

# 水、旱栽培条件下水稻叶片水势与单株产量的相关分析及其 QTL 定位

曲延英<sup>1,2</sup> 穆平<sup>1</sup> 田玉秀<sup>1,2</sup> 文峰<sup>1,2</sup> 张洪亮<sup>1</sup> 李自超<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup> 农业部基因组学及遗传改良重点实验室/北京市作物遗传改良重点实验室, 中国农业大学, 北京 100094; <sup>2</sup> 新疆农业大学农学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

**摘要:** 为了揭示叶片水势在水稻抗旱中所起的作用及其遗传机制, 以越富和 IRAT109 为亲本构建了 120 个重组自交系, 开展叶片水势与抗旱相关性及其 QTL 定位的研究。重组自交系及亲本群体分旱田和水田种植, 于始穗期测量叶片凌晨水势和中午水势; 田间收获后计算抗旱系数。结果表明, 叶片水势在重组自交系间变异显著。相关性分析表明旱田中午叶片水势与抗旱系数及旱田单株产量呈极显著正相关, 旱田叶片水势变化与抗旱系数及旱田单株产量呈极显著负相关, 说明旱田中午叶片水势高且能保持凌晨基础叶片水势的品种更具抗旱性。共检测到 6 个叶片水势加性 QTL, 为旱田凌晨叶片水势 2 个, 分别解释表型变异的 5.39% 和 7.87%, 旱田中午叶片水势 1 个, 解释表型变异的 10.02%, 旱田叶片水势变化 2 个, 水田叶片水势变化 1 个。未检测到水田叶片水势加性 QTL。共检测到 5 对上位性效应 QTL, 其中旱田中午和凌晨叶片水势各检测到 1 对上位性 QTL, 水田凌晨叶片水势上位性 QTL 1 对, 水田中午叶片水势上位性 QTL 2 对。抗旱系数共检测到 3 个加性 QTL 和 2 对上位性 QTL。叶片水势遗传力较低, 适合分子标记辅助选择。

**关键词:** 抗旱系数; 叶片水势; 单株产量; QTLs; 水稻(*O. sativa* L.)

## QTLs Mapping and Correlations between Leaf Water Potential and Yield per Plant in Rice under Upland and Lowland Environments

QU Yan-Ying<sup>1,2</sup>, MU Ping<sup>1</sup>, TIAN Yu-Xiu<sup>1,2</sup>, WEN Feng<sup>1,2</sup>, ZHANG Hong-Liang<sup>1</sup>, and Li Zi-Chao<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup> Key Laboratory of Crop Genomics and Genetic Improvement of Ministry of Agriculture/ Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, China Agricultural University, Beijing 100094; <sup>2</sup> College of Agronomy of Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China)

**Abstract:** To reveal the role and genetic mechanism of leaf water potential (LWP) under various water status to *Japonica* rice, 120 lines of a recombinant inbred line (RIL) population derived from a cross between IRAT109, an upland *Japonica* rice, and Yuefu, a lowland *Japonica* rice, were employed to measure LWP at pre-dawn and mid-day, calculate index of drought resistance (IDR), and make QTL mapping under upland and lowland. After maturity, the plant yields in upland and lowland were evaluated, and then the IDR was calculated. Significant variations were observed for LWP in RIL, both under upland and lowland. The correlation analysis indicated that there existed higher significance between LWP under upland at mid-day (WPu) and IDR, yield per plant (YPu). Water potential variation in upland (WDu) was significantly negatively correlated with IDR and YPu. For LWP, six additive QTLs were identified, of which there were 2 for WPiu, 1 for WPu, 2 for WDu, and 1 for WDI, respectively. Five pairs of epistatic QTLs were detected, among them three, one for each WPu, WPiu, and WPil, two for WPI, respectively. Three additive QTLs and two pairs of epistatic QTLs were detected for IDR. The broad-heredity of LWP was lower, therefore, it is available for molecular marker-assisted selection (MAS).

**Keywords:** Index of drought resistance; Leaf water potential; Yield per plant; QTLs; Rice (*O. sativa* L.)

水资源缺乏对水稻产量及其稳定性造成了严重影响, 来自IRRI和Brown的调查显示, 因水资源缺乏, 水稻种植面积大幅度下降<sup>[1]</sup>。以在水分缺乏时仍能提高作物产量为目标的抗旱育种, 成为人们关注的焦点。Fukai认为所谓抗旱品种就是指在水分不足时, 比其他品种表现出更高的产量和更好的稳定性<sup>[2]</sup>。研究已证实水稻的一些形态特性和生理机制在水分缺乏时, 与稳定作物的产量有关<sup>[3-6]</sup>。对这些性状进行抗旱性及与产量关系的研究是非常必要的。

叶片水势是水稻避旱性的一个重要生理指标, 可以通过选择较高叶片水势来改进水稻的抗旱性<sup>[7]</sup>。叶

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(30671281); 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2006AA10Z158, 2006AA100101); 国家科技支撑计划项目(2006BAD13B01); 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2004CB117201, 2003CB114301)

**作者简介:** 曲延英(1962-), 女, 山东牟平人, 博士, 教授。E-mail: qyy@xjau.edu.cn

\* 通讯作者(Corresponding author): 李自超。Tel: 86-10-62731414; Fax: 86-10-62731414; E-mail: lizichao@cau.edu.cn

Received (收稿日期): 2007-05-08; Accepted (接受日期): 2007-07-31.

