

与水稻耐逆性相关的叶片丙二醛含量的 QTL 分析

蒋 靛¹ 庄杰云² 樊叶杨² 沈 波^{1,*}

(¹杭州师范大学 生命与环境科学学院, 浙江 杭州 310036; ²中国水稻研究所 国家水稻改良中心/水稻生物学国家重点实验室, 浙江 杭州 310006; * 通讯联系人, E-mail: bshen65@hznc.com)

QTL Mapping for Leaf Malondialdehyde Content Associated with Stress Tolerance in Rice

JIANG Jing¹, ZHUANG Jieyun², FAN Yeyang², SHEN Bo^{1,*}

(¹ College of Life and Environment Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China; ² National Center for Rice Improvement/ State Key Laboratory of Rice Biology, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; * Corresponding author, E-mail: bshen65@hznc.com)

Abstract: Malondialdehyde (MDA) is the final product of lipid peroxidation, and its content can reflect stress tolerance of plants. By employing a recombination inbred line (RIL) population involving 247 lines derived from an indica indica cross Zhenshan 97B × Milyang 46, a linkage map consisting of 207 DNA markers was used for genetic analysis and gene mapping of malondialdehyde (MDA) content in rice leaves. The MDA content in the RIL population showed transgressive segregation. Two QTLs for MDA content of rice leaves were detected at intervals RG532 - RG811 and RG381 - RG236 on chromosome 1, accounting for 4.33% and 4.62% of phenotypic variation. Their additive effects were from both of parents.

Key words: rice; leaf malondialdehyde content; quantitative trait loci

摘要: 丙二醛 (MDA) 是膜脂过氧化的终产物, 其含量可用来反映植物对逆境条件的反应强弱。利用由 247 个株系组成的珍汕 97B/密阳 46 重组自交系 (RIL) 群体及其分子标记连锁图谱, 检测了控制水稻丙二醛 (MDA) 含量的数量性状基因座位 (QTL)。所测性状在 RIL 群体中出现超亲分离。在第 1 染色体的 RG532 - RG811 和 RG381 - RG236 标记区间, 共检测到 2 个控制水稻叶片 MDA 含量的 QTL, 加性效应分别来自母本珍汕 97B 和父本密阳 46, 贡献率分别为 4.33% 和 4.62%。

关键词: 水稻; 叶片丙二醛含量; 数量性状座位

中图分类号: Q943.2; Q945.78; S511.03

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2007)04-0436-03

植物体内的自由基反应及由此引起的脂质过氧化问题对植物物质代谢具有重要的作用, 一直是研究者关注的热点^[1]。在长期进化过程中植物形成了完善和复杂的酶类 (如超氧化物歧化酶) 和非酶类 (如抗坏血酸等) 抗氧化保护系统来清除活性氧, 从而使植物在正常生长条件下, 自由基的产生和清除处于动态平衡状态, 表现出对氧化胁迫的抗性^[2]。实验表明, 在胁迫或叶片衰老过程中, 水稻体内对抗活性氧毒害的内源保护酶类的活力下降, 细胞内氧自由基大量存在, 形成许多的过氧化产物, 如丙二醛 (MDA)^[3-6]。

丙二醛是细胞内膜脂过氧化或脱脂产物的一种, 它能交联脂类、核酸、糖类及蛋白质, 强烈地与细胞内各种成分发生反应, 降低膜中不饱和脂肪酸含量, 降低膜电阻及膜的流动性, 增加电解质泄漏量, 改变质膜的结构和功能, 从而引起一系列生理代谢的变化^[7-8]。

近 10 余年来, 分子生物学技术的快速发展和渗透, 使数量性状的遗传剖析成为现实^[9], DNA 分子标记及其分子连锁图谱已成为定位单个 QTL 的有效方法和工具。目前大量的 QTL 分析已应用于不同作物定位控制生理性状的 QTL^[10], 但是将水稻的遗传特性和生物化学特性结合在一起的 QTL 分析还很少^[11]。

