

利用 SSR 分析普通野生稻自然居群交配系统

李小湘^{1, 2} 刘 勇^{2, *} 段永红¹ 王淑红¹ 詹庆才¹ 孙桂华¹ 高立志^{3, *}

(¹湖南省农业科学院 水稻研究所, 湖南 长沙 410125; ²中南大学 研究生院, 湖南 长沙 410083; ³中国科学院 昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; * 通讯联系人, E-mail: haoasliu@163.com)

Estimation of Mating System in Natural *Oryza rufipogon* Populations by SSR Markers

LI Xiao-xiang^{1, 2}, LIU Yong^{2, *}, DUAN Yong-hong¹, WANG Shu-hong¹, ZHAN Qing-cai¹, SUN Gui-hua¹, GAO Li-zhi^{3, *}
(¹Rice Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China; ²Graduate School of Central South University, Changsha 410083, China; ³Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; * Corresponding author, E-mail: haoasliu@163.com)

LI Xiaoxiang, LIU Yong, DUAN Yonghong, et al. Estimation of mating system in natural *Oryza rufipogon* populations by SSR markers. Chin J Rice Sci, 2010, 24(6): 601-607.
Abstract: *Oryza rufipogon* Griff. is the most important germplasm for rice improvement. Better understanding its mating system will provide useful information for further *in situ* conservation and management of *O. rufipogon*. By using SSR method, the genetic diversity and outcrossing rate of six natural *O. rufipogon* populations were estimated. The levels of genetic diversity varied among the populations, with the Nei's diversity indices ranged from 0.3166 to 0.6075. There was a significant genetic differentiation ($F_{st}=0.422$) among the sampled populations. Two populations exhibited a heterozygosity excess, whereas the other four populations had a heterozygosity deficit. The *O. rufipogon* populations possessed a mixed type of mating system, although the outcrossing rate was variable among the populations. The multilocus outcrossing rate ranged from 15.1% to 41.8%, and the single-locus outcrossing rate from 10.1% to 28.5%. There were significant differences between the multilocus outcrossing rate and the single-locus outcrossing rate, and high values of correlation of paternity in the populations, indicating a considerable inbreeding existed in the populations. The correlation of paternity for the multilocus significantly differed from the correlation of paternity for the single-locus, suggesting that there was a substructure occurred in each sampled population. Some measures for further improving *in-situ* and *ex-situ* conservation of *O. rufipogon* were also discussed.
Key words: *Oryza rufipogon*; mating system; ; *in-situ* conservation; *ex-situ* conservation; genetic diversity; simple sequence repeats; conservation biology

李小湘, 刘 勇, 段永红, 等. 利用 SSR 分析普通野生稻自然居群交配系统. 中国水稻科学, 2010, 24(6): 601-607.
摘 要: 采用 SSR 标记技术检测了 6 个自然居群的遗传多样性和交配系统参数,旨在了解其居群交配系统,为有效原位保护、异位保存提供指导。结果表明,6 个居群遗传多样性水平存在差异(基因多样性指数变幅为 0.3166~0.6075),居群间分化明显($F_{st}=0.4220$)。广东高州大岭居群和广东高州朋山居群有过剩的杂合子($F<0$),而另外 4 个居群有过剩的纯合体($F>0$)。普通野生稻 6 个取样居群交配系统为混合交配类型,居群之间的异交率相差较大(多位点异交率变幅为 15.1%~41.8%,单位点异交率变幅为 10.1%~28.5%)。6 个居群的多位点异交率都高于单位点异交率,而且位点亲本相关度比较大,说明居群内存在一定程度的近交。同时,各居群单位点相关度与多位点相关度差值较大,表明居群内存在亚结构。还讨论了进一步改善普通野生稻原位和异位保护的措施。
关键词: 普通野生稻; 交配系统; 原位保护; 异位保存; 遗传多样性; 简单重复序列; 保育生物学
中图分类号: Q943; S511.02 文献标识码: A 文章编号: 1001-7216(2010)06-0601-07

植物交配系统是种群两代个体间遗传联系的有性系统,为影响植物居群遗传结构的重要因素之一,决定了后代居群的基因型分布和种群动态,是保护遗传学研究的重要内容^[1],对植物保护策略的制定具有指导意义。交配系统对居群遗传多样性的作用主要是影响杂合度和基因分化系数^[2],异交率是交配系统的主要特征参数。

普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)是亚洲

栽培稻(*Oryza sativa* L.)的最近缘祖先,属国家Ⅱ级保护植物。利用普通野生稻丰富栽培稻遗传基础是进一步提高水稻单产的重要途径之一。广州犀牛尾的耐逆境普通野生稻、海南崖县的“野败”型普通