片水势是反映整个植株水势的一个指标<sup>[8]</sup>,高叶片水势的保持被认为与耐脱水机制有关<sup>[9]</sup>。在水分缺乏时,具有较高叶片水势的水稻品种可以得到良好的生长并获得较高的产量<sup>[7,10]</sup>。水稻不同品种的叶片水势存在稳定的差异,并且与水分缺乏时产量密切相关,因此可以通过育种手段改良叶片水势,以期达到培育抗旱品种的目的<sup>[2,11-12]</sup>。但是在田间大群体条件下,对叶片水势难以进行直观选择,利用分子标记辅助选择改良叶片水势,更具优势<sup>[7]</sup>。

有关叶片水势的研究大多集中在生理特性方面,遗传研究报道较少。本试验以敏旱材料越富和抗旱材料IRAT109为亲本,杂交组配产生的重组自交系为材料,分别种植在水田、旱田条件下,于凌晨和中午测量叶片水势,以旱田产量与水田产量之比计算的抗旱系数作为抗旱指标,研究叶片水势的遗传基础及与抗旱性的关系,为了解水稻叶片水势的抗旱机制、培育抗旱水稻品种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

中国农业大学农学与生物技术学院水稻组利用越富与 IRAT109 杂交,通过单粒传的方法获得了 120 个 RILs。亲本 IRAT109 为粳型旱稻,来源于非洲,抗旱力强,产量高但品质较差;越富为粳型水稻,来源于日本,不抗旱,品质好,并在中国北方多年种植。

### 1.2 种植条件及方法

RILs及其亲本 2004 年 5 月 5 日种植于中国农业大学试验田,设旱田直播和水田种植两种处理,每处理设置两个重复,完全随机区组设计,每重复种植 20~25 株,株行距为 5 cm × 30 cm。施用 150 kg hm<sup>-2</sup> N, 150 kg hm<sup>-2</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>和 150 kg hm<sup>-2</sup> K<sub>2</sub>O的基肥。分蘖期、灌浆期分别追施 300 kg hm<sup>-2</sup>的尿素。旱田种植全生育期不建立水层,分别于分蘖初期、分蘖旺盛期、抽穗期和灌浆期,灌溉水 4 次。水田全生育期建立 10 cm 水层。

### 1.3 叶片水势的测量

始穗期时(8 月 18 日),分别于凌晨 5:30—7:00 和中午 12:00—14:30 测量 RIL 及亲本的叶片水势。凌晨温度变化在 18~20 ,中午温度变化在 30~34 。每系同时取两株主茎上新的完全展开叶进行测量,以两株平均值作为该系一个重复的叶片水势值。每隔 30 min 检测一次亲本叶片水势,如果水势值发生变化,即停止对 RIL 的测量,以保证水势测定的一致性。实验采用 ZL-200 型压力室水势测定仪,测量过程以 0.025 MPa s<sup>-1</sup>的速度加压,加压气体为氮气。成熟后分别收获旱田和水田种植的亲本及 RIL 系材料,以每系旱田产量与水田产量之比作为该系的抗旱系数。

在测叶片水势期间,以露点式土壤水势测定仪 HR-33T 测定土壤表层以下 5 cm 和 20 cm 的土壤水势变化。将水势探头分别埋于地表以下 5 cm 及 20 cm 处,平衡 30 min 后开始测量。利用公式:

$$\text{土壤水势} = \text{实际测定读数} / (0.325 + 0.027T)$$

计算土壤水势,  $T$  值指测量时的温度。

### 1.4 遗传连锁图谱构建

以 120 个重组自交系和亲本材料的幼嫩叶片为材料,采用 CTAB 法提取总 DNA<sup>[13]</sup>,利用来源于 Temnykh 的 520 对 SSR 引物检测亲本之间的多态性<sup>[14-15]</sup>,PCR 参照 McCouch 的方法进行<sup>[16]</sup>,利用 MAPMAKER/EXP 3.0 软件<sup>[17-18]</sup>作图,  $LOD$  3.0,重组率 0.4,图谱功能为 Kosambi 构建连锁遗传图。

## 2 结果与分析

### 2.1 数据分析

采用 SPSS 程序 (11.0 版本) 分析叶片水势与抗旱系数及水、旱田单株产量的相关关系,同时进行方差分析,利用  $H^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_e^2/r)$  计算叶片水势及抗旱系数的广义遗传力,其中  $H^2$  为广义遗传力,  $\sigma_g^2$  代表遗传方差,  $\sigma_e^2$  代表剩余方差,  $r$  为重复数。以混合线性模型复合区间定位法,采用 QTLMapper 1.0 软件进行 QTL 定位分析<sup>[19]</sup>,取  $LOD$  3.0,  $P < 0.005$  作为极限,筛选假定的 QTL 位点,估计加性以及上位性效应并通过 Bayesian 检测 ( $P < 0.001$ )。

### 2.2 叶片水势及抗旱系数的表型值变化

对重组自交系各性状数据分析显示,叶片水势在群体变化中符合正态分布(图1),并表现出了超亲变异的现象(表1)。经方差分析显示,叶片水势性状在两亲本及重组自交系各系间差异显著,系内重复间差异不显著(数据未列出)。抗旱系数在两亲本间有显著差异,IRAT109的抗旱系数(1.275)大于越富的(0.214)抗旱系数。同时在不同种植条件下,单株产量在两亲本间也有较大变化。IRAT109和越富在水田条件下产量差异不明显,但在旱种条件下,单株产量差异极显著。这反映出水、旱种植条件迥然不同,所采用的旱种条件对水稻(*japonica*)——越富的单株产量造成了极大的影响,单株产量降低约80%,IRAT109在两种栽培条件下都具有较高的单株产量,尤其在旱种条件下单株产量更高,这充分说明我们所采用的旱种条件已达到了对水稻生长的旱胁迫程度,IRAT109具有优良的抗旱性。

