

宁夏不同年代水稻品种的遗传多样性比较

杨玉蓉^{1,2}, 孙建昌³, 王兴盛^{1,3}, 韩龙植²

(¹宁夏大学农学院, 银川 750021; ²中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; ³宁夏农林科学院农作物研究所, 永宁 750105)

摘要:对宁夏不同阶段主栽水稻品种(系)的主要农艺性状比较表明,第1阶段(1950-1962年)宁夏地方品种与第2阶段(1978-1989年)、第3阶段(1990-1999年)、第4阶段(2000-2005年)、第5阶段(2006-2012年)、第6阶段(2010-2013年)育成品种(系)的农艺性状差异显著,说明通过育种手段宁夏水稻品种的主要农艺性状得到了改良;从第2阶段到第6阶段的变化趋势为生育天数变长,有效穗数减少,穗长、穗粒数、单株粒重、单穗粒重、产量等增加,说明产量性状的育种改良从穗数型向穗粒兼顾型或穗重型发展。利用48对SSR引物对76份宁夏不同年代水稻品种(系)进行遗传多样性分析表明,共检测出290个等位基因,每个位点等位基因变幅为3~15个,平均6.04个;稀有等位基因有109个,占等位基因总数的37.59%;多态信息含量(PIC)变异范围为0.1423~0.8783,平均为0.5512;Nei's基因多样性指数(H_e)的变幅为0.1492~0.8945,平均为0.6032。RM333、RM297、RM249、RM501和RM206引物表现为较高的等位基因数和稀有等位基因数,认为较适合应用于宁夏水稻品种的遗传多样性检测。分子方差分析(AMOVA)结果表明,6个不同阶段间遗传变异占总体变异的19.27%,各阶段内品种间的遗传变异占总体变异的80.73%。参试水稻UPGMA聚类分析表明,在遗传相似系数(GS)为0.805处可将其划分为5大类群,12个地方品种都被聚为第I类群,具有外来引进血缘的8个常规粳稻品种被聚为第II类群,5个优质常规粳稻被聚为第III类群,第V类群包括2个大穗高产品种,49个宁夏常规粳稻选育品种被聚为第IV类,说明大多数宁夏水稻品种的亲缘关系较近。6个不同阶段品种聚类分析,第1阶段(地方品种)独聚一类,第2、第3、第4阶段与第5、第6阶段育成品种亲缘关系相对较远;表明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。宁夏水稻育种中应加强国内外种质资源的引进和利用,深入挖掘宁夏稻区地方品种和杂草稻资源的有利基因,拓宽宁夏水稻品种的遗传基础,以促进宁夏水稻育种的快速发展。

关键词:宁夏;水稻品种;不同年代;SSR标记;遗传多样性

Comparative Analysis of Genetic Diversity for Different Period Rice Varieties in Ningxia

YANG Yu-rong^{1,2}, SUN Jian-chang³, WANG Xing-sheng^{1,3}, HAN Long-zhi²

(¹College of Agronomy, Ningxia University, Yinchuan 750021;

²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;

³Institute of Crop Sciences, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yongning 750105)

Abstract: The comparison of main agronomic traits of different stage rice varieties (strains) commercially grown in Ningxia showed the significant difference of agronomic characters between the first stage (1950-1962) and the second (1978-1989), the third (1990-1999), the fourth (2000-2005), the fifth (2006-2012), the six (2010-2013) stage. This meant that the agronomic traits of rice varieties in Ningxia was improved by breeding techniques. There was a decreasing trend of effective panicle and an increasing trend of days of growth period, pani-

收稿日期:2013-12-10 修回日期:2014-01-15 网络出版日期:2014-04-08

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20140408.0846.014.html>

基金项目:宁夏育种专项水稻新品种选育-分子育种技术的应用研究;国家科技支撑项目(2013BAD01B0101-02, 2013BAD01B02-2);作物种质资源保护项目[NB2013-2130135-25-01];国家农作物种质资源平台项目(2012-001)

第一作者主要从事水稻优异种质资源基因型分析。E-mail:1820194042@qq.com

通信作者:王兴盛,主要从事水稻遗传育种。E-mail:wxs1954@163.com

韩龙植,主要从事水稻种质资源研究。E-mail:hanlongzhi@caas.cn

cle length, spikelets per panicle, weight per panicle, weight per plant, and grain yield from the second stage to the sixth stage were found. The pattern of breeding of grain yield traits became to panicle weight type or both of panicle and spikelet type from panicle number type. The analysis of the genetic diversity of 76 rice varieties bred in different period of Ningxia by using 48 polymorphic simple sequence repeats (SSR) markers showed that there was 290 alleles were detected, and the number of alleles per pair of primers ranged from 3 to 15 with a mean value of 6.04. Among which, 109 alleles (37.59%) were minor alleles. RM333, RM297, RM249, RM501, and RM206 showed higher score of alleles and minor alleles, which were suitable to assess the genetic diversity of rice varieties from Ningxia. Polymorphic information content (PIC) ranged from 0.1423 to 0.8783 with a mean value of 0.5512. The Nei's genetic diversity index (H_e) ranged from 0.1492 to 0.8945 with a mean value of 0.6032.

