

中国籼稻亚种内的群体结构及地理生态分化

张冬玲^①, 张洪亮^{①*}, 齐永文^{①②}, 王美兴^{①③}, 孙俊立^{①④}, 丁立^⑤, 李自超^{①*}

① 中国农业大学农业部作物杂种优势与利用重点实验室, 北京市作物遗传改良实验室, 北京 100193;

② 广州甘蔗糖业研究所, 广州 510316;

③ 浙江农业科学院作物与核利用研究所, 杭州 310021;

④ 农业部科技教育司, 北京 100026;

⑤ 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081

* 联系人, E-mail: zhangl@cau.edu.cn; lizichao@cau.edu.cn

2011-07-20 收稿, 2011-08-16 接受

国家重点基础研究发展计划(2010CB125904, 2004CB117201)和国家自然科学基金(30871506)资助

摘要 籼稻是亚洲和世界其他一些地区广为种植的主要栽培稻亚种, 同时也是我国杂交水稻恢复系的主要来源. 研究籼稻亚种内的遗传结构和遗传多样性对中国栽培稻亚种内的分类和演化以及水稻杂种优势利用具有重要的理论和实践意义. 本研究通过 36 个 SSR 标记对 1582 份籼稻地方品种的群体结构和地理生态分化进行了分析. 结果表明, 利用分子标记所做基于模型和基于遗传距离的群体结构表现一致, 即早籼稻生态型可划分为 4 个地理生态群, 中间型生态型可划分为 3 个地理生态群, 晚籼稻生态型可划分为 2 个地理生态群. 当地的生态环境和空间隔离是形成地理分化的主要原因. 地理生态群既体现了品种间的遗传差异又是对不同生态环境适应的反映, 可用于籼稻亚种内杂种优势群划分的依据. 根据 SSR 标记在各个生态型及地理生态群的基因型分布, 筛选了可用于鉴别各生态型和地理生态群的 SSR 特征等位变异并建立了相应的 SSR 分子判别式. 通过 SSR 分子判别式选择籼稻的中间类型开展籼粳杂种优势研究以及选择不同地理生态类型开展籼稻亚种内杂种优势研究, 有助于突破籼粳杂种优势利用的障碍和加强籼稻亚种内杂种优势利用.

关键词

生态地理分化
籼稻
SSR 标记

水稻(*Oryza sativa* L.)是世界上最重要的粮食作物之一. 中国作为亚洲栽培稻的起源地之一^[1], 拥有丰富的稻种资源. 目前, 国家种质资源库收集保存栽培稻 7 万余份, 其中籼稻种质资源占 67% (ICGR CAAS 1996). 我国籼稻种植面积占水稻总面积的 70%, 杂交籼稻种植面积已占中国籼稻面积的近 80%. 因此, 籼稻在我国水稻研究和生产实践中具有重要的地位. 前人研究表明, 籼稻较粳稻具有更加丰富的遗传多样性^[2,3]. 然而, 近年来, 大面积推广种植的选育品种遗传基础狭窄. 系谱资料研究表明, 我国栽培稻选育品种籼稻类型主要源于矮仔占、南特号和 Peta 三个血缘, 导致了品种的单一化和遗传脆弱性.

栽培稻的分类一直受到各国科学家的高度重视, 国内外学者相继提出了多种分类体系. 籼、粳是亚洲栽培稻遗传分化的主流, 已有了比较一致的认识. 然而, 每个亚种内的遗传分化及分类却一直没有一致的意见. 丁颖^[4]提出了栽培稻种的亚种-群-型-变种 5 级分类法; 程侃声等人^[5]提出亚洲栽培稻按种-亚种-生态群-生态型-品种作 5 级分类. 然而, 这些传统的分类体系利用了大量的表型性状, 而多数表型性状均为数量性状, 受多基因控制, 且环境常常对表型起一种饰变作用. 表型性状与 DNA 分子水平上的遗传演化不一定完全协同, 目前, 从 DNA 分子水平上系统地分析水稻亚种内的遗传结构及其地理分化报道

英文引用格式: Zhang D L, Zhang H L, Qi Y W, et al. Genetic structure and eco-geographical differentiation of cultivated Hsien rice (*Oryza sativa* L. subsp. *indica*) in China revealed by microsatellites (in Chinese). *Chin Sci Bull (Chin Ver)*, 2012, 57: 248–257, doi: 10.1360/972011-1100

较少. 利用 SSR 标记和中国稻种资源初级核心种质分析遗传结构^[6], 结果将籼亚种分为早籼生态型、晚籼生态型和中间型等 3 个生态型, 但在每种生态型内可能还存在亚结构.

水稻中籼、粳亚种间杂种优势的利用已得到广泛的关注, 但是, 由于存在 F₁ 代半不育等诸多问题, 亚种间杂种优势一直难以直接利用^[7]. 因此, 亚种内不同生态类型间的杂种优势利用已成为育种家的共识. 另外, 杂种优势群的已在玉米杂种优势育种上得到广泛的应用^[8,9], 但是, 在水稻杂种优势群研究和利用方面进展不大^[10,11]. 可见, 进一步分析亚种内各生态型及其亚生态型或地理生态群不仅可以为水稻亚种内的演化和分化具有重要理论意义, 而且为水稻杂种优势群的研究提供分类的依据.

利用分子标记分析种质资源的遗传结构、演化及其多样性分布已被广泛应用^[6,12,13], 因此, 通过对籼稻种质资源的 SSR 分析, 研究籼亚种内的遗传结构和生态型划分具有可行性. 本研究选取 1582 份籼稻材料, 利用分布于水稻 12 条染色体上的 36 个微卫星标记系统分析中国籼稻的群体结构、遗传多样性及地理分化, 研究籼稻亚种内遗传演化的特点及各地理生态群的分布规律, 为稻种资源的起源进化研究、遗传多样性的保护、新种质的发掘与杂种优势群的研究与利用等提供理论指导.

1 材料与方法

(i) 材料. 实验材料来自中国栽培稻种初级核心种质中的籼稻品种, 共 1582 份. 初级核心种质是由中国栽培稻种质资源库经表型性状筛选、聚类而成^[14]. 因此, 对整个中国的籼稻资源具有较强的代表性, 全面覆盖中国籼稻分布的 4 个稻作生态区.