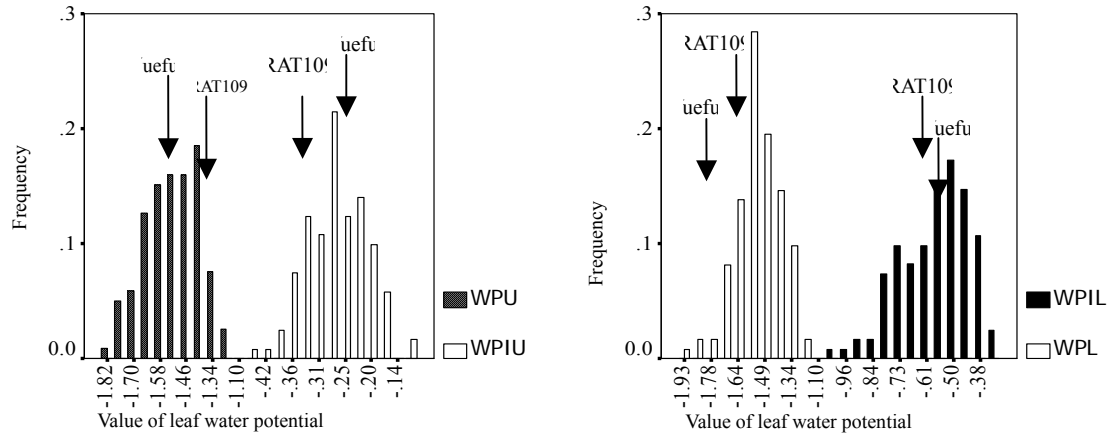


图1 RILs 群体叶水势的频率分布

Fig. 1 LWP of RI line's frequency distribution

表1 重组自交系和亲本叶水势表型值

Table 1 Leaf water potential value of parents and RILs

性状 Trait	亲本 Parent		重组自交系 RILs				
	越富 Yuefu	IRAT109	平均数 Mean	变化范围 Range	标准差 SD	偏斜度 Skewness	峰度 Kurtosis
WPu	-1.491	-1.364	-1.547	-1.275~ -1.820	1.753	-0.139	-0.223
WPIu	-0.248	-0.338	-0.286	-0.113~ -0.447	0.949	-0.499	0.150
WPI	-1.596	-1.473	-1.575	-1.267~ -1.931	0.178	-0.119	-0.246
WPil	-0.384	-0.408	-0.603	-0.322~ -1.012	2.211	-0.675	0.456
YPu	4.300	29.558	13.421	1.589~34.696	7.162	0.664	0.248
YPI	20.075	23.174	18.818	6.381~36.945	5.933	0.460	1.549
IDR	0.214	1.275	0.728	0.016~4.988	0.433	0.844	0.619
WDu	1.243	0.991	1.262	0.768~1.756	0.193	-0.017	-0.424
WDI	1.212	1.065	0.972	0.223~1.610	0.260	-0.280	0.388

WPu: 旱田中午叶水势; WPIu: 旱田凌晨叶水势; WPI: 水田中午叶水势; WPil: 水田凌晨叶水势; YPu: 旱田单株产量; YPI: 水田单株产量; IDR: 抗旱系数; WDu: 旱田水势变化; WDI: 水田水势变化。

WPu: leaf water potential at mid-day in upland; WPIu: leaf water potential at pre-dawn in upland; WPI: leaf water potential at mid-day in lowland; WPil: leaf water potential at pre-dawn in lowland; YPu: yield of per plant in upland; YPI: yield of per plant in lowland; IDR: drought resistance index; WDu: leaf water potential variation in upland; WDI: leaf water potential variation in lowland.

两亲本及重组自交系在水、旱田种植条件下均表现出凌晨叶片水势高于中午叶片水势的变化规律,越富中午叶水势(-1.491, -1.596)明显低于IRAT109(-1.364, -1.473),在凌晨(-0.248, -0.338)却高于IRAT109(-0.338, -0.408),说明抗旱材料在旱田中午能保持较高叶片水势,这与Turner结果一致<sup>[20]</sup>。旱田种植条件下,中午重组自交系叶片平均水势低于双亲的,为-1.547;凌晨叶片平均水势介于双亲之间(-0.286)。水田种植条件下,中午重组自交系叶片平均水势介于双亲之间(-1.575),凌晨叶片平均水势低于双亲(-0.603)。旱田叶片水势的变异范围小于水田的。遗传力分析结果表明叶片水势遗传力较低,水田条件下,检测为23.36%;旱田条件下,检测为14.36%。经遗传分析抗旱系数的遗传力为70%。

### 2.3 叶片水势与抗旱系数及单株产量的相关分析

对水、旱种条件下，凌晨和中午叶片水势、叶片水势变化与抗旱系数及单株产量做相关分析（表 2），结果表明旱田中午叶片水势与旱田单株产量及抗旱系数有显著的正相关；与旱田叶片水势变化呈极显著负相关性（ $r = -0.914$ ， $P = 0.01$ ），旱田凌晨叶片水势与单株产量及抗旱系数无相关；旱田叶片水势变化与抗旱系数、旱田单株产量呈极显著负相关。水田叶片水势与抗旱系数、单株产量均无相关。表明抗旱品种中午能够保持凌晨恢复的叶片水势，在土壤胁迫及蒸腾胁迫条件下叶片水势依然较高。在水分充足的条件下，叶片水势与抗旱系数无关，这与Liu的分析结果一致<sup>[21]</sup>。抗旱系数与旱田单株产量极显著相关，相关系数为 $r = 0.781$ ，而水田单株产量与抗旱系数呈显著负相关，相关系数为 $r = -0.451$ ，表明抗旱系数能良好的反映水稻抗旱性。

表 2 叶水势与单株产量及抗旱系数的相关关系  
Table 2 Correlations of LWP with IDR and yield per plant

性状 Trait	旱田中午 叶片水势 WPu	旱田凌晨 叶片水势 WPiu	水田中午 叶片水势 WPI	水田凌晨 叶片水势 WPil	抗旱系数 IDR	旱田叶片 水势变化 WDu	水田叶片 水势变化 WDI	旱田单株 产量 YPu
旱田凌晨叶片水势 WPiu	-0.004							
水田中午叶片水势 WPI	0.122	0.049						
水田凌晨叶片水势 WPil	0.07	0.045	0.106					
抗旱系数 IDR	0.259**	-0.099	-0.085	0.027				
旱田叶片水势变化 WDu	-0.914**	0.408**	-0.089	-0.043	-0.280**			
水田叶片水势变化 WDI	-0.027	0.003	-0.599**	0.733**	0.080	0.026		
旱田单株产量 YPu	0.256**	-0.059	-0.140	0.035	0.781**	-0.260**	0.124	
水田单株产量 YPI	-0.083	0.108	-0.084	-0.087	-0.451**	0.129	-0.013	0.049

\*, \*\* : 分别代表在 0.05 和 0.01 水平上显著。缩写同表 1。

\*, \*\* : significant at 0.05 and 0.01 possibility levels, respectively. Abbreviations as in Table 1.

