植物遗传资源学报 2014,15(2):248-254
Journal of Plant Genetic Resources DOI:10.13430/j.cnki.jpgr.2014.02.004

湖南同名地方稻资源 SSR 标记及表现型的比较分析

李小湘[1],肖军治[2,3],段永红[1],刘文强[1],潘孝武[1],闵 军[1],陆婷婷[3],盛新年[1],黎用朝[1]

([1]湖南省水稻研究所,长沙 410125;[2]如皋市农业技术推广中心,江苏如皋 226500;[3]中南大学研究生院隆平分院,长沙 410125)

摘要:本研究以湖南种质库中保存的不同来源的同名湖南地方稻种质 11 组(同近名为 1 组)共 136 份为研究材料,进行 SSR 分子标记及农艺性状比较分析,目的是评价湖南同(近)名地方稻的遗传差异程度,为同(近)名地方稻种质资源的保存、供种以及重点利用种质遴选提供理论依据。研究结果表明,各组同名材料的表型遗传距离数值变化较大,各组最大遗传距离变幅 1.25(D6/D13)~1.51(G1/G5),最小遗传距离变幅 0.16(E7/E9)~0.81(B2/B11)。各组同名材料的 SSR 标记相似系数差异也大,最小相似系数变幅 0.38~0.71,最大相似系数变幅 0.86~1.00;同组内同(近)名材料交叉聚类。基于表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。C8/C11、D16/D18、G1/G2、M2/M3、M2/M6、M3/M6、N2/N4、N5/N6、F2/F25、P3/P4 的 SSR 标记相似系数达 0.95 以上,而其表现型却有 1~3 个性状存在有统计学意义的差异,说明供试同名材料有明显变异,即使同(近)名但也都值得保存。同时也证实了 24 对 SSR 标记分析同名地方稻遗传多样性的不足。

关键词:水稻;湖南同名地方稻;SSR 标记;表现型性状;遗传相似性

Genetic Similarity of Hunan Landraces Rice with the Same or Similar Name Based on SSR Markers and Phenotypic Traits

LI Xiao-xiang[1],XIAO Jun-zhi[2,3],DUAN Yong-hong[1],LIU Wen-qiang[1],PAN Xiao-wu[1],
MIN Jun[1],LU Ting-ting[3],SHENG Xin-nian[1],LI Yong-chao[1]

([1] *Hunan Rice Research Institute*,*Changsha 410125*;[2]*Rugao Agriculture Technology Popularizing Center*,*Rugao Jiangsu 226500*; [3] *Longping Branch*, *Graduate School of Central South University*,*Changsha 410125*)

Abstract:The present study was designed to evaluate the genetic relationships between landraces rice with the same or similar names by morphologic measurements and SSR assays. A total of one hundred thirty-six accessions of rice(*Oryza sativa* L.)landraces divided into 11 groups according to the similarity of local names were investigated. These materials were collected from different regions in Hunan province during 1951-1981 and then preserved in Hunan Rice Gene Bank. The results of genetic distance analyses based on morphologic measurements showed that there were marked variations within group,with the maximum range from 1.25(D6/D13)to 1.51(G1/G5)and minimum from 0.16(E7/E9)to 0.81(B2/B11). The analysis of SSR variations revealed that the maximum genetic similarity between accessions within group varied from 0.86 to 1.00 and the minimum from 0.38 to 0.71,and those same-named materials did not always form a cluster,indicating significant genetic dissimilarity between accessions having the same name. Although the morphologic and molecular measurements showed similar genetic relationships between accessions within group generally,somewhat differences between them were found:the genetic similarity

