

云南地区水稻种质资源的遗传多样性分析

邓伟^{1,2,3}, 吕莹^{1,2,3}, 董阳均⁴, 徐雨然^{1,2,3}, 杨华涛⁵, 张锦文^{1,2,3}, 张建华^{1,2,3}, 奎丽梅^{1,2,3},
涂建^{1,2,3}, 相罕章⁶, 管俊娇^{1,2,3}, 董维^{1,2,3}, 谷安宇^{1,2,3}, 安华^{1,2,3}, 杨丽萍^{1,2,3}, 张笑⁴,
李小林^{1,2,3}

(¹云南省农业科学院粮食作物研究所, 昆明 650205; ²云南省主要农作物种子加工工程技术研究中心, 昆明 650205; ³云南省稻作遗传改良重点实验室, 昆明 650205; ⁴水富县种子管理站, 云南水富 657800; ⁵孟连县勐马镇农业综合服务中心, 云南孟连 665801; ⁶孟连县农业技术推广中心, 云南孟连 665899)

摘要: 利用基因芯片 GSR40K 评估了 135 份来自云南不同海拔地区水稻种质资源的遗传多样性和群体结构。结果显示云南不同海拔地区水稻种质资源具有较丰富的遗传多样性, 利用 SNP 标记进行籼粳特性分型, 将种质资源分为籼稻类型、偏籼类型、中间类型、粳稻类型和偏粳类型; 利用单倍型标记和功能标记鉴定了与育种相关的 82 个基因, 结果表明 135 份材料都含有与落粒性相关的基因, 接近 70% 的水稻品种含有稻瘟病抗性基因, 含有抗虫基因及香味基因的品种数量较少; 利用聚类分析和主成分分析将 135 份材料分成 7 个亚群, 通过遗传分化指数 G_{ST} 值评估每一个标记位点在 7 个亚群之间的分化程度, 表明 7 个亚群间存在高度的遗传分化, 且 135 份水稻品种基因组区域上至少有 10% 区域是完全不一样的, 而有 7.5% 的区域是频繁交流和固定的, 因此不同亚群间的基因交流频率是极低。利用亚群间海拔高度的差异, 分析群体间的差异基因组区域, 推测可能是与海拔适应性相关。本研究结果为云南地方水稻资源的有效保护和高效利用提供科学依据。

关键词: 遗传多样性; 群体结构; 基因芯片; SNP 标记; 遗传分化

The Genetic Diversity Analysis of Rice Germplasm Resources in Yunnan Province of China

DENG Wei^{1,2,3}, LV Yin^{1,2,3}, DONG Yang-jun⁴, XU Yu-ran^{1,2,3}, YANG Hua-tao⁵, Zhang Jin-wen^{1,2,3}, ZHANG Jian-hua^{1,2,3}, KUI Li-mei^{1,2,3}, TU Jian^{1,2,3}, XIANG Han-zhang⁶, GUAN Jun-jiao^{1,2,3}, DONG Wei^{1,2,3}, GU An-yu^{1,2,3}, AN Hua^{1,2,3}, YANG Li-ping^{1,2,3}, ZHANG Xiao⁴, LI Xiao-lin^{1,2,3}

(¹Institute of grain crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205; ²Yunnan research center of major crop seed processing engineering technology, Kunming 650205; ³Yunnan Key Laboratory of rice genetic improvement, Kunming 650205; ⁴Seed management station of Shuifu County, Yunnan Shuifu 657800; ⁵Mengma town agricultural comprehensive service center, Yunnan Menglian County 665801; ⁶Agricultural Technology Extension Center of Menglian County, Yunnan Menglian 665899)

Abstract: The genetic diversity analysis of 135 rice germplasm resources collected from different altitudes in Yunnan province, P.R. China, were genotyped by using the gene chip GSR40K. The rice germplasm resources at different altitudes were found with rich genetic diversity, and they were divided into five subgroups: indica, partial indica, intermediate, japonica and partial japonica. Eighty-two genes with expected breeding value were genotyped by haplotype markers and functional markers. All accessions were

收稿日期: 2022-10-14 修回日期: 2022-11-09 网络出版日期:

URL:

第一作者: 研究方向是水稻新品种培育, E-mail: 1048672960@qq.com; 吕莹为共同第一作者

通讯作者: 李小林研究方向是水稻资源挖掘与新品种培育, E-mail: xiaolinli@163.com

基金项目: 云南省重大科技专项计划 (202102AE090016); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-01-102); 云南省科技创新平台建设计划 (2015DH012); 粮食安全种业支撑专项 (53000021000000013809); 云南省科技人才与平台计划 (202105AE160009)

Foundation projects: Yunnan Major Science and Technology Special Plan (202102AE090016), Modern Agricultural Industry Technology System Construction Special Fund (CARS-01-102), Yunnan Science and Technology Innovation Platform Construction Plan (2015DH012), Food Security Seed Industry Support Special Plan (53000021000000013809), Yunnan Science and Technology Talent and Platform Plan (202105AE160009)

found with the genes related to the grain shattering. Nearly 70% of rice varieties were detected with rice blast resistant genes, whereas only a small proportion of accessions containing insect resistance and fragrance genes were identified. The accessions in this collection were divided into seven subgroups by cluster analysis and principal component analysis. The differentiation of each marker site among the 7 subgroups was evaluated by the G_{ST} value of genetic differentiation index, indicating that there was high genetic differentiation among the 7 subgroups. Moreover, at least 10% of the genomic segments in this collection are completely different, and only 7.5% are frequently communicated and fixed, suggesting an extremely low frequency of gene exchange between different subpopulations. Based on the difference of altitude among subpopulations, the differential genomic regions among populations were proposed associating with altitude adaptability. Collectively, these results provided scientific basis for effective protection and efficient utilization of rice resources in rice breeding.