The cluster analysis of six stages of rice results of analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the genetic variation among the six stages was accounted for 19.27% of the total genetic variation, which the genetic variation among the varieties during every stage was accounted for 80.73%. The UPGMA cluster analysis of 76 rice varieties in Ningxia showed that there were five categories clustered in the 0.805 level of genetic similarity coefficient. Twelve rice landraces were clustered into group I. Group II included eight conventional *japonica* rice varieties, which had blood relationship with foreign varieties. Group III included five high quality rice improved varieties. Group V included two large-panicle and high-grain yielding improved cultivars. 49 conventional *japonica* rice varieties were clustered in group IV, it showed that majority rice varieties in Ningxia had a closer genetic relationship. Group varieties in Ningxia showed that the first stage (Landrace) was clustered into a separate category. The relationship was relatively distant between the second, the third, the fourth stage and the fifth, the sixth stage. The results showed that there was greater differences of genetic diversity among the six different periods, and the genetic diversity decreased after 2005. In order to accelerate the rice breeding process in Ningxia, we should strengthen the introduction and use of rice germplasm resources from other provinces and abroad, explored the favorable genes from rice landrace and weedy rice in Ningxia, and broaden the genetic basis in order to improve the rapid development of rice breeding in Ningxia.

Key words: Ningxia; rice varieties; different period; SSR makers; genetic diversity

水稻是宁夏具有特色的区域性优势作物^[1]。宁夏引黄灌区的自然条件优越,水稻种植历史悠久,是全国优质粳稻最佳生态区之一^[2]。目前宁夏引黄灌区水稻种植面积在 8 万 hm^2 左右,总产达到 65 万 t 左右,平均单产约 8250 kg/hm^2 。宁夏水稻的产量水平、品质及品种在西北地区粮食生产中具有举足轻重的地位和作用^[3]。然而,随着一些优良品种被大面积推广,出现严重的品种单一化趋势,由此造成大量基因的丢失和遗传多样性的降低^[4]。而且宁夏水稻育种的亲本材料类型单一,遗传基础狭窄,选育的新品种在产量水平上很难取得突破性进展。若要拓宽水稻育种材料的遗传背景,一方面要通过表型鉴定不断挖掘丰富的优异种质,另一方面要利用分子标记技术,阐明水稻种质间的遗传相似性和亲缘关系,为水稻育种选配亲本提供可靠的科学依据。

SSR (simple sequence repeat) 标记又称微卫星 DNA (micro-satellite DNA), 由于其具有共显性、多态

性高、简便快速、稳定性好等优点^[5-7], 已成为目前在水稻种质资源遗传多样性研究中应用最为广泛的分子标记。魏兴华等^[8]利用 40 个 SSR 标记, 分析了 329 份我国近 50 年来常规稻主栽品种的遗传变异表明, 籼粳亚种内的遗传一致性较高, 建议拓宽选育品种的遗传基础。徐大勇等^[9]利用 33 个 SSR 标记对 137 份品种进行遗传多样性分析表明, 我国中粳水稻稻区不同时期育成的品种遗传多样性呈下降趋势。甘晓燕等^[10]对近几年宁夏水稻选育品种进行了遗传多样性的分析, 但到目前为止尚未对宁夏不同年代水稻品种遗传多样性进行全面的比较分析。本研究以 12 份宁夏地方稻种和 64 份近几十年选育并在生产上推广种植的主栽水稻品种(系)为研究对象, 比较不同年代品种间的主要农艺性状, 并利用 48 对 SSR 引物分析不同年代品种间遗传多样性的变化, 旨在为宁夏水稻育种亲本的选择及品种的鉴定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 1950 年以来在生产上推广种植的主栽水稻品种(系),共 76 份,其中宁夏地方稻种 12 份(由国家水稻种质资源中期库提供),常规粳稻选育品种(系)63 份、杂交粳稻 1 份(由宁夏农林科学

院农作物研究所提供)。根据水稻审定(引进)或育成时间,将其分成 1950 - 1962 年宁夏地方稻种(12 份)、1978 - 1989 年育成品种(8 份)、1990 - 1999 年(9 份)、2000 - 2005 年(17 份)、2006 - 2012 年(13 份)和 2010 - 2013 年育成未经审定的新品系(17 份)6 个阶段(表 1)。

表 1 供试的各个阶段水稻品种名称

Table 1 The name of different stages of rice variety used in this study

阶段 Stage	品种类型及育成年代 Type of variety and bred year	品种名称及编号 Variety name and code
第 1 阶段	宁夏地方稻种,1950 - 1962 年	1:小红板稻,2:小珑板稻,3:黑芒稻,4:有芒小珑板稻,5:小白板稻,6:有芒大珑板稻,7:大珑板稻,8:白皮小稻,9:叶盛白皮大稻,10:大白芒稻,11:养和白皮大稻,12:小糯稻
第 2 阶段	育成品种,1978 - 1989 年	13:宁粳 3 号,14:京引 39,15:秋光,16:宁粳 7 号,17:宁粳 9 号,18:宁粳 12,19:宁粳 14,20:78 - 1190
第 3 阶段	育成品种,1990 - 1999 年	21:宁香稻 1 号,22:宁粳 15,23:宁粳 16,24:宁粳 18,25:宁粳 19,26:宁稻 216,27:毛毛糯,28:农科 843,29:98XW-258
第 4 阶段	育成品种,2000 - 2005 年	30:宁粳 23,31:宁粳 24,32:宁粳 25,33:宁粳 26,34:宁粳 27,35:宁糯 5 号,36:宁糯 6 号,37:富源 4 号,38:超优 1 号,39:宁香稻 2 号,40:宁粳 28,41:宁粳 29,42:宁粳 31,43:宁香稻 3 号,44:宁粳 32,45:宁粳 33,46:宁粳 34
第 5 阶段	育成品种,2006 - 2012 年	47:宁粳 35,48:宁粳 36,49:宁粳 37,50:宁粳 38,51:宁粳 39,52:宁粳 40,53:宁粳 41,54:吉粳 105,55:宁粳 42,56:宁粳 43,57:宁粳 44,58:宁粳 45,59:宁粳 46
第 6 阶段	未经审定的新品系, 2010 - 2013 年	60:节 7,61:节 9,62:节 11,63:花 114,64:花 117,65:花 118,66:花 119,67:京稻 29,68:京 784,69:优育 41,70:京宁 58,71:京宁 30,72:2004-460,73:2007-218,74:2007G318,75:2007XZ-181,76:11NX-2417