(ii) DNA 提取及 SSR 扩增. 利用苗期的幼嫩叶

片采用 1% 的 CTAB 方法提取基因组 DNA^[15], 利用紫外分光光度计测定浓度. 均匀选取分布在水稻 12 条染色体上的 36 对 SSR 引物. 每 15 μL 反应体系中含有 50 ng 模板 DNA, 10×缓冲液 1.5 μL (22.5 mmol/L MgCl₂), SSR 引物 92.4 ng, dNTP 1.8 mmol/L. PCR 反应程序为: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 1 min, 55℃ 退火 0.5 min, 72℃ 延伸 1 min, 30 循环; 72℃ 延伸 10 min. 扩增产物进行 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 恒定功率 70 W. 电泳时间 2 h, 利用银染法进行染色^[16]. 用 Invitrogen 公司生产的 10 bp Ladder 测定 36 对引物扩增条带的分子量.

(iii) 数据分析. 微卫星水平的基因多样性采用 Nei 遗传多样性指数 ($He = 1 - \sum p_i^2$)^[17]. 群体的遗传结构采用 Structure 2.0 软件分析^[18,19], 每个 K 值重复 5 次. 基于 Nei's 遗传距离 D_A ^[20] 的 Neighbor-Joining 聚类图采用 Powermarker 3.25 软件构建^[21]. 计算各群体的标准分子量^[22] 及群体间分化系数 ($G_{ST} = D_{ST} / H_T$)^[23]. 利用 SPSS 11.0 进行相关分析与差异性检验.

2 结果与分析

2.1 籼稻的群体结构

中国地方稻种资源的籼稻亚种内的遗传结构主要分为早、晚和中间型 3 个生态型 (分别表示为 *Ind.E*, *Ind.L* 和 *Ind.M*), 但由于其 $\ln P(D)$ 值在 K 值从 1~15 的过程中一直增大, 表明在每种生态型内可能还存在亚结构^[6]. 因此, 本研究主要分析这 3 种生态型内的亚群体结构. 我们依据 Evanno 等人^[24] 提出的一种检测自然群体聚类数的方法来确定每种生态型内的亚群体结构的数目. 结果如图 1 所示, 早籼稻生态型在 K=4 时有个明显的峰值; 晚籼稻生态型在 K=2 时有个明显的峰值; 中间型生态型在 K=3 时有个明显

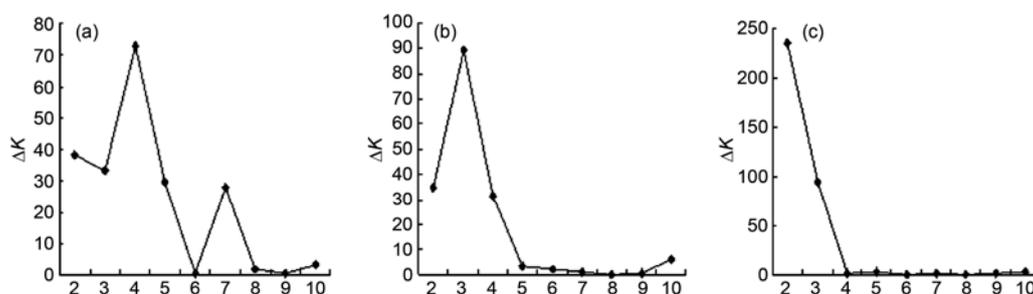


图 1 基于模型的 Structure 分析中的 ΔK 值
(a) 早籼稻生态型; (b) 中间型生态型; (c) 晚籼稻生态型

的峰值.

我们将每种生态型内划分的群体与预先已知的信息进行比较分析,结果显示,它们与地理分布有密切关系,由此表明在每种生态型内都存在不同程度的地理分化,即每一个生态型内都显示出不同数量的地理生态群(图2~4).

早籼稻生态型被分为4个地理生态群(图2). 类群1主要分布于长江中下游地区;类群3主要分布于长江中上游地区;类群4主要分布于西南地区;类群2分布较散,没有明显的地域分布规律. 因此,根据各类群在地理上的分布特点,我们将早籼稻的4个类群分别命名为长江中上游型(Middle-lower Yangtze River

