

不同亲和性水稻材料的同工酶遗传多样性分析

段中岗^{1,2}, 郑 枫², 梁承邨^{2*}

(1. 惠州学院生命科学系, 广东 惠州 516007; 2. 中国科学院华南植物园, 广州 510650)

摘要: 采用同工酶标记对亲籼、亲粳、广亲和及非亲和 4 组不同亲和性水稻材料的遗传变化和遗传结构进行分析。10 种同工酶在 95 个材料中共检测到 34 个同工酶位点和 55 个等位基因, 其中多态位点 15 个, 多态位点百分率为 44.12%。各组的平均期望杂合度在 0.354 到 0.456 之间, 在物种水平上为 0.454。AMOVA 分析表明, 80.21% 的遗传变化分布于组内, 19.79% 的遗传变化分布于组间。各组间的遗传距离变化范围从 0.1129 到 0.3673, 基因流变化范围从 1.0242 到 2.5451。根据遗传距离进行的 UPGMA 聚类分析, 将广亲和与亲粳水稻聚为一类, 亲籼与非亲和水稻聚为一类。

关键词: 水稻; 广亲和品种; 同工酶; 遗传多样性

中图分类号: S511

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2006)05-0366-08

Genetic Diversity among Different Compatible Varieties in Rice (*Oryza sativa* L.) Using Isozyme Markers

DUAN Zhong-gang^{1,2}, ZHENG Feng², LIANG Cheng-ye^{2*}

(1. Department of Life Science, Huizhou University, Huizhou 516007, China;

2. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: A total of 95 rice varieties were collected including four compatibility groups of *indica* compatible varieties (ICV), *japonica* compatible varieties (JCV), wide compatible varieties (WCV) and incompatible varieties (NCV). Genetic variation and genetic structure among the four groups were evaluated by using isozyme markers. Ten isozymes gave rise to 55 alleles in 34 loci of which 15 ($P = 44.12\%$) were polymorphic. The average expected heterozygosity ranged from 0.354 to 0.456 at the group level, and 0.454 at the species level. AMOVA analysis showed that 80.21% of genetic variance distributed within groups, and only 19.79% among groups. The variation of genetic distance between groups ranged from 0.1129 to 0.3673, and the gene flow ranged from 1.0242 to 2.5451. UPGMA cluster analysis based on Nei's genetic distance could divide the four groups into two clusters: (I) WCV and JCV, (II) ICV and NCV.

Key words: Rice; Wide compatible varieties; Isozyme; Genetic diversity

水稻 (*Oryza sativa* L.) 是世界上的主要粮食作物之一, 大多数学者认为它主要分为籼稻和粳稻两个亚种^[1]。籼粳两大亚种由于对不同地理和生态环境的适应而发生了深刻的形态、遗传和亲和性分化^[1-5]。广亲和品种是日本的 Ikehashi 和 Araki 于

1984年发现的, 它们与籼粳杂交获得的 F_1 均能正常结实, 对克服亚种间生殖障碍和直接利用亚种间杂种优势具有重要作用^[5]。前人^[6-9]对广亲和性的机理已进行了许多探讨, 其中 Ikehashi 和 Araki 提出的“广亲和基因”理论比较流行。但广亲和基因理论在解

收稿日期: 2006-01-05 接受日期: 2006-05-22

基金项目: 广东省科技项目(2001A2010105); 中国科学院院长基金项目(2000-3269)资助

* 通讯作者 Corresponding author

释复杂的亚种间亲和性现象还存在一些问题。目前尚未见有关广亲和品种的遗传多样性,以及亲和性分化与同工酶遗传分化的关系的报道。本文采用同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳和淀粉凝胶电泳分析技术,以4种不同亲和性水稻品种(株系)人工聚合类群为对象,从群体遗传学角度探讨不同亲和性材料的遗传变化及遗传结构,以期为广亲和品种的种质资源保护和利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料见表1,共95个品种(株系),其中常规品种51份,由中国科学院华南植物园和国际水稻所(IRRI)提供,籼粳交DH株系44份,由张再君博士提供。2001-2003年对实验材料进行杂交亲和性鉴定^[10],其中有55份广亲和品种(wide compatible varieties, WCV)、20份亲籼品种(*indica* compatible varieties, ICV)、16份亲粳品种(*japonica* compatible varieties, JCV)与4份非亲和品种(incompatible varieties, NCV),本文对这4种不同亲和性材料进行遗传多样性分析。

