

利用回交导入系群体发掘水稻种质资源中的有利耐盐 QTL

孙勇¹ 藏金萍¹ 王韵¹ 朱苓华¹ Fotokian Mohammadhosein² 徐建龙^{1,*}
黎志康^{1,2}

(¹ 中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与遗传改良国家重大科学工程,北京 100081; ² International Rice Research Institute, DAPO Box 7777, Metro Manila, Philippines)

摘要: 以中等感盐籼稻 IR64 与粳稻 Tarom Molaii 培育的 85 个 BC₂F₃ 回交导入系为材料,定位苗期在 140 mmol L⁻¹ NaCl 胁迫下影响叶片盐害级别、幼苗存活天数、地上部和根部的 K⁺、Na⁺ 浓度等 6 个耐盐相关性状的 QTL。幼苗存活天数与地上部 Na⁺ 浓度呈极显著负相关,与地上部 K⁺ 浓度呈显著正相关,与根部 K⁺、Na⁺ 浓度无关,表明叶片盐害是由于地上部 Na⁺ 积累过多造成的。根部 K⁺ 浓度与 Na⁺ 浓度高度正相关,但与地上部的 K⁺、Na⁺ 浓度均无关,表明根对 K⁺、Na⁺ 的离子吸收与向地上部运输存在不同的机制。检测到影响 6 个耐盐相关性状的 23 个 QTL,包括影响叶片盐害级别的 5 个、幼苗存活天数的 6 个、地上部 K⁺ 浓度的 4 个、地上部 Na⁺ 浓度的 4 个、根部 K⁺ 浓度的 1 个和根部 Na⁺ 浓度的 3 个。影响地上部 K⁺、Na⁺ 浓度与影响根部 K⁺、Na⁺ 浓度的 QTL 分布在不同基因组区域,进一步表明根和茎对 K⁺、Na⁺ 的吸收存在不同的遗传机制。通过比较图谱,发现影响耐盐相关性状的 23 个 QTL 中有 12 个(占 52.2%)与以往不同群体中影响耐盐相关性状的 QTL 定位在同一或相邻的染色体区域。其中在第 2 染色体 RM240–RM112 区间检测到 1 个影响地上部所有 4 个耐盐相关性状的主效 QTL,其增加耐盐性的有利基因来自供体 Tarom Molaii,适宜用作标记辅助选择耐盐性的遗传改良。

关键词: 水稻;耐盐性;回交导入系;基因发掘

Mining Favorable Salt-tolerant QTL from Rice Germplasm Using a Backcrossing Introgression Line Population

SUN Yong¹, ZANG Jin-Ping¹, WANG Yun¹, ZHU Ling-Hua¹, Fotokian Mohammadhosein², XU Jian-Long^{1,*}, and LI Zhi-Kang^{1,2}

(¹ Institute of Crop Sciences/National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ² International Rice Research Institute, DAPO Box 7777, Metro Manila, Philippines)

Abstract: Knowledge of the genetics of salt tolerance and mining of favorable alleles from germplasm should help develop rice varieties with high salt tolerance. QTLs affecting six salt-tolerance related traits including score of salt toxicity (SST), survival days of seedlings (SDS), shoot K⁺ concentration (SKC), shoot Na⁺ concentration (SNC), root K⁺ concentration (RKC), root Na⁺ concentration (RNC) were detected using 85 backcrossing introgression lines derived from a *indica* cultivar IR64 and a *japonica* upland cultivar Tarom Molaii from Iran under salt stress with the concentration of 140 mmol L⁻¹ NaCl at the seedling stage. Continuous variation and transgression for all six traits were observed in the BIL population although there were only significant differences in SDS and SNC between the parents. Correlation analysis indicated that SDS had highly negative correlation with SNC and positive correlation with SKC but no correlations with RKC and RNC, suggesting that salt toxicity of leaves resulted from over-accumulation of Na⁺ in shoots. RKC highly positively correlated with RNC while both of them had no correlations with SKC and SNC, respectively, indicating different mechanisms in uptake of K⁺ and Na⁺ in roots and their transport from roots to shoots. Twenty-three QTLs for the six traits on the ten chromosomes except chromosomes 5 and 10 were identified by single-marker ANOVA using SAS PROC GLM, including 5 for SST, 6 for SDS, 4 for SKC, 4 for SNC, 1 for RKC, and 3 for RNC. Among them, the region of RM240–RM112 on chromosome 2 simultaneously affected SST, SDS, SKC, and SNC and the allele associated with improvement of salt tolerance was from Tarom Molaii. This QTL could be useful for improvement of salt tolerance through marker assisted

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2006CB100100); 国家自然科学基金项目(30570996); 引进国际先进农业科学技术计划(948 计划)项目(2004-Z18 和 2006-G1)

作者简介: 孙勇(1980–), 女, 硕士, 专业: 作物遗传育种。

* 通讯作者(Corresponding author): 徐建龙, 男, 研究员, 博士生导师。研究方向: 水稻分子育种。E-mail: xujl@caas.net.cn

Received (收稿日期): 2007-02-12; Accepted (接受日期): 2007-04-15.

selection. The QTLs affecting SKC and SNC didn't share the same genomic region with the QTLs for RKC and RNC, further confirming the view that different genetic mechanisms involved in uptake of K^+ and Na^+ between roots and shoots. By comparative mapping, 12 (52.2%) QTLs for the six related traits located in the same or near genome regions on chromosomes 1, 2, 3, 7, and 9 with the QTLs previously identified in different mapping populations. The advantages of mapping QTLs using BILs and strategy of mining 'hidden' salt-tolerant main-effect QTL from rice germplasm were discussed.

