



植物遗传资源学报

Journal of Plant Genetic Resources

ISSN 1672-1810, CN 11-4996/S

## 《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目： 基于 SCoT 标记的黑稻种质资源遗传多样性分析  
作者： 刘柯忻，张晓娟，张卫平，李新生，吴升华，马秀奇  
收稿日期： 2024-04-12  
网络首发日期： 2024-10-12  
引用格式： 刘柯忻，张晓娟，张卫平，李新生，吴升华，马秀奇. 基于 SCoT 标记的黑稻种质资源遗传多样性分析[J/OL]. 植物遗传资源学报.  
<https://link.cnki.net/urlid/11.4996.S.20241012.1122.002>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 基于 SCoT 标记的黑稻种质资源遗传多样性分析

刘柯忻<sup>1</sup>, 张晓娟<sup>1</sup>, 张卫平<sup>1</sup>, 李新生<sup>1</sup>, 吴升华<sup>2</sup>, 马秀奇<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>陕西理工大学生物科学与工程学院, 汉中 723000; <sup>2</sup>汉中市农业技术推广与培训中心, 汉中 723000)

**摘要:** 为揭示黑稻材料的遗传背景, 明确材料间的亲缘关系, 本研究利用实验室前期筛选的 30 条 SCoT 引物对 90 份水稻材料 (包括 21 份黑叶黑稻、24 份紫叶黑稻、30 份绿叶黑稻、15 份白稻) 进行遗传多样性分析。结果显示, SCoT 引物共扩增出 194 个条带, 其中多态性条带 165 条, 多态性比例为 85%。等位基因数 (Na)、有效等位基因数 (Ne)、Nei's 基因多样性指数 (H) 以及 Shannon's 信息指数 (I) 的平均值分别为 1.9216、1.3922、0.2445 和 0.3836。供试水稻种质间的遗传相似系数为 0.3798~0.9697。聚类分析结果显示, 在遗传相似系数为 0.73 处, 将 90 份水稻材料分为四类。群体结构分析与聚类分析结果一致性较好。说明 SCoT 标记适用于黑稻遗传背景及亲缘关系的研究, 本研究为黑稻杂交育种中的亲本选择提供参考依据, 同时为黑稻品种的遗传改良、新品种培育提供理论依据。

**关键词:** 黑稻; SCoT 标记; 遗传多样性

## Genetic Diversity Analysis of Black Rice Germplasm Resources Based on SCoT Markers

LIU Kexin<sup>1</sup>, ZHANG Xiaojuan<sup>1</sup>, ZHANG Weiping<sup>1</sup>, LI Xincheng<sup>1</sup>, WU Shenghua<sup>2</sup>, MA Xiuqi<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>School of Biological Sciences and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, Shaanxi;

<sup>2</sup>Hanzhong Agricultural Technology Promotion and Training Center, Hanzhong 723000, Shaanxi)

**Abstract:** To reveal the genetic background of black rice materials and clarify the genetic relationship between the materials, the genetic diversity of 90 rice materials (including 21 black leaf black rice, 24 purple leaf black rice, 30 green leaf black rice, and 15 white rice) were analyzed by using 30 SCoT primers screened in the laboratory. The results showed that a total of 194 bands were amplified by SCoT primers, including 165 polymorphic bands, and the proportion of polymorphisms was 85%. The average values of allele number (Na), effective allele number (Ne), Nei's gene diversity index (H) and Shannon's information index (I) were 1.9216, 1.3922, 0.2445 and 0.3836, respectively. The genetic similarity coefficients of the tested rice germplasms were 0.3798 to 0.9697. The results of cluster analysis showed that at a genetic similarity coefficient of 0.73, the 90 rice materials were clustered into four groups. The results of population structure analysis and cluster analysis were in good agreement. This study provides a reference for parental selection in black rice crossbreeding, and a theoretical basis for genetic improvement and cultivation of new varieties of black rice varieties.

**Keywords:** Black rice; SCoT marker; genetic diversity

水稻是全球最重要的粮食作物之一, 世界上半数以上的人口以水稻为主食<sup>[1]</sup>。我国有色稻种质资源非常丰富, 主要包括黑米、红米、紫米、绿米和黄米等<sup>[2]</sup>。与白米相比, 黑米具有极高的食用和药用价值。黑米含有较高的蛋白质、植物脂肪、维生素、矿物质、膳食纤维等营养物质<sup>[3]</sup>, 同时, 含有丰富的花青苷。黑米花青苷主要组分有矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3,5-二葡萄糖苷、矢车菊素-3-鼠李糖苷等<sup>[4]</sup>。黑米花青苷具有抗氧化、抗肿瘤、抑菌、调节糖类脂类代谢、调节肠道菌群等作用<sup>[5]</sup>, 有益于人体健康。水稻中存在大量的黑叶稻资源, 其叶片颜色为黑色、紫色, 富含花青苷类物质。黑叶稻“黑冠”是由汉中市农科所吴升华老师培育的黑稻新品种, 其叶片自苗期到成熟期均为黑色。课题组前期研究表明, “黑冠”秸秆中花青苷 (矢车菊素-3-O-葡萄糖苷) 含量叶比较高, 约为 0.7%~0.9%, 具有重要的开发利用价值。

收稿日期: 2024-04-12

第一作者研究方向为水稻分子遗传研究, E-mail: 2253687889@qq.com

通信作者: 张晓娟, 研究方向为水稻分子遗传研究, E-mail: zxj12162001@163.com

基金项目: 陕西省科技厅项目 (2023-YBNY-267); 秦巴生物资源与生态环境省部共建国家重点实验室 (培育) “市校共建” 科研专项项目 (SXC-2303) Foundation projects: Shaanxi Provincial Department of Science and Technology Project (2023-YBNY-267); The Ministry of Biological Resources and Ecology and Environment of Qinba jointly established the State Key Laboratory (cultivation) of the "City-School Co-construction" scientific research project (SXC-2303)

陕西汉中是我国黑稻原产地之一，黑稻的栽培和研究历史悠久，选育的黑稻品种有“汉中黑糯”、“黑丰糯”、“黑帅”等，在国内广泛种植<sup>[6]</sup>。黑稻杂交育种实践表明，亲本之间适宜的遗传差异，有利于提高杂交水稻的质量和产量。因此，黑稻种质资源的遗传多样性分析及遗传背景研究是黑稻杂交育种的前提和基础，为黑稻品种选育中的杂交亲本选择提供参考依据。此外，为黑稻种质资源的保护和利用、遗传改良提供了理论基础。