Key words: genetic diversity; population structure; gene chip; SNP markers; genetic differentiation

水稻提供了世界上 50%以上的口粮, 优良的品种是口粮的基本保障。种质资源是现代作物育种的重要物质基础, 其遗传多样性的分析是挖掘作物新基因和培育新品种的有效手段^[1-4]。水稻种群内部的多样性多数受到自然和人为因素的影响, 例如海拔、土壤条件、洪涝灾害、病虫害以及人类定向选择等非生物与生物胁迫^[5]。云南地处中国西南边陲, 气候环境多变, 且多民族聚居, 在长期自然和人工的共同选择下, 形成了籼粳、水陆、粘糯等多种稻种资源类型, 含有丰富的地方稻种资源, 蕴含着丰富的变异类型和优异基因, 是优异种质最富集的地区之一^[6]。随着分子生物学技术的发展, 以及功能基因组学研究进展, 越来越多的分子标记应用于遗传多样性分析, 如限制性片段长度多态性 (RFLP, restriction fragment length polymorphism)、随机扩增多态性 (RAPD)、简单序列重复多态性 (SSR)、扩增片段长度多态性 (AFLP, amplified fragment length polymorphism)、单核苷酸多态性 (SNP) 等^[7-11]。

前人已对水稻资源的遗传多样性进行了大量的研究。Choudhury 等人 (2014) 利用分布在 12 条水稻染色体上的 36 个全基因组非连锁单核苷酸多态性 (SNP) 标记, 评估了 6984 份来自 NER 的水稻材料的遗传多样性和相关群体结构^[12]。Ndjondjop 等人 (2018) 利用单核苷酸多态性 (SNP) 分析非洲 330 个广泛使用的栽培稻的基因型, 研究其群体的遗传变异、相关性和群体结构^[13]。Tanaka 等人 (2020) 基于 1394 个具有代表性 SNP 标记将日本核心地方品种进行系统发育树分析, 表明日本核心的地方品种可分为两个大类和一个小类^[14]。刘克德等人 (1995) 用 7 个单拷贝探针对 87 份云南地方品种进行 RFLP 分析, 研究表明云南籼稻和粳稻都有较高水平的遗传变异, 其中粳稻的遗传多样性高于籼稻^[15]。催迪 (2015) 用 10 个核基因片段的序列分析了 600 份 (1980 年收集的 332 份和 2007 年收集的 268 份) 云南地方品种的遗传多样性的历史变化, 发现两个不同时期收集的地方品种群体的核苷酸多样性无显著差异, 2007 年收集的云南地方品种较好的维持了 1980 年群体的单倍型类型, 维持了云南地方品种遗传多样性水平^[16]。刘承晨等人 (2015) 将 111 份云南元阳哈尼梯田现有栽培水稻作为试验材料, 研究其遗传多样性和群体结构, 表明其遗传多样性相对丰富, 但有单一化趋势^[17]。管俊娇等人 (2018) 利用 30 对 SSR 多态性引物对 163 份粳稻选育品种进行等位基因多样性、遗传结构多样性的聚类分析, 研究表明云南省育成的粳稻品种遗传多样性不够丰富, 同一单位选育的品种遗传相似度较高, 品种间亲缘关系与地域性存在一定的相关性, 云南省丰富的粳稻资源需要进一步的挖掘利用^[18]。

目前国内关于云南稻区水稻多样性的研究一直都有, 然而很少有人将云南不同海拔区域的水稻品种和

全基因组的芯片标记结合起来开展系统的资源多样性的研究分析，从整体上对云南地方品种开展系统性研究。深入的研究云南地方资源的丰度、遗传差异及亲缘关系，以期为育种中亲本的合理选配、水稻新基因的发掘以及新品种培育提供理论指导意义。

1 材料与方法

1.1 水稻品种信息

本研究采用的材料来自于云南省 48 个县的地方品种，海拔跨度从 92 米的陇川县到 2600 米的宁蒗县，包括 124 份地方品种材料和 11 份现代育成材料，材料由云南省农业科学院提供（表 1）。

表 1 135 份材料编号、品种名称、原产地品种类型及海拔高度

Table 1 the ID, variety, origin place, type of the 135 accesses in this study and Altitude

编号 ID	品种名 Variety	原产地 Origin place	类型 Type	海拔（米） Altitud (M)	编号 ID	品种名 Variety	原产地 Origin place	类型 Type	海拔（米） Altitud (M)
DW01	云恢 290/Y4-870	--	现代育成品种	--	DW869	接骨糯	澜沧县	地方品种	1050
DW02	云恢 1973	--	现代育成品种	--	DW870	班利一号	澜沧县	地方品种	1050
DW03	卢引云恢 290	--	现代育成品种	--	DW871	鸡血谷	澜沧县	地方品种	1050
DW04	白化 B/德农 205	--	现代育成品种	--	DW872	八月糯	澜沧县	地方品种	1050
DW05	白化 B/德农 205	--	现代育成品种	--	DW873	扎那戛	澜沧县	地方品种	1050
DW08	Y4-873/Y4-870	--	现代育成品种	--	DW874	魔王谷	澜沧县	地方品种	1050
DW09	黑紫米/楚粳 27 号	--	现代育成品种	--	DW875	黄皮软米	澜沧县	地方品种	1050
DW10	云粳 136/楚粳 27	--	现代育成品种	--	DW877	冲腿(一)	西盟县	地方品种	500
DW12	银光/楚粳 27	--	现代育成品种	--	DW878	接骨糯	西盟县	地方品种	500
DW2531	云恢 290/FH669	--	现代育成品种	--	DW879	扎拉(那)马	西盟县	地方品种	500
DW2537	云恢 290/FH669	--	现代育成品种	--	DW880	冲傣	西盟县	地方品种	500
DW1000	矮糯	广南县	地方品种	1000	DW884	黄瓜糯	普洱县	地方品种	1305
DW1001	矮黄糯	广南县	地方品种	1000	DW885	白秆红谷	墨江县	地方品种	1360
DW1028	黄皮香	砚山县	地方品种	1540	DW886	细蚂蚱谷	墨江县	地方品种	1360
DW1029	饵块谷	麻栗坡县	地方品种	1300	DW887	早饵块	墨江县	地方品种	1360
DW1030	广南一号	富宁县	地方品种	650	DW888	鸡血糯	墨江县	地方品种	1360
DW1031	八宝谷	富宁县	地方品种	650	DW899	香紫糯	景洪县	地方品种	500
DW1034	三粒寸	富宁县	地方品种	650	DW900	毫干	景洪县	地方品种	500
DW1035	红谷	开远市	地方品种	1050	DW901	红米寒窝电	景洪县	地方品种	500
DW1036	香谷	开远市	地方品种	1050	DW908	毫八宛	西双版纳	地方品种	500
DW1037	假香	开远市	地方品种	1050	DW912	红旱糯	西双版纳	地方品种	500
DW1038	红皮香	开远市	地方品种	1050	DW913	紫糯	西双版纳	地方品种	500
DW1039	白香谷	开远市	地方品种	1050	DW914	版纳一号	西双版纳	地方品种	500
DW1040	八月红谷	屏边县	地方品种	1300	DW915	南蚌稻	西双版纳	地方品种	500
DW1041	广南谷	屏边县	地方品种	1300	DW921	毫香贡感	勐海县	地方品种	1700
DW1045	黄香糯	屏边县	地方品种	1300	DW922	毫弄早	勐海县	地方品种	1700
DW1046	白香糯	屏边县	地方品种	1300	DW923	毫糯	勐海县	地方品种	1700
DW1050	本地红谷	河口县	地方品种	1000	DW924	毫薏嫩	勐海县	地方品种	1700
DW1052	泡竹谷	金平县	地方品种	1260	DW925	毫玉棒南	勐海县	地方品种	1700
DW1053	大白谷	金平县	地方品种	1260	DW938	毫安旺	德宏州	地方品种	500
DW1054	大黑糯	金平县	地方品种	1260	DW943	毫木细	德宏州	地方品种	500
DW1057	大麻蚌谷	金平县	地方品种	1260	DW944	毫比相	德宏州	地方品种	500
DW1058	略哈	绿春县	地方品种	1500	DW945	毫木西	德宏州	地方品种	500
DW1059	土坡活略	绿春县	地方品种	1500	DW946	毫改览	德宏州	地方品种	500
DW1060	香糯	绿春县	地方品种	1500	DW954	毫华象(1)	瑞丽县	地方品种	780
DW1065	高粱糯	绿春县	地方品种	1500	DW955	毫江多	瑞丽县	地方品种	780

