
| RM107 | 9 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM219 | 9 | 3 | 3 | 0 | 2.000 | 2.000 | 0.868 | 0.868 | 0.500 | 0.500 |
| RM285 | 9 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM205 | 9 | 2 | 1 | 1 | 1.385 | 1.000 | 0.451 | 0.868 | 0.278 | 0.000 |
| RM222 | 10 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM228 | 10 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM258 | 10 | 2 | 2 | 0 | 1.385 | 1.385 | 0.451 | 0.451 | 0.278 | 0.278 |
| RM311 | 10 | 4 | 3 | 1 | 3.600 | 2.571 | 1.330 | 1.011 | 0.722 | 0.611 |
| RM21 | 11 | 2 | 2 | 0 | 2.000 | 1.385 | 0.693 | 0.451 | 0.500 | 0.278 |
| RM202 | 11 | 2 | 1 | 1 | 1.385 | 1.000 | 0.451 | 0.287 | 0.278 | 0.000 |
| RM224 | 11 | 3 | 2 | 1 | 2.000 | 1.385 | 0.868 | 0.451 | 0.500 | 0.278 |
| RM286 | 11 | 4 | 4 | 0 | 3.000 | 3.600 | 1.242 | 1.330 | 0.667 | 0.722 |
| RM287 | 11 | 2 | 2 | 0 | 1.800 | 1.800 | 0.637 | 0.637 | 0.444 | 0.444 |
| RM4 | 12 | 2 | 2 | 0 | 2.000 | 1.800 | 0.693 | 0.637 | 0.500 | 0.444 |
| RM17 | 12 | 2 | 2 | 0 | 2.000 | 1.385 | 0.693 | 0.451 | 0.500 | 0.278 |
| RM19 | 12 | 2 | 2 | 0 | 1.800 | 1.800 | 0.637 | 0.451 | 0.444 | 0.444 |
| RM20 | 12 | 2 | 2 | 0 | 1.800 | 1.800 | 0.637 | 0.637 | 0.444 | 0.444 |
| RM247 | 12 | 3 | 3 | 0 | 2.571 | 2.571 | 1.011 | 1.011 | 0.611 | 0.611 |
| RM463 | 12 | 2 | 2 | 0 | 1.800 | 1.800 | 0.637 | 0.637 | 0.444 | 0.444 |
| RM511 | 12 | 3 | 3 | 0 | 2.000 | 2.000 | 0.868 | 0.868 | 0.500 | 0.500 |
| 合计 | | 154 | 147 | 17 | 123.136 | 118.079 | | | 28.167 | 26.333 |
| 平均值 | | 2.567 | 2.450 | | 2.052 | 1.968 | 0.768 | 0.722 | 0.469 | 0.439 |

平均每个标记为 2.567 个; 有效等位基因数(N_e)为 123.136 个, 平均每个标记为 2.052 个; 位点多态信息含量(PIC)平均值为 0.469, 变幅为 0.278~0.722; 基因型多样性(H')平均值为 0.768, 变幅为 0.451~1.330。当前的 6 个品种中共检测出等位基因数(N_a)147 个, 平均每个标记为 2.450 个; 有效等位基因数(N_e)为 118.079 个, 平均每个标记为 1.968 个; 位点多态信息含量(PIC)平均值为 0.439, 变幅为 0~0.722; 基因型多样性(H')平均值为 0.722, 变幅为 0~1.330。根据 SSR 标记多态性信息分析表明, 过去的品种的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、位点多态信息含量(PIC)和基因型多样性(H')等 4 个指标均高于当前的品种。

2.2 SSR 标记的位点等位基因差异分析

2.2.1 两个不同时期等位基因差异分析

过去与当前品种间的等位基因差异比较结果表明(表 3), 共有 13 个 SSR 标记位点的 17 个等位基因在两个不同时期的品种间存在差异, 12 个等位基因在过去的品种中检测到, 但在当前的品种中没有检测到, 包括“老粳糯”在 RM251 位点的 150 bp、RM164 的 290 bp 和 RM224 的 120 bp 等位基因, “花谷”在 RM251 位点的 170 bp 等位基因, “冷水谷”在