1.2 同工酶检测

同工酶分析材料为在培养皿中培养10d左右

生长良好的水稻幼苗的新鲜叶片和芽鞘,每棵幼苗为1个样品,每个品种(株系)分析3株。如果某一品种(株系)的同工酶带出现差异,以其中2/3株数酶带相同的为准。共电泳分析了酯酶(esterase, EST)、氨基肽酶(aminopeptidase, AMP)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AAT)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、苹果酸酶(malic enzyme, MAL)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)、磷酸葡萄糖异构酶(phosphoglucosomerase, PGI)、6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6-phosphogluconate dehydrogenase, PGD)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(oxidase, POX)10种同工酶15个多态位点。EST的负带和PGI采用水平切片淀粉凝胶电泳检测效果较好,参照王中仁^[11]的方法,其余各种同工酶包括EST参照孙新立等^[12]、段中岗和梁承邳^[13]的垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳检测方法。

1.3 数据分析

同工酶位点采用共显性标记记录。数据录入后,利用POPGENE ver 1.31软件^[14]计算下列参数:多态性位点P,等位基因频率,等位基因观察值(na),有效等位基因(ne),Shannon's信息指数(I),期望纯合度(Ho),期望杂合度(He),固定系数(F),基因流(Nm),Nei's遗传距离(D)^[15]。聚类

表1 试验材料
Table 1 Materials tested

| 组 Groups | 数量 No. of varieties | 品种 Varieties |
|--|---------------------------|---|
| 亲籼品种 <i>Indica</i> compatible varieties | 20 | 南特号Nantehao; 明恢63 Minghui 63; SMR; N422; 南京11 Nanjing 11; 特青Teqing; 青黑S Qinghei S; C211; IR36; IR58; Psbrc4; Psbrc28; Changlei; RC10563; Aus paddy; S15; DH15; DH23; DH25; H59-10 |
| 亲粳品种 <i>Japonica</i> compatible varieties | 16 | 巴厘拉Balila; 秋光Akihikara; 台中65 T65; 沈农265 Shennong 265; Tachi-ki-kokoku; Plovdiv; S6; R2; Bulu gendjah; Bulu rusa; Bulu kewal; H53-41; DH34; DH067; H59-3; H59-6 |
| 非亲和性品种 Incompatible varieties | 4 | GC154; DH10; S14; AUS 78-78 |
| 广亲和品种 Wide compatible varieties | 55 | 零轮Linglun; 培矮64 Pei'ai 64; 测03 Ce 03; 广09 Guang 09; 广亲1号Guangqin 1; 测64 Ce64; 红C311 HC311; 02428; S26; PC311; S18; T984; Dular; MZ/6355-EBR; AUS1; AUS3; AUS5; AUS9; Padi-buha-bulu; Gundil gendjah; Sada AUS; H53-7; H53-14; H53-2; H53-7-1; H53-11; H53-12; H53-13; H53-1; H53-3; H53-42; H55-43; H55-13; H55-15; H55-5; H55-4; H55-152; H55-41; H55-11; H55-14; H55-19; H55-42; H55-8-1; H55-8; H55-16; H55-21; DH32; DH44; DH51; DH22; DH42; DH062; DH18; DH4; H59-18 |

分析根据种群间的遗传距离,采用算术平均数的非加权成组配对法(UPGMA)进行。遗传结构的度量采用 ARLEQUIN 软件包下的分子方差分析(AMOVA)软件^[16]计算,并通过随机抽样 1 000 次的统计分析检验其显著性。

2 结果

2.1 同工酶检测的位点

图 1 为部分同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱。同工酶检测的位点和等位基因数目见表 2。在 95 个材料中 10 种同工酶共检测到 34 个同工酶位点和 55 个等位基因,其中单态位点 19 个,多态位点 15 个,多态位点百分率(P)为 44.12%,平均每个位点的等位基因数 A 为 1.62 个。AAT 和 SOD 全为单态位点,其余 8 种同工酶均具有 1-5 个多态位点。15 个多态位点被用来进行遗传多样性分析和聚类分析。

2.2 多态位点等位基因频率

除 AMP-2^A、AMP-3^A 和 PGD-1^B 3 个多态等位基因在各组中频率均较高外,其余 12 个多态位点的等位基因在各组中的分布均存在较大差异(表 3)。其中 EST-2 位点的分化比较明显,ICV 主要含

EST-2^C (占 73.81%), JCV 主要含 EST-2^A (占 56.25%), WCV 主要含 EST-2^B (占 76.85%)。

2.3 等位基因的丰富程度

供试材料中 15 个多态位点的等位基因总数是 36 个(其中 5 个为隐性等位基因),平均每个多态位点等位基因数(na)是 2.60 ± 0.91 , 平均每个多态位点有效等位基因数(ne)是 1.922 ± 0.450 , Shannon's 信息指数(I)平均是 0.717 ± 0.227 (表 4)。各组中每个多态位点的有效等位基因数(ne)依次为 NCV (1.932 ± 0.700) > ICV (1.825 ± 0.316) > WCV (1.730 ± 0.475) > JCV (1.686 ± 0.575), Shannon's 信息指数(I)则依次为 ICV (0.687 ± 0.169) > NCV (0.634 ± 0.392) > WCV (0.606 ± 0.288) > JCV (0.556 ± 0.333)。