1.2 田间种植及性状调查

供试材料于 2012 年、2013 年在宁夏农林科学院农作物研究所试验田种植。田间种植采取顺序排列,设 3 次重复。采取塑料大棚盘育苗,单本插秧,行、株距分别为 30 cm 和 15 cm。施肥水平(纯 N 238 kg/hm²、P₂O₅ 105 kg/hm²)、灌水、除草等管理与当地大田一致。田间调查生育天数、株高和穗数,成熟期每份材料每个重复取 10 株进行室内考种,调查穗长、穗粒数、结实率、千粒重、单穗粒重、单株生物学产量等性状。

1.3 DNA 提取及 PCR 扩增方法

在 2012 年水稻分蘖期取叶片用来提取 DNA。DNA 按 K. Edwards 等^[11]且稍有改进的 CTAB 法提取,并进行 DNA 的纯化。选取均匀分布于水稻 12 条染色体上且具有多态的 48 对 SSR 引物。PCR 反应体系为 15 μL,含 10 × buffer 1.5 μL(含 Mg²⁺),10 mmol/L dNTPs 0.2 μL,10 μmol/L 正、反向 SSR 引物混合液 0.3 μL,Taq 聚合酶(5 U/μL)0.3 μL,20 ng/μL 模板 DNA 1.5 μL,ddH₂O 11.2 μL。反应

程序为:94 °C 预变性 5 min 后,94 °C DNA 变性 30 s,55 °C 退火 30 s(不同引物退火温度不同),72 °C 延伸 30 s,35 个循环,72 °C 终延伸 10 min。采用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染法检测。

1.4 数据分析

农艺性状调查数据采用 SAS 软件统计分析,方差分析采用 Duncan 新复极差法。SSR 扩增带形在相同迁移率的位置上,有带记为“1”,无带记为“0”,对部分标记在个别品种中是杂合态的情况,则将相应标记在 2 个有带的位置都记为“1”并全部参加数据分析。SSR 数据应用 POPGENE 32 统计软件^[12]计算等位基因数(*Na*)、Nei's 基因多样性指数(*He*)和品种间遗传距离值。计算每个 SSR 位点的多态性信息量(*PIC*, polymorphism information content),按 D. R. Botstein 等^[13]的公式: $PIC = 1 - \sum f_i^2$,其中 f_i 为 *i* 位点的基因频率。用 NTSYSpc 2.1^[14]计算品种的 Jaccard 遗传相似系数矩阵,用非加权配对算数平均法(UPGMA, unweighted pair group method with arithmetic mean)构建亲缘关系树状图。运用 Arle-

quin 3.11 软件进行分子方差分析 (AMOVA, analysis of molecular variance)。

2 结果与分析

2.1 不同阶段宁夏水稻品种的农艺性状比较

对6个阶段宁夏水稻品种的主要农艺性状进行了比较(表2),结果表明,第2~6阶段的选育品种与第1阶段的地方稻种相比,生育天数、粒长宽比、结实率、单株粒重、生物学产量、经济系数、产量均显著增加,说明宁夏水稻品种的主要农艺性状通过育种

手段得到了改良。第2~6阶段的总体趋势是:有效穗数减少,株高、穗长、穗粒数、单穗粒重、单株粒重和产量增加,说明水稻育种的改良方向是从穗数型向穗粒兼顾型或穗重型发展。第2阶段的株高与第1阶段株高相比显著降低,但第2~6阶段株高呈增高趋势。第3阶段产量与第2阶段、第4阶段的产量差异不显著,其他阶段间产量差异呈显著性。第2~6阶段的穗长、结实率、单株粒重、生物学产量、经济系数、粒长宽比总体呈增加趋势,但均无显著性差异。第2~6阶段的千粒重与粒长无明显变化趋势。

表2 不同阶段水稻品种的主要农艺性状比较

Table 2 Comparison of some agronomic traits among cultivars released in different stages

