

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2008.01719

## 水稻芽期与幼苗前期耐碱性状 QTL 定位

程海涛<sup>1,2</sup> 姜华<sup>2</sup> 薛大伟<sup>2,3</sup> 郭龙彪<sup>2</sup> 曾大力<sup>2</sup> 张光恒<sup>2</sup> 钱前<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup> 沈阳农业大学农学院 / 水稻生物学国家重点实验室, 辽宁沈阳 110161; <sup>2</sup> 中国水稻研究所水稻生物学国家重点实验室, 浙江杭州 310006; <sup>3</sup> 浙江大学农业与生物技术学院农学系, 浙江杭州 310029)

**摘要:** 利用包含 120 个株系的籼粳交来源(春江 06/TN1)的加倍单倍体群体, 在 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 胁迫下, 以发芽期和幼苗前期的相对发芽势等 10 个性状作为耐碱性评价指标, 进行水稻耐碱性的 QTL 定位。相关性分析表明, 相对发芽势和相对发芽率显著正相关, 相对苗高、相对根数和相对根长之间显著正相关。采用 QTLNetwork 统计软件共定位到 14 个加性 QTL 和 13 个上位性 QTL。在第 3 染色体 RM251~RM3280 间有 2 个 QTL, 在第 7 染色体 RM3286~RM1279 区域有 3 个 QTL; 在第 1、2 和 7 染色体同一位置同时检测到 2 个上位性 QTL, 在第 12 染色体 RM1246~RM5199 之间集中了 4 个上位性 QTL, 耐碱数量基因表现出一因多效或紧密连锁现象。耐碱性盐 QTL 可能包括两类, 一类与 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>等离子胁迫有关, 另一类与高 pH 胁迫有关。不同类型的水稻品种都具有有一些耐碱基因, 可以通过有性杂交和分子标记辅助选择的方法选育优良的耐碱品种。

**关键词:** 水稻; 碱性盐胁迫; 数量基因座位; DH 群体

## Mapping of QTLs Underlying Tolerance to Alkali at Germination and Early Seedling Stages in Rice

CHENG Hai-Tao<sup>1,2</sup>, JANG Hua<sup>2</sup>, XUE Da-Wei<sup>2,3</sup>, GUO Long-Biao<sup>2</sup>, ZENG Da-Li<sup>2</sup>, ZHANG Guang-Heng<sup>2</sup>, and QIAN Qian<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup> College of Agronomy, Shenyang Agricultural University / State Key Laboratory of Rice Biology, Shenyang 110161, Liaoning; <sup>2</sup> State Key Laboratory of Rice Biology, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, Zhejiang; <sup>3</sup> Department of Agronomy, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, Zhejiang, China)

**Abstract:** A double haploid (DH) population including 120 lines derived from a cross between *indica* rice (*Oryza sativa* L.) TN1 and *japonica* rice CJ06 was used to detect quantitative trait loci (QTLs) for 10-trait relative values of alkali damage at germination period and early seedling stage under 0.15% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> stress. Correlation analyses showed that alkali damage rate in germination period (ADG) had significant positive correlation with relative germination energy (RGE), relative germination rate (RGR) and relative germination index (RGI), and alkali damage rate at early seedling stage (ADS) had significantly correlation with relative seedling height (RSH), relative root length (RRL), relative root number (RRN) and relative seedling dry weight (RDW). ADG and ADS can be used as evaluation indexes of alkaline tolerance in rice. By using QTLNetwork 2.0 software, 14 additive QTLs and 13 epistatic QTLs controlling the tolerance to alkali were mapped. Two main effect QTLs were detected in same region, RM251–RM3280, on chromosome 3, and three main effect QTLs were mapped between RM3286 and RM1279 on chromosome 7. Epistasis analysis showed that some epistatic loci, like RM1–RM1195, RM1358–RM290, RM1279–RM505, and RM1246–RM519 on chromosome 1, 2, 7, and 12 respectively were important under alkali stress, included two or more epistatic QTLs, indicating that the QTLs displayed their effects through different ways of interaction. Among the key loci under alkali stress one may be pleiotropic or some closely linked each other. Comparing QTLs with those found in other researches, some alkali resistance QTLs were likely to be in the same region with some salt resistance QTLs. A presume was made that QTLs in this article

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA10A102, 2006AA10Z1A9); 浙江省自然科学基金项目(R306302)

作者简介: 程海涛(1976–), 男, 博士研究生, 研究方向: 作物生物技术

\*通讯作者(Corresponding author): 钱前(1962–), 男, 研究员。Tel: 0571-63371418; E-mail: qianqian188@hotmail.com

Received(收稿日期): 2008-01-15; Accepted(接受日期): 2008-05-05.

might include two types, one for resistance to ions ( $K^+$  or  $Na^+$ ) stress and other for resistance to high pH stress, the latter may play an important role for tolerance to alkali. Many rice varieties have different resistance QTLs for alkali stress; we can pyramid them through marker-assistant selection to breed varieties suitable to growth in saline-alkalized land.

**Keywords:** Rice; Alkali stress; Quantitative trait locus; Double haploid population

土地盐碱化问题在世界范围内普遍存在,且随着人类对环境的破坏而日益加剧。据统计,世界盐碱地面积约占全球陆地面积的 7.6%,其中包括约 1/5 不同程度盐碱化的耕地<sup>[1]</sup>。在我国,盐碱地面积约为 9 000 万公顷,而盐碱耕地面积超过 670 万公顷。由于不合理灌溉、施肥及环境恶化等因素的影响,盐碱化耕地的面积还在不断增加,已经对我国的粮食生产造成重大影响。作为我国最重要的粮食作物,水稻种植地也面临着盐碱化问题日益加剧,耕地面积日益减少的局面,而且水稻在高盐碱条件下发芽率显著降低,幼苗生长缓慢,穗数和千粒重等指标降低,单位面积产量下降严重<sup>[2-4]</sup>;因此只有让水稻具有一定的盐碱耐受性,才能使我国的粮食安全得以保障。这就需要我们进一步加强对水稻耐盐碱性的研究,深化对水稻耐盐碱性机理的认识;同时改良现有栽培品种的盐碱耐受性,筛选并培育更多的耐盐碱水稻新品种。

盐碱胁迫会造成植物细胞膜损伤、光合作用减弱、营养水分亏缺,常表现为生理干旱、生长迟缓或夭亡。同时,植物对盐碱胁迫也存在一定的适应性,通过渗透调节、离子区域化、运转蛋白调节、抗氧化等机制来增加对盐碱的耐性。经典遗传研究认为水稻耐盐碱性是多个耐盐碱生理反应的综合表现,是受多个基因调控的数量性状,存在加性和上位性效应,也可能存在主效基因<sup>[5-10]</sup>。目前,对水稻耐盐碱性的研究主要集中于耐盐碱品种资源的筛选和抗性机制,且主要关注水稻对中性盐的耐受性,而对耐碱性盐的研究非常少,特别是相关性状的 QTL 分析和基因克隆研究还未见报道。