种质资源遗传多样性研究方法主要包括形态学标记、细胞学标记、生理生化标记及分子标记<sup>[7]</sup>。相对于其他标记，分子标记技术直接以 DNA 序列特异性为依据，具有多态性高、稳定性好、可靠性强的特点，能真实准确地反映材料间的遗传差异<sup>[8]</sup>。目前，广泛应用的 DNA 分子标记技术主要有 SRAP、SCoT、SSR、SNP 等。SCoT (Start codon targeted polymorphism) 标记，即目标起始密码子多态性标记，是由 Collard<sup>[9]</sup> 等开发的一种新型分子标记技术，其原理是基于植物 DNA 翻译起始密码子 ATG 侧翼区域的保守性，设计引物对不同样本 DNA 进行 PCR 扩增。引物设计时，起始密码子 ATG (+1, +2 和+3)、及附近的 G (+4)、A (+7)、C (+8)、C (+9) 固定不变，其它位置核苷酸序列可自由填充。与 RAPD、ISSR 分子标记相比，SCoT 分子标记作为一种建立在 PCR 基础上的单引物扩增技术，具有引物设计简单、通用性强、操作便捷及多态性高、重复性好等优点，适合于生物多样性分析、遗传图谱构建及重要性状标记等方面研究<sup>[10]</sup>。

目前，SCoT 标记技术已应用于花椒<sup>[11]</sup>、猕猴桃<sup>[12]</sup>、金线莲<sup>[13]</sup>、黄桃<sup>[14]</sup>、甘薯<sup>[15]</sup>、朱顶红<sup>[16]</sup>等植物的遗传多样性分析，该标记技术在水稻中的研究报道较少。Collard 等<sup>[9]</sup>利用 36 条 SCoT 引物对 10 份白稻进行遗传多样性分析，结果表明，SCoT 引物对白稻基因型的聚类与已知的分类和系谱信息一致；Mollier 等<sup>[17]</sup>利用 25 条 SCoT 引物对 8 份白稻进行遗传多样性分析得出，22 条引物表现出多态性，在遗传相似系数 0.48 处，将 8 份白稻聚为 2 类。SCoT 标记技术在黑稻中的研究未见报道。本研究以 90 份水稻材料（21 份黑叶黑稻、24 份紫叶黑稻、30 份绿叶黑稻、15 份白稻）为研究对象，通过 SCoT 分子标记开展遗传多样性分析，旨在明确供试水稻材料间的亲缘关系，揭示材料的遗传背景，从而为黑稻遗传育种工作提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料及试剂

供试 90 份水稻材料（21 份黑叶黑稻、24 份紫叶黑稻、30 份绿叶黑稻、15 份白稻）均由汉中市农科所吴升华老师提供。材料基本信息见表 1。材料于 2023 年 3 月底种植于汉中市铺镇课题组试验田（108°06'N, 36°30'E），2023 年 4 月 20 日采集水稻幼嫩叶片，保存于-80℃冰箱备用。

主要试剂：植物基因组 DNA 提取试剂盒（北京庄盟国际生物基因科技有限公司）；琼脂糖（美国海普生物公司）；2×Taq Master Mix（苏州近岸蛋白质科技股份有限公司）；Tris（MP 生物医疗公司）；硼酸（罗恩试剂）；EDTANa<sub>2</sub>（上海笛医生物科技有限公司）；40% Acr-Bis（上海生工生物工程股份有限公司）；过硫酸铵（MP 生物医疗公司）；TEMED（北京普西唐生物科技有限公司）；AgNO<sub>3</sub>（国药集团化学试剂有限公司）；NaOH（成都市科龙化工试剂厂）；甲醛（天津市百世化工有限公司）。

表 1 试验材料编号及名称

Table 1 The code and name of the test materials

编号	类型	名称	编号	类型	名称
Code	Type	Name	Code	Type	Name
1	黑叶黑稻	黑冠	46	绿叶黑稻	黑帅 ck
2	黑叶黑稻	黑叶稻 1	47	绿叶黑稻	78 紫香糯 737-13
3	黑叶黑稻	紫叶稻 1	48	绿叶黑稻	79 紫香糯 737-3
4	黑叶黑稻	紫糯	49	绿叶黑稻	80 (17) 隆黑帅-2-2-4
5	黑叶黑稻	海南半紫叶稻	50	绿叶黑稻	88 云南 S/制西 F1
6	黑叶黑稻	25 黑叶稻♂	51	绿叶黑稻	90 冠 S/451 黑 BF1
7	紫叶黑稻	28 谷 A/黑冠 F1	52	绿叶黑稻	94 云南黑谷-1-1-101
8	黑叶黑稻	29 黑冠♂	53	绿叶黑稻	961316 黑 S/制西-1

9	紫叶黑稻	30 谷 A/紫黑 F1	54	绿叶黑稻	105 黑糯-1-1
10	黑叶黑稻	31 紫叶黑变♂	55	绿叶黑稻	118 紫香糯 737-9
11	黑叶黑稻	4522-WB1766	56	绿叶黑稻	125 云南黑谷-1-1-1
12	黑叶黑稻	4622-WB1767	57	绿叶黑稻	154 (17) 隆黑帅-2-2-5
13	黑叶黑稻	4722P840	58	绿叶黑稻	157 WGRS70 黑帅-18-2
14	黑叶黑稻	4822P853	59	绿叶黑稻	162 (17) 长黑-1-1-2-1
15	黑叶黑稻	5022P867	60	绿叶黑稻	166 (13) Y 黑矮-1-1
16	黑叶黑稻	56 黑寸谷	61	绿叶黑稻	174 (13) Y 黑矮-3-1-1
17	黑叶黑稻	57 紫叶黑变-5-1-1	62	绿叶黑稻	233 东北黑米
18	紫叶黑稻	62 紫壳黑粳	63	绿叶黑稻	271 (13) Y 黑-2-5-6S
19	黑叶黑稻	70 湛江黑叶稻	64	绿叶黑稻	274 (13) Y 黑-2-5-9S
20	紫叶黑稻	73 培 811 黑-1-1-1-4	65	绿叶黑稻	278 (13) Y 黑-7-1-1-1S
21	紫叶黑稻	75WGRS70 黑帅-1-10	66	绿叶黑稻	279 (13) Y 黑-7-1-1-2S
22	紫叶黑稻	81 WGRS70 黑帅-9-1	67	绿叶黑稻	280 (13) Y 黑-7-1-1-3S
23	紫叶黑稻	84 谷丰 A/黑帅 F1	68	绿叶黑稻	285 (13) Y 黑-7-1-1-4S
24	紫叶黑稻	86 谷丰 A/黑优占 F1	69	绿叶黑稻	288 (13) Y 黑-7-1-1-7S
25	紫叶黑稻	87 黑优占♂	70	绿叶黑稻	291 (13) Y 黑-7-1-1-11S
26	紫叶黑稻	93 (18) 106 黑香-1-103	71	绿叶黑稻	293 (13) Y 黑-7-1-1-13S
27	紫叶黑稻	103 洋黑 3 号-1	72	绿叶黑稻	299 (13) Y 黑-2-3S
28	紫叶黑稻	108 泰国黑米-1-1	73	绿叶黑稻	302 (13) Y 黑-2-7S
29	紫叶黑稻	109 黑苍谷	74	绿叶黑稻	303 (13) Y 黑-7-2-1S
30	紫叶黑稻	110451 黑 B-1-2	75	绿叶黑稻	707 (13) Y 黑-2-1-2-1-1-1
31	紫叶黑稻	111 培 811 黑-1-1-2-1	76	绿叶白稻	黄华占 ck
32	紫叶黑稻	124 矮黑-1-1	77	绿叶白稻	34 冠 S/紫叶稻 F1
33	紫叶黑稻	128 培 811 黑-1-1-1-1	78	绿叶白稻	36 昌 A/紫叶稻 F1
34	紫叶黑稻	147 培 811 黑-1-1-8-1	79	绿叶白稻	305 冠 S
35	紫叶黑稻	159 黑优占 ck	80	绿叶白稻	749 韶香 100
36	紫叶黑稻	182 WGRS70 黑帅-1-1	81	绿叶白稻	635 重大粒
37	紫叶黑稻	192 WGRS70 黑帅-2-1	82	绿叶白稻	602
38	紫叶黑稻	208 WGRS70 黑帅-16-1	83	绿叶白稻	603
39	紫叶黑稻	222 紫香糯 737	84	绿叶白稻	607
40	黑叶黑稻	22422-WB-1770	85	绿叶白稻	601
41	黑叶黑稻	25422P1089	86	绿叶白稻	605
42	紫叶黑稻	296 (19) 黑帅-2S	87	绿叶白稻	609
43	黑叶黑稻	307 黑冠 S	88	黄叶白稻	634 黄叶稻
44	黑叶黑稻	44 早黑冠	89	紫叶白稻	紫叶稻 2
45	黑叶黑稻	720 早黑一号	90	紫叶白稻	35 紫叶稻♂

