

水稻耐淹性状 QTL 分析

王倩¹, 吴娴², 刘玉薇³, 吴朝昕², 李祖军², 龚记熠¹, 朱速松^{2*}

(1. 贵州师范大学生命科学学院, 贵州贵阳 550001; 2. 贵州省农业科学院水稻研究所, 贵州贵阳 550006; 3. 贵州大学农学院, 贵州贵阳 550025)

摘要 利用籼稻品种贵9B和粳稻品种热研2号作为亲本, 构建100个贵9B/热研2号重组自交系(recombinant inbred lines, RILs)家系为作图群体, 进行水稻耐淹QTL检测及其遗传效应分析。以胚芽鞘长度为水稻耐淹强弱的表型数据, 运用完备区间作图定位法, 在第6和第9条染色体上检测到2个水稻耐淹QTL, 依次命名为 $qGS-6-1$ 、 $qGS-9-1$, 2个位点的LOD值分别为2.89、2.51, 贡献率分别为12.03%、10.52%, $qGS-6-1$ 等位基因源于贵9B, $qGS-9-1$ 等位基因源于热研2号。该研究可为克隆控制耐淹的基因以及培育适宜直播的水稻品种提供重要的理论依据。

关键词 水稻(*Oryza sativa* L.); 耐淹; 重组自交系(recombinant inbred lines, RILs); QTL定位

中图分类号 S511 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)21-0108-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.21.025



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

QTL Analysis for Mesocotyl Length Trait in Rice

WANG Qian¹, WU Xian², LIU Yu-wei³ et al (1. College of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001; 2. Guizhou Academy of Agricultural Sciences Rice Research Institute, Guiyang, Guizhou 550006; 3. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract 100 recombinant inbred lines (RILs) families of Gui 9B / Reyan No. 2 were constructed as mapping population using indica rice variety Gui 9B and japonica rice variety Reyan No. 2 as parents. Taking coleoptile length as the phenotypic data of submergence tolerance in rice, two QTLs for submergence tolerance in rice were detected on chromosome 6 and 9 by using complete interval mapping. They were named $qGS-6-1$ and $qGS-9-1$ in turn. The LOD values of the two loci were 2.89 and 2.51, and the contribution rates were 12.03% and 10.52% respectively. The $qGS-6-1$ allele was derived from Gui 9B, and the $qGS-9-1$ allele was derived from Reyan No. 2. This study provides an important theoretical basis for cloning genes controlling submergence tolerance and breeding rice varieties suitable for direct seeding.

Key words Rice (*Oryza sativa* L.); Submergence tolerance; RILs (recombinant inbred lines); QTL mapping

水稻是唯一能在无氧环境下萌发的谷类作物^[1], 在水淹环境下杂草能够得到一定程度的控制。当水稻种子遭受水淹时, 氧气浓度过低, 种子在进行有氧呼吸时直接受抑制, 造成出苗率下降^[2]。已有研究表明, 水稻种子在水淹环境中萌发时, 其胚芽鞘的长度与耐淹成苗率呈极显著正相关关系^[3-5]。因此, 水稻在受到水淹的恶劣环境下萌发时, 挑选出苗能力强的耐淹性水稻品种对水稻的安全生产具有重要意义。

在水稻水淹试验中, 不同品种、环境和处理方法下的胚芽鞘长度存在不同程度的变异^[6], 属于多基因控制的数量性状^[7]。学者们选取不同群体进行耐淹性状QTL研究, 定位到的位点存在一定差别, 如侯名语等^[4]利用Kinmaze/DV85 RIL群体分别在第1、2、5、7号染色体上检测到耐淹性QTLs, 贡献率在10.5%~19.6%。Jiang等^[8]利用籼稻与粳稻杂交 F_2 群体定位到2个相关QTL, 分布在第5、11号染色体上, 贡献率分别为15.51%和10.99%。王洋等^[9]利用粳粳交RIL群体定位到2个相关QTLs, 又利用籼粳交BIL群体定位到6个相关QTLs。Angaji等^[10-11]以IR64为轮回亲本构建2个不同的BIL群体, 用区间作图(IM)和复合区间作图(CIM)2种方法进行比较, 在其中一个BIL群体中的9号染色体上定位到一