阶段 Stage	生育天 数(d) DTM	株高 (cm) PH	穗长 (cm) PL	有效 穗数 EP	穗粒数 SPP	结实率 (%) SR	千粒重 (g) TKW	单穗粒 重(g) WPP ₁	单株粒 重(g) WPP ₂	粒长 (mm) GL	长宽比 LWR	产量 (kg/hm ²) Yield	生物学 产量(g/株) BY	经济 系数 EC
1	109.25b ±3.52	110.77a ±10.98	17.95bc ±0.81	13.83b ±2.50	77.20c ±19.06	87.82b ±7.81	28.08a ±2.03	1.92c ±0.53	26.03b ±7.55	6.10a ±0.20	2.21a ±0.11	5784.07e ±1673.43	676.00b ±190.25	0.48b ±0.01
2	146.87a ±5.57	94.70c ±6.67	16.68c ±0.67	19.13a ±3.74	102.75bc ±28.45	93.99a ±1.65	27.35ab ±1.26	2.80bc ±0.82	50.69a ±5.10	5.38bc ±0.24	1.71b ±0.06	9489.03d ±1213.50	895.93a ±87.56	0.55a ±0.03
3	149.33a ±2.18	101.39bc ±8.58	17.76bc ±1.22	15.51b ±3.39	126.91abc ±25.73	92.96a ±2.42	28.26a ±2.19	3.48ab ±0.26	52.07a ±4.41	5.74ab ±0.71	1.86b ±0.30	9732.05cd ±900.53	943.72a ±65.13	0.53a ±0.04
4	147.71a ±3.55	102.74b ±6.00	19.15ab ±1.39	15.58b ±3.08	130.68abc ±31.69	94.33a ±2.41	27.45ab ±2.31	3.41ab ±0.78	51.96a ±6.35	5.06c ±0.42	1.74b ±0.17	9792.54c ±994.66	920.75a ±95.23	0.54a ±0.03
5	147.77a ±2.68	103.36ab ±6.32	18.55ab ±1.63	14.68b ±3.08	148.92ab ±30.46	94.39a ±1.50	26.35b ±1.77	3.79ab ±0.84	53.82a ±6.32	5.20bc ±0.22	1.78b ±0.14	10069.08b ±953.92	961.99a ±102.08	0.55a ±0.03
6	152.81a ±2.93	103.49ab ±6.97	19.61a ±2.00	12.29b ±2.20	179.40a ±20.05	93.11a ±1.83	26.37b ±2.28	4.62a ±0.70	56.01a ±7.27	5.37bc ±0.29	1.89b ±0.16	10799.79 ±856.60	961.99a ±102.08	0.56a ±0.03

采用 Duncan 新复极差法,同一性状平均值后的不同字母,代表差异达到5%显著水平。数据为平均值±标准差

Using Duncan's new complex process, the same traits different letter after the average, represent the difference at the 5% significant level. The data is average ± Sample Standard Deviation. DTM: Days to maturing; PH: Plant height; PL: Panicle length; EP: Effective panicle; GPS: Grain per spike; SSR: Seed setting rate; TKW: Thousand kernel weight; WPP₁: Weight per panicle; WPP₂: Weights per plant; GL: Grain length; GW: Grain width; LWR: Length-width ratio; PUY: Per mu yield; BY: Biological yield; EC: Economic coefficient

2.2 宁夏水稻品种 SSR 标记多态性分析

利用48对SSR引物对76份供试材料进行遗传多样性参数分析结果示于表3。在48个位点上共检测到290个等位变异,每对引物等位基因变幅为3~15个,平均6.04个。其中, RM333的等位变异最多,为15个,其次为RM297、RM249、RM501和RM206,等位变异数均为13个,说明这些标记较适合于宁夏水稻品种的遗传多样性检测。对稀有等位基因(出现的频率<0.05)分析结果,290个等位基因中稀有等位基因有109个,占等位基因总数的37.59%,其中引物RM333的稀有等位基因有12个,说明RM333对宁夏水稻品种的辨识度很高。多态性信息量(PIC)的变化范围为0.1423~0.8783,平均为0.5512,其中RM206的

PIC最高(0.8783),其次为RM297(0.8568)和RM219(0.8136)。Nei's基因多样性指数的变幅为0.1492~0.8945,平均为0.6032,其中RM206(0.8945)的遗传多样性指数最高, RM297(0.8791)和RM219(0.8455)次之。结果表明这3对引物有较高的检测效率。

2.3 不同阶段宁夏水稻品种的遗传多样性分析

2.3.1 不同阶段宁夏水稻品种的SSR标记分子方差分析(AMOVA)

对6个阶段宁夏水稻品种的SSR标记进行方差分析结果表明(表4),SSR标记位点的变异绝大多数来源于阶段内个体品种间,占总变异的80.73%,阶段间变异仅占总变异的19.27%。说明不同阶段宁夏水稻育种的遗传改良效果不是十分显著,但有一定程度的效果。

表 3 宁夏水稻品种的 SSR 标记遗传多样性参数

Table 3 The genetic diversity parameter values of SSR loci in rice varieties of Ningxia