2.4 遗传多样性

供试材料具有较高的期望杂合度($He=0.454 \pm 0.132$) (表 5)。比较 4 组不同亲和性材料的期望杂合度,以 NCV 和 ICV 的最高,WCV 和 JCV 的相对较低。各组的实际纯合度很高(在 0.946 至 0.991 之间),实际杂合度很低(在 0.008 至 0.053 之间),表明所用水稻材料几乎为纯合体。

表 2 检测的同工酶系统和记录的位点数

Table 2 Enzyme systems assayed and the number of loci scored

| 酶 Enzyme | 编号 Code | 单态位点数目 No. of monomorphic loci | 多态位点 Polymorphic loci | 多态等位基因数目 No. of polymorphic alleles |
|-----------------|--------------|-----------------------------------|--------------------------|--|
| 酯酶 EST | E.C.3.1.1 | 2 | EST-1 | 2* |
| | | | EST-2 | 3* |
| | | | EST-3 | 3 |
| | | | EST-4 | 2* |
| | | | EST-9 | 2 |
| 酸性磷酸酶 ACP | E.C.3.1.3.2 | 2 | ACP-1 | 2 |
| | | | ACP-2 | 2 |
| 磷酸葡萄糖异构酶 PGI | E.C.5.3.1.9 | 1 | PGI-1 | 2 |
| | | | PGI-2 | 2 |
| 苹果酸酶 MAL | E.C.1.1.1.40 | 2 | MAL-1 | 2 |
| 过氧化氢酶 CAT | E.C.1.11.1.6 | 1 | CAT-1 | 3* |
| 氨基肽酶 AMP | E.C.3.4.11.1 | 1 | AMP-2 | 4 |
| | | | AMP-3 | 5 |
| 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 PGD | E.C.1.1.1.44 | 1 | PGD-1 | 2 |
| 过氧化物酶 POX | E.C.1.11.1.7 | 2 | POX-1 | 2* |
| 天冬氨酸转氨酶 AAT | E.C.2.6.1.1 | 3 | | |
| 超氧化物歧化酶 SOD | E.C.1.15.1.1 | 5 | | |

*表示含有一个亚等位基因 * indicate a null allele detected.

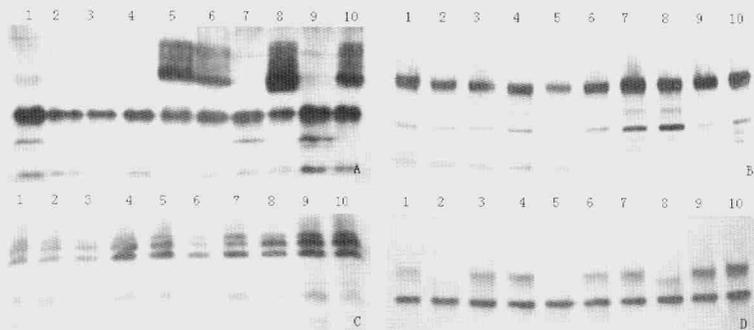


图1 水稻材料的部分同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

Fig. 1 Polyacrylamide gel electrophoretogram of isozymes in rice materials

- A. 酸性磷酸酶 ACP: 1. N422; 2. 02428; 3. Linglun; 4. T984; 5. Dular; 6. Sada Aus; 7. H59-10; 8. H55-8; 9. H53-7; 10. DH32;
 B. 苹果酸酶 MAL: 1. Aus Paddy; 2. Aus1; 3. Aus3; 4. Aus5; 5. Sada Aus; 6. Aus9; 7. Bulu Gendjah; 8. Gundil Gendjah; 9. Bulu Kewal; 10. Bulu Rusa;
 C. 酯酶 EST: 1. H55-43; 2. H55-13; 3. H55-15; 4. H55-5; 5. H55-4; 6. H55-152; 7. H55-41; 8. H55-11; 9. H55-14; 10. H55-19;
 D. 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 PGD: 1. Aus Paddy; 2. Aus1; 3. Aus3; 4. Aus5; 5. Sada Aus; 6. Aus9; 7. Bulu Gendjah; 8. Gundil Gendjah; 9. Bulu Kewal; 10. Bulu Rusa.

