

用 SSR 标记分析高州野生稻的遗传多样性

李晨 潘大建 毛兴学 涂从勇 周汉钦 范芝兰 李晓方

(广东省农业科学院水稻研究所, 农业部重点实验室, 广州 510640. E-mail: lic1111@sina.com)

摘要 利用 24 对 SSR 引物比较了来自广东高州、江西、福建、云南等地区及东南亚不同国家共计 240 份普通野生稻材料的遗传多样性。结果表明, 24 对引物中平均有 17 个位点表现出了多态性, 平均多态位点比率为 69%; 平均总等位基因数、平均每个位点的等位基因数和多态位点的平均等位基因数分别为 51.1, 2.04 和 2.43; 平均基因多样性为 0.8447。高州野生稻 5 个居群间已经出现了较显著的分化。上述遗传多样性参数均表明, 高州镇江镇册山村(陂头洞)野生稻应该是高洲野生稻的一个遗传分化中心和遗传多样性中心。高州野生稻很可能是广东普通野生稻、华南和中国普通野生稻最大的一个遗传分化中心和遗传多样性中心。

关键词 高州野生稻 SSR 标记 遗传多样性 遗传分化

高州野生稻(简称“高野”, 下同)被确定为普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff), 是目前广东省普通野生稻分布面积最大的一个野生稻群体, 约有 300 亩(1 亩 = 666.67 m²)^[1], 分布于东经 110°36'48"~111°22'45", 北纬 21°42'34"~22°18'48", 属南亚热带与北热带的过渡地带, 其生长习性为水生性, 无明显越冬期, 四季常绿, 一年抽穗一次, 穗小、结实率低, 米粒呈褐色, 边抽穗、边成熟、边落粒, 具有抗病力强、抗虫力强、耐寒性强、耐瘠薄性强等特性, 是宝贵的稻种资源^[2]。

普通野生稻(以下简称普野)是亚洲栽培稻的野生祖先种。研究野生稻与栽培稻遗传多样性的差异、野生稻居群间及居群内的遗传多样性, 对野生稻的保护、开发和利用具有重要意义。王振山等人^[3]利用 24 对 RAPD 引物和 RFLP 标记对中国 3 个普野自然群体和栽培稻的遗传多样性进行了研究, 得出粳稻起源于中国境内、野生稻基因多样性主要来源于群体内(占 60%)的结论。Cai 等人^[4]用 15 个 RFLP 探针分析了来自中国江西东乡、云南元江、广西桂港 3 个普野自然群体的遗传多样性, 发现即使是在与栽培稻隔离较好的普野自然群体内也存在遗传多样性。Sun 等人^[5]用 RFLP 研究了亚洲栽培稻和普野的遗传多样性, 发现野生稻的遗传多样性大于栽培稻、籼稻大于粳稻, 在检测的 44 个位点上的等位基因数栽培稻约为野生稻的 70%。朱作峰等人^[6]用 30 对 SSR 引物比较了 52 份不同生态型的栽培稻和 34 份不同省(区)的普野的遗传多样性, 发现栽培稻与普野的差异主要来自野生稻, 结果说明野生稻的遗传多样性大于栽培稻。杨庆文等人^[7]利用 30 对 SSR 引物对广东高州普野 3 个群体

进行了遗传多样性分析和居群遗传分化研究, 结果表明, 广东高野 3 个群体总的遗传多样性主要来自居群内。

简单重复序列(simple sequence repeat, SSR), 又称微卫星 DNA, 是基因组中的二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸的简单串联重复。SSR 标记位点具有多态性高、呈共显性、操作简便、稳定可靠、重复性好等优点。简单重复序列长度多态性很容易通过 PCR 快速扩增和高分辨率的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 经济便捷。水稻中的 SSR 研究始于 1993 年^[8], 已广泛用于遗传多样性分析、种质鉴定、遗传图谱构建、基因定位及分子标记辅助育种等研究领域^[9,10]。本文用 SSR 标记对 164 份高野的遗传多样性进行初步研究。

1 材料与方法

() 供试材料。164 份高野、70 份国内其他地区的普野和 6 份东南亚野生稻(表 1)。

() DNA 提取。按照 Kangle 等人^[11]的 SDS 少量提取法。

() SSR 扩增反应及聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。15 μL 反应体系中含 1.3 μmol/L SSR 引物, 130 μmol/L dNTPs, 50 mmol/L KCL, 10 mmol/L Tris-HCL (pH 8.3), 1.5 mmol/L MgCL₂, 25 ng 模板 DNA, 1.25 U Taq 酶。反应程序: 94 预变性 5 min; 94 , 1 min, 55 , 1 min, 72 , 2 min, 40 个循环; 72 延伸 8 min。扩增产物在 8% 聚丙烯酰胺凝胶上分离, 用硝酸银染色。对分布于水稻 12 条染色体上的 24 对 SSR 引物(表 2)进行统计分析。