收稿日期: 2010-04-09; 修改稿收到日期: 2010-04-29。
基金项目: 中南大学研究生教育创新工程学位论文创新选题基金资助项目(2006-2007); 湖南省科技厅湖南水稻种质资源平台建设项目(2006-2009)。

野生稻为我国水稻单产大幅度提高提供了突破性资源。随着栽培稻遗传资源利用日趋饱和,发掘利用普通野生稻中具有但栽培稻种质中目前尚不具有的有益基因倍受重视。

有效保护(存)野生稻是持久发掘和利用其有益基因的前提。在过去 10 年中,我国普通野生稻的 15 个保护区(点)相继建立。但是,有的保护区与大片栽培稻区相隔只有一田埂;有的保护区人为移栽大扩繁;有的保护区急剧还原,四周突然抛荒却无后续管理,杂草茂盛而普通野生稻生长受抑制,单株有减少之势。已实施的这些保护和恢复措施是否适应普通野生稻种群的生存进化有待进一步监测和评价。原位普通野生稻交配系统研究的数据可为了解其居群的遗传动态,预测原位保护居群生存风险,优化完善异位保存和原位保护措施提供依据。

普遍认为普通野生稻交配系统是风媒异交和自交混合型^[3-6],此结论一般根据自然居群植株多态性位点的固定指数推算稳定居群的理论预期异交率,从而间接调查普通野生稻交配系统,仅叶平扬等^[3]通过分析东乡野生稻一个自然居群种茎(亲本)与种子(子代)种群来直接反映交配系统。

简单重复序列(SSR)的检测灵敏度高,具有共显性遗传而能检测杂合子,多态性较高,稳定性好,操作简单,DNA 用量少,在不同基因组中随机分布,易于扩增等优点^[7],是目前应用于植物遗传多样性和交配系统研究最有效的标记。栽培稻中已有大量的 SSR 标记被开发,由于普通野生稻与亚洲栽培稻具有共同的基因组(AA),这些 SSR 标记已用于普通野生稻的遗传多样性研究^[8]。本研究用 SSR 标记对多个普通野生稻自然居群进行比较研究,期望更清楚地揭示普通野生稻的交配模式,为原位保护

和异位保存的管理、遗传多样性保持、种质繁种更新要求的制定和育种取材提供更多有价值的依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

样本采自江西、湖南、广西、广东的 6 个居群。取样居群及其地理生境列于表 1。江西东乡居群由 2 个相邻池塘组成。广西武宣居群的 3 个池塘与水沟之间相距 100~1000 m,无山、树等自然屏障。广东高州大岭保护区和朋山非保护区居群相隔约 10 km。湖南江永居群的 3 个池塘分布在同一个村,相隔 500~1000 m,但有山、树相隔,1 个池塘为 1 个亚居群,其中 2 个池塘(亚居群)的普通野生稻少于 10 个单株(individual)。对少于 10 个单株的亚居群每单株取叶片和种子,多于 10 个单株的(亚)居群每隔 2~10 m 随机取 1 个单株的种子和叶片,取样点之间距离根据采集地面积确定。采样时取无病虫害的嫩叶和成熟种子,同一单株母株(maternal)的不同穗子上种子(progeny)组成 1 个家系(family),分单株将叶片和种子置于硅胶中快速干燥,同一单株上叶片样本的编号与种子样本相同。叶片保存在-20℃冰箱中,种子保存在(5±1)℃的种质库中。

随机抽取采集有 15 粒以上种子的母株样本及其子代进行 SSR 比较分析。母株取自然居群采集的叶片样本进行测定,居群子代则取自然居群中采集的种子发芽后幼苗进行测定。

1.2 DNA 提取、引物筛选、PCR 扩增和电泳

1.2.1 DNA 提取

参考 Roger 等^[9]的 CTAB 法从自然居群叶片样本中提取 DNA,略有改动。用 0.8% 琼脂糖检测 DNA 质量,紫外分光光度计测定 DNA 浓度,用灭

表 1 普通野生稻取样居群的地理生境

Table 1. Geographical locations and areas of the sampled *Oryza rufipogon* populations.