## 1.2 实验方法

1.2.1 DNA 提取与检测 采用植物基因组 DNA 提取试剂盒，提取水稻基因组 DNA。用 1% 的琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 微量分光光度计检测 DNA 质量和浓度，将 DNA 稀释至 100 ng/uL 作为工作液，保存于 -20℃ 冰箱备用。

1.2.2 PCR 扩增 以 90 份水稻材料基因组 DNA 为模板，利用 30 个 SCoT 引物进行 PCR 扩增。引物序列见表 2。PCR 总反应体系为 10 μL，其中 2×Taq Master Mix 5 μL，ddH<sub>2</sub>O 3 μL，SCoT 引物 1 μL，DNA 模板 1 μL。PCR 扩增程序为 94.0℃ 预变性 4 min；94.0℃ 变性 1 min，50.0℃ 退火 1 min，72.0℃ 延伸 1 min，10 个循

环；94.0 °C变性 30 s，35.0 °C 退火 30 s，72.0 °C延伸 1 min，35 个循环；72.0 °C延伸 10 min，4.0 °C保存。

表 2 SCoT 引物序列

Table 2 The sequences of primers

引物编号 Primer code	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')	引物编号 Primer code	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')
SCoT1	CAACAATGGCTACCACCA	SCoT20	ACCATGGCTACCACCGCG
SCoT2	CAACAATGGCTACCACCC	SCoT21	ACGACATGGCGACCCACA
SCoT3	CAACAATGGCTACCACCG	SCoT22	AACCATGGCTACCACCAC
SCoT4	CAACAATGGCTACCACCT	SCoT23	CACCATGGCTACCACCAG
SCoT6	CAACAATGGCTACCACGC	SCoT25	ACCATGGCTACCACCGGG
SCoT9	CAACAATGGCTACCAGCA	SCoT26	ACCATGGCTACCACCGTC
SCoT11	AAGCAATGGCTACCACCA	SCoT27	ACCATGGCTACCACCGTG
SCoT12	ACGACATGGCGACCAACG	SCoT29	CCATGGCTACCACCGGCC
SCoT13	ACGACATGGCGACCATCG	SCoT30	CCATGGCTACCACCGCGG
SCoT14	ACGACATGGCGACCACGC	SCoT31	CCATGGCTACCACCGCCT
SCoT15	ACGACATGGCGACC GCGA	SCoT32	CCATGGCTACCACCGCAC
SCoT16	ACCATGGCTACCACCGAC	SCoT33	CCATGGCTACCACCGCAG
SCoT17	ACCATGGCTACCACCGAG	SCoT34	ACCATGGCTACCACCGCA
SCoT18	ACCATGGCTACCACCGCC	SCoT35	CATGGCTACCACCGGCC
SCoT19	ACCATGGCTACCACCGCC	SCoT36	GCAACAATGGCTACCACC

1.2.3 凝胶电泳检测 PCR 产物采用 6%聚丙烯酰胺凝胶电泳检测，电压设置为 150 V，电泳时间为 2 h。电泳结束后，将凝胶置于 0.2% AgNO<sub>3</sub> 染色液中摇床染色 5 min，蒸馏水洗涤 3 次，每次 30 s，加入显色液，摇床显色直至条带清晰，拍照。

1.2.4 数据统计 统计聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱中的清晰条带，在相同迁移位置上，有条带记为“1”，无条带记为“0”，用 EXCEL 构建 0-1 矩阵。利用 Popgene 1.32 软件计算多态性信息含量 (PIC)、等位基因数 (Na)、有效等位基因数 (Ne)、Nei's 基因多样性指数 (H)、Shannon's 信息指数 (I)。利用 NTSYS-pc2.10e 软件进行聚类分析，构建聚类分析图。主成分分析 (PCA) 使用 NTSYS-pc2.10e 软件中的 Dcenter 和 Eigen 程序进行。运用 Structure 软件进行群体结构分析。运用 Arlequin 3.5.2.2 软件进行分子方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 SCoT 引物扩增结果

SCoT 引物对供试水稻材料扩增的电泳图谱条带清晰，结果稳定 (图 1)。30 个 SCoT 引物在 90 份水稻材料中共扩增出 194 个条带 (表 3)，其中多态性条带 165 条，多态性比例为 85%，有 8 个 SCoT 引物的多态性条带比例达到 100%。说明 SCoT 引物多态性高，适合于水稻遗传背景和亲缘关系的研究，同时也表明水稻材料间存在明显的遗传差异。30 个 SCoT 引物的扩增条带数在 4~11 之间。其中，扩增条带数最多的是 SCoT1，总条带数为 11 条；扩增条带数最少的是 SCoT19 和 35，总条带数均为 4 条。30 个 SCoT 引物的多态性信息含量 (PIC) 值在 0.6~0.87 之间，平均值为 0.76；等位基因数 (Na) 在 1.67~2 之间，平均值为 1.92；有效等位基因数 (Ne) 在 1.12~1.67 之间，平均值为 1.39；Nei's 基因多样性指数 (H) 在 0.1~0.36 之间，平均值为 0.24；Shannon's 信息指数 (I) 在 0.19~0.54 之间，平均值为 0.38。