Keywords: Rice; Salt-tolerance; Backcrossing introgression lines; Gene mining

水稻生产受许多逆境因素影响。在沿海和广大的干旱或半干旱地区,日益严重的土壤或灌溉水盐渍化趋势已成为包括水稻在内的农作物生产的主要障碍。水稻属中等感盐作物,当土壤中可溶性盐达到 0.3% 时即表现出受害症状,最终导致减产^[1,2]。因此,研究水稻耐盐遗传机制,发掘主效耐盐基因或 QTL,通过育种手段改良品种的耐盐性,是减轻水稻盐害和提高盐渍土生产力的—项经济有效的措施。

水稻种质耐盐性的遗传变异丰富^[3,4],而且在不同生育阶段的耐盐性不同,通常以二叶一心期最敏感^[5,6]。在以往种质资源耐盐性遗传分析中,除在突变体或转基因植株中发现有单个主基因控制的耐盐性以外^[7-9],大多数水稻耐盐性受多基因控制^[10-16]。Lin 等^[17]利用耐盐品种 Nona Bokra 与感盐品种 Koshihikari 构建的 F_2 、 F_3 群体,定位到影响幼苗存活天数的 3 个 QTL,同时在第 7 和第 1 染色体上检测到影响茎 Na^+ 和 K^+ 浓度的主效 QTL,随后采用图位克隆技术分离了第 1 染色体上控制茎 K^+ 浓度的基因 *SKC1*^[18]。以往的研究表明,水稻种质中存在—些效应较大的耐盐主效 QTL。因此,从现有种质中寻找与鉴定耐盐主效 QTL 并将其聚合是提高品种耐盐性的有效育种策略^[19-20]。由于非盐生植物的耐盐性是一种复杂的遗传与生理特性^[21],受遗传背景的影响很大。以往水稻耐盐性的 QTL 定位研究大多与育种计划相独立,因而在实验群体中定位到的耐盐 QTL,很难用于育种群体的耐盐性遗传改良。因此,如何从种质资源中挖掘有利的耐盐基因,鉴定其紧密连锁的分子标记,通过标记辅助选择加速品种耐盐性的遗传改良是目前水稻耐盐育种的当务之急。

为克服遗传背景对水稻耐盐 QTL 定位的影响,促进 QTL 定位与品种耐盐遗传改良的有机结合,本研究利用全球水稻分子育种计划搜集到来自伊朗的种质 Tarom Molai 导入到中等感盐品种 IR64 背景的 BC_2F_3 回交导入系群体开展耐盐 QTL 定位,旨在从种质资源中鉴定和发掘主效耐盐 QTL,为品种耐盐性的遗传改良提供基因和标记信息。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以国际水稻研究所育成的中等感盐品种 IR64 为轮回亲本,来自伊朗的农家品种 Tarom Molai 为供体亲本,通过杂交和回交培育出 85 个 BC_2F_3 回交导入系群体用于本研究。

1.2 耐盐性鉴定

精选籽粒饱满的种子在 50℃ 烘干 5 d 打破休眠,用 0.5% 次氯酸钠处理 10 min 进行表面消毒,再用清水冲洗后于 28℃ 浸种 48 h,将露白种子播种于底部带有尼龙网的泡沫板小孔中,每孔—粒种子,每株系播 1 排 10 孔,3 次重复,不同株系采用完全随机排列。清水培养至二叶一心期,将清水换成含 140 mmol L^{-1} NaCl 的 Yoshida 营养液^[22]。秧苗在温室中培养,通过湿帘和排气扇来调节温湿度,在整个生长和胁迫期间的昼夜平均温度分别为 30℃ 和 25℃ 左右,湿度约为 60%。每隔—周换—次营养液,每天调整 pH 至 5.5 左右。盐胁迫后第 10 天,按照 SES 评价标准划分 5 级(1 级为高度耐盐,9 级为高度感盐)^[23],评价每个株系幼苗的盐害级别(score of salt toxicity at 10 days after salinity, SST),调查秧苗在盐胁迫后的存活天数(survival days of seedlings after salinity, SDS)。

为测定地上部和根部 Na^+ 和 K^+ 浓度,首先对双亲进行 140 mmol L^{-1} NaCl 处理,进行不同处理时间取样测定离子浓度的预备试验,确定双亲 Na^+ 、 K^+ 浓度差异最大时的取样时间。双亲和群体按上述完全相同的实验程序进行处理,处理 8 d 后分别收获地上部和根部,经蒸馏水浸洗数次后放入信封,在 80℃ 烘箱烘至恒重,称重后用 100 mmol L^{-1} 醋酸于 90℃ 恒温水浴箱中提取 2 h,将提取液分成两组,用 S2 型火焰原子吸收光谱仪(S2 型火焰原子吸收光谱仪,美国热电公司生产)分别测定地上部 K^+ 浓度(shoot K^+ concentration, SKC)和 Na^+ 浓度(shoot Na^+ concentration, SNC)及根部的 K^+ (root K^+ concentration, RKC) 和 Na^+ 浓度 (root Na^+ concentration, RNC),浓度单位为 $\mu mol mg^{-1}$ 。

1.3 基因型分析与遗传连锁图构建

从水稻 12 条染色体上挑选均匀分布且亲本间有多态的 162 个 SSR 标记, 对回交群体进行基因型分析。参考 Cornell 大学的图谱^[24] 确定各标记在染色体上的位置及遗传距离。162 个标记覆盖基因组全长 1 179.5 cM, 相邻标记间的平均距离为 7.9 cM。

1.4 数据处理与 QTL 定位

利用 SAS PROC GLM (SAS Institute 1996) 分析不同性状间的相关。采用 SAS PROC GLM 的单向方差分析方法检测影响各性状的 QTL, 以 $P < 0.005$ 显著水平作为取舍 QTL 的临界值。当 1 个 QTL 与 2 个