个位点 $qAG-9-2$, 该位点贡献率为20.59%。与此同时, 与耐淹性状有关的基因也被成功克隆, 如位于第2染色体上的*OsABA8ox1*基因^[12], 位于第3染色体上的*OsETOL1*基因^[13]和*OsMPK3*基因^[14], 以及第9染色体上的*Sub1A*基因^[15]。笔者以贵9B和热研2号为亲本构建的籼粳交遗传背景RIL, 以胚芽鞘长度为表型数据, 对控制水稻耐淹性状进行QTL定位分析, 筛选和创制耐淹种质, 旨在为主效基因的克隆和育种应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 选取粳稻品种热研2号作母本, 籼稻品种贵9B作父本, 杂交后获得F1, 自交后采用单粒传法在贵阳、海南两地连续重组自交, 稳定后得到100个重组自交系群体家系。

1.2 田间种植 将100个重组自交系群体家系及2个亲本于2020年5月播种于贵州省农业科学院水稻研究所试验田中。每个家系种植4行, 每行10株, 规划密度为宽行35 cm, 窄行25 cm, 株距为20 cm, 所有材料管理方式均为常规田间管理。

1.3 水淹条件下种子萌发 将构建的RILs群体以及对应亲本成熟后的种子分别于9月和10月以行中单株收取。种子晒干后脱粒, 置于鼓风干燥箱中38℃处理2 d, -20℃贮存备用。从每个株系中挑选出20粒饱满、干燥、无病种子, 用6% NaClO浸泡种子15 min, 再用纯净水冲洗3~4次, 使NaClO无残留。使用纯净水水淹种子, 使其浸泡24 h后换1次水, 再继续浸泡24 h。待种子打破休眠后, 将其放入光照培养箱中催芽, 温度设定为37℃, 时间为48 h。挑选出发芽情

基金项目 中央引导地方科技发展专项资金项目(黔科中引地[2019]4001); 国家自然科学基金项目(31760379); 贵州省现代农业产业技术体系建设(GZCYTX2021-0602)。

作者简介 王倩(1995—), 女, 布依族, 贵州贵阳人, 硕士研究生, 研究方向: 水稻分子植物育种。* 通信作者, 研究员, 博士, 从事水稻分子育种研究。

收稿日期 2021-11-25

况相同的种子各 12 粒,分别置于 6 支相同规格的试管中,每支试管底部装入 4 粒种子,加入 20 mL 去离子水,用试管塞密封试管口,放置在 27 °C 适温黑暗条件下的人工气候箱中培养 7 d,并设置 3 次重复。品种比较分析和 QTL 检测的表型值为 3 次重复计算出的胚芽鞘长度平均值。

1.4 数据分析 试验种子出箱后,使用毫米刻度尺测定每一株系每一株幼苗萌发的胚芽鞘长度,利用 Microsoft Excel 2010 进行数据整理和直方图的绘制。

1.5 叶片 DNA 提取和遗传图谱的构建 从田间收取成熟的叶片组织后,使用 CTAB 法提取 DNA。用覆盖水稻全基因组的 SSR 标记共 661 对,在亲本贵 9B 和热研 2 号之间进行多态性筛选,最终筛选出 161 对 SSR 引物以及 3 对 InDel 引物多态性良好且在基因组上分布均匀的分子标记,筛选出的引物用来分析 RIL 群体基因型。图谱构建采用 ICI Mapping 4.2 软件,将软件中的“sdl”作图模块中的“SAM”分析方法作为偏分离检测,其中 LOD 值设置为 2.5,用以分析作图所用标记的偏分离情况,在图谱中只检测到 1 个占总标记数 0.6% 显著偏分离标记,说明该图谱适用于 QTLs 检测。