### 2.4 抗旱及敏旱 RIL 的叶片水势比较

以抗旱系数为选择指标，选取抗旱系数最高的 10 个系（抗旱系数 1.482）作为抗旱材料，和抗旱系数最低的 10 个系（抗旱系数 0.350）作为敏旱材料，进行水、旱田叶片水势及中午、凌晨叶片水势变化的方差分析。结果表明（表 3），旱田中午叶片水势及旱田叶片水势变化在抗旱系数高的系和抗旱系数低的系之间差异极显著（ $F = 21.20725$  和  $F = 15.41225$ ）（图 2），旱田、水田凌晨叶片水势及水田叶片水势变化在两系之间差异不显著。高抗旱系数的各系旱田中午平均叶片水势为 -1.455 MPa，叶片水势变化平均为 1.155，低抗旱系数的各系旱田中午平均叶片水势为 -1.6180 MPa，叶片水势变化为 1.346。表明在旱田条件下，抗旱性强的材料，叶片水势变化低且中午具有高叶片水势。因此，叶片水势可作为抗旱材料的选择指标。

表 3 高抗旱系数与低抗旱系数各系叶水势的比较

性状 Trait	平均数 Means		F
	高抗旱系数 Higher IDR lines	低抗旱系数 Lower IDR lines	
旱田中午叶片水势 WPu	-1.455	-1.6180	21.20725
旱田凌晨叶片水势 WPiu	-0.297	-0.277	0.679
水田中午叶片水势 WPI	-1.609	-1.583	0.313
水田凌晨叶片水势 WPil	-0.523	-0.592	2.218
旱田叶片水势变化 WDu	1.155	1.346	15.412
水田叶片水势变化 WDI	1.081	0.973	2.442

F 的极限值为 4.414。The threshold of F value was 4.414.

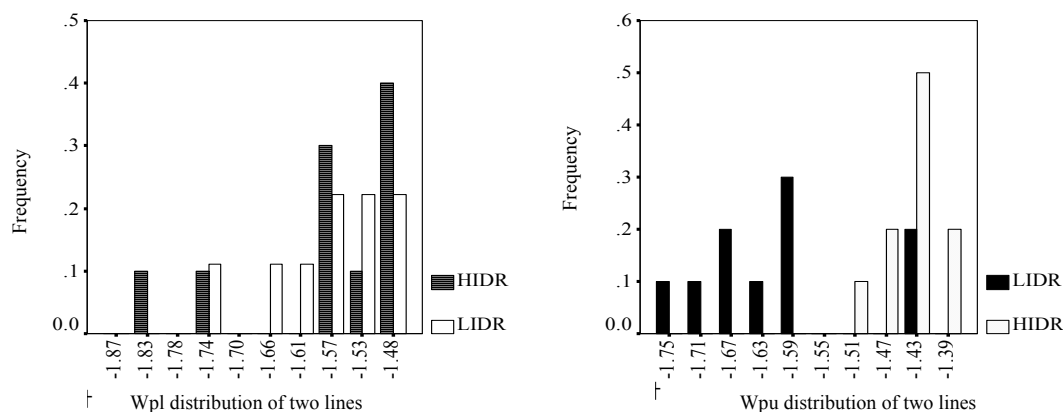


图 2 水、旱条件下高抗旱系数与低抗旱系数重组自交系间中午叶水势的变化

Fig. 2 The value of LWP with higher and lower IDR lines distribution under lowland and upland at mid-day (right for upland; left for lowland)

## 2.5 连锁图谱构建

利用具多态性的 216 对 SSR 引物，构建了具有 201 个标记位点的 15 个连锁图谱，覆盖水稻 12 条染色体的 1 833.8 cM，平均图距 9.0 cM。由于连锁距离超过 50%，1、2 及 8 号染色体的 SSR 标记分别由两个连锁群构成，这一连锁图与先前在水稻中所做的连锁图具有一致性<sup>[14,16]</sup>。

## 2.6 叶片水势及抗旱系数 QTLs 定位

叶片水势基因定位共检测到 6 个加性效应 QTLs，5 对上位性 QTLs；抗旱系数基因定位共检测到加性 QTLs 3 个，上位性 QTLs 2 对（表 4，表 5）。

表 4 叶水势、单株产量及抗旱系数加性 QTL 位点  
Table 4 Additive QTLs associated with LWP, yield per plant, and IDR

性状 Trait	QTL <sup>a</sup>	区间 Interval	位置 Site	LOD	A <sup>b</sup>	HA <sup>c</sup>
旱田中午叶片水势 WPu	<i>wpu6</i>	RM162–RM454	0.04	3.63	0.052	0.100
旱田凌晨叶片水势 WPiu	<i>wpiu1</i>	RM529–RM1068	0.00	3.06	0.022	0.054
	<i>wpiu4</i>	RM1136–RM273	0.04	4.26	0.027	0.079
旱田叶片水势变化 WDu	<i>wdu12</i>	RM1246–RM270	0.06	5.05	0.061	0.116
	<i>wdu6</i>	RM162–RM454	0.08	3.45	- 0.067	0.095
水田中午叶片水势 WDI	<i>wdl4</i>	RM567–RM1272	0.30	3.86	- 0.052	0.047
旱田单株产量 YPu	<i>ypu2</i>	RM525–RM263	0.30	4.11	1.7131	0.0619
	<i>ypu6</i>	RM541–RM527	0.12	8.07	2.9660	0.1855
	<i>ypu9</i>	RM316–RM219	0.04	3.44	1.6630	0.0583
水田单株产量 YPI	<i>ypl1a</i>	RM1068–RM472	0.06	3.63	- 1.5392	0.0619
	<i>ypl1b</i>	RM237–RM488	0.12	3.48	- 2.6601	0.1848
抗旱系数 IDR	<i>idr2</i>	RM525–RM263	0.22	7.33	0.167	0.144
	<i>idr6</i>	RM541–RM527	0.12	7.32	0.152	0.119
	<i>idr12</i>	RM1036–RM1261	0.10	3.37	- 0.091	0.042