RM213 的 130 bp 和 RM164 的 290 bp 等位基因, “长毛香”在 RM213 位点的 130 bp、RM249 的 135 bp、RM205 的 150 bp 和 RM202 的 180 bp 等位基因, “红早谷”在 RM213 位点的 130 bp 和 RM234 的 135 bp 等位基因, “矮脚谷”在 RM217 位点的 130 bp、RM25 的 160 bp 和 RM311 的 320 bp 等位基因, 即在 11 个 SSR 标记位点有 12 个等位基因存在差异, 在过去种植的 6 个品种中均有分布。同样, 有 5 个等位基因在当前的品种中检测到, 在过去的品种中没有检测到, 它们分别是“花谷”在 RM13 位点的 145 bp 等位基因, “冷水谷”在 RM213 位点的 120 bp 和 RM13 的 140 bp 等位基因, “红早谷”在 RM253 位点的 150 bp 以及“矮脚谷”在 RM13 位点的 140 bp 及 RM217 位点的 145 bp 等位基因, 即在 4 个 SSR 标记位点的 5 个等位基因上存在差异, 分布在除“老粳糯”和“长毛香”外的 4 个品种中。

2.2.2 对应品种 SSR 位点的等位基因差异分析

基于 60 个 SSR 标记位点, 6 对过去与当前品种的等位基因差异比较结果显示, “老粳糯”分别在 7 条染色体的共 7 个标记位点, 分别是 RM19、RM162、RM164、RM224、RM246、RM251 和 RM336 上存在等位基因的差异, 差异最大达 20 bp; “花谷”分别

表 3 过去品种与当前品种的等位基因信息比较

| 标记 | 染色体 | 大小(bp) | 过去品种 | 当前品种 |
|-------|-----|--------|-------------|---------|
| RM213 | 2 | 120 | | 冷水谷 |
| | | 130 | 冷水谷、长毛香、红早谷 | |
| RM251 | 3 | 150 | 老粳糯 | |
| | | 170 | 花谷 | |
| RM13 | 5 | 140 | | 冷水谷、矮脚谷 |
| | | 145 | | 花谷 |
| RM164 | 5 | 290 | 老粳糯、冷水谷 | |
| RM249 | 5 | 135 | 长毛香 | |
| RM217 | 6 | 130 | 矮脚谷 | |
| | | 145 | | 矮脚谷 |
| RM253 | 6 | 150 | | 红早谷 |
| RM234 | 7 | 135 | 红早谷 | |
| RM25 | 8 | 160 | 矮脚谷 | |
| RM205 | 9 | 150 | 长毛香 | |
| RM311 | 10 | 320 | 矮脚谷 | |
| RM202 | 11 | 180 | 长毛香 | |
| RM224 | 11 | 120 | 老粳糯 | |

在 5 条染色体的 6 个标记位点, 分别是 RM1、RM13、RM84、RM251、RM253 和 RM287 上存在等位基因的差异, 差异最大达 10 bp; “冷水谷”分别在 7 条染色体的 13 个 SSR 标记位点, 分别是 RM16、RM17、RM21、RM84、RM164、RM207、RM213、RM248、RM250、RM263、RM287、RM463 和 RM570 存在差异, 差异最大达 20 bp; “长毛香”分别在 4 条染色体的 5 个标记位点, 分别是 RM16、RM202、RM205、RM213 和 RM249 位点存在差异, 差异最大达 30 bp; “红早谷”分别在 9 条染色体的 10 个标记位点, 分别是 RM1、RM18、RM207、RM213、RM222、RM234、RM252、RM253、RM286 和 RM570 存在差异, 差异最大达 20 bp; “矮脚谷”分别在 12 条染色体的 20 个标记位点, 分别为 RM1、RM4、RM13、RM17、RM19、RM21、RM25、RM107、RM167、RM217、RM218、RM222、RM234、RM250、RM263、RM286、RM303、RM311、RM463 和 RM570 位点存在差异, 差异最大达 40 bp。总之, 共有 38 个标记在不同的对应品种间存在等位基因大小的差异。

2.3 基于 SSR 标记的相似性和聚类分析

基于 60 个 SSR 标记, 供试的 6 对 12 个水稻地方品种间遗传相似性系数(GS)平均值为 0.486, 过去的品种间遗传相似性系数(GS)平均值为 0.437, 变幅为 0.117~0.667; 而当前的品种为 0.473, 变幅为 0.200~0.700; 供试的 6 对品种遗传相似性系数值依次为 0.917(长毛香)>0.900(花谷)>0.883(老梗糯)>0.833(红

