

# 利用水稻抗旱种质研究驯化和育种 对遗传多样性的影响

卫海滨, 夏辉, 楼巧君, 冯芳君, 马孝松, 梅捍卫, 罗利军

(上海市农业生物基因中心, 上海 201106)

**【摘要】**利用高通量测序获取 SNP 标记技术对上海市农业生物基因中心 99 个水稻抗旱种质进行全基因组重测序, 分析其遗传多样性和遗传基础。结果表明: 在所有 SNPs 位点中, 多态性比率为 68.98% (1 927 238/2 793 702), SNPs 标记密度在 12 条染色体上分布范围为 4.5—6.2 个 SNP/kb; 供试品种间的遗传距离分布具有两个密度高峰; 邻接法构建系统发育树将 99 个品种划分为籼稻和粳稻两个类群。综合 SNPs 和进化分析结果表明: 水稻在自然选择和人工驯化过程形成复杂进化史, 99 个抗旱种质在 DNA 水平上的差异呈现两个极端, 遗传距离分布范围较大 (0.003—0.998), 具有较宽遗传基础和丰富的遗传多样性。本研究以期为水稻节水抗旱新品种选育的亲本选配提供理论依据。

**【关键词】** 水稻; 遗传多样性; 抗旱性; 育种; 单核苷酸多态性

**【中图分类号】** S511

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1000—3924(2016)04—001—05

水稻 (*Oryza sativa* L.) 是世界上最古老的主要粮食作物之一。在全球农业生产中占有十分重要的地位。当前世界人口不断增长, 耕地面积逐年减少, 水资源的竞争日益激烈, 全球面临的粮食危机凸显<sup>[1]</sup>。然而, 上世纪末至今水稻产量却没有大的突破。主要原因在于栽培稻驯化过程中, 为了获得一种优良性状而使得很多优秀农艺性状的杂合位点在人工选择过程中丢失<sup>[2]</sup>。栽培稻的驯化和育种中, 基因组的遗传多态性发生了明显的变化, 导致水稻种质的遗传多样性降低。供体亲本的遗传背景变窄<sup>[3]</sup>。目前已收集的水稻抗旱种质品种包括具有抗旱或高产性能的地方种和节水抗旱稻育成种, 其遗传多样性的丰富程度将是重要遗传资源加以充分利用的基础。

近年来, 随着高通量测序技术的普及, SNP 分子标记被广泛用于研究物种的遗传多样性与遗传结构以及不同品种间的亲缘关系<sup>[4]</sup>。例如, 通过对水稻全基因组 SNP 数据的分析, 揭示了水稻的驯化与起源, 发现粳稻首先从普通野生稻中驯化出来, 然后在栽培稻的传播过程中粳稻与普通野生稻反复发生基因流最终形成了籼稻<sup>[5]</sup>。对我国水稻主产区的 1495 份杂交水稻品种进行基因组测序, 分析揭示了基因组区段在籼稻和粳稻间的遗传多样性特征<sup>[6]</sup>。因此, 利用 SNP 分子标记研究水稻群体的遗传多样性及其在驯化过程中发生的变化, 是完全可行的。

为了有效利用淡水资源, 实现从高产到节水抗旱的转型, 本世纪初我国启动了“绿色超级稻新品种培育”的 863 项目, 本单位承担了水稻节水抗旱种质创新子课题。上海市农业生物基因中心初步建立了我国节水抗旱核心种质资源, 通过对各种材料的评价和鉴定, 并进行遗传多样性分析。本研究采用 Illumina 高通量测序 SNP 标记对本中心建立的抗旱种质 (99 个栽培稻品种) 进行研究, 旨在揭示这些抗旱种质在全基因组水平上的遗传多样性和亲缘关系, 快速获取大量有益的种质评价信息, 以期为水稻节水抗旱新品种选育的亲本选配提供理论依据。