<sup>a</sup> QTLs命名由性状缩写及染色体编号构成。<sup>b</sup> “A”代表加性QTL，正号代表等位变异基因由IRAT 109 提供，负号代表等位变异基因由越富提供。<sup>c</sup> “HA”代表贡献率

<sup>a</sup> QTLs are denoted by trait abbreviations plus chromosomal number. <sup>b</sup> “A” is the additive effect of a QTL. A positive value indicates that the IRAT 109 genotype has a positive effect on the trait. <sup>c</sup> “HA” is the contribution.

表 5 叶水势、单株产量及抗旱系数上位性 QTL 位点、效应及贡献率

Table 5 Epistatic QTLs associated with LWP, yield per plant, and IDR

性状 Trait	区间 Interval	位置 Site	区间 Interval	位置 Site	LOD	AA <sup>a</sup>	HAA <sup>b</sup>
旱田中午叶片水势 WPu	RM539–RM276	0.22	RM190–RM589	0.02	3.41	- 0.042	0.0675
旱田凌晨叶片水势 WPiu	RM493–RM1287	0.04	RM567–RM1272	0.18	3.18	- 0.028	0.0809
水田中午叶片水势 WPI	RM580–RM572	0.02	RM91–RM491	0.20	4.76	- 0.039	0.0610
	RM584–RM587	0.14	RM336–RM10	0.02	4.72	- 0.035	0.0484
水田凌晨叶片水势 WPil	RM1255–RM482	0.00	RM171–RM1108	0.04	5.37	0.064	0.0945
旱田单株产量 YPu	RM432–RM346	0.02	RM1109–RM515	0.00	4.11	- 1.7758	0.0665
水田单株产量 YPI	RM1287–RM312	0.00	RM349–RM1136	0.48	3.79	- 1.4012	0.0513
	RM148–RM1221	0.00	RM1182–RM1248	0.00	2.92	- 1.1486	0.0345
	RM161–RM430	0.06	RM202–RM229	0.38	4.11	- 1.8333	0.0878
抗旱系数 IDR	RM1068–RM472	0.08	RM267–RM405	0.02	3.21	- 0.0946	0.0461
	RM1220–RM582	0.24	RM331–RM137	0.00	2.88	0.0868	0.0388

<sup>a</sup>“AA”代表加性、加性上位性QTL。正号代表两亲作用方向相同，负号代表相反。<sup>b</sup>“HAA”代表贡献率。

<sup>a</sup>“AA” is the effect of additive-by-additive interaction between two QTLs. A positive value indicates that the parental two-locus genotypes have a positive effect on the trait and that the recombinants have negative effects. <sup>b</sup>“HAA” is the contribution.

2.6.1 加性 QTL 旱田中午叶片水势检测到一个加性 QTL，解释表型变异的 10.01%，由 IRAT109 提供等位变异基因。旱田凌晨叶片水势检测到 2 个加性 QTLs，分别解释表型变异的 5.39%和 7.87%，均由 IRAT109 提供等位变异基因。旱田叶片水势变化检测到 2 个加性 QTLs，分别由越富和 IRAT109 提供等位变异基因，其中位于 6 号染色体 RM162~RM454 区间的 QTL，与旱田中午叶片水势的位点完全一致，表明这个 QTL 既决定旱田中午叶片水势，又决定叶片水势变化，具有较高贡献率，解释表型变异的 11.6%。水田中午和凌晨叶片水势均未能检测到加性 QTL。水田叶片水势变化检测到 1 个加性效应 QTL，与旱田凌晨叶片水势的 1 个上位性位点相同。旱田单株产量检测到 3 个加性 QTLs，分别解释表型变异的 5.83%~18.55%，其中位于第 6 染色体 RM541~RM527 的 QTL 具有较高加性效应(2.966 g)，由 IRAT109 提供等位变异基因。水田单株产量共检测到 2 个加性 QTLs，均位于 1 号染色体上，分别解释表型变异的 6.19%和 18.48%，均由越富提供等位变异基因。抗旱系数共检测到 3 个加性 QTLs，解释表型变异的 4.21%~14.43%，两个贡献率较大的 QTL 位点均由 IRAT109 提供等位变异基因，其中位于 6 号染色体上 RM541~RM527 区间的 QTL 与旱田单株产量所定 QTL 的区间一致，说明抗旱系数与单株产量具有共同的遗传基础（表 4）。

2.6.2 上位性 QTL 旱田中午叶片水势检测到 1 对上位性效应，解释表型变异的 6.75%。旱田凌晨叶片水势检测到 1 对上位性效应 QTL，解释表型变异的 8.09%。水田中午叶片水势检测到 2 对上位性 QTLs，分别解释表型变异的 6.10%和 4.84%。水田凌晨叶片水势共检测到 1 对上位性 QTL，解释表型变异的 9.45%。旱田单株产量检测到 1 对上位性效应，解释表型变异的 6.65%。水田单株产量检测到 3 对上位性效应，分别解释表型变异的 5.13%、3.45%和 8.78%。抗旱系数共检测到 2 对上位性 QTLs，分别解释表型变异的 3.88%和 4.61%（表 5）。

由此可以得出，旱田叶片水势主要由加性效应控制，水田叶片水势主要由上位性效应影响，单株产量和抗旱系数主要由加性效应控制。旱田、水田叶片水势变化均未定位到上位性 QTL 位点。所定位的 QTL 主要集中分布在 1、4、6 和 12 号染色体上（图 3）。