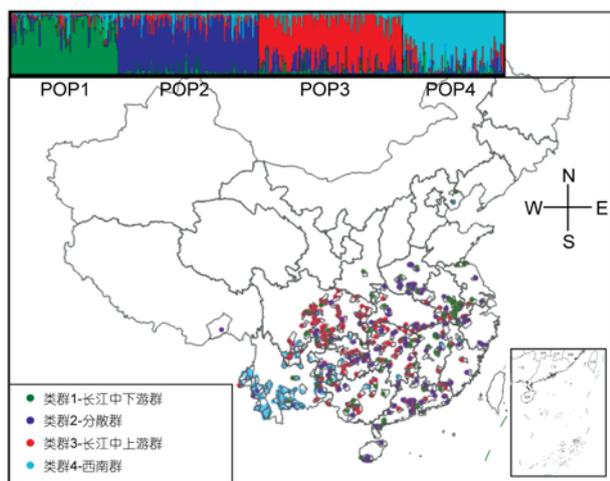


图2 早籼稻生态型(Ind.E)基于模型的遗传结构及各类型在中国的地理分布

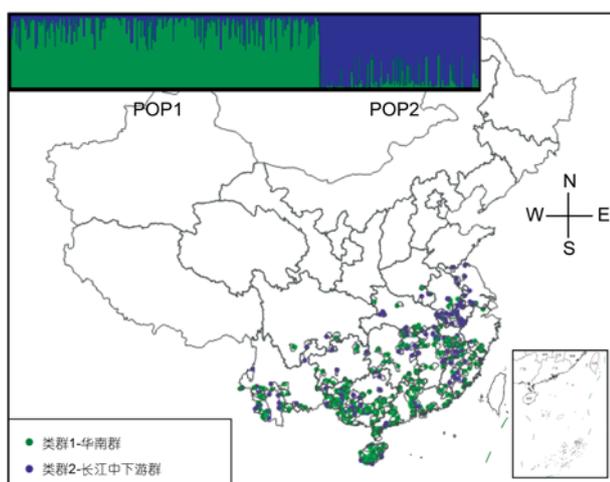


图3 晚籼稻生态型(Ind.L)基于模型的遗传结构及各类型在中国的地理分布

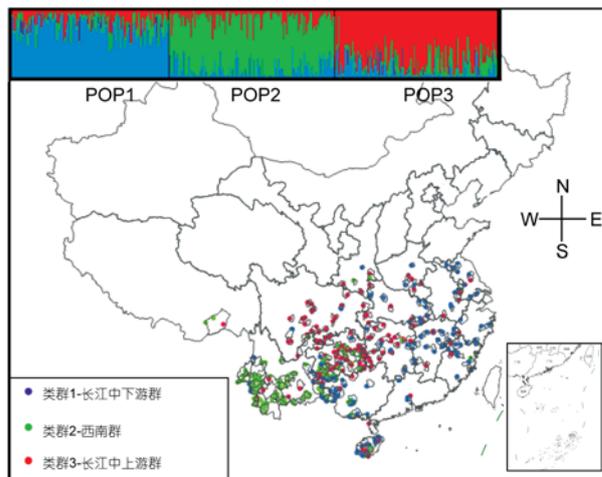


图4 籼稻中间型生态型(Ind.M)基于模型的遗传结构及各类型在中国的地理分布

type)、长江中下游型(Upper-middle Yangtze River type)、西南型(Southwest type)及分散型(Scattered type).

晚籼稻生态型被分为2个地理生态群(图3). 类群1主要分布于华南地区;类群2主要分布于长江中下游地区. 因此根据各类群在地理上的分布特点,将晚籼稻的2个类群分别命名为华南型(South type)和长江中下游型(Middle-lower Yangtze River type).

中间型生态型被分为3个地理生态群(图4). 类群1主要分布于长江中下游地区;类群2主要分布于西南地区;类群3主要分布于长江中上游地区. 因此根据各类群在地理上的分布特点,我们将这3个类群分别命名为长江中下游型(Middle-lower Yangtze River type)、长江中上游型(Upper-middle Yangtze River type)和西南型(Southwest type).

此外,我们对3种生态型基于Nei's遗传距离构建N-J聚类图(图5). 可以看出,每种生态型被分成不同数量的亚群,与基于模型的STRUCTURE分析结果基本一致. 因此,基于模型和遗传距离的分析都一致表明,早籼稻生态型、晚籼稻生态型和籼稻中间型生态型3种生态型内都存在不同程度的地理分化. 因此,我们可以提出如下籼稻亚种内的分类体系:首先可将籼稻亚种划分为3种生态型,即早籼稻生态型、晚籼稻生态型和中间型生态型;其次在每种生态型内,依据各类群的主要分布区域,又可进一步划分为若干地理生态群. 早籼稻生态型可划分为长江中下游生态群、长江中上游生态群和西南生态群;晚籼稻生态型可划分为长江中下游生态群和华南生态群;

中间型生态型可划分为长江中下游生态群、长江中上游生态群和西南生态群(图 6)。

2.2 籼稻的地理分化及地理生态群的划分

分析各类群间的分化系数和遗传距离, 结果表明(表1), 中间型与早、晚籼生态型间的遗传距离较远。除早籼生态型内的西南型地理生态群外, 均为生态型内各地理生态群间的遗传距离较近, 而不同生态型的地理生态群间遗传距离较远, 分化系数较高。在早籼生态型内, POP2 (分散型生态群)由于材料在地理上的分布较为分散, 与其余3种地理生态群间

的遗传距离较近。ANOVA 分析显示, 约 8.23%的遗传多样性是由于各群体间的遗传差异引起, 其中, 早籼生态型内各地理生态群间的遗传多样性较大, 为 5.77%; 晚籼生态型内各地理生态群间的遗传多样性较小, 为 1.87%; 中间型生态型内各地理生态群间的遗传多样性为 3.79%。

分析各地理生态群的遗传多样性, 结果显示(表2), 在早籼生态型内, 西南型地理生态群在等位变异丰度、遗传多样性指数和多态性信息含量上均为最高; 在晚籼生态型内, 华南型地理生态群的各种指数均为最高; 在中间型生态型内, 为西南型地理生态

