

水稻耐冷基因 *qCTS-9* 的核苷酸多样性及单倍型分析

郭玉静^{1,2}, 陈祖武², 董 铮², 李小湘², 刘文强², 郭 梁²,
薛可欣^{1,2}, 郑晓明^{3,4}, 逢洪波⁵, 潘孝武^{1,2}

(¹湖南大学生物学院隆平分院, 长沙 410125; ²湖南省农业科学院水稻研究所, 长沙 410125; ³中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; ⁴三亚中国农业科学院国家南繁研究院, 海南三亚 571700; ⁵沈阳师范大学生命科学院, 沈阳 110034)

摘要: *qCTS-9* 是在多种苗期低温条件下稳定发挥作用的水稻耐冷基因, 研究其耐冷优异单倍型及适应性进化模式, 有利于为水稻耐冷育种提供基因资源和技术支撑。本研究利用 116 份栽培稻 (*Oryza sativa* L.) 和 37 份普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.), 对 *qCTS-9* 基因的核苷酸多样性及单倍型进行了分析。结果表明, *qCTS-9* 基因编码区内的 14 个 SNPs 组成了 8 种单倍型, 其中的 4 个非同义 SNPs 组成 3 种功能单倍型, 这 3 种功能单倍型之间表现出显著的耐冷性差异, 编码区的第 1535 bp 处 SNP 可能是 *qCTS-9* 基因的关键变异位点。对 *qCTS-9* 基因启动子区顺式作用元件进行分析后发现, 相比于野生稻和粳稻, 低温敏感籼稻 Hap4 单倍型材料中 -1107 bp 有一个 SNP (G→A), 导致该处的 MYB 识别位点缺失, 这个自然变异可能与籼稻耐冷性下降相关。野生稻包含栽培稻中 *qCTS-9* 基因的大部分变异, 但在编码区及启动子顺式作用元件中无独有的变异位点; 从野生稻向籼稻分化的过程中, 耐冷相关等位或突变被固定和扩展, 进而增强了其区域适应性。

关键词: 水稻; 耐冷性; *qCTS-9*; 核苷酸多样性; 单倍型; 驯化

Nucleotide Diversity and Haplotype Analysis of *qCTS-9* Gene Related to Cold Tolerance in Rice

GUO Yujing^{1,2}, CHEN Zuwu², DONG Zheng², LI Xiaoxiang², LIU Wenqiang², GUO Liang²,
XUE Kexin^{1,2}, ZHENG Xiaoming^{3,4}, PANG Hongbo⁵, PAN Xiaowu^{1,2}

(¹Longping Branch, College of Biology, Hunan University, Changsha 410125; ²Rice Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125; ³Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ⁴Sanya National Research Institute of Breeding in Hainan, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Sanya 571700, Hainan; ⁵College of Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang 110034)

Abstract: *qCTS-9* is reported to be a rice cold-tolerant gene, which functions stably under a wide range of low temperature conditions at seedling stage. Detailed knowledge of the haplotype and adaptive evolution pattern of *qCTS-9* will provide support for breeding cold-tolerant rice varieties. In this study, 116 accessions of cultivated rice (*Oryza sativa* L.) and 37 accessions of wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) were used to analyze the nucleotide diversity and haplotypes of *qCTS-9*. There are a total of 14 SNPs in the coding region of *qCTS-9*, and these SNPs comprised eight haplotypes. Four non-synonymous SNPs constituted three functional haplotypes, which showed significant differences in cold tolerance. The SNP at the 1535 bp in the coding region was hypothesized to be the key mutation site of *qCTS-9*. The analysis of *cis*-acting elements in the promoter region of *qCTS-9* showed that a SNP (G→A) at -1107 bp resulted in the deletion of a MYB recognition site in the cold-sensitive haplotype Hap4, which may lead to a decrease in cold tolerance in *indica* rice. Wild rice

收稿日期: 2024-01-03 网络出版日期: 2024-08-01

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240103001>

第一作者研究方向为水稻种质资源发掘与利用, E-mail: guoyujing5887@163.com

通信作者: 潘孝武, 研究方向为水稻种质资源发掘与利用, E-mail: pxw137@163.com

基金项目: 湖南省科技创新计划项目(2023NK1010, 2021NK1011); 国家自然科学基金项目(32341026)

Foundation projects: Hunan Provincial Science and Technology Innovation Program (2023NK1010, 2021NK1011); National Natural Science Foundation of China (32341026)

contains most of the variations of *qCTS-9* gene in cultivated rice, but it does not have any unique variant sites within the coding region and promoter *cis*-acting elements. During the differentiation from wild rice to *indica* and *japonica* rice, cold-tolerant related alleles or mutations were fixed and expanded, which in turn enhanced its regional adaptability.

Key words: rice; cold tolerance; *qCTS-9*; nucleotide diversity; haplotype; domestication

水稻 (*Oryza sativa* L.) 是世界上最重要的粮食作物之一, 为世界一半以上的人口提供主食^[1]。低温限制了水稻在全球的分布, 在全球范围内, 低温胁迫导致水稻减产广泛存在^[2]。随着水稻连作面积的增加, 以及水稻种植向高海拔以及高纬度寒冷地区的扩展, 发生冷害的频率也在明显增加^[3]。水稻在苗期会受到低温冷害的威胁, 长江中下游的早籼稻因倒春寒引起烂秧死苗, 寒地粳稻区低温引起生长抑制、生育期推迟。研究水稻耐冷基因的优异单倍型、适应性进化模式及驯化历史, 将为水稻耐冷育种提供基因资源和技术支撑。

水稻的耐冷性是一种由数量性状位点 (QTL, quantitative trait locus) 控制的复杂性状^[4-6], 这些遗传位点及其主基因可以作为提高水稻低温耐受性的分子模块^[7]。迄今为止, 已经克隆了一些水稻苗期耐冷基因。COLD1 通过与 G 蛋白 α 亚基 RGA1 相互作用, 激活 Ca^{2+} 通道以感知低温, 并增强 G 蛋白 GTP 酶活性, 赋予水稻耐冷性^[8]。GSTZ 基因编码一个 Zeta 类谷胱甘肽转移酶, 参与酪氨酸的分解代谢, 该基因编码区的 1 个单核苷酸多态性 (SNP, single nucleotide polymorphisms, A→G) 引起第 99 位的氨基酸发生变异 (Ile⁹⁹→Val⁹⁹), 导致酶活性显著下降和耐冷性降低^[9]。HANI 基因编码一种氧化酶, 通过调控茉莉酸 (JA, jasmonic acid) 介导的低温反应负调控水稻的耐冷性^[10]。转录因子 OsbZIP71 与 OsbZIP73 相互作用, 通过调节脱落酸 (ABA, abscisic acid) 水平和活性氧 (ROS, reactive oxygen species) 的动态平衡, 提高水稻的耐冷性^[11]。COLD11 基因编码 DNA 修复蛋白 COLD11/RAD51A1, 其第一外显子 GCG 重复数影响低温胁迫下编码蛋白修复 DNA 损伤的生化活性^[12]。*qCTS-9* 基因 (*Os09g0410300*) 编码转录起始因子 TFIID subunit 2 (TAF2), TAF2 是 TFIID 转录起始复合物家族的高度保守成员, 在细胞周期调控中起重要作用^[13-14], 其启动子区的序列差异引起基因的差异表达, 进而引起耐冷性的差异^[15]; 耐冷性是复杂数量性状, 易受环境影响, 但 *qCTS-9* 在多种苗期低温条件下稳定发挥耐冷性^[16], 因此对 *qCTS-9* 基因耐冷优异单倍型的发掘具