居群 Code of population	地点 Locality	生境 Habitat	与水稻田距离 Distance from paddy field/m	围墙 Enclosure	分布面积 Area/m ²	保护状况 Conservation status
JXD	江西东乡 Dongxiang, Jiangxi	2 个水塘 Two ponds	≥200	有 Yes	600	原位保护 <i>in-situ</i>
HNC	湖南茶陵 Chaling, Hunan	湖 Lake	≥1000	无 No	15 000	原位保护 <i>in-situ</i>
HNJ	湖南江永 Jiangyong, Hunan	3 个水塘 3 ponds	≥1000	无 No	7 650	原位保护 <i>in-situ</i>
GXW	广西武宣 Wuxuan, Guangxi	3 个水塘和 1 条水沟 3 ponds and 1 ditch	≤0.5	无 No	80 000	未保护 No
GDD	广东高州大岭 Daling, Gaozhou, Guangdong	水塘 Pond	≈5	有 Yes	2 660	原位保护 <i>in-situ</i>
GDP	广东高州朋山 Pengshan, Gaozhou, Guangdong	湿地 Marshland	≤0.5	无 No	13 000	未保护 No

菌超纯净水稀释至 20 ng/ μ L 备用。子代个体 DNA 提取参考 Klimyuk 等^[10]、詹庆才^[11]、桑贤春等^[12]报道的简易法,略有改动。

1.2.2 引物筛选

从每个居群随机选 4 个样本的 DNA,筛选分布在 12 条染色体上的 120 对 SSR 引物,从中选取 24 对条带清晰、多态性高、重复性好的 SSR 引物用于 6 个居群所有母株样本的 PCR 扩增,再从 24 对 SSR 引物中精选 14 对引物用于 6 个居群的亲本和子代所有样本的 PCR 扩增。SSR 引物由北京奥科生物技术有限责任公司合成,序列从水稻基因组数据库中获得。

1.2.3 PCR 扩增

扩增反应在 PCR System 9700 扩增仪上进行。优化的 10 μ L PCR 扩增体系包括模板 DNA 20 ng,引物各 0.1 μ mol/L,10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0),50 mmol/L KCl,0.001% 明胶,2.0 mmol/L MgCl₂,Taq 酶 0.03 U/ μ L,dNTP 0.1 mmol/L。扩增程序为 94℃ 下预变性 5 min;94℃ 下 30 s,55℃~62℃ (各引物所用的退火温度根据推荐设置)下 30 s,72℃ 下 1 min,35 个循环;72℃ 下延伸 8 min,4℃ 下保存。扩增产物用 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,然后用 0.1% 硝酸银染色 5~10 min,用显影液(每 100 mL 中含 NaOH 1.5 g、四硼酸钠 0.019 g、0.4 mL 甲醛)显色至条带清晰出现,用双蒸水清洗后,在 X-胶片观察灯下观察,数码相机拍照。

不同居群用同一引物扩增出多个等位基因时则取各个等位基因的样本 1~2 份进行 2~3 次重复扩增电泳进行比较;亲本以 DNA 分子量标准 Marker 作对照;子代用同家系亲本和 DNA 分子量标准 Marker 作双重对照。

1.3 数据分析

1.3.1 遗传多样性参数

运用 POPGENE 1.31 软件^[13] 计算居群遗传参数。评价遗传多样性水平的统计参数包括多态性位点百分率(P)、有效等位基因数(A_e)、Shannon 指数(I)、预期杂合度(H_e)、观察杂合度^[14] (H_o)、居群内 Nei 基因多样性指数(H);用各居群多态性位点的 Wright 固定指数($F_1 = 1 - H_o/H_e$)衡量是否偏离 Hardy-Weinbery 平衡;根据 F_1 计算稳定群体理论预期异交率(t_e), $t_e = (1 - F_1)/(1 + F_1)$ ^[15];用 F 统计值(F_{st})衡量居群间遗传分化。

1.3.2 交配系统参数的估算

采用 MLTR 统计软件^[16-17],对交配系统各个参数进行估计。在亲本基因型已知的前提下,采用最大期望法(expectation maximization method),经过 1000 次重复取样(bootstraps)对实验种群估计了以下参数:单位点(t_s)和多位点(t_m)异交率;双亲近交系数($t_m - t_s$);亲本近交系数(F);异交率相关性(r_1);亲本相关性(r_p),包括单位点相关度(r_{ps})和多位点相关度(r_{pm})。因软件一次最多只能统计 8 个引物,所以将 14 个引物分两组,每组 7 个引物。同一染色体上的引物不分在同一组,其他引物随机抽取。分组 3 次统计,各参数 6 组数据,求其平均值。

2 结果与分析

2.1 普通野生稻自然居群亲本遗传多样性水平和结构

表 2 显示,6 个自然居群的 Nei 基因多样性指数(H_e)间的差异较大,其中以江西东乡居群最小(0.3363),湖南江永居群最大(0.6075)。6 个母代居群间分化明显, F_{st} 为 0.4220,说明 42.2% 基因多样性存在于居群间。从理论上推算,6 个母代居

表 2 6 个居群母代基因多样性参数的差异

Table 2. Comparison of gene diversity parameters of maternal populations.