收稿回期:2013-05-09 **修回日期**:2013-12-26 **网络出版日期**:2014-01-24
URL:http://www.cnki.net/kcms/detail/10.13430/j.cnki.jpgr.2014.02.004.html
基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(nycytx-001);公益性行业(农业)科研专项经费项目(201003021)
第一作者研究方向为水稻种质资源评价,E-mail:xiaoxiang66196@126.com。肖军治为共同第一作者
通信作者:黎用朝,研究方向为水稻遗传育种,E-mail:yongchao_l@hotmail.com

value was over 0.95 for the same-named accession pairs of C8/C11, D16/D18, G1/G2, M2/M3, M2/M6, M3/M6, N2/N4, N5/N6, F2/F25, and P3/P4, while there were 1-3 morphological traits expressed statistical significant difference in these pairs, suggesting homonym and each accession was worth for conservation. In addition, this study also demonstrated the usefulness and limitations of SSRs as molecular markers in clarifying homonym and heteronym in rice landraces.

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

水稻最早起源于我国,大约 8200 年到 13500 年前在长江流域就出现了最早的栽培稻[1]。地处长江中游的湖南水稻栽培历史悠久,长期的自然演化和人工选择产生了丰富多样并具有独特优异性状的地方稻种资源。这些地方稻种在水稻育种和生产上发挥了极大的作用,如抗稻瘟病广谱持久的湘资 3150 是定位克隆抗稻瘟新基因的重点材料[2-3];红脚占、雷火占、六十早、红米冬占、白米冬占、老黄谷、矮脚番子、胜利籼等是湖南稻作实现单季改双季的首批主栽品种,以胜利籼作亲本在全国选育的品种达 65 个以上[4]。

湖南省曾在 1955 年、1981 年对本省地方稻资源进行了大规模普查、考察、收集。目前湖南种质库保存水稻种质 1.8 万余份,地方稻种约占 25%。保存的地方稻资源中有多份同名但编号不同的样本(简称同名异种),其中 735 个地方稻品种名称占有 2664 份不同编号。如三百粒 35 份、齐头黄 25 份、红脚早 24 份。保存的这些同名材料因来源地或收集时间不同,原始表现型数据有一定差异,但是由于同一名称各份种子材料的性状评价年份不同,年间播种时间、栽培条件不一,没有小区重复试验,导致不能进行性状差异显著性分析,同名异种之间真实的遗传差异没有确定,从而影响针对性供种和资源的有效利用,还可能导致相关的理论研究不能得以重复。

国内外已有一些同(近)名材料间遗传差异分析的报道。M. S. Ahmed 等[5]研究发现孟加拉水稻所种质库保存的名称为 Boro 的 36 份水稻资源表现型差异较大。M. J. Thomson 等[6]利用 SSR 标记分析从印度尼西亚 Borneo 岛收集的 31 个同名品种,发现 40% 的品种遗传差异大。S. C. Wong 等[7]研究发现从不同地方收集的 3 份名称都是 Bario Lowland 的种子并未聚类在一起,且品种 Bario Halus 与 Bario Lowland 的遗传相似系数高达 0.917。C. Brondani 等[8]、M. Y. Zhu 等[9]分别报道了巴西、我国云南同名不同来源地的水稻地方品种间遗传差异较大。于萍等[10]利用 45 对 SSR 引物分析了 4 组同名(或近似名)共 76 份太湖地区粳稻地方品种,发现其中有 8 对同名品种难以区别,但多数品种仍然存在一定的遗传变异,且个别品种差异较大。由此看来,同(近)名品种间遗传差异不一,有 3 种可能:同一个品种、近似品种、不同品种。湖南同(近)名地方稻间遗传差异程度如何,目前未见报道。此外,已报道的同(近)名材料间遗传差异分析大多采用 SSR 标记分析法,少数采用表现型与分子标记综合比较分析,但是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 标记有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的同名材料;而单一采用表现型分析则可能因环境与基因型互作,表现型不能完全代表基因型。

本研究以 11 组共 136 份湖南同(近)名地方稻为研究材料,通过对同名材料间的表现型差异显著性和 SSR 标记遗传相似性比较分析,鉴定不同编号不同来源同名材料间的遗传距离,旨在为湖南同名地方稻种质资源的有效保存、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