或多个标记连锁时, 以 F 值最高者作为与 QTL 连锁的标记列出^[25]。

2 结果与分析

2.1 亲本和导入系群体的性状表现

在盐胁迫条件下, 双亲间除 SDS 和 SNC 外, 其余 4 个性状均没有显著差异(表 1)。虽然两个亲本表现中等感盐, 但导入系群体的 6 个性状均表现出明显的双向超亲分离, 群体平均的 SST 显著低于双亲, SDS 则显著长于双亲, 其中有 43 个 (50.6%) 株系的 SDS 在 21 d 以上, 表现出较强的耐盐性。

表 1 亲本及 IR64/Tarom Molaii BC₂F₃ 导入系群体 6 个耐盐相关性状的表现

Table 1 Performance of six salt-tolerance related traits of the parents IR64, Tarom Molaii, and their introgression line population in BC₂F₃

性状 Trait	IR64 (P ₁) (Mean ± SD)	Tarom Molaii (P ₂) (Mean ± SD)	双亲差值 Difference between the parents	回交导入系 BILs		
				Mean ± SD	CV (%)	Range
SST	5.96 ± 1.36	5.85 ± 0.667	-0.11	4.84 ± 1.24	25.54	3.00 - 7.67
SDS	19.04 ± 3.93	17.41 ± 0.79	1.63*	21.21 ± 4.17	19.65	11.67 - 31.00
SKC	0.5422 ± 0.04	0.5488 ± 0.03	0.0066	0.5494 ± 0.10	18.68	0.4065 - 0.8890
RNC	1.3786 ± 0.09	1.7110 ± 0.14	0.3324*	1.6088 ± 0.31	19.29	0.6621 - 2.3954
RKC	0.1041 ± 0.02	0.1327 ± 0.07	0.0286	0.1573 ± 0.07	46.47	0.0559 - 0.3257
RNC	0.3938 ± 0.26	0.4580 ± 0.13	0.0642	0.4616 ± 0.25	54.83	0.0948 - 1.0233

* 表示在 0.05 的概率显著水平。

* significant at $P < 0.05$. ¹⁾ SST: score of salt toxicity of leaves; SDS: survival days of seedlings; SKC: shoot K⁺ concentration; SNC: shoot Na⁺ concentration; RKC: root K⁺ concentration; RNC: root Na⁺ concentration.

2.2 各生理性状之间的相关

性状相关性分析表明(表 2), SST 与 SDS 呈极显著负相关, 叶片盐害级别越低, 秧苗存活天数越长, 植株的耐盐性也就越强。SST 与 SNC 呈极显著正相关, 与 SDS 呈极显著负相关, 说明叶片受盐害越轻, 地上部 Na⁺ 浓度就越低, 存活时间就越长。SDS 与 SKC 呈显著正相关, 与 SNC 呈极显著负相关, 而与 RKC 和 RNC 无关, 表明幼苗存活天数主要取决于地上部 K⁺ 和 Na⁺ 的浓度。RKC 与 RNC 呈极显著正相关, 而 SKC 与 SNC 呈极显著负相关, 暗示根对 K⁺、

Na⁺ 吸收似乎没有选择性, 但向地上部运输时存在某种选择性。地上部 SKC 和 SNC 与根部的 RKC 和 RNC 均不存在相关性, 表明根部对 K⁺、Na⁺ 的吸收与向地上部运输可能存在不同的机制。SKC 与 RNC 呈显著正相关, 表明根部 Na⁺ 浓度高, 有可能有较多 K⁺ 从根部运至地上部, 导致地上部出现较高的 K⁺ 浓度。

2.3 影响耐盐相关性状的 QTL 定位

共检测到 23 个 QTL, 分布在除第 5 和 10 以外的 10 条染色体上, 包括影响 SST 的 5 个、SDS 的 6 个、SKC 的 4 个、SNC 的 4 个、RKC 的 1 个和 RNC 的 3 个(表 3, 图 1)。

定位到影响幼苗盐害级别的 5 个 QTL, 分别位于第 2、3、4 和 7 染色体上, 除 *QSst2b* 位点上供体 Tarom Molaii 的等位基因降低叶片盐害级别即增加耐盐性外, 在另 4 个位点 (*QSst2a*、*QSst3*、*QSst4* 和 *QSst7*) 受体 IR64 的等位基因降低叶片盐害级别。检测到影响幼苗存活天数的 6 个 QTL, 分别位于第 2、3、4、7 和 9 染色体上, 在 *QSDs2b* 和 *QSDs9* 两个位点的 Tarom Molaii 等位基因延长存活天数, 而其他 4 个位点 (*QSDs2a*、*QSDs3*、*QSDs4* 和 *QSDs7*) 的 IR64 等位

表 2 盐胁迫下 IR64/Tarom Molaii BC₂F₃ 导入系群体各耐盐相关性状间的相关系数

Table 2 Correlation coefficients among six salt-tolerance related traits of the introgression line population derived from IR64/Tarom Molaii BC₂F₃ under salt stress

Trait ¹⁾	SST	SDS	SKC	SNC	RKC
SDS	-0.689***				
SKC	-0.112	0.240*			
SNC	0.322**	-0.510***	-0.669***		
RKC	-0.046	0.109	0.070	-0.147	
RNC	-0.032	0.185	0.231*	-0.137	0.799***

*, ** 和 *** 分别表示在 0.05、0.01 和 0.001 的概率显著水平。

¹⁾ See Table 1 for the trait abbreviations. *, **, and *** represent significance at $P < 0.05$, 0.01 and 0.001.