居 群 Population	样本量 No. of samples	多态性位点 百分率 $P/\%$	平均有效 等位基因数 A_e	Shannon 指数 I	Nei 基因 多样性指数 H	观察 杂合度 H_o	预期 杂合度 H_e	固定指数 F_1	推算 异交率 t_e
JXD	44	92.86	1.6593	0.5847	0.3363	0.3166	0.3401	0.0586	0.8892
HNC	44	100.00	2.9076	1.2058	0.6056	0.4136	0.6126	0.3171	0.5185
HNJ	46	100.00	2.7735	1.1040	0.6075	0.4006	0.6142	0.3406	0.4919
GXW	43	100.00	2.5216	1.1075	0.5590	0.4217	0.5656	0.2456	0.6057
GDD	45	100.00	2.1976	0.9016	0.5162	0.5857	0.5220	-0.1347	—
GDP	45	92.86	2.1706	0.8586	0.4888	0.6265	0.4944	-0.2816	—

P , Percentage of polymorphic loci; A_e , Mean effective number of alleles; I , Shannon's information index; H , Nei's gene diversity index; H_o , Observed heterozygosity; H_e , Expected heterozygosity; F_1 , Fixation index($1 - H_o/H_e$); t_e , Estimated outcrossing rate.

群总的 Wright 固定指数(F_1)为 0.1120,表明偏离 Hardy-Weinbery 平衡,但是各母代居群偏离程度不一样,其中广东高州大岭和广东高州朋山居群母代的观察杂合度都大于预期杂合度, $F_1<0$,表现为杂合子过剩;广西武宣、湖南江永、湖南茶陵母代居群的观察杂合度(H_o)都小于预期杂合度(H_e), $F_1>0$,表现为纯合子过剩;江西东乡母代居群的 F_1 为 0.0586,观察杂合度与预期杂合度也只相差 0.0235,江西东乡母代居群理论上接近于随机交配。

2.2 普通野生稻自然居群交配系统研究

表 3 显示各居群之间的异交率相差较大。6 个居群的 t_m 值大小顺序为:广西武宣>江西东乡>广东高州大岭>湖南茶陵>广东高州朋山>湖南江永, t_s 值大小顺序为:江西东乡>广东高州大岭>广西武宣>广东高州朋山>湖南茶陵>湖南江永。

t_m 与 t_s 值之间的差值反映双亲近交程度,6 个居群的多位点异交率都高于单位点异交率,即 t_m-t_s 值都>0,说明居群内近交比例都较高,证明了各个居群的子代观察杂合度都低于母代观察杂合度,这与理论推测的结果一致,其中广西武宣居群的双亲近交比例最高,为 0.166;广东高州朋山的双亲近交比例最低,为 0.046;广东高州大岭的双亲近交比例为 0.047,与广东高州朋山的双亲近交比例接近。这比根据 F_1 推测的交配系统更进一步明确了各居群的当代近交比例差异。

6 个居群的 r_{pm} 都比较大,但彼此相差不大,变幅为 0.607(湖南江永)~0.718(广东高州朋山),说

明各居群内子代的双亲有可能是姊妹关系的个体都比较多,有利于发生近交。

r_t 是家系之间的异交率的变异程度。6 个居群中湖南江永居群的 r_t 最大,湖南茶陵居群的 r_t 最小,广西武宣和广东高州大岭居群的 r_t 值近似,江西东乡和广东高州朋山居群的 r_t 值近似。同一居群的 r_t 与 r_{pm} 有较大差异,说明取样居群中存在亚结构。

广东高州大岭和朋山两个居群内的亲本近交系数 $F<0$,居群中有过剩的杂合子,纯合体缺乏,并且相对异交而言近交很少;江西东乡、广西武宣、湖南江永和茶陵居群的 F 值都大于 0,说明这 4 个居群中有过剩的纯合体。6 个居群 F 值大小顺序为江西东乡>广西武宣>湖南江永>湖南茶陵>广东高州朋山>广东高州大岭。

如果自交是种群偏离 Hardy-Weinbery 平衡的唯一因素,经过若干代后,种群将达到近交平衡,异交率 t 恒定不变,那么 $t=(1-F)/(1+F)$ 公式成立,而表 3 中数据表明 $t_m<(1-F)/(1+F)$,说明除了自交外还有其他因素影响 6 个居群的基因型频率,各个居群尚未达到近交平衡。这 6 个居群交配系统在取样当年受居群大小、单株密度、气候条件、人为破坏或保护的干扰等因素影响,各居群取样当年的生境不利于传粉。

$r_{ps}-r_{pm}$ 反映双亲关联度与交配居群结构之间的关系,6 个居群的 $r_{ps}-r_{pm}$ 都较大,最大差值为 0.918(广东高州朋山),最小也有 0.807(湖南江永),说明存在利于近交的选择作用。

总的来说,6 个普通野生稻自然居群表现为混

表 3 普通野生稻 6 个自然居群的交配系统参数

Table 3. Mating system parameters for the six natural populations of *Oryza rufipogon* (Mean±SD).