表3 不同亲和性水稻的15个多态位点的等位基因频率

Table 3 Allele frequencies at 15 polymorphic loci in the compatibility groups in rice

| 位点 Locus | 等位基因 Allele | ICV | JCV | NCV | WCV | 总计 Total |
|-------------|----------------|--------|--------|--------|--------|-------------|
| EST-1 | A | 0.6190 | 0.1875 | 0.6000 | 0.1111 | 0.2604 |
| | B | 0.3810 | 0.8125 | 0.4000 | 0.8889 | 0.7396 |
| EST-2 | A | 0.0000 | 0.5625 | 0.2000 | 0.1481 | 0.1875 |
| | B | 0.2619 | 0.1250 | 0.5000 | 0.7685 | 0.5365 |
| | C | 0.7381 | 0.3125 | 0.3000 | 0.0833 | 0.2760 |
| EST-3 | A | 0.2143 | 0.5625 | 0.4000 | 0.6574 | 0.5312 |
| | B | 0.5476 | 0.3125 | 0.2000 | 0.2500 | 0.3229 |
| | C | 0.2381 | 0.1250 | 0.4000 | 0.0926 | 0.1458 |
| EST-4 | A | 0.2381 | 0.1875 | 0.0000 | 0.0741 | 0.1250 |
| | B | 0.7619 | 0.8125 | 1.0000 | 0.9259 | 0.8750 |
| EST-9 | A | 0.4762 | 0.8438 | 1.0000 | 0.7315 | 0.7083 |
| | B | 0.5238 | 0.1562 | 0.0000 | 0.2685 | 0.2917 |
| ACP-1 | A | 0.8095 | 0.2500 | 0.6000 | 0.5741 | 0.5729 |
| | B | 0.1905 | 0.7500 | 0.4000 | 0.4259 | 0.4271 |
| ACP-2 | A | 0.1905 | 0.7500 | 0.4000 | 0.3148 | 0.3646 |
| | B | 0.8095 | 0.2500 | 0.6000 | 0.6852 | 0.6354 |
| PGL-1 | A | 0.8095 | 0.0000 | 0.4000 | 0.3148 | 0.3750 |
| | B | 0.1905 | 1.0000 | 0.6000 | 0.6852 | 0.6250 |
| PGL-2 | A | 0.3571 | 1.0000 | 0.3000 | 0.7593 | 0.6875 |
| | B | 0.6429 | 0.0000 | 0.7000 | 0.2407 | 0.3125 |
| MAL-1 | A | 0.3333 | 0.5625 | 0.4000 | 0.5370 | 0.4896 |

续表 3(continued)

| 位点 Locus | 等位基因 Allele | ICV | JCV | NCV | WCV | 总计 Total |
|-------------|----------------|--------|--------|--------|--------|-------------|
| MAL-1 | B | 0.6667 | 0.4375 | 0.6000 | 0.4630 | 0.5104 |
| CAT-1 | A | 0.1429 | 0.4375 | 0.6000 | 0.5000 | 0.4167 |
| | B | 0.6190 | 0.4375 | 0.2000 | 0.2593 | 0.3646 |
| | C | 0.2381 | 0.1250 | 0.2000 | 0.2407 | 0.2188 |
| AMP-2 | A | 0.7143 | 0.4375 | 1.0000 | 0.6481 | 0.6458 |
| | B | 0.0952 | 0.2500 | 0.0000 | 0.2222 | 0.1875 |
| | C | 0.1429 | 0.3125 | 0.0000 | 0.1296 | 0.1562 |
| | D | 0.0476 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0104 |
| AMP-3 | A | 0.5714 | 0.9375 | 0.4000 | 0.5370 | 0.6042 |
| | B | 0.3333 | 0.0625 | 0.2000 | 0.3333 | 0.2812 |
| | C | 0.0952 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0208 |
| | D | 0.0000 | 0.0000 | 0.2000 | 0.0185 | 0.0208 |
| | E | 0.0000 | 0.0000 | 0.2000 | 0.1111 | 0.0729 |
| PGD-1 | A | 0.1190 | 0.0312 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0312 |
| | B | 0.7857 | 0.8125 | 0.4000 | 0.9630 | 0.8698 |
| | C | 0.0952 | 0.1562 | 0.6000 | 0.0370 | 0.0990 |
| POX-1 | A | 0.4762 | 0.8750 | 0.8000 | 0.9815 | 0.8438 |
| | B | 0.5238 | 0.1250 | 0.2000 | 0.0185 | 0.1562 |

