

水稻生理特性与抗旱性的相关分析及 QTL 定位

王 辉^{1,2,3} 曹立勇² 郭玉华³ 程式华^{2,*}

(¹辽宁省农业科学院, 辽宁 沈阳 110161; ²中国水稻研究所 国家水稻改良中心, 浙江 杭州 310006; ³沈阳农业大学 农学院, 辽宁 沈阳 110161; * 通讯联系人, E-mail: shcheng@mail.hz.zj.cn)

Correlation Analysis and QTL Mapping of Some Physiological Traits Related to Drought Resistance in Rice

WANG Hui^{1,2,3}, CAO Li yong², GUO Yu hua³, CHENG Shi hua^{2,*}

(¹Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110161, China; ²Chinese National Center for Rice Improvement, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; ³College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China;

* Corresponding author, E-mail: shcheng@mail.hz.zj.cn)

Abstract: A doubled haploid population including 110 lines derived from the inter-subspecific cross between Azucena and IR64 were used to investigate six physiological traits of rice at the heading stage under drought stress and normal irrigation in 2004 and 2005. The changes in all the six traits were analyzed by *t*-test, as well as the correlations between the traits and drought resistance coefficient (DRC). Based on the genetic linkage map with 175 RFLP markers, QTLs associated with these traits were identified and analyzed. The results indicated that the proline content in rice leaves was significantly ($P < 0.01$) increased, whereas, the relative water content, water potential, chlorophyll content and stomatal conductance of rice leaves significantly ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) decreased under the drought stress compared with those under normal irrigation conditions. The relative water content and the water potential were significantly and positively correlated with DRC under the drought stress. Seven QTLs with additive effects and 31 pairs of QTLs with epistatic effects for the six physiological traits related to drought resistance were detected under the two water regimes. In the detected QTLs, two QTLs with additive effects and nine pairs of QTLs with epistatic effects showed QTL \times environment interaction effects. There were obvious differences between QTLs under the two water regimes, which indicates that the drought stress has a remarkable effect on the expression of genes controlling the physiological traits related to drought resistance in rice. Among the physiological traits, more QTLs were detected for the stomatal conductance (three additive QTLs and eight pairs of epistatic QTLs), and for the water potential (eight pairs of epistatic QTLs). In addition, drought resistant rice breeding through molecular marker assisted selection had also been discussed.

Key words: physiological characteristic; drought resistance; molecular marker; rice; quantitative trait locus

摘 要: 利用籼稻品种 IR64 和粳稻品种 Azucena 杂交产生的包含 110 个加倍单倍体株系的群体, 在干旱胁迫和正常水分条件下, 连续在 2004 年和 2005 年于抽穗期分别测定了叶片水势、相对含水量、叶绿素含量 (SPAD 值)、游离脯氨酸含量、气孔导度和蒸腾速率, 并于成熟期取样, 计算抗旱系数。与正常水分状况下相比, 干旱胁迫条件下叶片的游离脯氨酸含量的增加达极显著水平, 干旱胁迫条件下叶片的相对含水量、水势、叶绿素含量和气孔导度的降低均达显著或极显著水平。相关分析表明, 在干旱胁迫条件下, 叶片相对含水量、叶片水势与抗旱系数呈显著或极显著正相关。利用 175 个 RFLP 标记构建的遗传连锁图谱分析了与抗旱性相关的叶片生理指标, 共检测到与抗旱性相关的 6 个生理指标的 7 个加性 QTL, 31 对上位性 QTL, 其中有 2 个主效 QTL, 9 对上位性 QTL 存在环境互作效应。在两种水分条件下检测到的 QTL 结果有较大差异, 说明干旱胁迫对控制与抗旱性相关的叶片生理性状基因的表达有显著的影响。在 6 个抗旱相关生理指标中, 检测到的控制叶片气孔导度和水势的 QTL 较多, 有 3 个加性 QTL 和 8 对上位性 QTL 控制气孔导度, 有 8 对上位性 QTL 控制水势。

关键词: 生理特性; 抗旱性; 分子标记; 水稻; 数量性状座位

中图分类号: Q943.2; Q945.78; S511

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2008)05-0477-08

据联合国环境规划署报告, 21 世纪威胁人类的十大环境祸患中, 淡水资源缺乏位居第三^[1]; 另国际水资源管理委员会 (IWMI) 研究表明, 2025 年以前, 约占全世界人口 1/3 即 27 亿人居住的地区将面临严重缺水^[2]。可见水资源缺乏是一个全球性的问题, 水资源正成为许多国家制约农业发展的重要因素。我国是一个人均淡水资源严重短缺的国家, 水资源总量约 3.47 万亿 m^3 , 人均占有水量为 2340 m^3 , 仅排在世界第 109 位, 属 13 个贫水国之