许多研究都表明水稻对碱性盐更为敏感,尤其是在高 pH 值盐胁迫条件下其受害程度要高于中性盐环境下。发芽期和幼苗期是最容易受碱害的生长时期<sup>[11-14]</sup>,因此对水稻该时期耐碱性盐的研究可以更好地反应其对盐碱的耐受性。本研究采用典型粳粳交  $F_1$  进行花药培养产生的加倍单倍体(DH)群体及其构建的分子连锁图谱,在碱性盐条件下,以多个性状的碱害相对值(相对碱害率)作为耐碱指标,对水稻发芽期和幼苗前期的耐碱遗传特性进行研究,

并定位了相关性状的 QTL,这为水稻耐盐碱性种质资源的筛选和改良提供了可以利用的辅助选择标记;并为进一步阐明水稻耐碱性的分子机理打下基础,对保障我国粮食生产的稳定也具有重要的理论及现实意义。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

利用 1 个典型的粳稻品种春江 06 (CJ06)和 1 个典型籼稻品种台中本地 1 号(TN1)为亲本进行杂交。对  $F_1$  代进行花药离体培养,再经自然加倍或用秋水仙素处理,共获得纯合二倍体(DH 系) 200 余个。选取其中适合构建分子连锁图谱的加倍单倍体群体 120 个株系<sup>[15]</sup>。

### 1.2 种子发芽处理

每株系挑选 100 粒饱满的种子,平均分为两份,分别置两个垫有发芽纸的培养皿中,并用记号笔于培养皿上对应标号。用 3%的次氯酸钠溶液消毒 20 min,然后用蒸馏水冲洗 3 次。再在其中一个培养皿里加入 0.15%  $Na_2CO_3$  溶液 10 mL,另一份则加入等量蒸馏水,加盖后放入 30℃恒温箱中催芽<sup>[16]</sup>;每天定时更换一次碱液和蒸馏水。设 2 次重复。

### 1.3 性状调查

碱胁迫处理后每天调查种子发芽粒数,并计算发芽势、发芽率、发芽指数(水稻种子发芽标准为幼根不短于种子长度,幼芽不短于种子长度的一半<sup>[17]</sup>)。7 d 后将装有发芽种子的培养皿置阳光充足、温度为 25~30℃的环境中。3 d 后每个处理随机选取 10 株,测量其根数、根长和苗高,并称量苗干重。

### 1.4 碱害相对值的计算

根据调查结果中两次重复的平均值计算各性状的碱害相对值(也称相对碱害率)。包括相对发芽势(relative germination energy, RGE)、相对发芽率(relative germination rate, RGR)、相对发芽指数(relative germination index, RGI)、相对根数(relative root number, RRN)、相对根长(relative root length, RRL)、相对苗高(relative seedling height, RSH)、相对苗干重(relative seedling dry weight, RDW)、相对

活力指数(relative vigor index, RVI)、发芽期碱害率(alkali damage rate in germination period, ADG)、幼苗前期碱害率(alkali damage rate at early seedling stage, ADS)<sup>[16]</sup>。计算公式如下:

$$\text{发芽势} = \frac{3 \text{ d内发芽种子粒数}}{\text{供试种子总粒数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽率} = \frac{7 \text{ d内发芽种子粒数}}{\text{供试种子总粒数}} \times 100\%$$

发芽指数 =  $\sum \frac{Gt}{Dt}$  [Gt: 在不同时间(7 d)的发芽数; Dt: 发芽日数]

活力指数 =  $GI \times S$  [S: 定时期内幼苗长度(cm); GI: 发芽指数]

相对性状值(%) = [(目标性状对照值-目标性状处理值)/目标性状对照值] × 100%

发芽期碱害率(%) = (相对发芽势+相对发芽率+相对发芽指数)/3 × 100%

幼苗前期碱害率(%) = (相对根数+相对根长+相对苗高+相对苗干重)/4 × 100%

### 1.5 QTL 分析

由 CJ06/TN1 构建的 DH 群体所构建的图谱共包括 177 个 SSR 标记, 覆盖 1 670.92 cM, 平均图谱距离为 9.44 cM, 适合 QTL 区间作图<sup>[15]</sup>。利用已构建的 DH 群体的遗传图谱, 采用 QTLNetwork2.0 软件(<http://ibi.zju.edu.cn/software/qtlnetwork>)对水稻芽期和幼苗前期耐碱性相关指标进行 QTL 分析<sup>[18]</sup>。全基

因组扫描的显著性水平(P)设置为 0.05,同时计算每个 QTL 的贡献率和加性效应, 并对相关 QTL 的上位性进行分析。遵循 McCouch 等<sup>[19]</sup>的 QTL 命名原则。

## 2 结果与分析

### 2.1 双亲及 DH 群体耐碱性表现

以各个性状的碱害相对值(亦称相对碱害率)作为耐碱指标, 相对值越小耐碱性越强。由表 1 可以看出所有性状相对值在双亲间都存在一定差异, *t* 测验表明, 除相对发芽率和相对发芽指数外其他性状双亲间差异均达到显著水平, 其中双亲间的相对根数、相对苗高和幼苗前期碱害率差异较大。总体说来, TN1 在发芽期耐碱性强于 CJ06(发芽期碱害率分别为 8.08±1.05 和 1.54±1.87), 而 CJ06 在幼苗前期对碱的耐受性则要显著强于 TN1(幼苗前期综合相对碱害率分别为 19.92±1.59 和 5.13±1.79)。水稻发芽期和幼苗前期对碱胁迫的反应在不同性状间和不同发育时期都存在着差异, 说明水稻耐碱性可能涉及多个途径的不同基因。对 DH 群体各性状指标进行统计分析发现, 群体中各指标在株系间差异明显, 且呈连续正态分布, 并呈现一定的超亲遗传, 且 DH 群体内分离广泛, 符合 QTL 作图要求, 适于 QTL 分析。