**收稿日期:** 2016-03-30

**基金项目:** 上海市自然科学基金项目 (14ZR1437000)

**作者简介:** 卫海滨 (1977—), 男, 博士, 助理研究员; 上海市种业发展项目 [沪农科种字 (2014) 第 1-6 号]

**通信作者:** E-mail: hmei@sagc.org.cn, lijun@sagc.org.cn, 主要从事节水抗旱稻遗传研究。

# 1 材料与amp;方法

## 1.1 水稻品种及其 DNA 提取

供试品种来自上海市农业生物基因中心种质资源，包括通过节水抗旱性能的评价和鉴定的地方品种和节水抗旱稻育成种，共计 99 个（表 1）。各品种的系谱资料源自品种参试时育种单位提供的信息，可以参考国家水稻数据中心的资料（[www.ricedata.com](http://www.ricedata.com)）。上海市农业生物基因中心水稻遗传育种温室种植，取水稻苗期幼嫩叶片，采用天根生化科技（北京）有限公司植物基因组抽提试剂盒抽提基因组 DNA。

表 1 用于 SNP 分析的水稻品种  
Table 1 Rice varieties used for SNP analysis

编号	名称	籼粳分类	编号	名称	籼粳分类
R1	'HAOHAI'	japonica	R70	'MIGA'	japonica
R3	'ZAOHANDAO'	japonica	R71	'IR 10781-75-3-2-2'	japonica
R5	'C 22'	indica	R72	'BALA'	indica
R6	'HAOGANG'	japonica	R73	'MRC 172-9'	indica
R7	'TEQING'	indica	R74	'LIUHUANGZHAN'	indica
R8	'SILEWAH'	japonica	R77	'DS001'	indica
R9	'DINALAGA'	indica	R78	'SML 81B'	indica
R10	'IAC 5100'	indica	R79	'ITA 141'	japonica
R11	'MILT 1444'	japonica	R81	'IR 30358-084-1-1'	indica
R12	'T 1095'	japonica	R82	'DAYEZAO'	indica
R14	'ZHAXIMA'	japonica	R83	'JUMALI'	japonica
R15	'BAYUENUO'	japonica	R84	'BICO BRANCO'	indica
R16	'IRAT 13'	japonica	R85	'LIANGGUOZAO'	indica
R17	'KN 361-1-8-6'	japonica	R86	'DUOCHE'	indica
R18	'IR 75942-9'	indica	R87	'IPEACO 162'	japonica
R19	'IAC 1246'	japonica	R90	'YUNLU 8'	japonica
R20	'TORIDE 1'	japonica	R91	'PR 403'	indica
R23	'KU 70-1'	japonica	R92	'KEQING 3'	indica
R24	'MIFOR 6-2'	japonica	R93	'RIKUTO NORIN 21'	indica
R25	'LAMBAYEQUE 1'	aus	R94	'HEGANXIANNIAN'	indica
R26	'UVS'	japonica	R96	'BLUE BELLE'	japonica
R27	'WANHANDAO'	japonica	R97	'IR 65907-116-1-B'	indica
R28	'BICO PRETO'	japonica	R98	'TRES MESES'	indica
R31	'NAVOLATO A 71'	japonica	R99	'TAITUNG 16'	indica
R32	'DNJ 171'	japonica	R100	'NEP HUONG'	indica
R34	'JAPPENI TUNGKUNGO'	indica	R101	'WUJIANNEITLANGU'	indica
R35	'AUS 454'	aus	R102	'TODOROKIWASE'	japonica
R36	'IGUAPE CATETO'	japonica	R103	'CARTUNA'	indica
R37	'ZHONGHAN 3'	japonica	R104	'IR 1487-372-4'	indica
R38	'MOWANGGU'	japonica	R105	'BINIRHEN'	japonica
R39	'KHAU MEO'	indica	R106	'IR 66417-18-1-1-1'	indica
R40	'HANDAO 3'	japonica	R107	'HANDAO 8'	japonica
R42	'MONOLAYA'	indica	R109	'IRAT 109'	japonica