早谷)>0.767(冷水谷)>0.677(矮脚谷)。供试的 6 对 12 个品种在遗传相似系数值为 0.205 处分成两大类群(图 1), 与籼粳亚种相对应。I 类群为籼亚种, 包括老梗糯、花谷、冷水谷、红早谷和矮脚谷 5 对品种。II 类群为粳亚种, 只有长毛香 1 对品种。总之, 供试的 6 对品种均两两聚在一起, 无交叉现象, 但不同品种的遗传相似度不同, 矮脚谷相似度最小, 长毛香相似度最大。

3 讨论

人类迫使生态系统简化已经是个突出的问题^[14]。在农业生态系统中, 由于选育品种的大面积单一化种植, 导致大量地方品种被替代, 致使基因流失和遗传多样性降低^[8, 15]。已有的研究表明, 中国的选育品种遗传基础比较狭窄^[16~18], 齐永文等^[19]和张晓丽等^[20]的研究报道, 我国水稻选育品种等位基因数占水稻地方稻种的 81%和 81.1%。然而, 在著名的云南元阳哈尼梯田, 高度异质的生态环境和民族传统文化习俗, 孕育了高度多样的水稻地方品种。当前, 仍有 81.5%的农户种植水稻地方品种, 水稻地方品种种植面积占水稻总面积的 56.2%, 为国内少见^[21]。尽管如此, 据本课题组前期研究发现, 经过 30 多年的人工选择和自然选择, 元阳哈尼梯田农户当前种植的水稻地方品种在类型和一些表型性状已经发生了较大的变化, 有单一化和遗传多样性降低趋势, 究其原因主要是当地农民对产量性状等的人工选择^[22]。

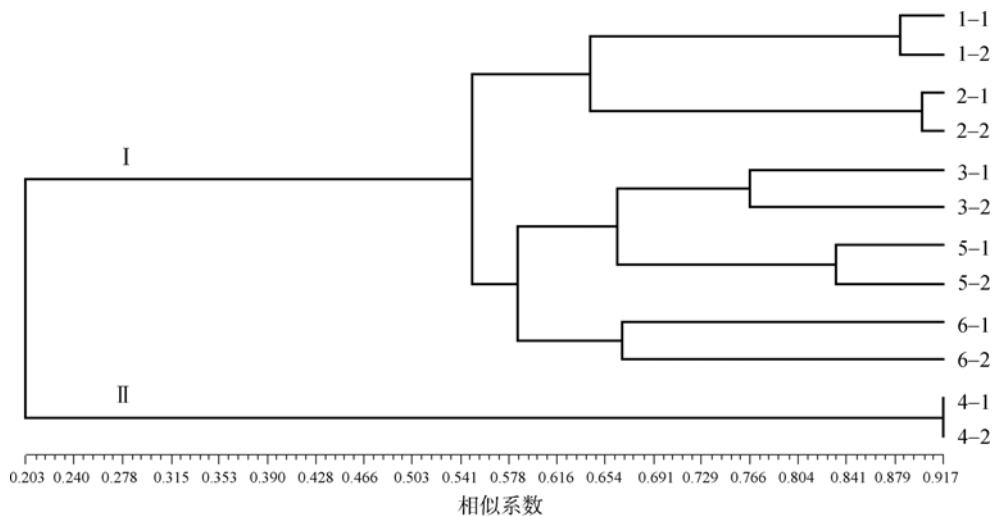


图 1 6 对 12 个水稻地方品种的遗传相似性聚类树型图

本研究根据 60 个 SSR 标记多态性信息分析表明, 元阳哈尼梯田 6 个水稻地方品种经过 30 年持续种植, 当前的品种的等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、位点多态信息含量(PIC)和基因型多样性(H')等 4 个指标均低于过去的品种, 但均未达到显著差异。另外, 当前的 6 个品种间遗传相似性系数平均值较过去的 6 个品种高, 为 $0.473 > 0.437$ 。说明经过持续的种植, 在自然环境和人为的选择干预下, 元阳哈尼梯田水稻地方品种的遗传多样性下降, 这与作者等^[23]利用 48 个 SSR 分子标记, 分别以元阳哈尼梯田 72 个过去的品种和 76 个当前的品种为材料, 进行遗传多样性研究表明, 当前的品种较过去的品种遗传多样性略有下降相一致。另外, 本研究于萍等^[24]对太湖地区水稻农家品种的微卫星分析, 发现太湖地区农家品种受人工选择影响大, 多样性较低, 品种间遗传相似度较高的结果相一致。但是, 与李小湘等^[25]对湖南江永野生稻原、异位保存的研究表明, 原位保护比异位保护遗传多样性高不一致, 其原因可能为两种保护方式的环境自然选择不尽一致, 且均基本不存在人工选择。因此, 由于人类趋于利用(即高产、优质和抗逆等用途)为目的进行的选择, 可能促进了水稻地方品种遗传多样性的减低。