所用试验材料共 136 份,同(近)名的材料为 1 组(同组用同一英文字母代表),共 11 个组(表 1)。种子均取自湖南省水稻研究所种质资源库,收集时间为 1955-1981 年,来源地为湖南省内各县。

1.2　表型性状评价和数据统计

将 136 份材料于 4 月 28 日播种,5 月 18 日移栽至湖南省水稻研究所试验田。田间试验按随机区组设计,每份材料种植 5 行 ×6 株,3 次重复;株行距 20 cm ×20 cm。田间调查齐穗期、柱头色、叶鞘色、剑叶长、剑叶角度、株高、颖尖色。成熟时每小区取有代表性的 3 株,调查有效穗数、穗颈长、穗长、每穗

表 1 供试水稻材料名称和份数

Table 1 Name and number of rice accessions

组号 Group number	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N	P
材料名称 Name	万利籼	红米打粘、红米冬占	三寸糯、三颗寸、三粒寸	油糯、油粘、油占	麻粘、麻占	三百谷、三百粒、三百零	云南白	胜利籼	雷火粘	南特号	六十早
材料数 No.	8	5	13	14	11	27	6	6	14	10	22
编号 Code	A1 ~A7、A9	B1 ~B3、B10、B11	C1 ~C4、C6、C8 ~C15	D1、D3 ~ D9、D12 ~D14、D16 ~D18	E1 ~E11	F1 ~F25、F28、F29	G1 ~ G6	H1 ~ H6	M1 ~ M14	N1 ~ N10	P1 ~ P20、P22、P23

粒数、结实率、谷粒长、谷粒宽、种皮色。评价标准参照韩龙植等[11]编写的《水稻种质资源描述规范和数据标准》。光温性(早中晚)数据利用原始数据库。

16 个表型性状按所采用的评价标准进行规范化处理,采用 DPS 8.01 软件计算各性状变异系数,并进行聚类分析,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 引物参照庄杰云等[12]公布的 24 对引物,去掉 RM337 和 RM232 并新增 RM22 和 RM339。

1.3.2 试验方法 使用 SDS 方法[13]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 100 ng/μL 左右,-20 ℃保存备用。

PCR 体系为 20 μL,含模板 DNA 2 μL,10 × Buffer 2 μL,2 mmol/L dNTP 2 μL,5 μmol/L 正、反向引物各 2 μL,2.5 U/μL *Taq* 酶 0.4 μL,ddH_2O 9.6 μL。扩增程序为 94 ℃预变性 5 min;94 ℃变性 45 s,55 ℃退火 45 s,72 ℃延伸 45 s,31 个循环;最后 72 ℃延伸 8 min,4 ℃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[12],HP Scanjet G4050 扫描仪拍照记录。

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 NT-SYSpc 2.10e 软件。

2 结果与分析

2.1 基于表型性状的组内材料遗传相似性分析

遗传距离越小表示材料间的差异越小。16 个表型性状聚类分析表明,各组内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;各组同名材料的表型遗传距离数值变化较大,各组最大遗传距离变幅 1.25(D6/D13)~1.51(G1/G5),最小遗传距离变幅 0.16(E7/E9)~0.81(B2/B11);表型性状差异有统计学意义的 D6 与 D13 之间有叶鞘色、剑叶角度、柱头色、颖尖色、种皮色、剑叶长、有效穗数、穗颈长、穗长、谷粒长、谷粒宽;G1 与 G5 之间有叶鞘色、柱头色、颖尖色、株高、剑叶长、穗颈长、穗长、谷粒长、谷粒宽;E7 与 E9 之间有穗颈长、穗长、谷粒长,B2 与 B11 之间有光温性、齐穗期、剑叶长、谷粒长、谷粒宽;组内齐穗期相差 5d 以上的材料是 A2/A4、B2/B11、B2/B3、F2/F11、M1/M14、N4/N9、P8/P22,除了 B2/B11 为遗传距离最小的材料外,其余都是各组遗传材料最大的材料组合,其中齐穗期相差最大的为 A2 和 A4,多达 29d(表 2)。

