

# 基于分子标记和表型性状的水稻地方种质遗传多样性研究

王晓映, 张方玉, 万 星, 王成琪, 刘 焱, 肖本泽

(华中农业大学植物科学技术学院, 湖北武汉 430070)

**摘要:** 水稻地方种质蕴藏着许多重要农艺性状的优良基因资源, 是水稻遗传改良的重要载体。本研究选用 47 对 SSR 标记和 16 个表型性状对 58 份水稻优异地方品种进行遗传多样性和聚类分析。结果表明, 通过 47 对 SSR 标记在供试材料中共扩增出 284 条多态性片段, 这些标记平均可检测出 6.04 个等位基因 (变幅为 3-10 个), 平均的多态性信息含量 (PIC) 为 0.67 (变幅为 0.38-0.81), 平均的遗传多样性指数 (GDI) 为 1.36 (变幅为 0.76-1.88); 这在一定程度上反映了本试验选用的微卫星标记多态性比较丰富, 对材料的区分能力较强。供试材料在 16 个表型性状上的变异幅度大, 具有不同程度的离散度; 其中芒长、剑叶角度、每穗实粒数的变异最为丰富, 变异系数分别为 2.15、0.73 和 0.51; 而穗长、生育期、千粒重、剑叶宽的变异程度最小, 变异系数均在 0.2 以下。聚类分析表明, 供试材料基于标记和表型性状的聚类结果大体吻合, 一些具有共同亲本来源的材料 (二九南 1 号、广陆矮 4 号、陆财号、矮脚南特、金南特、广陆矮 15)、亲缘关系较近的姊妹系品种 (早麻稻 1 号和早麻稻 2 号、梅花糯 1 号和梅花糯 2 号、木瓜糯 1 号和木瓜糯 2 号、香糯 1 号和香糯 2 号) 在这两种聚类方法上均被优先地聚在一起。客观全面地评价不同种质的遗传多样性, 这将对指导我们在杂交育种中合理选配亲本进而培育出优良的新型育种材料发挥积极作用。

**关键词:** 水稻; SSR 标记; 表型; 遗传多样性; 聚类

## Diversity of Rice Landraces Revealed by Molecular Markers and Phenotypic Traits

WANG Xiao-ying, Zhang Fang-yu, WAN Xing, WANG Cheng-qi, LIU Yi, XIAO Ben-ze

(College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Hubei Wuhan 430070)

**Abstract:** Rice landraces harbour many elite genes modulating important agronomic traits, and are important resources in rice genetic improvement. In this study, 47 pairs of SSR markers and 16 phenotypic traits were deployed to conduct the genetic diversity and clustering analysis of 58 excellent rice landraces. The results showed that 284 polymorphic alleles were amplified from 58 rice landraces with an average of 6.04 alleles (variations: 3 to 10); the polymorphism information content (PIC) ranged from 0.38 to 0.81 with an average of 0.67; and the genetic diversity index (GDI) ranged from 0.76 to 1.88 with an average of 1.36. These suggested that these SSR markers revealed rich polymorphisms and were able to clarify these rice landraces. The variations on 16 phenotypic traits of this collection were largely different; the variation coefficients of awn length, flag leaf angle and filled grains per panicle were 2.15, 0.73 and 0.51, respectively; those of panicle length, growth period, thousand-grain weight and flag leaf width were below 0.2. The clustering analysis showed that the dendrogram of this collection based on either markers or phenotypic traits were generally consistent. In some lines sharing pedigree (Erjiunan 1, Guangluai 4, Lucaihao, Aijiaonant, Jinnante, Guangluai 15), or sister lines (between Hanmadao 1 and Hanmadao 2, Meihuanuo 1 and Meihuanuo 2, Muguanuo 1 and Muguanuo 2, Xiangnuo 1 and Xiangnuo 2), they were clustered together using either of both datasets. Collectively, gained from evaluating the genetic diversity of different rice

收稿日期: 2022-10-18

修回日期: 2022-11-24

网络出版日期:

URL:

第一作者研究方向为作物遗传育种, E-mail: wangxy\_hzau@163.com

通信作者: 肖本泽, 研究方向为作物遗传育种; E-mail: benzexiao@mail.hzau.edu.cn

基金项目: 国家转基因专项 (2016ZX08001-003)

Foundation project: National Special Key Project of China on Transgenic Research (2016ZX 08001-003)

landraces, this study provided insights in selection of elite parental lines applicable in rice breeding.

**Key words:** rice; SSR marker; phenotype; genetic diversity; clustering

中国是世界上最古老的农业大国, 经过长期的自然选择和人工驯化, 拥有丰富的地方品种和农家品种等稻种资源。近年来, 由于一些优良品种的大面积推广, 出现了严重的品种单一化的趋势, 育成品种的遗传多样性也在逐渐降低, 而且育种亲本之间的遗传差异非常接近<sup>[1]</sup>。因此, 为进一步拓宽水稻育种的遗传基础, 有必要对当前的水稻地方品种的遗传多样性进行评价, 为水稻亲本选配及杂交育种提供基础。研究水稻种质遗传多样性方法很多, 可以从表型水平、细胞学水平、生化水平和 DNA 分子等不同水平测算评价, 其中尤以表型性状、分子标记 SSR (Simple Sequence Repeats) 最为常用<sup>[1-3]</sup>。

表型性状因其变异丰富、易于搜集、经济高效等特点, 在作物种质遗传多样性研究中被广泛采用<sup>[2-4]</sup>。李自超等利用 31 个表型性状对 5285 份云南省地方稻种资源进行了遗传多样性分析, 结果表明云南稻种资源主要分布于思茅、临沧、文山等滇西南和滇东南地区, 滇西南和滇东南的遗传多样性最大, 粳稻多样性大于籼稻<sup>[2]</sup>。胡标林等选用 14 个表型性状对美国农业部水稻核心种质中的六大洲 1579 份水稻种质的遗传多样性进行分析, 表明亚洲、非洲与大洋洲种质间遗传距离较远, 且亚洲、非洲和大洋洲的水稻资源具有较丰富的表型遗传多样性<sup>[3]</sup>。宋玥等对 1777 份中国普通野生稻种质资源的 5 个重要农艺性状(抽穗期、花药长度、粒长、粒宽和粒重)的遗传多样性进行了分析, 表明中国普通野生稻具有丰富的遗传多样性; 聚类分析发现普通野生稻群体可以分成 3 个类群, 类群 1 主要来自江西和湖南, 类群 2 主要来自于广西和广东大部分区域和福建, 类群 3 主要来自于海南和广东南部区域的湛江市, 样品的聚类关系和地理位置成正相关<sup>[4]</sup>。

分子标记 SSR 因其具有重复性好、操作简便、共显性、丰富性、重现性和跨物种的可转移性等特点, 适合遗传距离较近的品种进行遗传多样性分析<sup>[5-6]</sup>。Jin 等采用 100 个全基因组简单序列重复标记评估 416 份水稻品种的遗传多样性, 种群结构和遗传多样性, 包括地方品种, 栽培品种和育种品系, 基于遗传结构分析将供试材料分为七个亚群<sup>[7]</sup>。马静等利用分布在 12 条染色体上的 82 对 SSR 引物对 59 份宁夏自育水稻种质进行遗传多样性分析, 共检测到 339 个等位基因, 品种间不同位点等位基因数目 2~19 个, 平均 4.13 个; 参试种质的遗传相似系数在 0.70~0.97, 遗传基础相对狭窄, 应通过引进和创新亲本材料拓宽宁夏水稻的遗传基础<sup>[8]</sup>。李闯等利用 51 对 SSR 分子标记对云南哈尼梯田当前栽培的 111 份水稻材料进行多态性检测和聚类分析, 可将供试材料主要分为偏粳类群 (Group I) 和偏籼类群 (Group II) 两类, 其中以偏籼类群居多 (83%), 这两类群并未完全按地理来源聚类<sup>[9]</sup>。董俊杰等利用 214 个分子标记对来自 14 个国家的 273 份水稻地方品种和育种材料进行基因型检测, 共检测到 524 个等位变异, 变幅为 2~5 个, 平均遗传多样性指数为 0.44, 平均多态性信息含量为 0.355; 群体结构分析将供试群体划分为 2 个亚群 (SG1、SG2) 以及 1 个混合群 (AD) <sup>[10]</sup>。