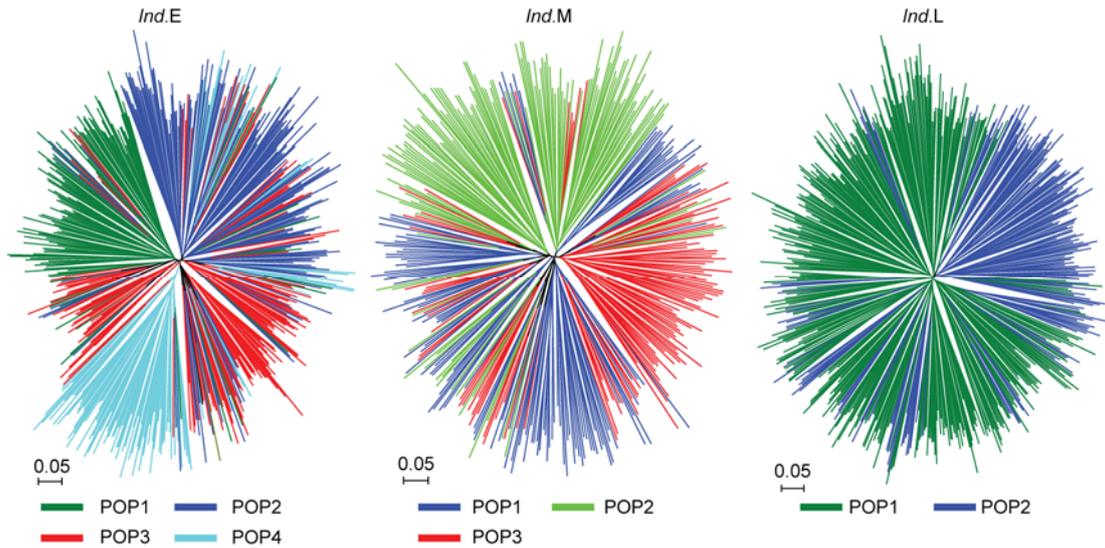


图5 籼稻3种生态型基于Nei's遗传距离的Neighbor-Joining系统发生树
不同颜色的线条代表STRUCTURE分析的各个类群

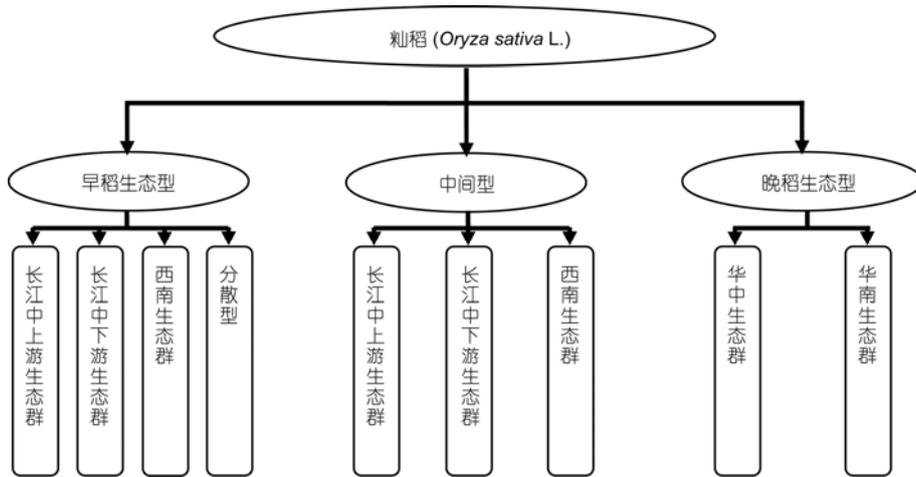


图6 中国籼稻的分类体系

表1 3种生态型内各类群间的 Nei's 遗传距离和 Pairwise F_{st} ^{a)}

生态型	地理生态群	早籼稻生态型				中间型生态型			晚籼稻生态型	
		POP1	POP2	POP3	POP4	POP1	POP2	POP3	POP1	POP2
早籼稻生态型	POP1		0.0693	0.0549	0.0784	0.1429	0.1395	0.1194	0.1409	0.0739
	POP2	0.0820		0.0336	0.0767	0.1077	0.1153	0.0960	0.0650	0.0704
	POP3	0.0865	0.0590		0.0797	0.1423	0.1335	0.0963	0.1209	0.1171
	POP4	0.1396	0.0718	0.1062		0.1262	0.0784	0.1250	0.1135	0.1149
中间型生态型	POP1	0.1945	0.1598	0.1982	0.1906		0.0433	0.0455	0.0937	0.0980
	POP2	0.1983	0.1652	0.1895	0.1396	0.0838		0.0589	0.1068	0.1123
	POP3	0.1731	0.1370	0.1333	0.1797	0.0782	0.0906		0.1392	0.1367
晚籼稻生态型	POP1	0.1314	0.1058	0.1082	0.1136	0.1202	0.1488	0.1552		0.0388
	POP2	0.0976	0.1111	0.1504	0.1479	0.1483	0.1708	0.1960	0.0672	

a) 群体间遗传距离在斜对角线的下方; Pairwise F_{st} 位于斜对角线的上方

表2 各地理生态群的遗传多样性参数 ^{a)}

生态型	地理生态群	N_a	R_s	H_c	PIC	SMW
早籼稻生态型	长江中下游型	7.9	8.24	0.5733	0.5399	0.4074
	分散型	9.8	8.18	0.6158	0.5851	-0.1524
	长江中上游型	8.7	8.36	0.5520	0.5175	0.1478
	西南型	8.8	8.36	0.6247	0.5925	-0.2013
	总体	12.0	8.38	0.6249	0.5941	0.4306
中间型生态型	长江中下游型	9.7	8.18	0.6495	0.6175	-0.3144
	西南型	10.3	8.28	0.6690	0.6409	-0.5513
	长江中上游型	9.2	8.26	0.5978	0.5675	-0.6004
	总体	12.0	8.34	0.6637	0.6358	-0.0645
晚籼稻生态型	华南型	11.8	8.40	0.6702	0.6377	0.2089
	华中型	10.1	8.21	0.6643	0.6326	0.4837
	总体	12.6	8.37	0.6808	0.6497	0.6653

a) N_a 为平均等位变异数; R_s 为等位变异丰度; H_c 为 Nei 遗传多样性指数; PIC 为多态性信息指数; SMW 为平均标准分子量

群的遗传多样性最高. 中间型生态型的标准分子量显著小于早籼和晚籼稻生态型. 比较各地理生态群, 为中间型生态型内的长江中上游和西南型地理生态群的分子量显著小于其余地理生态群.

籼稻遗传多样性及分化与地理参数的关系表明(图7), 随着纬度的升高, 无论是等位变异数还是基因多样性都呈现下降趋势, 纬度与后两者极显著负相关; 而不同纬度间纬度差与分化系数、以及地理距离与分化系数则均呈现极显著的正相关, 且地理距离与分化系数间的显著程度更高. 由此可见环境、空间隔离是导致稻种资源在地理上分化的主要原因.

2.3 籼稻各生态型和地理生态群的分子特征及鉴别方法

为更清楚地研究各生态型及地理生态群在 DNA

水平的分子特征, 选取每种类群内 STRUCTURE 输出的 Q (来自同一祖先血缘) $\geq 95\%$ 的 431 份材料组成典型群体进行分析. 结果表明, 各等位变异在不同生态群中的频率差异较大. 如图 8 所示, 一些等位变异主要出现在某一特定的生态群, 而在其他生态群中出现的频次较低. 我们将频率大于 0.5, 并且在某一生态型中出现的频次占在总体中频次的 50% 以上的等位变异定义为该生态型的特征等位变异(图 8).