2.2 基于 SSR 标记的组内材料遗传相似性分析

表 3 显示,24 对 SSR 引物在各组同名品种中检测到的等位基因数、平均每个位点等位变异数不同;不同位点的等位变异数有差异,等位变异数变幅 37(H 组)~72(C 组),平均每个位点等位变异数变幅 1.54(H 组)~3.00(C 组);各组等位变异数最多的引物有差异,RM209、RM219、RM224、RM258、RM297、RM336、RM339 在 2 ~4 组材料中等位变异数有 3 ~5 个。不同组材料等位变异数为 1 的位点数变幅 1(D 组)~14(H 组),说明本研究所用的 24 对 SSR 引物鉴别不同组同名材料时有等位变异的引物对数差别大,变幅是 23 对(D 组)~10 对(H 组),各组内材料间至少有 10 对引物表现多态性。供试的 11 组共 136 份材料中有 11 组 49 份材料有特异性位点 98 个,说明本研究所用的 24 对 SSR 引物可以从 136 份中鉴别出 49 份材料;在 F、M、N、P 组内共有 6 对材料在 24 个位点都没有等位变异,说

表 2　各组遗传距离最大材料间和最小材料间的表型差异

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

组号 Group number	材料 Material	最小遗传距离 Min. genetic distance	统计学意义差异性状 Traits with statistical significant difference	材料 Material	最大遗传距离 Max. genetic distance	统计学意义差异性状 Traits with statistical significant difference
A	A1/A5	0.41	剑叶角度、剑叶长、谷粒宽	A2/A4	1.36	光温性、齐穗期、株高、剑叶长、穗颈长、谷粒宽
B	B2/B11	0.81	光温性、齐穗期、剑叶长、谷粒长、谷粒宽	B2/B3	1.28	光温性、齐穗期、剑叶角度、株高、剑叶长、谷粒长
C	C4/C6	0.47	剑叶角度、剑叶长、谷粒长、谷粒宽	C3/C6	1.32	齐穗期、叶鞘色、剑叶角度、柱头色、颖尖色、种皮色、穗颈长、谷粒长
D	D16/D18	0.51	剑叶角度、谷粒长	D6/D13	1.25	叶鞘色、剑叶角度、柱头色、颖尖色、种皮色、剑叶长、有效穗数、穗颈长、穗长、谷粒长、谷粒宽
E	E7/E9	0.16	穗颈长、穗长、谷粒长	E6/E10	1.48	叶鞘色、剑叶角度、中皮色、剑叶长、谷粒长、谷粒宽
F	F2/F18	0.26	株高、谷粒长	F2/F11	1.43	光温性、齐穗期、叶鞘色、剑叶角度、柱头色、株高、剑叶长、有效穗数、穗颈长、穗长、谷粒长、谷粒宽
G	G1/G2	0.34	谷粒长	G1/G5	1.51	叶鞘色、柱头色、颖尖色、株高、剑叶长、穗颈长、穗长、谷粒长、谷粒宽
H	H1/H3	0.52	柱头色、剑叶长、穗颈长、谷粒长	H1/H5	1.46	叶鞘色、剑叶角度、柱头色、颖尖色、谷粒长、谷粒宽
M	M2/M9	0.21	株高、谷粒长	M1/M14	1.35	齐穗期、叶鞘色、柱头色、颖尖色、株高、剑叶长、谷粒长、谷粒宽
N	N1/N2	0.23	有效穗数	N4/N9	1.50	齐穗期、叶鞘色、剑叶角度、柱头色、颖尖色、株高、剑叶长、谷粒长、谷粒宽
P	P13/P18	0.27	剑叶角度、株高、谷粒长	P8/P22	1.38	光温性、齐穗期、叶鞘色、柱头色、颖尖色、株高、剑叶长、有效穗数、穗颈长、谷粒长、谷粒宽