本研究利用从水稻 12 条染色体上筛选出的 47 对有多态性的 SSR 标记对我国部分水稻地方品种进行指纹图谱构建和遗传多样性分析, 同时结合 16 个农艺性状对 58 份地方品种运用主成分分析法和系统聚类法进行遗传多样性分析。旨在对水稻地方品种的遗传多样性进行全面准确的评估, 从分子水平上为我国水稻地方品种鉴定亲缘关系, 为后期的杂交育种提供基础。

# 1 材料与方法

## 1.1 供试验材料

本试验选取了 58 份来源于我国优良的地方水稻品种，其中包括一些地方糯稻、旱稻及香稻品种等，试验材料的详细情况如表 1 所示。

表 1 试验供试材料

Table 1 Tested materials in this study

名称 Name	来源 Origin	类型 Type	名称 Name	来源 Origin	类型 Type
9311	江苏	籼型	老虎稻	浙江	粳型
IRAT109	江苏引种	粳型	冷水糯	云南	籼型
IRAT352	江苏引种	籼型	柳叶粘	湖北	籼型
矮脚南特	广东	籼型	陆财号	福建	籼型
巴利拉	北京引种	粳型	麻谷子	陕西	粳型
霸王鞭	湖北	籼型	马尾粘	贵州	籼型
背子糯	湖北	籼型	梅花糯 1 号	四川	籼型
赤壳糯	广东	粳型	梅花糯 2 号	四川	籼型
寸谷糯	贵州	粳型	木瓜糯 1 号	湖南	粳型
丹东陆稻	辽宁	粳型	木瓜糯 2 号	湖南	粳型
二九南 1 号	浙江	籼型	南京 11	江苏	籼型
飞蛾糯	贵州	籼型	南特号	江西	籼型
丰矮占	广东	籼型	绥阳粘	贵州	籼型
广陆矮 15	广西	籼型	台东陆稻	台湾	粳型
广陆矮 4 号	广东	籼型	台山糯	江西	籼型
桂朝 2 号	广东	籼型	台中在来 1 号	台湾	籼型
桂花黄	江苏	粳型	文香糯	云南	籼型
旱麻稻 1 号	河南	籼型	无芒高糯	云南	籼型
旱麻稻 2 号	河南	籼型	细白粘	四川	籼型
黑河瓊瑋	黑龙江	籼型	香稻	河南	籼型
红矮糯	广西	籼型	香谷	云南	籼型
红壳折糯	贵州	粳型	香糯 1 号	贵州	粳型
黄壳早甘	江苏	粳型	香糯 2 号	贵州	粳型
黄皮糯	云南	粳型	须谷糯	湖南	籼型
黄丝桂占	广东	籼型	油粘	江西	籼型
江西丝苗	江西	籼型	鱼眼糯 1 号	云南	粳型
解放籼	湖南	籼型	鱼眼糯 2 号	云南	粳型
金南特	湖南	籼型	粘壳糯	贵州	粳型
金枝糯	云南	籼型	紫糯	云南	籼型

## 1.2 田间性状考察

本研究试验材料种植于华中农业大学试验田，5 叶期左右移栽，按随机区组设计，3 次重复，每个小区种植 3 行，每行 10 苗，行间距 16.7cm×20cm，单苗种植，每个小区种植间隔一行，肥水管理和病虫害防治按照常规大田生产进行。按照《水稻种质资源描述规范和数据标准》<sup>[1]</sup>在水稻生长的适当时期对植株剑叶叶片角度、剑叶叶片长度、剑叶叶片宽度、倒数第二叶叶舌长度、茎秆角度、最长芒的长度、生育期、株高进行考察；待水稻种子成熟后，选择中间行长势一致的 3 个单株进行室内考种，对单株产量、结实率、千粒重、单株有效穗数、穗长、每穗颖花数、每穗实粒数、着粒密度等性状进行考察。

### 1.3 SSR 标记分析

在大田中于水稻分蘖盛期在各个小区中选取具有代表性的水稻叶片进行单叶取样，水稻叶片 DNA 提取参照 CTAB 法<sup>[12]</sup>。参照相关文献，选择分布于水稻 12 条染色体的 47 对多态性高、带型清晰且重复性好的 SSR 引物<sup>[13]</sup>。PCR 反应体系、PAGE 电泳及染胶参考 Zhang 等方法<sup>[14]</sup>。

根据每对 SSR 标记的 PCR 扩增结果，将观测到的特征条带视为一个等位基因，有带时赋值为“1”，无带时赋值为“0”，建立 SSR 分子标记的 1/0 矩阵，从而构建 58 份水稻材料的 SSR 指纹图谱。为了分析这些 SSR 标记的检测效果，采用等位基因数（number of polymorphic allele, Na）、多态性信息含量（polymorphism information content, PIC）、遗传多样性指数（genetic diversity index, GDI）等参数进行评价<sup>[8,15-17]</sup>。其中等位基因数 Na 表示该标记在供试材料中所能检测到的等位基因个数；多态性信息量按公式  $PIC = 1 - \sum p_i^2$  进行计算（其中  $p_i$  为该标记第 i 个位点的基因频率）<sup>[16-17]</sup>；遗传多样性指数按公式  $GDI = \sum [-p_i(\ln p_i)]$  进行计算（其中  $p_i$  为该标记第 i 个位点的基因频率）<sup>[15,17]</sup>。

### 1.4 数据分析

供试材料间基于农艺性状的遗传距离，先对原始农艺性状数据进行主成分分析<sup>[3-4]</sup>，按特征值由大到小提取累计贡献率超过 80% 的前几个主成分变量；然后通过提取的主成分变量计算出供试材料间欧式遗传距离。

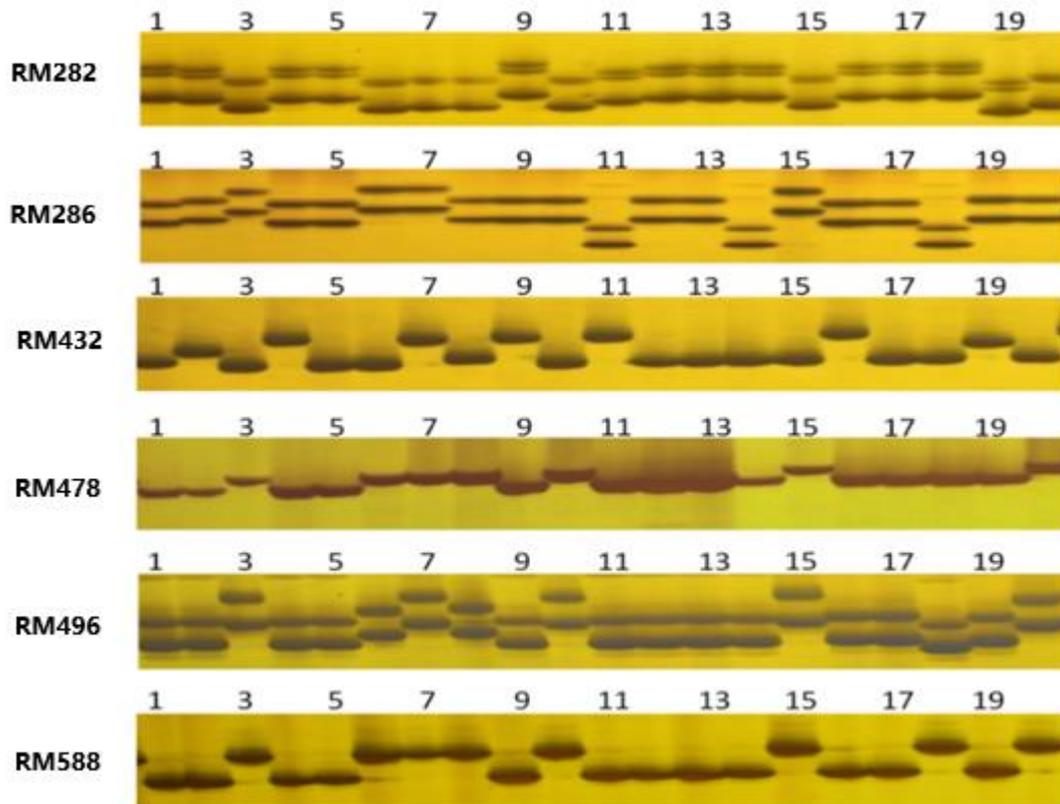
供试材料间基于分子标记的遗传距离，通过 Excel 2010 整理带型数据并按公式  $D_{ij} = 1 - 2N_{11} / (2N_{11} + 2N_{10} + 2N_{01})$  计算 Nei 氏遗传距离<sup>[18]</sup>，其中  $N_{11}$  为品种 i 和品种 j 间共有的位点条带数， $N_{10}$  为品种 i 所特有但品种 j 没有的位点条带数， $N_{01}$  为品种 i 没有但品种 j 所特有的位点条带数。