本研究应用珍汕 97B/密阳 46 重组自交系群体, 对水稻幼苗叶片 MDA 含量进行了遗传分析和基因定位。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻 (*Oryza sativa* L.) 珍汕 97B/密阳 46 的重组自交系

(recombinant inbred lines, RIL) 群体由 247 个株系组成。2004 年春, 将亲本和 RIL 群体种植于中国水稻研究所富阳实验基地 2 个重复, 每个重复种植亲本和 RIL 12 株, 株行距 17 cm × 20 cm, 常规田间管理。当幼苗生长到 6 叶期时, 剪取叶片, 冷冻保存。

1.2 叶片丙二醛含量的测定

参照李柏林等^[12]的方法测定叶片丙二醛含量。取 1 g 稻叶剪碎, 加 8 mL 0.05 mol/L (pH 7.8) 的磷酸缓冲液, 冰浴中研磨, 在 4、15 000 r/min 下离心 30 min, 稀释 5 倍后用于丙二醛含量的测定。取 1.5 mL MDA 提取液加入 2.5 mL 0.5% 硫代巴比妥酸 (溶于 20% 三氯乙酸) 溶液, 沸水浴中煮沸 15 min, 迅速冷却过滤。测定滤液在 532 nm 和 600 nm 处的吸光值, 按 $155 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 消光系数计算丙二醛的含量 (mmol/g, 以鲜质量计)。

1.3 QTL 分析

利用该 RIL 群体业已构建的包括 207 个分子标记的遗传图谱^[13], 采用复合区间作图法原理设计的软件 QTL MAPPING 1.6^[14] 检测控制 MDA 含量的主效应 QTL, 以 $P < 0.005$ 和 $\text{LOD} > 3.0$ 为阈值来判断 QTL 的存在, 并计算它对性状的贡献率和加性效应。QTL 的命名采用 McCouch 等^[15] 的规则。

收稿日期: 2006-12-18; 修改稿收到日期: 2007-03-21。

基金项目: 农业部超级稻资助项目 (2006 6); 浙江省重点项目 (2003G10028); 中国博士后科学基金资助项目 (2003034232)。

第一作者简介: 蒋 靛 (1982 -), 女, 硕士研究生。

2 结果与分析

2.1 性状表型及其变化

RIL 群体中水稻叶片的 MDA 含量表现为正态分布(图 1), 变异幅度大, 呈现双向超亲分离, 表明 MDA 含量为多基因控制的数量性状, 符合 QTL 作图的要求。

2.2 主效应 QTL 检测

共检测到 2 个控制 MDA 含量的主效应 QTL(表 1, 图 2), 均位于第 1 染色体上, 其相应的染色体标记区间分别为 RG532-RG811 和 RG381-RG236, 对表型变异的贡献率分别为 4.33% 和 4.62%, 联合贡献率为 8.95%。*qMDA-1a* 和 *qMDA-1b* 的加性效应分别为 -0.0061 和 0.0063, 两者的效应值相近, 但方向相反, 表明它们的增效等位基因分别来自母本珍珠油 97B 和父本密阳 46。

3 讨论

MDA 是膜脂过氧化的终产物, 其含量常被作为细胞膜损伤程度大小的生理指标和脂质过氧化指标, 反映细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱^[16-17]。目前国内对于 MDA 的研究大多侧重于生理生化水平。华春等^[18]研究了杂交水稻及其三系叶片在衰老过程中 MDA 含量的变化, 发现随着叶片的衰老, MDA 的含量逐渐增加。在盐胁迫下, MDA 的含量会随着盐浓度的增大而升高^[19]。而在生长阶段中抗氧化酶和 MDA 含量的改变与土壤及植株中水分变化的一致性, 表明了抗氧化机制和脂类过氧化反应可以反映田间植株水分胁迫的情况^[20]。Jiao 等^[21]在转玉米 *PEPC* 基因水稻中发现, 玉米 *PEPC* 基因的过量表达促进了光合活性, 或者是促进光抑制下受抑制的 C₄ 循环, 导致膜脂过氧化反应产生的 MDA 含量减少。在光抑制下, 低 MDA 含量有利于光氧化的保护系统。