针对人类宝贵的水稻地方品种, 通常采用低温种质库来进行迁地保护^[26-27], 即本研究中的过去的品种, 这种贮藏于种质库的品种处于冷冻“休眠”状态, 因而丧失了它们可能随环境的改变而产生的适应性进化和产生新遗传变异的机会^[28]。与之相对应的农家保护(就地保护), 即为本研究中的当前的品种, 则是在农业生态环境中通过农民的农事活动来进行, 一直处于农家持续种植和管理状态下, 它是一种动态的保护方法。在这种保存方式下, 农民的活动和决策决定着品种的遗传变异, 决定着“基因流失”的程度^[28]。Peng 等^[29]利用保存于种质库 30 年的 IR8 进行产量试验, 发现相比 20 世纪 60 年代该品种的产量, 由于不适应变化了的环境, 产量降低了 15%, 表明持续地进行品种选育的重要性。本研究发现, 6 个水稻地方品种共有 13 个 SSR 标记位点的 17 个等位基因存在差异。其中, 11 个 SSR 标记位点的 12 个等位基因只在过去的 6 个品种中检测到, 同样, 4 个 SSR 标记位点的 5 个等位基因只在当前的 4 个品种(即除“老粳糯”和“长毛香”外)中检测到,

也就是说, 供试的 6 个品种共减少了 7 个等位基因。另外, 不同品种存在变异的 SSR 标记位点不同, 少的如“长毛香”仅有 5 个标记位点的等位基因存在差异, 多的如“矮脚谷”则达 20 个标记位点的等位基因存在差异, 其相似性系数值仅为 0.677。存在较大的变异, 可能是过去的品种与当前的品种对应程度不高, 因其来源于同一田块几乎是不可能, 甚至可能是来自不同的村寨, 虽然表型性状基本一致, 被当地老百姓认为是同一品种, 分子水平上差异却较大。因此, 在水稻地方品种的调查收集过程中, 对不同村寨, 尤其是生态环境存在一定差异的同名品种也应分别进行收集保存。因为即使是同一村寨的相同水稻地方品种, 经过不同农户长期种植选择后, 由于不同农户的选择方向和标准各异, 以及当地哈尼族频繁的换种习俗^[21-30], 致使多年后位点等位基因大小存在较大的变异。总之, 因全球气候变暖等环境条件的改变可能导致品种为适应变化了的环境而做出自然选择, 导致品种遗传多样性改变, 以及等位基因的变异等。因此, 建议每隔 30 年, 应对水稻地方品种等地方农作物资源进行再收集。

参考文献(References):

- [1] Maclean JL, Dawe DC, Hardy B, Hettel GP. Rice Almanac. Philippines: International Rice Research Institute, 2002. DOI
- [2] 程式华, 胡培松. 中国水稻科技发展战略. 中国水稻科学, 2008, 22(3): 223-226. DOI
- [3] 朱德峰, 程式华, 张玉屏, 林贤青, 陈惠哲. 全球水稻生产现状与制约因素分析. 中国农业科学, 2010, 43(3): 474-479. DOI
- [4] Tilman D. The greening of the green revolution. *Nature*, 1998, 396(6708): 211-212. DOI
- [5] Zhao WG, Chung JW, Ma KH, Kin TS, Kim SM, Shin DH, Kim CH, Koo HM, Park YJ. Analysis of genetic diversity and population structure of rice cultivars from Korea, China and Japan using SSR markers. *Genes Genomics*, 2009, 31(4): 283-292. DOI
- [6] Londo JP, Chiang YC, Hung KH, Chiang TY, Schaal BA. Phylogeography of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, reveals multiple independent domestications of cultivated rice, *Oryza sativa*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(25): 9578-9583. DOI
- [7] Normile D. Variety spices up Chinese rice yields. *Science*, 2000, 289(5482): 1122-1123. DOI