## 1.2 高通量测序及 SNP 分析

利用 Illumina HiSeq 2000 对水稻抗旱种质的 99 个品种进行全基因组重测序，由苏州众信生物技术有限公司完成，测序深度为 5x，序列比对的参考基因组为日本晴 msu7.0 (<http://rice.plantbio.ohio-state.edu/>)。获取基因组 SNP 信息后，将 SNP 分型数据用 Clustalx、2 软件进行完全比对，应用 Phylip3.6.5 软件的 Dnast 程序计算品种间的遗传距离，最后采用邻接法构建遗传关系树状图。

(续表1)

编号	名称	籼粳分类	编号	名称	籼粳分类
R44	'BPI 9-33'	indica	R112	'LAC 23'	japonica
R49	'PR 325'	indica	R113	'PRATAO'	japonica
R51	'GANLANGU'	japonica	R114	'LUHAN 1'	indica
R53	'COLOMBIA 1'	indica	R115	'ZHONGHAN 209'	indica
R54	'NORIN 24'	indica	R118	'ZHONG 413'	indica
R55	'JINHUANGZHAN'	indica	R119	'C 418'	japonica
R56	'EMATA YIN'	japonica	R120	'HUHAN 1B'	indica
R57	'DT001'	indica	R121	'HUHAN 7B'	indica
R58	'DOURADO AGULHA'	indica	R123	'HANHUI 3'	indica
R59	'IAC 1'	japonica	R127	'XIANGQING'	japonica
R60	'IR 442-2-58'	japonica	R128	'HUHAN 3'	japonica
R61	'II-32 B'	indica	R129	'HUHAN 15'	indica
R62	'BENGUE'	japonica	R133	'XIUSHUI 123'	japonica
R64	'QINGSIZHAN 1'	indica	R134	'HANHUI 15'	indica
R66	'DJAUB'	japonica	R158	'ZHENSHAN 97B'	indica
R67	'DALAI AMAN'	indica	R164	'IR 64'	indica
R68	'CICA 4'	japonica			

## 2 结果与分析

### 2.1 多态性 SNP 位点的分布

99 个水稻抗旱种质的重测序基因组序列与日本晴响孕。bar。参考基因组进行比对, 检测出群体 SNPs。在分布于 12 条染色体的 2793702 个 SNP 位点中, 1927238 个被检测到多态性, 多态性比率为 68.98%。不同染色体上分布的多态性位点数量范围为 124070—214941 个, 分布差异较大, 且在 1 号染色体上分布最多 (图 1)。但每条染色体的 SNPs 标记密度差异较小, 分布区间为 4.5we-6.2 个 SNP/kb, 平均标记密度为 5.16 个 SNP/kb。

### 2.2 水稻品种间的遗传变异

基于 SNP 标记的品种两两之间遗传距离分析, 其变异范围为 0.003eseeo.998, 平均值为 0.527, 其中 'MILT\_1444' (R11) 和 'IRAT\_13' (R16) 1 可的遗传距离最小 (0.003), 而 'LIANGGUOZAO' (R85) 与 'TODOROKIWASE' (R102) 间的遗传距离最大 (0.998)。99 个供试品种两两计算, 共获得 4851 个遗传距离数字, 以 0.05 为组距进行次数分布分析, 可见 99 个品种间的遗传距离具有两个分布密度高峰 (图 2)。在 0.2 与 0.9 处分布密度最大, 两侧不对称。大于 0.7 的遗传距离数字有 1922 个 (39.62%), 小于 0.3 的有 1323 个 (27.27%), 分布呈现两个极端的趋势。