一。北方地区缺水形势更为严峻, 人均占有水量仅为 1141 m^3 , 400 万 hm^2 水稻种植面积中, 约有一半以上水源不足, 1/3 面临水源枯竭。水稻属用水量大的作物, 减少水稻用水已开始成为农业专家们

收稿日期: 2007-12-20; 修改稿收到日期: 2008-01-28。

基金项目: 国家 863 计划资助项目 (2002A A2Z4321); 国家 948 计划资助项目 (2006-G51); 国家自然科学基金专项资助项目 (30623006)。

第一作者简介: 王 辉 (1970-), 男, 副研究员, 博士研究生。

的共识。如何研究和开发节水农业,特别是节水稻作农业,已成为广大农业科技工作者的迫切任务。对水稻抗旱遗传机理开展深入研究,选育耐旱水稻品种是解决这一问题的有效途径之一。

本研究利用从国际水稻研究所引进的籼型水稻和粳型旱稻杂交获得的加倍单倍体 (doubled haploid, DH) 群体,研究干旱胁迫对一些生理指标的影响及其与抗旱性的关系,并进行相关性状的 QTL 定位和分析,以探明适应旱作条件的水稻品种特性及抗旱机理,确定水稻抗旱鉴定体系和方法,为水稻抗旱育种提供理论依据和实践基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以典型的籼稻 (*Oryza sativa* L. subsp. *indica*) IR64 与热带粳稻 (*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*) Azucena 为亲本进行杂交,对 F₁ 花药进行离体培养,共获得 DH 株系 135 个,并构建了含有 175 个 RFLP 标记的遗传连锁图谱。以上工作由国际水稻研究所完成。本研究选取其中的 110 个 DH 株系进行研究。

1.2 试验处理和调查项目

1.2.1 试验处理

田间试验在辽宁省农业科学院试验基地网室进行。2004 年 4 月 17 日育苗,5 月 19 日移栽;2005 年 4 月 19 日育苗,5 月 24 日移栽。群体移栽到钵内,每钵种 4 株,置于网室中,网室顶上遮盖塑料薄膜。处理设两个水分水平,即正常灌溉 (浅水层淹灌) (对照) 和干旱胁迫 (在移栽 15 d 返青后,保持土壤持水量 50% 左右,采用周期性控水的反复干旱法,当土壤水势降到 -1 MPa 以下时即叶片严重萎蔫时补水),每株系种 2 盆作为 2 个重复。

为确保群体能够正常成熟,从孕穗始期开始,用遮光布遮光进行短日照处理,每天日照 10 h (7:30 - 17:30),连续处理 35 d。

1.2.2 测定指标及方法

孕穗至抽穗期,用 SPAD 502 叶绿素仪在每个重复内每株系 3 个分蘖的剑叶顶部 1/3 处测活体叶片叶绿素相对含量 (SPAD 值)。用 LI 6400 光合测定系统在每个重复内每株系 3 个分蘖的剑叶顶部 1/3 处测定气孔导度和蒸腾速率。用 HR 33 露点水势仪和 C52 样品室在每个重复内每株系 3 个分蘖的剑叶顶部 1/3 处打孔取样测定叶片水势。用茚三酮法^[3]测定叶片游离脯氨酸含量。叶片相对含

水量测定用称量法,即每个重复内各株系取 3 片相同叶位的叶片,立即称鲜质量,然后带回实验室,放入大离心管加满水,使叶片完全浸入水中,24 h 后,取出并擦干称量作为饱和质量;然后把叶片于 105℃ 下杀青 5 min,80℃ 下烘至恒重,计为干质量;按公式叶片相对含水量 = (叶片鲜质量 - 叶片干质量) / (叶片饱和质量 - 叶片干质量) × 100% 计算。于成熟期每处理收获 2 株,自然风干后,考查单株产量,计算抗旱系数。抗旱系数 = 干旱胁迫下的单株产量 / 正常灌溉下的单株产量。