对供试材料基于农艺性状、分子标记的遗传距离，利用 R 软件（R version 4.0.1）按照最长距离法（Complete）分别进行系统聚类。

## 2 结果与分析

### 2.1 基于分子标记的遗传多样性分析

**2.1.1 供试材料的分子标记多态性信息** 本研究选取随机分布于水稻基因组上的 47 个多态性丰富、扩增特异性强的 SSR 标记（除第 12 号染色体只有 3 个外，其他染色体上均有 4 个）对供试的 58 份中国地方水稻品种进行了 DNA 扩增，扩增带型清晰稳定且多态性丰富（图 1）。



备注: 1: IRAT352, 2: 矮脚南特, 3: 巴利拉, 4: 霸王鞭, 5: 背子糯, 6: 赤壳糯, 7: 寸谷糯, 8: 丹东陆稻, 9: 二九南1号, 10: 飞蛾糯, 11: 丰矮占, 12: 广陆矮15, 13: 广陆矮4号, 14: 桂朝2号, 15: 桂花黄, 16: 早麻稻1号, 17: 早麻稻2号, 18: 黑河瑗瑯, 19: 红矮糯, 20: 红壳折糯

图 1 部分水稻地方品种 SSR 标记的扩增带型

Fig. 1 The amplification of SSR primers on a part of rice cultivars

利用 47 个 SSR 标记在 58 份中国水稻地方品种中共检测到 284 个多态性位点 (polymorphic allele)，每个 SSR 可扩增得到 3-10 个多态性位点，其中分别位于第 10、11、12 号染色体上的 RM496、RM287 和 RM247 检测到的多态性位点最多，均为 10 个；位于第 3 号染色体上的 RM85 和第 6 号染色体上的 RM170、RM588 检测到的多态性位点最少，均为 3 个；这些标记平均每个能检测到 6.04 个位点 (表 2)。这些标记的多态性信息含量 (PIC) 变幅为 0.38-0.81，其中 PIC 最高的标记是 RM224，最低的标记是 RM574；PIC 平均多态性信息含量为 0.67。这些标记的遗传多样性指数 (GDI) 介于 0.76-1.88 之间，均值为 1.36 (表 2)。

表 2 SSR 引物的多态性信息

Table 2 The polymorphic information of tested SSR markers

标记 Marker	染色体 Chr.	多态性位点数 Na	多态性信息含量 PIC	遗传多样性指数 GDI
RM297	1	6	0.77	1.62
RM493	1	7	0.79	1.73
RM237	1	7	0.75	1.57
RM23	1	7	0.78	1.69
RM208	2	6	0.77	1.58
RM279	2	7	0.70	1.48
RM211	2	4	0.58	1.01

RM497	2	6	0.43	0.96
RM85	3	3	0.62	1.03
RM232	3	6	0.79	1.66
RM282	3	6	0.69	1.45
RM411	3	4	0.58	0.97
RM273	4	4	0.62	1.12
RM127	4	4	0.55	1.00
RM280	4	7	0.75	1.58
RM252	4	7	0.71	1.52
RM267	5	6	0.75	1.50
RM509	5	6	0.61	1.21
RM574	5	6	0.38	0.85
RM249	5	7	0.58	1.25
RM589	6	8	0.75	1.69
RM170	6	3	0.57	0.95
RM540	6	6	0.75	1.51
RM588	6	3	0.51	0.76
RM336	7	9	0.79	1.79
RM432	7	5	0.67	1.26
RM478	7	5	0.70	1.34
RM351	7	4	0.50	0.81
RM544	8	5	0.48	0.98
RM331	8	5	0.57	1.14
RM339	8	6	0.71	1.38
RM337	8	3	0.65	1.07
RM219	9	6	0.79	1.68
RM245	9	4	0.68	1.17
RM215	9	6	0.68	1.37
RM278	9	8	0.77	1.65
RM258	10	4	0.68	1.22
RM496	10	10	0.78	1.88
RM216	10	7	0.62	1.34
RM6833	10	9	0.70	1.55
RM224	11	7	0.81	1.77
RM287	11	10	0.78	1.82
RM167	11	8	0.65	1.42
RM286	11	8	0.80	1.79
RM247	12	10	0.66	1.57
RM277	12	4	0.53	0.89
RM12	12	5	0.59	1.14

备注: Na: Number of polymorphic allele; PIC: Polymorphism information content; GDI: Genetic diversity index

供试品种中有 27 个品种 (9311、IRAT109、IRAT352 等) 在这些标记中检测到了特异扩增带型 (即与其他品种带型不同), 如飞蛾糯在 5 个标记 (RM339、RM6833、RM247、RM277、RM12) 上具有特异带型, 寸谷糯在 3 个标记 (RM574、RM351、RM167) 上具有特异带型, 麻谷子也在 3 个标记 (RM339、RM6833、RM247) 上具有特异带型 (表 3)。

表 3 部分品种所具有的特异分子标记

Table 3 Some specific SSR markers harbored by parts of rice landraces

品种	特异标记
----	------

9311	RM278
IRAT109	RM509
IRAT352	RM279、RM211
巴利拉	RM249
背子糯	RM287
赤壳糯	RM2782、RM68337
寸谷糯	RM574、RM351、RM167
飞蛾糯	RM339、RM6833、RM247、RM277、RM12
红矮糯	RM245
红壳折糯	RM278
黄壳早甘	RM4968、RM68339
黄皮糯	RM247
老虎稻	RM5746
冷水糯	RM588
麻谷子	RM339、RM6833、RM247
马尾粘	RM478
木瓜糯 1 号	RM497
木瓜糯 2 号	RM411
南京 11	RM249
南特号	RM286
绥阳粘	RM167
台山糯	RM2676、RM5891
台中在来 1 号	RM5401、RM2879
细白粘	RM336
香谷	RM280
须谷糯	RM351
油粘	RM2372

2.1.2 供试材料基于分子标记的聚类分析 利用供试材料的标记数据，对 58 份供试材料间的 Nei 氏遗传距离进行了热图分析（图 2）。供试材料群体的平均遗传距离为 0.679，材料间的遗传距离介于 0.021 - 0.979 之间，其中遗传距离最远的是品种飞蛾糯与南京 11（0.979），遗传距离最近的位于早麻稻 1 号与早麻稻 2 号（0.021）、香糯 1 号与香糯 2 号（0.021）。