表 3 从 IR64/Tarom Molai BC₂F₃ 导入系群体中检测到影响 6 个耐盐相关性状的 QTLTable 3 QTLs of six salt-tolerant traits detected in the introgression line population of IR64/Tarom Molai BC₂F₃

性状 ¹⁾ Trait	QTL	染色体 Chromosome	标记区间 ¹⁾ Marker interval	参数 Parameter		加性效应 ²⁾ Additive effect
				F	P	
SST	<i>QSt2a</i>	2	RM279-RM423	8.77	0.0041	0.42
SST	<i>QSt2b</i>	2	RM240-RM112	14.47	0.0003	-0.63
SST	<i>QSt3</i>	3	<u>RM22</u> -RM231	11.04	0.0013	0.65
SST	<i>QSt4</i>	4	<u>RM518</u> -RM261	11.27	0.0012	1.02
SST	<i>QSt7</i>	7	<u>RM436</u> -RM481	13.1	0.0005	0.78
SDS	<i>QSDa2a</i>	2	RM279-RM423	11.13	0.0013	-1.5343
SDS	<i>QSDa2b</i>	2	RM240-RM112	8.87	0.0038	1.7031
SDS	<i>QSDa3</i>	3	<u>RM22</u> -RM231	11.22	0.0012	-2.1885
SDS	<i>QSDa4</i>	4	RM335- <u>RM518</u>	11.64	0.001	-3.4047
SDS	<i>QSDa7</i>	7	RM436-RM481	13.03	0.0005	-2.6049
SDS	<i>QSDa9</i>	9	RM316-RM219	12.24	0.0008	1.6115
SKC	<i>QSk1</i>	1	<u>RM583</u> -RM23	18.9	0.0001	0.0507
SKC	<i>QSk2</i>	2	RM240-RM112	12.15	0.0008	0.0473
SKC	<i>QSk3</i>	3	RM60-RM3202	16.72	0.0001	0.0535
SKC	<i>QSk8</i>	8	RM408-RM152	9.59	0.0027	-0.0426
SNC	<i>QSn2</i>	2	RM240-RM112	13.82	0.0004	-0.1533
SNC	<i>QSn3</i>	3	OSR13-RM7	9.91	0.0023	0.2404
SNC	<i>QSn11</i>	11	RM224-RM144	11.5	0.0011	0.1713
SNC	<i>QSn12</i>	12	RM20A-RM4A	11.42	0.0011	0.2533
RKC	<i>QRkc6</i>	6	RM510-RM204	9.55	0.0027	-0.0363
RNC	<i>QRnc6</i>	6	<u>RM204</u> -RM217	11.79	0.0009	-0.1380
RNC	<i>QRnc7</i>	7	RM7338-RM336	14.75	0.0002	0.1173
RNC	<i>QRnc9</i>	9	RM409-RM257	9.59	0.0027	-0.0864

¹⁾ 性状名称缩写见表 1。 ²⁾ 带下划线的标记表示最靠近 QTL 的标记。 ³⁾ 加性效应为 IR64 等位基因被供体 Tarom Molai 替代后的效应。

See Table 1 for the trait abbreviations. ²⁾ The underlined markers are those closer to the true QTL positions. ³⁾ The additive effect results from the effect of substitution of IR64 alleles by Tarom Molai alleles.

基因延长存活天数。

在第 1、2、3 和 8 染色体上检测到影响地上部 K⁺ 浓度的 4 个 QTL, 除 *QSkc8* 位点外, 在其余 3 个位点 (*QSkc1*、*QSkc2* 和 *QSkc3*) 的供体 Tarom Molai 等位基因提高地上部 K⁺ 浓度。在第 2、3、11 和 12 染色体上检测到影响地上部 Na⁺ 浓度的 4 个 QTL, 除 *QSn2* 位点外, 其余 3 个位点 (*QSn3*、*QSn11* 和 *QSn12*) 供体 Tarom Molai 的等位基因增加地上部 Na⁺ 浓度。

在第 6 染色体上检测到影响根部 K⁺ 浓度的 1 个 QTL (*QRkc6*), 在第 6、7 和 9 染色体上检测到影响根部 Na⁺ 浓度的 3 个 QTL (*QRnc6*、*QRnc7* 和 *QRnc9*), 除 *QRnc6* 外, 上述两个性状其他位点减小性状的等位基因均来自供体 Tarom Molai。

3 讨论

3.1 耐盐 QTL 定位的遗传背景效应及不同群体检测到耐盐 QTL 的比较

遗传背景对 QTL 尤其是微效 QTL 的检测存在干扰^[26]。以往相当多的研究者使用遗传背景不一致的分离群体进行耐盐 QTL 定位。在盐胁迫条件下, 分离群体中用于度量耐盐性的间接指标包括形

态性状如苗期叶片盐害级别、生理性状如幼苗 K⁺、Na⁺ 浓度等的表型变异固然包含耐盐性遗传变异的部分, 但又不可避免地带有这些性状本身的遗传变异 (相当于本底变异), 而且这两种变异对总变异的相对贡献会随着盐胁迫强度的变化而改变^[27]。为减少这类性状的本底影响, 有人采用相对生长量作耐盐性指标, 但每一指标获得最大变异的盐浓度范围不完全一致^[28]。因此, 要有效地消除定位群体本身遗传变异对耐盐鉴定所产生的本底影响, 提高耐盐鉴定的准确性, 必须将定位群体的遗传背景纯化。回交导入系群体的每个株系带有少量来自供体的染色体片段, 遗传背景与轮回亲本基本一致, 因而能最大程度地消除遗传背景对 QTL 尤其是微效 QTL 检测的干扰, 提高 QTL 检测的准确性^[26, 29]。