- [8] Zhu YY, Chen HR, Fan JH, Wang YY, Li Y, Chen JB, Fan JX, Yang SS, Hu LP, Leung H, Mew TW, Teng PS, Wang ZH, Mundt CC. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, 2000, 406(6797): 718–722. [DOI](#)
- [9] 李海明. 中国水稻遗传构成与遗传多样性变化及其决定因素研究[学位论文]. 中国科学院研究生院, 2006: 3. [DOI](#)
- [10] 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. [DOI](#)
- [11] Edwards K, Johnstone C, Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Res*, 1991, 19(6): 1349. [DOI](#)
- [12] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70(12): 3321–3323. [DOI](#)
- [13] Nei M, Li WH. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76(10): 5269–5273. [DOI](#)
- [14] David T, Peter BR, Johannes MHK. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, 2006, 441(7093): 629–632. [DOI](#)
- [15] Zhao WG, Chung JW, Ma KH, Kin TS, Kim SM, Shin DH, Kim CH, Koo HM, Park YJ. Analysis of genetic diversity and population structure of rice cultivars from Korea, China and Japan using SSR markers. *Genes and Genomics*, 2009, 31(4): 283–292. [DOI](#)
- [16] 魏兴华, 汤圣祥, 江云珠, 余汉勇, 裘宗恩, 颜启传. 中国栽培稻选育品种等位酶多样性及其与形态学性状的相关分析. *中国农业科学*, 2003, 17(2): 123–128. [DOI](#)
- [17] 林世成, 闵绍楷. 中国水稻及其系谱. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 282–292. [DOI](#)
- [18] 庄杰云, 钱惠荣, 陆军, 林鸿宣, 郑康乐. 籼稻品种遗传变异性初探. *中国农业科学*, 1996, 29(2): 17–22. [DOI](#)
- [19] 齐永文, 张冬玲, 张洪亮, 王美兴, 孙俊立, 廖登群, 魏兴华, 裘宗恩, 汤圣祥, 曹永生, 王象坤, 李自超. 中国水稻选育品种遗传多样性及其近 50 年变化趋势. *科学通报*, 2006, 51(6): 693–699. [DOI](#)
- [20] 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. [DOI](#)
- [21] 徐福荣, 汤翠凤, 余腾琼, 戴陆园, 张红生. 中国云南元阳哈尼梯田种植的稻作品种多样性. *生态学报*, 2010, 30(12): 3346–3357. [DOI](#)
- [22] 徐福荣, 张恩来, 董超, 戴陆园, 张红生. 云南元阳哈尼梯田两个不同时期种植的水稻地方品种表型比较. *生物多样性*, 2010, 18(4): 365–372. [DOI](#)
- [23] 徐福荣, 董超, 杨文毅, 汤翠凤, 阿新祥, 张恩来, 杨雅云, 张斐斐, 戴陆园, 张红生. 利用微卫星标记比较云南元阳哈尼梯田两个不同时期种植的水稻地方品种的遗传多样性. *中国水稻科学*, 2011, 25(4): 381–386. [DOI](#)
- [24] 于萍, 李丽, 吕建珍, 袁筱萍, 徐群, 王一平, 余汉勇, 魏兴华. 太湖流域粳稻地方品种的微卫星分析. *中国水稻科学*, 2009, 23(2): 148–152. [DOI](#)
- [25] 李小明, 詹庆才, 魏兴华, 段永红, 陈祖武, 刘勇. 湖南江永普通野生稻原位和异位保存种质的SSR多样性差异. *中国水稻科学*, 2006, 20(4): 361–366. [DOI](#)
- [26] Hawkes JG. The Diversity of Crop Plants. Cambridge: Harvard University Press, 1983. [DOI](#)
- [27] Plucknett DL, Smith NJH, Williams JT, Anishetty NM. Gene Banks and the World's Food. Princeton: Princeton University Press, 1987. [DOI](#)
- [28] 卢宝荣, 朱有勇, 王云月. 农作物遗传多样性农家保护的现状及前景. *生物多样性*, 2002, 10(4): 409–414. [DOI](#)
- [29] Peng SB, Huang JL, Cassman KG, Laza RC, Visperas RM, Khush GS. The importance of maintenance breeding: A case study of the first miracle rice variety-IR8. *Field Crops Res*, 2010, 119(2–3): 342–347. [DOI](#)
- [30] 高东, 何霞红, 朱有勇. 元阳水稻地方品种多样性变化及换种规律研究. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(2): 311–313. [DOI](#)