表 4 各组的等位基因观察值(na)、有效等位基因(ne)和 Shannon's 信息指数的比较
Table 4 Comparison of observed number of alleles (na), effective number of alleles (ne) and shannon's information index (I) at 15 polymorphic loci of all groups

| 位点 Locus | ICV | | | JCV | | | NCV | | | WCV | | | 总计 Total | | |
|---------------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|----------|-------|-------|
| | na | ne | I | na | ne | I |
| EST-1 | 2 | 1.893 | 0.665 | 2 | 1.438 | 0.483 | 2 | 1.923 | 0.673 | 2 | 1.246 | 0.349 | 2 | 1.627 | 0.574 |
| EST-2 | 2 | 1.630 | 0.575 | 3 | 2.327 | 0.947 | 3 | 2.632 | 1.030 | 3 | 1.614 | 0.692 | 3 | 2.505 | 1.003 |
| EST-3 | 3 | 2.485 | 1.002 | 3 | 2.327 | 0.947 | 3 | 2.778 | 1.055 | 3 | 1.987 | 0.843 | 3 | 2.452 | 0.982 |
| EST-4 | 2 | 1.569 | 0.549 | 2 | 1.438 | 0.483 | 1 | 1.000 | 0.000 | 2 | 1.159 | 0.264 | 2 | 1.280 | 0.377 |
| EST-9 | 2 | 1.996 | 0.692 | 2 | 1.358 | 0.433 | 1 | 1.000 | 0.000 | 2 | 1.647 | 0.582 | 2 | 1.704 | 0.604 |
| ACP-1 | 2 | 1.446 | 0.487 | 2 | 1.600 | 0.562 | 2 | 1.923 | 0.673 | 2 | 1.957 | 0.682 | 2 | 1.958 | 0.683 |
| ACP-2 | 2 | 1.446 | 0.487 | 2 | 1.600 | 0.562 | 2 | 1.923 | 0.673 | 2 | 1.759 | 0.623 | 2 | 1.863 | 0.656 |
| PGI-1 | 2 | 1.446 | 0.487 | 1 | 1.000 | 0.000 | 2 | 1.923 | 0.673 | 2 | 1.759 | 0.623 | 2 | 1.882 | 0.662 |
| PGI-2 | 2 | 1.849 | 0.652 | 1 | 1.000 | 0.000 | 2 | 1.724 | 0.611 | 2 | 1.576 | 0.552 | 2 | 1.753 | 0.621 |
| MAL-1 | 2 | 1.800 | 0.637 | 2 | 1.969 | 0.685 | 2 | 1.923 | 0.673 | 2 | 1.989 | 0.690 | 2 | 1.999 | 0.693 |
| CAT-1 | 3 | 2.172 | 0.917 | 3 | 2.510 | 0.983 | 3 | 2.273 | 0.950 | 3 | 2.665 | 1.039 | 3 | 2.822 | 1.065 |
| AMP-2 | 4 | 1.845 | 0.887 | 3 | 2.844 | 1.072 | 1 | 1.000 | 0.000 | 3 | 2.056 | 0.880 | 4 | 2.097 | 0.934 |
| AMP-3 | 3 | 2.239 | 0.910 | 2 | 1.133 | 0.234 | 4 | 3.571 | 1.332 | 4 | 2.426 | 1.018 | 5 | 2.221 | 1.013 |
| PGD-1 | 3 | 1.561 | 0.667 | 3 | 1.459 | 0.567 | 2 | 1.923 | 0.673 | 2 | 1.077 | 0.158 | 3 | 1.303 | 0.459 |
| POX-1 | 2 | 1.996 | 0.692 | 2 | 1.280 | 0.377 | 2 | 1.471 | 0.500 | 2 | 1.038 | 0.092 | 2 | 1.358 | 0.433 |
| 平均 Mean | 2.4 | 1.825 | 0.687 | 2.2 | 1.686 | 0.556 | 2.13 | 1.932 | 0.634 | 2.4 | 1.730 | 0.606 | 2.6 | 1.922 | 0.717 |
| 标准差 St.Dev | 0.63 | 0.316 | 0.169 | 0.68 | 0.575 | 0.333 | 0.83 | 0.701 | 0.392 | 0.63 | 0.475 | 0.288 | 0.91 | 0.450 | 0.227 |

表 5 不同亲和性水稻的纯合度、杂合度及固定系数比较

Table 5 Comparison of homozygosity, heterozygosity and fixation indices in the compatibility groups in rice

| 组群 Group | 实际纯合度 Observed homozygosity | 预期纯合度 Expected homozygosity | 实际杂合度 Observed heterozygosity | 预期杂合度 Expected heterozygosity | 固定系数 Fixation indices |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| ICV | 0.974±0.035 | 0.552±0.096 | 0.025±0.035 | 0.447±0.096 | 0.958±0.065 |
| JCV | 0.991±0.022 | 0.645±0.213 | 0.008±0.022 | 0.354±0.213 | 0.968±0.079 |
| NCV | 0.946±0.118 | 0.543±0.258 | 0.053±0.118 | 0.456±0.258 | 0.864±0.270 |
| WCV | 0.979±0.039 | 0.619±0.185 | 0.021±0.039 | 0.380±0.185 | 0.958±0.065 |
| 总计 Total | 0.978±0.031 | 0.545±0.132 | 0.021±0.031 | 0.454±0.132 | 0.950±0.075 |