为了更好地应用于育种生产, 我们利用典型的特征等位变异, 并根据该特征等位变异在这一生态型中出现的频次与在总体中频次的比值建立了一种快速鉴别各生态群的微卫星指数法. 用特征等位变异的频次比值乘以 1 或 0(对材料进行 SSR 扩增, 出现特征等位变异的记为 1, 不出现的记为 0), 然后相加, 最后将和值再除以该生态型特征等位变异的频

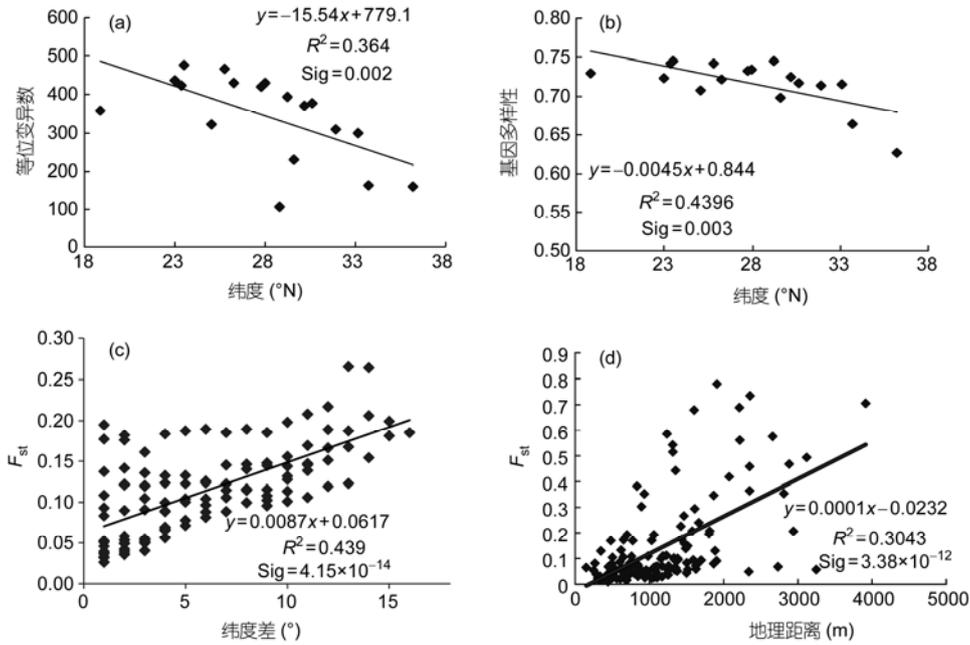


图7 水稻的遗传多样性参数与地理参数间的关系

(a)和(b) 等位变异数及基因多样性随纬度的变化趋势; (c) 不同纬度间的分化系数与纬度差间的关系; (d) 不同地理距离间分化系数与地理距离间的关系

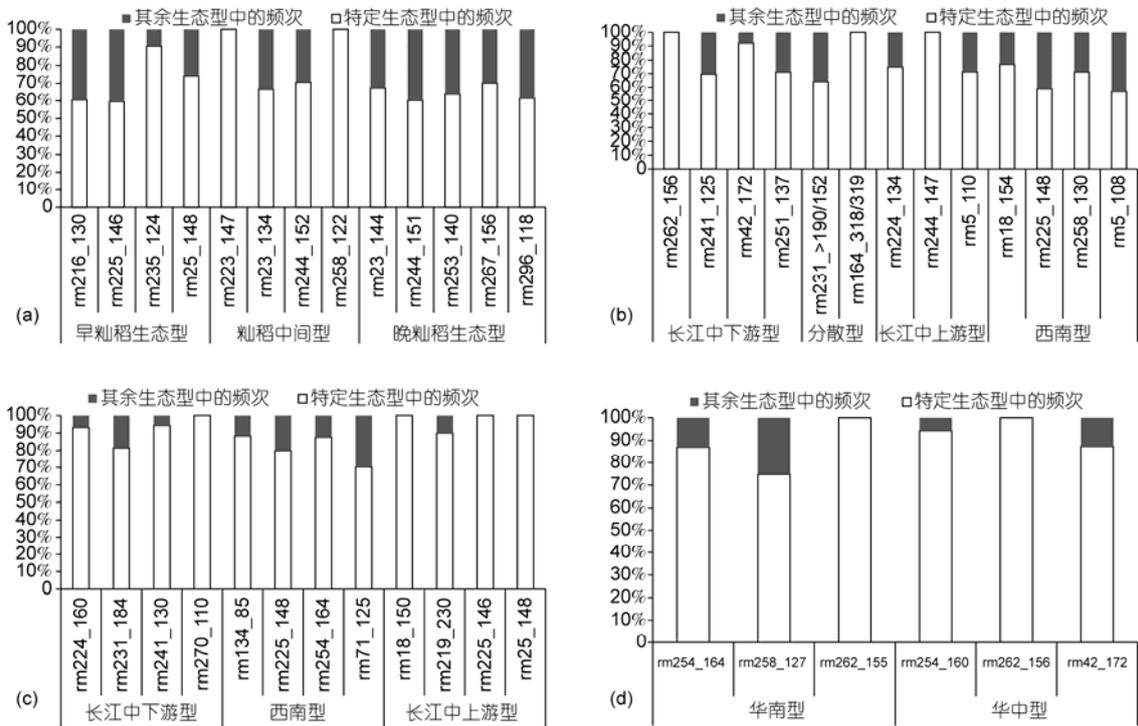


图8 水稻3种主要生态型及各地理生态群的特征等位变异.

(a) 水稻3种主要生态型的特征等位变异; (b) 早稻生态型内各地理生态群的特征等位变异; (c) 中间型生态型内各地理生态群的特征等位变异; (d) 晚稻生态型内各地理生态群的特征等位变异

次比值的和。籼稻的3个生态型的典型特征等位变异如图8(a)所示。对材料进行SSR扩增,出现特征等位变异的记为1,不出现的记为0,然后品种类型(variety identity, VI)依据每个品种隶属于每个类群的判别指数(discriminant index, DI)相对大小进行判别。根据Microsoft Excel中的内嵌函数,将判别公示表示如下:

$$VI(A,B,C)=INDEX(\{"A","B","C"\},0, MATCH(MAX(a,b,c),\{a,b,c\},0)),$$

其中, INDEX(array, row_num, [column_num])为数列索引函数,将返回数列array中指定位置的元素值; A, B, C代表类群,分别代表本研究中的早籼稻生态型、中间型和晚籼稻生态型; a, b, c代表判别指数。MATCH(lookup_value, lookup_array, [match_type])为匹配函数,将返回搜索数列lookup_array中与匹配值lookup_value精确匹配的数列元素的位置, max()为取最大值函数, match_type=0表示精确匹配。即如果 $a > b$ 和 c , 则这一材料属于A类群; 如果 $b > a$ 和 c , 则这一材料属于B类群; 如果 $c > a$ 和 b , 则这一材料属于C类群。而

$$a=(0.6 \times rm216_{130} + 0.59 \times rm225_{146} + 0.91 \times rm235_{124} + 0.74 \times rm25_{148}) / 2.84;$$

$$b=(1 \times rm223_{147} + 0.67 \times rm23_{134} + 0.51 \times rm244_{152} + 1 \times rm258_{122}) / 3.18;$$

$$c=(0.6 \times rm244_{151} + 0.64 \times rm253_{140} + 0.7 \times rm267_{156} + 0.61 \times rm296_{118} + 0.67 \times rm23_{144}) / 3.22.$$