表 3　SSR 标记分析的等位变异数差异

Table 3　The difference of alleles number based on SSR markers analysis

组号 Group number	总计等位变异数 Total alleles number	平均每个位点等位变异数 Average allele number per loci	等位变异数最多的引物 Primers with the greatest value of allele number: 位点名称 Names of SSR primers	等位变异数最多的引物 Primers with the greatest value of allele number: 等位变异数 No. of alleles	等位变异数为 1 的引物数量 No. of SSR primers with allele number of 1
A	43	1.79	RM297	4	10
B	53	2.21	RM253、RM258、RM224	4	5
C	72	3.00	RM190	5	2
D	63	2.63	RM336	5	1
E	48	2.00	RM219	4	6
F	55	2.29	RM297、RM336、RM339、RM219、RM258、RM209、RM224	3	2
G	41	1.71	RM336、RM258	3	11
H	37	1.54	RM219	3	14
M	43	1.79	RM71、RM339、RM258、RM209	3	11
N	40	1.67	RM339	3	11
P	52	2.17	RM339	4	5

明是组内遗传距离最近的材料,考虑到材料间可能存在单基因突变等因素影响,如果需要进一步确定是否真是同一品种还需增加 SSR 引物或结合表现型分析。

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,结果显示,各组同名材料的相似系数差异大,最小相似系数变幅 0.38 ~ 0.71,最大相似系数变幅 0.86 ~ 1.00;SSR 标记相似系数≥0.95,遗传关系紧密的有 C8 与 C11 相似系数 0.96,D16 与 D18 相似系数 0.97,G1 与 G2 相似系数 0.95,M2、M3 与 M6,N2 与 N4,N5 与

N6,F2 与 F25,P3 与 P4 相似系数 1.00;以上材料种子大多来自相同或相邻县,但 P3 和 P4 种子来源地分别是湘东望城县、湘北安乡县;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,例如名称是三百粒的 F6 与其他 22 份来源不同的三百粒、2 份名称是三百谷(F1、F2)、2 份名称是三百零(F28、F29)的 SSR 标记相似系数≤0.65,F6、F13、F28 与 F 组其他 24 份材料之间的 SSR 标记相似系数≤0.74,说明 F6、F13、F28 与其他 24 份同(近)材料遗传距离远;F2 名称是三百谷,与名称是三百粒的 F25 间 SSR 标记相似系数为 1(图 1),说明近名材料间有可能比同名材料间遗传距离近。因此,地方品种资源在交流过程中存在错误命名的现象。

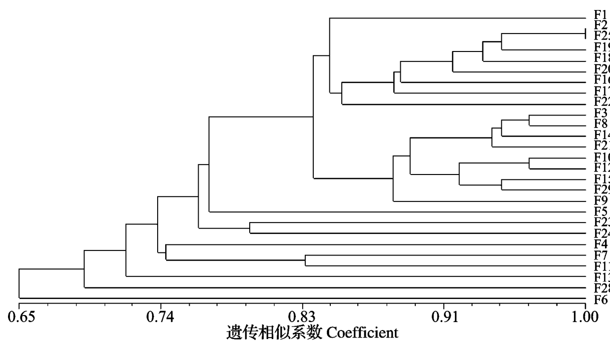

图 1 F 组 27 份材料 SSR 标记数据聚类图

Fig. 1 Dendrogram of F group accessions based on SSR markers

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)	组号 Group number	最小值(材料编号) Min. (Material code)	最大值(材料编号) Max. (Material code)
A	0.53(A7/A9)	0.86(A1/A5)	G	0.71(G5/G6)	0.95(G1/G2)
B	0.62(B2/B3)	0.92(B3/B10)	H	0.69(H1/H6)	0.91(H2/H5)
C	0.39(C3/C8)	0.96(C8/C11)	M	0.56(M8/M13)	1.00(M2/M3/M6)
D	0.67(D8/D13)	0.97(D16/D18)	N	0.54(N7/N10)	1.00(N2/N4,N5/N6)
E	0.60(E6/E8)	0.93(E7/E10)	P	0.38(P10/P14)	1.00(P3/P4)
F	0.48(F4/F6)	1.00(F2/F25)			