本研究利用 RIL 群体成功地检测到控制水稻叶片 MDA 含量的 2 个 QTL, 位于第 1 条染色体的 RG532-RG811 和 RG381-RG236 的两个标记区间, 增效基因分别来自双亲, 且效应值相近, 说明双亲都有控制膜脂过氧化反应的基因。但这 2 个 QTL 的联合贡献率仅为 8.95%, 说明水稻叶片 MDA 含量是由微效 QTL 控制的。此定位结果进一步地与抗氧化保护酶系统的定位结合在一起, 将有助于深入了解水稻抗氧化胁迫的遗传机制。

近年来, 随着 QTL 定位研究的发展, 考查的性状逐步扩展, 从农艺、产量性状深入到生理、生化、酶活性等性状。特别是将生化表型与相关的形态、产量、生理性状及基因的表达信息结合在一起, 将有利于较全面地认识水稻代谢网络的遗传机制, 并运用于分子标记辅助育种。

表 1 RIL 群体中控制 MDA 含量的主效应 QTL

Table 1. Main effect QTL for MDA content in the RIL population.

染色体 Chromosome	标记区间 Interval	数量性状座位 QTL	LOD 值 LOD value	加性效应 ¹⁾ A ¹⁾	贡献率 Variance explained/%
1	RG532-RG811	<i>qMDA-1a</i>	7.14	-0.0061	4.33
1	RG381-RG236	<i>qMDA-1b</i>	5.42	0.0063	4.62

¹⁾ 加性效应, 即一个父本等位基因取代母本等位基因的效应。

¹⁾ Additive effect, the genetic effect when a maternal allele is replaced by a paternal one.

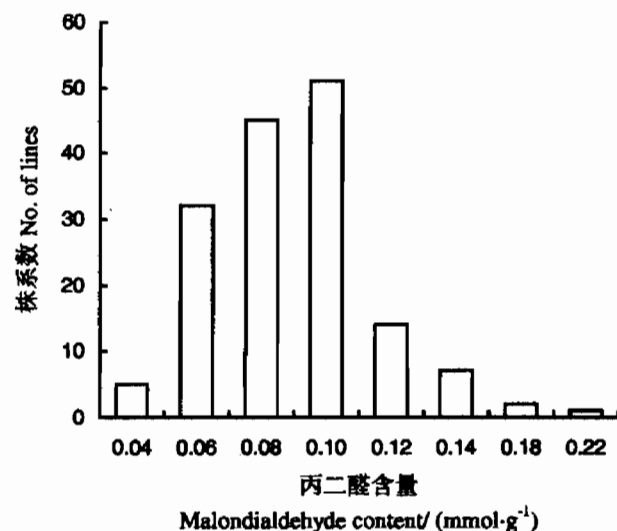


图 1 RIL 群体中水稻幼苗叶片的 MDA 含量

Fig. 1. MDA content of rice leaves in the RIL population.

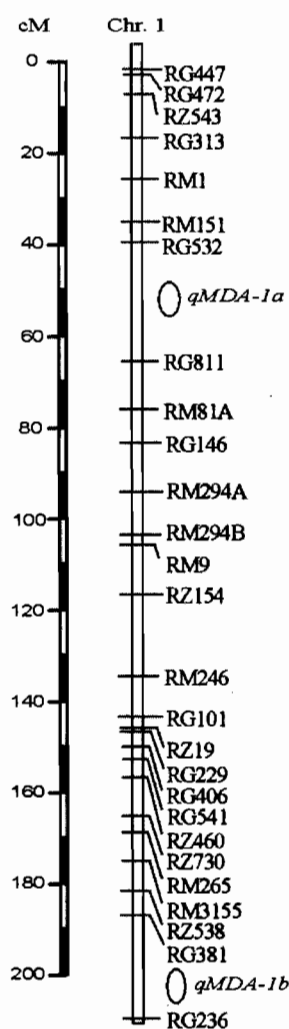


图 2 水稻叶片 MDA 含量 QTL 在遗传图谱上的位置

Fig. 2. Location of QTL for MDA content of rice leaves in the genetic map.