DW1068	双耳朵红谷	建水县	地方品种	1300	DW957	毫安旺灭断	瑞丽县	地方品种	780
DW1083	蚂蚱糯	元阳县	地方品种	225	DW964	毫木累	梁河县	地方品种	1687
DW1084	小麻渣谷	红河县	地方品种	1630	DW965	黄板所	梁河县	地方品种	1687
DW1085	冷水香	红河县	地方品种	1630	DW966	毫安旺灭断	盈江县	地方品种	800
DW1087	紫谷	红河县	地方品种	1630	DW969	毫闷俩	盈江县	地方品种	800
DW1088	香吊	富民县	地方品种	1750	DW970	毛香糯	盈江县	地方品种	800
DW1089	黄回香	罗平县	地方品种	1480	DW971	红香谷	永德县	地方品种	1010
DW1090	鸡油糯	陆良县	地方品种	1840	DW972	白花皮糯	永德县	地方品种	1010
DW1091	马登红谷	剑川县	地方品种	2200	DW973	白毛香谷	永德县	地方品种	1010
DW1092	白香糯谷	云龙县	地方品种	2000	DW974	白毛香谷	永德县	地方品种	1010
DW1094	黑节糯	双柏县	地方品种	1100	DW975	大黄皮糯	永德县	地方品种	1010
DW1095	黑糯	龙陵县	地方品种	1500	DW976	花皮红谷	云县	地方品种	1060
DW1097	黄心糯	龙陵县	地方品种	1500	DW977	露水糯	云县	地方品种	1060
DW1098	红心糯	腾冲县	地方品种	1640	DW978	大红谷	双江县	地方品种	1050
DW1101	粳粳谷	新平县	地方品种	1800	DW979	毫糯浪	耿马县	地方品种	1125
DW1106	小红米	易门县	地方品种	1700	DW980	毫灭罕	耿马县	地方品种	1125
DW1108	大千千谷	盐津县	地方品种	1160	DW981	花二早	镇康县	地方品种	840
DW1109	五百粒	威信县	地方品种	1230	DW982	大红皮糯	镇康县	地方品种	840
DW1117	石鼓香糯	玉龙县	地方品种	2410	DW983	金包银	文山县	地方品种	1000
DW1119	老来红	宁蒗县	地方品种	2600	DW984	达尔香	文山县	地方品种	1000
DW1120	红米麻粘	华坪县	地方品种	1160	DW985	大花糯	文山县	地方品种	1000
DW1121	云恢 290	昆明市	地方品种	1900	DW986	白谷红米	文山县	地方品种	1000
DW858	细麻线谷	江城县	地方品种	1120	DW989	东粒红谷	马关县	地方品种	1320
DW859	大香糯	江城县	地方品种	1120	DW990	建塘早	广南县	地方品种	1000
DW860	勐旺谷	江城县	地方品种	1120	DW995	红秆蚂蚱谷	广南县	地方品种	1000
DW861	勐旺谷	江城县	地方品种	1120	DW996	高台八号	广南县	地方品种	1000
DW862	毛香糯	江城县	地方品种	1120	DW997	冷水谷	广南县	地方品种	1000
DW866	帕盆	孟连县	地方品种	900	DW998	花谷三百棒	广南县	地方品种	1000
DW867	毫格捞(老)	孟连县	地方品种	900	DW999	毛香谷	广南县	地方品种	1000
DW868	大白糯	孟连县	地方品种	900					

1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采用 CTAB 法^[19] 提取水稻叶片 DNA, 用紫外分光光度计法检测其质量和浓度, 稀释至 50 ng/ μ L, 保存于 -20 $^{\circ}$ C 下备用。

1.2.2 基因芯片检测 抽提 DNA 送到武汉双绿源创芯科技研究院进行水稻绿色基因芯片 GSR40K 检测, 获得全部基因分型数据后, 通过筛选获得到高质量基因分型位点, 提取出对应数据, 并补充标记的位置信息以及基因位点信息。

1.3 数据分析

1.3.1 籼粳分型及功能基因分析 将水稻基因组按每 500 kb 一个 bin 分区, 每条染色体的 3' 末端不足 500 Kb 的, 算作一个 bin, 共分成 750 个 bin 区段, 以典型的籼稻南京 11 和南特, 典型的粳稻 Balilla, 日本晴和农垦 58 为参照品种, 在全基因组水平上利用 GSR40K 提取与典型籼稻一致且与典型粳稻不一致的标记数共 13956 个, 在每一个 bin 区段内, 利用提取的不一致的 SNP 标记, 以 Balilla 的基因型为粳稻的标准单倍型, 对于每个 bin, 当与 Balilla 基因型一致的标记数比例大于等于 0.8, 则该 bin 判定为粳稻区段; 当与 Balilla 基因型不一致的标记数比例大于等于 0.8, 则该 bin 判定为籼稻区段, 其他情况则判定为无法区分籼粳区段; 最终利用籼稻区段数占总区段数的比例进行籼粳稻的区分; 基因分析是利用功能标记和单倍型标记, 将所测的品种基因型与标准样品的野生型和突变型的基因型进行比较, 功能标记是基因内部直接引起表型性状