有重要应用价值。

本研究选择 116 份栽培稻 (*Oryza sativa* L.) 和 37 份普通野生稻 (*Oryza rufipogon* Griff.), 分析水稻苗期耐冷基因 *qCTS-9* 变异位点的多样性, 挖掘苗期耐冷的优异单倍型及适应性进化模式, 为通过分子育种提高水稻耐冷性提供支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究共使用 116 份栽培稻 (材料信息详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240103001>, 附表 1) 和 37 份普通野生稻 (材料信息详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240103001>, 附表 2), 这些水稻材料覆盖了 14 个国家及地区, 包括中国 (88 份)、印度 (11 份)、日本 (11 份)、菲律宾 (7 份)、印度尼西亚 (7 份)、韩国 (5 份)、孟加拉国 (5 份)、尼泊尔 (5 份)、斯里兰卡 (4 份)、越南 (3 份)、缅甸 (3 份)、老挝 (2 份)、巴基斯坦 (1 份) 及马来西亚 (1 份), 主要分布在东亚、南亚及东南亚栽培稻主栽区。栽培稻材料包含 89 份粳稻 (*Japonica*)、22 份籼稻 (*Indica*)、2 份 *Aro* 以及 3 份 *Aus*。

1.2 水稻材料的苗期耐冷性鉴定

对栽培稻群体进行耐冷性鉴定, 幼苗培养与苗期低温黄叶率鉴定参考宋佳等^[17]的方法。水稻种子在 50 °C 烘箱中放置 3 d 打破休眠, 浸种发芽后在 28 °C 组培室 (12000 Lux, 12 h 光照/12 h 黑暗) 中进行苗期培养, 培养至三叶一心期时进行低温处理, 置于 4 °C 人工气候培养箱 (12000 Lux, 12 h 光照/12 h 黑暗) 中低温胁迫处理 24 h, 处理结束后转移至原组培室恢复生长 7 d。3 次生物学重复, 每个重复培养 16 株幼苗。叶片发黄超过一半面积记作黄叶, 统计幼苗的黄叶率作为耐冷指标, 黄叶率 (%) = (黄叶个数/总叶数) × 100%。

使用 SPAD-502 型叶绿素仪测定苗期叶绿素含量, 测定位置选取两叶一心期水稻幼苗第二叶的中上部, 每个水稻品种取 3 次 SPAD 值的平均值为处理前 SPAD 终值, 测定完成后将水稻幼苗置于 10 °C 下胁迫 48 h (12000 Lux, 12 h 光照/12 h 黑暗)。胁迫

完成后的水稻幼苗再次测定 SPAD 值,重复 3 次,取 3 次 SPAD 值的平均值为胁迫后终值。

1.3 重测序数据获取

本研究重测序数据来源于 Zheng 等^[18]的研究,提取水稻叶片的 DNA,每个样本使用约 1.5 μg DNA 构建文库,并在 Illumina HiSeq 平台进行测序,去除含有 ≥10% 不确定碱基(N)的读数、质量评分(Phred quality score) < 5 的读数、与适配器有 >10 nt 对齐的读数(允许 ≤10% 不匹配)、潜在的 PCR 重复,得到有效数据。采用日本晴 (*O. sativa* ssp. *japonica* Nipponbare) 基因组 (MSU 7.0 版本, http://rice.plantbiology.msu.edu/pub/data/Eukaryotic_Projects/o_sativa/annotation_dbs/pseudomolecules/version_7.0/all.dir/) 作为参考,比对测序数据。通过有效过滤(测序深度 > 7×; 最小等位基因频率 > 0.01; 缺失率 < 0.02), 获得高质量 SNPs 用于核苷酸多样性及单倍型分析。

1.4 统计分析

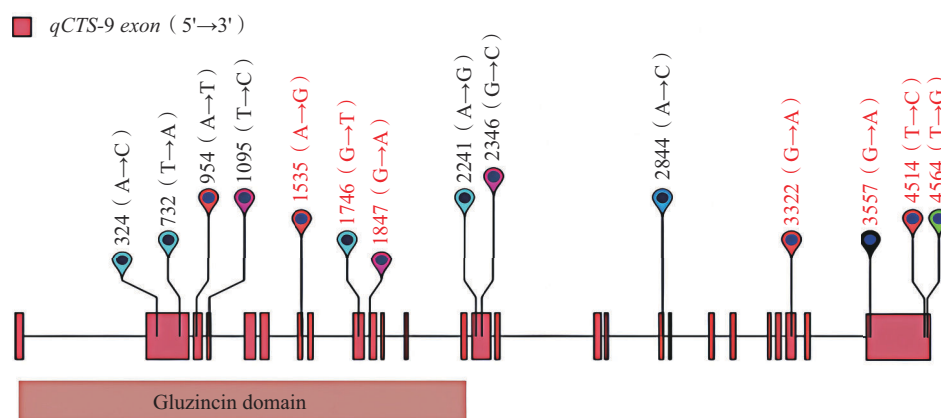
使用 R 包 geneHapR^[19] 依据样本重测序数据绘制基因编码区核苷酸多样性图、单倍型分类图及单倍型网络图,可视化基因模型上的变异位置、单倍型分类和进化网络,绘图过程中删除杂合变异位点并丢弃含缺失数据的位点。使用 CandiHap^[20] 软件进行水稻苗期耐冷黄叶率表型的箱线图绘制,利用 GraphPad Prism9.0.0 绘制低温处理前后叶绿素含量 SPAD 箱线图,同时采用 Student's T 检验进行差异显著性评估。从 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) 网站下载 *qCTS-9* 启动子区序列(起始密码子上游 2000 bp),

利用在线工具 PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 预测基因启动子区顺式作用元件,结合试验样本的启动子区核苷酸多样性进行分析。使用 Adobe Illustrator 2022 软件对图片进行处理和编辑。

2 结果与分析

2.1 *qCTS-9* 基因编码区的核苷酸多样性

qCTS-9 基因 (*Os09g0410300*) 位于第 9 染色体,其编码区序列(CDS, coding sequence)在 14531190 bp 到 14547560 bp 之间(+链), CDS 全长为 4614 bp, 共包含 26 个外显子, 编码蛋白共有 1537 个氨基酸, 包含保守的谷氨酸锌化氨肽酶 (Gluzincin) 结构域。116 份栽培稻的重测序数据结果显示(图 1), *qCTS-9* 基因编码区(内含子除外)共有 14 个 SNPs, 包含 7 个非同义突变, 其中 3 个 SNPs 位于 Gluzincin 结构域中, 分别是 1535 bp (A→G, Asn→Ser)、1746 bp (G→T, Leu→Phe) 及 1847 bp (G→A, Cys→Tyr)。核苷酸比对中未发现任何插入和缺失 (InDel, Insertion and deletion)。进一步对 37 份野生稻材料的序列进行分析, 发现野生稻编码区序列包含本研究中栽培稻编码区的绝大部分变异, 但未发现野生稻特有的变异位点, 其变异位点在栽培稻中全部能够找到。相比于野生稻, 粳稻样本编码区无特有的变异, 而部分籼稻材料的编码区内有 3 个位点 324 bp (A→C)、2241 bp (A→G) 及 2844 bp (A→C) 发生新的自然变异, 但均为无义突变, 表明 *qCTS-9* 基因不同 SNPs 位点在野生稻驯化过程中逐步固定在籼粳不同群体中。