1.6 QTL 分析 QTL 分析采用 ICI Mapping 4.2 软件中的完备区间作图法(ICIM),扫描步长(walk speed)为 1.0 cM,逐步回归标记进入概率 PIN 为 0.001,LOD 阈值确定为 2.5。RILs 群体中加性效应值为正,说明增效等位基因来源于亲本热研 2 号;加性效应值为负,说明增效等位基因来源于亲本贵 9B。

2 结果与分析

2.1 双亲和 RILs 群体在淹水条件下胚芽鞘表型数据 2 个亲本以及 100 个重组自交系群体家系在淹水条件下黑暗生长 7 d 后进行表型测定,其中亲本贵 9B 在淹水环境下生长 7 d 后胚芽鞘长度为 1.427 cm,亲本热研 2 号胚芽鞘长为 1.999 cm。该 RILs 群体在淹水条件下生长 7 d 后,其胚芽鞘长变幅为

0.793~2.801 cm,峰度 0.163,偏度 0.521。胚芽鞘长度数据接近正态分布(图 1),耐淹性状表现出受多基因控制的数量性状特征。

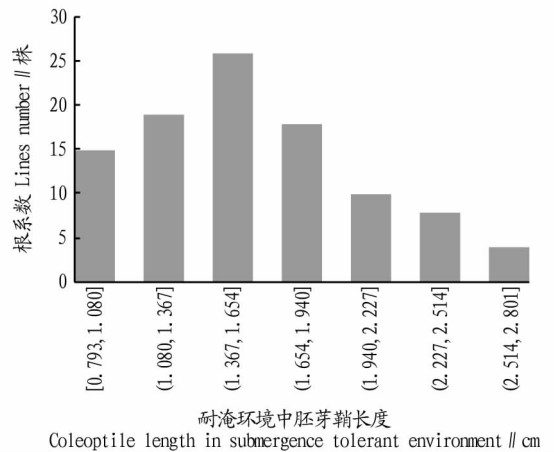


图 1 贵 9B/热研 2 号 RILs 耐淹条件下生长 7 d 后的胚芽鞘长度分布

Fig. 1 Distribution of coleoptile length of Gui 9B/Reyan 2 RILs after 7 days of growth under flood resistant conditions

2.2 RILs 耐淹性状 QTL 分析 利用 ICI Mapping 4.2 软件中的完备区间作图法(ICIM)模块对贵 9B 和热研 2 号的 RILs 群体进行耐淹性状 QTL 分析,在第 6 和第 9 染色体上检测到 2 个控制耐淹性状的 QTL 位点,分别将其命名为 *qGS-6-1* 和 *qGS-9-1*,对应位置和遗传效应见表 1。*qGS-6-1* 位于第 6 染色体标记 RM345 与 RM461 遗传距离 10.14 cM 之间,LOD 值为 2.89,贡献率 12.03%,加性效应为负,等位基因来源于亲本贵 9B;*qGS-9-1* 位于第 9 染色体标记 RM257 与 RM566 遗传距离 13.15 cM 之间,LOD 值为 2.51,贡献率 10.52%,加性效应为正,等位基因来源于亲本热研 2 号(表 1、图 2)。

表 1 水稻耐淹性状 QTL 定位

Table 1 QTL mapping of flood tolerance traits in rice

位点 QTL	染色体 Chr.	标记区间 Marker interval	阈值 LOD	贡献率 PVE//%	加性效应 Add.	等位基因来源 Source of allele
<i>qGS-6-1</i>	6	RM345~RM461	2.89	12.03	-0.16	贵 9B
<i>qGS-9-1</i>	9	RM257~RM566	2.51	10.52	0.16	热研 2 号