变异的多态性 SNP，与目标基因共分离。单倍型标记是针对复杂的基因序列，在基因上下游 100kb 区间开发的一组 SNP。

1.3.2 分层聚类及群体结构分析 使用 R 包 hclust 进行分层聚类分析，并用 R 包 ggtree 作图。使用 Admixture 进行群体结构分析，使用 Genome-wide Complex Trait Analysis (GCTA) 工具进行主成分分析 (PCA)。

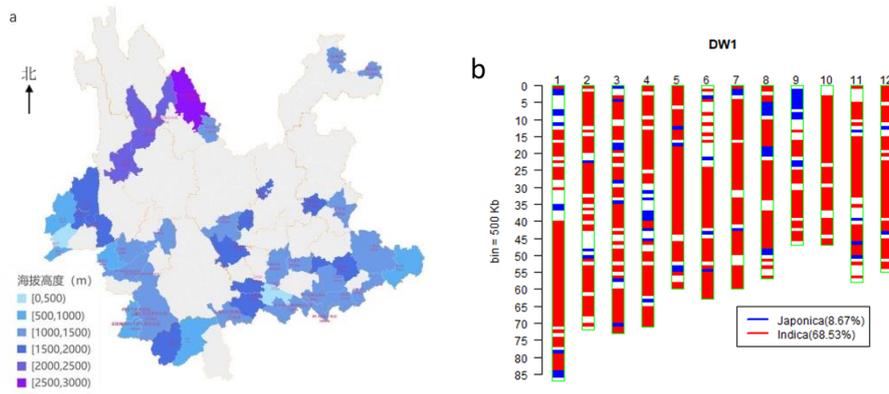
1.3.3 亚群之间的遗传分化分析 采用 $H = 1 - \sum P_i^2$ 计算每一个变异位点在总群体的遗传多样性 H_T 以及 7 个亚群体中的平均基因多样性 H_S (其中 P_i 为第 i 个等位基因的频率)，然后采用 $G_{ST} = 1 - H_S/H_T$ 计算籼粳群体之间的遗传分化指数^[15]。根据 G_{ST} 值评估该位点在 7 个亚群之间的分化程度：当 G_{ST} 小于 0.05 时认为亚群间无遗传分化，位于 0.05~0.15 时认为亚群间达到中等分化程度，位于 0.15~0.25 时认为亚群间达到较大分化程度，大于 0.25 时认为亚群间出现高度分化。

1.3.4 海拔高度有明显差异的群体比较 根据分群数据，结合海拔高度，比较分析亚群间的海拔高度，筛选海拔高度有明显差异的两个亚群，作为候选亚群，利用基因芯片的基因型数据，筛选候选亚群内基因型一致的位点，在这些位点区域内比较候选亚群间基因型不一致的位点区域，结合高度分化位点进行基因区段的信息分析。

2 结果

2.1 云南地方品种和育成品种籼粳特性

本研究采用的地方水稻品种来自于云南省 48 个县，海拔跨度是从 92 米到 2600 米，一共有 124 份地方品种，地理分布如图 1a，大部分材料来自云南南部，海拔在 500~1000 米，极少数品种来自云南北部，海拔在 1000~2600 米，西部有少数品种，海拔在 1500~1900 米。在 124 份地方品种的基础上，增加 11 份现代育成品种，共计 135 份品种进行籼粳特性分析。籼粳特性分析，针对特定的材料，排除无法区分籼稻和粳稻的区段数，然后通过籼稻区段数占总区段数的比例大于等于 0.9 定义为籼稻区段，占比在 0.7~0.8 范围内定义为偏籼稻类型，占比在 0.5~0.6 范围定义籼粳中间类型，占比在 0.2~0.4 定义为偏粳类型，占比在小于等于 0.1 定义为粳稻类型，根据以上的分类标准，再结合地理分布，结果显示 135 份品种有 36 份粳稻品种，其中 3 份是现代育种品种，剩下 33 份地方品种中 76% 以上的品种都是在海拔 1000 米以上的区域，最高海拔 2600 米处对应的是粳稻类型材料(表 2)。



a.云南 124 份地方品种的地理分布图; b.135 份材料籼粳特性芯片检测图例 (a 图中的颜色表示取样的区域, 颜色深浅表示海拔不同高度; b 图中的 DW1, 表示是其中一份材料编号, 其他材料籼粳特性检测图片见附件 2)。

a. Geographical distribution map of 124 local varieties in Yunnan; b. Test legend of 135 indica japonica characteristic chips of materials (the color in figure a represents the sampling area, and the color depth represents different altitudes above sea level; DW1 in figure b represents the number of one of the materials, and the test results of other indica japonica characteristics of materials are shown in Annex 2)

图 1 124 份水稻材料地理分布和 135 份材料的籼粳分类结果展示图例

Fig.1 Geographical distribution of 124 rice materials and display legend of indica japonica classification results of 135 materials