表1 野生稻来源及编号^{a)}

编号	来源	居群	编号	来源	居群
1~14, 66~110	高州镇江镇朋山村	1	183~186	广东惠州	11
15~65	高州镇江镇福石村	2	187~190	广东汕头	12
111~148	高州镇江镇大岭村	3	191~194, 215~240	广东韶关	13
149~153	高州祥山镇	4	195~196	东南亚(一年生)	14
154~164	高州镇江镇泊水村	5	197~200	东南亚(多年生)	15
165~168	海南	6	201~204	江西东乡	16
169~172	广东湛江	7	205~208	湖南	17
173~176	广东佛山	8	209~210	福建漳浦	18
177~178	广东深圳、东莞	9	211~212	云南	19
179~182	广州	10	213~214	广西	20

a) 205, 206 为湖南茶陵普野; 207, 208 为湖南江永普野; 211 为云南元江普野; 212 为云南景洪普野

表2 检测的 SSR 位点

位点	染色体	位点	染色体	位点	染色体	位点	染色体
RM1	1	RM280	4	RM172	7	RM294	10,1
RM14	1	RM335	4	RM70	7	RM184	10
RM27	2	RM39	5	RM152	8	RM144	11
RM110	2	RM13	5	RM310	8	RM254	11
RM16	3	RM111	6	RM107	9	RM277	12
RM85	3	RM30	6	RM288	9	RM309	12

() 数据统计与分析. 每对SSR引物检测 1 个位点, 视每条多态性带为 1 个等位基因, 将观测到的每条带视为 1 个性状, 有此带时赋值为“1”, 无此带时赋值为“0”, 每 2 份材料间的遗传差异按 Nei^[12] 的方法求算遗传距离 D , 即 $D = 1 - 2M_{xy} / (M_x + M_y)$, 其中 M_x 和 M_y 分别为两材料的总片段数, M_{xy} 为两材料的公共片段数. 根据所得的遗传距离, 用 UPGMA 法^[13] 进行聚类分析, 并绘制树状图.

() 遗传多样性的评价^[14]. (1) 多态位点的比率 P . $P = (k/n) \times 100\%$, k 为多态位点数, n 为检测位点总数. (2) 平均每个位点的等位基因数 A . $A = \sum A_i / n$, A_i 为第 i 个位点上的等位基因数, n 为检测位点总数. (3) 多态位点的平均等位基因数 A_p . $A_p = \sum A_{pi} / n_p$, A_{pi} 为第 i 个多态位点上的等位基因数, n_p 为检测多态位点总数. (4) 平均基因多样性 H_s ^[15]. $H_s = 1 - \sum q_{ij}^2$, q_{ij} 为第 i 个位点第 j 个等位基因的纯合基因型的频率, n 为检测位点总数.

2 结果与分析

2.1 不同居群普野遗传多样性比较

() 多态位点数及多态位点的比率. 从表 3 可以看出, 不同居群普野的多态位点数及多态位点的比率不同, 其中高州镇江镇朋山村和福石村普野数最高, 在所检测的 25 个位点中, 24 个位点具有多态性, 多态位点的百分率达 96%; 其次是高州镇江大岭村普野, 多态位点的百分率达 80%; 高州镇江泊水村和祥山镇普野多态位点的百分率较高, 分别达 72% 和 68%. 广东其他地区和东南亚普野多态位点的比率较高; 福建普野最低, 在所检测的 25 个位点中, 仅 10 个位点具有多态性.

性, 多态位点的百分率达 96%; 其次是高州镇江大岭村普野, 多态位点的百分率达 80%; 高州镇江泊水村和祥山镇普野多态位点的百分率较高, 分别达 72% 和 68%. 广东其他地区和东南亚普野多态位点的比率较高; 福建普野最低, 在所检测的 25 个位点中, 仅 10 个位点具有多态性.

表3 不同居群普野的遗传多样性参数^{a)}

居群	N_p	P	N_a	A	A_p	H_s
1	24	0.96	80	3.20	3.29	0.9471
2	24	0.96	75	3.00	3.08	0.9382
3	18	0.72	55	2.20	2.67	0.8920
4	17	0.68	40	1.60	1.88	0.7655
5	20	0.80	56	2.24	2.55	0.8881
6	16	0.64	53	2.12	2.75	0.8748
7	19	0.76	52	2.08	2.42	0.8958
8	11	0.44	46	1.84	2.91	0.8839
9	14	0.56	41	1.64	2.14	0.7986
10	17	0.68	49	1.96	2.41	0.8590
11	20	0.80	56	2.24	2.55	0.8920
12	17	0.68	46	1.84	2.24	0.8400
13	23	0.92	73	2.92	3.09	0.9365
14	18	0.72	50	2.00	2.39	0.8646
15	21	0.84	57	2.28	2.52	0.8958
16	12	0.48	33	1.32	1.67	0.6891
17	16	0.64	49	1.96	2.50	0.8590
18	10	0.40	29	1.16	1.40	0.5974
19	15	0.60	40	1.60	2.00	0.7774
20	15	0.60	42	1.68	2.13	0.7986
平均值	17.35	0.69	51.1	2.04	2.43	0.8447

a) N_p : 多态位点数; P : 多态位点比率; N_a : 总等位基因数; A : 平均每个位点的等位基因数; A_p : 多态位点的平均等位基因数; H_s : 平均基因多样性. 下同