借助相同的 SSR 标记或比较图谱^[24, 30, 31], 将本研究定位到的耐盐 QTL 与以往其他群体定位的结果进行比较, 发现第 1 染色体 RM583~RM23 区间上影响 SKC 的 *QSkc1* 与影响茎 K⁺ 浓度的 *qSKC-J*^[17-19]、耐盐主效基因 *Sid*^[11]、盐响应 cDNA 克隆 *TSI*^[32] 和影响 K⁺ 及 Na⁺/K⁺ 比的 QTL^[14] 定位在同一染色体区域; 位于第 2 染色体 RM240~RM112 区间影响 SST、SDS、SKC 和 SNC 的主效 QTL 与影响盐胁迫

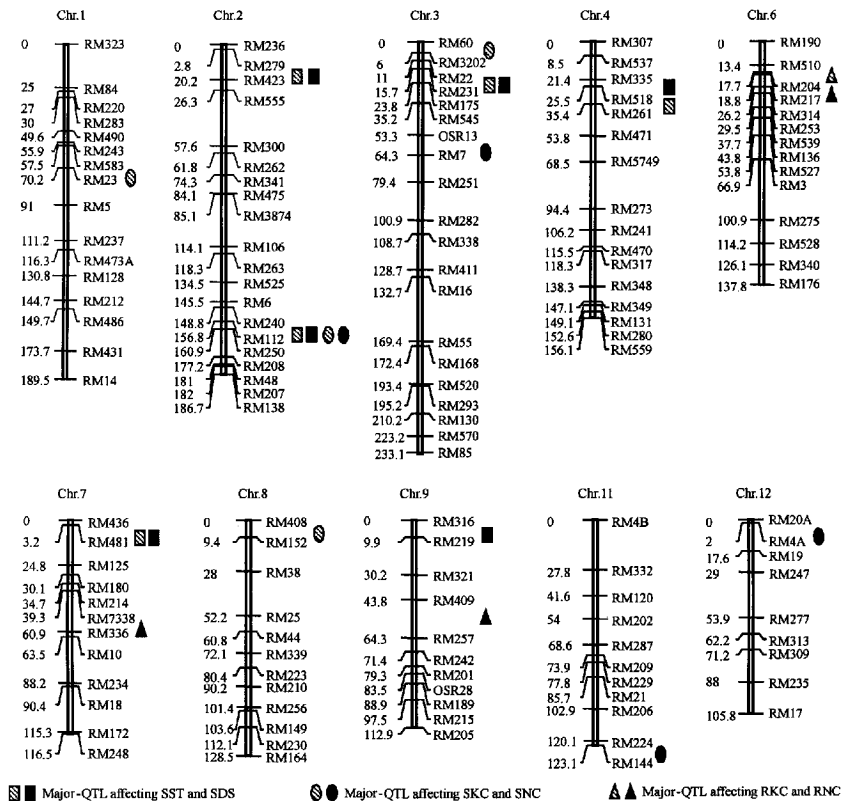


图 1 遗传连锁图及从 IR64/Tarom Molai BC₂F₃ 导入系群体中检测到影响 SST、SDS、SKC、SNC、RKC 和 RNC 的主效 QTL 在基因组中的分布

Fig. 1 The linkage map and distribution of QTLs for score of salt toxicity at 10 days after treatment (SST), survival days of seedlings under salinisation (SDS), shoot K⁺ concentration (SKC), shoot Na⁺ concentration (SNC), root K⁺ concentration (RKC), and root Na⁺ concentration (RNC), identified in the introgression line population of IR64/Tarom Molai BC₂F₃

迫下分蘖数^[16]及 Na⁺浓度的 QTL^[15]定位在一起;位于第 3 染色体 RM60 ~ RM3202 区间影响 SKC 的 QTL 及相邻区间 RM22 ~ RM231 上影响 SST 和 SDS 的 QTL,与盐响应 cDNA 克隆 TS2^[32]、Na⁺/K⁺ 比及盐胁迫下影响秧苗活力的 *qSV-3*^[13]和根重的 QTL^[15]定位在一起;第 7 染色体 RM436 ~ RM481 区间上影响 SST 和 SDS 的 QTL 与影响幼苗存活天数的 *qSDS-7*^[17]、盐胁迫下干物重 *qSDM-7*^[13]和 K⁺浓度的 QTL^[15]定位在同一染色体区域,该染色体 RM7338 ~ RM336 区间上影响 RNC 的 QTL 与盐响应 cDNA 克隆 TS3^[32]、影响盐胁迫下种子发芽率 *qSGM-7*^[13]及与 RFLP 标记 RC4 连锁的 1 个耐盐主基因^[7]定位在同一区域;位于第 9 染色体 RM316 ~ RM219 区间影响 SDS 的 *QSds9* 与影响 Na⁺/K⁺ 比及盐胁迫下根重

的 QTL^[15]定位在一起。可见,本研究中影响耐盐相关性状的 QTL 有一半以上在以往的不同定位群体中被检测到。

3.2 耐盐相关性状的 QTL 分布及 K⁺和 Na⁺的关系

控制相关性状的 QTL 通常被定位在同一或相似的染色体区域^[33-35]。本研究中,影响 SDS 和 SST 的 QTL 在第 2、3、4 和 7 染色体上定位在同一区间,而且基因效应的方向均相反(表 3, 图 1),与这两个性状呈负相关相吻合。影响 SKC、SNC 的 QTL 定位在第 2 染色体的同一区间,基因效应方向与性状间的相关性一致。影响 RKC 和 RNC 的 QTL 定位在第 6 染色体的相邻区间,基因效应方向一致,与两者间的正相关相吻合。一因多效或控制不同相关性状的基因的紧密连锁构成了这些相关性状的遗传基础。