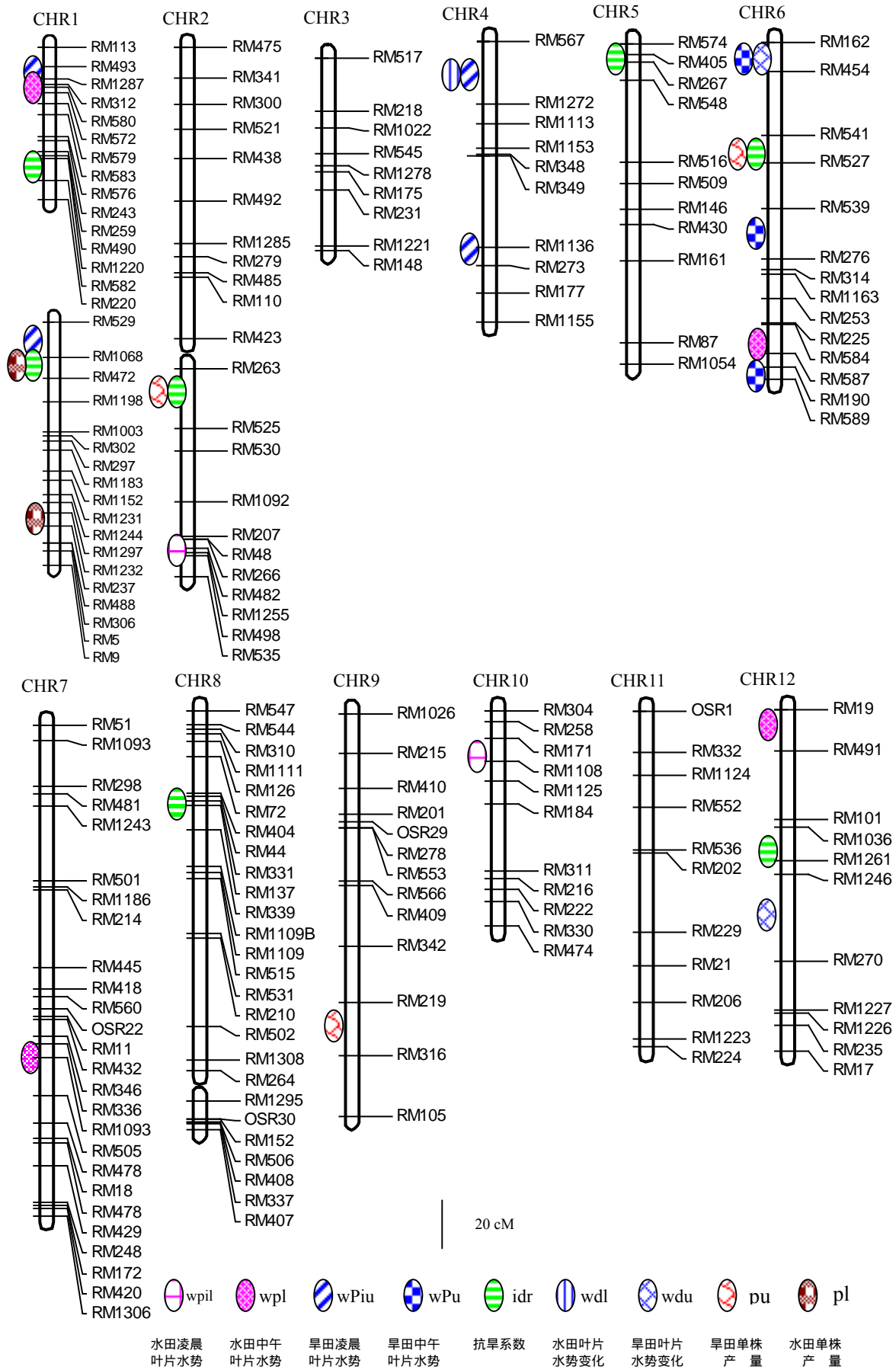


图 3 水、旱种植条件下叶片水势的 QTL

Fig. 3 QTL for leaf water potentials under upland and lowland environments

### 3 讨论

#### 3.1 叶片水势及单株产量、抗旱系数的 QTL 定位

在不同种植条件下,保持叶片水势的机制可能不同<sup>[7]</sup>。我们分别对水、旱田种植条件下,凌晨和中午时刻的叶片水势进行了基因定位。从定位结果来看,不同种植条件下(水田、旱田),不同观察时期(凌晨和中午),检测到叶片水势的QTL及性质不同。旱田叶片水势主要以加性效应为主。定位到的加性QTL,具有较高的贡献率。旱田叶片水势变化检测到区间为RM162~RM454的加性QTL与旱田中午叶片水势检测到的区间一致,但是旱田中午叶片水势的等位变异基因由IRAT109提供;旱田叶片水势变化的由越富提供。旱田凌晨叶片水势位于4号染色体RM1136~RM273区间的QTL,与我们先前根系定位工作中根基粗的QTL一致,说明凌晨叶片水势和根基粗性状存在基因多效性或紧密连锁性,可以通过根基粗选择改变凌晨叶片水势。水田叶片水势变化检测到RM567~RM1272区间的加性QTL与水田凌晨叶片水势检测到的上位性QTL的区间一致,说明这一区间即控制水田叶片水势变化又与水田凌晨叶片水势有关。水田种植条件下,未检测到叶片水势的加性QTL,水田叶片水势主要受上位性效应影响。

Lilley等<sup>[22]</sup>曾对渗透调节这一水稻耐旱的重要性状进行了基因定位,定位到了1个水稻渗透调节的加性QTL,位于水稻的8号染色体上,与Morgan<sup>[23]</sup>在小麦中所作渗透调节研究的结果相同,认为渗透调节基因为单基因作用。未检测出水稻叶片渗透调节与产量间的关系。从我们对叶片水势的基因定位结果看,叶片水势是受多基因作用的,既受加性QTL的影响,又受上位性效应影响,并且定位的QTL所在的染色体也与Lilley等的结果不同,这可能说明,水稻中叶片水势和渗透调节在遗传机制上有所不同。同时已有部分报道显示叶片水势与产量之间具有相关性<sup>[7,21]</sup>,本研究中同样检测到叶片水势与单株产量及抗旱系数具有显著正相关( $r = 0.256$ ,  $r = 0.259$ ,  $P = 0.01$ ),因此在水稻中利用叶片水势作为抗旱的选择指标,更有意义。