() 总的等位基因数和平均每个位点的等位基因数. 等位基因数反映了居群多态位点上的基因丰富程度, 在被检测的 25 个位点中, 高州镇江镇朋山村普野总共有等位基因 80 个, 平均每个位点的等位基因达 3.2 个, 在所有居群中为最高, 说明高州镇江镇朋山村普野的基因丰富度最高; 高州镇江福石村普野的基因丰富度次高; 高州镇江泊水村和大岭村普野较高; 高州祥山镇普野较低, 总等位基因数仅为 40 个, 平均每个位点的等位基因数仅有 1.6 个. 其余居群的基因丰富程度从大到小依次为: 广东韶关、东南亚多年生普野、广东惠州、海南、广东湛江、东南亚一年生普野、广州和湖南、广东佛山和广东汕头、广西、广东深圳及东莞、云南、江西、福建. 其中, 福建普野的基因丰富度最低, 总等位基因数仅为 29 个, 平均每个位点的等位基因数仅有 1.16 个. 多态位点的平均等位基因数以高州镇江镇朋山村普野为最高, 广东韶关和高州镇江镇福石村普野次之, 其余居群从大到小依次为: 广东佛山、海南、高州镇江镇大岭村、高州镇江镇泊水村和广东惠州、东南亚多年生普野、湖南、广东湛江、广州、东南亚一年生普野、广东汕头、广东深圳及东莞、广西、云南、高州祥山镇、江西、福建. 福建普野多态位点的平均等位基因数仅为 1.4 个(表 3).

() 平均基因多样性的比较. 平均基因多样性仍以高州镇江镇朋山村普野为最大, 达 0.9471; 高州镇江福石村普野次之, 为 0.9382; 以下依次为: 广东韶关、广东湛江和东南亚多年生普野、高州镇江镇大岭村和广东惠州、高州镇江镇泊水村、广东佛山、海南、东南亚一年生普野、广州和湖南、广东汕头、广西和广东深圳及东莞、云南、高州祥山镇、江西、福建. 其中, 福建普野最低, 为 0.5974(表 3).

将不同居群普野的遗传多样性进行比较, 发现在多态位点的比率、等位基因数、平均遗传多样性等几个参数变化趋势上, 均以高州镇江镇朋山村普野为最大, 高州镇江福石村普野次之, 而以江西、福建普野为最小. 结果表明, 广东高野 5 个群体总的遗传多样性主要来自居群内, 高州镇江镇朋山村(陂头洞)普野遗传多样性最高, 这与杨庆文等^[7]的研究结果一致.

2.2 不同地区普野遗传多样性比较

() 多态位点数及多态位点的比率. 从表 4 可以看出, 不同地区普野的多态位点数及多态位点的

比率不同, 其中国内各省(含广东)、广东野生稻(含高野)、广东野生稻(不含高野)数最高, 在所检测的 25 个位点中, 全部具有多态性, 多态位点的百分率达 100%; 其次是国内其他各省(不含广东)及高野, 多态位点的百分率达 96%; 东南亚普野最低, 在所检测的 25 个位点中, 21 个位点具有多态性, 多态位点的百分率为 84%.

表 4 不同地区普野的遗传多样性参数

地区	<i>N_p</i>	<i>P</i>	<i>N_a</i>	<i>A</i>	<i>A_p</i>	<i>H_s</i>
高野	24	0.96	84	3.36	3.36	0.9520
广东野生稻(不含高野)	25	1.00	89	3.56	3.56	0.9573
广东野生稻(含高野)	25	1.00	92	3.68	3.68	0.9600
国内其他各省(不含广东)	24	0.96	76	3.04	3.13	0.9414
国内各省(含广东)	25	1.00	92	3.68	3.68	0.9600
东南亚	21	0.84	67	2.68	3.00	0.9246

() 总的等位基因数和平均每个位点的等位基因数. 在被检测的 25 个位点中, 国内各省(含广东)、广东野生稻(含高野)有 92 个等位基因, 平均每个位点的等位基因达 3.68 个, 在所有地区中为最高, 说明它们的基因丰富度最高; 广东野生稻(不含高野)的基因丰富度次高; 高野较高; 国内其他各省(不含广东)较低; 东南亚普野最低, 等位基因数仅为 67 个, 平均每个位点的等位基因数仅有 2.68 个. 多态位点的平均等位基因数以国内各省(含广东)、广东野生稻(含高野)为最高; 广东野生稻(不含高野)次之; 东南亚普野多态位点的平均等位基因数仅为 3.00 个(表 4).

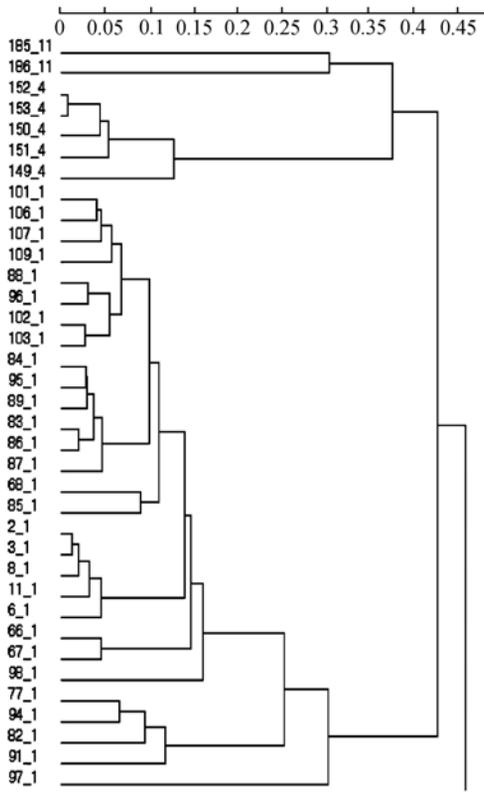
() 平均基因多样性的比较. 平均基因多样性仍以国内各省(含广东)、广东野生稻(含高野)为最大, 达 0.9600; 广东野生稻(不含高野)次之, 为 0.9573; 以下依次为: 高野、国内其他各省(不含广东)、东南亚普野. 其中, 东南亚普野最低, 为 0.9246(表 4).