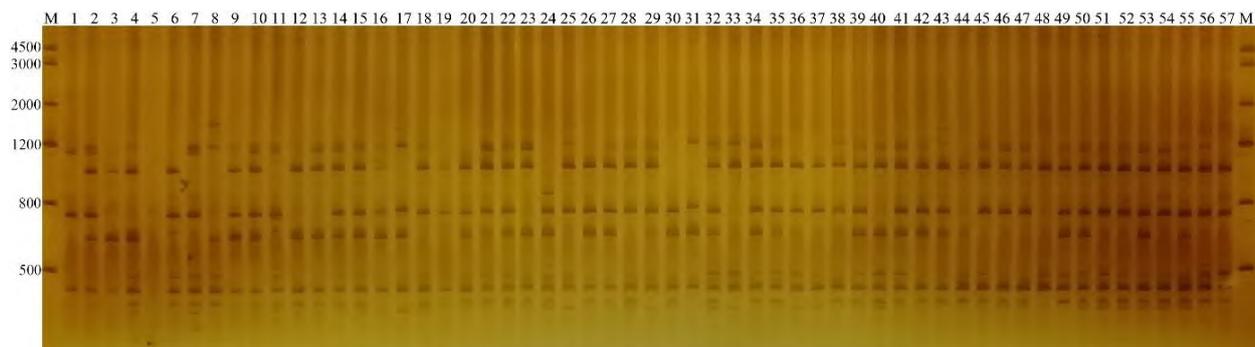


图 1 SCoT17 在部分水稻材料中扩增的电泳图谱

Fig.1 Electrophoretogram amplified by SCoT17 in some rice materials

表 3 SCoT 引物对 90 份水稻材料的扩增结果

Table 3 The amplified results of 90 rice materials with SCoT primers

引物编号 Primer code	总条带数 Total bands	多态性条带数 Polymorphic bands	多态性比例 Polymorphism ratio%	多态性信息含量 (PIC)	等位基因数 (Na)	有效等位基 因数 (Ne)	Nei's 基因多 样性指数 (H)	Shannon's 信息 指数 (I)
SCoT1	11	10	90.9	0.87	1.9091	1.3557	0.2266	0.3642
SCoT2	5	4	80	0.69	1.8000	1.2474	0.1718	0.2854
SCoT3	7	7	100	0.63	2.0000	1.2809	0.1988	0.3356
SCoT4	5	4	80	0.74	1.8000	1.4054	0.2445	0.3721
SCoT6	8	6	75	0.78	2.0000	1.4025	0.2470	0.3842
SCoT9	5	4	80	0.60	1.8000	1.3609	0.2363	0.3731
SCoT11	5	5	100	0.74	2.0000	1.4257	0.2931	0.4666
SCoT12	6	6	100	0.80	2.0000	1.4524	0.2632	0.4050
SCoT13	6	6	100	0.76	2.0000	1.2409	0.1731	0.3005
SCoT14	6	5	83.33	0.76	2.0000	1.4553	0.2768	0.4303
SCoT15	6	5	83.33	0.77	1.8333	1.1795	0.1168	0.2017
SCoT16	6	4	66.7	0.79	1.6667	1.3858	0.2183	0.3231
SCoT17	7	6	85.71	0.81	2.0000	1.5167	0.3071	0.4679
SCoT18	7	7	100	0.81	2.0000	1.3474	0.2429	0.3999
SCoT19	4	3	75	0.70	2.0000	1.1214	0.1004	0.1937
SCoT20	7	5	71.43	0.81	1.7143	1.3717	0.2332	0.3579
SCoT21	9	7	77.78	0.85	1.8889	1.2491	0.1640	0.2703
SCoT22	5	5	100	0.64	2.0000	1.3307	0.2118	0.3497
SCoT23	8	6	75	0.83	2.0000	1.4708	0.2890	0.4493
SCoT25	7	6	85.71	0.83	2.0000	1.4415	0.2738	0.4206
SCoT26	8	7	87.5	0.80	1.8750	1.4709	0.2840	0.4329
SCoT27	7	7	100	0.82	2.0000	1.6731	0.3630	0.5297
SCoT29	6	5	83.33	0.72	1.8333	1.3509	0.2354	0.3761
SCoT30	5	4	80	0.73	2.0000	1.4524	0.2894	0.4555
SCoT31	6	5	83.33	0.79	2.0000	1.6191	0.3632	0.5396
SCoT32	6	5	83.33	0.76	2.0000	1.4679	0.2840	0.4425
SCoT33	9	7	77.78	0.84	1.7778	1.5108	0.2838	0.4172
SCoT34	8	6	75	0.82	1.7500	1.3762	0.2321	0.3592

SCoT35	4	3	75	0.64	2.0000	1.2808	0.1872	0.3039
SCoT36	5	5	100	0.69	2.0000	1.5229	0.3255	0.4996
总计 Total	194	165	85	0.76	1.9216	1.3922	0.2445	0.3836

## 2.2 遗传相似系数分布

SCoT 标记分析得出，供试 90 份水稻材料间遗传相似系数在 0.37~0.97 之间，平均值为 0.67。其中，材料 4（紫糯）和材料 70（291（13）Y 黑-7-1-1-11S）的遗传相似系数最小，为 0.3798；材料 72（299（13）Y 黑-2-3S）和材料 73（302（13）Y 黑-2-7S）的遗传相似系数最大，为 0.9697。

供试水稻材料的两两遗传相似系数共计 4005 个数值的次数分布分析得出（见图 2），供试材料遗传相似系数主要分布在 0.59~0.79 之间，占比 81.97%。遗传相似系数在 0.73 处时，频次最高。小于 0.73 的遗传相似系数有 2462 个，占比 61.47%；大于 0.73 的遗传相似系数有 1543，占比 38.53%。

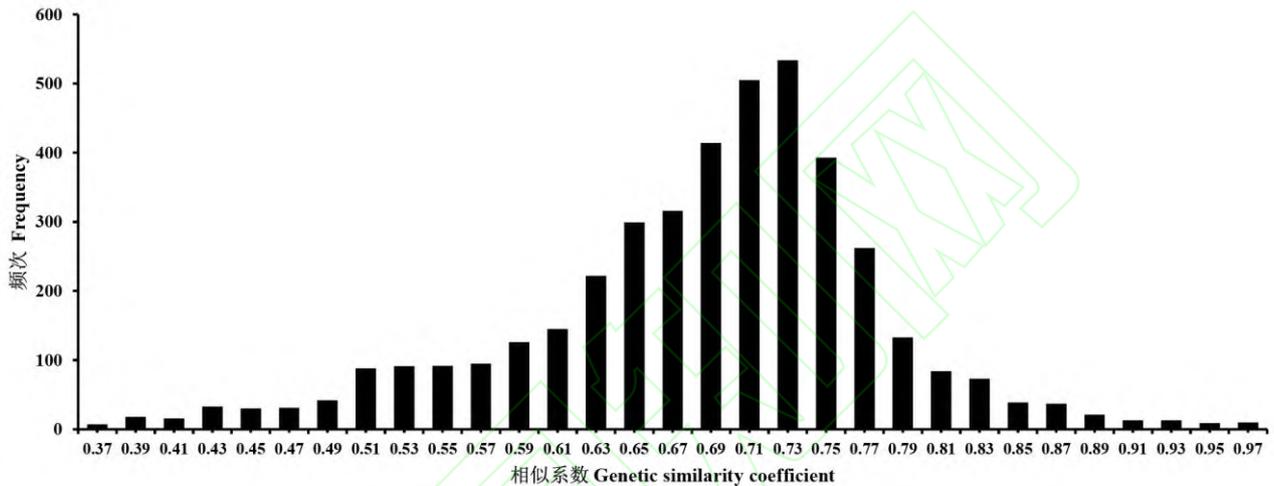


图 2 供试水稻材料间遗传相似系数分布

Fig.2 Distribution of genetic similarity coefficients among the tested rice materials