注: - 加性效应来源于贵 9B; + 加性效应来源于热研 2 号

Note: - Additive effect comes from Gui 9B; + Additive effect comes from Reyan 2

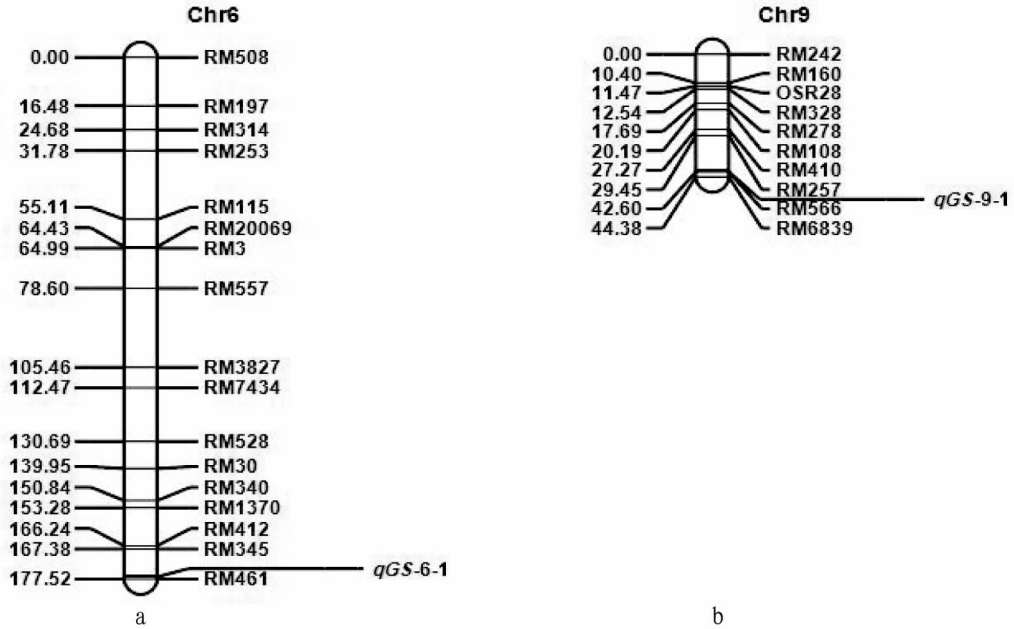
3 讨论

由于种植地区的环境差异,当种子播种在遭受气候及水灾等恶劣环境影响时,急剧减少的氧气浓度导致水稻的出苗率严重下降,使直播稻的生展受到限制^[16]。据相关研究报告,种子的耐淹性状在不同品种之间存在着差异^[17-19],直播稻生产中提高种子出苗率的关键是选择耐淹能力强的品种,Sub1A 基因是一个通过 QTL 定位克隆得到的控制水稻耐淹性状的 QTL 基因,因此,筛选耐淹性强的种质资源,挖掘新的耐淹性状基因,并解释其耐淹机制是克服直播出苗率低的有效途径。

该研究利用贵 9B/热研 2 号构建重组自交系群体,并对水稻耐淹性状进行 QTL 定位分析,共检测到 2 个耐淹性状相关 QTL,分别定位在第 6 和第 9 染色体上,贡献率分别为 12.03% 和 10.52%。*qGS-6-1* 的标记区间在 RM345~RM461,在 GRAMENE 网站(<https://archive.gramene.org/>)进行比对分析发现,与饶玉春等^[20]在第 6 染色体上定位到的耐淹 QTL(RM528~SBE1)有重叠部分,说明该区间可能存在一个稳定控制水稻耐淹性状的位点。由于 *Sub1* 基因是一个已知的耐淹基因,同时也分布在第 9 染色体上^[15],将 *qGS-9-1* (RM257~RM566) 与 *Sub1* (RZ698~C1232) 的物理位置比较

后发现, *Sub1* 与该研究的 *qGS-9-1* 位点不同, 物理距离相差较远, 推测 *qGS-9-1* 所在区间内有一个潜在的耐淹性状相关 QTL 位点。同时, 将 *qGS-9-1* 与孙广志等^[21] 在第 9 条染色体处检测到的耐淹 QTL *qGS9* 比较后发现, *qGS-9-1* 位点与 *qGS9* 位点相近, 说明该位点在不同环境及群体中的表达