1.3 分析方法

利用 MS Excel 和 DPSv6.5 软件进行数据处理和统计分析。利用已构建的 DH 群体遗传图谱,将不同年份当作环境因子处理,运用混合线性模型复合区间作图法^[4,5]进行 QTL 分析。采用可分析包括加性和加加上位性的各项遗传主效应及其与环境互作效应的 QTL Mapper Version 1.0 软件进行分析,以 LOD > 2.4 作为阈值来判断 QTL 的存在与否,QTL 入选临界值为 $P = 0.01$,最后进行区间分析,找出主效和互作 QTL 及 QE (QTL 与环境) 互作位点,算出各 QTL 的加性效应 (A) 和贡献率 (H^2)。QTL 命名遵循 McCouch 等提出的原则^[6]。

2 结果与分析

2.1 双亲及 DH 群体的表现

表 1 和表 2 的结果表明,在干旱胁迫条件下,叶片游离脯氨酸含量比正常灌溉 (对照) 增加,其他指标均比对照明显降低。从双亲的性状特点看,两者之间差异显著,表明双亲遗传背景差异显著。从群体的表型均值看,大多指标的均值介于双亲值之间。从指标的标准差、变异系数及均值的变化范围看,大多指标干旱胁迫条件下均比正常灌溉条件下的显著增大,说明在干旱胁迫下这些指标的变异度均明显增大,对干旱的反应存在较大差异。各指标的峰度和偏度多数小于 1,所有性状均呈连续变异,群体适合进行这些性状的 QTL 分析。

2.2 叶片生理指标间及与抗旱系数间的相关分析

从表 3、表 4 两年的各生理指标间及与抗旱系数间的相关分析可看出,正常灌溉下,所测 6 个叶片抗旱相关生理指标与抗旱系数的相关大部分不显著,但在干旱胁迫条件下叶片相对含水量与抗旱系数的相关性在两年分别达极显著或显著水平,叶片水势与抗旱系数的相关均达显著水平,说明在干旱胁迫条件下相对含水量和水势与产量的关系密切。

表 1 两种水分状况下水稻叶片的生理指标(2004 年)

Table 1 .Some physiological traits of rice leaves under the two water regimes in 2004 .

性状与处理 Trait and treatment	亲本 Parent				DH 群体 DH population			
	IR64	Azucena	平均数 Mean	标准差 SD	范围 Range	变异系数 CV	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
相对含水量 RWC/%								
正常灌溉 SI(CK)	71.81	77.12	76.85	9.73	28.13 ~ 98.65	12.66	5.02	-1.18
干旱胁迫 DS	68.56	75.72	70.26	11.18	18.05 ~ 94.38	15.91	4.42	-1.27
水势 LWP/MPa								
正常灌溉 SI(CK)	-0.18	-0.04	-0.10	0.05	-0.21 ~ 0.00	-45.62	-0.64	-0.09
干旱胁迫 DS	-0.24	-0.08	-0.19	0.05	-0.25 ~ 0.00	-27.60	-0.11	-0.45
脯氨酸含量 PC/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)								
正常灌溉 SI(CK)	0.17	0.13	0.16	0.03	0.11 ~ 0.30	18.75	2.50	1.36
干旱胁迫 DS	0.19	0.14	0.17	0.05	0.11 ~ 0.47	29.41	13.15	2.63
叶绿素含量 CC/SPAD value								
正常灌溉 SI(CK)	40.73	42.50	41.10	3.29	32.07 ~ 48.63	7.99	0.06	-0.48
干旱胁迫 DS	38.60	40.53	40.77	3.25	31.63 ~ 49.57	8.11	0.15	0.20
气孔导度 SC/($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)								
正常灌溉 SI(CK)	0.04	0.05	0.04	0.03	0.001 ~ 0.12	75.00	-0.17	0.66
干旱胁迫 DS	0.03	0.04	0.03	0.02	0.001 ~ 0.09	66.67	-0.55	0.44
蒸腾速率 TR/($\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)								
正常灌溉 SI(CK)	0.93	0.97	0.78	0.55	0.03 ~ 2.72	70.51	0.57	0.76
干旱胁迫 DS	0.75	0.82	0.69	0.43	0.02 ~ 1.80	62.32	-0.50	0.41

RWC , Relative water content ; LWP , Leaf water potential ; PC , Proline content ; CC , Chlorophyll content ; SC , Stomatal conductance ; TR , Transpiration rate ; SI , Submerged irrigation ; DS , Drought stress . The same as in the tables below .

表 2 两种水分状况下水稻叶片的生理指标 (2005 年)

Table 2 .Some physiological traits of rice leaves under the two water regimes in 2005 .