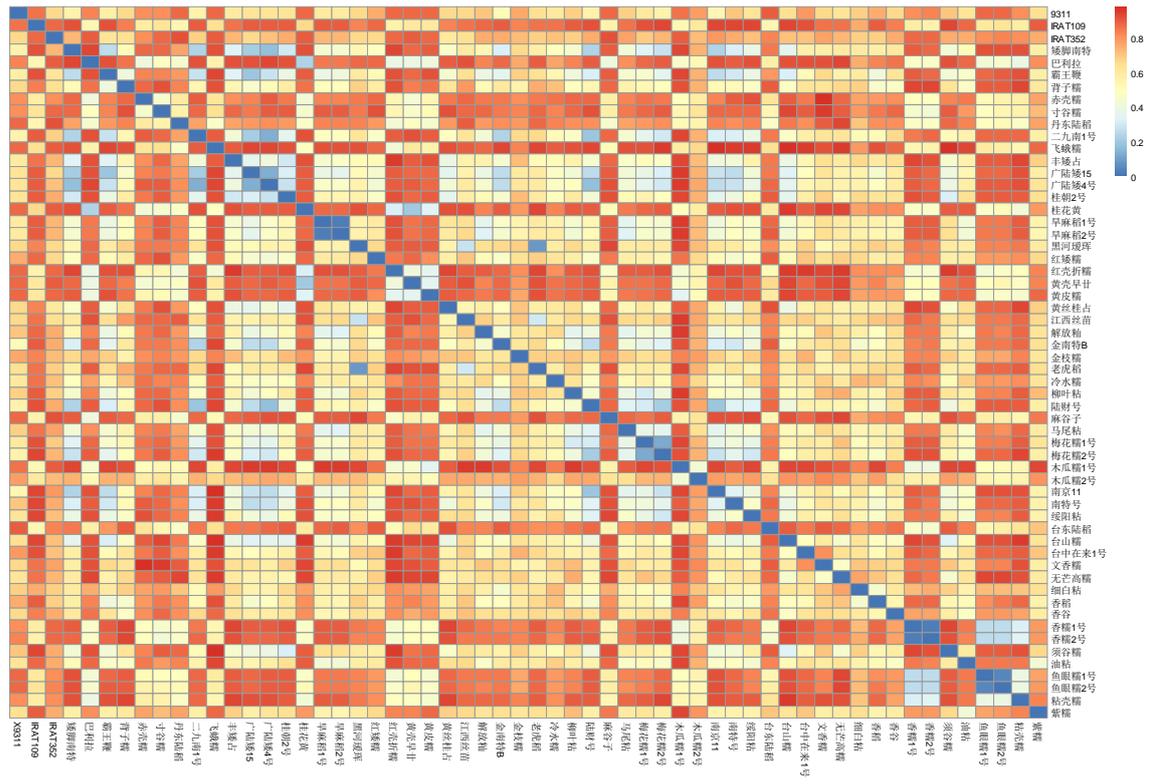


图2 供试地方品种间的 Nei 氏遗传距离

Fig. 2 The Nei's genetic distance between tested rice landraces

依据各供试地方品种间的遗传距离，采用系统聚类法对这些品种进行聚类分析。结果显示，以遗传距离 0.97 为阈值，可将 58 个水稻品种分成 2 个类群：I 和 II。其中，类群 I 主要是粳稻类型品种（表 1），包含黄皮糯、桂花黄、黄壳早甘等 19 个品种。类群 II 主要是籼稻类型品种（表 1），包含有金枝糯、文香糯、油粘等 39 个品种（图 3）。不难发现，供试品种中的 5 对亲缘关系较近的姊妹系品种：早麻稻 1 号和早麻稻 2 号、梅花糯 1 号和梅花糯 2 号、木瓜糯 1 号和木瓜糯 2 号、香糯 1 号和香糯 2 号、鱼眼糯 1 号和鱼眼糯 2 号均被紧密地聚在一起，表明这些姊妹系品种在分子标记水平上的遗传距离也很小，两者很好地相互验证。

对于类群 I，以遗传距离 0.65 为阈值，可分成 2 个亚群：I-1 和 I-2。亚群 I-1 主要由黄皮糯、桂花黄、黄壳早甘、巴利拉等 14 个品种构成，其中江苏地方品种“桂花黄”是从意大利品种“巴利拉”中选出的变异单株培育而成 (<https://www.ricedata.cn/variety>)，两者具有较近的亲缘关系，聚类结果与此相吻合。亚群 I-2 含有飞蛾糯、丹东陆稻、麻谷子、IRAT109、台东陆稻等 5 个品种。

类群 II 以遗传距离 0.79 为阈值可进一步分为 II-1、II-2 和 II-3 三个亚群，其中亚群 II-1 有金枝糯、文香糯、油粘等 13 个品种。亚群 II-2 有南特号、金南特、矮脚南特、广陆矮 4 号、陆财号、二九南 1 号、广陆矮 15 等 20 个品种；通过查询国家水稻数据中心网站 (<https://www.ricedata.cn/variety>) 可知，品种广陆矮 15、广陆矮 4 号具有相同的父本“陆财号”，另外陆财号、金南特、矮脚南特、二九南 1 号均从“南特号”中选择变异株育成；这表明这些品种间存在着较近的亲缘关系，聚类结果也很好的证明了这一点。亚群 II-3 含有 IRAT352、江西丝苗、黑河瑗瑀等 6 个品种（图 3）。

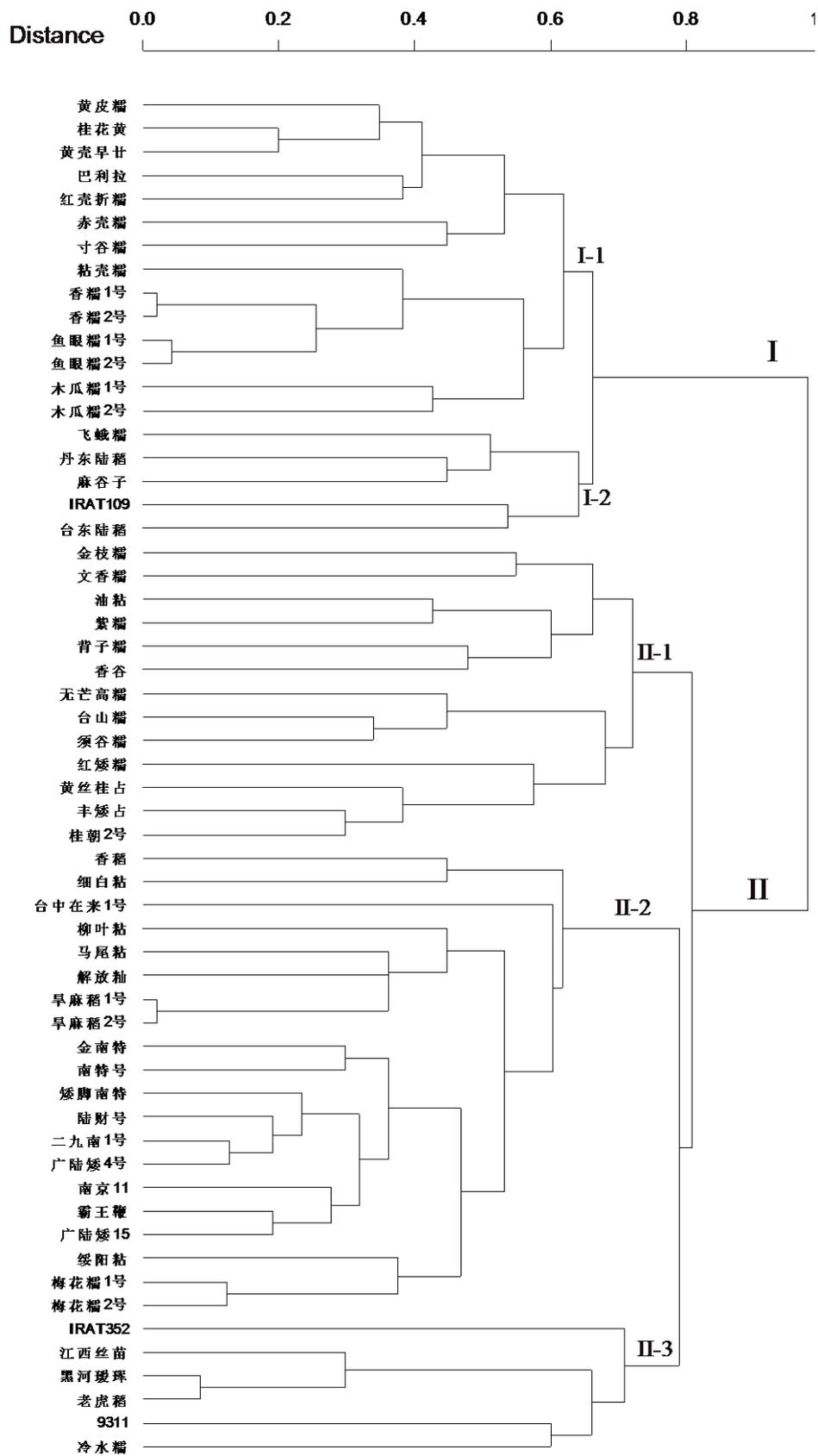


图 3 基于 SSR 标记对 58 份地方品种的聚类分析

Fig. 3 The clustering analysis of 58 landraces based on SSR markers

## 2.2 基于表型性状的遗传多样性分析

2.2.1 供试材料表型性状的概况 本研究中对 58 份水稻地方品种的 16 个表型性状（单株产量、结实率、千粒重、生育期、株高、单株有效穗数、穗长、每穗颖花数、每穗实粒数、着粒密度、剑叶角度、剑叶长、剑叶宽、叶舌长、茎秆角度、芒长）进行了考察，表型性状的变异幅度大，具有不同程度的离散度（图 4，表 4）。其中，芒长、剑叶角度、每穗实粒数的变异程度居前 3 位，变异系数分别为 2.15、0.73 和 0.51，遗传变异最丰富。相比而言，穗长、生育期、千粒重、剑叶宽等 4 个性状的变异程度最小，变异系数均在 0.2 以下（表 4）。供试品种各表型性状频次分布的偏度分析表明，穗长、株高、剑叶宽的分布接近于正态分布，结实率性状的分布呈现左偏态分布，其余的 12 个性状（芒长、着粒密度、剑叶角度、每穗颖花数、生育期、剑叶长、茎秆角度、每穗实粒数、单株有效穗数、叶舌长、单株产量、千粒重）均呈现出不同程度的右偏态分布（图 4）。