较稳定。根据该研究检测到的 2 个耐淹性 QTL, 可为下一步通过分子标记辅助选择方法选育耐淹性状优良品种创造条件, 也为水稻耐淹新品种的培育提供了重要的亲本资源、基因资源以及标记资源, 同时也对优良耐淹品种的选育提供了理论依据。



注: a. RILs 耐淹性状 QTL 定位在第 6 染色体上的分布; b. RILs 耐淹性状 QTL 定位在第 9 染色体上的分布

Note: a. The distribution of RILs flood tolerance QTL on chromosome 6; b. QTL mapping and distribution of RILs flood tolerance traits on chromosome 9

图 2 RIL 群体的耐淹性相关 QTLs 在水稻染色体上的分布

Fig. 2 Distribution of QTLs related to flood tolerance of RIL population on rice chromosome

4 结论

该研究利用贵 9B/热研 2 号构建 RILs, 对该群体的耐淹性状进行 QTL 定位, 最终在第 6 和第 9 染色体上定位到 2 个控制耐淹性状的 QTL, 分别是 *qGS-6-1* 和 *qGS-9-1*, 贡献率分别为 12.03% 和 10.52%。与前人的研究比较发现, 已有研究中的部分位点与该研究中的位点有重叠或相近部分, 说明该研究结果能够稳定表达。综上所述, 该研究中定位的 QTL 位点可为分子辅助育种奠定基础, 筛选出耐淹性状的材料和克隆出耐淹新基因是水稻直播提高育种效率的关键。

参考文献

- [1] PERATA P, ALPI A. Plant responses to anaerobiosis[J]. *Plant Sci*, 1993, 93(1/2): 1-17.
- [2] TURNER F T, CHEN C C, MCCAULEY G N. Morphological development of rice seedlings in water at controlled oxygen levels[J]. *Agron J*, 1981, 73(3): 566-570.
- [3] MAGNESCHI L, KUDAHETTIGE R L, ALPI A, et al. Comparative analysis of anoxic coleoptile elongation in rice varieties; Relationship between coleoptile length and carbohydrate levels, fermentative metabolism and anaerobic gene expression[J]. *Plant Biol*, 2009, 11(4): 561-573.
- [4] 侯名语, 江玲, 王春明, 等. 水稻种子低氧发芽力的 QTL 定位和上位性分析[J]. *中国水稻科学*, 2004, 18(6): 483-488.
- [5] 孙凯, 李冬秀, 杨靖, 等. 水稻耐淹成苗率相关性状全基因组的关联分析[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(3): 385-398.
- [6] 樊叶杨, 庄杰云, 李强, 等. 水稻株高 QTL 分析及其与产量 QTL 的关系[J]. *作物学报*, 2001, 27(6): 915-922.

- [7] 李阳生, 彭凤英, 李达模, 等. 杂交水稻苗期耐淹特性及其与亲本的关系[J]. *杂交水稻*, 2001, 16(2): 50-53.
- [8] JIANG L, LIU S J, HOU M Y, et al. Analysis of QTLs for seed low temperature germinability and anoxia germinability in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Field Crops Res*, 2006, 98(1): 68-75.
- [9] 王洋, 郭媛, 洪德林. 水稻幼苗耐缺氧能力的 QTL 分析[J]. *中国水稻科学*, 2010, 24(1): 18-24.
- [10] ANGAJI S A. Mapping QTLs for submergence tolerance during germination in rice[J]. *Afr J Biotechnol*, 2008, 7(15): 2551-2558.
- [11] ANGAJI S A, SEPTININGSIH E M, MACKILL D J, et al. QTLs associated with tolerance of flooding during germination in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Euphytica*, 2010, 172(2): 159-168.
- [12] SAIKA H, OKAMOTO M, MIYOSHI K, et al. Ethylene promotes submergence-induced expression of *OsABA8ox1*, a gene that encodes ABA 8'-hydroxylase in rice[J]. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48(2): 287-298.
- [13] DU H, WU N, CUI F, et al. A homolog of ETHYLENE OVERPRODUCER, OsETOLI1, differentially modulates drought and submergence tolerance in rice[J]. *Plant J*, 2014, 78(5): 834-849.
- [14] SINGH P, SINHA A K. A positive feedback loop governed by SUB1A1 interaction with MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE3 imparts submergence tolerance in rice[J]. *Plant Cell*, 2016, 28(5): 1127-1143.
- [15] XU K, XU X, FUKAO T, et al. Sub1A is an ethylene response factor-like gene that confers submergence tolerance to rice [J]. *Nature*, 2006, 442(7103): 705-708.
- [16] KASHIWAGI J, HAMADA K, JITSUYAMA Y. Rice (*Oryza sativa* L.) germplasm with better seedling emergence under direct sowing in flooded paddy field [J]. *Plant Genet Resour*, 2018, 16(4): 352-358.
- [17] YAMAUCHI M, AGUILAR A M, VAUGHAN D A, et al. Rice (*Oryza sativa* L.) germplasm suitable for direct sowing under flooded soil surface [J]. *Euphytica*, 1993, 67(3): 177-184.