红色的 SNPs 代表非同义突变位点

SNPs marked in red represent non-synonymous mutation sites

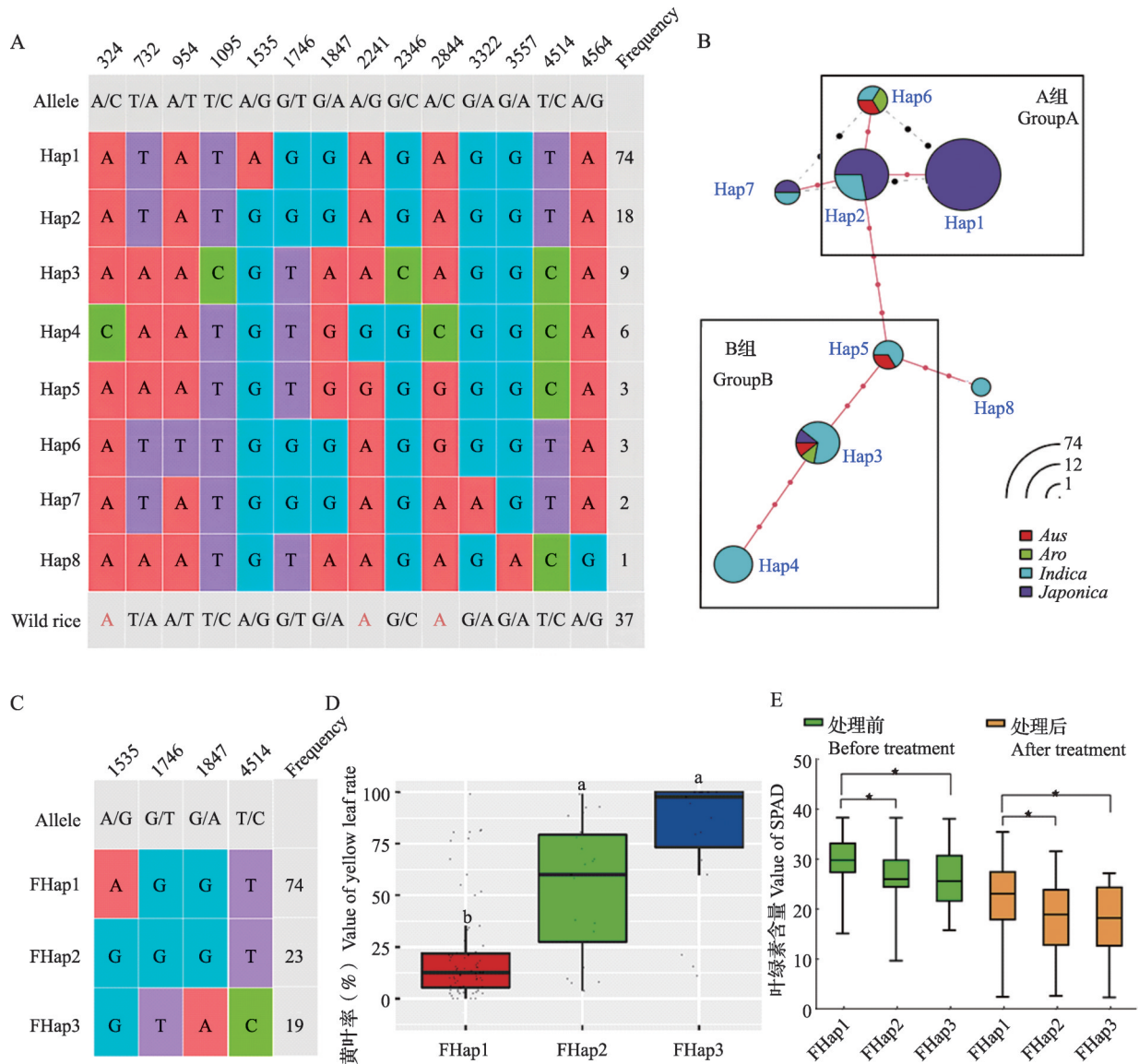
图 1 *qCTS-9* 基因编码区的核苷酸多样性

Fig.1 Nucleotide polymorphisms in the *qCTS-9* coding region

2.2 *qCTS-9* 基因编码区单倍型分析

编码区的 14 个 SNPs 在 116 份栽培稻材料中共具有 8 个单倍型(图 2A)。其中, Hap1 和 Hap2 单倍型属于高频单倍型, 分别占样本总数的 63.79% 和 15.52%, 其余单倍型样本个数均在 9 个及以下。单倍型网络图展示了 8 个单倍型间的进化关系(图 2B), 单倍型间连线上点的数量代表两单倍型间的差异位点数量^[19], 据此可将单倍型划分为变异位点

更为相似的 A 和 B 两组。A 组主要由粳稻构成, 包含单倍型 Hap1、Hap2 及 Hap6, B 组主要由籼稻构成, 包含单倍型 Hap3、Hap4 及 Hap5; 其中, Hap1 和 Hap4 分别是粳稻和籼稻特有单倍型, 且二者间差异位点最多, 14 个变异位点中只有 6 个变异位点相同, 表现出最大的序列差异; 其余单倍型均由籼稻和粳稻等共同组成, Hap7 和 Hap8 由于所含样本数少于 3 个, 分析时不予考虑。



A: 所有单倍型的分类图; B: 所有单倍型的 Network 图, 图例上方弧线按比例对应单倍型饼图不同样本数量, 单倍型间连线上点的数量代表两单倍型间的差异位点数量; C: 功能单倍型分类图; D: 功能单倍型低温处理后黄叶率, 不同小写字母代表 $P < 0.05$ 水平上的差异显著性; E: 功能单倍型低温处理前后叶绿素含量 (SPAD), * 代表 $P < 0.05$ 水平上的差异显著性

A: The classification of all haplotypes for *qCTS-9*; B: The Network of all haplotypes for *qCTS-9*, the arc above the legend corresponds proportionally to the different sample sizes in the haplotype pie chart, the number of points on the line connecting haplotypes represents the number of differential sites between two haplotypes; C: The classification of functional haplotypes for *qCTS-9*; D: The value of yellow leaf rate of functional haplotypes for *qCTS-9*, different lowercase letters represent significant differences at the $P < 0.05$ level; E: The changes of SPAD value in chlorophyll content of functional haplotypes before and after low temperature treatment, *: Significant differences at the level of $P < 0.05$

图 2 *qCTS-9* 基因编码区单倍型分析

Fig. 2 Haplotypes analysis of *qCTS-9* coding region

为了进一步探究不同单倍型对耐冷表型的影响,对 *qCTS-9* 基因编码区的变异位点进行筛选,编码区发生变化的14处核苷酸中只有7处是非同义突变,筛选变异样本量少于3个的变异位点,最终得到4个功能SNPs: 1535 bp (A→G, Asn→Ser)、1746 bp (G→T, Leu→Phe)、1847 bp (G→A, Cys→Tyr)、4514 bp (T→C, Ile→Thr)。这4个SNPs构成的3种功能单倍型FHap1(包括Hap1)、FHap2(包括Hap2、Hap6和Hap7)及FHap3(包括Hap3、Hap4、Hap5和Hap8),样本数分别为74个、23个和19个(图2C)。以低温处理后的黄叶率为形态学评价指标,发现单倍型FHap1与FHap3的平均黄叶率差异显著,分别为21.46%和79.69% ($P=0.000 < 0.05$),表明FHap1单倍型的74份栽培稻材料的耐冷性更好,是优异单倍型,而FHap3单倍型的19份样本材料的则表现为低温敏感;另外23份样本材料所代表的FHap2单倍型平均黄叶率为52.91%,耐冷表现一般(图2D)。水稻在低温胁迫下会减少叶绿素合成,因此本研究在形态学指标黄叶率基础上增加光合生理指标叶绿素含量SPAD(详见 <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240103001>,附表1),以进一步评价水稻样本的耐冷性。3种功能单倍型在低温处理后SPAD值都表现出显著降低,且无论处理前后,FHap1的SPAD值显著高于FHap3,即FHap1更耐冷,这与黄