表 4 供试水稻材料表型性状的概况农艺性状的遗传变异

Table 4 Genetic variation of agronomic traits in rice cultivars

性状 Trait	均值 Mean	最小值 Min	最大值 Max	变异系数 CV	偏度 Skewness
单株产量 YP (g)	22.01	4.40	51.97	0.47	0.63
结实率 SSP (%)	60.79	18.40	93.30	0.31	-0.52
千粒重 TGW (g)	23.74	16.90	35.40	0.15	0.60
生育期 GP (d)	125.71	103.00	167.00	0.14	1.07
株高 PH (cm)	146.59	80.00	215.00	0.25	-0.06
单株有效穗数 EP	11.00	5.00	21.00	0.27	0.65
穗长 PL (cm)	24.64	16.80	32.30	0.13	-0.19
每穗颖花数 NG	145.71	69.00	328.00	0.33	1.13
每穗实粒数 NFG	90.45	17.00	233.00	0.51	0.78
着粒密度 GD (/10cm)	59.00	32.00	127.00	0.30	1.25
剑叶角度 FLA (°)	54.10	5.00	175.00	0.73	1.20
剑叶长 FLL (cm)	45.42	27.00	85.00	0.23	0.99
剑叶宽 FLW (cm)	1.88	1.20	2.80	0.15	0.16
叶舌长 LL (cm)	1.92	1.00	3.50	0.29	0.64
茎秆角度 CA (°)	24.95	8.00	58.00	0.49	0.91
芒长 AL (cm)	0.65	0.00	6.20	2.15	2.51

YP: yield per plant; SSP: seed setting percentage; TGW: thousand-grain weight; GP: growth period; PH: plant height; EP: effective panicles per plant; PL: panicle length; NG: number of grains per panicle; NFG: number of filled grains per panicle; GD: grain density; FLA: flag leaf angle; FLL: flag leaf length; FLW: flag leaf width; LL: ligule length; CA: culm angle; AL: awn length

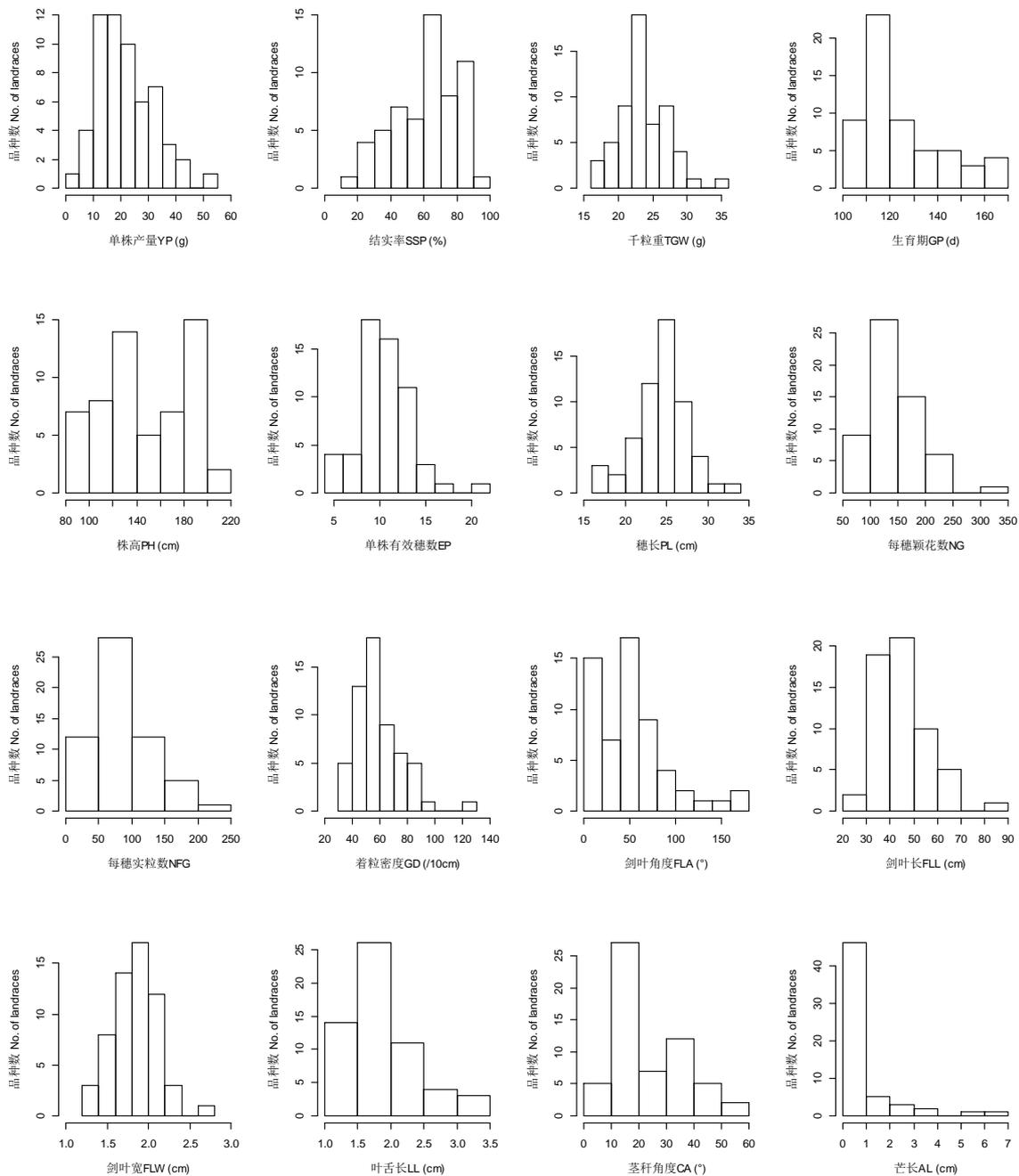


图 4 供试品种表型性状频次分布

Fig. 4 The frequency of rice landraces in 16 agronomic traits

2.2.2 农艺性状的相关性和主成分分析 对 58 份水稻地方品种的 16 个农艺性状进行相关性分析，结果表明性状间存在着不同程度的相关性（表 5）。其中每穗颖花数与着粒密度、每穗实粒数的相关性最强，相关系数分别为 0.921 和 0.824。单株产量与每穗实粒数、结实率、每穗颖花数、着粒密度、穗长呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )，与叶舌长、株高达到了显著正相关 ( $P < 0.05$ )；结实率除与单株产量达到了极显著正相关外，还与每穗实粒数、株高达到了显著正相关；千粒重除与着粒密度达到显著负相关外，与其他性状相关性均不显著；生育期与株高、剑叶长达到了极显著正相关，但与剑叶宽、单株有效穗数达到了显著负相关；

株高除了与生育期达到了极显著正相关外，与穗长也达到了极显著正相关。在剑叶叶片性状中，剑叶角度与剑叶长呈显著正相关，但与剑叶宽呈显著负相关；剑叶长与叶舌长、生育期、芒长、穗长、剑叶角度等均达到了显著正相关，但与剑叶宽的相关性不显著。