将不同地区普野的遗传多样性进行比较, 发现在多态位点的比率、等位基因数、平均遗传多样性等几个参数变化趋势上, 均以国内各省(含广东)、广东野生稻(含高野)为最大, 广东野生稻(不含高野)次之, 而以东南亚普野为最小, 这一点与孙传清等人^[14]的研究相一致.

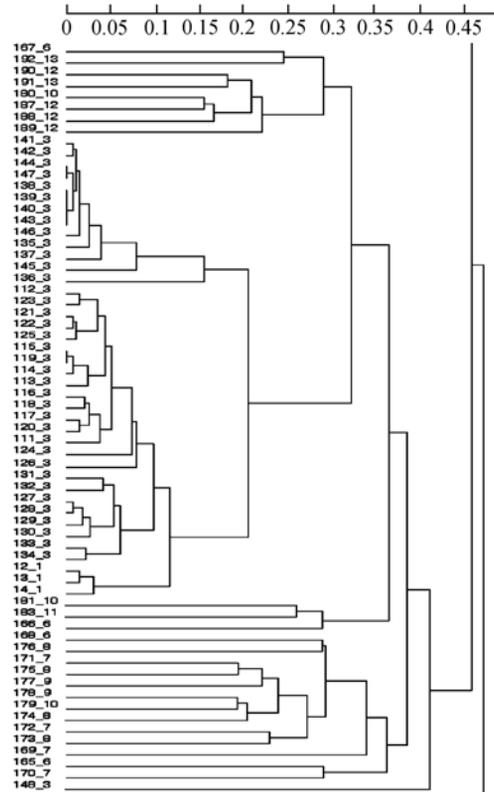
2.3 聚类分析

根据 Nei^[12]求遗传距离, 用 UPGMA 法对所有材料进行聚类分析, 并绘制成树状图(图 1).

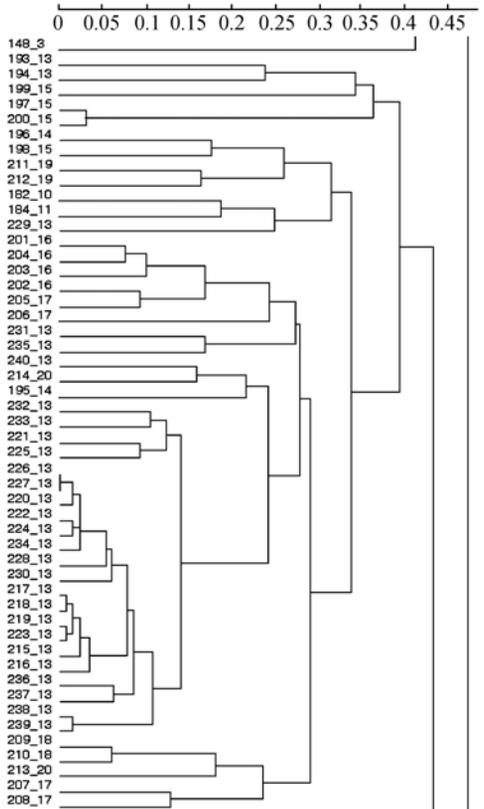
高州祥山镇普野的 5 份材料遗传距离近, 聚成一小类, 其与广东惠州 2 份普野材料聚成较大的一类; 而高州镇江镇朋山村普野 29 份材料遗传距离近, 聚



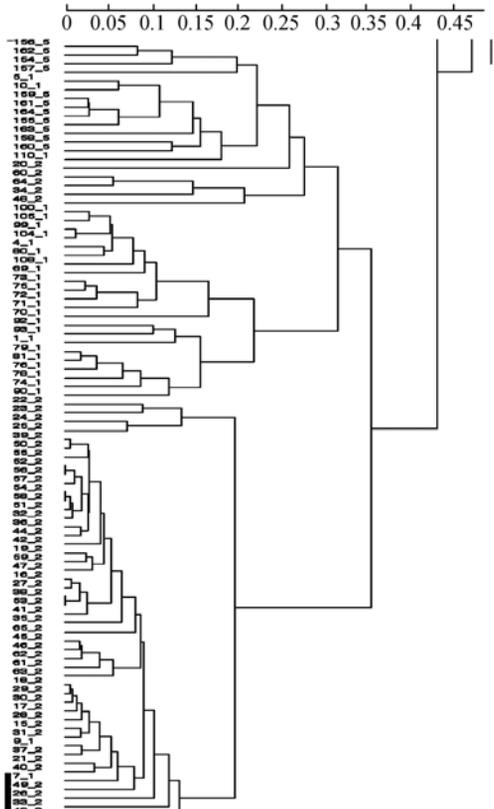
(a)