### 2.2 耐碱性状间的相关分析

相关性分析表明多个性状的碱害相对值间存在显著和极显著相关(表 2)。相对发芽势、相对发芽率和相对发芽指数这 3 个发芽期性状间存在显著或极

表 1 双亲及 DH 群体的耐碱性状表现

Table 1 Relative alkali damage rate for 10 traits in two parents and their DH population

| 性状<br>Trait | 亲本 Parent     |                 |                               | DH 群体 DH population |             |             |           |                 |                |
|-------------|---------------|-----------------|-------------------------------|---------------------|-------------|-------------|-----------|-----------------|----------------|
|             | 春江 06<br>CJ06 | 台湾本地 1 号<br>TN1 | <i>t</i> 测验<br><i>t</i> -test | 平均数<br>Mean         | 最大值<br>Max. | 最小值<br>Min. | 标准差<br>SD | 偏斜度<br>Skewness | 峰度<br>Kurtosis |
| 相对发芽势 RGE   | 19.95±2.83    | 2.04±2.89       | 6.27*                         | 30.90               | 94.12       | -13.33      | 25.68     | 0.46            | -0.71          |
| 相对发芽率 RGR   | -1.04±1.47    | 1.00±1.41       | 1.41                          | -0.77               | 38.10       | -63.64      | 9.61      | -1.24           | 2.78           |
| 相对发芽指数 RGI  | 5.35±1.79     | 1.58±1.32       | 2.40                          | 7.78                | 39.01       | -47.25      | 10.63     | -0.99           | 7.81           |
| 相对苗高 RSH    | 6.39±2.56     | 23.94±0.96      | 9.07*                         | 10.16               | 50.74       | -31.36      | 14.93     | -0.05           | 0.17           |
| 相对根长 RRL    | 15.80±2.80    | 34.46±3.61      | 5.77*                         | 31.21               | 78.15       | -55.14      | 32.93     | -0.67           | -0.12          |
| 相对根数 RRN    | 2.19±1.47     | 30.46±2.67      | 13.11**                       | 11.39               | 59.09       | -31.75      | 17.48     | 0.27            | 0.29           |
| 相对苗干重 RDW   | -3.85±0.32    | -9.17±1.03      | 6.97*                         | -4.12               | 13.83       | -27.21      | 7.40      | -0.50           | 1.25           |
| 相对活力指数 RVI  | 11.37±4.10    | 25.15±0.06      | 4.76*                         | 17.10               | 69.15       | -24.97      | 16.35     | 0.09            | 0.63           |
| 发芽期碱害率 ADG  | 8.08±1.05     | 1.54±1.87       | 4.31*                         | 12.64               | 49.11       | -36.96      | 13.20     | -0.02           | 1.81           |
| 幼苗前期碱害率 ADS | 5.13±1.79     | 19.92±1.59      | 8.74*                         | 12.16               | 40.34       | -20.05      | 12.13     | -0.05           | -0.34          |

\*和\*\*分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著 ( $t_{0.05} = 4.30, t_{0.01} = 9.92$ )。

\* and \*\*: significantly different at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively ( $t_{0.05} = 4.30, t_{0.01} = 9.92$ ).

RGE: relative germination energy; RGR: relative germination rate; RGI: relative germination index; RSH: relative seedling height; RRL: relative root length; RRN: relative root number; RDW: relative seedling dry weight; RVI: relative vigor index; ADG: alkali damage rate in germination period; ADS: alkali damage rate at early seedling stage.

显著正相关,说明碱胁迫对发芽速度和发芽率都有影响,致使水稻出芽缓慢,出芽率降低;在苗期,相对苗高、相对根长、相对根数呈极显著正相关,而这 3 个性状与相对苗干重呈显著或极显著负相关,在水稻遭受碱害时,尽管苗高降低、根数减少,同时根长缩短,但苗干物质积累却是增加的,这很可能是在高离子浓度胁迫下,大量离子在植株体内富集的结果。发芽期碱害率与发芽期各性状相对值极显

著相关,幼苗前期碱害率与苗期的各个性状相对值显著相关,因此,这 2 个时期的综合碱害率可以分别作为水稻发芽期和幼苗前期的耐碱性评价指标。活力指数与所有性状表现高度相关,也可以作为水稻发芽期和幼苗前期综合耐碱性评价指标。以上结果说明在碱胁迫下多个性状表现可能受相同的基因调控,或是调控不同性状的基因座位紧密连锁,也可能存在不同基因间的互作。

表 2 DH 群体碱害相对值的相关分析  
Table 2 Correlation among relative values of alkali damage in DH populations

| 性状<br>Trait | 相对发芽势<br>RGE | 相对发芽率<br>RGR | 相对发芽指数<br>RGI | 相对苗高<br>RSH | 相对根长<br>RRL | 相对根数<br>RRN | 相对苗干重<br>RDW | 相对活力指数<br>RVI | 发芽期碱害率<br>ADG |
|-------------|--------------|--------------|---------------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------------|---------------|
| 相对发芽率 RGR   | 0.241*       |              |               |             |             |             |              |               |               |
| 相对发芽指数 RGI  | 0.697**      | 0.823**      |               |             |             |             |              |               |               |
| 相对苗高 RSH    | 0.105        | 0.029        | 0.026         |             |             |             |              |               |               |
| 相对根长 RRL    | 0.061        | -0.087       | -0.090        | 0.481**     |             |             |              |               |               |
| 相对根数 RRN    | 0.082        | 0.015        | 0.022         | 0.331**     | 0.304**     |             |              |               |               |
| 相对苗干重 RDW   | -0.113       | -0.191       | -0.186        | -0.209*     | -0.299**    | -0.370**    |              |               |               |
| 相对活力指数 RVI  | 0.477**      | 0.440**      | 0.559**       | 0.838**     | 0.338**     | 0.272**     | -0.262*      |               |               |
| 发芽期碱害率 ADG  | 0.895**      | 0.644**      | 0.938**       | 0.082       | -0.008      | 0.062       | -0.174       | 0.575**       |               |
| 幼苗前碱害率 ADS  | 0.086        | -0.073       | -0.073        | 0.720**     | 0.885**     | 0.609**     | -0.243*      | 0.545**       | 0.016         |

\*和\*\*分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著相关。

\* and \*\* mean significant correlation at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

RGE: relative germination energy; RGR: relative germination rate; RGI: relative germination index; RSH: relative seedling height; RRL: relative root length; RRN: relative root number; RDW: relative seedling dry weight; RVI: relative vigor index; ADG: alkali damage rate in germination period; ADS: alkali damage rate at early seedling stage.