2.3 表现型与 SSR 标记分析数据的综合比较

综合比较基于 24 对 SSR 标记遗传相似性分析与基于 16 个性状差异显著性和遗传距离分析数据,结果表明:(1)本研究材料组内没有 SSR 标记分析相似系数为 1,且表现型遗传距离为 0 的同名材料;也没有 SSR 标记分析的相似系数 0.95 以上,且表现型性状差异不显著的同名材料,说明供试材料不存在遗传距离近达到同一品种的同名材料(表 2、表 4、表 5),即使同(近)名但都值得保存。(2)基于表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。A1 与 A5、D16 与 D18、G1 与 G2 是组内 SSR 相似系数最大,表现型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;B2 与 B3 是组内 SSR 相似系数最小,表现型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)。C1 和 C2 都称三寸糯,C3 名为三颗寸,但不论是基于表型性状遗传距离聚类还是基于 SSR 标记遗传相似系数聚类都是 C1 与 C3 先聚在一起(图 2),近名材料 C1 与 C3 间遗传距离比同名材料 C1 与 C2 间遗传距离小;与 C 组其他材料比较表现型,C1、C3 的稃毛多而长、粒型椭圆。比较其他组材料的聚类图,基于表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,M2/M3、M2/M6、M3/M6、N2/N4、N5/N6、F2/F25、P3/P4 的 SSR 标记相似系数为 1,而其表现型却至少存在 1~3 个性状差异有统计学意义(表 5);根据 16 个性状的表现型分析,A2/A4、C3/C6、D6/D13、E6/E10、F2/F11、G1/G5、H1/H5、M1/M14、N4/N9、P8/P22 是组内遗传距离最大,而以上材料并不是同组内 SSR 标记相似系数最小的。这说明分析材料间相似性或鉴别同名材料是否是同一品种时 24 对 SSR 标记分析不能完全取代表现型分析。

3 讨论

3.1 判断同名水稻材料遗传距离方法

作物遗传相似性分析常利用表型性状和 SSR 标记方法。一般认为利用 SSR 标记的鉴定结果较表型性状更为可靠,因为 SSR 标记体现的是 DNA

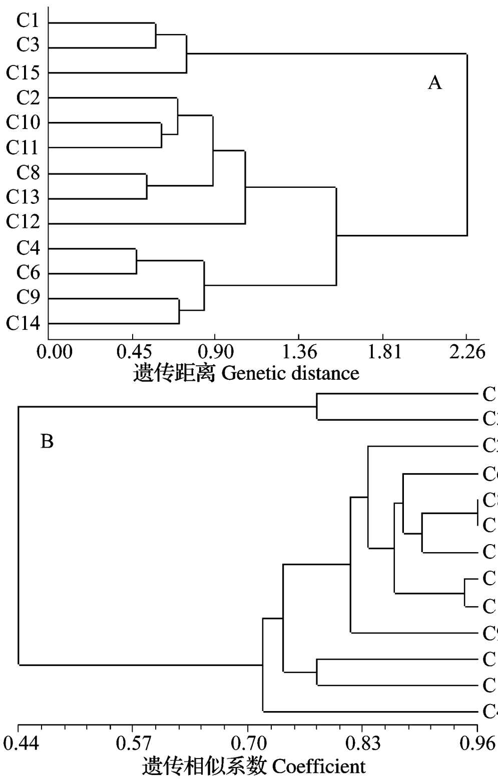

图 2　C 组 13 份材料表现型数据聚类图(A)和 SSR 标记数据聚类图(B)

Fig. 2　Dendrogram of C group accessions based on phenotypic traits and SSR markers