表 2 135 份材料的籼粳特性分类

Table 2 Classification of indica japonica characteristics of 135 materials

编号	总区段数	粳稻区段数	籼稻区段数	籼稻区段占比	籼粳特性	编号	总区段数	粳稻区段数	籼稻区段数	籼稻区段占比	籼粳特性
ID	Total number sections	Number japonica rice sections	Number indica rice sections	Proportion on indica rice segments	Indica japonica type	ID	Total number sections	Number japonica rice sections	Number indica rice sections	Proportion on indica rice segments	Indica japonica type
DW990	629	44	585	0.9	籼稻	DW1040	582	79	503	0.9	籼稻
DW874	646	47	599	0.9	籼稻	DW1094	574	78	496	0.9	籼稻
DW3	584	52	532	0.9	籼稻	DW1095	574	78	496	0.9	籼稻
DW908	584	52	532	0.9	籼稻	DW900	601	82	519	0.9	籼稻
DW938	584	52	532	0.9	籼稻	DW915	577	79	498	0.9	籼稻
DW1121	583	52	531	0.9	籼稻	DW986	602	83	519	0.9	籼稻
DW923	634	59	575	0.9	籼稻	DW980	570	80	490	0.9	籼稻
DW1108	635	61	574	0.9	籼稻	DW870	598	85	513	0.9	籼稻
DW8	573	57	516	0.9	籼稻	DW1065	592	85	507	0.9	籼稻
DW1057	593	60	533	0.9	籼稻	DW971	576	83	493	0.9	籼稻
DW1053	592	60	532	0.9	籼稻	DW977	556	81	475	0.9	籼稻
DW1052	593	61	532	0.9	籼稻	DW978	555	81	474	0.9	籼稻
DW1070	586	62	524	0.9	籼稻	DW946	554	81	473	0.9	籼稻
DW1041	607	65	542	0.9	籼稻	DW964	585	87	498	0.9	籼稻
DW1030	587	63	524	0.9	籼稻	DW999	604	90	514	0.9	籼稻
DW1031	587	63	524	0.9	籼稻	DW913	602	90	512	0.9	籼稻
DW975	609	66	543	0.9	籼稻	DW1085	600	90	510	0.9	籼稻
DW1034	572	62	510	0.9	籼稻	DW1050	589	89	500	0.8	偏籼
DW974	596	66	530	0.9	籼稻	DW1036	589	90	499	0.8	偏籼
DW2537	593	66	527	0.9	籼稻	DW1035	593	96	497	0.8	偏籼
DW1	579	65	514	0.9	籼稻	DW877	601	107	494	0.8	偏籼
DW1089	603	68	535	0.9	籼稻	DW5	584	104	480	0.8	偏籼
DW1109	629	71	558	0.9	籼稻	DW979	591	108	483	0.8	偏籼
DW976	600	68	532	0.9	籼稻	DW867	604	111	493	0.8	偏籼
DW875	598	68	530	0.9	籼稻	DW2	617	129	488	0.8	偏籼
DW955	588	67	521	0.9	籼稻	DW1029	598	155	443	0.7	偏籼

DW944	600	69	531	0.9	籼稻	DW973	591	168	423	0.7	偏籼
DW965	605	70	535	0.9	籼稻	DW981	591	180	411	0.7	偏籼
DW966	605	70	535	0.9	籼稻	DW962	623	223	400	0.6	中间类型
DW1054	608	71	537	0.9	籼稻	DW970	617	327	290	0.5	中间类型
DW1069	606	71	535	0.9	籼稻	DW872	648	505	143	0.2	偏粳
DW1083	579	69	510	0.9	籼稻	DW880	610	520	90	0.1	粳稻
DW4	602	72	530	0.9	籼稻	DW871	610	521	89	0.1	粳稻
DW925	592	71	521	0.9	籼稻	DW899	600	521	79	0.1	粳稻
DW1092	596	72	524	0.9	籼稻	DW1098	621	544	77	0.1	粳稻
DW1087	578	70	508	0.9	籼稻	DW873	650	574	76	0.1	粳稻
DW1088	578	70	508	0.9	籼稻	DW866	615	548	67	0.1	粳稻
DW1090	578	70	508	0.9	籼稻	DW869	632	566	66	0.1	粳稻
DW1038	606	74	532	0.9	籼稻	DW879	601	542	59	0.1	粳稻
DW924	601	74	527	0.9	籼稻	DW868	616	563	53	0.1	粳稻
DW957	583	72	511	0.9	籼稻	DW1097	655	599	56	0.1	粳稻
DW1028	591	73	518	0.9	籼稻	DW998	657	605	52	0.1	粳稻
DW963	599	74	525	0.9	籼稻	DW997	663	615	48	0.1	粳稻
DW887	595	74	521	0.9	籼稻	DW1106	659	615	44	0.1	粳稻
DW996	603	75	528	0.9	籼稻	DW983	664	622	42	0.1	粳稻
DW858	586	73	513	0.9	籼稻	DW1084	669	632	37	0.1	粳稻
DW1058	594	74	520	0.9	籼稻	DW984	666	630	36	0.1	粳稻
DW1091	599	75	524	0.9	籼稻	DW1117	665	630	35	0.1	粳稻
DW969	572	72	500	0.9	籼稻	DW888	668	633	35	0.1	粳稻
DW886	595	75	520	0.9	籼稻	DW884	666	632	34	0.1	粳稻
DW985	610	77	533	0.9	籼稻	DW1101	666	632	34	0.1	粳稻
DW1120	607	77	530	0.9	籼稻	DW1039	660	627	33	0.1	粳稻
DW1037	590	75	515	0.9	籼稻	DW859	662	629	33	0.0	粳稻
DW1059	590	76	514	0.9	籼稻	DW1045	663	632	31	0.0	粳稻
DW901	582	75	507	0.9	籼稻	DW1068	664	633	31	0.0	粳稻
DW862	581	75	506	0.9	籼稻	DW878	674	643	31	0.0	粳稻
DW922	594	77	517	0.9	籼稻	DW885	655	625	30	0.0	粳稻
DW2531	578	75	503	0.9	籼稻	DW9	721	692	29	0.0	粳稻
DW989	601	78	523	0.9	籼稻	DW1000	679	655	24	0.0	粳稻
DW972	599	78	521	0.9	籼稻	DW12	710	685	25	0.0	粳稻
DW954	601	79	522	0.9	籼稻	DW10	709	685	24	0.0	粳稻
DW921	575	76	499	0.9	籼稻	DW1119	673	651	22	0.0	粳稻
DW1060	601	80	521	0.9	籼稻	DW1046	672	651	21	0.0	粳稻
DW943	596	80	516	0.9	籼稻	DW860	719	699	20	0.0	粳稻
DW914	573	77	496	0.9	籼稻	DW1001	679	665	14	0.0	粳稻
DW945	595	80	515	0.9	籼稻						

2.2 云南地方品种具有育种价值的基因分子鉴定

基因芯片 GSR40K 上包含目前育种上常用的 82 个基因的功能标记和单倍型标记（表 3）。可检测的功能基因包括落粒性、光修复活性、耐低温、抗病虫基因以及品质基因，分为驯化、逆境、品质等多种类型。结果表明在检测的 135 份材料中都含有非落粒性的基因 (*qSH1/sh4*)，含有稻瘟病抗性的品种占比大于 68%，含有白叶枯抗性品种占比接近 50%，在耐低温发芽和抗虫性状上，检测的 135 份材料中只有极个别的材料含有该性状的基因，在品质方面，含有香味性状的材料仅接近 1%。（附件 1：135 份材料 82 个基因的鉴定结果）