(b)



(c)



(d)

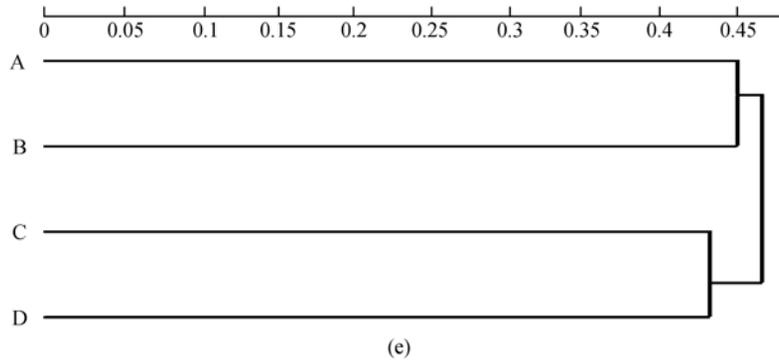


图 1 24 对 SSR 引物 240 份普野的聚类分析树状图

185-11 中 185 代表第 185 号材料, 11 代表第 11 居群, 其余的以此类推. (a) A 大类; (b) B 大类; (c) C 大类; (d) D 大类; (e) 前 4 大类的聚类分析

成较大的一类, 与前者聚成 A 大类(图 1(a)). 高州镇江镇大岭村普野 37 份、朋山村普野 3 份、海南 1 份、广州 1 份、汕头 4 份及韶关 1 份聚成一类, 它们与海南、广州、惠州各 1 份聚成一类, 与湛江 4 份、佛山 4 份、深圳及东莞 2 份、海南 2 份、广州 1 份及惠州 1 份材料聚成较大的一类, 与高州镇江镇大岭村普野 1 份聚成 B 大类(图 1(b)). 韶关 28 份、东南亚普野 6 份、江西普野 4 份、湖南普野 4 份、福建普野 2 份、云南普野 2 份、广西普野 2 份、广州和惠州各 1 份聚成 C 大类(图 1(c)). 高州镇江镇泊水村普野 11 份、朋山村普野 3 份、福石村普野 5 份聚成一类, 朋山村普野 22 份聚成一类, 二者聚成较大一类; 高州镇江镇福石村普野 42 份与朋山村普野 2 份聚成一类, 与福石村普野 4 份聚成较大一类. 两个较大类聚成 D 大类(图 1(d)). A 与 B 聚成更大的一类, C 与 D 聚成更大的一类.

图 1 结果显示, 高州野生稻与东南亚及我国其他地区的普野有明显的差异, 而且高州野生稻具有丰富的遗传多样性. 高州祥山镇、镇江镇泊水村普野、高州镇江镇大岭村、福石村普野分别存在于 A, D, B 和 D 大类中, 其遗传多样性较低; 高州镇江镇朋山村普野存在于 A, B, D 三大类中, 其遗传多样性最高.

高州野生稻 5 个居群内的平均遗传距离依次为 0.5041, 0.2394, 0.2294, 0.1611 和 0.3597, 其中, 高州镇江镇朋山村普野的最高, 也显示出其具有最为丰富的遗传多样性. 高州野生稻 5 个居群间的平均遗传距离为 0.7045, 显示出居群间已经出现了较显著的分化. 高州野生稻与其他野生稻间的平均遗传距离为 0.7525, 也表明高州野生稻与其他野生稻之间有明显的差异, 与朱作峰等人^[6]的研究结果(广东和广

西普野的分化程度较深刻)相同.

3 讨论

3.1 广东高野极有可能是中国普野的一个遗传多样性中心

植物遗传多样性是作物育种的物质基础, 植物资源工作者一生追求的目标之一是为作物育种寻找植物遗传多样性中心, 如前苏联科学家瓦维洛夫终其一生将全球多样化植物生长地区划分为八大遗传多样性中心. 现今作物育种的瓶颈依然是遗传基础狭窄. 然而, Sun 等人^[5]对水稻 DNA 研究表明, 普通栽培稻基因仅为野生稻的 60%, 说明更为重要的是寻找野生稻多样化中心. 面积达 500 亩(新近发现 200 亩)高野的发现对处于濒危状况的中国野生稻来讲具有重要意义.

中国普野的遗传多样性中心在哪里? 高立志等人^[16]对 607 份分布于中国南部 8 个省份的 21 自然群体的 22 个等位酶位点进行了分析, 认为广东和广西的遗传多样性显著地高于其他地区. 本研究利用多态位点数、多态位点比率、总等位基因数、平均每个位点的等位基因数、多态位点的平均等位基因数、平均基因多样性等指标对 164 份高野、70 份国内其他地区的普野和 6 份东南亚野生稻的遗传多样性进行了探讨, 结果表明, 广东高野有可能是中国普野最大的一个遗传多样性中心.