以公式a为例: 其中, rm216_130, rm225_146, rm235_124和rm25_148代表特征等位变异, 其中rm216等代表引物名称, 下画线后的数字代表该引物特征等位变异的分子量大小。特征等位变异前的数字代表该生态型中出现的频次与在总体中频次的比值。例如, 0.6是rm216_130特征等位变异在该生态型中出现的频次与在总体中频次的比值, 同样0.59, 0.91和0.74分别是rm225_146, rm235_124和rm25_148特征等位变异在该生态型中出现的频次与在总体中频次的比值。除号下的数字是该类型所有特征等位变异在该生态型中出现的频次与在总体中频次的比值的和值。例如a中2.84是0.6+0.59+0.91+0.74和值, b和c中以此类推。

采用这一判别公式对431份材料的典型群体进行鉴别, 与基于模型的群体进行比较, 结果见表3。两者间的符合度达到82%以上, 其中, 对晚籼稻生态型的鉴别与基于模型的群体间一致性达到了97.69%。

采用同样的原理, 我们也提出了籼稻3种生态型

下各地理生态群的特征等位变异(图8(b)~(d))及判别公式(表4)。同样, 与基于模型的群体结构进行比较, 结果见表4。其中, 对早籼稻生态型下的3个地理生态群以及晚籼稻生态型下的西南地理群的鉴别两者间的一致性达到了100%。

3 讨论

3.1 籼稻稻种资源的群体结构及地理分化

籼粳的分化是亚洲栽培稻遗传分化的主流, 形态、分子水平上的一系列研究都已达到了比较一致的认识^[25,26]。然而栽培稻籼粳亚种内的结构或分类却一直一直是争议的焦点。本研究利用籼稻地方品种对籼稻亚种内的群体结构进行了详细的分析, 所得的研究结果与前人研究存在一定差异。丁颖^[4]的5级分类体系将籼粳亚种内均分为晚季和早、中季稻; 水陆稻型; 黏糯变种和品种。钱泳文等人^[27]认为, 中国籼稻分为早籼、华中晚籼和华南晚籼3种类型。程侃声等人^[5]的分类体系则提出, 中国籼稻的分类也应以栽培季节为主, 然后结合生态分布与栽培特点将籼稻划分为3个生态群: 早中稻群、晚稻群和冬稻群。本实验室以前的研究结果也表明^[6], 日照的长短是籼稻分化的主要动力, 从而将籼稻划分为早、晚的气候生态型。这一结果与前人研究结果基本一致。但除早、晚的生态型外, 本研究显示, 还存在一个中间型生态型。这一生态型与粳稻的遗传距离显著小于籼稻的早、晚生态型。从地理分布来看, 中间型主要分布在中国西南和长江流域, 这一区域为籼粳交错区。这一区域以北以粳稻为主, 这一区域以南以籼稻为主。因此, 可能造成处于这一区域的籼稻资源的分化程度较低, 属于分化前的原始型过渡品种; 另一方面, 也可能是地处籼、粳稻交汇处, 2个亚种间的基因渐渗造

表3 利用微卫星指数法得到的群体与基于模型的群体间的比较

	早籼稻生态型 ^{a)}	中间型生态型 ^{a)}	晚籼稻生态型 ^{a)}	小计
早籼稻生态型 ^{b)}	131	13	3	147
中间型生态型 ^{b)}	3	82	1	86
晚籼稻生态型 ^{b)}	25	4	169	198
小计	159	99	173	
符合度	82.39%	82.83%	97.69%	

a) 代表基于模型的群体; b) 代表采用判别公式得到的群体

表 4 籼稻各地理生态群的微卫星指数鉴别法及与基于模型的群体比较的符合度^{a)}

生态型	品种类型判别式	地理生态群	判别指数	符合度
早籼稻生态型	VI(D, E, F, G)	D: 长江中下游型	$d=(1.0 \times \text{rm}262_156+0.7 \times \text{rm}241_125+0.92 \times \text{rm}42_172+0.71 \times \text{rm}251_137)/3.33$	100.00%
		E: 分散型	$e=(0.64 \times \text{rm}231_>190/152+1.0 \times \text{rm}164_318/319)/1.64$	58.33%
		F: 长江中上游型	$f=(0.75 \times \text{rm}224_134+1.0 \times \text{rm}244_147+0.71 \times \text{rm}5_110)/2.46$	100.00%
		G: 西南型	$g=(0.77 \times \text{rm}18_154+0.59 \times \text{rm}225_148+0.71 \times \text{rm}258_130+0.57 \times \text{rm}5_108)/2.64$	100.00%
中间型生态型	VI(H, I, J)	H: 长江中下游型	$h=(0.93 \times \text{rm}224_160+0.8 \times \text{rm}231_184+0.94 \times \text{rm}241_130+1.0 \times \text{rm}270_110)/3.67$	72.41%
		I: 西南型	$i=(0.88 \times \text{rm}134_85+0.8 \times \text{rm}225_148+0.7 \times \text{rm}254_164+1.0 \times \text{rm}71_125)/3.38$	100.00%
		J: 长江中上游型	$j=(1.0 \times \text{rm}18_150+0.9 \times \text{rm}219_230+1.0 \times \text{rm}225_146+1.0 \times \text{rm}25_148)/3.9$	92.86%
晚籼稻生态型	VI(K, L)	K: 华南型	$k=(0.87 \times \text{rm}254_164+0.75 \times \text{rm}258_127+1.0 \times \text{rm}262_155)/2.62$	87.88%
		L: 华中型	$l=(0.94 \times \text{rm}254_160+1.0 \times \text{rm}262_156+0.87 \times \text{rm}42_172)/2.81$	89.47%

a) VI(D,E,F,G)=INDEX({"D","E","F","G"},0,MATCH(MAX(d,e,f,g),{d,e,f,g},0)); VI(H,I,J)=INDEX({"H","I","J"},0,MATCH(MAX(h,i,j),{h,i,j},0)); VI(K,L)=INDEX({"K","L"},0,MATCH(MAX(k,l),{k,l},0))