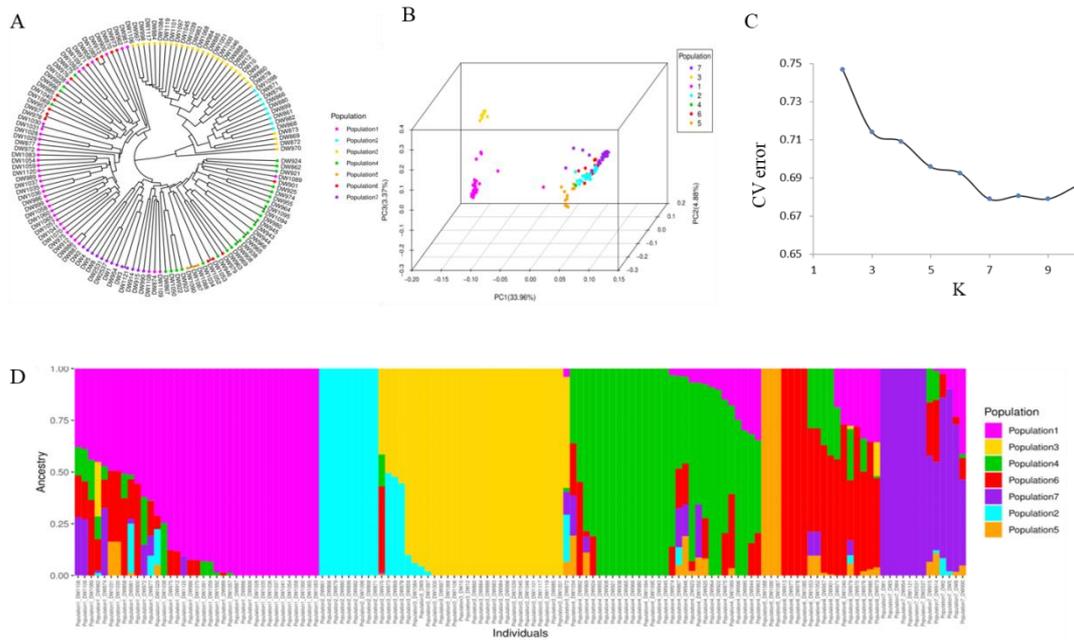
表 3 基因芯片 GSR40K 可鉴定的 82 个育种相关的基因

Table 3 breeding related genes identified by gene chip GSR40K

分类 Type	基因数量 No	基因名称 Gene	表型 Phenotype
产量	6	<i>Gn1a/LSCHL4/Hd1/Sdt97/OsSPL14/OsSPL16</i>	穗粒数增加/减产/抽穗/半矮秆/高产/高产
抗非生物逆境	14	<i>SKC1/NRAT1/OsHMA4/OsALS/qLTG3-1/TT1/OsFRO1/BET1/Cold1/SUB1A/DRO1/qUVR-10/Nced/TOND1</i>	耐盐/铝敏感/铜敏感/抗除草剂/耐寒/耐热/铁耐受/硼敏感/耐寒/耐涝/浅根/降低光修复活性/耐旱/缺氮耐受/
抗生物逆境	18	<i>Rymv1/Pi63/Pizt/STV11/Pi1/Pi2/Pi5/Pi9/Pia/Pid2/Pid3/Pigm/Pita/xa13/Xa21/Xa23/xa5/Xa7</i>	抗病
抗生物逆境	6	<i>Bph6/Bph9/Bph14/Bph15/Bph18/Bph26</i>	抗虫
品质	14	<i>Re/Rd/OsAAP6/GW2/GS3/Qg13/Bh4/OsCYP704A3/qSW5/GW5/Chalk5/Waxy/ALK/OsHMA3/BADH2 (fgr)</i>	有色/粒型/垩白/支链淀粉含量/糊化温度/镉毒性/香味
生育期	8	<i>Os01g62780/dth3/Hd6/Hd16/Hd17/Hd3a/OsPRR37/Os11g08410</i>	影响抽穗和开花期
育性	6	<i>SaF/TMS5/Rf2/S5/pms1/PMS3/</i>	广亲和/高温敏感性雄性不育/育性恢复/光敏型雄性不育
株型	6	<i>Sd-1/TAC3/OsLGI1/qNGR9/LP1/TAC1</i>	半矮秆植株/增加分蘖角度/散穗型/直穗/长穗/分蘖角度增大
其它	1	<i>qSH1</i>	非落粒
其它	1	<i>sh4</i>	非落粒
其它	1	<i>NRT1.1B</i>	增强氮吸收
其它	1	<i>Hwi1</i>	杂种劣势

2.3 云南地方水稻品种的遗传关系分析

2.3.1 群体遗传结构分析 基于检测到的 SNP 信息，利用 hclust 对 135 份云南地方品种和现代育成品种进行分层聚类（图 2A）。聚类分析表明云南地方品种和现代育成品种遗传背景多样化，品种间的同质化现象很少。主成分分析和遗传结构分析表明云南地方品种和现代育成品种可分为 7 个亚群（图 2B、C、D），第 1 个亚群占比最大，大多分布于云南 1000~1400 米的籼稻区，共计有 37 份材料，属于高秆大粒的爪哇稻类型；第 3 亚群多分布于云南 1500~1700 米的海拔区域，以粳稻为主，共计有 29 份材料；第 4 亚群和第 7 亚群主要分布于滇南的籼稻区，以软米为主，共计有 29 份材料；第 6 亚群主要分布于滇南地区，以糯米居多，共计有 15 份；第 2 亚群和第 5 亚群材料遗传组成较纯合、遗传结构比较单一。现代育成品种主要分布在第 3 和 7 亚群。



A. 使用四倍简并位点的 SNP 构建邻居-连接系统发育树，每个品种都有颜色编码。B. 对 135 个本地和现代栽培水稻品种进行主成分分析 (PCA)。C. CV error 的分布图。D. 基于贝叶斯模型对 135 个本地和现代水稻品种进行聚类，其数量为 7 个祖先亲缘关系 (K)。每个垂直条表示一个水稻品种，x 轴表示不同的水稻品种。每种颜色代表一个假定的祖先背景，y 轴量化祖先成员分布比例。

A. Neighbor-joining phylogenetic tree constructed using SNPs at fourfold degenerate sites. Each species group is color coded. B. Principal component analysis (PCA) of the 135 Local and modern cultivated rice varieties. C. Distribution diagram of CV error D. Bayesian model-based clustering of the 135 Local and modern rice varieties with the number of 7 ancestry kinship (K). Each vertical bar represents one rice variety and the x axis shows different rice variety. Each color represents one putative ancestral background and the y axis quantifies ancestry membership.