有报道认为,在盐胁迫下 K^+ 和 Na^+ 的吸收是一个平行而相互独立的过程,彼此不存在竞争^[14,36-37]。本研究的 RKC 与 RNC 之间呈极显著正相关支持了上述观点。但 SKC 与 SNC 之间存在显著负相关,表明根部的 K^+ 和 Na^+ 向茎部运输时存在某种选择的竞争机制。本研究中检测到影响 SKC 和 RKC 的 QTL 以及影响 SNC 和 RNC 的 QTL 分别被定位在不同基因组区域,进一步表明根部对 K^+ 和 Na^+ 的吸收与向地上部运输存在不同的遗传机制。

3.3 K^+ 和 Na^+ 浓度与水稻幼苗的耐盐性

Na^+ 在水稻苗期整株或器官水平上区域化分配的数量差异与品种的耐盐性有关,认为耐盐品种根部 Na^+ 在整株中所占的比例较高,不耐盐品种地上部积累的 Na^+ 较多^[38]。减少 Na^+ 吸收和维持较高水平的 K^+ 是盐胁迫条件下植株正常生长的一个重要特征^[39]。盐胁迫条件下幼苗存活天数是衡量耐盐性强弱的一个最终指标,它是各种耐盐机制的综合体现。本研究中的 SDS 与 SNC、RKC 和 RNC 的相关性表明,水稻苗期耐盐性主要取决于茎中 Na^+ 浓度的高低,与根部的 K^+ 和 Na^+ 浓度无关。暗示在盐胁迫条件下,根部吸收的 Na^+ 运送至茎部继而积累在叶片,由于从茎部返回至根部的离子量很小^[40],最终导致叶片出现盐害。SDS 与 SNC 呈显著正相关,表明地上部 K^+ 浓度的增加有利于增强耐盐性。由此可见,地上部较低的 Na^+ 和较高的 K^+ 或 K^+ / Na^+ 是耐盐品种的一个明显指征。

3.4 种质资源耐盐 QTL 的发掘与不同耐盐 QTL 的聚合

经过人类长期驯化和人工选择,现代许多作物品种的遗传基础变得越来越窄,从而增加育成品种对不良逆境的脆弱性^[41]。水稻种质资源存在包括耐盐性在内的各种抗逆基因^[41]。一直以来育种家都片面追求利用高水平抗逆材料作亲本,但不幸的是具备极端抗逆性的种质材料数量寥寥无几,而且综合农艺性状很差。例如印度农家品种 Pokkali 作为少数几个高度耐盐亲本之一被用于品种耐盐性改良计划,但至今还未见利用该种质直接育成的耐盐品种。近几十年来,随着对复杂数量性状 QTL 定位研究的深入,人们逐渐认识到即便种质资源本身的目标性状不突出,但可能存在着重高产^[42-43]、耐盐^[44] 等目标性状的优良基因。本研究中 Tarom Molai 为来自伊朗的中等感盐品种,从其回交后代鉴定出 1 个耐盐主效 QTL *QSkc2*,其耐盐等位基因来自 Tarom Molai,影响 SKC、SNC、SST 和 SDS 多个耐盐相关性状,

具有育种应用价值。对这种以“隐蔽”方式存在于种质资源中的优良基因,培育回交导入系结合分子标记技术是挖掘这类“隐蔽”基因的有效途径^[45-47]。

水稻耐盐等复杂数量性状受多个 QTL 控制,通常每个 QTL 对性状的贡献率有限。将不同位点具有相似效应的 QTL 聚合是提高抗逆水平的有效途径^[19-20,48]。本研究的 85 个株系中,2 个株系在盐胁迫下苗期最长存活天数分别为 31 d 和 28 d,表现高度耐盐性。在这 2 个株系中,分别聚合了来自 Tarom Molai 的 2 个染色体区间上(第 2 染色体 RM240 ~ RM112 和第 9 染色体 RM316 ~ RM219)和 3 个染色体区间上的耐盐 QTL(第 2 染色体 RM240 ~ RM112、第 3 染色体 RM60 ~ RM3202 和第 9 染色体 RM316 ~ RM219)。这说明基于 DNA 标记的 QTL 聚合育种是培育具有高度耐盐新品种的有效方法。

4 结论

叶片盐害主要是由于地上部 Na^+ 积累过多造成的,根对 K^+ 、 Na^+ 的离子吸收与向地上部运输存在不同的机制。在影响 6 个耐盐相关性状的 23 个 QTL 中,影响地上部 K^+ 、 Na^+ 浓度的 QTL 与影响根部 K^+ 、 Na^+ 浓度的 QTL 分布在不同基因组区域,进一步表明根和茎对 K^+ 、 Na^+ 的吸收存在不同的遗传机制;有 12 个(占 52.2%)在以往不同群体中被检测到。第 2 染色体 RM240 ~ RM112 区间检测到 1 个影响地上部所有 4 个耐盐相关性状的主效 QTL,其增加耐盐性的有利基因来自供体 Tarom Molai,适宜用作标记辅助选择改良品种的耐盐性。许多抗逆基因是以隐蔽形式存在于种质资源中,培育回交导入系结合分子标记技术是挖掘这类“隐蔽”基因的有效途径。