成^[29]。因而，在群体结构分析中形成了一个独立的中间型类群。本研究又进一步对 3 种生态型的亚结构分析显示，在每种生态型内没有显示出水陆等分化，而是存在不同程度的地理分化。影响水稻生长和分布的主要生态因子包括热量、水分、日照时数、海拔高度及土壤状况。依据这些因子，将中国稻区分为 6 个稻作生态区。本研究中 3 种生态型下各地理生态群的分布与稻作生态区划基本一致。中国西南、华南由于纬度的升高，热量、水分、日照等均存在一定差异；长江下游到上游由于海拔的升高，同样热量、水分、土壤等也存在很大差异。因此，我们推断各地不同的气候生态环境及耕作制度是造成地理分化的主要原因。另一方面，对地理距离与遗传分化系数的分析结果表明空间隔离是引起地理分化的另一个重要原因。

3.2 籼亚种内生态型的划分及其在水稻杂种优势中的利用

进入 20 世纪 80 年代以来，我国杂交籼稻产量徘徊不前，其中最主要的原因是亲本的遗传基础狭窄。充分利用和挖掘不同类型、不同来源、地理上远缘的材料，拓宽杂交稻亲本间的遗传差异，在一定程度上可以提高组合的优势强度。然而，在众多的遗传资源中，如何根据不同地区的生态条件及品种的生态类型，进行有效地选择是杂交稻发展的当务之急。杂种优势群在玉米上的研究较多，并形成了一些著名的优

势配对模式^[30,31]。但是，水稻杂种优势群研究相对落后，难以指导水稻杂种优势的育种实践。陈立云等人^[10]研究了早籼、中籼、晚籼与早粳、晚粳不同生态型之间的杂种优势配对模式；孙传清等人^[32]主要采用培矮 64S 等几个光敏核不育系，通过大量的测交，筛选得到一些有价值的两系杂交稻的优势生态型，但这种方法筛选得到的优势生态型只是针对某个不育系，而且主要是两系不育系，局限性较大。刘炜等人^[33]利用 9 个不同生态类型的 50 份材料研究了粳型水稻杂种优势生态型与杂种优势模式，结果表明，不同地理来源的生态型间表现出较高的杂种优势。由此可见，正确划分亚种内的生态类型、弄清楚各稻种间的亲缘关系，不仅对研究稻种的遗传演化具有重要意义，而且是正确利用品种资源的前提，将为水稻杂种优势群的研究提供依据。程侃声等人^[5]提出亚种内可再分成生态群、生态型等，并认为粳稻内可分为海南型、云贵型等地理生态型。这些地理生态型的提出多是基于表型性状和育种者的经验所得，受环境和人为等因素的影响，因此，表型性状上的形态分化不一定能真实反映 DNA 水平的遗传演化。本研究利用 SSR 标记，分析了各生态型及地理生态群间在 DNA 水平基因型之间的差异，根据中国稻种资源的遗传演化，更加科学的提出了籼稻亚种内各生态型及地理生态群的分类体系。由于稻种资源在地理上的演化是连续的，因此，我们依据群体结构分析中各地理生态群的主要分布区域提出了籼稻 3 种生态型

下地理生态群分类。同时,本研究还对各生态型及地理生态群进行系统分析,发掘出了各生态型及地理生态群的特征等位变异;并利用这些特征等位变异提出了一种有效的判别方法,能够对材料进行有效划分。可以充分发挥不同亚种内不同地理生态群之间的互补效应,使本地生态群品种与外来生态群品种相结合,发挥有利基因的累加和互补效应,有效增强籼亚种内杂种优势的利用。而微卫星指数法有助于人们简单、快速的对水稻籼亚种内生态群进行合理划分,判断不同材料的遗传相似程度,从而有效选择典型材料进行杂种优势研究或杂交育种的亲本选配,充分利用亚种内的杂种优势。

另外,籼稻的中间类型将为籼粳亚种间杂种优势利用以及加强粳稻杂种优势利用提供理想的亲本材料。中国杂交粳稻的增产优势在实际应用中仅为10%左右,不如杂交籼稻的杂种优势强^[34]。其主要原因是,一方面,在粳稻中很难找到恢复系;另一方面,典型籼粳间杂交虽具有较强的杂种优势,但是,其后代高度不育不能直接利用籼稻的恢复基因。因此,生产上通常采用“籼粳架桥”技术获得中间材料,以利用籼稻恢复基因的同时利用籼稻的广适性、抗逆性等优良有利基因。利用“籼粳架桥”技术时,获得的中间

材料的籼粳成分必须适度,籼型成分过低又达不到扩大双亲间的遗传差距从而扩大杂种优势的目的,而籼型成分过多则难以适应粳稻区的生态条件。前人研究的结果表明,栽培稻中存在一些籼粳分化不明显的中间类型材料,常用“偏粳”或“偏籼”等模糊概念来描述,这些方法不仅不能确定中间材料的分类地位问题,而且阻碍了中间材料的充分利用^[28]。本实验室利用DNA水平的SSR标记系统分析了籼稻的遗传结构,发现在籼稻亚种内确实存在一个中间型生态型类群,这一类群在遗传多样性、微卫星的分子量大小、频率分布以及地理分布等都与早、晚籼稻生态型有较大差异,并且与粳稻的遗传距离及分化系数显著小于早、晚籼生态型^[6]。从地理上看,籼稻的中间类型主要分布于长江流域和云南西南部山区,属于籼粳交错区,所适应的生态环境兼具籼粳亚种的特点。由此可见,不管是从遗传还是其适应的生态条件上,籼稻的中间类型均具备作为籼粳杂种优势中间材料的潜力。本研究中给出了判别籼稻中间类型的SSR分子特征和分子判式,通过SSR分子判式选择籼稻的中间类型开展籼粳杂种优势研究或许是突破籼粳杂种优势利用障碍和加强粳稻杂种优势利用的理想途径。