2.2 QTL 分析

除相对发芽率、相对苗干重外,其他性状均检

测到主效 QTL, 共计 14 个,分布在除 8、9、12 号染色体以外的所有染色体上(表 3, 图 1)。

表 3 春江 06/台湾本地 1 号的 DH 群体中 8 个性状碱害相对值的 QTL  
Table 3 QTLs for relative value of alkali damage of 8 traits in DH population of Chunjiang06/TN1

| 性状<br>Trait  | 数量性状座位<br>QTL | 标记区间<br>Marker interval | 遗传距离 <sup>1)</sup><br>Genetic distance <sup>1)</sup> (cM) | P 值<br>P-value | 加性效应<br>Additive effect (A) | 贡献率<br>H <sup>2</sup> (A) (%) |
|--------------|---------------|-------------------------|---|----------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 相对发芽势 RGE    | <i>qRGE10</i> | RM467-RM271             | 0.0   | <0.0001        | -9.29                       | 6.59                          |
|              | <i>qRGE11</i> | RM1812-RM5599           | 0.9   | <0.01          | -6.33                       | 4.15                          |
| 相对发芽指数 RGR   | <i>qRGR7</i>  | RM3826-RM1279           | 0.0   | <0.01          | -2.83                       | 4.72                          |
|              | 相对苗高 RSH      | <i>qRSH4</i>            | RM3471-RM307  | 4.0            | <0.001                      | 4.20                          |
| <i>qRSH6</i> |               | RM454-RM528             | 9.0   | <0.001         | 4.75                        | 7.03                          |
| 相对根长 RRL     | <i>qRRL3</i>  | RM251-RM3280            | 0.0   | <0.0001        | -16.86                      | 15.10                         |
|              | <i>qRRL7</i>  | RM3826-RM1279           | 6.0   | <0.01          | 8.90                        | 10.11                         |
| 相对根数 RRN     | <i>qRRN1</i>  | RM1-RM1195              | 5.0   | <0.0001        | -14.50                      | 11.78                         |
|              | <i>qRRN2</i>  | RM450-RM5472            | 8.0   | <0.0001        | 8.96                        | 15.80                         |
|              | <i>qRRN5</i>  | RM5642-RM6972           | 1.0   | <0.0001        | 7.19                        | 9.08                          |
| 相对活力指数 RVI   | <i>qRVI3</i>  | RM3280-RM282            | 0.0   | <0.0001        | 5.69                        | 5.21                          |
| 发芽期碱害率 ADG   | <i>qADG10</i> | RM216-RM467             | 12.0  | <0.01          | -3.14                       | 4.79                          |
| 幼苗前期碱害率 ADS  | <i>qADS3</i>  | RM251-RM3280            | 0.0   | <0.0001        | -5.05                       | 14.85                         |
|              | <i>qADS7</i>  | RM3826-RM1279           | 0.0   | <0.0001        | 6.80                        | 11.28                         |

<sup>1)</sup> 指 QTL 距离所在标记区间左端标记的遗传距离。

<sup>1)</sup> The genetic distance between QTL and the left marker interval where QTL is located.

RGE: relative germination energy; RGR: relative germination rate; RSH: relative seedling height; RRL: relative root length; RRN: relative root number; RVI: relative vigor index; ADG: alkali damage rate in germination period; ADS: alkali damage rate at early seedling stage.

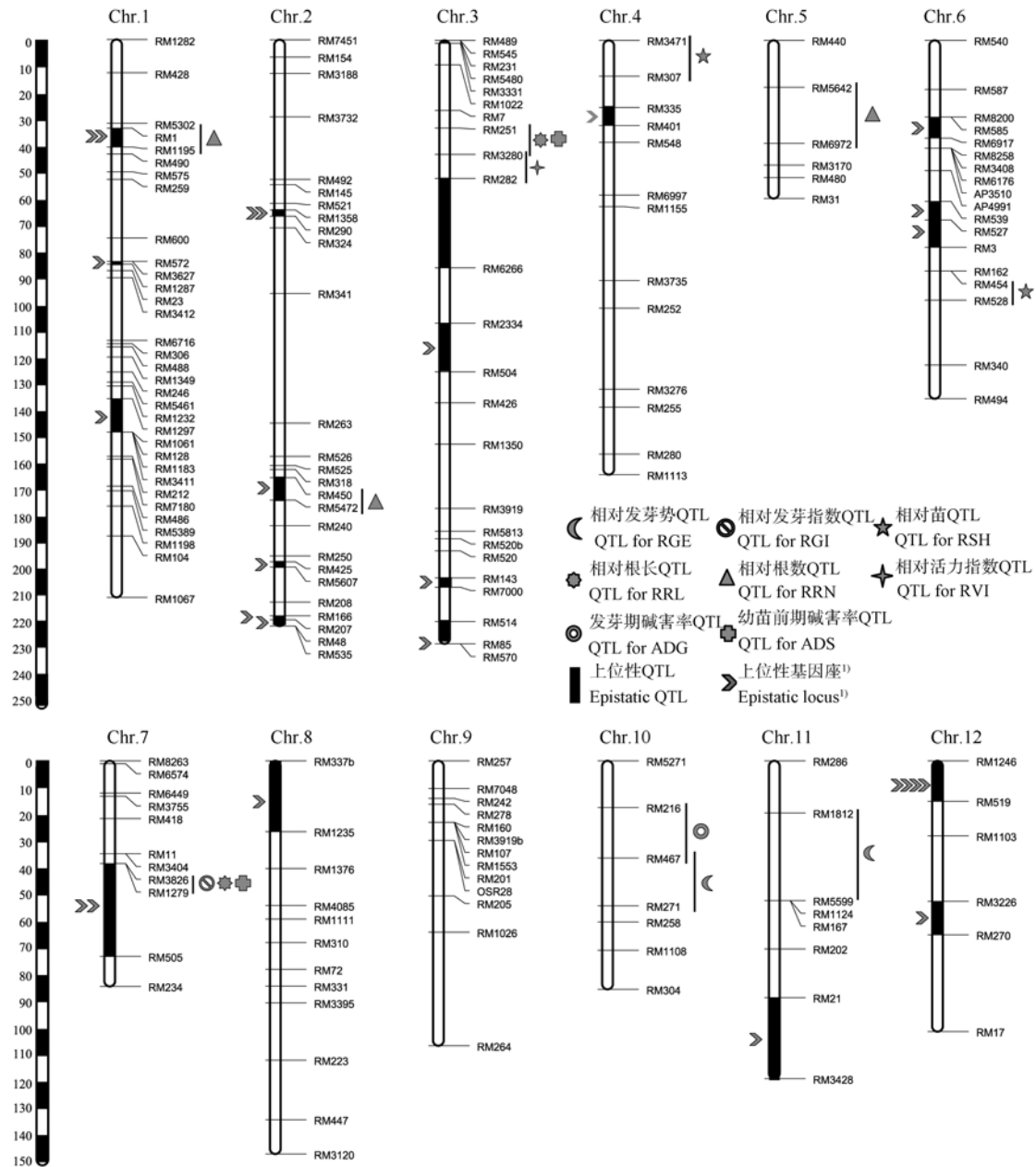


图 1 春江 06/台湾本地 1 号的 DH 群体中检测到的碱害相对值的主效 QTL 分布

Fig. 1 Locations of main effect QTLs for relative value of alkali damage in the DH population of Chunjiang06/TN1

<sup>1)</sup> 箭头在同一位点的个数表示该位点在不同性状上位性分析中被重复检测到的次数。

<sup>1)</sup> The number of arrow head on the same locus indicatse the detected time of this locus in the epistasis analysis of different traits.