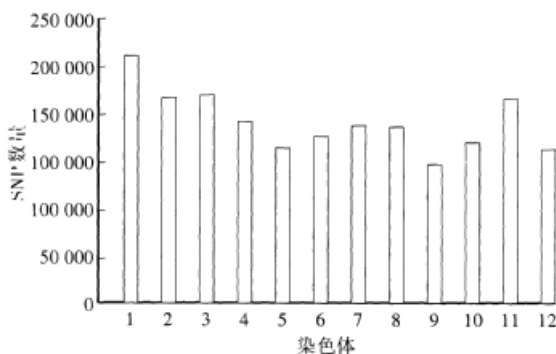


图 1 多态性位点在水稻 12 条染色体上的分布  
Fig.1 Distribution of polymorphic sites in 12 chromosomes of rice

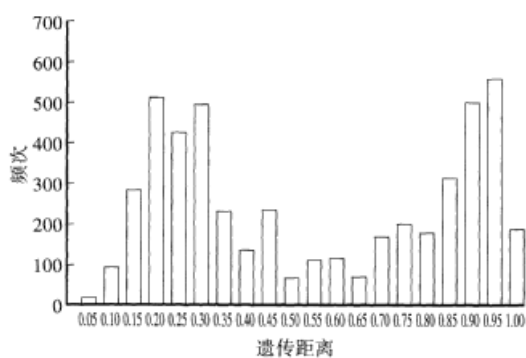


图 2 品种间遗传距离的次数分布  
Fig.2 Frequency distribution of genetic distances between varieties

### 2.3 聚类分析

根据水稻 SNP 遗传距离矩阵进行聚类分析, 99 个品种被划分为籼稻 (黑色) 和粳稻 (灰色) 两大类群。其中育种常用到的两个代表性品种: 籼稻 ‘珍汕 97B’ (R158) 和粳稻 ‘IRAT109’ (R109), 分别位于籼粳群体中部, 图 3 中分别以红色和绿色表示; 两个 AUS 类型的品种 ‘LAMBAYEQEI’ (R25) 和 ‘Aus454’ (R35) 被分类至为粳稻, 图中以蓝色表示, 与 ‘IRAT109’ 的遗传距离分别为: 0.182 和 0.387, 表明在遗传基础上具有很高的亲缘性, 且 ‘IRAT109’ (R109) 与 ‘LAMBAYEQEI’ (R25) 具有更近的亲缘关系。