叶率指标表明的耐冷性结果相一致(图2E)。

3种功能单倍型在不同类型材料中的频率有明显差异(表1):FHap1、FHap2及FHap3在粳稻样本中占比分别为83.15%、15.73%、1.12%,在籼稻样本中分别占比0、31.82%、68.18%,在 *Aro* 样本中分别占比0、50.00%、50.00%,在 *Aus* 样本中分别占比0、33.33%、66.67%,表明粳稻中耐冷的FHap1单倍型分布较多,而籼稻中则广泛存在对低温敏感的FHap3单倍型,这与粳稻整体耐冷性高于籼稻的特性相一致。功能单倍型FHap1与单倍型Hap1样本完全一致,全部由74份粳稻材料构成,FHap1中1535 bp处的碱基A是其特有的,根据此位点将所有单倍型分为 *qCTS-9^{Jap}* 组(单倍型Hap1)及 *qCTS-9^{Ind}* 组(1535 bp A→G, Asn→Ser; 单倍型Hap2~Hap6)。在116份栽培稻材料中, *qCTS-9^{Jap}* 组的平均黄叶率(21.46%)显著小于 *qCTS-9^{Ind}* 组(65.58%),栽培稻 *qCTS-9^{Jap}* 组表现为更耐冷,因此推测SNP¹⁵³⁵可能是 *qCTS-9* 基因的关键变异位点。该变异位点也将野生稻分为包含15份样本的 *qCTS-9^{Jap}* 组和包含22份样本的 *qCTS-9^{Ind}* 组,其中15份 *qCTS-9^{Jap}* 组样本全部来源于中国,22份 *qCTS-9^{Ind}* 组样本则广泛分布于印度、印度尼西亚、马来西亚、老挝、尼泊尔、斯里兰卡以及越南等东南亚国家,表明该关键变异位点最有可能源于中国的野生稻品种。

表1 不同单倍型分组在四种材料中的频率

Table 1 The frequency of different haplotype groups in the four materials

单倍型分组 Haplotype group	粳稻 <i>Japonica</i>		籼稻 <i>Indica</i>		<i>Aro</i>		<i>Aus</i>	
	数量 Number	比例(%) Proportion	数量 Number	比例(%) Proportion	数量 Number	比例(%) Proportion	数量 Number	比例(%) Proportion
Hap1	74	83.15	0	0	0	0	0	0
Hap2	13	14.61	5	22.73	0	0	0	0
Hap3	1	1.12	6	27.27	1	50.00	1	33.33
Hap4	0	0	6	27.27	0	0	0	0
Hap5	0	0	2	9.09	0	0	1	33.33
Hap6	0	0	1	4.55	1	50.00	1	33.33
FHap1	74	83.15	0	0	0	0	0	0
FHap2	14	15.73	7	31.82	1	50.00	1	33.33
FHap3	1	1.12	15	68.18	1	50.00	2	66.67
<i>qCTS-9^{Jap}</i>	74	83.15	0	0	0	0	0	0
<i>qCTS-9^{Ind}</i>	14	15.73	20	90.91	2	100	3	100

2.3 *qCTS-9* 基因启动子区核苷酸多样性与顺式作用元件分析

顺式作用元件包括脱水响应元件核心基序DRE core^[21]、ABA响应元件ABRE^[22]、MYB识别位

点^[23]、MYBHv1结合位点(CCAAT-box)^[24]以及G-box元件^[25]等,在低温胁迫下诱导耐冷相关基因表达,从而提高植物的耐冷性。对116份栽培稻 *qCTS-9* 基因启动子区的核苷酸多样性和顺式作用

元件进行分析, 共获得 68 个 SNPs 和 5 个 InDels, 其中 11 个 SNPs 和 1 个 InDel 位于低温反应元件中 (图 3)。本研究中粳稻材料特有的耐冷单倍型 Hap1 与参考基因型日本晴序列一致, 在变异位点 -1990 bp 和 -1107 bp 处未发生变异, 拥有完整的顺式作用元件 DRE core、MYB 识别位点及 MYBHv1 结合位点, 而籼稻特有的冷敏感单倍型 Hap4 所有样本在这两个位点处发生变异, 缺失完

整顺式作用元件。因此, 推测 DRE core 元件、MYB 识别位点及 MYBHv1 结合位点的存在可能与水稻耐冷性有关。37 份野生稻样本在变异位点 -1990 bp 处未产生 G→C 变异, 在 -1107 bp 位点也未产生 G→A 变异; 仅籼稻特有的 Hap4 单倍型在 -1107 bp 位点存在变异 A, 表明此处 MYB 识别位点及 MYBHv1 结合位点的缺失可能与 *qCTS-9* 籼稻单倍型群体的冷敏感性相关。

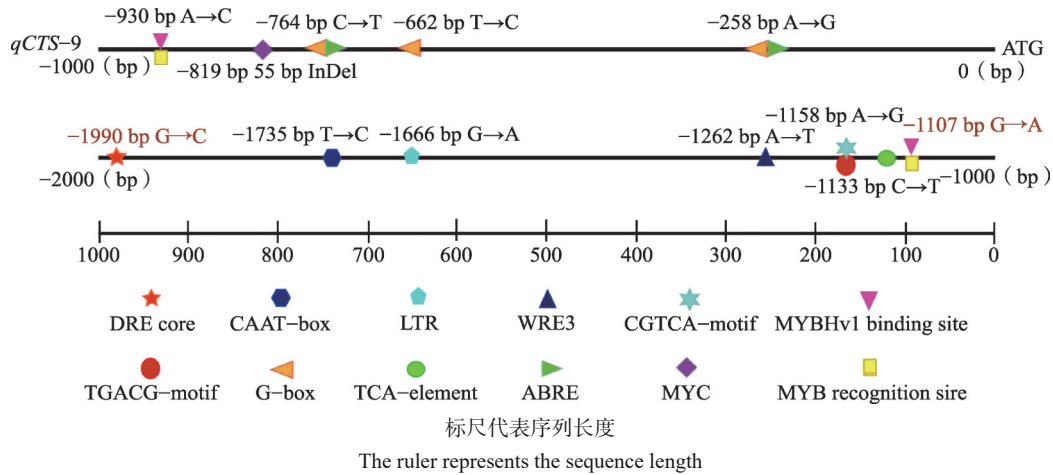


图 3 *qCTS-9* 基因启动子低温响应顺式作用元件

Fig. 3 The low-temperature responsive *cis*-acting elements analysis of *qCTS-9* gene promoter

3 讨论

3.1 *qCTS-9* 基因在野生稻和栽培稻中的遗传变异

种群间的遗传变异是育种中有益突变的最终来源^[26]。对 116 份栽培稻及 37 份野生稻材料的 *qCTS-9* 基因序列进行分析, 发现野生稻编码区变异包含栽培稻编码区 14 个变异位点中的 11 个, 未发现野生稻特有的变异位点; 在水稻驯化过程中, 栽培稻 *qCTS-9* 基因产生了新的自然变异, 但编码区中鉴定出的自然变异未能引起氨基酸变化。Zhao 等^[15] 利用耐冷粳稻品种 LTH 和冷敏感籼稻品种 SHZ-2 构建的遗传群体克隆了 *qCTS-9* 基因, 该基因的编码区序列在这两个品种间无差异, 启动子中存在 5 个 SNPs 和 1 个 InDel 的序列差异, 单因素方差分析表明该 InDel 与苗期耐冷性显著相关。由于样本数量的增加, 本研究在 *qCTS-9* 基因的编码区发现 14 个 SNPs, 启动子区获得 68 个 SNPs 和 5 个 InDels, 与 Zhao 等^[15] 发现的序列差异不同, 且变异位点数量明显增多。MYB 家族转录因子是植物中最大的一类转录因子家族, 在调控植物非生物胁迫过程中扮演重要作用^[27]。拟南芥 MYB15 蛋白能够与下游耐冷基因 *CBF* 启动子中的 MYB 元件结合, 抑制 *CBF*