## 2.3 聚类分析

SCoT 标记构建的聚类图显示，90 份水稻材料的遗传相似系数介于 0.50~0.97，均值为 0.74。在遗传相似系数为 0.73 处，将 90 份水稻材料分为四类（图 3）。第 I 类包括黑冠、56 黑寸谷、70 湛江黑叶稻等 5 份黑叶黑稻材料。第 II 类包括黑叶稻 1、307 黑冠 S、720 早黑一号等 10 份黑叶黑稻材料及 87 黑优占♂、159 黑优占 ck、103 洋黑 3 号-1 等 10 份紫叶黑稻材料。第 III 类包括 78 紫香糯 737-13、79 紫香糯 737-3、118 紫香糯 737-9 等 30 份绿叶黑稻材料及黄华占 ck、635 重大粒、609 等 15 份白稻材料。第 IV 类包括紫糯、紫叶稻 1 等 4 份黑叶黑稻材料及 30 谷 A/紫黑 F1、124 矮黑-1-1、222 紫香糯 737 等紫叶黑稻材料。聚类图有效地将绿叶黑稻和黑叶黑稻以及绿叶稻和黑叶、紫叶稻区分开。在该聚类图中，亲缘关系较近的材料如材料 10（31 紫叶黑变♂）与材料 17（57 紫叶黑变-5-1-1），材料 72（299（13）Y 黑-2-3S）、材料 73（302（13）Y 黑-2-7S）与材料 75（707（13）Y 黑-2-1-2-1-1-1），材料 85（601）与材料 86（605）聚在一起。说明 SCoT 标记能准确反映水稻材料的亲缘关系及类型。

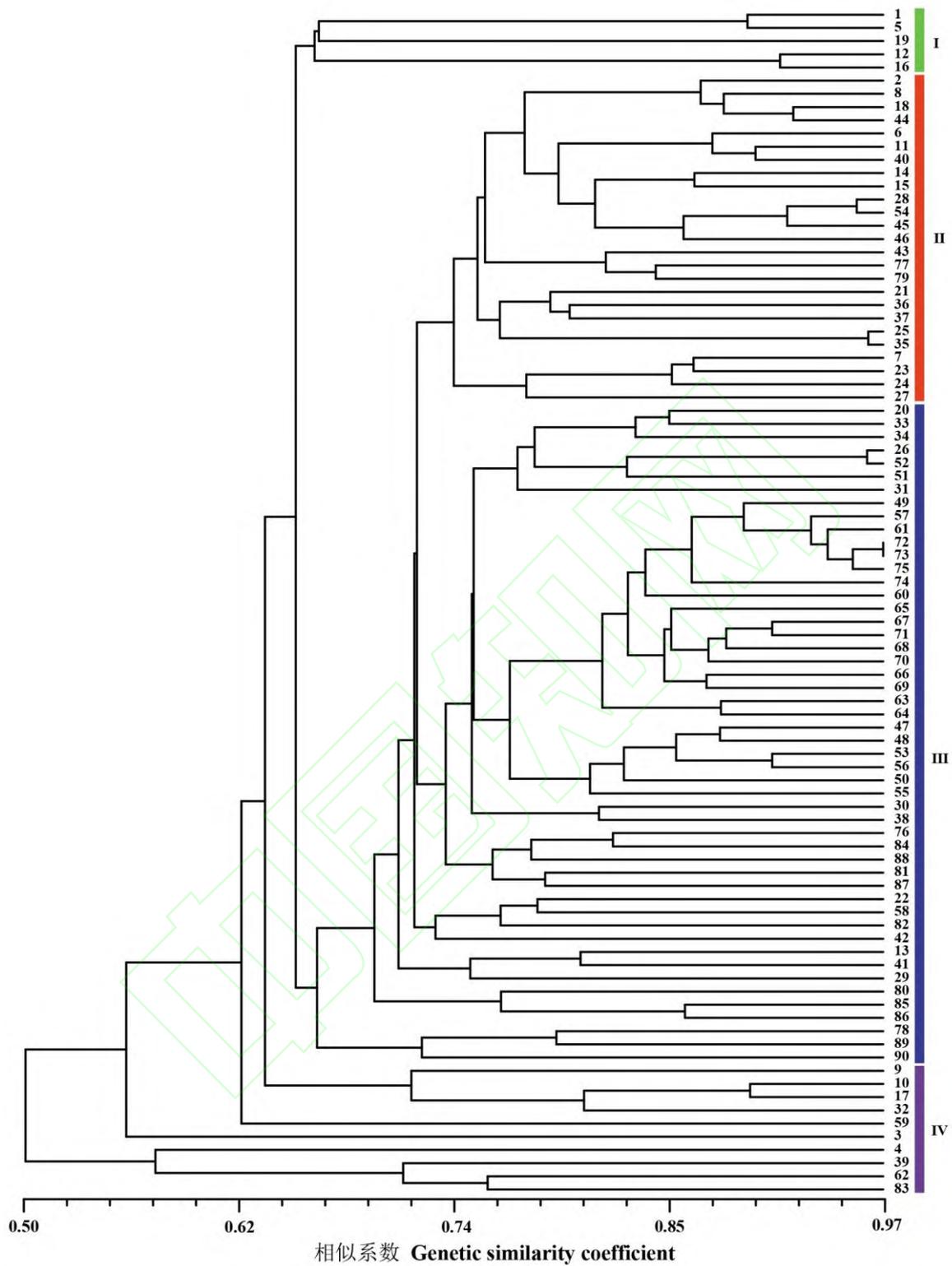


图 3 SCoT 标记构建的 90 份水稻材料的聚类图

Fig.3 Cluster dendrogram of 90 rice materials constructed by SCoT markers

## 2.4 主成分分析

主成分分析 (PCA) 结果显示, 第一主成分和第二主成分分别占总变异的 11.98% 和 7.96% (图 4)。90 份水稻材料分为三大类型, 其中, 所有绿叶黑稻材料 (编号 46~75) 均划分在第 I 类, 所有黑叶、紫叶黑稻材料 (编号 1~45) 均划分在第 II 类和第 III 类。主成分分析将绿叶黑稻与黑叶黑稻区分开, 与传统分类方