抗旱系数检测到的位于第2染色体上RM525~RM263区间和第6染色体上RM541~RM527区间的QTLs与旱田单株产量检测到的QTLs完全一致,说明利用抗旱系数能真实地反映抗旱品种在旱作条件下依然能够维持较高产量这样一种抗旱性,从抗旱系数与旱田单株产量之间的相关性也能充分证实这一点( $r = 0.781$ ,  $P = 0.01$ )

本研究在第6染色体上分别检测到了旱田中午叶片水势、抗旱系数及旱田单株产量的QTLs,Price等<sup>[24]</sup>在6号染色体上则检测到了叶片相对含水量的QTLs,说明6号染色体可能与叶片保水性能有关。

#### 3.2 水、旱田叶片水势表现及抗旱育种策略

水稻是半水生植物,对水分胁迫反映敏感<sup>[2]</sup>。由于凌晨大气中相对湿度较大,对植物体的蒸腾胁迫很低,太阳辐射也相对较低,此时叶片水势反映的是根系和土壤水势的平衡,也叫基础叶片水势<sup>[25-26]</sup>。中午由于空气湿度显著下降以及太阳辐射的加强,造成蒸腾胁迫,如果此时土壤水势不足,则还存在土壤胁迫。本试验进行过程中,监控了旱田土壤水势,结果显示凌晨土壤表层以下20 cm处水势为-0.159 MPa,5 cm处水势为-0.053 MPa,中午5 cm处为-0.190 MPa,20 cm处基本没有变化。表明凌晨由于温度较低,空气湿度较大,土壤表层水势较高;中午气温升高以及空气湿度下降,土壤表层水势迅速下降,远低于凌晨土壤水势,这种土壤水势变化主要由于空气湿度造成,因此对20 cm处土壤水势没有影响。Jongdee等<sup>[7]</sup>认为土壤水势为-0.015 MPa时水稻开始减产,本试验的旱田处理环境已经处于土壤水势胁迫状态。旱田中午叶片水势和凌晨叶片水势之间的差异是由蒸腾胁迫及土壤胁迫共同造成的。水稻在水田种植条件下由于土壤水势接近于零,因此不存在土壤水分胁迫,但是水田依然表现出了凌晨叶片水势高于中午叶片水势,这可能是蒸腾胁迫造成的。

水分缺乏环境条件下,直观的选择产量性状,往往收效甚微,主要是由于在干旱胁迫下,产量性状的遗传力变得很低并且受多因素影响,通常只能反映一年或一个试验地点的情况。在旱胁迫条件下,可以通过与产量相关性状的选择,间接实现对产量性状的选择<sup>[27]</sup>。用于抗旱育种选择的任何性状,必须对产量有贡献<sup>[28]</sup>。Jongdee等<sup>[7]</sup>认为叶片水势可以作为水稻抗旱育种的一个选择指标并指出保持较高叶片水势的品种,在干旱胁迫下具有降低不育小花数,防止干旱造成的减产。Liu等<sup>[21]</sup>指出叶片水势与结实率显著正相关。我们的试验同样得出旱田中午叶片水势与抗旱系数及旱田产量显著正相关,相关系数分别为 $r = 0.259$ 和 $r = 0.256$ 。因此叶片水势可以作为一个选择指标,在水稻抗旱育种中加以利用。旱田叶片水势变化与抗旱系数及旱田单株产量呈极显著负相关( $r = -0.280$ ,  $r = -0.260$ ),说明旱田中午叶片水势能够保持凌



晨基础叶片水势，不因为蒸腾胁迫及土壤胁迫造成较大幅度的水势下降，就能够具有较高产量，表现出抗旱性。通过遗传分析表明叶片水势遗传力较低，旱田条件下低于水田条件下。

受少数QTL控制或田间直接选择困难的性状，通过分子标记辅助选择会取得良好的结果<sup>[29-32]</sup>。通过田间直观选择叶片水势性状费时并且受环境影响强烈，导致选择困难，叶片水势QTL定位结果显示其受少数QTL控制，因此适合进行MAS选择。旱田中午叶片水势主要以加性效应为主，其中*wpu6*解释表型变异的10%；旱田叶片水势变化检测到的*wdu6*和*wdy12*分别解释表型变异的11.6%和9.5%，可以进行加性效应的MAS选择；然而水田叶片水势定位只检测到上位性QTL，因此对水田叶片水势应采取上位性效应的选择。Liu认为上位性效应QTL的MAS选择同样可以获得优于田间直接选择的效果<sup>[33]</sup>。

## 4 结论

本研究以抗旱水稻 IRAT109 与敏旱水稻越富杂交构建的 120 份重组自交系为材料，在水田和旱田种植条件下，考察中午和凌晨叶片水势、旱田单株产量、水田单株产量以及抗旱系数等性状。通过相关分析、遗传力分析和 QTL 定位，得出旱田中午叶片水势与旱田单株产量及抗旱系数有显著的正相关；旱田种植条件下叶片水势遗传力较低；旱田中午叶片水势、抗旱系数和旱田单株产量等性状主要受少数加性 QTLs 控制，且贡献率较高；水田种植条件下，叶片水势主要由上位性效应影响。