RGE: relative germination energy; RGI: relative germination index; RSH: relative seedling height; RRL: relative root length; RRN: relative root number; RVI: relative vigor index; ADG: alkali damage rate in germination period; ADS: alkali damage rate at early seedling stage.

检测到与相对发芽势有关的 QTL 2 个, 分别位于第 10 和 11 染色体上, 贡献率为 6.59%、4.15%, 2 个基因座位加性效应都为负值, 表明其增效基因来源于 CJ06。相对发芽指数检测到 1 个 QTL, 定位在第 7 染色体 RM3826~RM1279 之间, 增效基因也来自 CJ06。

2 个影响相对苗高的 QTL 定位在第 4 和第 6 染色体, 加性效应值分别为 4.20 和 4.75, 增效基因都

来源于 TN1, 控制相对根长的数量基因座位也有 2 个, 总遗传贡献率为 25.21%, *qRRL3* 加性效应值为负, *qRRL7* 的加性效应值为正。共定位到 3 个与相对根数相关的 QTL(*qRRN1*、*qRRN2*、*qRRN5*), 分别位于第 1、2、和 5 染色体, 贡献率合计为 36.66%, 其中 *qRRN1* 增效基因来自 CJ06, *qRRN2* 和 *qRRN5* 增效基因来自 TN1。

1 个相对活力指数的 QTL (*qRVI3*) 位于第 3 染色

体 RM3280~RM282 之间, 贡献率为 5.21%, 增效基因来源于 TN1。发芽期碱害率和幼苗前期碱害率分别检测到 1 个和 2 个 QTL, 发芽期碱害率的 QTL (*qADG10*) 被定位在第 10 染色体, 幼苗前期碱害率的 QTL (*qADS3* 和 *qADS7*) 被分别定位到第 3 和 7 染色体, 总贡献率达到 26.13%, 其中 *qADG10* 和 *qADS3* 的加性效应值为负值, 来源于 CJ06 的等位基因起增效作用, 而来自 TN1 的 *qADS7* 座位的基因使幼苗前期碱害率增加。

多个 QTL 被定位在染色体相同或相邻的位置。如 *qRRL3* 和 *qADS3* 被定位在第 3 染色体相同位置 (RM251~RM3280), 并且与 *qRVI3* 相邻; *qRGE10* 和 *qADG10* 被定位在第 10 染色体相邻位置。在第 7 染色体 RM3826~RM1279 之间同时检测到与相对发芽指数、相对根长和幼苗前期碱害率有关的 QTL (*qRGI7*、*qRRL7* 和 *qADS7*)。

### 2.3 耐碱性状 QTL 上位性分析

除相对发芽率外共检测到 13 对其他性状的上位性 QTL, 分布在除 5、9 和 10 染色体之外的所有染

色体上(表 4, 图 1)。对于相对发芽势和相对发芽指数各检测到 1 对上位性 QTL, 上位性效应值为正值, 说明亲本基因型基因作用大于重组基因型。作用于相对苗高的上位性 QTL 有 2 对, 效应值 1 正 1 负, 总贡献率为 13.37%。影响相对根长和根数的上位性 QTL 分别有 2 对和 1 对, 效应值均为负值, 说明重组基因型对表现型具有增效作用。检测到 1 对与相对苗干重有关的上位性基因座位, 贡献率达到 21.25%。相对活力指数相关的上位性 QTL 有 2 对, 总贡献率为 21.08%; 发芽期碱害率的上位性 QTL 也有 2 对, 总贡献率为 21.35%, 是第 6 染色体 2 个基因座位 (RM539~RM527 和 RM527~RM3) 同时与第 12 染色体 RM1246~RM519 发生上位性作用。1 对控制幼苗前期碱害率的上位性 QTL 分别位于第 2 染色体和第 12 染色体。从图 1 可知, 第 1 染色体标记 RM1~RM1195 间、第 2 染色体标记 RM1358~RM290 间和第 7 染色体标记 RM1279~RM505 间被检测到发生 2 次上位性作用, 在第 12 染色体 RM1246~RM519 间集中了 4 个上位性 QTL。

表 4 春江 06/台湾本地 1 号 DH 群体中 9 个性状碱害相对值上位性互作位点及效应分析  
Table 4 Epistasis effects for relative value of alkali damage of 9 traits in DH population of Chunjiang06/TN1

| 性状<br>Trait | 染色体<br>Chromosome | 标记区间<br>Marker interval | 染色体<br>Chromosome | 标记区间<br>Marker interval | P 值<br>P-value | 上位效应 <sup>1)</sup><br>Epistasis <sup>1)</sup> (AA) | 贡献率<br>H <sup>2</sup> (AA) (%) |
|-------------|-------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|----------------|--|--------------------------------|
| 相对发芽势 RGE   | 7                 | RM1279~RM505            | 12                | RM1246~RM519            | <0.001         | 7.83   | 8.80                           |
| 相对发芽率 RGR   | 2                 | RM207~RM48              | 11                | RM21~RM3428             | <0.01          | 3.72   | 9.62                           |
| 相对苗高 RSH    | 1                 | RM1297~RM1061           | 3                 | RM143~RM7000            | <0.0001        | -5.89  | 6.70                           |
|             | 2                 | RM425~RM5607            | 6                 | RM585~RM6917            | <0.0001        | 5.89   | 6.67                           |
| 相对根长 RRL    | 2                 | RM1358~RM290            | 4                 | RM335~RM401             | <0.01          | -8.24  | 6.25                           |
|             | 3                 | RM85~RM570              | 8                 | RM337b~RM1235           | <0.001         | -9.82  | 7.82                           |
| 相对根数 RRN    | 1                 | RM1~RM1195              | 2                 | RM450~RM5472            | <0.001         | -4.90  | 4.08                           |
| 相对苗干重 RDW   | 1                 | RM572~RM3627            | 3                 | RM2334~RM504            | <0.0001        | 3.89   | 21.25                          |
| 相对活力指数 RVI  | 1                 | RM1~RM1195              | 2                 | RM166~RM207             | <0.0001        | -6.48  | 8.31                           |
|             | 6                 | RM539~RM527             | 12                | RM1246~RM519            | <0.0001        | -10.18   | 12.77                          |
| 发芽期碱害率 ADG  | 6                 | RM527~RM3               | 12                | RM1246~RM519            | <0.0001        | -4.71  | 10.13                          |
|             | 7                 | RM1279~RM505            | 12                | RM1246~RM519            | <0.0001        | 4.70   | 11.22                          |
| 幼苗前期碱害率 ADS | 2                 | RM1358~RM290            | 12                | RM3226~RM270            | <0.0001        | 4.03   | 9.86                           |

<sup>1)</sup> 正值表示亲本型>重组型; 负值表示重组型>亲本型。

<sup>1)</sup> Positive means parent type value > recombinant type value; negative means recombinant type value > parent type value.