位点 Locus	染色 体 Chr.	等位基 因数 N_a	稀有等位 基因数 NRA	Nei's 遗传多 样性指数 H_e	多态信 息含量 PIC	位点 Locus	染色 体 Chr.	等位基 因数 N_a	稀有等位 基因数 NRA	Nei's 遗传多 样性指数 H_e	多态信 息含量 PIC
RM1	1	8	4	0.5166	0.4954	RM336	7	7	1	0.7696	0.7443
RM297	1	13	4	0.8791	0.8568	RM418	7	7	2	0.7874	0.7502
RM488	1	5	1	0.6142	0.5355	RM501	7	13	9	0.7955	0.7554
RM583	1	6	3	0.5037	0.4704	RM210	8	10	2	0.8341	0.8095
RM208	2	3	0	0.618	0.5427	RM223	8	8	5	0.6166	0.5681
RM213	2	5	0	0.6745	0.6319	RM284	8	4	2	0.4465	0.3752
RM406	2	4	1	0.5824	0.5265	RM531	8	9	5	0.7316	0.6896
RM48	2	7	4	0.52	0.4862	RM160	9	6	3	0.5783	0.5211
RM231	3	3	0	0.5702	0.489	RM215	9	7	3	0.7124	0.6702
RM232	3	3	0	0.5769	0.5079	RM219	9	9	2	0.8455	0.8136
RM517	3	6	3	0.5092	0.466	RM285	9	7	4	0.6361	0.5653
RM7	3	4	1	0.6535	0.5942	RM228	10	4	1	0.3405	0.3156
RM273	4	3	1	0.5016	0.3866	RM239	10	3	1	0.3238	0.2777
RM335	4	5	2	0.6386	0.5609	RM333	10	15	12	0.7954	0.7639
RM349	4	3	0	0.5476	0.4744	RM496	10	4	1	0.6138	0.5421
RM518	4	4	2	0.5218	0.4188	RM206	11	13	4	0.8945	0.8783
RM161	5	6	2	0.6602	0.601	RM20B	11	3	0	0.4431	0.3795
RM249	5	13	9	0.7832	0.7507	RM21	11	5	2	0.5605	0.4904
RM267	5	3	1	0.1492	0.1423	RM332	11	3	0	0.5873	0.5175
RM413	5	4	1	0.3405	0.3156	RM17	12	3	0	0.3538	0.3198
RM162	6	5	1	0.7079	0.6452	RM235	12	3	0	0.5225	0.4629
RM190	6	3	1	0.4618	0.3649	RM247	12	10	6	0.7048	0.6748
RM253	6	4	0	0.6772	0.6249	RM309	12	4	1	0.3991	0.3716
RM589	6	6	2	0.6469	0.5829	平均 Mean		6.04	2.27	0.6032	0.5512
RM214	7	7	0	0.8066	0.7315						

N_a : No. of alleles, NRA: No. of rare alleles, H_e : Nei's genetic diversity index, PIC: Polymorphic information content

表 4 宁夏水稻 SSR 标记 AMOVA 分析

Table 4 AMOVA analysis of SSR markers among rice cultivars in Ningxia

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 SS	方差 Variance components	百分率 (%) Percentage of variation
阶段间 Among stages	5	479.22	2.88	19.27
阶段内个体间 Among individuals within stages	70	1687.19	12.05	80.73
总体 Total	75	2166.41	14.93	100

2.3.2 不同阶段宁夏水稻品种的平均等位基因数比较 对不同阶段育成品种的 SSR 位点的等位基因数比较表明,不同阶段间等位基因数有一定的差异。第 1 阶段(宁夏地方稻种)平均等位基因数为 2.44 个,第 2 阶段育成的品种平均等位基因数为 2.96 个,第 3 阶段育成品种等位基因数达到 3.02 个,第 4 阶段育成品种等位基因数保持持续增长趋势,达到 3.92 个。但在第 5 阶段育成品种的每个 SSR 位点平均等位基因数下降到 3.21,第 6 阶段(未经审定的新品系)的等位基因数又略微回升至 3.24。从以上等位基因数来看,第 5、第 6 阶段(2005 年后)等位基因数显著低于第 4 阶段,这可能是由于育种家

们在 2005 年后的育种中所采用的亲本类型比较单一,导致育成品种间亲缘关系日益接近。

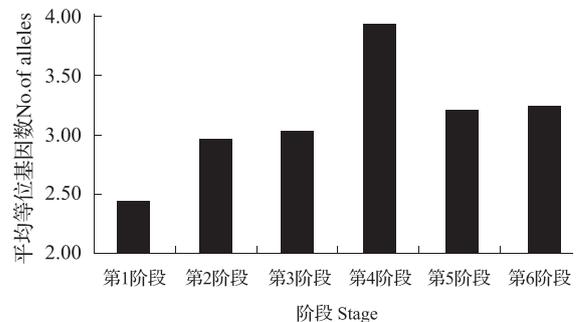


图 1 不同阶段品种等位基因数比较

Fig.1 Comparison of allele numbers among cultivars released in different stages

2.3.3 不同阶段品种间遗传距离比较 以同一阶段育成品种作为一个群体,基于 SSR 标记分析结果计算每个阶段群体内各品种间的遗传距离,并比较不同阶段群体内品种间平均遗传距离的变化。2005 年前(包括 2005 年)的 4 个阶段总体呈上升趋势。第 1 阶段的遗传距离最小,仅为 0.37;第 2 阶段品种间遗传距离急剧增加至 0.77;第 3 阶段品种间遗传距离小幅下降到 0.76,随后的第 4 阶段明显增加。但 2005 年后的 2 个阶段都呈下降趋势,由 0.85 下降到 0.79(图 2)。

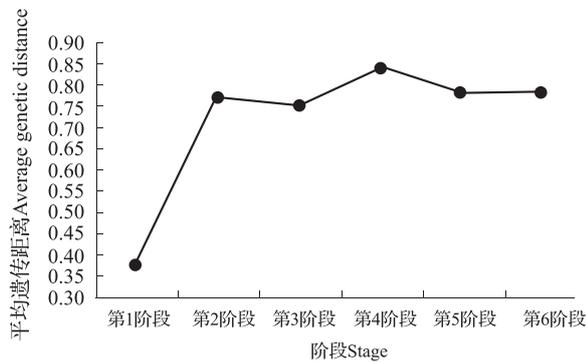


图 2 基于 SSR 标记的不同阶段选育品种间平均遗传距离
Fig. 2 Average genetic distance based on SSR markers among cultivars released in different stages