基因的表达, 从而降低耐冷性^[23]。在栽培稻驯化过程中, 籼稻和粳稻的 *HANI* 基因^[10] 因自然变异发生了分化, 来自温带粳稻的一个特定等位基因在 *HANI* 启动子中获得了 MYB 顺式作用元件, 该等位基因在粳稻向北扩展过程中提供了对高纬度低温环境的适应优势。通过分析 *qCTS-9* 基因启动子区的顺式作用元件, 发现有一新的自然变异位于 -1107 bp (G→A) 所处的 MYB 识别位点及 MYBHv1 结合位点中, 导致籼稻单倍型 Hap4 缺失该顺式作用元件而粳稻单倍型 Hap1 拥有完整的顺式作用元件, 这可能与籼粳之间的耐冷性差异相关。

3.2 *qCTS-9* 基因编码区单倍型分析

在栽培稻驯化过程中, 低温适应能力逐渐分化, 以适应不断变化的生态环境^[28]。根据 *qCTS-9* 基因编码区的变异, 将 116 份栽培稻测序材料分组为 8 个单倍型, 共 14 个 SNPs 变异位点, 其中包含 4 个非同义 SNPs (变异样本数 ≥ 3), 综合这 4 个功能 SNPs 获得 3 种功能单倍型。功能单倍型 FHap1 耐冷表现最佳, 该单倍型可用于辅助筛选及培育耐冷优良水稻品种; FHap1 中的龙粳 14、宁粳 23 黄叶率都 < 5% 且低温处理前后 SPAD 值皆 > 30, 是耐冷表现优良

的水稻品种。此外,根据位于第1535 bp处的SNP将所有单倍型分为*qCTS-9^{jp}*组和*qCTS-9^{ind}*组,*qCTS-9^{jp}*组表现更耐冷。水稻驯化过程与有利等位基因或突变的固定和扩展有关,这些等位基因或突变增强了水稻在年气温较低地区的耐冷性^[23]。如*COLD1*^[8]的关键SNP源于中国普通野生稻,在粳稻驯化过程中受到强烈的人工选择,这是其适应寒冷环境的基础。*bZIP73*^[11]在粳稻和籼稻两个亚种之间只有一个功能SNP(+511 G→A),水稻驯化早期,*bZIP73^{jp}*(+511 G)在野生稻*O. rufipogon* III中被选择,后在粳稻中进一步被选择,这可能促进了粳稻适应寒冷气候。*COLD11*基因^[12]第一外显子GCG重复数影响低温胁迫下编码蛋白修复DNA损伤的生化活性,大多数籼稻品种携带3个GCG重复序列,温带粳稻品种含有2个(TCG+3个GCG)的重复序列,GCG重复序列的数量增多在水稻北扩过程中被选择并固定下来,使粳稻品种更耐低温。本研究结果发现,*qCTS-9^{jp}*(1535 bp A)起源于野生稻,后在粳稻育种过程中被选择,且该变异位点最有可能源于中国的野生稻品种,在籼稻和热带地区来源的野生稻中都没有发现该等位变异,但该SNP是否为*qCTS-9*基因的关键变异位点还有待于下一步的实验验证。

参考文献

- [1] Zeng D L, Tian Z X, Rao Y C, Dong G J, Yang Y L, Huang L C, Leng Y J, Xu J, Sun C, Zhang G H, Hu J, Zhu L, Gao Z Y, Hu X M, Guo L B, Xiong G S, Wang Y H, Li J, Qian Q. Rational design of high-yield and superior-quality rice. *Nature Plants*, 2017, 3:17031
- [2] Pradhan S K, Pandit E, Nayak D K, Behera L, Mohapatra T. Genes, pathways and transcription factors involved in seedling stage chilling stress tolerance in indica rice through RNA-Seq analysis. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1):352
- [3] Li J H, Zhang Z Y, Chong K, Xu Y Y. Chilling tolerance in rice: Past and present. *Journal of Plant Physiology*, 2022, 268:153576
- [4] Lv Y, Guo Z L, Li X K, Ye H Y, Li X H, Xiong L Z. New insights into the genetic basis of natural chilling and cold shock tolerance in rice by genome-wide association analysis. *Plant Cell and Environment*, 2016, 39(3):556-570
- [5] 刘次桃,王威,毛毕刚,储成才.水稻耐低温逆境研究:分子生理机制及育种展望. *遗传*, 2018, 40(3):171-185
Liu C T, Wang W, Mao B G, Chu C C. Cold stress tolerance in rice: Physiological changes, molecular mechanism, and future prospects. *Hereditas*, 2018, 40(3):171-185
- [6] Andaya V C, Mackill D J. Mapping of QTLs associated with cold tolerance during the vegetative stage in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54(392):2579-2585
- [7] Zhang J, Li X M, Lin H X, Chong K. Crop improvement through temperature resilience. *Annual Review Plant Biology*, 2019, 70:753-780
- [8] Ma Y, Dai X Y, Xu Y Y, Luo W, Zheng X M, Zeng D L, Pan Y J, Lin X L, Liu H H, Zhang D J, Xiao J, Guo X Y, Xu S J, Niu Y D, Jin J B, Zhang H, Xu X, Li L G, Wang W, Qian Q, Ge S, Chong K. *COLD1* confers chilling tolerance in rice. *Cell*, 2015, 160(6):1209-1221
- [9] Kim S I, Andaya V C, Tai T H. Cold sensitivity in rice (*Oryza sativa* L.) is strongly correlated with a naturally occurring I99V mutation in the multifunctional glutathione transferase isoenzyme GSTZ2. *Biochemical Journal*, 2011, 435(2):373-380
- [10] Mao D, Xin Y, Tan Y, Hu X, Bai J, Liu Z Y, Yu Y, Li L, Peng C, Fan T, Zhu Y, Guo Y L, Wang S, Lu D, Xing Y, Yuan L, Chen C. Natural variation in the *HANI* gene confers chilling tolerance in rice and allowed adaptation to a temperate climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(9):3494-3501
- [11] Liu C T, Ou S J, Mao B G, Tang J Y, Wang W, Wang H R, Cao S Y, Schläppi M R, Zhao B R, Xiao G Y, Wang X P, Chu C C. Early selection of *bZIP73* facilitated adaptation of japonica rice to cold climates. *Nature Communications*, 2018, 9(1):3302
- [12] Li Z T, Wang B, Luo W, Xu Y Y, Wang J J, Xue Z H, Niu Y D, Cheng Z K, Ge S, Zhang W, Zhang J Y, Li Q Z, Chong K. *Science Advances*, 2023, 9(1):eabq5506
- [13] Lago C, Clerici E, Mizzi L, Colombo L, Kater M M. TBP-associated factors in Arabidopsis. *Gene*, 2004, 342(2):231-241
- [14] Zhang L, Wang R C, Xing Y D, Xu Y F, Xiong D P, Wang Y M, Yao S G. Separable regulation of *POW1* in grain size and leaf angle development in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(12):2517-2531
- [15] Zhao J L, Zhang S H, Dong J F, Yang T F, Mao X X, Liu Q, Wang X F, Liu B. A novel functional gene associated with cold tolerance at the seedling stage in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(9):1141-1148
- [16] Zhang S H, Zheng, J S, Liu B, Peng S B, Leung H, Zhao J L, Wang X F, Yang T F, Huang Z H. Identification of QTLs for cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.) using two distinct methods of cold treatment. *Euphytica*, 2014, 195:95-104
- [17] 宋佳,职铭阳,陈强,李玥莹,吴隆坤,农保选,李丹婷,逢洪波,郑晓明.水稻耐寒基因*CTB4a*的核苷酸多样性及区域适应性. *生物多样性*, 2022, 30(2):64-72
Song J, Zhi M Y, Chen Q, Li Y Y, Wu L K, Nong B X, Li D T, Pang H B, Zheng X M. Nucleotide diversity and adaptation of *CTB4a* gene related to cold tolerance in rice. *Biodiversity Science*, 2022, 30(2):64-72