参数	自然居群 Population					
	JXD	HNC	HNJ	GXW	GDD	GDP
样本量 No. of samples						
家系 Family	23	28	26	32	18	23
种子 Seed	437	786	347	362	192	229
多位点异交率 t_m	0.389±0.058	0.239±0.038	0.151±0.042	0.418±0.055	0.329±0.081	0.238±0.064
单位点异交率 t_s	0.285±0.047	0.143±0.027	0.101±0.028	0.252±0.037	0.283±0.080	0.191±0.055
双亲近交系数 t_m-t_s	0.104±0.029	0.096±0.017	0.051±0.019	0.166±0.033	0.047±0.039	0.046±0.033
多位点相关度 r_{pm}	0.627±0.132	0.624±0.097	0.607±0.146	0.665±0.153	0.626±0.244	0.718±0.298
异交率相关性 r_t	0.225±0.075	0.166±0.064	0.337±0.103	0.249±0.078	0.250±0.135	0.216±0.123
亲本近交系数 F	0.286±0.083	0.192±0.061	0.193±0.076	0.242±0.074	-0.196±0.020	-0.119±0.053
$r_{ps}-r_{pm}$	0.880±0.132	0.824±0.097	0.807±0.146	0.865±0.154	0.827±0.245	0.918±0.301
亲本相关性 r_p	0.177±0.094	0.315±0.076	0.444±0.117	0.153±0.082	0.365±0.238	0.414±0.244

t_m , The multilocus population outcrossing rate; t_s , The single-locus population outcrossing rate; r_p , The correlation of paternity (the fraction of siblings that share the same father); F , The single-locus inbreeding coefficient of maternal parents; r_t , The correlation of t estimate; r_{pm} , The multilocus correlation of paternity; r_{ps} , The single-locus correlation of paternity.

合交配类型,居群间的交配系统参数存在着变异。

3 讨论

3.1 普通野生稻自然居群异交率与遗传多样性、生境、植株密度的关系

本研究中 6 个自然母代居群间分化明显(F_{st} 为 0.4220),说明各居群内异交程度存在差异,这与居群间异交率(t_m 变幅 15.1%~41.8%, t_s 变幅 10.1%~28.5%)存在差距的结果一致。但是 6 个自然居群的 t_m 或 t_s 值大小顺序与居群的基因多样性、杂合度值大小顺序不一致,这是由于植物交配系统受很多因素的影响。本研究结果 $t_m < (1 - F)/(1 + F)$ 也说明基因型频率还受除异交率外的其他影响因素影响。

对巴西展颖野生稻、泽苔草等植物交配系统的研究表明,同一种群的不同居群异交率不同,不同居群内家系之间的异交事件发生受花期相遇程度、开花期气候条件、株距(密度)、人畜干扰、外部花粉的迁入等影响^[18-20]。本研究的 6 个居群中湖南江永居群理论预期异交率 t_e 、当代检测异交率 t_m 值和 t_s 值都最小,主要原因是该居群样本采自 3 个分隔亚居群。因为 3 个亚居群虽然分布在同一个村,每个亚居群的单株少,其中 2 个亚居群中的每个亚居群单株数小于 10 株,但是 3 个亚居群之间有山丘和树林(香柚、橙、柑橘)相隔,异交事件主要在亚居群内个体之间进行,亚居群间较难发生基因流动而出现分化^[21]。虽然广东高州朋山和湖南茶陵居群分布的面积较大,前者四周与栽培稻相邻,但是常有牛为害而结实的个体少,而后者杂草丛生且有成群野猪进入翻动土壤为害,所以居群内普通野生稻生长不茂盛,单株之间相隔相对较远。2005 年调查结果是包含生长最密集片段的广东高州朋山居群 728 m² 内有 215 个单株,平均 3.39 m² 内有 1 个单株;湖南茶陵居群 728 m² 内有 150 个单株,平均 4.85 m² 内有 1 个单株;广东高州朋山、湖南茶陵居群取样区单株之间最短距离分别为 20 cm 和 30 cm。这可能是广东高州朋山和湖南茶陵居群的异交率相对比较低的主要原因。2006—2009 年考察发现湖南茶陵居群普通野生稻单株有减少之势,其异交率是否减少有待监测。