性状与处理 Trait and treatment	亲本 Parent				DH 群体 DH population			
	IR64	Azucena	平均数 Mean	标准差 SD	范围 Range	变异系数 CV	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
相对含水量 RWC/%								
正常灌溉 SI(CK)	79.39	78.11	62.66	10.86	28.26 ~ 88.78	17.33	0.40	-0.71
干旱胁迫 DS	51.64	64.85	57.47	10.54	23.46 ~ 86.98	18.33	0.79	-0.32
水势 LWP/MPa								
正常灌溉 SI(CK)	-0.14	-0.07	-0.10	0.04	-0.21 ~ -0.02	-35.58	0.28	-0.35
干旱胁迫 DS	-0.16	-0.10	-0.12	0.05	-0.22 ~ -0.03	-39.67	-0.79	-0.26
脯氨酸含量 PC/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)								
正常灌溉 SI(CK)	0.18	0.10	0.17	0.06	0.09 ~ 0.46	35.29	1.98	1.02
干旱胁迫 DS	0.23	0.15	0.21	0.09	0.10 ~ 0.28	42.86	1.07	1.06
叶绿素含量 CC/SPAD value								
正常灌溉 SI(CK)	40.07	45.47	41.70	4.35	28.10 ~ 51.57	10.43	0.15	-0.12
干旱胁迫 DS	37.77	40.20	38.75	4.05	30.57 ~ 51.00	10.46	0.02	0.17
气孔导度 SC/($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)								
正常灌溉 SI(CK)	0.04	0.05	0.15	0.09	0.002 ~ 0.43	60.00	0.16	0.71
干旱胁迫 DS	0.02	0.01	0.05	0.04	0.00 ~ 0.25	80.00	1.94	1.49
蒸腾速率 TR/($\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)								
正常灌溉 SI(CK)	0.53	1.02	2.34	1.24	0.03 ~ 6.14	52.99	0.07	0.44
干旱胁迫 DS	0.28	0.21	1.04	0.94	0.004 ~ 4.13	90.38	1.25	1.37

各叶片生理指标之间,正常灌溉下,叶片相对含水量与气孔导度、蒸腾速率在两年均达极显著和显著相关,气孔导度与蒸腾速率的相关两年均达极显著水平。在干旱胁迫下,叶片气孔导度与蒸腾速率的相关两年均达极显著水平。正常灌溉下叶片游离

脯氨酸含量、叶绿素含量、气孔导度和蒸腾速率的表型平均值和干旱胁迫下相应的表型平均值间呈极显著正相关,相对含水量间呈显著正相关。说明这些抗旱相关生理指标存在着复杂的内在联系,且干旱胁迫对这种关系有着一定的影响。这些结果对抗旱

表 3 叶片生理指标间及与抗旱系数间的相关分析 (2004 年)

Table 3 Correlation coefficients among the physiological traits of leaves related to drought resistance and drought resistance coefficient (DRC) in rice in 2004 .

性状 Trait	相对含水量 RWC	水势 LWP	脯氨酸含量 PC	叶绿素含量 CC	气孔导度 SC	蒸腾速率 TR	抗旱系数 DRC
相对含水量 RWC	0.22*	0.17	0.02	0.25*	0.28**	0.24*	0.13
水势 LWP	0.19	0.15	-0.02	0.00	0.00	0.04	0.09
脯氨酸含量 PC	-0.02	0.10	0.29**	-0.06	-0.06	-0.07	0.04
叶绿素含量 CC	-0.09	0.04	-0.03	0.60**	0.21*	0.17	0.12
气孔导度 SC	-0.03	-0.04	0.00	0.28**	0.32**	0.97**	0.01
蒸腾速率 TR	0.00	-0.13	-0.03	0.23*	0.97**	0.33**	0.11
抗旱系数 DRC	0.27*	0.22*	0.17	0.14	0.14	0.09	-

沿对角线列出在两种水分条件下同一指标之间的相关系数 ; 对角线上方为正常灌溉下各指标间的相关系数 ; 对角线下方为干旱胁迫下各指标间的相关系数。* 和 ** 分别表示在 5% 和 1% 水平上差异显著。表 4 同。

Correlation coefficients between the same traits under the submerged irrigation and the drought stress are listed along the diagonal ; Correlation coefficients between the traits under the submerged irrigation are above the diagonal ; Correlation coefficients among the traits under the drought stress are under the diagonal ; * and ** , represent the significant difference at 5% and 1% levels , respectively . The same as in Table 4 .

表 4 叶片生理指标间及与抗旱系数间的相关分析 (2005 年)

Table 4 Correlation coefficients among the physiological traits of leaves related to drought resistance and drought resistance coefficient (DRC) in rice in 2005 .