- [18] Zheng X M, Zhong L M, Pang H B, Wen S Y, Li F, Lou D J, Ge J Y, Fan W Y, Wang T Y, Han Z Y, Qiao W H, Pan X W, Zhu Y B, Wang J L, Tang C F, Wang X H, Zhang J, Xu Z J, Kim S R, Kohli A, Ye G, Olsen K M, Fang W, Yang Q W. Lost genome segments associate with trait diversity during rice domestication. *BMC Biology*, 2023, 21(1):20
- [19] Zhang R L, Jia G Q, Diao X M. geneHapR: An R package for gene haplotypic statistics and visualization. *BMC Bioinformatics*, 2023, 24(1):199
- [20] Li X K, Shi Z Y, Gao J H, Wang X C, Guo K. CandiHap: A haplotype analysis toolkit for natural variation study. *Molecular Breeding*, 2023, 43(3):21
- [21] Kim H J, Kim Y K, Park J Y, Kim J. Light signalling mediated by phytochrome plays an important role in cold-induced gene expression through the C-repeat/dehydration responsive element (C/DRE) in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 2002, 29(6):693-704
- [22] Narusaka Y, Nakashima K, Shinwari Z K, Sakuma Y, Furihata T, Abe H, Narusaka M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. Interaction between two *cis*-acting elements, ABRE and DRE, in ABA-dependent expression of *Arabidopsis rd29A* gene in response to dehydration and high-salinity stresses. *The Plant Journal*, 2003, 34(2):137-148
- [23] Agarwal M, Hao Y, Kapoor A, Dong C H, Fujii H, Zheng X, Zhu J K. A R2R3 type MYB transcription factor is involved in the cold regulation of CBF genes and in acquired freezing tolerance. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(49):37636-37645
- [24] Shi H T, Ye T T, Zhong B, Liu X, Jin R, Chan Z L. AtHAP5A modulates freezing stress resistance in *Arabidopsis* through binding to CCAAT motif of *AtXTH21*. *New Phytologist*, 2014, 203(2):554-567
- [25] Dolferus R, Jacobs M, Peacock W J, Dennis E S. Differential interactions of promoter elements in stress responses of the *Arabidopsis Adh* gene. *Plant Physiology*, 1994, 105(4):1075-1087
- [26] Maung T Z, Chu S H, Park Y J. Functional haplotypes and evolutionary insight into the Granule-Bound Starch Synthase II (*GBSSI*) gene in Korean rice accessions (KRICE_CORE). *Foods*, 2021, 10(10):2359
- [27] 金锋, 丁莲鑫, 骆骏, 聂圣松, 方中明. 水稻 MYB 转录因子的研究进展. *植物遗传资源报*, 2023, 24(4):917-926
- Jin F, Ding L X, Luo J, Nie S S, Fang Z M. Research progress of MYB transcription factors in rice. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, 24(4):917-926
- [28] Guo H F, Zeng Y W, Li J L, Ma X Q, Zhang Z Y, Lou Q J, Li J, Gu Y S, Zhang H L, Li J J, Li Z C. Differentiation, evolution and utilization of natural alleles for cold adaptability at the reproductive stage in rice. *Plant Biotechnol Journal*, 2020, 18(12):2491-2503

附表 1 本试验所用的栽培稻品种和单倍型信息

Attached table 1 Detailed information of rice accessions used in this experiment

水稻 VCF_id Rice VCF_id	水稻品种 Rice cultivars	亚群 Sub- population	地理位置 Geographic location	平均黄叶率 Average yellow leaf rate (%)	处理前平均 SPAD 值 Average SPAD value before treatment	处理后平均 SPAD 值 Average SPAD value after treatment	单倍型 Haplotype	功能单倍型 Functional haplotype	单倍型分组 Haplotype group
S8656	IRIS 313-8656	<i>Aro</i>	巴基斯坦	3.75	33.12	29.60	Hap6	FHap2	GroupA
268_I11616	IRIS 313-11616	<i>Aus</i>	印度	100.00	18.30	6.27	Hap3	FHap3	GroupB
S11451	IRIS 313-11451	<i>Aus</i>	印度	60.00	21.37	12.63	Hap6	FHap2	GroupA
S8924	IRIS 313-8924	<i>Indica</i>	印度	97.50	29.73	24.93	Hap3	FHap3	GroupB
S9258	IRIS 313-9258	<i>Indica</i>	印度	94.50	25.57	18.97	Hap4	FHap3	GroupB
307_I11494	IRIS 313-11494	<i>Japonica</i>	印度	99.00	28.83	8.93	Hap2	FHap2	GroupA
S11156	IRIS 313-11156	<i>Japonica</i>	印度	15.17	26.30	5.10	Hap1	FHap1	GroupA
370_N11563	IRIS 313-11563	<i>Aro</i>	尼泊尔	79.50	23.77	18.07	Hap3	FHap3	GroupB
S11567	IRIS 313-11567	<i>Indica</i>	尼泊尔	88.50	24.27	19.03	Hap6	FHap2	GroupA
S11624	IRIS 313-11624	<i>Indica</i>	尼泊尔	67.50	25.20	14.00	Hap2	FHap2	GroupA
S10606	IRIS 313-10606	<i>Aus</i>	孟加拉国	21.15	25.30	12.47	Hap5	FHap3	GroupB
305_B8717	IRIS 313-8717	<i>Indica</i>	孟加拉国	58.33	29.20	21.50	Hap7	FHap2	—
315_B9067	IRIS 313-9067	<i>Indica</i>	孟加拉国	27.50	26.50	20.03	Hap2	FHap2	GroupA
326_B8509	IRIS 313-8509	<i>Indica</i>	孟加拉国	100.00	25.33	27.00	Hap3	FHap3	GroupB
S11404	IRIS 313-11404	<i>Indica</i>	孟加拉国	80.50	15.77	14.97	Hap3	FHap3	GroupB
374_V9637	IRIS 313-9637	<i>Indica</i>	越南	100.00	21.47	13.80	Hap4	FHap3	GroupB
300_M9375	IRIS 313-9375	<i>Japonica</i>	马来西亚	15.00	25.77	17.57	Hap7	FHap2	—
S11195	IRIS 313-11195	<i>Japonica</i>	缅甸	66.50	24.83	27.30	Hap2	FHap2	GroupA