图 2 云南 135 个本地和现代栽培水稻品种的群体结构

Fig.2 Population structure of 135 Local and modern cultivated rice varieties in YunNan.

2.3.2 群体遗传分化分析 遗传分化指数取值范围是[-1, 1]，最大值为 1 表明两个群体完全分化，负值表明这个群体无分化，群体间基因交流非常频繁。当 G_{ST} 值大于 0.25 时，表明群体高度分化。本研究利用分布全基因组的 3 万左右的 SNP 标记，对 135 份材料进行遗传分化指数的分析 (图 3)，高度分化的位点数占总位点数的 89.1%，完全分化的位点数占比 9.4%，完全不分化的位点数占比是 7.5% (表 4)。

表 4 云南 135 份水稻品种有差异的标记位点遗传分化统计表

Table 4 Statistical table of genetic differentiation of 135 rice varieties with different marker loci in Yunnan

分化类型	G_{ST}	SNP 位点	总位点	区段占比
高度分化	≥ 0.25	28405	31881	89.1%
完全分化	1.00	30	31881	9.4%
不分化	≤ -0.9	24	31881	7.5%

表 6 有预测结构域 18 个的基因

Table 6 18 genes with predictive domain

序号 No	基因号 Gene	预测结构域 domain	染色体 Chr	位置 Position
1	LOC_Os06g17060	逆转录酶蛋白质家族结构域	6	9891997 - 9890632
2	LOC_Os06g17070	逆转录病毒锌指样结构域	6	9895168 - 9892373
3	LOC_Os06g17090	UDP 糖基转移酶/糖原磷酸化酶	6	9910738 - 9911844
4	LOC_Os06g17100	类核糖核酸酶	6	9916272 - 9911972
5	LOC_Os06g17110	UDP 糖基转移酶/糖原磷酸化酶	6	9916482 - 9916953
6	LOC_Os06g17120	UDP 糖基转移酶/糖原磷酸化酶	6	9921138 - 9922589
7	LOC_Os06g17140	UDP 糖基转移酶/糖原磷酸化酶	6	9939804 - 9938311
8	LOC_Os06g17150	DNA/RNA 聚合酶	6	9941735 - 9947890
9	LOC_Os06g17160	功能未知机构域 DUF390	6	9950530 - 9948508
10	LOC_Os06g17190	逆转录病毒锌指结构域	6	9963864 - 9961189
11	LOC_Os06g17200	逆转录病毒锌指结构域	6	9967598 - 9966306
12	LOC_Os06g17210	功能未知机构域 DUF390	6	9972519 - 9971299
13	LOC_Os06g17220	UDP 糖基转移酶/糖原磷酸化酶	6	9974991 - 9976880
14	LOC_Os06g17240	半胱氨酸蛋白酶	6	9985251 - 9988937
15	LOC_Os06g17250	UDP 糖基转移酶/糖原磷酸化酶	6	9993305 - 9991833
16	LOC_Os06g17260	UDP 糖基转移酶/糖原磷酸化酶	6	9998385 - 9996771
17	LOC_Os06g17285	类蛋白激酶	6	10009623 - 10013501
18	LOC_Os06g17290	类泛素酶	6	10017979 - 10013741

3 结论与讨论

本研究利用分布全基因组 3 万的 SNP 标记分析了云南不同海拔高度的 135 份水稻品种的籼粳特性、开展了具有育种价值的基因分子鉴定以及探究了品种间遗传多样性。研究表明云南地区水稻资源多样性丰富，单个亚群的遗传结构固定且单一，亚群间的遗传变异比较大，基因交流频率极低。因此有望通过杂交和基因流动实现地方品种的快速改良与升级。

水稻育种的核心基础就是收集足够多具有遗传多样性的种质资源。资源是作物品种改良的基本保障，尤其是具有广泛遗传基础的品种资源^[20-22]。本研究中分析的 135 份水稻品种，遗传多样性丰富，品种间的遗传距离大，但是单个亚群遗传结构比较单一，如第 2 亚群和第 5 亚群的材料，其原始祖先只有一个；遗传分化指数 G_{ST} 是 1（完全分化）的位点区域接近总位点（31881 个）的 10%，表明 135 份水稻品种基因组区域上至少有 10% 区域是完全不一样的，这 10% 的区域是否是在野生稻资源或者祖先群体中也存在，需要收集更多的水稻资源进行进一步的分析。遗传分化指数在 -0.9 以下的区域（完全不分化）也是值得关注的区域，本研究中有 7.5% 的区域（遗传分化指数在 -0.9 以下）是完全不分化的，即在群体间频繁交流的基因区段，从基因注释来看，这些基因交流频繁的区段主要负责编码 RNA 介导的 DNA 聚合酶、含有 ACT 结构域的抑制蛋白、查尔酮合酶、NBS-LRR 型抗病蛋白、转录调节因子 Sir2 家族蛋白、反转座子等（<http://rice.uga.edu/cgi-bin/gbrowse/rice/>），这些基因在遗传改良过程中，是否与遗传驯化、云南地区的生态条件相关而被定向保留下来，还有待进一步验证。

基因多样性的分析也是挖掘基因功能的有效手段之一。本研究利用不同地理来源的 135 份材料，结合基因芯片 GSR40K 鉴定了 135 份资源的各种不同类型的基因，如产量、株型、育性、落粒性和生育期等农艺性状相关的基因，值得一提的是本研究中分析 135 份材料中均将与非落粒性相关基因保留了下来^[23]，而

其他的性状，如抗虫、香味、光耐受性等基因资源挖掘与利用的还不够。同时本研究通过亚群的分析，比较亚群的海拔高度以及基因型的差异，结合表型和基因型以及高度分化的区域进行了初步基因组区段分析，有望通过初步的比较分析挖掘可能与海拔适应性相关的基因。