## References

- [1] Brown L R, Halwei L B. China's water shortage could share world food security. *World Watch*, 1998, 718: 3-4
- [2] Fukai S, Cooper M. Development of drought-resistant cultivars using physio-morphological traits in rice. *Field Crops Res*, 1995, 40: 67-86
- [3] Ludlow M, Muchow R C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. *Adv Agron*, 1990, 43: 107-153
- [4] O'Toole J C. Adaptation of rice to drought prone environment. In: *Drought Tolerance in Crop with Emphasis on Rice*. International Rice Institute, Los Banos, Philippines, 1982. pp 195-213
- [5] Fischer K S, Edmeades G O, Johnson E C. Selection for the improvement of maize yield under moisture deficits. *Field Crops Res*, 1989, 22: 227-243
- [6] Jongdee B, Fukai S, Cooper M. Genotypic variation for grain yield of rice under water deficit conditions. In: Michalk D L, Pratley J E eds. *Proceedings of the Ninth Australian Agronomy Conference*, Wagga, 1998. pp 403-406
- [7] Jongdee B, Fukai S, Cooper M. Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice. *Field Crops Res*, 2002, 76: 153-163
- [8] Turner N C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant Soil*, 1981, 58: 339-366
- [9] Levitt J. Responses of plants to environmental stress. In: *Water Relation, Salt and Other Stresses*, Vol. 2, 2nd edn. New York: Academic Press, 1980. p 606
- [10] Gao S-B(高世斌), Feng Z-L(冯质雷), Li W-C(李晚忱), Rong T-Z(荣廷昭). Mapping QTLs for root and yield under drought stress in maize. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2005, 31(6): 718-722 (in Chinese with English abstract)
- [11] Blum A. Evidence for genetic variability in drought resistance and its implications in plant breeding. In *Drought Resistance in Crops with Emphasis on Rice*. IRRI, Los Banos, Philippines, 1982. pp 53-68
- [12] O'Toole J C, Moya T B. Genetic variation in maintenance of leaf water potential in rice. *Crop Sci*, 1978, 18: 873-876
- [13] Scott O R, Bendich A J. Extraction of DNA from plant tissue. *Plant Mol Biol Manual*, 1988, A6: 1-10
- [14] Temnykh S, Park W D, Ayres N. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 697-712
- [15] Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*O. sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations and genetic marker potential. *Genome Res*, 2001, 11: 1441-1452
- [16] McCouch S R, Temnykh S, Lukashova A, Coburn J, DeClerck G, Cartinhour S, Harrington S, Thomson M, Septiningsih E, Semon M, Moncada P, Li J. Microsatellite markers in rice: abundance, diversity, and applications. In: Khush G S, Brar D S, Hardy B eds. *Rice Genetics*. Proceedings of the Fourth International Rice Genetics Symposium, pp 22-27, October 2000, Los Banos, Philippines. New Delhi (India): Science Publishers, Inc., and Los Baños (Philippines): International Rice Research Institute, 2001. pp 117-135
- [17] Lander E S, Green P, Abraham S J, Barlow A, Daly M J, Lincoln S E, Newburg L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1987, 1: 174-181
- [18] Lincoln S E, Daly M J, Lander E S. Constructing genetic linkage maps with MAPMAKER/EXP Version 3.0: A tutorial and reference manual. In: A

Whitehead Institute for Biomedical Research Technical Report. 3rd edn. Cambridge: Whitehead Institute, 1993

- [19] Wang D L, Zhu J, Li Z K, Paterson A H. A computer software for mapping quantitative trait loci with main effects, epistatic effects and QTL × Environment interactions. In: User Manual for QTL Mapper Version 1.6, Texas A & M University, College Station, 1999. pp 1–57
- [20] Turner N C, O'Toole J C, Cruz R T, Namuco O S, Ahmad S. Responses of seven diverse rice cultivars to water deficits: . Stress development, canopy temperature, leaf rolling and growth. *Field Crop Res*, 1986, 13: 257–271
- [21] Liu H Y, Zou G H, Liu G L, Hu S P, Li M S, Yu X Q. Correlation analysis and QTL identification for canopy temperature, leaf water potential and spikelet fertility in rice under contrasting moisture regimes. *Chin Sci Bull*, 2005, 50: 317–326
- [22] Lilley J M, Ludlow M M, McCouch S R, O'Toole J C. Locating QTL for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice. *J Exp Bot*, 1996, 47: 1427–1436
- [23] Morgan J M. Adaptation to water deficit in three grain legume species. Mechanisms of turgor maintenance. *Field Crops Res*, 1992, 15: 717–726
- [24] Price A H, Steele K A, Moore B J, Jones R. Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water-deficit regimes: . Mapping quantitative trait loci for root morphology and distribution. *Field Crops Res*, 2002, 76: 25–43
- [25] Borel C, Simonneau T, This D, Tardieu F. Stomatal conductance and ABA concentration in the xylem sap of barley lines of contrasting genetic origins. *J Plant Physiol*, 1997, 24: 607–615
- [26] Dingkuhn M, Audebert A Y, Jones M P, Etienne K, Sow A. Control of stomatal conductance and leaf rolling in *O. sativa* and *O. glaberrima* upland rice. *Field Crops Res*, 1999, 61: 223–236
- [27] Babu R C, Nguyen B D, Chamarerk V, Shanmugasundaram P, Chezhan P, Jeyaprakash P. Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: Association between secondary traits and field performance. *Crop Sci*, 2003, 43: 1457–1469
- [28] Bidinger F R, Witcombe J R. Evaluation of specific drought avoidance traits as selection criteria for improvement of drought tolerance. In: Baker F W G ed. Drought Tolerance in Cereal. CAB International, Wallingford, UK, 1989. pp 151–164
- [29] Mackill D J, Nguyen H T, Zhang J X. Use of molecular markers in plant improvement programs for rainfed lowland rice. *Field Crops Res*, 1999, 64: 177–185
- [30] Lande R, Thompson R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics*, 1990, 124: 743–756
- [31] Kristin A S, Mary E, James D K. Marker-assisted selection to improve drought tolerance in common bean. *Crop Sci*, 1997, 37: 51–60
- [32] Nguyen H T, Babu R C, Blum A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. *Crop Sci*, 1997, 37: 1426–1434
- [33] Liu P Y, Zhu J, Lou X Y, Lu Y. A method for marker-assisted based on QTLs with epistatic effects. *Genetica*, 2003, 119: 75–86