S11970	IRIS 313-11970	<i>Japonica</i>	印度尼西亚	7.50	26.00	7.83	Hap2	FHap2	GroupA
S138	华粳占	<i>Indica</i>	中国	100.00	17.00	27.17	Hap8	FHap3	-
S166	镇粳 241	<i>Indica</i>	中国	11.00	32.17	21.57	Hap4	FHap3	GroupB
S187	科砂 1 号	<i>Indica</i>	中国	100.00	35.77	10.73	Hap3	FHap3	GroupB
S90	胜泰 1 号	<i>Indica</i>	中国	100.00	29.33	22.13	Hap4	FHap3	GroupB
S121	南粳 11	<i>Japonica</i>	中国	10.80	25.43	18.10	Hap1	FHap1	GroupA
S149	淮稻 6 号	<i>Japonica</i>	中国	15.00	26.40	24.17	Hap1	FHap1	GroupA
S157	盐稻 8 号	<i>Japonica</i>	中国	3.85	31.17	35.10	Hap1	FHap1	GroupA
S169	南粳 37	<i>Japonica</i>	中国	80.63	33.33	34.93	Hap1	FHap1	GroupA
S174	盐粳 6 号	<i>Japonica</i>	中国	0.00	30.03	23.80	Hap1	FHap1	GroupA
S192	元丰 6 号	<i>Japonica</i>	中国	0.00	27.40	15.27	Hap1	FHap1	GroupA
S440	东农 4 号	<i>Japonica</i>	中国	3.13	31.10	21.53	Hap1	FHap1	GroupA
S459	南粳 23	<i>Japonica</i>	中国	2.50	31.07	25.23	Hap1	FHap1	GroupA
S461	农红 73	<i>Japonica</i>	中国	2.50	31.93	23.57	Hap1	FHap1	GroupA
S464	双丰 4 号	<i>Japonica</i>	中国	12.50	24.90	17.03	Hap1	FHap1	GroupA
S473	武育粳 3 号	<i>Japonica</i>	中国	5.56	29.80	20.47	Hap1	FHap1	GroupA
S479	ZD-05540	<i>Japonica</i>	中国	77.50	26.20	19.33	Hap1	FHap1	GroupA
S481	77780	<i>Japonica</i>	中国	11.11	30.55	26.06	Hap1	FHap1	GroupA
S482	扬粳 9538	<i>Japonica</i>	中国	9.72	21.60	10.37	Hap1	FHap1	GroupA
S490	镇稻 2 号	<i>Japonica</i>	中国	12.13	34.73	27.90	Hap1	FHap1	GroupA
S491	镇稻 6 号	<i>Japonica</i>	中国	4.17	29.40	21.97	Hap1	FHap1	GroupA
S6_33_9	1790	<i>Japonica</i>	中国	2.50	34.33	29.70	Hap1	FHap1	GroupA
S70_28_11	太湖糯	<i>Japonica</i>	中国	80.50	29.03	12.13	Hap1	FHap1	GroupA
S98	楚粳 5 号	<i>Japonica</i>	中国	12.50	26.90	25.73	Hap1	FHap1	GroupA
B133	B133	<i>Indica</i>	中国	15.50	26.63	19.77	Hap5	FHap3	GroupB
S10458	IRIS 313-10458	<i>Indica</i>	中国	92.50	30.30	18.93	Hap2	FHap2	GroupA

S107	南京 1 号	<i>Indica</i>	中国	9.55	20.33	2.63	Hap2	FHap2	GroupA
S191	豫粳 9 号	<i>Indica</i>	中国	100.00	36.53	14.07	Hap4	FHap3	GroupB
S87_87	青珍 8	<i>Indica</i>	中国	100.00	23.23	12.13	Hap5	FHap3	GroupB
S10558	IRIS 313-10558	<i>Japonica</i>	中国	10.00	29.80	25.37	Hap1	FHap1	GroupA
S10583	IRIS 313-10583	<i>Japonica</i>	中国	11.50	28.27	17.93	Hap1	FHap1	GroupA
S109	合江 3 号	<i>Japonica</i>	中国	20.83	24.03	3.10	Hap1	FHap1	GroupA
S114	中花 8 号	<i>Japonica</i>	中国	28.00	33.53	22.03	Hap1	FHap1	GroupA
S115	京稻 2 号	<i>Japonica</i>	中国	20.71	27.50	19.93	Hap1	FHap1	GroupA
S11580	IRIS 313-11580	<i>Japonica</i>	中国	67.00	38.07	24.53	Hap3	FHap3	GroupB
S11582	IRIS 313-11582	<i>Japonica</i>	中国	99.00	23.90	10.77	Hap1	FHap1	GroupA
S11651	IRIS 313-11651	<i>Japonica</i>	中国	17.14	30.50	27.63	Hap1	FHap1	GroupA
S11652	IRIS 313-11652	<i>Japonica</i>	中国	18.50	36.27	18.50	Hap1	FHap1	GroupA
S11653	IRIS 313-11653	<i>Japonica</i>	中国	6.25	29.33	20.77	Hap1	FHap1	GroupA
S117	晋稻 4 号	<i>Japonica</i>	中国	21.18	29.73	2.43	Hap1	FHap1	GroupA
S119	东农 416	<i>Japonica</i>	中国	33.33	27.37	32.33	Hap1	FHap1	GroupA
S12060	IRIS 313-12060	<i>Japonica</i>	中国	8.00	28.63	24.03	Hap2	FHap2	GroupA
S12061	IRIS 313-12061	<i>Japonica</i>	中国	6.00	33.73	25.80	Hap1	FHap1	GroupA
S125	临稻 3 号	<i>Japonica</i>	中国	14.00	27.90	18.00	Hap1	FHap1	GroupA
S126	延粳 15	<i>Japonica</i>	中国	25.56	34.30	30.00	Hap1	FHap1	GroupA
S127	牡丹江 17	<i>Japonica</i>	中国	50.00	26.60	7.13	Hap1	FHap1	GroupA
S128	ZD-02374	<i>Japonica</i>	中国	2.50	34.77	27.20	Hap1	FHap1	GroupA
S131	合江 4 号	<i>Japonica</i>	中国	51.79	31.30	23.97	Hap1	FHap1	GroupA
S139	京稻 21	<i>Japonica</i>	中国	81.67	27.57	25.47	Hap1	FHap1	GroupA
S140	京花 103	<i>Japonica</i>	中国	15.48	15.10	26.10	Hap1	FHap1	GroupA
S144	辽盐 16	<i>Japonica</i>	中国	18.33	38.10	23.53	Hap1	FHap1	GroupA
S151	松粳 6 号	<i>Japonica</i>	中国	22.50	35.27	32.73	Hap1	FHap1	GroupA