2.5 遗传分化的分布

AMOVA 分析揭示,水稻各组间存在较大的遗传分化 ($F_{st}=0.19790$, $P=0.0000$), 其中有 80.21% 的遗传变化分布于组内, 只有 19.79% 的遗传变化分布于组间。Wright 提出遗传分化指数介于 0–0.05 之间的种群遗传分化很弱, 介于 0.05–0.15 之间的种群遗传分化中等, 介于 0.15–0.25 之间的种群遗传分化很大, 大于 0.25 表明种群遗传分化极大^[17]。按照此标准, 存在生殖障碍的 ICV 与 JCV 具有极大水平的遗传分化 ($F_{st}=0.30319$, $P<0.01$), 不存在生殖障碍的 WCV 与 ICV ($F_{st}=0.22063$, $P<0.01$)、WCV 与 JCV ($F_{st}=0.13846$, $P<0.01$) 分别具有较大程度和中等程度的遗传分化。

2.6 基因流分析

供试材料中存在高水平的基因流 ($N_m = 1.1683$), 其中 WCV 与 JCV 的基因流最高 ($N_m = 2.5451$), WCV 与 ICV 的次之 ($N_m = 1.7885$), ICV 与 JCV 之间的最低 ($N_m = 1.0242$) (表 6)。

2.7 聚类分析

Nei's 遗传距离分析表明, ICV 与 JCV 的遗传距离最大 ($D = 0.3673$), WCV 与 ICV 的次之 ($D = 0.2258$), WCV 与 JCV 的最小 ($D = 0.1129$)。根据 4 组材料的遗传距离矩阵, 采用 UPGMA 法进行聚类, 得到不同亲和性材料的聚类树状图, 其中 WCV 与 JCV 聚为一类, ICV 与 NCV 聚为一类 (图 2)。

表 6 根据 15 个多态同工酶位点计算的不同亲和性水稻间的基因流

Table 6 Analysis of gene flow for 15 polymorphic isozyme loci between different compatibility groups in rice

| 位点 Locus | ICV-JCV | ICV-WCV | JCV-WCV | 总计 Total |
|----------|---------|---------|----------|----------|
| EST-1 | 1.0422 | 0.6484 | 21.5165 | 0.8457 |
| EST-2 | 0.9268 | 0.5423 | 0.7448 | 0.7693 |
| EST-3 | 3.0842 | 1.7874 | 38.2076 | 2.3786 |
| EST-4 | 65.1886 | 4.6462 | 8.5862 | 2.8808 |
| EST-9 | 1.4111 | 3.4205 | 13.0215 | 0.9896 |
| ACP-1 | 0.5457 | 3.5961 | 2.0567 | 1.2897 |
| ACP-2 | 0.5457 | 11.9631 | 1.0645 | 1.1530 |
| PGI-1 | 0.1176 | 0.7557 | 1.0882 | 0.4571 |
| PGI-2 | 0.2778 | 1.2751 | 1.5769 | 0.4655 |
| MAL-1 | 4.4587 | 5.6736 | 381.5165 | 6.6321 |
| CAT-1 | 4.3045 | 2.2655 | 12.4959 | 2.5058 |
| AMP-2 | 4.2037 | 21.1791 | 7.3942 | 1.5993 |
| AMP-3 | 1.5489 | 24.8691 | 1.4305 | 1.8196 |
| PGD-1 | 27.7348 | 4.3974 | 5.0993 | 0.8068 |
| POX-1 | 1.1280 | 0.5241 | 5.6248 | 0.9435 |
| 平均 Mean | 1.0242 | 1.7885 | 2.5451 | 1.1683 |

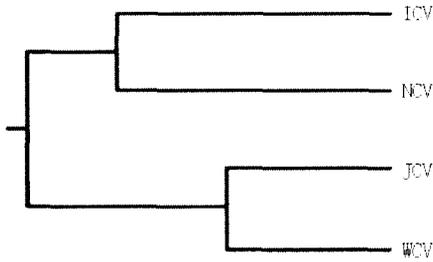


图 2 不同亲和性水稻的 Nei's 遗传距离 UPGMA 聚类图

Fig. 2 Cluster analysis (UPGMA) of different compatibility groups in rice (*Oryza sativa* L.) using Nei's genetic distance