表 5 各农艺性状间相关系数

Table 5 Correlation coefficient among agronomic traits of tested landraces

	单株产量 YP	结实率 SSP	千粒重 TGW	生育期 GP	株高 PH	单株有效穗数 EP	穗长 PL	每穗颖花数 NG	每穗实粒数 NFG	着粒密度 GD	剑叶角度 FLA	剑叶长 FLL	剑叶宽 FLW	叶舌长 LL	茎秆角度 CA	
结实率 SSP	0.697**															
千粒重 TGW	-0.054	-0.112														
生育期 GP	-0.012	0.229	0.126													
株高 PH	0.273*	0.265*	0.138	0.488**												
单株有效穗数 EP	0.219	-0.100	-0.160	-0.328*	-0.260*											
穗长 PL	0.379**	0.162	0.004	0.035	0.451**	-0.147										
每穗颖花数 NG	0.558**	0.216	-0.253	0.013	0.247	-0.349**	0.431**									
每穗实粒数 NFG	0.791**	0.713**	-0.254	0.146	0.328*	-0.294*	0.398**	0.824**								
着粒密度 GD	0.440**	0.161	-0.271*	-0.022	0.083	-0.345**	0.057	0.921**	0.731**							
剑叶角度 FLA	-0.131	-0.089	-0.027	-0.026	0.214	0.144	-0.123	-0.200	-0.158	-0.176						
剑叶长 FLL	0.008	0.026	-0.009	0.346**	0.301*	-0.172	0.311*	0.063	0.070	-0.050	0.306*					
剑叶宽 FLW	0.164	-0.078	0.001	-0.261*	-0.216	-0.287*	0.197	0.533**	0.329*	0.515**	-0.308*	-0.045				
叶舌长 LL	0.329*	0.154	-0.136	-0.116	0.250	0.002	0.445**	0.243	0.268*	0.079	-0.124	0.392**	0.339**			
茎秆角度 CA	0.162	0.206	-0.045	-0.177	0.077	0.032	0.031	-0.050	0.087	-0.084	0.132	-0.081	-0.046	0.227		
芒长 AL	-0.301*	-0.106	0.056	0.153	-0.152	-0.117	-0.099	-0.266*	-0.237	-0.242	0.232	0.334*	-0.157	-0.183	-0.131	

由于各性状之间会存在不同程度的相关性，会使得其提供的遗传信息相互重叠，而且各性状指标单位及数量级参差不齐，进而会影响对品种遗传多样性的评价，故采用主成分分析以消除此类因素的影响<sup>[3-4]</sup>。主成分分析的各主成分之间相对独立，各主成分之间互不相关，数据直观容易分析，常被应用于种质资源的研究。16个原始农艺性状与前7个主成分（按特征值由大到小选取）间的相关系数即荷载矩阵见表6。主成分分析结果表明，前7个主成分（PC1-PC7）很好地囊括了16个原始农艺性状的绝大部分遗传信息（83.5%），例如这7个主成分可以分别涵盖单株产量、结实率、株高中87.5%、90.9%、88.4%的遗传变异信息。其中PC1可以解释农艺性状总变异的27.5%，其主要携带单株产量、结实率、每穗实粒数、每穗颖花数、着粒密度等产量相关的遗传信息；PC2可以解释农艺性状总变异的14.6%，其主要与株高、剑叶长、剑叶宽等农艺性状相关性强，可以很好地代表株叶片形态相关性状的遗传变异；PC3主要携带与茎秆角度、单株有效穗数等性状的遗传信息。显然，利用主成分分析可以将原始的16个农艺性状降维至7个主成分值，且这些主成分之间相互独立、毫不相关。

表6 入选的7主成分与原始农艺性状间的相关系数

Table 6 Correlation coefficient between PCs and agronomic traits

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	变异解释率
单株产量	-0.766**	-0.007	0.473**	-0.146	0.025	-0.193	-0.077	87.5%
结实率 SSP	-0.561**	-0.247	0.415**	-0.428**	0.007	-0.051	-0.419**	90.9%
千粒重 TGW	0.215	-0.225	-0.170	-0.025	0.682**	0.151	-0.073	62.0%
生育期 GP	-0.101	-0.674**	-0.298*	-0.411**	0.114	-0.136	-0.006	75.4%
株高 PH	-0.397**	-0.703**	0.060	-0.049	0.202	0.142	0.407**	88.4%
单株有效穗数 EP	0.314*	0.225	0.693**	0.085	-0.154	-0.421**	0.188	87.3%
穗长 PL	-0.534**	-0.318*	0.048	0.452**	0.232	-0.195	0.103	69.5%
每穗颖花数 NG	-0.890**	0.177	-0.268*	0.004	-0.159	0.042	0.185	95.7%
每穗实粒数 NFG	-0.945**	-0.029	0.056	-0.232	-0.133	0.006	-0.102	97.9%
着粒密度 GD	-0.754**	0.333*	-0.339**	-0.173	-0.270*	0.131	0.158	93.9%
剑叶角度 FLA	0.255	-0.404**	0.189	0.070	-0.541**	0.372**	0.307*	79.4%
剑叶长 FLL	-0.128	-0.676**	-0.182	0.436**	-0.307*	-0.137	-0.097	81.9%
剑叶宽 FLW	-0.475**	0.477**	-0.389**	0.395**	0.092	0.091	-0.168	80.5%
叶舌长 LL	-0.456**	-0.135	0.226	0.697**	0.089	-0.066	-0.123	79.0%
茎秆角度 CA	-0.096	-0.018	0.532**	0.143	0.051	0.705**	-0.248	87.4%
芒长 AL	0.351**	-0.346**	-0.313*	0.052	-0.405**	-0.081	-0.523**	78.8%
特征值 CHV	4.40	2.34	1.84	1.53	1.28	1.01	0.95	
贡献率 CR	27.5%	14.6%	11.5%	9.6%	8.0%	6.3%	5.9%	
累积贡献率 CCR	27.5%	42.1%	53.6%	63.2%	71.2%	77.5%	83.5%	

CHV: Character value; CR: Contribution rate; CCR: Cumulative contribution rate

### 2.2.3 基于农艺性状的聚类分析

通过各供试材料的主成分值计算出材料间的欧式遗传距离，进而对58份水稻地方品种进行系统聚类分析（图5）。以遗传距离5.8为阈值，可以将供试水稻材料分为4个类群：I、II、III和IV。其中无芒高糯被单独地聚为类群I。类群II含有粘壳糯、麻谷子、细白粘等3个品种。类群III是最大的类群，含有红壳折糯、鱼眼糯2号、香谷等46个品种，其可进一步分为3个亚群：III-1、III-2和III-3；亚群III-1有红壳折糯、鱼眼糯2号等8个品种；亚群III-2有梅花糯1号、梅花糯2号等12个品种；亚群III-3有矮脚南特、

金南特等 26 个品种，其中二九南 1 号、广陆矮 4 号、陆财号、矮脚南特、金南特、广陆矮 15 等 6 个品种被紧密地聚在一起，这与前面基于分子标记聚类结果（图 3）和亲本系谱来源相吻合。类群 IV 有油粘、台山糯、旱麻稻 1 号等 8 个品种（图 5）。

不难发现，供试品种中的 4 对姊妹系品种：旱麻稻 1 号和旱麻稻 2 号、梅花糯 1 号和梅花糯 2 号、木瓜糯 1 号和木瓜糯 2 号、香糯 1 号和香糯 2 号均被优先地聚在一起，这与前面通过标记进行聚类（图 3）的结果相吻合。