笔者采用不同的嫁接方法(胚芽劈接法、胚芽切接法、胚根劈接法)选择相同的嫁接时间(2018年夏5月)进行嫁接育苗试验,经过1年的成效观察可知,嫁接方法是油茶优良无性系芽苗砧嫁接苗的成活率、初生长(苗高和地径)的关键影响因素;胚芽劈接法嫁接苗平均成活率最高,达91.88%,分别比胚根劈接法和胚芽切接法提高125.47%和26.94%;胚芽切接法平均成活率达到72.38%,比胚根劈接法(40.75%)提高77.62%;3种方法对油茶嫁接苗的苗高和地径影响程度不同,其中胚芽劈接法和胚芽切接法2种方法嫁接口愈合好,对嫁接苗的地径、苗高生长有促进作用,2种嫁接方法生产的嫁接苗成活率和苗木初生长都表现良好。

胚芽接(包括胚芽劈接法和胚芽切接法)时保留了砧木种子,胚根接(胚根劈接法)未保留砧木种子,胚芽接苗木的长势明显优于胚根接,胚芽接的嫁接苗成活率明显高于胚根接,提高了101.55%,说明砧木种子中含有充足的营养,在嫁接口愈合后,通过木质部、韧皮部向接穗输送水分和营养,促进嫁接苗根系和苗木生长。吴习安等^[9]研究认为,胚根接、胚芽接与嫁接成活率不相关,这与该试验结果不同,推测可能是嫁接技术员熟练程度不同而造成嫁接后成活率结果差异不显著;与后期苗木生长相关,胚根接苗木生长量明显小于胚芽接,这与该试验结果相同。邝先松等^[10]研究认为,胚芽接、胚根接与嫁接成活率及苗木长势均不相关,这与该试验结果不同,推测因嫁接时砧木种子均未保留而无差异^[11]。

试验发现,先嫁接的苗木生长量明显大于后嫁接的,但具体提早的天数有待进一步试验研究^[12]。因此,生产上为了提高苗木出圃质量和出圃率,只要穗条达到半木质化,前期工作准备充分,掌握芽苗砧嫁接技术后,就可以开始嫁接工作,且越早越好。

3.2 不同季节对油茶芽苗砧嫁接的影响 嫁接用穗条的木质化程度直接与嫁接季节相关,接穗的木质化程度与油茶芽

苗砧嫁接成效极显著相关,因此嫁接季节也与油茶芽苗砧嫁接成效极显著相关,利用相同的嫁接方法在不同嫁接时间(2018年3、5、9、12月)进行嫁接育苗试验,试验结果表明,不同季节对芽苗砧嫁接苗木成活率和苗高生长的影响差异极显著,对地径生长的影响差异不显著。因此,嫁接季节主要影响嫁接成活率^[13],与穗条木质化程度的影响一致,但对油茶嫁接苗生长的影响结论不明确,需要进一步研究。