表 5　SSR 标记分析遗传相似系数大于 0.95 的材料表现型比较

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

材料 Material	SSR 标记相似系数 Genetic similarity coefficient based on SSR markers	表现型距离 Genetic distance based on phenotypic traits	统计学意义差异性状 Traits with statistical significant difference
C8/C11	0.96	0.66	叶鞘色、剑叶角度、穗长
D16/D18	0.97	0.46	谷粒长
G1/G2	0.95	0.34	谷粒长
M2/M3	1	1.33	剑叶长
M2/M6	1	0.71	剑叶长
M3/M6	1	1.33	穗颈长、穗长
N2/N4	1	0.36	有效穗数
N5/N6	1	0.33	穗颈长
F2/F25	1	0.63	始穗期、穗颈长、穗长
P3/P4	1	0.54	穗长、谷粒长、谷粒宽

水平上的差异,不受环境的影响。本研究组内材料间,基于表型性状遗传距离与基于 SSR 标记遗传相似系数存在一定差异。M2/M3/M6、N2/N4、N5/N6、F2/F25、P3/P4 的 SSR 标记相似系数为 1,其表型遗传距离并非为 0,至少有 1 个表型性状差异有统计学意义; B2/B11、C4/C6、E7/E9、F2/F18、H1/H3、M2/M9、N1/N2、P13/P18 是同组内表型遗传距离最小的但并不是 SSR 标记相似系数最大的;A2/A4、C3/C6、D6/D13、E6/E10、F2/F11、G1/G5、H1/H5、M1/M14、N4/N9、P8/P22 是组内遗传距离最大但并不是同组内 SSR 标记相似系数最小的。可能原因:一是本研究只用 24 对 SSR 标记,对于等位变异位点数较高的材料,如 M、N 组材料等位变异数为 1 的位点数量均多达 11 个,不能完全反映 DNA 水平遗传差异;二是本研究只分析了 16 个表现型性状,不能完全反映表现型水平;三是数量性状等表现易受环境影响,不同生态环境可引起基因突变,经不同人用不同标准选择可产生类似于近等基因系材料,其 SSR 标记相似系数大于 0.95 但各有特异性状。齐永文等[15]、徐福荣等[16]、张冬玲等[17]、李红宇等[18]认为,当研究材料原长期生长的生态环境复杂多样时,在同一试验地点种植,表型性状的遗传相似性不能真实地反映 DNA 水平的遗传相似性。本研究的供试材料原产地生境有湖区、丘陵区、山区,所适应的生态环境多样,而本研究在同一试验地点长沙市种植,导致生育期等表型性状不能真实地反映 DNA 水平。因此,判断同名水稻材料遗传距离时不宜单一采用 SSR 标记或表现型分析。

现代水稻改良品种内 SSR 标记变异性一般较低,L. Tommasini 等[19]、庄杰云等[20]报道的均低于 1%。水稻地方品种不像现代改良品种经严格的选育过程和区试试验,本身可能存在较大变异,所以本研究建议判断同名地方稻材料遗传距离时先用同样的 24 对 SSR 引物鉴别不同组材料,再对 SSR 标记相似系数≥0.95 的材料进行表现型遗传距离分析,确定产量、品质、主要抗逆性等主要性状差异显著水平。

3.2　同名材料间的遗传关系及产生原因

已有报道认为目前保存的同名异种资源间遗传关系有 3 种可能:同一品种、近似品种、不同品种[5-10],但目前综合 SSR 标记和表现型分析判别同名地方稻材料是否是同一个品种还没有统一标准。根据已有报道和本研究结果,建议划分依据如下:(1)同一品种。SSR 标记相似系数 0.95 以上,表现