2.4 宁夏水稻品种的聚类分析

2.4.1 宁夏 76 个水稻品种的聚类分析 基于 Nei's 遗传相似系数(GS)构建 76 份水稻品种的聚类图(图 3),在相似系数为 0.805 处被聚为 5 大类群。12 个宁夏地方品种全部被归为第 I 类群,且与其他宁夏选育品种遗传距离较大,独属一类。第 II 类群包括宁粳 3 号、富源 4 号、宁粳 41、宁香稻 1 号、农科 843、宁粳 31、宁粳 29、宁粳 39 等 8 个常规粳稻品种。宁粳 3 号是京引 59(引自中国农科院)和京引 39(引自中国农科院)的子代;富源 4 号引自吉林省农科院水稻研究所;宁粳 41 的亲本之一是吉粳 72(由吉林省农科院水稻研究所选育而成);宁香稻 1 号是由中国农科院引进的京香 2 号系选获得;农科 843 是用宁夏优质晚稻与泰国香稻杂交选育而成;宁粳 31 是从黑龙江五常水稻研究所引进;宁粳 29 的亲本之一是山引 1 号(引自山西);宁粳 39 是从吉林省农科院水稻研究所引进的平粳 2 号群体中选择优良变异单株选育而成。这 8 个品种都具有外来引进血缘。第 III 类群包括宁粳 7 号、宁稻 216、宁粳 27、宁粳 36 和节 7,这 5 份材料均属于优质常规粳稻。京宁 58 和 2004-460 被聚为第 V 类群,均表现

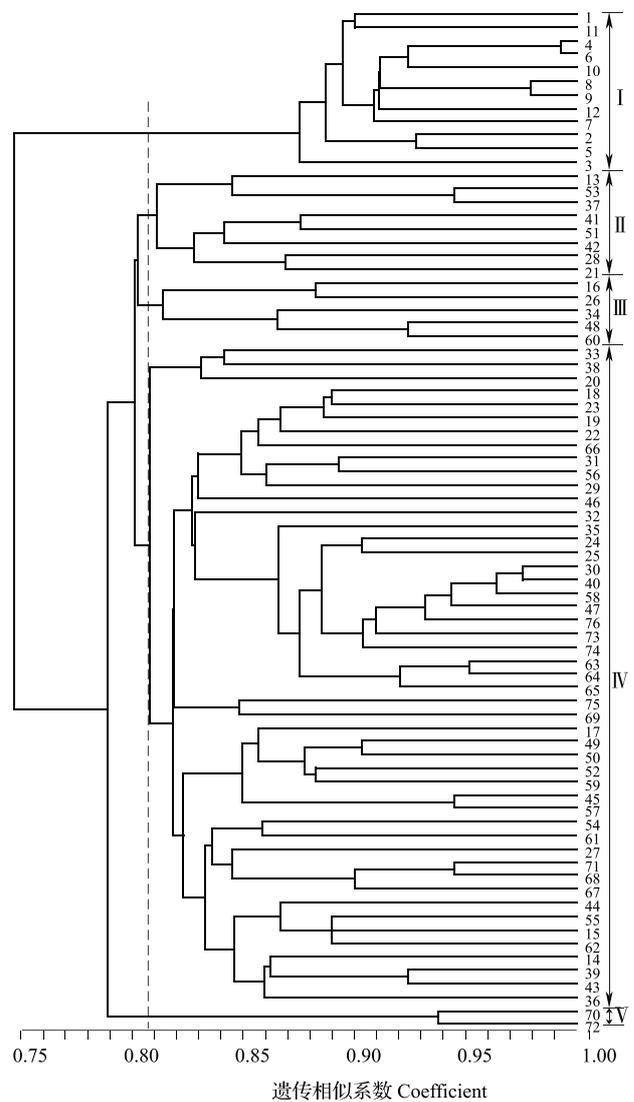


图 3 基于 SSR 标记的 76 个宁夏水稻品种聚类图
Fig. 3 Dendrogram of 76 cultivars from Ningxia based on SSR markers

株高中等,穗型呈长散穗型,这有别于宁夏其他大穗品种(一般为高秆大穗,穗为半直立穗型)。其余 49 个宁夏常规粳稻材料被聚为第 IV 类群,占供试材料的 64.47%,这表明大多数宁夏水稻品种的亲缘关系较近。

2.4.2 宁夏 6 个不同年代水稻品种聚类分析 由 Nei's 遗传相似系数(GS)构建 6 个不同阶段试验品种的聚类图(图 4)显示,在相似系数为 0.40 处 6 个阶段被聚为 2 大类群。第 1 阶段(宁夏地方稻种)被单独聚为第 I 类群,其他的 5 个阶段都被归为第 II 类群,说明宁夏地方稻种作为水稻栽培驯化过程中经自然和人为长期选择的产物,其遗传基础明显不同于选育品种,而不同年代育成的选育品种的遗传基础相对较近。在相似系数为 0.87 处第 II 类群

的 5 个阶段又被分为 2 个小类群。第 i 类群包括第 2 阶段、第 3 阶段和第 4 阶段,第 ii 类群包括第 5 阶段和第 6 阶段,说明自 2005 年后育成品种与 2005 年前(包括 2005 年)育成品种的亲缘关系相对较远。