大规模实施宜宾本地良种油茶芽苗砧嫁接育苗时,宜选择时间在5月,嫁接成活率可达91.19%,油茶前3年初生长(地径和苗高)良好,嫁接前要做好充分准备工作,特别是砧木的选择与培育显得尤为重要,该试验研究对其他地区的油茶芽苗砧嫁接有一定的参考作用。

参考文献

- [1] 李绍会. 广南县油茶产业发展现状与对策[C]//第二届云南省科协学术年会暨高原特色农业发展论坛论文集. 昆明: 云南省科学技术协会, 2012:331-335.
 - [2] 黎先进. 四川经济林资源特点及综合区划[J]. 经济林研究, 2001, 19(1): 33-36.
 - [3] 张清. 两种油茶芽苗砧嫁接方法田间育苗试验研究[J]. 绿色科技, 2014(4): 107-109.
 - [4] 张卫建. 不同处理对油茶芽苗砧嫁接成活率和生长量的影响[J]. 安徽林业科技, 2012, 38(3): 26-29.
 - [5] 章早霞. 油茶胚芽嫁接技术[J]. 现代农业科技, 2009(13): 52, 54.
 - [6] 叶淑英. 不同嫁接时间对油茶闽43#优良无性系芽苗砧嫁接育苗成效的影响[J]. 林业勘察设计, 2011(2): 75-78.
 - [7] 续九如, 李颖岳. 林业试验设计[M]. 北京: 中国农业出版社, 2014.
 - [8] 陈仲堂, 赵德平, 李彦平, 等. 数理统计[M]. 北京: 国防工业出版社, 2014.
 - [9] 吴习安, 陈凤翔, 彭新春. 油茶芽苗砧嫁接试验[J]. 湖南林业科技, 2010, 37(5): 50-52.
 - [10] 邝先松, 宋祥兰, 宋和浩, 等. 油茶芽苗根嫁接试验[J]. 江西林业科技, 2003, 31(6): 5-7.
 - [11] 何芳婷, 唐伟祁, 陈顺秀, 等. 优良无性系油茶芽苗砧嫁接比较试验[J]. 现代农业科技, 2016(12): 165, 178.
 - [12] 王瑞, 陈永忠, 陈隆升, 等. 油茶优良无性系芽苗砧嫁接技术体系的研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(7): 77-80.
 - [13] 刘文国, 黄萍, 陈宏, 等. 文山白花油茶老龄低产树大砧高头嫁接技术研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(22): 101-103.
-
- (上接第95页)
- [17] 吴英, 张万幸, 张丽琼, 等. 基于DEM的地形与植被分布关联分析[J]. 东北林业大学学报, 2012, 40(11): 96-98.
 - [18] 王海军, 张勃, 靳晓华, 等. 基于GIS的祁连山区气温和降水的时空变化分析[J]. 中国沙漠, 2009, 29(6): 1196-1202.
 - [19] 王玲, 刘海隆. 重庆岩溶地区气候变化对植被的影响[J]. 气象与环境学报, 2007, 23(1): 6-11.
 - [20] 王红岩, 李强子, 吴利桥, 等. 基于RS和GIS的水土流失敏感性评价及动态监测[J]. 水土保持研究, 2015, 22(2): 64-68.
-
- (上接第110页)
- [18] YAMAUCHI M, BISWAS J K. Rice cultivar difference in seedling establishment in flooded soil[J]. Plant Soil, 1997, 189: 145-153.
 - [19] 刘艳, 宋兆强, 夏祥华, 等. 大田模拟环境下水稻种子耐缺氧能力遗传研究[J]. 西南农业学报, 2016, 29(10): 2279-2283.
 - [20] 饶玉春, 林晗, 肖飒清, 等. 水稻耐淹性的QTL定位与候选基因分析[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2020, 43(3): 312-319.
 - [21] 孙志广, 王宝祥, 周振玲, 等. 水稻萌发耐淹性种质资源筛选及QTL定位[J]. 作物学报, 2021, 47(1): 61-70.