型无统计学意义差异。DNA 差异是由于品种剩余遗传效应,即一个纯系品种资源或亲本材料在少数基因组区间呈杂合型状态,在后续年复一年的种植过程中形成若干不同的纯合基因型;原始记载数据差异是由于评价同一名称的各份种子材料时气候和栽培条件不同造成株高、生育期、结实率、外观和加工品质等表现型差异。(2)近似品种。SSR 标记相似系数 0.95 以上,主要外观形态特征表现接近,仅 1~3 个性状差异有统计学意义。同名或近名品种间的差异可能是由于农民将某品种种植于生态环境差异明显的不同生态区域,经长期自然选择产生了适应性变异品种(基因突变),以及不同农民留种时人工选择标准不同而导致的,特别是原始材料本身存在较大变异时,引种交流频繁可能导致更多、更大差别。(3)不同品种。SSR 标记相似系数 0.95 以下,亲缘关系远;株型、产量、品质、抗性、生育期等主要性状差异有统计学意义。可能是从天然异交株后代中选育而成,也可能是由于农民在频繁引种交流时语言差别导致,不能排除个别种质是由于收集和多次繁殖过程中错乱造成的。依据以上判别本研究的 136 份材料中没有同一品种;C8 和 C11、G1 和 G2、D16 和 D18、M2 与 M3 和 M6、N2 和 N4、N5 和 N6、F2 和 F25、P3 和 P4 是近似品种;A9、B2、C1 和 C3、D2、E6、F6、G6、H6、M13 和 M12、N9 和 N10、P9 和 P10 是遗传距离远离组内其他材料的不同品种。

3.3 重点利用同名材料遴选标准

分析同(近)名资源遗传距离的目的是为遴选同名资源中重点保存利用的核心种质提供依据。一般要求核心种质代表原种质 70%~80% 以上的遗传多样性,含有主要生态变异类型、目前急需和广泛利用的优异、特殊、极端性状材料,较易改良利用[21]。笔者提议遴选同名重点保存利用核心材料时以 SSR 标记相似系数 0.75 划分亚群,同亚群选择含育种目标优异性状或极端性状材料,属同一个品种的任择其一;供种时利用者只提出品种名称的,以遗传相似系数 0.75 划分亚群,从所含份数最多亚群中选择 1 份含优异性状多的代表材料。

参考文献

[1] Molina J, Sikora M, Garud N, et al. Molecular evidence for a single evolutionary origin of domesticated rice[J]. PNAS, 2011, 108(20): 8351-8356

[2] 黄红梅, 肖应辉, 黄玲, 等. 湘资 3150 微效抗瘟性基因鉴定[J]. 植物病理学报, 2011, 41(5): 509-515

[3] 罗利民, 彭绍裘. 稻种资源对稻瘟病的抗谱测定[J]. 作物品种资源, 1996(1): 11-13

[4] 林世成, 闵绍楷. 中国水稻品种及其系谱[M]. 上海: 上海科技出版社, 1991: 57

[5] 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

[6] Thomson M J, Polato N R, Prasetiyono 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: 80-92

[7] 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

[8] 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

[9] 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

[10] 于萍, 李丽, 侯丽媛, 等. 太湖粳稻同名地方品种的遗传差异[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(5): 535-539

[11] 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

[12] 庄杰云, 施勇烽, 应杰政, 等. 应用微卫星标记评估我国水稻主栽品种的一致性[J]. 中国水稻科学, 2006, 20(4): 367-371

[13] 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

[14] 李小湘, 王淑红, 段永红, 等. 普通野生稻保护和未保护居群遗传多样性的比较[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(4): 379-386

[15] 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

[16] 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

[17] 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

[18] 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析[J]. 中国水稻科学, 2009, 23(4): 383-390

[19] Tommasini L, Batley J, Arnold G M, et a1. The development of multiplex simple sequence repeat (SSR) markers to complement distinctness, uniformity and stability testing of rape (*Brassica napus* L.) varieties[J]. Theor Appl Genet, 2003, 106: 1091-1101

[20] 庄杰云, 施勇烽, 应杰政, 等. 中国主栽水稻品种微卫星标记数据库的初步构建[J]. 中国水稻科学, 2006, 20(5): 460-468

[21] 李自超, 张洪亮, 曹永生, 等. 中国地方稻种资源初级核心种质取样策略研究[J]. 作物学报, 2003, 29(1): 20-24