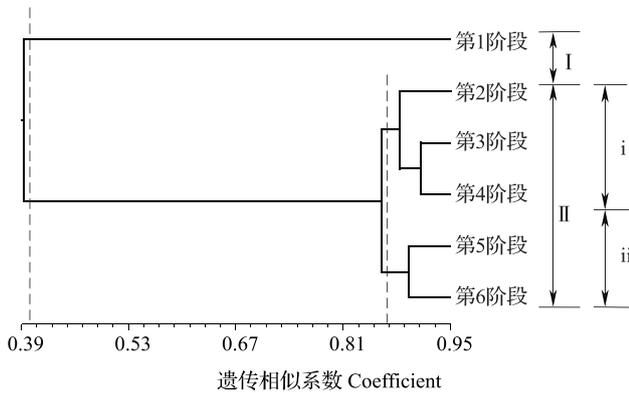


图 4 基于 SSR 标记的 6 个阶段宁夏水稻品种聚类图

Fig. 4 Dendrogram of rice varieties for 6 stages in Ningxia based on SSR markers

3 讨论

3.1 宁夏不同年代水稻品种农艺性状

分析不同年代宁夏水稻农艺性状,从株高来看,第 1 阶段地方品种株高最高,第 2 阶段选育品种株高最低,且从第 2 阶段开始至第 6 阶段选育品种的株高趋增,这与 20 世纪 60、70 年代应用矮化育种来提高水稻产量及近些年专家们提出的高产策略“矮中求高”的发展趋势一致。第 2 阶段开始有效穗数的趋减,穗长、单穗粒数、穗粒重、单株粒重、产量的增加现象表明宁夏水稻育种的改良方向为从穗数型向穗粒兼顾型或穗重型发展。这种改良方向与朱旭东等^[16]对近 30 年来育种家通过减少穗数、增加穗重,使长江流域早稻的产量潜力得到了提升的改良方向相同,与程式华等^[17]提出的“穗粒兼顾型、后期活熟功能型”理想株型从而提高产量的改良方法一致。调查的农艺性状中结实率、单株粒重、生物学产量与经济系数自第 2 阶段至第 6 阶段总体呈增加趋势,但没有显著差异。第 2 阶段开始粒长宽比没有显著差异,且保持在 1.71 ~ 1.89,这一现象与专家们在育种中比较注重选育具有优良外观品质的品种有关。产量方面,宁夏水稻产量自第 1 阶段至第 6 阶段总体趋增,说明宁夏水稻品种的几次更新较为有效地提高了产量,与殷延勃等^[15]回顾宁夏水稻品种发展历程的结果一致。

3.2 宁夏水稻品种 SSR 标记多态性

本研究表明,在供试的宁夏水稻品种中 RM333、RM297、RM249、RM501 和 RM206 的等位变异数较多(13 ~ 15 个),且这 5 个引物所具有的稀有等位基因数均较多(4 ~ 12 个),认为这 5 个 SSR 引物适合作为宁夏水稻品种的鉴别标记。SSR 标记多态性分析结果显示,每个 SSR 标记位点平均等位基因数为 6.04 个,每对引物平均遗传多样性指数为 0.6032,低于束爱萍等^[18]对世界 18 个国家(或地区)和 2 个国际组织选育的 313 份粳稻品种的研究结果,每对 SSR 引物平均遗传多样性指数为 1.0777;每个位点的多态性信息量(PIC)的变幅为 0.1423 ~ 0.8783,平均为 0.5512,低于江云珠等^[19]利用 54 个水稻 SSR 标记对来自我国 6 大稻区 22 个省(市)的 94 份种质材料进行研究的结果,其各位点的 PIC 的变幅为 0.452 ~ 0.833,平均值为 0.64。可见,宁夏水稻品种的遗传多样性较低,遗传基础较狭窄,有待于通过拓宽育种亲本材料的遗传背景来提高杂交后代遗传背景的丰富度。但本研究结果比马静等^[20]对宁夏水稻选育品种遗传多样性和亲缘关系分析的结果($N_a = 4.4167$, $H_e = 0.5088$)和陈小龙等^[21]用 SSR 分子标记对 60 份宁夏粳稻种质资源进行遗传多样性分析的结果($N_a = 3.7$, $PIC = 0.403$)都高,这可能与采用的标记数量、选材的不同及材料的数量有一定的关系。

3.3 宁夏不同年代水稻品种遗传多样性的变化

研究水稻品种遗传多样性的演变情况,对于指导水稻遗传育种具有重要意义。齐永文等^[22]研究发现我国水稻选育品种的遗传多样性一直在下降,20 世纪 80 年代降到最低水平,90 年代又有所提高。华蕾等^[23]研究表明近 10 年我国常规稻主栽品种丢失了一部分等位基因。本研究表明,从第 1 至第 4 阶段其群体的 SSR 标记等位基因数和群体内品种间遗传距离呈上升趋势,但从第 4 至第 6 阶段呈下降趋势,表明 2005 年前(包括 2005 年)宁夏水稻品种选育通过品种改良有效地丰富了其遗传背景,但 2005 年以后水稻品种的遗传基础呈变窄趋势。近年来,为了加快水稻育种的进程,相似品种间杂交过多,材料类型单一,且一些具有优良性状的亲本材料反复得到利用,加之宁夏水稻种植区的气候类型单一,选育品种一般都具有共同的特征,以适应宁夏特殊的地理气候条件(只适合生育期相对较短、温光反应迟钝的寒地水稻品种),从而加剧了水稻选育品种遗传基础的单一化趋势。为了改变这一现状,