References

- [1] Akbar M, Yabuno T, Nakao S. Breeding for saline-resistant varieties of rice: I. Variability for salt tolerance among some rice varieties. *Jpn J Breed*, 1972, 22: 277-284
- [2] Akbar M, Yabuno T. Breeding for saline resistant varieties of rice, 2: Comparative performance of some rice varieties to salinity during early developmental stages. *Jpn J Breed*, 1974, 24: 176-181
- [3] Ikehashi H, Ponnampetuma F N. Varietal tolerance of rice for adverse soils. In: *Soils and Rice*. Los Banos, Philippines: IRRRI, 1978, pp 801-823
- [4] Gregorio G B, Senadhira D, Mendoza R D, Manigbas N L, Roxas J P, Guarta C Q. Progress in breeding for salinity tolerance and associated abiotic stresses in rice. *Field Crops Res*, 2002, 76: 91-101
- [5] Pearson G A, Ayers A D, Eberhard D L. Relative salt tolerance of rice during germination and early seedling development. *Soil Sci*, 1966, 102:151-156
- [6] Fang X-W(方先文), Tang L-H(汤德华), Wang Y-P(王艳平). Selection on rice genoplasm tolerant to salt stress. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2004, 5 (3): 295-298 (in Chinese with English abstract)
- [7] Zhang G Y, Guo Y, Chen S L, Chen S Y. RFLP tagging of a salt tolerance gene. *Plant Sci*, 1995, 110: 227-234
- [8] Guo Y(郭岩), Chen S-L(陈少麟), Zhang G-Y(张耕彬), Chen S-Y