广东高州大岭、江西东乡居群生长茂密,两个居群内不同单株相隔近的不超过 10 cm,江西东乡居群 150 m² 内有 99 个单株。虽然广西武宣居群的样本取自 3 个池塘和 1 条水沟,但是其中有 2 个池塘

相距约 100 m,另一池塘与水沟相邻,地理隔离的亚居群之间也可能发生异交,并且 4 个亚居群的四周与栽培稻相邻,有部分普通野生稻植株与邻田的栽培稻花期相遇,这是广东高州大岭、江西东乡、广西武宣居群内异交率的理论推算值和当代检测值都比其他居群高的主要原因。

研究显示 6 个取样居群存在亚结构。广西武宣、湖南江永取样居群存在亚结构主要是由于地理相隔形成的亚居群。广西武宣居群样本取自彼此相隔 100~1000 m 的 3 个池塘和 1 条水沟,湖南江永的样本各取自水系不相连、相隔 500~1000 m 的 3 个池塘。其他 4 个居群内不存在地理隔离但是也存在亚结构。湖南茶陵居群存在亚结构与 Xu 等^[6]报道的茶陵原位普通野生稻存在 4 个地理并不隔离的亚居群的结果相符,因为湖南茶陵居群内由于繁殖方式不同,离栽培稻距离不同而导致了“斑块结构”的形成:有从异位圃引种繁殖的;有原位种子萌芽繁殖的;有曾与栽培稻相邻的,已有报道证明有栽培稻基因流入^[8];还有因为沼泽地出现了生境片段化。其他 3 个居群内存在亚结构,可能原因不能排除生境片段化:江西东乡居群生存的池塘外围与中央水的深浅不一;广东高州朋山居群中有沼泽地;广东高州大岭居群中水的深浅不一,因房屋和树的遮挡而光照也不同。

江西东乡的 t_m 为 0.389,叶平扬等^[3]报道为 0.481,其差异可能与取样年份不同有关。

3.2 本研究对普通野生稻异位保存和原位保护的指导意义

近交衰退是指由于近交(自交和亲缘个体间的异交)导致后代适合度下降的现象。Ritland 提出了一种利用自交率和近交系数估测近交衰退程度的方法,即近交衰退值 δ 为 1 减去自交种子相对于异交种子的相对适合度。当不同世代间居群的近交系数基本不变时,简化公式为 $\delta = 1 - 2 \times F \times t / (1 - t) \times (1 - F)$,式中异交率 t 和近交系数 F 为采用 MLTR 程序^[16-17]的测定值。此方法能较方便地测定居群的近交衰退,目前采用该方法的研究越来越多^[22]。根据本研究的结果计算,江西东乡、湖南茶陵、湖南江永、广西武宣、广东高州大岭、广东高州朋山居群的近交衰退值 δ 分别为 0.490、0.851、0.915、0.542、1.161 和 1.066。虽然世代间近交系数 F 不变的假设可能不成立,因而会扩大计算的近交衰退程度,但计算结果在某种程度上表明 6 个取样居群的近交衰退存在的可能性比较大,即使目前杂合子过剩,异交

率高,也必须长期监测各个原位保护居群的遗传多样性动态。

广东高州朋山、湖南江永、湖南茶陵居群的固定指数的当代估算值 F 比理论推算值 F_1 更接近 Hardy-Weinbery 平衡,广东高州大岭、广西武宣、江西东乡的固定指数的当代估算值 F 比理论推算值 F_1 更远离 Hardy-Weinbery 平衡,特别是江西东乡居群,从其 $F_1(0.0586)$ 看接近 Hardy-Weinbery 平衡,但是 F 值为 0.286。Hardy-Weinbery 平衡反映的是关于种群基因频率和种群基因型频率相互关系的规律,是指在随机交配的大群体内,若没有选择、突变或迁移因素的作用,基因频率和基因型频率在世代间保持恒定。从这个意义上说,本研究中不同居群、同一居群不同世代已受到不同程度的选择或其他因素的影响,因此,基因频率和基因型频率偏离 Hardy-Weinbery 平衡。保持普通野生稻的自然进化过程和进化机制是设置原位保护点的主要目标。因此,自然保护区设计原则除要考虑保持普通野生稻和生态系统的生存力之外,还必须重点考虑普通野生稻居群在自然保护区中遗传多样性相对稳定性和能否进化。这要求居群必须足够大,有大量的适应性突变基因产生,以适应环境变化而能生存;栖息地也必须足够大,以满足正常生态演替所需的空间。从这种意义上说,我们有必要针对各居群的生境和居群大小进一步改善我国普通野生稻的保护措施。