应从国外或国内其他省份积极引进类型丰富的水稻种质作为亲本材料。

3.4 宁夏水稻品种的遗传相似性

基于遗传相似系数的6个不同阶段水稻品种聚类分析结果显示,第1阶段宁夏地方稻种被独聚一类,与第2~6阶段相似系数较低(0.39)的育成品种亲缘关系较远,这与宁夏地方品种所具有的特性密切相关。宁夏地方稻种是在水稻栽培驯化过程中经自然和人为长期选择的产物,适应西北高寒干燥的自然环境。其表型性状表现出子粒长似籼、宽厚似粳,长宽厚之比介于籼粳之间;叶幅较窄,叶片角度较大似粳,叶色较淡介于籼粳之间;稃毛密而长,无叶毛或毛少等特点。且具有发芽速度快、繁茂、耐低温、耐旱、耐盐碱、耐淹水等共同优点;但具有易落粒、不耐肥、易倒伏、易感稻瘟病等缺点^[24],这些缺点导致其在后来引进和育成品种出现后被迅速淘汰;应在今后的育种中做亲本积极利用,将其耐低温、耐旱、耐盐碱、耐淹水、苗期生长旺盛等优良基因导入到选育品种中,以期改良品种对不良环境的适应性,也能拓宽育成品种的遗传基础。第II类群中第2阶段、第3阶段和第4阶段被聚为第i小类群,第5阶段和第6阶段被聚为第ii类群,表现为2005年前(包括2005年)的3个阶段与2005年后的2个阶段选育品种间表现相对较远的亲缘关系,原因可能是2000年左右宁夏水稻育种目标由“高产”调整为“优质、高产”后,育种家们调整了亲本选择的标准,一批优质(尤其是外观品质)、高产材料被育种利用所致。76份水稻品种聚类结果表明,64.47%的品种被聚于第IV类群,目前生产上大面积种植的宁粳28、宁粳43、宁粳44、宁粳45、吉粳105等品种均聚于此类,说明宁夏选育水稻品种的遗传基础比较狭窄。因此,在今后宁夏水稻育种中应进一步加强引进和利用国外及外省的种质资源,同时要深入挖掘宁夏稻区地方品种和杂草稻资源中蕴藏的有利基因,不断拓宽宁夏水稻品种的遗传基础,以促进宁夏水稻育种的快速发展。

参考文献

[1] 马洪文,殷延勃.宁夏水稻优质高效栽培技术答疑[M].银

- 川:宁夏人民出版社,2009
- [2] 马静,孙建昌,安永平,等.宁夏育成粳稻品种(系)品质相关性主成分分析[J].种子,2011,30(10):89-91
- [3] 殷延勃,马洪文.宁夏水稻遗传育种回顾与展望[J].宁夏农林科技,2008(3):65-67
- [4] Normile D. Variety splices up Chinese rice yield[J]. Science, 2000,289:1119-1120
- [5] Mc Couch S R, Chen X, Panaud O, et al. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding[J]. Plant Mol Biol, 1997,35:89-99
- [6] Tenmykh S, Park W D, Ayres N, et al. Mapping and genome organization of microsatellite sequence in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2000,100:697-712
- [7] Li C, Zhang Y, Ying K, et al. Sequence variations of sequence repeats on chromosome-4 in two subspecies of Asian cultivated rice [J]. Theor Appl Genet, 2004,108:392-400
- [8] 魏兴华,袁筱萍,余汉勇,等.我国常规稻主栽品种的遗传变异分析[J].中国水稻科学,2009,23(3):237-244
- [9] 徐大勇,钟环,周峰,等.中粳水稻品种资源遗传多样性研究Ⅲ.不同时期育成品种SSR多样性的比较分析[J].浙江农业学报,2011,23(1):8-14
- [10] 甘晓燕,李苗,关雅静,等.宁夏89份粳稻种质遗传多样性的SSR分析[J].西北植物学报,2009,29(9):1772-1778
- [11] Edwards K, Johnstone C, Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis[J]. Nucl Acid Res, 1991,19(6):1-349
- [12] NEIM. Genetic distance between populations [J]. Am Natur, 1972,106(3):283-292
- [13] Botstein D R, White R L, Skolnick M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Am J Hum Genet, 1980,32:314-331
- [14] Rohlf F J. NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system [M]//Exeter Software, Applied Biostatistics Inc New York, USA, 2000
- [15] 殷延勃,马洪文.宁夏水稻遗传育种回顾与展望[J].宁夏农林科技,2008(3):65-67
- [16] 朱旭东,张国平,姚海根,等.浙江早稻新品系的产量及其农艺性状比较[J].浙江农业科学,2007(1):69-73
- [17] 程式华,翟虎渠.水稻亚种间超高产组合的若干株型因子的比较[J].作物学报,2000,26(6):78-83
- [18] 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
- [19] 江云珠,汤圣祥,余汉勇,等.利用SSR标记对中国水稻品种进行遗传多样性评价和品种分类的研究[J].中国稻米,2010,16(4):19-24
- [20] 马静,孙建昌,王兴盛,等.宁夏水稻选育品种遗传多样性和亲缘关系分析[J].西北植物学报,2011,31(5):929-934
- [21] 陈小龙,马利奋,王鹏,等.宁夏60份粳稻种质资源遗传多样性分析[J].植物遗传资源学报,2013,14(2):226-231
- [22] 齐永文,张东玲,张洪亮,等.中国水稻选育品种遗传多样性及其50年变化趋势[J].科学通报,2006,51(6):693-699
- [23] 华蕾,袁筱萍,余汉勇,等.我国水稻主栽品种SSR多样性的比较分析[J].中国水稻科学,2007,21(2):150-154
- [24] 陈冠五,冯中华.宁夏水稻地方品种资源研究[C]//庆祝自治区成立二十周年科研成果汇编(农业部分).银川:宁夏回族自治区农业科学研究所,1978