式相符，从分子水平揭示了绿叶黑稻与黑叶黑稻之间的遗传差异，表明 SCoT 标记适合于黑稻种质资源遗传多样性分析。

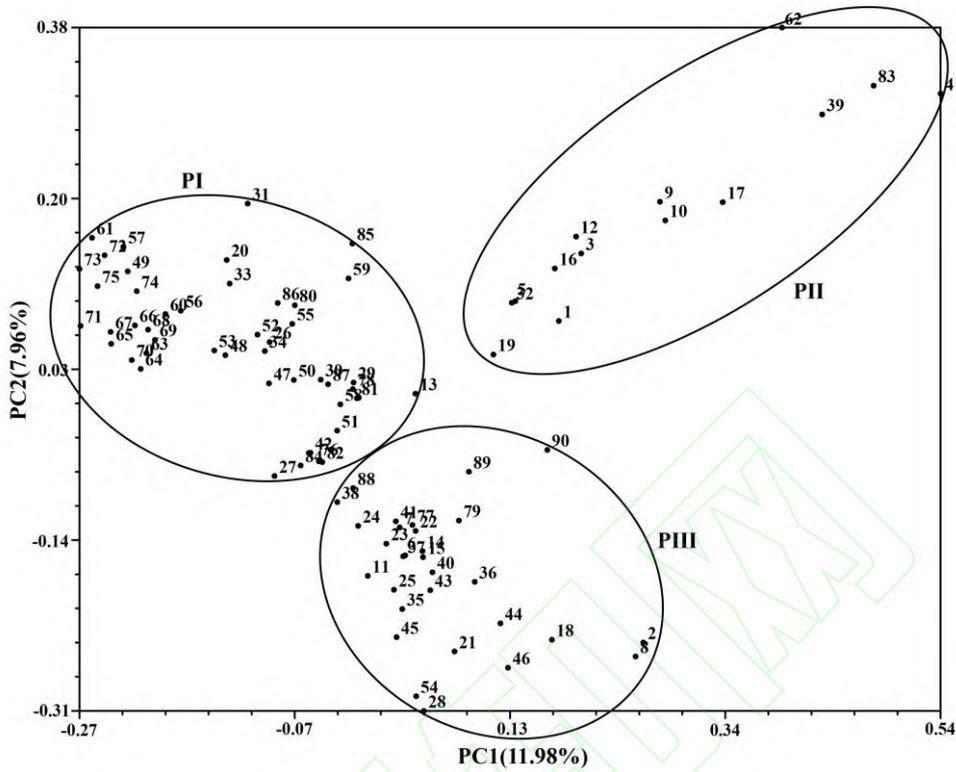
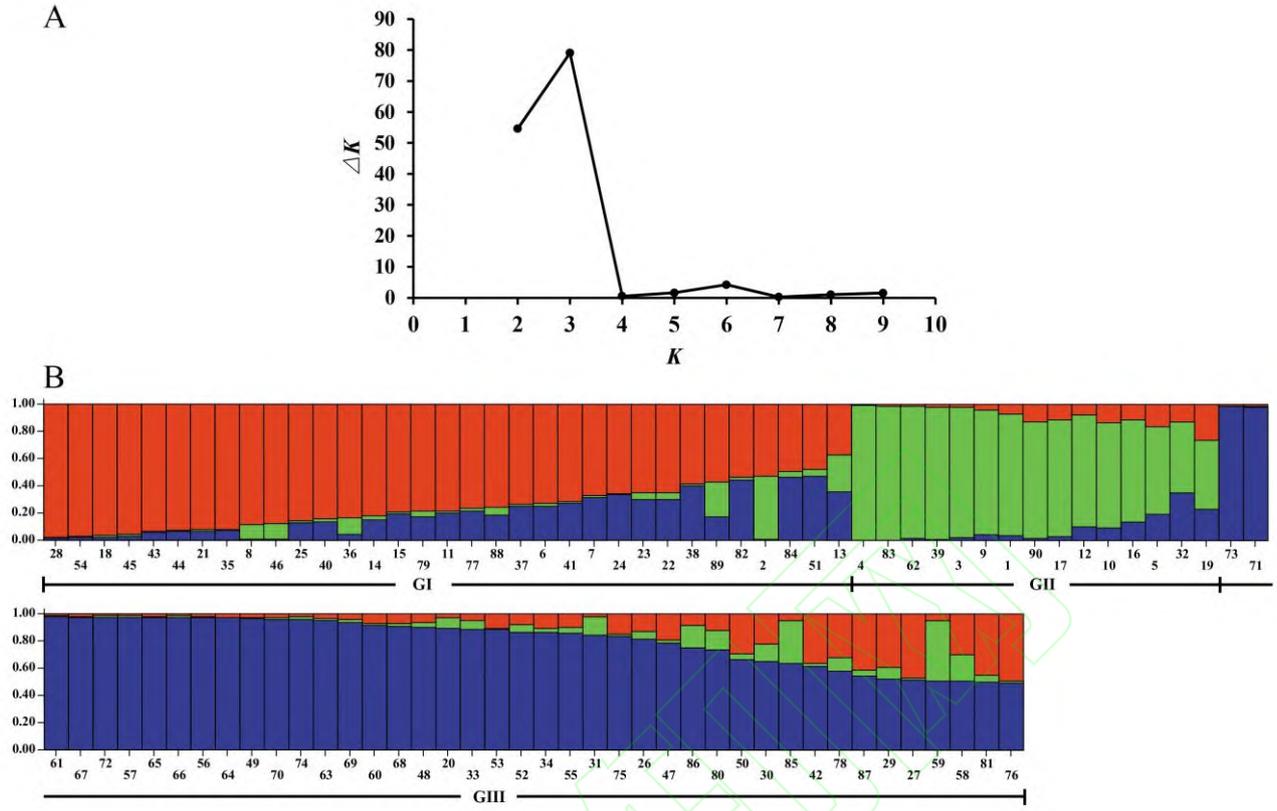


图 4 90 份水稻材料的主成分分析

Fig.4 Principal component analysis of 90 rice materials

### 2.5 群体结构分析

Structure 分析显示，当 K=3 时，Delta K 值最大，表明 90 份水稻材料聚为三类较为合适（图 5）。第 I 类包括 33 份材料，第 II 类包括 15 份材料，第 III 类包括 42 份材料。第 I 类对应于聚类分析图中的红色线条标记部分，第 II 类对应于聚类分析图中的绿色线条和紫色线条标记部分，所有黑叶、紫叶黑稻材料（编号 1~45）均划分在第 I 类和第 II 类；第 III 类对应于聚类分析图中的蓝色线条标记部分，绿叶黑稻材料（编号 46~75）和白稻材料（编号 76~90）均划分在第 III 类。群体结构分析有效地将绿叶黑稻与黑叶黑稻、紫叶黑稻区分开。说明 SCoT 分子标记技术作为新型分子标记技术用于水稻种质资源遗传多样性分析及种质鉴定准确、可靠。综上所述，群体结构分析结果与聚类分析结果具有较高一致性。