本研究结果表明普通野生稻自然居群交配类型为自交异交混合型。Chen 等^[23]研究表明,在田间条件下从栽培稻到普通野生稻的基因流是 1.21%~2.19%。Song 等^[24]用 SSR 标记检测明恢 63 基因流入湖南茶陵普通野生稻自然居群的最大频率低于 3%,最大距离为 43.2 m。Wang 等^[25]报道在广东、三亚的大田条件下,含 *Bar* 基因的粳稻 L201 基因流入广东普通野生稻的频率为 11.24%~18.0%,最大距离分别为 50~250 m。栽培稻基因的渗入能影响普通野生稻原位保护居群遗传多样性水平或遗传结构^[26-29]。随着转外源基因水稻品种的环境释放,含亚洲栽培稻外基因水稻品种的推广,我国普通野生稻自然居群和异位保存圃附近种植此类栽培稻对普通野生稻的影响将越来越复杂,因此,与栽培稻相隔距离少于 250 m 的普通野生稻重点保护区周围设置屏障需得到高度重视。

谢辞:宋志平博士、陈小勇教授、黎用朝研究员、潘大建研究员、胡学难研究员、黄坤德所长、李道远

研究员、黄振蔓老师、余丽琴研究员、曾会才教授、吴曼峰主任以及湖南省农业厅、江永县农业局、茶陵县农业局在数据分析和采样方面给予了帮助,在此深表谢意。

参考文献:

[1] 张大勇,姜新华. 植物交配系统的进化、资源分配对策与遗传多样性. 植物生态学报, 2001, 25(2): 130-143.

[2] 何田华,葛 頌. 植物种群交配系统、亲本分析以及基因流动研究. 植物生态学报, 2001, 25(2): 144-154.

[3] 叶平扬,董姗姗,卢宝荣,等. 普通野生稻小种群的交配系统与遗传多样性. 生态学报, 2008, 28(4): 1608-1615.

[4] Oka H I, Morishima H. Variation in the breeding systems of a wild rice, *Oryza perennis*. *Evolution*, 1967, 21: 249-258.

[5] Morishima H, Barbier P. Mating system and genetic structure of natural populations in wild rice, *Oryzae rufipogon*. *Plant Species Biol*, 1990, 5: 31-39.

[6] Xu X, Lu B R, Yoland A H, et al. Inferring population history from fine-scale spatial genetic analysis in *Oryza rufipogon* (Poaceae). *Mol Ecol*, 2006, 15: 1535-1544.

[7] McCouch S R, Teytelman L, Xu Y B, et al. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice(*Oryza sativa* L.). *DNA Res*, 2002, 9: 199-207.

[8] Song Z P, Xu X, Wang B, et al. Genetic diversity in the northernmost *Oryza rufipogon* populations estimated by SSR markers. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 1492-1499.

[9] Rogers O S, Bendich A J. Extraction of DNA from plant tissues//Gelvin S B, Schiperoort R A, Verma D P S. *Plant Molecular Biology Manual A6*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 1998: 1-10.

[10] Klimyuk V I, Carroll B J, Thomas C M, et al. Alkali treatment for rapid preparation of plant material for reliable PCR analysis. *Plant J*, 1993, 3: 493-494.

[11] 詹庆才. 利用微卫星 DNA 标记进行杂交水稻种子纯度鉴定的研究. 杂交水稻, 2002, 17(5): 46-50.

[12] 桑贤春,何光华,张 毅,等. 水稻 PCR 扩增模板的快速制备. 遗传, 2003, 25(6): 705-707.

[13] Yeh F C, Yang R. Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis (POPGENE). Version 1.31. Edmonton: University of Alberta, 1999.

[14] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 1978, 89: 583-590.

[15] Weir B S, Cockerham C C. Estimating F -statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1984, 38: 1358-1370.

[16] Ritland K. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. *Heredity*, 2002, 88: 221-228.

[17] Ritland K. Multilocus mating system program (MLTR). Version 3.0[CP/OL]. [2009-10-15]. <http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>.

[18] Karaswa M M G, Vencovsky R, Silva C M, et al. Mating system of Brazilian *Oryza glumaepatula* populations studied with microsatellite markers. *Ann Bot*, 2007, 99(2): 245-253.

[19] 董贞荣,陈进明,王青锋. 泽苔草交配系统的 RAPD 分析. 武汉植物学研究, 2006, 24(2): 167-170.