3 分析和讨论

3.1 广亲和品种的遗传多样性

遗传多样性是指该居群所有个体所携带的遗传信息的总和,它是一个居群生存、发展和变化的基础。不同研究者采用同工酶或分子标记对各类型水稻的遗传多样性进行了深入的研究,并得到许多关于水稻遗传多样性、遗传分化和地理分布等有意义的结果^[3,18-21]。但是关于广亲和品种的遗传多样性则未见报道。本研究采用 10 种同工酶的 15 个多态位点在水稻总体中检测到较高的遗传多样性 ($He = 0.454$),比此前 Second^[3]报道的 *O. sativa* 遗传多样性指数为 0.23, Li 和 Rutger^[21]报道的 He 为 0.36 要高,原因可能是随着水稻育种特别是籼粳杂交育种的进展,增加了中间型材料,从而使水稻的遗传多样性得到提高。其中 ICV 的遗传多样性最高 ($He = 0.447$), JCV 最低 ($He = 0.354$),这一结果与孙新立等^[22]认为籼稻多样性大于粳稻的观点基本一致。分析表明, WCV 的遗传多样性水平 ($He = 0.380$) 比 ICV 低,比 JCV 略高。这一方面表明广亲和品种并不是极其稀少的特有种质资源,它可能广泛存在于自然种群或人工育种材料中,只是较少被发现而已。另一方面,说明由于广亲和品种所具有的广亲和性,可能使它更容易被转入籼稻或粳稻的基因,增加遗传多样性。不过,本实验中各组的材料数量相差较大,可能对遗传多样性分析结果有一定影响,今后还应筛选更多的 ICV、JCV 及 NCV 材料来进行分析,对这些结果做进一步验证。

3.2 水稻遗传分化与亲和性分化的关系

亚种间杂种不育的遗传机制一直是水稻育种研究的热点。20 世纪 50 年代以来, Oka 和 Sano 等水稻遗传学家对籼粳杂种不育的遗传基础作了大

量研究,提出了多种杂种不育的基因遗传模式^[23-25]。Ikehashi 和 Araki^[6]在 20 世纪 80 年代发现广亲和品种,并提出了符合单位点孢子体-配子体互作模式的“广亲和基因”理论,将亚种间复杂的亲和性遗传归结为简单的广亲和基因控制。后来又发现与 S_5 非等位的多个广亲和基因,并认为 S_5 是控制籼粳杂种不育的一个主效基因^[7]。但是进一步的研究发现,广亲和基因理论在解释复杂的亚种间亲和性现象还存在一些问题。罗利军等^[26]认为广亲和品种有三种可能来源,即原始型籼、粳稻,籼、粳中间型及籼粳交后代。Zheng 等^[27]采用 RFLP 标记将广亲和品种聚类成分别含籼、粳测验种的两群。迄今为止,各学者还没有完全弄清亚种间杂种不育的遗传机制。

本研究对水稻材料进行亲和性鉴定,得到亲和性分化的 4 种类型,然后从群体遗传学角度对这 4 种亲和类型的遗传多样性和遗传结构进行分析,期望得到水稻亲和性分化与遗传分化的一些内在联系。通过各组配对的 AMOVA 分析,发现不同亲和性材料之间存在大量的遗传分化 (F_{st} 从 0.13846 至 0.30319)。其中 ICV 与 JCV、WCV 与 ICV、WCV 与 JCV 的分化程度分别达到极大、较大和中等水平。由于 ICV 与 JCV 之间存在生殖障碍,而 WCV 与 ICV、WCV 与 JCV 则不存在生殖障碍,因此,水稻的亲和性问题本质上更是一个遗传分化的问题,即水稻各组间的生殖障碍是在它们遗传分化积累到极大水平时出现,在遗传分化只达到中等或较大水平时不出现。此外, Wright^[28]指出,如果基因流 $Nm < 1$, 则由于遗传漂变可以导致种群间明显的遗传分化。本研究发现, WCV 与 JCV、ICV 的基因流分别高达 2.5451 和 1.7885, 预示着 WCV 与 JCV、ICV 的遗传分化今后可能会进一步缩小。而 ICV 与 JCV 之间的基因流 Nm 为 1.0242, 这一水平刚好处于基因流引起的种群遗传分化减少与遗传漂变引起的种群遗传分化增加相平衡的状态。这些信息给杂交水稻育种者一个重要的启示,即今后育种上应进行不同亲和性材料杂交,增大各亲和类型间的基因流,降低其遗传分化水平,从而消除不同亲和类型间的生殖障碍,直接利用它们的杂种优势。

参考文献

- [1] Oka H I. Experimental studies on the origin of cultivated rice [J]. Genetics, 1974, 78:475-486.
- [2] Sato Y I. How was rice differentiation into *indica* and *japonica*?