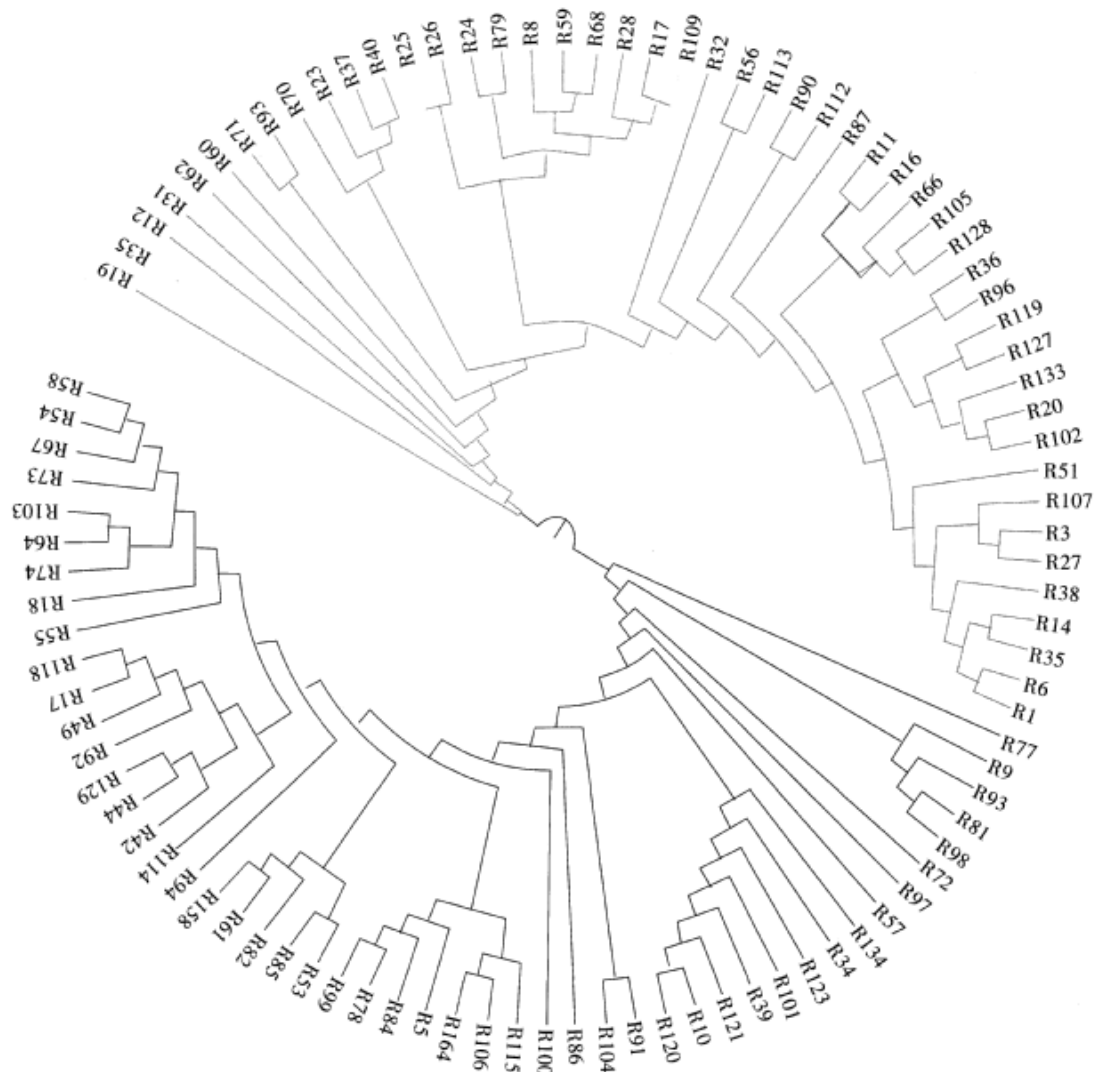


图 3 水稻抗旱种质 99 个品种的聚类图  
Fig. 3 Cluster analysis of 99 drought-resistant rice varieties

### 3 讨论

水稻基因组精细图的完成和高通量测序技术的迅猛发展, 为 DNA 水平上利用 SNP 标记研究水稻的遗传多样性创造了良好基础<sup>[5-8]</sup>。本研究选用的水稻抗旱种质 99 个品种, 是来源于国内外的优良品种, 具备一定的代表性。虽然群体材料数量较少, 却具备较高的遗传多样性水平, 例如每 200 个碱基就有一个 SNP (图 1), 并与已有研究报道相吻合<sup>[9]</sup>。同时, 经过群体多态性筛选

(MAF>0.05), 发现了较高的 SNP 多态性比率, SNP 密度较大。以上结果表明该抗旱种质群体具有遗传多样性变异丰富的特点, 因此在抗旱性以外, 还可能具有较丰富的优异农艺性状。