参考文献:

- [1] 沈成国. 植物衰老生理与分子生物学. 北京: 中国农业出版社, 2001: 30-41.
- [2] Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem*, 1989, 58: 79-110.
- [3] 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. *植物学报*, 1984, 26(6): 605-615.
- [4] Bowler C, van Camp W, van Montagu M, et al. Superoxide dismutase in plants. *Crit Rev Plant Sci*, 1994, 13: 199-218.
- [5] 段俊, 梁承邨, 黄毓文. 杂交水稻开花结实期间叶片衰老. *植物生理学报*, 1997, 23(2): 139-144.
- [6] 沈波. 亚种间杂交组合灌浆期叶片衰老生理研究. *上海农业学报*, 2003, 19(4): 21-24.
- [7] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiol*, 1993, 101: 7-12.
- [8] 许振柱, 于振文, 董庆裕, 等. 水分胁迫对冬小麦旗叶细胞质膜及叶肉细胞超微结构的影响. *作物学报*, 1997, 23(3): 370-375.
- [9] Xu Y B. Global view of QTL: Rice as a model//Kang M S. Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding. Oxford Shire: CAB International, 2002: 109-134.
- [10] Yano M, Sasaki T. Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. *Plant Mol Biol*, 1997, 35: 145-153.
- [11] Obara M, Kajimura M, Fukuta Y, et al. Mapping of QTLs associated with cytosolic glutamine synthetase and NADH-glutamate synthase in rice. *J Exp Bot*, 2001, 52(359): 1209-1217.
- [12] 李柏林, 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系. *植物生理学报*, 1989, 15(1): 6-12.
- [13] 沈波, 庄杰云, 张克勤, 等. 水稻叶绿素含量的 QTL 及其与环境互作分析. *中国农业科学*, 2005, 38(10): 1937-1943.
- [14] Wang D L, Zhu J, Li Z K, Paterson A H. QTL Mapper Version 1.6. Hangzhou: Zhejiang University, Texas A & M University, 2003.
- [15] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, et al. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet NewsL*, 1997, 14: 11-13.
- [16] 史跃林, 罗庆熙, 刘佩瑛. Ca^{2+} 对盐胁迫下黄瓜幼苗 CaM、MDA 含量和质膜透性的影响. *植物生理学通讯*, 1995, 31(5): 347-349.
- [17] Cheng F Y, Shi H Y, Kao C H. Nitric oxide counteracts the senescence of detached rice leaves induced by dehydration and polyethylene glycol but not by sorbitol. *Plant Growth Regul*, 2002, 38: 265-272.
- [18] 华春, 王仁雷. 杂交稻及其三系叶片超氧化物歧化酶、过氧化氢酶及丙二醛含量在衰老期间的变化. *西北植物学报*, 2003, 23(3): 406-409.
- [19] 王洪春. 植物抗性生理. *植物生理学通讯*, 1981(6): 72-81.
- [20] Liang Y C, Hu F, Yang M C, et al. Antioxidative defenses and water deficit induced oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.) growing on non-flooded paddy soils with ground mulching. *Plant & Soil*, 2003, 257: 407-416.
- [21] Jiao D M, Li X, Ji B H. Photoprotective effects of high level expression of C_4 phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice during photoinhibition. *Photosynthetica*, 2005, 43(4): 501-508.