A: 利用 lnP(D)得到的  $\Delta K$  变化曲线, K 值范围为 1-10; B: 90 份水稻材料的群体结构分析  
 A:  $\Delta K$  curve obtained by lnP(D), K value range from 1-10; B: Population structure analysis of 90 rice materials

**图 5 SCoT 标记构建的 90 份水稻材料的群体结构分析**

**Fig.5 Population structure analysis of 90 rice materials constructed by SCoT markers**

2.6 分子方差分析

将 90 份水稻材料分为 3 个群体, 即黑叶黑稻和紫叶黑稻 (45 份)、绿叶黑稻 (30 份)、白稻 (15 份) 进行分子方差分析 (AMOVA)。结果 (表 4) 表明, 3 个水稻群体的遗传变异主要存在于群体内部, 群体内变异占总变异的 91%, 群体间的遗传变异仅占总变异的 9%。

表 4 分子方差分析 (AMOVA)

Table 4 Molecular Analysis of Variance (AMOVA)

变异来源	自由度	总方差	方差分量	方差分量比例%
Source of variation	df	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation%
群体间 Among pops	2	166.84	2.2	9
群体内 Within pops	87	1987.24	22.84	91
总计 Total	89	2154.09	25.04	100

Fixation Index  $F_{st}$ : 0.09

3 讨论与结论

水稻种质资源的遗传背景及亲缘关系分析是水稻遗传育种的首要任务, 可为杂交育种中合理选择亲本、培育优质水稻提供理论依据。目前, 在水稻遗传多样性研究上主要使用的分子标记技术为 SSR 标记。Deepika 等<sup>[18]</sup>利用 25 对 SSR 引物对 31 份水稻地方品种进行遗传多样性分析, 均表现出多态性, PIC 值在 0.12~0.66 之间, 在遗传相似系数 0.68 处, 将 31 份水稻地方品种聚为 10 类; Kalita 等<sup>[19]</sup>利用 28 对 SSR 引物对 27 份地方水稻种质进行遗传多样性分析, 有 17 个表现出多态性, PIC 值在 0.076 ~ 0.499 之间, 系统发育树将 27

个基因型分为 3 个类群。

SCoT 分子标记为单引物标记, 具有通用性好、操作方便、多态性高及重复性好等特点<sup>[20]</sup>。与 SSR 标记技术相比, SCoT 标记技术在多态性条带数 (NPB)、多态性比例 (PPB)、标记指数 (MI) 等方面更具优势<sup>[21]</sup>。本研究利用 30 条 SCoT 引物对黑稻材料进行遗传多样性分析, SCoT 引物的多态性比例 (PPB) 为 85%, 多态性信息含量 (PIC) 为 0.76, 高于 SSR 标记。说明 SCoT 引物多态性丰富, 适合进行黑稻遗传多样性分析。

聚类分析结果显示, 在遗传相似系数 0.73 处, 将 90 份水稻材料分为四类。黑叶、紫叶黑稻材料 (编号 1~45) 划分在第 I、II 和 IV 类, 绿叶黑稻材料 (编号 46~75) 和白稻材料 (76~90) 均划分在第 III 类。说明白稻与黑叶、紫叶黑稻材料区分开, 符合传统的系谱分类。绿叶黑稻与黑叶、紫叶黑稻之间的亲缘关系较远。根据本研究的聚类结果, 在水稻杂交育种实践中, 亲本应尽可能选择亲缘关系较远、遗传差异大的材料, 如选择黑叶黑稻中的材料 4 (紫糯) 和绿叶黑稻中的材料 70 (291 (13) Y 黑-7-1-1-11S)、紫叶黑稻中的材料 39 (222 紫香糯 737) 和绿叶黑稻中的材料 56 (125 云南黑谷-1-1-1) 进行杂交。避免选择亲缘关系近也就是遗传相似系数较大的材料。

此外, 选择不同类型的水稻材料进行杂交, 例如, 可选择黑叶稻和黑稻杂交从而有利于丰富黑米稻或黑叶稻的遗传基础, 为选育黑叶杂交稻或黑米杂交稻提供遗传差异较大的黑杂交稻亲本, 有利于培育出多种类型的黑米稻和黑叶稻新品种。现有的黑叶黑稻和绿叶黑稻的资源数量及类型有限, 不利于培育高产抗病的黑米杂交稻和黑叶杂交稻, 因此, 可选择遗传资源十分丰富的白米水稻与黑米、黑叶稻品种杂交以培育出与现有黑稻或黑叶稻遗传差异显著的杂交黑稻恢复系、优良的新型种质资源及新品种。此外, 还可开展黑叶稻与黑米稻粳与粳的亚种间杂交以丰富黑米稻或黑叶稻的遗传基础。AMOVA 分析结果显示, 总遗传变异的 91% 来自群体内, 9% 来自于群体间。表明供试水稻材料的遗传变异主要来自群体内, 群体间的遗传变异较小, 但也说明群体间即黑叶黑稻和紫叶黑稻、绿叶黑稻、白稻之间存在一定的遗传变异, 因此, 在未来的育种中, 可通过水稻不同群体之间的杂交实现群体间的基因交流, 从而对黑稻的杂交育种发挥积极的作用。