水稻的驯化会使遗传多样性降低, 尤其是一些地方品种及育成种遗传多态性下降水平更加严重<sup>[10]</sup>。本研究通过遗传距离推断遗传变异程度, 发现水稻抗旱种质群体遗传距离分布具有双峰特征(图 2)。其中遗传距离位于 0.2—0.3 出现的峰, 表明驯化获得优良农艺性状的同时, 当代栽培稻在驯化过程中经历了驯化瓶颈, 导致栽培群体相对于祖先野生稻整体遗传多态性有所降低。另一个遗传距离峰位于 0.9 附近, 表明部分种质资源具有相对较为丰富的遗传多样性。亲缘关系结果表明(图 3), 来源于籼稻和粳稻两大类群的品种具有各自的种质抗性优势, 育种分别从籼稻和粳稻中选择一个亲本, 更有利于节水抗旱稻新品种的培育<sup>[11]</sup>。利用这批核心种质, 上海市农业生物基因中心已培育出一大批节水抗旱稻, 包括常规节水抗旱稻品种: ‘中旱 2 号’ ‘沪旱 3 号’ ‘沪旱巧号’ ‘沪旱 7 号’, 及三系杂交节水抗旱稻不育系与恢复系: ‘沪旱 IA’ ‘沪旱 ZA’ ‘旱恢 2 号’ ‘旱恢 3 号’ 等<sup>[12-13]</sup>。因此这批抗旱种质确实能够成为培育节水抗旱稻的资源宝库。

目前, 在节水抗旱稻育种中被广泛深入应用的材料依旧不多, 而这些抗旱种质资源却具备较高度度的遗传差异与多样性, 提示我们应该进一步挖掘该种质资源群体的育种潜力。在这个过程中, 本研究中应用的 SNP 可以成为很好的分子标记进行分子标记辅助选育与育种, 为选育节水抗旱稻新品种提供重点关注的亲本资源。另一方面, 发掘与 SNP 相关的潜在抗旱等优良农艺性状基因, 将会成为下一步的研究方向, 并将为阐明节水抗旱的分子遗传基础提供有利的参考。

#### 参考文献:

- [1] LUO LJ, ZHANG Q F. The status and strategy on drought resistance of rice (*Oryza sativa*: a L.) [J]. Chinese J Rice Sci., 2001, 15: 209—214.
- [2] CHENH, XIEW, HEH, et al. A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding [J]. Mol Plant, 2014, 7: 541—553.
- [3] LI ZK, FU BY, GAO YM, et al. Genome-wide introgression lines and their use in genetic and molecular dissection of complex phenotypes in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Mol Biol., 2005, 59(1): 33—52.
- [4] VARSHNEY RK, MAHENDART, AGGARWAL RK, et al. Genic molecular markers in Plants: Development and applications [M] // VARSHNEY RK, TUBEROSA R. Genomics—Assisted Crop Improvement. Dordrecht, The Netherlands: Springer Netherlands, 2007: 13—29.
- [5] HUANG X H, KURATAN, WEI X H. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice [J]. Nature, 2012, 490: 497—501.
- [6] HUANG XH, YANG SH, GONG JY, et al. Genomic analysis of hybrid rice varieties reveals numerous superior alleles that contribute to heterosis [J]. Nature Communications, 2015, 6: 6258.
- [7] SIL, CHENJ, HUANGX, et al. OsSPL13 controls grain size in cultivated rice [J]. Nat Genet., 2016, 48(4): 3518.
- [8] 邓宏中, 王彩红, 徐群, 等. 中国水稻地方品种与选育品种的遗传多样性比较分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(3): 433—442.

- 
- [9] SHEN YJ, JIANGH, JIN JP, et al. Development of genome-wide DNA polymorphism database for map-based cloning of rice genes[J]. *Plant Physiol.*, 2004, 135(3): 1198-1205.
- [10] GARRIS AJ, TAI TH, COBURN J, et al. Genetic structure and diversity of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Genetics*, 2005, 169(3): 1631-1638.
- [11] LUO L J. Breeding for water-saving and drought-resistance rice (DR) in China [J]. *J Exp Bot.*, 2010, 61(13): 3509-3517.
- [12] 余新桥, 梅捍卫, 刘康, 等. 优质节水抗旱雄性不育系‘沪旱1A’的选育与利用[J]. *上海农业学报*, 2006, 22(2): 32-35.
- [13] 杨华, 龙萍, 夏辉, 等. 上海水稻种质资源的研究与利用进展[J]. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(2): 245-249.