参考文献

- [1] 李自超,张洪亮,孙传清,等.植物遗传资源核心种质研究现状与展望[J].中国农业大学学报,1999,4(5):51-62.
LI ZH, ZHANG HL, SUN CQ., et al. Status and Prospects of Core Collection in Plant Germplasm Resource[J]. Journal of China Agricultural University, 1999,4 (5): 51-62. (in Chinese)
- [2] Zhao K.Y, Tung C.W, Eizenga G.C, Wright M.H, Ali M.L, Price A.H, Norton G.J, Islam M.R, Reynolds A, Mezey J. McClung A.M., Bustamante C.D and McCouch S.R. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*, Nat. Commun, 2011, 2: 467.
- [3] Glaszmann J.C, Kilian B, Upadhyaya H.D and Varshne R.K. Accessing genetic diversity for crop improvement, Curr. Opin. Plant Biol., 2010, 13(2): 167-173
- [4] Rod A. Wing, Michael D. Purugganan and Qifa Zhang. The rice genome revolution: from an ancient grain to Green Super Rice. Nat Rev Genet, 2018.
- [5] Ngoc Ha Luong, Le-Hung Linh, Kyu-Chan Shim, Cheryl Adeva, Hyun-Sook Lee, and Sang-Nag Ahn. Genetic Structure and Geographical Differentiation of Traditional Rice (*Oryza sativa* L.) from Northern Vietnam. Plants, 2021, 10, 2094:1-20.
- [6] 曾亚文,李自超.云南稻种主要性状多样性分布中心及其规律研究[J].华中农业大学学报,2000,19(6):511-517.
ZENG YW, Li ZC, Yang ZY., et al. Law and Center of Diversity of Main Characters of Indigenous Rice (*Oryza sativa* L.) in Yunnan[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2000, 19 (6): 511-517. (in Chinese)
- [7] 冯夏莲,何承忠,张志毅,等.植物遗传多样性研究方法概述[J].西南林学院学报,2006,26(1):69-74,79.
FENG XL, HE CZ, ZHANG ZY., et al. Summarization on Research Methods of Plant Genetic Diversity[J]. Journal of Southwest Forestry University, 2006, 01: 69-74. (in Chinese)
- [8] Nivedita Singh, Debjani Roy Choudhury, Gunjan Tiwari., et al. Genetic diversity trend in Indian rice varieties: an analysis using SSR markers. BMC Genetics, 2016, 17, 127:1-13.
- [9] 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[J].中国农业科学,2002,35(12):1437-1441.
ZHU ZF, SUN CQ, FU YC., et al. Comparison of the Genetic Diversity of Common Wild Rice and Cultivated Rice Using SSR Markers[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(12): 1437-1441. (in Chinese)
- [10] 张建冲,杨翠,杨世丽等.贵州地方水稻种质的 SSR 遗传多样性及群体结构分析[J].分子植物育种,2022, 20, (11), 3664-3676.
ZHANG JC, YANG C, YANG SL., et al. Genetic Diversity and Population Structure Analysis of Rice Landrace Germplasm from Guizhou Province by SSR Markers. Molecular Plant Breeding, 2022, 20, (11), 3664-3676. (in Chinese)
- [11] Smitha Kunhiraman Vasumathy, Manickavelu Alagu. SSR marker-based genetic diversity analysis and SNP haplotyping of genes associating abiotic and biotic stress tolerance, rice growth and development and yield across 93 rice landraces. Molecular Biology Reports, 2021, 48: 5943-5953.
- [12] Debjani Roy Choudhury, Nivedita Singh, Amit Kumar Singh., et al. Analysis of Genetic Diversity and Population Structure of Rice Germplasm from North-Eastern Region of India and Development of a Core Germplasm Set. Plos one, 2014, 11(9):11.
- [13] Marie Noelle Ndjiondjop, Kassa Semagn, Mounirou Sow., et al. Assessment of Genetic Variation and Population Structure of Diverse Rice Genotypes Adapted to Lowland and Upland Ecologies in Africa Using SNPs. Molecular Diversity in Africa. Rice Breeding Varieties, 2018, 4(9):1-13.
- [14] Nobuhiro Tanaka, Matthew Shenton, Yoshihiro Kawahar., et al. Investigation of the Genetic Diversity of a Rice Core Collection of Japanese Landraces using Whole-Genome Sequencing. Plant Cell Physiol. 2020, 61(12): 2087-2096.
- [15] 刘克德,张启发,张瑞品,谢岳峰.云南地方稻种的遗传变异和籼粳分化[J].植物学报,1995,37(9): 718-724.
LIU KD, ZHANG QF, ZHANG DP, XIE YF. Genetic variation and Indica Japonica differentiation in Yunnan indigenous Rice[J]. Bulletin of Botany, 1995, 37(9): 718-724. (in Chinese)
- [16] 崔迪. 粳稻抗逆性关联分析及云南农家保护水稻地方品种遗传多样性的历时变化. 博士论文, 中国农业科学, 2015.
CUI D. Association Mapping of Stress Tolerance in Japonica Rice Germplasm and Diachronic Analysis of Genetic Diversity in Rice Landraces under On-farm Conservation in Yunnan, China. Chinese Academy of Agricultural Sciences Dissertation, 2015 (in Chinese)
- [17] 刘承晨,赵富伟,吴晓霞,等.云南哈尼梯田当前栽培水稻遗传多样性及群体结构分析[J].中国水稻科学,2015,29(1):28-34.
LIU CC, ZHAO FW, WU XX., et al. Genetic diversity and population structure analysis of currently cultivated rice landrace from Hani's terraced fields in Yunnan Province[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2015, 29(1): 28-34. (in Chinese)
- [18] Guan JJ, Yang XH, Zhang JH., et al. Genetic Diversity and Population Structure Analysis of Japonica Rice Varieties from Yunnan Province. Bio Bulletin, 2018, 34(1): 90-96.
- [19] Rogers S O, Bendich A J. Extraction of DNA from Plant Tissues. Springer, 1989: 73-83.
- [20] Koukham Vilayheuang, Ryoko Machida-Hirano, Chay Bounphanousay., et al. Genetic diversity and population structure of 'Khao Kai Noi', a Lao rice

(*Oryza sativa* L.) landrace, revealed by microsatellite DNA markers. *Breeding sci*,2016,66: 204-212.

- [21] Maya Peringottillam, Smitha Kunhiraman Vasumathy, Hari Krishna Kumar Selvakumar., et al. Genetic diversity and population structure of rice (*Oryza sativa* L.) landraces from Kerala, India analyzed through genotyping-by-sequencing. *Mol Genet Genomics*,2022,297:169-182.
- [22] 邓宏中,王彩红,徐群,等.中国水稻地方品种与选育品种遗传多样性的比较分析[J].植物遗传资源学报,2015,16(3):433-442.
DENG HZ,WANG CH,XU Q., et al. Comparative Analysis of Genetic Diversity in Landrace and Improved Rice Varieties in China[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015,16(3) :433-442. (in Chinese)
- [23] Ran Xu, Chuanqing Sun. What happened during domestication of wild to cultivated rice. *The Crop Journal*,2021,9:564-576.