从表 4 可以看出, 中国普野总的遗传多样性高于东南亚普野, 这与孙传清等人^[14]的研究是一致的. 同时, 从表中也发现, 广东普野总的遗传多样性明显大于国内其他各省普野, 似乎可以看作是中国野生稻

的一个遗传多样性中心. 从表 5 可以看出, 在广东不同地区普野中, 高野对于广东普野遗传多样性的贡献最大, 韶关和湛江普野次之, 而佛山、深圳及东莞、广州、惠州、汕头普野对于广东普野的遗传多样性贡献较小. 图 2 结果显示, 从广东高州向西, 经过广西到云南; 广东高州向西南, 经过湛江到海南; 广东高州向北, 经过韶关到湖南和江西; 广东高州向东南, 经过佛山、广州、惠州及汕头到福建; 广东高州向东, 向北、向西、向南, 遗传多样性总的趋势却在逐步降低. 高野的发现, 提高了整个广东野生稻总的等位基因数、平均每个位点的等位基因数和平均基因多样性, 从而提高了整个广东野生稻的遗传多样性, 似乎可以认为高野即是广东普野的遗传多样性中心. 因此, 保护、发掘、利用高野中的有利基因, 对于水稻遗传研究和育种应用意义深远. 表 6 结果显示, 在高野的 5 个居群中, 朋山村普野对于高野的遗传多样性的贡献最大, 福石村普野次之, 而大岭村、祥山镇、泊水村普野对于高野的遗传多样性贡献较小. 图 3 结果显示, 从朋山村分别到泊水村、福石村、大岭村和祥山

镇, 总的遗传多样性在逐步降低, 说明朋山村普野应该是高野遗传多样性中心的中心. 在高野的保护、研究与利用中, 应优先考虑朋山村普野. 应该指出的是, 本研究中由于某种原因, 海南、广西、云南、江西、福建等地的普野参试材料偏少, 是否对其遗传多样性的估计会有大的偏差呢? 扬庆文¹⁾对我国 7 省的 7 个普野群体的 SSR 分析, 样本数都比较大, 结果表明, 广东高野遗传多样性最大, 海南次之, 江西、福建、云南三省最小, 与本研究结果几乎一致, 这说明本研究的遗传多样性变化趋势是可信的. 笔者已计划增加广西、海南、云南、江西等地的材料份数, 对这一结论进行进一步的验证.

3.2 广东高野有可能是中国普野的一个分化中心

普野的遗传多样性来自普野的遗传分化. 才宏伟²⁾通过对华南普野和栽培稻的遗传分析认为华南是普野分化的中心. 本研究结果表明, 广东高州普野有可能是中国华南普野的一个分化中心.

基因突变是生物进化的基础, 也是野生稻与栽培稻遗传分化的基础^[17]. 黄燕红等人^[18]对江西与广西三

表 5 广东不同地区普野的遗传多样性参数

地区	<i>N_p</i>	<i>P</i>	<i>N_a</i>	<i>A</i>	<i>A_p</i>	<i>H_s</i>
高野	24	0.96	84	3.36	3.36	0.9520
广东野生稻(含高野)	25	1.00	92	3.68	3.68	0.9600
广东野生稻(不含高野)	25	1.00	89	3.56	3.56	0.9573
广东野生稻(不含湛江)	25	1.00	91	3.64	3.64	0.9591
广东野生稻(不含佛山)	25	1.00	92	3.68	3.68	0.9600
广东野生稻(不含深圳、东莞)	25	1.00	92	3.68	3.68	0.9600
广东野生稻(不含广州)	25	1.00	92	3.68	3.68	0.9600
广东野生稻(不含惠州)	25	1.00	92	3.68	3.68	0.9600
广东野生稻(不含汕头)	25	1.00	92	3.68	3.68	0.9600
广东野生稻(不含韶关)	25	1.00	91	3.64	3.64	0.9591
广东野生稻(不含高野、湛江和韶关普野)	23	0.92	79	3.16	3.35	0.9458
高野、湛江和韶关普野	25	1.00	91	3.64	3.64	0.9591

表 6 高野的遗传多样性参数

地区	<i>N_p</i>	<i>P</i>	<i>N_a</i>	<i>A</i>	<i>A_p</i>	<i>H_s</i>
高野	24	0.96	84	3.36	3.46	0.9520
高野(不含朋山村普野)	24	0.96	79	3.16	3.25	0.9458
高野(不含福石村普野)	24	0.96	83	3.32	3.42	0.9509
高野(不含大岭村普野)	24	0.96	84	3.36	3.46	0.9520
高野(不含祥山镇普野)	24	0.96	84	3.36	3.46	0.9520
高野(不含泊水村普野)	24	0.96	84	3.36	3.46	0.9520
高野(不含朋山村、福石村普野)	24	0.96	75	3.00	3.08	0.9398
朋山村和福石村普野	24	0.96	83	3.32	3.42	0.9509

1) 扬庆文. 中国普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff)的遗传多样性及其保护研究. 中国农业大学博士学位论文, 2004
 2) 才宏伟. 中国栽培稻的起源及 Est-X 位点的 RFLP 定位. 北京农业大学博士学位论文, 1993

个普野群体的遗传分析表明, 东乡普野、桂林普野和扶绥普野在不同基因位点上, 因基因突变而发生了明显的籼粳分化. 本研究中高野在多态性位点总数与多态位点的平均等位基因数上均高于其他参试普野, 从而表明, 高野既是遗传多样性中心又是遗传分化中心.