RGE: relative germination energy; RGR: relative germination rate; RSH: relative seedling height; RRL: relative root length; RRN: relative root number; RDW: relative seedling dry weight; RVI: relative vigor index; ADG: alkali damage rate in germination period; ADS: alkali damage rate at early seedling stage.

## 3 讨论

随着耕地盐碱化面积的不断增加, 水稻耐盐碱性的研究正吸引越来越多研究者的目光。众多研究表明, 盐碱胁迫对植物种子的萌发、幼苗的生长、

物质的运输及积累都有重要的影响<sup>[4,20-24]</sup>。盐碱危害主要是过量的离子在植物体内积累破坏体内代谢平衡, 影响光合作用和物质积累, 另外盐碱环境形成高渗环境影响植物水分吸收和物质运输, 甚至使细胞膜受损造成植物生长停滞或是死亡<sup>[25]</sup>。目前对水

稻耐中性盐的研究较多, 有相关的 QTL 定位和基因克隆<sup>[26-30]</sup>; 而对水稻耐碱性盐的研究甚少, 本研究针对水稻发芽期和幼苗前期对碱性盐胁迫的反应, 首次利用 0.15%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  处理, 应用 1 个水稻 DH 群体, 对多个性状耐碱性进行 QTL 分析, 定位到 14 个主效 QTL 和 13 对上位性 QTL。本文共采用了 10 个形态和生理指标进行 QTL 分析, 可以覆盖较多的耐碱性数量基因座位, 这些指标直观、容易操作, 不仅可以用于 QTL 分析, 还可以作为水稻耐碱性筛选和鉴定的重要指标。但这些指标不够精细, 容易受环境影响, 只适于 QTL 的初步分析, 要完成主效 QTL 的精细定位和克隆需进一步寻找精细、稳定的生理、生化指标。

分析结果中 *qRRL3* 和 *qADS3* 与 *qRVI3* 相邻, *qRGE10* 和 *qADG10* 也被定位在第 10 染色体相邻位置, 说明影响水稻耐碱性基因存在连锁现象。*qRRL3* 和 *qADS3* 被定位在第 3 染色体相同位置, *qRGI7*、*qRRL7* 和 *qADS7* 同被定位在第 7 染色体 RM3826~RM1279 之间。控制不同性状的 QTL 被定位在相同基因座位, 说明这些基因座可能具有多效性, 表现出一因多效; 也可能影响不同性状 QTL 紧密连锁, 相关基因成簇存在。

未检测到相对发芽率和相对苗干重的加性 QTL, 但定位到了两者的上位性 QTL, 可能在碱胁迫下这 2 个性状除了受微效多基因控制外还受基因上位性效应影响。RM1~RM1195 和 RM450~RM5472 间同时被检测到加性 QTL 和上位性 QTL, 也证明一些基因座位同时具有上位性效应和加性效应。文中除相对发芽指数外对其他的指标也都检测到上位性 QTL, 可见基因的上位性效应对水稻发芽期和苗期的耐碱性有重要作用, 特别是在 3 个染色体区间(RM1~RM1195, RM1279~RM505 和 RM1246~RM5199)多次检测到重要的上位性基因座位。水稻的耐碱性是多个生理生化反应的综合表现, 必然涉及多个相关的调控基因, 因此上位性效应在水稻耐碱性育种实践中不能被忽视。

作物耐盐性和耐碱性存在很大的相关性, 可能存在相同的调控基因。通过比较相关标记的物理位置(<http://www.gramene.org/markers/>), 将本文的定位结果与其他研究已经定位的耐盐 QTL 位置进行比较, 发现两者存在位置相同或相近的 QTL。龚继明等<sup>[27]</sup>利用 1 个水稻 DH 群体在第 1 和 7 染色体定位到耐盐 QTL, 这些位点分别与本研究中的 *qRRN1* 和 *qRGI7*、

*qRRL7*、*qADS7* 位置相近。顾兴友等<sup>[10]</sup>在水稻第 5 染色体也检测到与水稻耐盐性相关的 QTL, 其与本研究中 *qRRN5* 位置相对应。孙勇等<sup>[28]</sup>在第 4 染色体定位到与苗期盐害程度有关的 QTL, 其位置与本文 *qRSH4* 相近; 在第 3 和第 7 染色体定位到盐胁迫下与植株  $\text{Na}^+$  浓度有关的 QTL, 在对应位置本文分别检测到 *qRRL3*、*qADS3* 和 *qRGI7*、*qRRL7*、*qADS7*。通过与耐盐 QTL 比较, 发现本研究有 8 个 QTL 与已定位的耐盐 QTL 位置相同或相近(图 2), 可见水稻耐盐性和耐碱性存在多个共同的基因座位。但是在碱性条件下作物对盐胁迫更加敏感, 说明耐碱基因可能存在两类, 一类对抵抗金属离子胁迫起作用(*qRRL3* 和 *qRGR7* 与植株内  $\text{Na}^+$  浓度有关), 另一类对高 pH 胁迫有耐受性, 在本研究中检测到的 QTL 中也应该包括这两类基因。耐高 pH (碱性盐) 胁迫的特异性 QTL 对水稻耐碱性育种更有意义, 但本研究并没有对两类 QTL 加以区分, 有待进一步深入研究。

此外, 多个耐碱 QTL 还与其他学者在不同逆境条件下检测到的 QTL 位置相近或重叠(图 2), 例如本研究中的 *qRRN5* 就与侯名语等<sup>[31]</sup>定位的水稻在低氧条件下发芽相关的 QTL 处于相似的染色体区间; 沈圣泉等<sup>[32]</sup>也以水稻为试材, 在  $\text{Al}^{3+}$  胁迫下检测到影响相对苗高的 QTL, 其在染色体上的位置与本研究中的 *qRGE11* 十分相近; 张光恒等<sup>[33]</sup>利用与本研究相同的群体对水稻苗期耐淹性进行 QTL 分析, 其中定位到的在淹水条件下与株高相关的 QTL 和相对受害率的 QTL 的位置分别对应本文中 *qRSH6* 和 *qRVI3*。多个数量基因座位在多种胁迫条件下对水稻发芽和幼苗生长都有重要影响, 这些基因可能具有多重抗逆性, 在水稻其他抗逆性育种中也可以加以利用。