本研究为黑稻新品种选育、品种改良以及种质资源的评价和保护提供了理论参考。

## 参考文献

- [1] 武文豪, 何冲冲, 王传波, 杨小川, 方中明. 特种稻黑米和红米研究进展. 植物遗传资源学报, 2024, 25 (7):1046-1055  
Wu W H, He C C, Wang C B, Yang X C, Fang Z M. Research progress on black and red rice of special varieties. Journal of Plant Genetic Resources, 2024, 25 (7):1046-1055
- [2] 全东兴, 韩龙植, 南钟浩, 元东林. 特种稻种质资源研究进展与展望. 植物遗传资源学报, 2004, 5(3): 227-232  
Quan D X, Han L Z, Nan Z H, Yuan D L. Progress and Prospect of Germplasm Research for Special Rice. Journal of Plant Genetic Resources, 2004, 5(3): 227-232
- [3] 薛庆锋, 徐九文. 黑米的营养保健价值及应用发展探讨. 特种经济动植物, 2020, 23(8): 31-33  
Xue Q F, Xu J W. Discussion on the nutritional and health value of black rice and its application development. Special Economic Animal and Plant, 2020, 23(8): 31-33
- [4] 王艳龙, 陈进, 韩豪, 李新生, 黄重, 张选明, 沙志鸿. 黑米花青苷药理学作用研究进展. 大麦与谷类科学, 2016, 33(3): 5-8  
Wang Y L, Chen J, Han H, Li X S, Huang C, Zhang X M, Sha Z H. Research Progress on Pharmacological Effects of Black Rice Anthocyanins. Barley and Cereal Sciences, 2016, 33(3): 5-8
- [5] 李煦, 白雪晴, 刘长霞, 刘博静, 范小振. 天然花青素的抗氧化机制及功能活性研究进展. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(20): 8163-8171  
Li X, Bai X Q, Liu C X, Liu B J, Fan X Z. Research progress on antioxidant mechanism and functional activity of natural anthocyanin. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(20): 8163-8171
- [6] 王胜宝, 冯志峰, 李新生, 张志健, 周宝龙, 周凯. 陕西汉中特种稻产业发展现状及前景. 新疆农业科学, 2010, 47(S2): 147-150  
Wang S B, Feng Z F, Li X S, Zhang Z J, Zhou B L, Zhou K. Current Situation and Prospects of Special Rice Industry in Hanzhong, Shanxi. Xinjiang Agricultural Sciences, 2010, 47(S2): 147-150
- [7] 田慧, 陈宏夏, 黄勇, 封毅, 曾昭清, 梁雪, 叶盛连, 潘小姣. 青钱柳种质资源 SCoT 分子标记遗传多样性分析. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(07): 2732-2739  
Tian H, Chen H X, Huang Y, Feng Y, Zeng Z Q, Liang X, Ye S L, Pan X J. Genetic diversity of Germplasm Resource SCoT of *Cyclocarya paliurus* (batal.) Iljinsh by molecular markers. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2022, 24(07): 2732-2739
- [8] 陈熙, 张羽, 李俊, 席彦军, 张颜青. SCoT 标记分析陕西茶树资源的遗传多样性. 茶叶科学, 2016, 36(02): 131-138  
Chen X, Zhang Y, Li J, Xi Y J, Zhang Y Q. Genetic Diversity Analysis of Tea Germplasm in Shaanxi Province Based on SCoT Marker. Journal of Tea Science, 2016, 36(02): 131-138

- [9] Collard Y C B, Mackill J D. Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: A Simple, Novel DNA Marker Technique for Generating Gene-Targeted Markers in Plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2009, 27(1): 86-93
- [10] 熊发前, 唐荣华, 陈忠良, 潘玲华, 庄伟建. 目标起始密码子多态性(SCoT):一种基于翻译起始位点的目的基因标记新技术. *分子植物育种*, 2009, 7(03): 635-638  
Xiong F Q, Tang R H, Chen Z L, Pan L H, Zhang W J. SCoT: A Novel Gene Targeted Marker Technique Based on the Translation Start Codon. *Molecular Plant Breeding*, 2009, 7(3): 635-638
- [11] 孔丽娟. 基于 SCoT 标记对花椒种质资源的分析与鉴定. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022  
Kong L J. Analysis and identification of Chinese prickly ash germplasm resources based on SCoT markers. Yangling: Northwest A & F University, 2022.
- [12] 王悦星, 周婉莹, 张文慧, 吴婉婉, 张晓娟, 于月华. 利用 SCoT 分子标记分析 85 个猕猴桃品种 (系) 及野生近缘种的遗传结构. *果树学报*, 2021, 38(07): 1044-1054  
Wang Y X, Zhou W Y, Zhang W H, Wu W W, Zhang X J, Yu Y H. Genetic structure analysis of 85 kiwifruit varieties (lines) and wild relatives by SCoT molecular markers. *Journal of Fruit Science*, 2021, 38(07): 1044-1054
- [13] 顾浩栋, 吴梅, 孔向军, 王忠华. 基于 SCoT 标记的金线莲遗传多样性分析. *分子植物育种*, 2023, 21(09): 2980-2990  
Gu H D, Wu M, Kong X J, Wang Z H. Genetic Diversity Analysis of *Anoectochilus roxburghii* Based on SCoT Markers. *Molecular Plant Breeding*, 2023, 21(09): 2980-2990
- [14] 李淼, 董晓民, 高晓兰, 李贵祥, 刘伟, 张安宁. 基于 SCoT 分子标记的 19 份黄桃种质遗传多样性分析. *果树学报*, 2021, 38(5): 664-671  
Li M, Dong X M, Gao X L, Li G X, Liu W, Zhang A N. Genetic relationship analysis of 19 accessions of yellow peach germplasms based on SCoT markers. *Journal of Fruit Science*, 2021, 38(5): 664-671
- [15] 冯浩彦, 康乐, 郎涛, 张聪, 李明, 赵珊, 蒲志刚. 基于 SCoT 分子标记的甘薯及其野生种遗传多样性分析. *华北农学报*, 2021, 36(1): 18-26  
Feng J Y, Kang L, Lang T, Zhang C, Li M, Zhao S, Pu Z G. Genetic Diversity Analysis of Sweet Potato and Its Wild Species Using SCoT Molecular Markers. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2021, 36(1): 18-26
- [16] 王黎, 徐郝, 俞云栋, 张海珍, 高燕会, 沈笑, 金晨莺, 陈佚敏. 基于 SCoT 标记的朱顶红品种遗传多样性分析. *浙江农林大学学报*, 2020, 37(05): 930-938  
Wang L, Xu H, Yu Y D, Zhang H Z, Gao Y H, Shen X, Jin C Y, Chen Y M. Genetic diversity analysis of *Hippeastrum rutilum* cultivars based on SCoT markers. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2020, 37(05): 930-938
- [17] Mollier M, Roychowdhury R, Tzudir L, Sharma R, Barua U, Rahman N, Pal S, Gogoi B, Kalita P, Jain D, Das R. Evaluation of Morpho-Physiological and Yield-Associated Traits of Rice (*Oryza sativa* L.) Landraces Combined with Marker-Assisted Selection under High-Temperature Stress and Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> Levels. *Plants*, 2023, 12(20): 3655
- [18] Deepika C, Devaraju J P, Patted S V, Niranjana K, Kumar M D H. Molecular Characterization of Land Races of Rice by Using SSR Markers (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Environment and Climate Change*, 2022, 12(11): 3201-3210
- [19] Kalita M, Saharia D D, Thakur K, Sonowal S, Goswami K R, Sarma K M, Baruah A. Study of Genetic Diversity and Drought-Tolerance Characteristics of Few Rice Varieties Using Morphological and Molecular Markers. *International Journal of Plant Soil Science*, 2024, 36(1): 38-53
- [20] 卢家仕, 李先民, 黄展文, 余海娟, 李春牛, 苏群, 卜朝阳. 基于 SCoT 分子标记的金花茶组植物种质资源遗传多样性分析. *中草药*, 2021, 52(20): 6357-6364  
Lu J S, Li X M, Huang Z W, Yu H J, Li C N, Su Q, BU Z Y. Genetic diversity analysis of Camellia sect. chrysantha Chang germplasmresources based on SCoT molecular markers. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, 52(20): 6357-6364
- [21] Zhang Y, Zhang X J, Chen X, Sun W, Li J. Genetic diversity and structure of tea plant in Qinba area in China by three types of molecular markers. *Hereditas*, 2018, 155(3): 22