从遗传距离来看, 朋山村普野 29 份材料与祥山镇普野 5 份材料和惠州 2 份材料的遗传距离较近, 显示出它们的亲缘关系较近, 结合它们总的遗传多样性大小分析, 有可能是朋山村普野产生分化以后, 向祥山镇、惠州传播的结果(图 1(a), 图 2 和 3); 朋山村普野 3 份材料与大岭村普野 37 份、海南 4 份、韶关 2 份、汕头 4 份、广州 3 份、惠州 1 份、佛山 4 份、深圳及东莞 2 份和湛江 4 份材料的遗传距离较近, 结合它们总的遗传多样性大小分析, 有可能是朋山村普野产生分化以后, 向这些地区传播的结果(图 1(b), 图 2 和 3); 朋山村普野 27 份材料与福石村普野 51 份和泊水村普野 11 份材料的遗传距离较近, 结合它们总的遗传多样性大小分析, 似乎是朋山村普野产生分化以后, 向福石村、泊水村传播的结果(图 1(d), 图 2 和 3); 韶关 28 份材料与广州 1 份、惠州 1 份、东南亚 6 份、江西 4

份、湖南 4 份、福建 2 份、云南 2 份、广西 2 份材料的遗传距离较近, 结合它们总的遗传多样性大小分析, 韶关普野有可能是一个遗传多样性和遗传分化的次级中心, 它产生分化以后, 向这些地区传播的结果(图 1(c), 图 2 和 3). 由此看来, 朋山村普野很有可能是国内华南普野的一个分化中心, 国内其他地区的普野似乎是由朋山村普野传播扩散而来. 由于材料有限, 这一结论还有待于进一步验证.

野生稻遗传多样性的研究以及从野生稻中发掘优异功能基因日益受到重视. Xiao 等人^[19]从低产野生稻中找到两个增产 18% 的 QTL, 李德军等人^[20]从低产的江西东乡野生稻中找到两个高产 QTL. 已经克隆的高抗白叶枯病基因 *Xa21*^[21,22] 发现于长花药野生稻 (*O. longistaminata*). 孙传清等人^[14]和朱作峰等人^[6]的研究表明, 野生稻中有大量基因在栽培稻中已经丢失, 栽培稻的等位基因约为野生稻的 60%. 本研究结果也表明, 广东高州野生稻(尤其是朋山村普野)具有丰富的遗传多样性, 笔者从高野中已经发现高抗白叶枯病和稻瘟病的材料若干份(资料, 未发表), 这些结果均说明从野生稻中发掘有利基因的巨大潜力.