根据本研究的定位结果, 并通过标记序列与基因组序列的比对确定耐碱性有关 QTL 的准确位置, 根据加性效应值确定耐碱基因来源(图 2), 可以看出不同遗传背景的种质资源具有不同的耐碱性基因, 所以在耐碱性品种选育中除了发掘特异的耐碱基因外, 还可以通过遗传差异较大的材料间的基因重组获得新的耐碱性种质资源, 并可以利用紧密连锁的分子标记实现耐碱性材料的分子标记辅助选择。如果把水稻耐碱性分子生物学研究和耐碱性新品种的选育紧密结合起来, 一定可以培育出耐碱性强和高产、优质的水稻新品种, 为保障我国粮食安全做出贡献。

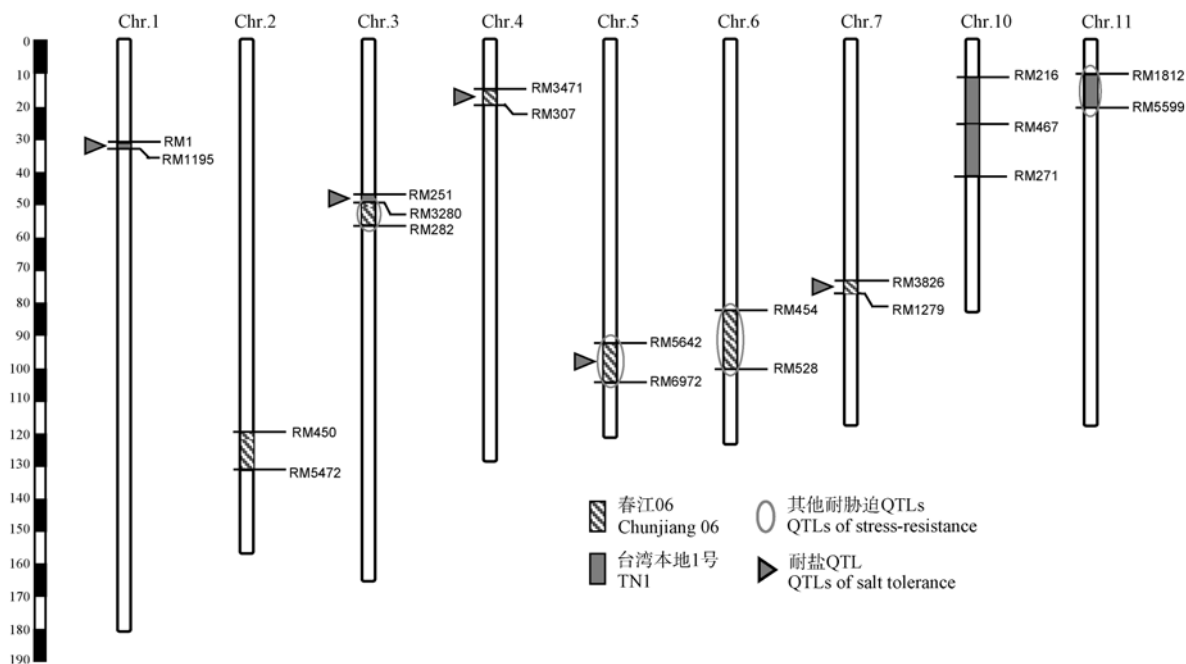


图 2 春江 06/台中本地 1 号的 DH 群体耐碱基因座位

Fig. 2 Alkali resistance loci of DH population of Chunjiang 06/TN1

#### 4 结论

发芽期各性状间与幼苗前期各性状间存在显著相关, 相对活力指数、发芽期碱害率和幼苗前期碱害率与其他性状相关性很高, 可以作为耐碱性评价的主要指标。共检测到 14 个与耐碱性有关的主效 QTL 和 13 对上位性 QTL, 在第 3 染色体 RM251~RM282 之间和第 7 染色体 RM3826~RM1279 分别存在多个主效 QTL, 在第 1 染色体 RM1~RM1195、第 7 染色体 RM1279~RM505 和第 12 染色体 RM1246~RM5199 间检测到多个上位性 QTL。水稻耐碱性基因调控复杂, 存在一因多效或基因簇, 基因间的上位性效应对耐碱性也有重要影响。

#### References

- [1] Zhu J K. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*, 2001, 6: 66–71
- [2] Yang Y-L(杨永利), Fu D-Y(富东英), Zhen C-S(甄常生). Application of conditioner Yanjianfeng in controlling salinity of a saline/sodic soil grown paddy rice seedlings. *J Agro-environ Sci* (农业环境科学学报), 2004, 23(3): 555–559 (in Chinese with English abstract)
- [3] Wang Y(王宇), Han X(韩兴), Zhao L-P(赵兰坡), Ma J(马晶). Effect of aluminum sulfate on chemical characteristics of soda alkali-saline soil and rice yield. *J Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 2006, 28(6): 652–659 (in Chinese with English abstract)
- [4] Ruan S-L(阮松林), Xue Q-Z(薛庆中). Germination characteristics of seeds under salt stress and physiological basis of salt-tolerance of seedlings in hybrid rice. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2002, 16(3): 281–284 (in Chinese with English abstract)
- [5] Flower T J. Improving crop salt tolerance. *J Exp Bot*, 2004, 396: 307–319
- [6] Moeljopawiro S, Ikehashi H. Inheritance of salt tolerance in rice. *Euphytica*, 1981, 30: 291–300
- [7] Akbar M, Khush G S, Hillerislambers D. Genetics of salt tolerance in rice. In: *Rice Genetics. Rice Genetics Proceeding of International Rice Genetics Symposium*. Manila, Philippines: IRRI, 1985. pp 399–409
- [8] Jones M P. Genetic analysis of salt tolerance in mangrove swamp rice. In: *Rice Genetics. Rice Genetics Proceeding of International Rice Genetics Symposium*. Manila, Philippines: IRRI, 1985. pp 41–122
- [9] Guo Y(郭岩), Chen S-L(陈少麟), Zhang Y-G(张耕耘), 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)
- [10] 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. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2000, 14(2): 65–70 (in Chinese with English abstract)
- [11] Cheng G-Y(程广有), Xu W-H(许文会), Huang Y-X(黄永秀). Study on the saline-alkaline tolerance in plants: (1) Correlation analysis between saline-tolerance and alkaline-tolerance of rice. *J Jilin For Univ* (吉林林学院学报), 1996, 12(4):