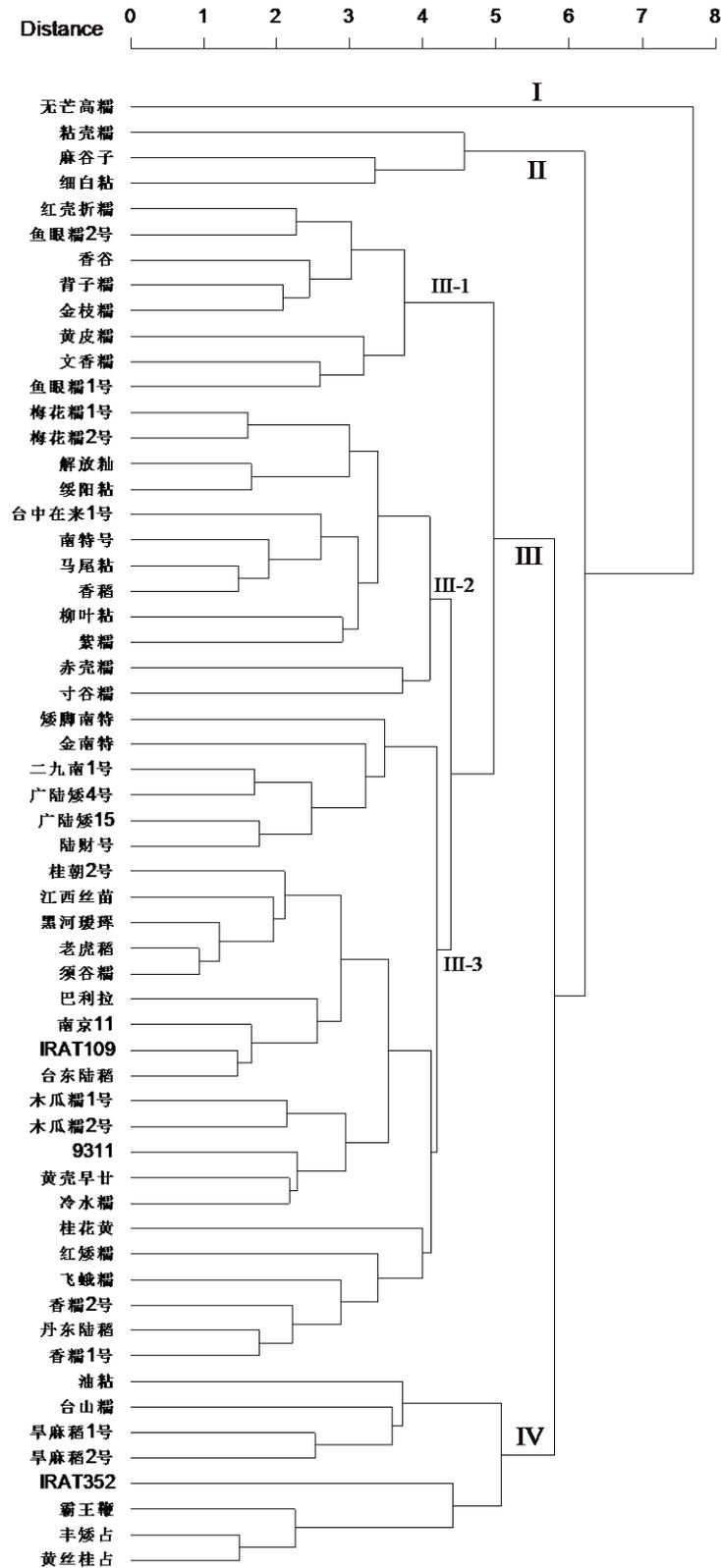


图 5 基于农艺性状对 58 份地方品种的聚类分析

Fig. 5 The clustering analysis of 58 landraces based on agronomic traits

### 2.3 两种聚类方法的比较

通过对来源于 58 份品种间（共 1653 个两两品种组合）基于分子标记、表型性状的遗传距离进行相关性分析（图 6），两者间达到极显著正相关（ $r = 0.2264 > r_{0.01} = 0.0634$ ），这表明本研究采用 47 对 SSR 标记对供试材料的聚类结果与 16 个表型性状的聚类分析大体吻合；一些具有共同亲本来源的材料（如二九南 1 号、广陆矮 4 号、陆财号、矮脚南特、金南特、广陆矮 15）、姊妹系品种（旱麻稻 1 号和旱麻稻 2 号、梅花糯 1 号和梅花糯 2 号、木瓜糯 1 号和木瓜糯 2 号、香糯 1 号和香糯 2 号）在标记和表型上均被优先地聚在一起（图 3 和图 5）。

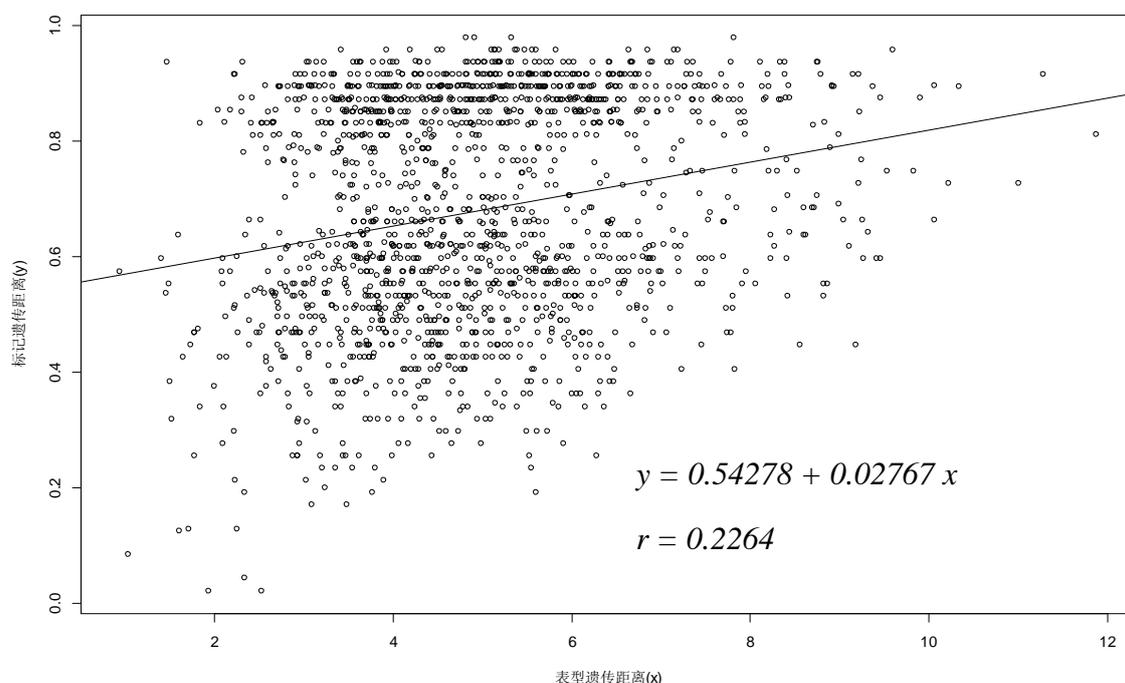


图 6 基于分子标记和表型性状的遗传距离的散点图

Fig. 6 Scatter plot of genetic distance based on molecular markers and phenotypic traits

### 3 讨论

分子标记和表型性状是两种常用的分析作物遗传多样性的方法。分子标记表现的是遗传物质 DNA 水平上的差异，不受环境因素的影响；而表型性状同时受到遗传物质 DNA 和环境的影响<sup>[8,19-21]</sup>。本实验中，虽然基于分子标记、表型性状的聚类结果比较吻合；但有部分材料基于这两种方法的聚类结果存在一定差异：如鱼眼糯 1 号和鱼眼糯 2 号在标记水平上是最紧密地聚在一起，但在表型水平上却并不最紧密；另一个材料无芒高糯在表型水平上被单独地聚类，但在标记水平上群其与台山糯、须谷糯聚在一起；这无疑与表型性状易受外界环境的影响，不能完全真实地反映不同品种在 DNA 水平的差异有关<sup>[19-21]</sup>。为了更加客观地反映不同种质的遗传差异性，表型性状采集时可以通过多年多点种植，尽量全面地考察一些代表性强、遗传力较高、兼顾各类表型（如产量、品质、株叶型、抗性）的性状。本实验中所选取的 16 个表型性状在供试材料中变异丰富，绝大部分性状的变异系数超过 25%（表 4），且这些性状大多数属于品种 DUS (Distinctness, Uniformity, Stability) 测定性状，遗传力比较高。另一方面，分子标记宜选取多态性丰富、扩增特异性强的标记；本实验中所使用的 47 对标记（水稻每条染色体上约 3~4 个）平均每个能检测到 6.04 个位点；这比马

静等所用标记检测的 4.13 个位点<sup>[8]</sup>、董俊杰等检测到的 2.45 个位点<sup>[10]</sup>、徐福荣等检测到的 4.46 个位点<sup>[15]</sup>丰富不少。对于标记的选择应随机分布于整个基因组，标记间自由分离，避免相互连锁；同时也应结合基因组、转录组数据进行全基因组水平的筛选。