[20] 李 斌,顾万春. 白皮松交配系统及其种内遗传多样性分量

比的研究. 林业科学研究, 2004, 17(1): 19-25.

[21] 李小湘, 詹庆才, 魏兴华, 等. 湖南江永普通野生稻原位和异位保存种质的 SSR 多样性差异. 中国水稻科学, 2006, 20(4): 361-366.

[22] 陈小勇, 林 鹏. 厦门木麻黄种群交配系统及近交衰退. 应用生态学报, 2002, 13(11): 1377-1380.

[23] Chen L J, Lee D S, Song Z P, et al. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Ann Bot*, 2004, 93(1): 67-73.

[24] Song Z P, Lu B R, Zhu Y G, et al. Pollen competition between cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. *New Phytol*, 2003, 157: 657-665.

[25] Wang F, Yuan H, Shi L, et al. A large-scale field study of transgene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to common wild rice (*O. rufipogon*) and barnyard grass (*Echinochloa crusgalli*). *Plant Biotechnol J*, 2006, 4: 1-10.

[26] Ge S, Oliveira G C X, Schaal B A, et al. RAPD variation within and between natural populations of the wild rice *Oryza rufipogon* from China and Brazil. *Heredity*, 1999, 82: 638-644.

[27] Song Z P, Zhu W Y, Rong J, et al. Evidences of introgression from cultivated rice to *Oryza rufipogon* (Poaceae) populations based on SSR fingerprinting: Implications for wild rice differentiation and conservation. *Evol Ecol*, 2006, 20: 501-522.

[28] Akimoto M, Shimamoto Y, Morishima H. The extinction of genetic resources of Asian wild rice, *Oryza rufipogon* Griff. : A case study in Thailand. *Genet Res Crop Evol*, 1999, 46: 419-425.

[29] 杨庆文, 戴陆园, 时津霞, 等. 云南元江普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff) 遗传多样性分析及保护策略研究. 植物遗传资源学报, 2004, 5(1): 1-5.

科学出版社图书介绍

袁隆平论文集

该书是从袁隆平院士从事杂交水稻技术研发 40 多年间发表的杂交水稻研究文章和在国际会议及活动的报告中选择并结集出版的中、英文论文集。全书共分 3 个部分：中、英对照论文及译文, 英文论文及报告, 部分论文英文摘要选登。共计各类文章 83 篇, 摘要 30 篇。所收录的论文与报告基本上按发表的先后顺序编排, 为袁隆平院士在杂交水稻研发各个时期所形成的重要文献, 涉及杂交水稻育种、栽培、基础研究、示范推广等各技术体系的研究理念、攻关思路、重大进展与未来展望的策略与战略性论述, 集中展现了杂交水稻学的全局概貌与主要内容。

该书可供国内外农学界, 尤其是水稻研究和杂种优势利用研究领域的专家、学者, 广大农业技术应用与推广人员, 农业大专院校师生, 以及对杂交水稻有兴趣者阅读与参考。该书已于 2010 年 8 月出版, 定价 168.00 元。



生物入侵: 预警篇

该书是国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目“重要外来物种入侵的生态影响机制与监控基础”(2009CB119200)、“十一五”国家科技支撑计划课题“入侵物种风险评估与早期预警技术”(2006BAD08A15)与科技部基础性工作专项“中国外来入侵物种及其安全性考察”(2006FY111000)的研究成果专著。该书系统地综合了国内外外来入侵物种风险评估与早期预警的理论与应用研究成果, 分为上、下篇。上篇为理论篇, 围绕风险评估与早期预警的科学问题, 主要论述早期预警体系的构建、入侵物种的数据库与信息共享、入侵物种的适生性风险评估技术与方法、外来入侵物种控制预案编写的基本框架。下篇为应用篇, 主要分析了 64 种我国重要农林入侵物种的适生性风险, 并提出了相应的控制预案, 这些研究成果可为控制与管理我国重要农林外来物种入侵提供决策依据。

该书既可供从事生物安全领域的专业研究人员、大专院校师生, 从事动植物检疫和农业、林业的科研人员、行政官员及管理人员参考, 也可为广大公众了解入侵生物知识, 为政府部门制定入侵生物预防与控制行动提供决策依据。该书已于 2010 年 9 月出版, 定价 198.00 元。

以上两书均由科学出版社出版, 欢迎邮购。联系人: 科学出版社科学销售中心 周文宇; 电话: 010-64031535; E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com; 网上订购: <http://www.shop.sciencepress.cn>。更多精彩图书请登陆网站, 欢迎致电索要书目。