- [A]. In: Rice Genetics II [C]. Manila, Philippines: IRRI, 1991. 45–53.
- [3] Second G. Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza* spp.): Study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci [J]. *Jpn J Genet*, 1982, 57:25–57.
- [4] Glaszmann J C. Isozymes and classification of Asian rice varieties [J]. *Theor Appl Genet*, 1987, 74(1):21–30.
- [5] Ikehashi H, Araki H. Varietal screening of compatibility types revealed in F_1 fertility of distant crosses in rice [J]. *Jpn J Breed*, 1984, 34(3):304–312.
- [6] Ikehashi H, Araki H. Genetics of F_1 sterility in remote crosses of rice [A]. In: Rice Genetics [C]. Manila, Philippines: IRRI, 1986. 119–130.
- [7] Wan J, Ikehashi H. List of hybrid sterility gene loci (HSGLi) in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Rice Genet Newsl*, 1996. 13: 110–114.
- [8] Yuan L P(袁隆平), Wu X J(武小全), Yan Y C(颜应成), et al. A strategy for developing wide spectrum compatibility rice line [J]. *Sci Agri Sin(中国农业科学)*, 1997, 30(4):1–8.(in Chinese)
- [9] Li Z C(李自超), Wang X K(王象坤), Cai H W(才宏伟). Studies on wide compatibility and its inheritance of American rice variety [J]. *Acta Agri Univ Pekin(北京农业大学学报)*, 1994, 20(2):120–127. (in Chinese)
- [10] Duan Z G(段中岗), Wang Y Q(王亚琴), Liang C Y(梁承鄯). Identification of wide compatibility of intermediate type varieties and *indica-japonica* DH lines in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Hybrid Rice*, 2003, 18(6):42–46.(in Chinese)
- [11] Wang Z R(王中仁). Isozyme Analysis in Plant [M]. Beijing: Science Press, 1996. 74–144.(in Chinese)
- [12] Sun X L(孙新立), Cai H W(才宏伟), Wang X K(王象坤). A method for the study on electrophoretic variation of isozymes in rice with polyacrylamide gel [J]. *Chin Rice Sci(中国水稻科学)*, 1996, 10(1):43–50.(in Chinese)
- [13] Duan Z G(段中岗), Liang C Y(梁承鄯). Improving polyacrylamide gel electrophoresis to determine the isozyme loci of *indica-japonica* differentiation in rice [J]. *J Lanzhou Univ(兰州大学学报)*, 2005, 41(4):30–33.(in Chinese)
- [14] Francis Y C, Yang R C, Timothy B J, et al. POPGENE, the User-friendly Shareware for Population Genetic Analysis [C]. Canada: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 1997.
- [15] Nei M. Genetic distance between populations [J]. *Amer Nat*, 1972, 106:283–292.
- [16] Stefan S, David R, Excoffier L. Arlequin Ver. 2.0: A Software for Population Genetics Data Analysis [C]. Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, 2000.
- [17] Buso G S C, Rangel P H, Ferreira M E. Analysis of genetic variability of south American wide rice population (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers [J]. *Mol Ecol*, 1998, 7:107–117.
- [18] Nakagahra M. The differentiation, classification and center of genetic diversity of cultivated rice (*Oryza sativa* L.) by isozyme analysis [J]. *Trop Agri Res Ser*, 1978, 11:77–82.
- [19] Zhang Q, Maroof M A S, Lu T Y, et al. Genetic diversity and differentiation of *indica* and *japonica* rice detected by RFLP analysis [J]. *Theor Appl Genet*, 1992, 83:495–499.
- [20] Zhu J, Gale M D, Quarrie S, et al. AFLP markers for the study of rice biodiversity [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 96:602–611.
- [21] Li Z, Rutger J N. Geographic distribution and multilocus organization of isozyme variation of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 101:379–387.
- [22] Sun X L(孙新立), Cai H W(才宏伟), Wang X K(王象坤). Diversity and nonrandom association of rice isozyme genes [J]. *Acta Genet Sin(遗传学报)*, 1996, 23(4):276–285.(in Chinese)
- [23] Oka H I. Genic analysis for the sterility of hybrids between distantly related varieties of cultivated rice [J]. *J Genet*, 1957, 53(3):397–409.
- [24] Oka H I. Phylogenetic differentiation of cultivated rice, XXI. The sporophytic pollen sterility: its genetic basis and intervarietal relationships as shown by F_1 sterility [J]. *Jpn J Genet*, 1978, 53(6): 397–410.
- [25] Sano Y, Chu Y E, Oka H I. Genetic studies of speciation in cultivated rice. I. Genic analysis for the F_1 sterility between *O. sativa* L., *O. glaberrima* Steud [J]. *Jpn J Genet*, 1979, 54(2):121–132.
- [26] Luo L J(罗利军), Ying C S(应存山), Mei H W(梅捍世), et al. Wide compatibility of five American rice varieties and pedigree analysis [J]. *SW Chin J Agri Sci(西南农业学报)*, 1994, 7(1):18–22.(in Chinese)
- [27] Zheng K L, Qian H R, Shen B, et al. RFLP-based phylogenetic analysis of wide compatibility varieties in *Oryza sativa* L. [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 88:65–69.
- [28] Wright S. The genetical structure of populations [J]. *Ann Eugen*, 1951, 15:323–354.