- (陈受宜). Salt-tolerance rice mutant lines controlled by a major effect gene were obtained by cell engineering technique. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 1997, 24(2): 122-126 (in Chinese with English abstract)
- [9] Fukuda A, Nakamura A, Tanaka Y. Molecular cloning and expression of the Na⁺/H⁺ exchanger gene in *Oryza sativa*. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1446: 149-155
- [10] Lin H-X(林鸿宣), Yanagihara S(柳原城司), Zhuang J-Y(庄杰云), Senboku T(仙北俊弘), Zheng K-L(郑康乐), Yasuhisa S(八岛茂夫). Identification of QTL for salt tolerance in rice via molecular markers. *China J Rice Sci* (中国水稻科学), 1998, 12(2): 72-78 (in Chinese with English abstract)
- [11] Gong J-M(龚继明), He P(何平), Qian Q(钱前), Shen L-S(沈利华), Zhu L-H(朱立煌), Chen S-Y(陈受宜). Identification of QTL for salt tolerance in rice. *Chin Sci Bull* (科学通报), 1998, 43(17): 1847-1850 (in Chinese)
- [12] Gu X-Y(顾兴友), Mei M-T(梅曼彤), Yan X-L(严小龙), Zheng S-L(郑少玲), Lu Y-G(卢永根). Preliminary detection of quantitative trait loci for salt tolerance in rice. *China J Rice Sci* (中国水稻科学), 2000, 14(2): 65-70 (in Chinese with English abstract)
- [13] Prasad S R, Bagali P G, Hitalmani S, Shashidhar H E. Molecular mapping of quantitative trait loci associated with seedling tolerance to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Curr Sci*, 2000, 78: 162-164
- [14] Koyama M L, Levesley A, Koebner R M D, Flowers T J, Yeo A R. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiol*, 2001, 125: 406-422
- [15] Lang N T, Masood S, Yanagihara S, Bui B C. Mapping QTLs for salt tolerance in rice. In: Khush G S, Brar D S, Hardy B eds. Advances in Rice Genetics. Supplement to Rice Genetics IV. Proceedings of the Fourth International Rice Genetics Symposium, 22-27 October 2000. Los Banos, Philippines: IRRI, 2003, pp 294-298
- [16] Takehisa H, Shimodate T, Fukuta Y, Ueda T, Yano M, Uamaya T, Kamaya T, Sato T. Identification of quantitative trait loci for plant growth in rice in paddy field flooded with salt water. *Field Crops Res*, 2004, 89: 85-95
- [17] Lin H X, Zhu M Z, Yano M, Gao J P, Liang Z W, Su W A, Hu X H, Ren Z H, Chao D Y. QTLs for Na⁺ and K⁺ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 253-260
- [18] Ren Z H, Gao J P, Li L G, Cai X L, Huang W, Chao D Y, Zhu M Z, Wang Z Y, Luan S H, Lin H X. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat Genet*, 2005, 37: 1141-1146
- [19] Yeo A R, Flowers T J. Salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. *Aust J Plant Physiol*, 1986, 13: 161-173
- [20] Flowers T J, Koyama M L, Flowers S A, Sudhakar C, Singh K P, Yeo A R. QTL: their place in engineering tolerance of rice to salinity. *J Exp Bot*, 2000, 51: 99-106
- [21] Yeo A R, Flowers T J. Mechanisms of salinity resistance in rice and their role as physiological criteria in plant breeding. In: Staples R C, Toennissen C A eds. Salinity Tolerance in Plants Strategies for Crop Improvement. New York: John Wiley, 1984, pp 93-123
- [22] Yoshida S, Forno D A, Cook J H, Gomez K A. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. 3rd edn. Manila, Philippines: IRRI, 1976, pp 1-83
- [23] IRRI. Standard Evaluation System for Rice. IRRI, Manila, Philippines, 1996
- [24] Tenmykh S, Declercq G, Lukashova A, Lipovich I, Cartinour S, McCouch S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Res*, 2001, 11: 1441-1452
- [25] Xu J L, Lafitte H R, Gao Y M, Fu B Y, Torres R, Li Z K. QTLs for drought avoidance and tolerance identified in a set of random introgression lines of rice. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 1642-1650
- [26] Tankley S D, Nelson J C. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 191-203
- [27] Gu X-Y(顾兴友), Zheng S-L(郑少玲), Yan X-L(严小龙), Yang C(杨崇), Lu Y-G(卢永根). Influence of salinity levels on variability of salt tolerance indices in rice seedlings. *J South China Agric* (华南农业大学学报), 1998, 19(1): 30-34 (in Chinese with English abstract)
- [28] Gu X-Y(顾兴友), Yan X-L(严小龙), Zheng S-L(郑少玲), Lu Y-G(卢永根). Influence of salinity on genetic variation of agronomic traits in rice. *Sci Agri Sin* (中国农业科学), 1999, 32(1): 1-7 (in Chinese with English abstract)
- [29] Eshed Y, Zamir D. Introgressions from *Lycopersicon pennellii* can improve the soluble-solids yield of tomato hybrids. *Theor Appl Genet*, 1994, 88: 891-897
- [30] Kurata N, Nagamura Y, Yamamoto K, Harushima Y, Sue N, Wu J, Antonio B A, Shomura A, Shimizu T, Lin S Y, Inoue T, Fukuda A, Shimano T, Kuboki Y, Toyama T, Miyamoto Y, Kirihara T, Hayasaka K, Miyao A, Monna L, Zhong H S, Tamura Y, Wang Z X, Momma T, Uemehara Y, Yano M, Sasaki T, Minobe Y. A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nat Genet*, 1994, 8: 365-372
- [31] Ware, D, Jainwal P, Ni J, Pan X, Chang K, Clark K, Teytelman L, Schmidt S, Zhao W, Cartinour S, McCouch S, Stein L. Gramene: a resource for comparative grass genomics. *Nucl Acid Res*, 2002, 30: 103-105
- [32] Qian Q, Yanagihara S, Teng S, Zeng D L, Zhu L H, Chen S Y. Isolation, expression characteristics and chromosomal locations of three cDNA fragments under salt stress in rice. *Acta Bot Sin* (植物学报), 2003, 45(9): 1090-1095
- [33] Veldboom I R, Lee M, Woodman W L. Molecular-marker facilitated studies in an elite maize population: I. Linkage analysis and determination of QTLs for morphological traits. *Theor Appl Genet*, 1994, 88: 7-16
- [34] Lin H X, Qian H R, Zhuang J Y, Lu J, Min S K, Xiong Z M, Huang N, Zheng K L. RFLP mapping of QTLs for yield and related characters in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 920-927
- [35] Xiao J, Yuan L P, Tankley S D. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 230-244
- [36] Yeo A R, Yeo M E, Flowers T J. Selection of lines with high and low sodium transport from within varieties of an inbreeding species: rice (*Oryza sativa* L.). *New Phytol*, 1988, 110: 13-19
- [37] Garcia A, Rizzo C A, Ud-Din J, Bartos S L, Senadhira D, Flowers T J, Yeo A R. Sodium and potassium transport to the xylem are inherited independently in rice, and the mechanism of sodium: potassium selectivity differs between rice and wheat. *Plant Cell Environ*, 1997, 20: 1167-1174
- [38] Yan B(晏斌), Wang Z-L(汪宗立), Sodium ion distribution in rice seedlings and varietal salt tolerance. *Jiangsu J Agric Sci* (江苏农业科学), 1994, 10(1): 1-6 (in Chinese with English abstract)
- [39] Yeo A R, Flowers T J. Selection for physiological characters—examples from breeding for salt tolerance. In: Jones H G, Flowers T J, Jones M B eds. Plants Under Stress. Cambridge: Cambridge University Press, 1989, pp 217-234
- [40] Yeo A R, Flowers T J. Accumulation and localization of sodium ions within the shoots of rice (*Oryza sativa*) varieties differing in salinity resistance. *Physiol Plant*, 1982, 56: 343-348
- [41] Tankley S D, McCouch S R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 1997, 277: 1063-1066
- [42] Xiao J, Grandillo S, Ahn S N, McCouch S R, Tankley S D. Genes from wild rice improve yield. *Nature*, 1996, 384: 223-224
- [43] He G M, Luo X J, Tian F, Li K K, Zhu Z F, Su W, Qian X Y, Fu Y C, Wang X K, Sun C Q, Yang J S. Haplotype variation in structure and expression of a gene cluster associated with a quantitative trait locus for improved yield in rice. *Genome Res*, 2006, 16: 618-626
- [44] Lee S Y, Ahn J H, Cha Y S, Yun D W, Lee M C, Ko J C, Lee K S, Eun M Y. Mapping of quantitative trait loci for salt tolerance at the seedling stage in rice. *Mol Cells*, 2006, 21: 192-196
- [45] Li Z K, Fu B Y, Gao Y M, Xu J L, Ali L, Lafitte H R, Jiang T Z, Rey J D, Vijayakumar C H M, Maghirang R, Zheng T Q, Zhu L H. Genome-wide introgression lines and a forward genetics strategy for functional genomic research of complex phenotypes in rice. *Plant Mol Biol*, 2005, 59: 33-52
- [46] Xu J-L(徐建龙), Gao Y-M(高用明), Fu B-Y(傅彬英), Li Z-K(黎志康). Identification and screening of favorable genes from rice germplasm in backcross introgression populations. *Mol Plant Breed* (分子植物育种), 2005, 3(5): 619-628 (in Chinese with English abstract)
- [47] Ali A J, Xu J L, Ismail A M, Fu B Y, Vijayakumar C H M, Gao Y M, Domingos J, Maghirang R, Yu S B, Gregorio G, Yanagihara S, Cohen M, Carmen B, Mackill D, Li Z K. Hidden diversity for abiotic and biotic stress tolerances in the primary gene pool of rice revealed by a large backcross breeding program. *Field Crops Res*, 2006, 97: 66-76
- [48] Xu Y. Quantitative trait loci: separating, pyramiding, and cloning. *Plant Breed Rev*, 1997, 15: 85-139