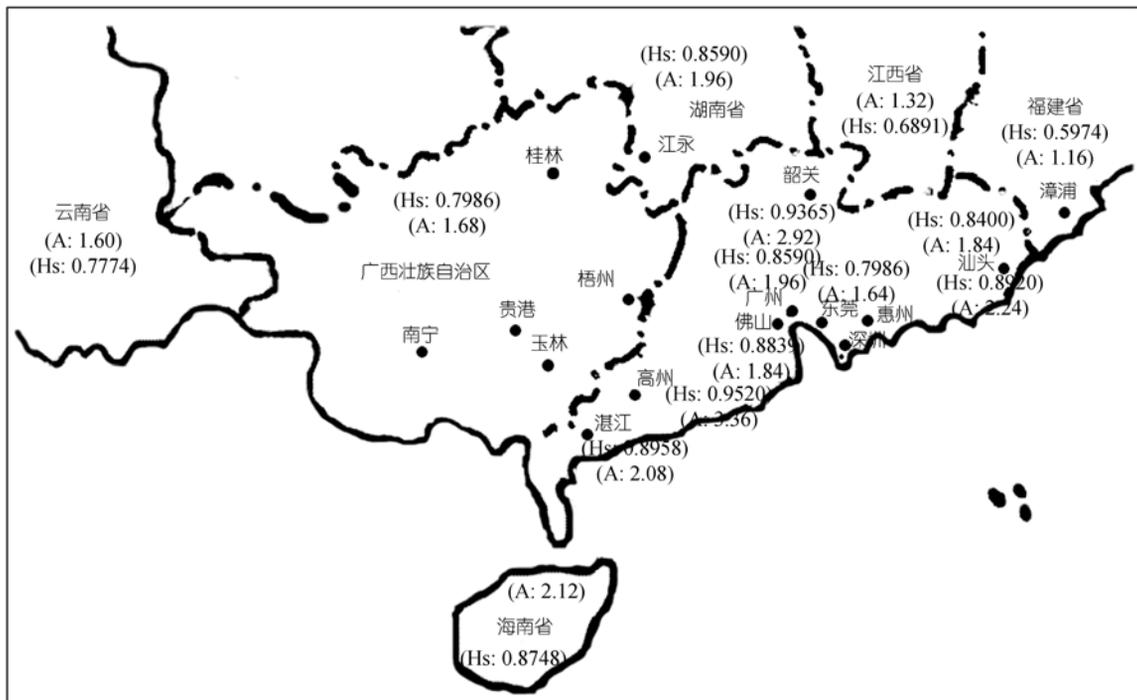


图 2 广东省和国内其他省区普野遗传多态性分布示意图
A, 平均每个位点的等位基因数

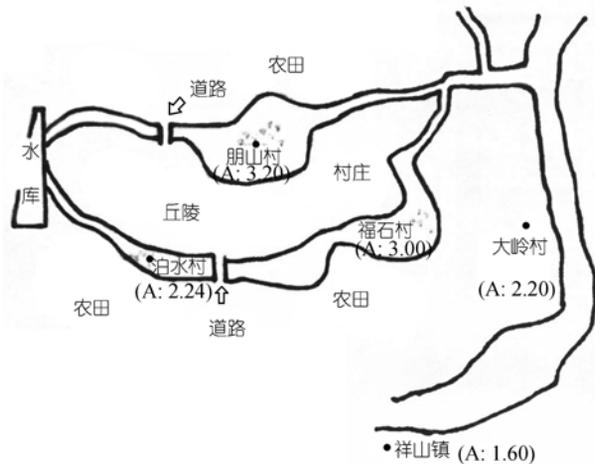


图3 广东高野遗传多态性分布示意图
A, 平均每个位点的等位基因数

致谢 衷心感谢王象坤先生、孙传清教授的大力支持与指导, 对朱作峰博士、谭禄宾博士、张洪亮博士的热心帮助深表谢意。本工作受广东省农业厅、财政厅“十五”农业重点项目及广东省科技厅“十五”特定项目资助。

参 考 文 献

- 1 暨淑仪, 王净, 王殿蓓, 等. 高州普通野生稻现状调查. 中国野生稻研究与利用. 第一届全国野生稻大会论文集. 北京: 气象出版社, 2004. 77~80
- 2 黄坤德. 高州野生稻编目. 中国野生稻研究与利用. 第一届全国野生稻大会, 江西, 2003. 108~110
- 3 王振山, 朱立煌, 刘志勇, 等. 野生稻天然群体限制性片段长度多态性(RFLP)研究. 农业生物技术学报, 1996, 4(2): 111~117
- 4 Cai H W, Wang X K, Morishima H. Genetic diversity of wild rice population. In: Wang X K, Sun C Q, eds. Origin and Differentiation of Chinese Cultivated Rice. Beijing: China Agricultural University Press, 1996: 154~156
- 5 Sun C Q, Wang X K, Li Z C, Yaoshimura A. Comparison of the genetic diversity of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff) and cultivated rice (*O. sativa* L) using RFLP markers. Theor Appl Genet, 2001, 102: 157~162[DOI]
- 6 朱作峰, 孙传清, 付永彩, 等. 用 SSR 标记比较亚洲栽培稻与普通野生稻的遗传多样性. 中国农业科学, 2002, 35(12): 1437~1441

- 7 杨庆文, 张万霞, 时津霞, 等. 广东高州普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff)的遗传多样性和居群遗传分化研究. 植物遗传资源学报, 2004, 5(4): 315~319
- 8 Wu K S, Tanksley S D. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. Mol Gen Genet, 1993, (24): 223~235
- 9 方宣钧, 吴为人, 唐纪良. 作物 DNA 标记辅助育种. 北京: 科学出版社, 2001. 10~21
- 10 Mc Couch S R, Temnykh S, Lukashova A, et al. Microsatellite markers in rice: Abundance, diversity, and applications. In: Khush G S, Brar D S, Hardy B, eds. Rice Genetics. New Hampshire: Science Publishers, 2001. 117~135
- 11 Kangle Z, Ning H, John B, et al. PCR-based marker-assisted selection in rice breeding. Manila: IRRI, 1995. 6~8
- 12 Nei M. Molecular Evolution Genetic. New York: Columbia University Press, 1987. 190~191
- 13 Sokal R R, Michener C D. A statistic method for evaluating systematic relationships. Sci Bull Univ Kanas, 1958, 28: 1409~1439
- 14 孙传清, 王象坤, 吉村淳, 等. 普通野生稻和亚洲栽培稻遗传多样性的研究. 遗传学报, 2000, 27(3): 227~234
- 15 Sano R, Morishima H. *Indica-japonica* differentiation of rice cultivars viewed from variations in key characters and isozymes with special reference to landraces from the Himalayan hilly areas. Theor Appl Genet, 1992, 84: 266~274
- 16 高立志, 周毅, 葛颂, 等. 广西普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff)的遗传资源现状及其保护对策. 中国农业科学, 1998, 31(1): 32~39
- 17 王象坤, 孙传清, 李自超. 中国栽培稻的起源与进化. 见: 刘厚利, 主编. 作物育种学论丛. 北京: 中国农业大学出版社, 2003. 1~24
- 18 黄燕红, 孙新立, 王象坤. 亚洲栽培稻分散起源的研究. 植物遗传资源学报, 2003, 4(2): 185~190
- 19 Xiao J H, Grandillo S, Ahn S N. Genes from wild rice improve yield. Nature, 1996, 384: 223~224[DOI]
- 20 李德军, 孙传清, 付永彩, 等. 利用AB-QTL法定位江西东乡野生稻中的高产基因. 科学通报, 2002, 47(11): 854~858[摘要] [PDF]
- 21 Khush G S, E Bacalangco, T Ogawa. A new gene for resistance to bacterial blight from *O. longistaminata*. RGN, 1990, 7: 121~122
- 22 Song W Y, G L Wang, L L Chen, et al. The rice disease resistance gene, *Xa21*, encodes a receptor kinase-like protein. Science, 1995, 270: 1804~1806

(2005-10-12 收稿, 2005-12-15 接受)