品种的遗传多样性对于作物生产具有重要的价值，但是随着一些骨干优良品种得到大面积推广，出现了水稻品种的单一化的现象，同时也造成大量的优良基因丢失和作物遗传多样性的降低<sup>[22]</sup>。本实验中，飞蛾糯与台山糯之间无论在表型性状还是标记水平上的遗传距离都比较远，且两者均属于粳糯类型，这两个材料的杂交后代会有更多的基因重组机会，这非常有助于培育综合农艺性状超过双亲的糯稻新品系。显然，杂交育种中通过合理扩大双亲的遗传差异，结合分子标记和农艺性状的选择，必将在培育优于双亲的新型育种材料中发挥重要作用。

## 参考文献

- [1] 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
- [2] 李自超, 张洪亮, 曾亚文, 申时全, 孙传清, 王象坤. 云南稻种资源表型遗传多样性的研究. 作物学报, 2001, 27(6): 832-837  
Li Z C, Zhang H L, Zeng Y W, Shen S Q, Sun C Q, Wang X K. Studies on phenotypic diversity of rice germplasm in Yunnan, China. Acta Agronomica Sinica, 2001, 27(6): 832-837
- [3] 胡标林, 万勇, 李霞, 雷建国, 罗向东, 严文贵, 谢建坤. 水稻核心种质表型性状遗传多样性分析及综合评价. 作物学报, 2012, 38(5): 829-839  
Hu B L, Wan Y, Li X, Lei J G, Luo X D, Yan W G, Xie J K. Analysis on genetic diversity of phenotypic traits in rice (*Oryza sativa*) core collection and its comprehensive assessment. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(5): 829-839
- [4] 宋玥, 李飞, 王君瑞, 乔卫华, 王新华, 徐志健, 吕树伟, 汤翠凤, 王记林, 刘文强, 朱业宝, 郑晓明, 杨庆文. 中国普通野生稻重要农艺性状的遗传多样性研究. 植物遗传资源学报, 2020, 21(6): 1512-1520  
Song Y, Li F, Wang J R, Qiao W H, Wang X H, Xu Z J, Lyu S W, Tang C F, Wang J L, Liu W Q, Zhu Y B, Zheng X M, Yang Q W. Genetic diversity analysis of important agronomic traits of common wild rice germplasm accessions collected from China. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(6): 1512-1520
- [5] 赵勇, 杨凯, Akbar A C, 翁跃进. 利用水稻功能基因 SSR 标记鉴定水稻种质资源. 中国农业科学, 2002, 35(4): 349-353  
Zhao Y, Yang K, Akbar A C, Weng Y J. Evaluation of rice germplasm using SSR markers of functional gene in rice. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(4): 349-353
- [6] 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
- [7] Jin L, Lu Y, Xiao P, Sun M, Corke H, Bao J S. Genetic diversity and population structure of a diverse set of rice germplasm for association mapping. Theor Appl Genet, 2010, 121(3): 475-487
- [8] 马静, 孙建昌, 安永平, 王兴盛, 张振海, 韩龙植. 基于 SSR 标记的宁夏水稻遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2013, 14(5): 826-832  
Ma J, Sun J C, An Y P, Wang X S, Zhang Z H, Han L Z. Analysis of genetic diversity with population of japonica rice from Ningxia using microsatellite markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(5): 826-832
- [9] 李闯, 刘承晨, 张昌泉, 朱霁晖, 徐小颖, 赵福伟, 黄绍文, 金银根, 刘巧泉. 云南哈尼梯田当前栽培水稻 ALK 基因的遗传多样性及与稻米糊化温度的关联分析. 作物学报, 2017, 43(3): 343-353  
Li C, Liu C C, Zhang C Q, Zhu J H, Xu X Y, Zhao F W, Huang S W, Jin Y G, Liu Q Q. Genetic diversity of ALK gene and its association with grain gelatinization temperature in currently cultivated rice landraces from Hani's terraced fields in Yunnan province. Acta Agronomica Sinica, 2017, 43(3): 343-353
- [10] 董俊杰, 曾宇翔, 季芝娟, 梁燕, 杨长登. 273 份水稻种质资源的遗传多样性、群体结构与连锁不平衡分析. 中国水稻科学, 2021, 35(2): 130-140  
Dong J J, Zeng Y X, Ji Z J, Liang Y, Yang C D. Analysis on genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium of 273 rice germplasms. Chinese Journal of Rice Science, 2021, 35(2): 130-140
- [11] 韩龙植, 魏兴华. 水稻种质资源描述规范和数据标准. 中国农业出版社, 2006  
Han L Z, Wei X H. Specifications and data standards for describing rice germplasm resources. China Agricultural Publishing House, 2006

- [12] Murray M G, Thompson W E. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*, 1980, 8: 4321-4325
- [13] 施勇烽, 应杰政, 王磊, 朱智伟, 庄杰云. 鉴定水稻品种的微卫星标记筛选. *中国水稻科学*, 2005, 19(3): 195-201  
Shi Y F, Ying J Z, Wang L, Zhu Z W, Zhuang J Y. Screening SSR markers for rice variety identification. *Chinese Journal of Rice Science*, 2005, 19(3): 195-201
- [14] Zhang Z F, Wang Y, Zheng Y L. AFLP and PCR-based markers linked to *Rf3*, a fertility restorer gene for S cytoplasmic male sterility in maize. *Mol Genet Genomics*. 2006, 276(2): 162-169
- [15] 徐福荣, 董超, 杨文毅, 张恩来, 汤翠凤, 阿新祥, 杨雅云, 张斐斐, 戴陆园. 基于表型性状和 SSR 标记的云南省水稻主要育成品种(系)的遗传相似性分析. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(5): 700-708  
Xu F R, Dong C, Yang W Y, Zhang E L, Tang C F, A X X, Yang Y Y, Zhang F F, Dai L Y. Genetic similarity based on SSR markers and phenotypic traits of major improved rice (*Oryza sativa* L.) varieties in Yunnan province. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2011, 12(5): 700-708
- [16] Smith J, Chin E, Shu H, Smith O, Wall S, Senior M, Mitchell S, Kresovich S, Ziegler J. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree. *Theor Appl Genet*, 1997, 95(1): 163-173
- [17] McCouch S R, Teytelman L, Xu Y, Lobos K B, Clare K, Walton M, Fu B, Maghirang R, Li Z, Xing Y, Zhang Q, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Schneider D, Cartinhour S, Ware D, Stein L. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res*, 2002, 9(6): 199-207
- [18] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1979, 76(10): 5269-5273
- [19] 张冬玲, 张洪亮, 魏兴华, 齐永文, 王美兴, 孙俊立, 丁立, 汤圣祥, 裘宗恩, 曹永生, 王象坤, 李自超. 贵州栽培稻的遗传结构及其遗传多样性. *科学通报*, 2006, 51(23): 2747-2754  
Zhang D L, Zhang H L, Wei X H, Qi Y W, Wang M X, Sun J L, Ding L, Tang S X, Qiu Z E, Cao Y S, Wang X K, Li Z C. Genetic structure and diversity of cultivated rice in Guizhou province. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(23): 2747-2754
- [20] 应杰政, 施勇烽, 庄杰云, 薛庆中. 用微卫星标记评估中国水稻主栽品种的遗传多样性. *中国农业科学*, 2007, 40(4): 649-654  
Ying J Z, Shi Y F, Zhuang J Y, Xue Q Z. Microsatellite marker evaluation on genetic diversity of the major commercial rice varieties in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(4): 649-654
- [21] 程本义, 吴伟, 夏俊辉, 刘鑫, 杨仕华. 利用微卫星标记分析浙江省近年来主要水稻品种的遗传多样性. *中国水稻科学*, 2009, 23(5): 551-554  
Cheng B Y, Wu W, Xia J H, Liu X, Yang S H. Microsatellite marker analysis on genetic diversity of main rice varieties in Zhejiang province, China. *Chinese Journal of Rice Science*, 2009, 23(5): 551-554
- [22] 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  
Qi Y W, Zhang D L, Zhang H L, Wang M X, Sun J L, Liao D Q, Wei X H, Qiu Z E, Tang S X, Cao Y S, Wang X K, Li Z C. Genetic diversity of rice breeding varieties in China and its change trend in recent 50 years. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(6): 693-699