S161	松粳 10 号	<i>Japonica</i>	中国	20.83	31.63	30.90	Hap1	FHap1	GroupA
S175	津原 85	<i>Japonica</i>	中国	8.85	33.27	27.60	Hap1	FHap1	GroupA
S178	辽粳 421	<i>Japonica</i>	中国	16.25	26.27	17.00	Hap1	FHap1	GroupA
S179	沈农 129	<i>Japonica</i>	中国	5.00	28.93	17.17	Hap1	FHap1	GroupA
S182	宁粳 23	<i>Japonica</i>	中国	4.17	35.13	31.57	Hap1	FHap1	GroupA
S183	富禾 99	<i>Japonica</i>	中国	0.00	31.60	11.83	Hap1	FHap1	GroupA
S184	旱丰 8 号	<i>Japonica</i>	中国	3.33	31.03	24.53	Hap1	FHap1	GroupA
S185	晋稻 8 号	<i>Japonica</i>	中国	7.63	23.07	22.30	Hap1	FHap1	GroupA
S186	开粳 2 号	<i>Japonica</i>	中国	34.31	29.00	19.60	Hap1	FHap1	GroupA
S190	盐粳 48	<i>Japonica</i>	中国	81.25	33.60	14.47	Hap1	FHap1	GroupA
S194	临稻 10 号	<i>Japonica</i>	中国	2.94	30.87	23.07	Hap1	FHap1	GroupA
S41_1_7	吉粳 53	<i>Japonica</i>	中国	5.56	34.18	29.06	Hap1	FHap1	GroupA
S453	辽粳 5 号	<i>Japonica</i>	中国	9.55	27.30	16.13	Hap1	FHap1	GroupA
S455	龙粳 14	<i>Japonica</i>	中国	1.33	37.87	34.03	Hap1	FHap1	GroupA
S456	龙粳 2 号	<i>Japonica</i>	中国	13.33	33.17	33.13	Hap1	FHap1	GroupA
S457	龙粳 3 号	<i>Japonica</i>	中国	5.28	28.50	29.97	Hap1	FHap1	GroupA
S460	宁粳 1 号	<i>Japonica</i>	中国	14.58	32.63	25.63	Hap1	FHap1	GroupA
S462	ZD-05727	<i>Japonica</i>	中国	19.64	37.60	28.13	Hap1	FHap1	GroupA
S471	五优稻 1 号	<i>Japonica</i>	中国	10.00	30.57	29.93	Hap1	FHap1	GroupA
S85_25_1	宁粳 4 号	<i>Japonica</i>	中国	9.17	25.93	19.50	Hap1	FHap1	GroupA
S97	松辽 5 号	<i>Japonica</i>	中国	20.00	27.73	23.77	Hap1	FHap1	GroupA
188_P10361	IRIS 313-10361	<i>Indica</i>	菲律宾	60.00	21.13	25.07	Hap3	FHap3	GroupB
219_P10234	IRIS 313-10234	<i>Indica</i>	菲律宾	87.50	30.87	2.30	Hap3	FHap3	GroupB
237_P10394	IRIS 313-10394	<i>Indica</i>	菲律宾	100.00	28.13	18.20	Hap4	FHap3	GroupB
261_P9616	IRIS 313-9616	<i>Japonica</i>	菲律宾	92.86	9.67	7.13	Hap2	FHap2	GroupA
298_P9897	IRIS 313-9897	<i>Japonica</i>	菲律宾	32.50	25.83	14.97	Hap2	FHap2	GroupA

S10373	IRIS 313-10373	<i>Japonica</i>	菲律宾	0.00	38.30	23.07	Hap1	FHap1	GroupA
S7902	IRIS 313-7902	<i>Japonica</i>	菲律宾	67.50	29.70	26.60	Hap1	FHap1	GroupA
S9701	IRIS 313-9701	<i>Japonica</i>	中国-台湾	5.00	24.27	17.60	Hap1	FHap1	GroupA
S10662	IRIS 313-10662	<i>Indica</i>	斯里兰卡	90.00	21.67	14.27	Hap2	FHap2	GroupA
252_K10067	IRIS 313-10067	<i>Japonica</i>	韩国	72.50	29.97	24.53	Hap2	FHap2	GroupA
253_K10096	IRIS 313-10096	<i>Japonica</i>	韩国	27.50	27.87	21.53	Hap2	FHap2	GroupA
S10059	IRIS 313-10059	<i>Japonica</i>	韩国	8.50	33.30	28.40	Hap1	FHap1	GroupA
S12217	IRIS 313-12217	<i>Japonica</i>	韩国	60.00	25.43	17.43	Hap1	FHap1	GroupA
S9890	IRIS 313-9890	<i>Japonica</i>	韩国	55.00	27.40	17.80	Hap1	FHap1	GroupA
S134	藤系 138	<i>Japonica</i>	日本	35.23	33.77	22.73	Hap1	FHap1	GroupA
S78_72	藤系 140	<i>Japonica</i>	日本	14.44	17.60	13.90	Hap1	FHap1	GroupA
231_J10071	IRIS 313-10071	<i>Japonica</i>	日本	38.00	32.40	21.10	Hap2	FHap2	GroupA
234_J10074	IRIS 313-10074	<i>Japonica</i>	日本	78.00	24.27	6.47	Hap2	FHap2	GroupA
249_J10080	IRIS 313-10080	<i>Japonica</i>	日本	80.50	33.80	27.17	Hap2	FHap2	GroupA
259_J9800	IRIS 313-9800	<i>Japonica</i>	日本	65.00	23.53	31.57	Hap2	FHap2	GroupA
291_J10079	IRIS 313-10079	<i>Japonica</i>	日本	36.50	38.27	17.30	Hap2	FHap2	GroupA
S10564	IRIS 313-10564	<i>Japonica</i>	日本	22.00	29.47	14.20	Hap1	FHap1	GroupA
S177	农垦 57	<i>Japonica</i>	日本	10.42	28.30	20.47	Hap1	FHap1	GroupA
S442	WD-10954	<i>Japonica</i>	日本	76.39	33.43	35.43	Hap1	FHap1	GroupA
S76_71	青系 96	<i>Japonica</i>	日本	4.17	18.77	19.20	Hap1	FHap1	GroupA

- 代表因样本量少于 3 而未纳入分析的单倍型

- indicates haplotypes that were excluded from the analysis due to a sample size of less than 3

附表 2 本试验所用的野生稻品种和单倍型信息

Attached table 2 Detailed information of wild rice accessions used in this experiment

水稻 VCF_id Rice VCF_id	水稻品种 Rice cultivars	亚群 Subpopulation	地理位置 Geographic location	单倍型 Haplotype	分组 Group
R.guad31	R.guad31	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna50	R.huna50	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna59	R.huna59	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna53	R.huna53	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna51	R.huna51	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.indi09	R.indi09	<i>rufipogon</i>	印度	Hap6	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.huna56	R.huna56	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.guad32	R.guad32	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.jiax02	R.jiax02	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna55	R.huna55	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.jiax01	R.jiax01	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna58	R.huna58	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna52	R.huna52	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna49	R.huna49	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.huna54	R.huna54	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.indi14	R.indi14	<i>rufipogon</i>	印度	Hap6	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.huna57	R.huna57	<i>rufipogon</i>	中国	Hap1	<i>qCTS-9^{Jap}</i>
R.indo14	R.indo14	<i>rufipogon</i>	印度尼西亚	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.indo15	R.indo15	<i>rufipogon</i>	印度尼西亚	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
N.sril15	N.sril15	<i>rufipogon</i>	斯里兰卡	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.viet30	R.viet30	<i>rufipogon</i>	越南	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.indo12	R.indo12	<i>rufipogon</i>	印度尼西亚	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
N.laos 06	N.laos 06	<i>rufipogon</i>	老挝	-	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.laos17	R.laos 17	<i>rufipogon</i>	老挝	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.indi12	R.indi12	<i>rufipogon</i>	印度	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.indo13	R.indo13	<i>rufipogon</i>	印度尼西亚	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.nepa19	R.nepa19	<i>rufipogon</i>	尼泊尔	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
N.sril14	N.sril14	<i>rufipogon</i>	斯里兰卡	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.indo11	R.indo11	<i>rufipogon</i>	印度尼西亚	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.nepa25	R.nepa25	<i>rufipogon</i>	尼泊尔	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.indi13	R.indi13	<i>rufipogon</i>	印度	Hap3	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
N.sril13	N.sril13	<i>rufipogon</i>	斯里兰卡	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.indi10	R.indi10	<i>rufipogon</i>	印度	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.viet27	R.viet27	<i>rufipogon</i>	越南	Hap3	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.indo10	R.indo10	<i>rufipogon</i>	印度尼西亚	Hap8	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
R.myan02	R.myan02	<i>rufipogon</i>	缅甸	Hap5	<i>qCTS-9^{Ind}</i>
N.myan04	N.myan04	<i>rufipogon</i>	缅甸	-	<i>qCTS-9^{Ind}</i>

-代表不同于 Hap1~Hap6 的单倍型

-- represents haplotypes different from Hap1 to Hap6