- 214–217 (in Chinese with English abstract)
- [12] Foolad M R, Jones R A. Mapping salt-tolerance genes in tomato (*Lycopersicon esculentum*) using trait-base marker analysis *Theor Appl Genet*, 1993, 87: 184–192
- [13] Yin S-J(尹尚军). Comparison of effect between saline (NaCl) and alkaline (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) stress on water cultured wheat seedling. *J Zhejiang Wanli Univ* (浙江万里学院学报), 2002, 15(1): 54–57 (in Chinese with English abstract)
- [14] Xie G-S(谢国生), Zhu B-H(朱伯华), Peng X-H(彭旭辉), Yang M(杨梅). Comparison of the response of rice NaCl and NaHCO<sub>3</sub> stress with different pH value. *J Huazhong Agric Univ* (华中农业大学学报), 2005, 24(2): 121–124 (in Chinese with English abstract)
- [15] Yang C-D(杨长登), Guo L-B(郭龙彪), Li X-M(李西明), Ji Z-J(季芝娟), Ma L-Y(马良勇), Qian Q(钱前). Analysis of QTLs for resistance to rice bakanae disease. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2006, 20(6): 657–659 (in Chinese with English abstract)
- [16] Qi D-L(祁栋灵), Zhang S-Y(张三元), Cao G-L(曹桂兰), Ruan R-C(阮仁超), Sun M-M(孙明茂), Zhang Y-R(张艳蕊), Zhou Q-Y(周庆阳), Han L-Z(韩龙植). Studies on screening methods for alkaline tolerance at germination period and early seedling stage in rice. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2006, 7(1): 74–80 (in Chinese with English abstract)
- [17] Qi D-L(祁栋灵), Han L-Z(韩龙植), Zhang S-Y(张三元). Methods of characterization and evaluation of salt or alkaline tolerance in rice. *J Plant Genet Resour* (植物遗传资源学报), 2005, 6(2): 226–230 (in Chinese with English abstract)
- [18] Zhao Y-H(赵彦宏), Zhu J(朱军), Xu H-M(徐海明), Yang J(杨剑), Gao Y-M(高用明), Song Y-S(宋佑胜), Shi C-H(石春海), Xing Y-Z(邢永忠). Predicting heterosis of effective panicle number per plant based on QTL mapping in rice. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2007, 21(4): 350–354 (in Chinese with English abstract)
- [19] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Morishima H, Kinoshita T. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11–13
- [20] Sun T(孙彤), Du Z-Y(杜震宇), Zhang R-Z(张瑞珍), Meng F-X(孟繁霞), Yang J(杨晶), Ma J-Y(马景勇). Effect of salinity-alkalinity stress on tillering and yield of rice. *J Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 2006, 28(6): 597–605 (in Chinese with English abstract)
- [21] Wang B(王波), Song F-B(宋凤斌). The effects of Saline-alkali stress on water potential, percentage of dry matter and selective absorption to K and Na in oats. *System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture* (农业系统科学与综合研究), 2006, 22(2): 105–108 (in Chinese with English abstract)
- [22] Shi L-Y(时冉冉), Cui X-G(崔兴国), Liu Z-H(刘志华), Zhao F-W(赵凤梧), Li H-M(李慧敏). Effects of complex saline-alkali stress on the seed germination of upland rice. *Seed* (种子), 2006, 25(2): 25–31 (in Chinese with English abstract)
- [23] Wang B(王波), Zhang J-C(张金才), Song F-B(宋凤斌), Zhao M(赵敏), Han X-Y(韩希英). Physiological responses to Saline-alkali in oats. *J Soil Water Conserv* (水土保持学报), 2007, 21(3): 86–89 (in Chinese with English abstract)
- [24] Yang F(杨福), Liang Z-W(梁正伟), Wang Z-C(王志春), Chen Y(陈渊). Relationship between diurnal changes of net photosynthetic rate and affecting factors in flag leaves of rice under saline sodic stress. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2007, 21(4): 386–390 (in Chinese with English abstract)
- [25] Yang S-H(杨少辉), Ji J(季静), Wang G(王罡). Effects of salt stress on plants and the mechanism of salt tolerance. *World Sci Tech R&D* (世界科技研究与发展), 2006, 28(4): 70–76 (in Chinese with English abstract)
- [26] 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), Yashima S(八岛茂夫). Identification of QTL for salt tolerance in rice via molecular markers. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 1998, 12(2): 72–78 (in Chinese with English abstract)
- [27] Gong J-M(龚继明), He P(何平), Qian Q(钱前), Shen L-S(沈利爽), Zhu L-H(朱立煌), Chen S-Y(陈受宜). QTL mapping of rice for salt tolerance. *Chin Sci Bull* (科学通报), 1998, 43(17): 1847–1850 (in Chinese)
- [28] Sun Y(孙勇), Zang J-P(藏金萍), Wang Y(王韵), Zhu L-H(朱苓华), Fotokian M, Xu J-L(徐建龙), Li Z-K(黎志康). Mining favorable salt-tolerant QTL from rice germplasm using a backcrossing introgression line population. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(10): 1611–1617 (in Chinese with English abstract)
- [29] Xie G-S(谢国生), Liu S-K(柳蓼奎), Tetsuo T(高野哲夫), You Z-B(尤宗彬), Zhang D-P(张端品). Cloning and expression of VBI2-independent methionine synthase gene responsive to alkaline stress in rice. *Acta Genet Sin* (遗传学报), 2002, 29(12): 1078–1084 (in Chinese with English abstract)
- [30] 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, Lin H X. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat Genet*, 2005, 37: 1141–1146
- [31] Hou M-Y(侯名语), Jiang L(江玲), Wang C-M(王春明), Wan J-M(万建民). Quantitative trait loci and epistatic analysis for seed anoxia germinability in rice (*Oryza sativa*). *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 2004, 18(6): 483–488 (in Chinese with English abstract)
- [32] Shen S-Q(沈圣泉), Zhuang J-Y(庄杰云), Shu X-L(舒小丽), Bao J-S(包劲松), Xia Y-W(夏英武). Analysis of QTLs mapping of tolerance to high Al<sup>3+</sup> stress at seedling stage in rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2006, 32(4): 479–483 (in Chinese with English abstract)
- [33] Zhang G-H(张光恒), Zeng D-L(曾大力), Hu S-K(胡时开), Su Y(苏岩), A-jia L-T(阿加拉铁), Guo L-B(郭龙彪), Qian Q(钱前). QTL analysis of traits concerned submergence tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agron Sin* (作物学报), 2006, 32(9): 1280–1286 (in Chinese with English abstract)