参考文献

- Oka H I. Origin of Cultivated Rice. Tokyo: Japan Science Society Press, 1988
- 孙新立, 才宏伟, 王象坤. 水稻同工酶基因多样性及非随机组合现象的研究. 遗传学报, 1996, 23: 276-285
- 魏兴华, 汤圣祥, 江云珠, 等. 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. 中国水稻科学, 2003, 17: 123-128
- 丁颖. 中国栽培稻种的起源及其演变. 农业学报, 1957, 8: 246-260
- 程侃声, 周季维, 卢义宣, 等. 云南稻种资源的综合研究与利用 II. 亚洲栽培稻分类的再认识. 作物学报, 1984, 10: 271-280
- Zhang D L, Zhang H L, Wang M X, et al. Genetic structure and differentiation of landrace rice (*Oryza sativa* L.) in China revealed by microsatellites. Theor Appl Genet, 2009, 119: 1105-1117
- 邹江石, 吕川根. 水稻超高产育种的实践与思考. 作物学报, 2005, 31: 254-258
- Stuber C W, Lincoln S E, Wolff D W, et al. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. Genetics, 1992, 132: 823-839
- Melchinger A E, Lee M, Lamkey K R, et al. Genetic diversity for restriction length polymorphisms and heterosis for two diallele sets of maize inbreds. Theor Appl Genet, 1990, 80: 488-496
- 陈立云, 戴魁根, 李国泰, 等. 不同类型籼粳杂种 F₁ 比较研究. 杂交水稻, 1992, 4: 35-38
- 孙传清, 姜廷波, 陈亮, 等. 水稻杂种优势与遗传分化关系的研究. 作物学报, 2000, 26: 641-649
- Garris A J, Tai T H, Coburn J, et al. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. Genetics, 2005, 169: 1631-1638
- Wang M X, Zhang H L, Zhang D L, et al. Genetic structure of *Oryza rufipogon* Griff. in China. Heredity, 2008, 101: 527-535
- 李自超, 张洪亮, 曹永生, 等. 中国地方稻种资源核心种质取样策略研究. 作物学报, 2003, 29: 20-24
- Saghai-Marouf M A, Soliman K M, Jorgensen R A, et al. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81: 8014-8018
- Panaud O, Chen X L, McCouch S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). Mol Gen Genet, 1996, 252: 597-607

- 17 Nei M. Analysis of diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70: 3321–3323
- 18 Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, 155: 945–959
- 19 Falush D, Stephens M, Pritchard J K. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 2003, 164: 1567–1587
- 20 Nei M, Tajima F, Tatenno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J Mol Evol*, 1983, 19: 153–170
- 21 Liu K, Muse S. PowerMarker: New Genetic Data Analysis Software, Version 2.7, 2004. <http://www.powermarker.net>
- 22 Vigouroux Y, Matsuoka Y, Doebley J. Directional evolutionary for microsatellite size in maize. *Mol Biol Evol*, 2003, 20: 1480–1483
- 23 Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, 89: 583–590
- 24 Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: A simulation study. *Mol Ecol*, 2005, 14: 2611–2620
- 25 Chang T T. The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asian and African rices. *Euphytica*, 1976, 25: 425–441
- 26 Morishima H, Sano Y, Oka H I. Evolutionary studies in cultivated rice and its wild relatives. *Oxf Surv Evol Biol*, 1992, 8: 135–184
- 27 钱泳文, 刘均赞, 何昆明. 应用酯酶同工酶研究稻种的亲缘关系. *广东农业科学*, 1983, 6: 12–14
- 28 杨庆文, 贺丹霞, 柴守诚, 等. 亚洲栽培稻分类研究的进展、问题与建议. *中国种业*, 2003, 5: 25–26
- 29 Zhao K Y, Wright M, Kimball J, et al. Genomic diversity and introgression in *O. sativa* reveal the impact of domestication and breeding on the rice genome. *PLoS ONE*, 2010, 5: 1–11
- 30 Stuber C W, Lincoln S E, Wolff D W, et al. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics*, 1992, 132: 823–839
- 31 Melchinger A E, Lee M, Lamkey K R, et al. Genetic diversity for restriction length polymorphisms and heterosis for two diallele sets of maize inbreds. *Theor Appl Genet*, 1990, 80: 488–496
- 32 孙传清, 陈亮, 李自超, 等. 两系杂交稻优势生态型的初步研究. *杂交水稻*, 1999, 14: 34–38
- 33 刘炜, 史延丽, 马洪文, 等. 根据杂种优势值划分粳型水稻杂种优势生态型. *西北植物学报*, 2005, 25: 64–69
- 34 何强, 舒服, 张武汉, 等. 中国杂交粳稻研究现状与对策邓华凤. *杂交水稻*, 2006, 1: 1–6

Genetic structure and eco-geographical differentiation of cultivated *Hsien* rice (*Oryza sativa* L. subsp. *indica*) in China revealed by microsatellites

ZHANG DongLing¹, ZHANG HongLiang¹, QI YongWen^{1,2}, WANG MeiXing^{1,3}, SUN JunLi^{1,4}, DING Li⁵ & LI ZiChao¹

¹Key Laboratory of Crop Heterosis and Utilization of Ministry of Education and Beijing Laboratory of Crop Genetic Improvement, Key Laboratory of Crop Genomics and Genetic Improvement of Beijing, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

²Guangzhou Sugarcane Industry Research Institute, Guangzhou 510316, China;

³Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China;

⁴Ministry of Agriculture of People's Republic of China, Beijing 100026, China;

⁵Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China

Indica is not only an important rice subspecies widely grown in Asia and the rest of the world, but also one of the major genetic backgrounds of hybrid rice in China. Therefore, studies on the genetic structure and genetic diversity of *indica* rice germplasm resources are important for research on the origin, evolution, and classification of cultivated rice in China. Using a genetically representative core collection of 1582 rice landraces of *indica* in China, the genetic structure, geographic differentiation, and diversity were analyzed. The model-based structure analysis of varieties within three ecotypes revealed nine eco-geographical types, which are partially consistent with some of the ecological zones in China. Local ecological adaption and physical isolation have contributed to the differentiation of eco-geographical types, which could be used to develop heterotic groups of *indica*. To facilitate the identification of different ecotypes and eco-geographical groups, we provide the SSR character alleles of each ecotype or geographical eco-group and a rapid discrimination method based on these character alleles. The character alleles and the rapid discrimination method could be used to guide the development of heterotic groups, to select hybrid parents, and as an efficient protocol for screening of hybrid crosses.

eco-geographical differentiation, *indica*, China, SSR

doi: 10.1360/972011-1100