性状 Trait	相对含水量 RWC	水势 LWP	脯氨酸含量 PC	叶绿素含量 CC	气孔导度 SC	蒸腾速率 TR	抗旱系数 DRC
相对含水量 RWC	-0.04	0.16	0.31**	-0.07	0.28**	0.20*	0.18
水势 LWP	0.18	0.56**	0.08	-0.06	-0.02	0.16	0.12
脯氨酸含量 PC	-0.31**	0.15	0.13	-0.01	0.26**	0.39**	-0.05
叶绿素含量 CC	-0.08	-0.04	-0.01	0.52**	0.06	0.10	0.13
气孔导度 SC	0.02	-0.08	0.03	0.07	0.41**	0.86**	-0.03
蒸腾速率 TR	0.01	0.01	0.12	0.09	0.92**	0.44**	0.01
抗旱系数 DRC	0.23*	0.21*	-0.03	0.03	-0.11	-0.06	-

表 5 与抗旱性相关的叶片生理指标的 QTL 加性效应

Table 5 Additive effects of QTL for some physiological traits of leaves related to drought resistance in rice .

性状与处理 Trait and treatment	QTL	标记区间 Marker interval	位置 ¹⁾ Location/cM ¹⁾	LOD	加性效应 A	贡献率 H ² /%	环境互作效应 AE	贡献率 H _{AE} ² /%
相对含水量 RWC 正常灌溉 SI(CK)	<i>qRWC1.1</i>	K5 - U10	4	2.42	-2.969	4.18		
脯氨酸含量 PC 干旱胁迫 DS	<i>qPro2.1</i> <i>qPro5.1</i>	RZ213 - RZ123 RG13 - CDO105	1 1	2.51 3.26	-0.009 0.012	3.87 6.89		
气孔导度 SC 干旱胁迫 DS	<i>qSC4.1</i>	RZ590 - RG214	1	2.43	0.010	5.86		
正常灌溉 SI(CK)	<i>qSC4.2</i> <i>qSC9</i>	RG788 - RZ565 RG667 - RG451	8 1	7.34 2.67	-0.017 0.011	2.84 1.19	-0.018	6.38
蒸腾速率 TR 干旱胁迫 DS	<i>qTR4.1</i>	RG163 - RZ590	26	3.42	-0.174	4.25	-0.208	12.15

¹⁾ QTL 最高 LOD 值处与左侧标记的距离, $P < 0.01$ 。

¹⁾ The distance from the maximum value of LOD to the left marker, $P < 0.01$.

品种的选育有着重要的指导意义和参考价值。

2.3 与抗旱性相关的生理指标的 QTL 定位分析

分别在干旱胁迫和正常灌溉条件下,以叶片相对含水量、水势、游离脯氨酸含量、叶绿素含量、气孔导度及蒸腾速率的表型值为指标,对 DH 群体的 6 个生理指标进行加性 QTL 分析、上位性 QTL 分析

及其与环境的互作分析(表 5、表 6)。

相对含水量:正常灌溉条件下检测到 1 个加性 QTL 和 1 对上位性 QTLs,其中加性效应 QTL 位于第 1 染色体上,其提高相对含水量的加性效应 QTL 来自父本 Azucena 的等位基因,能够提高相对含水量 2.969%,其表型贡献率为 4.18%;上位性

表 6 与抗旱性相关的叶片生理指标 QTL 的互作效应

Table 6. Epistatic effects of QTLs for the physiological traits of leaves related to drought resistance in rice.

性状与处理 Trait and treatment	区间 Interval i			区间 Interval j			上位性效应 ²⁾ 贡献率 AA ²⁾ H ² /%	环境 互作效应 AAE	贡献率 H _{AAE} /%	
	QTL	标记区间 Marker interval	位置 ¹⁾ Location /cM ¹⁾	QTL	标记区间 Marker interval	位置 ¹⁾ Location /cM ¹⁾				LOD
相对含水量 正常灌溉 叶片水势 干旱胁迫 Relative water content Submerged irrigation(CK) Leaf water potential Drought stress	qRWC-1-2	RG690—RZ730	13	qRWC-10	RG257—RG241	2	4.05	4.081	7.62	
	qLWP-3-1	RZ394—Prd10A	18	qLWP-4-2	RG788—RZ565	0	4.27	-0.179	7.87	
	qLWP-3-2	RZ403—RG179	0	qLWP-12	RG341—AF6	1	4.50	-0.213	11.14	
	qLWP-3-3	RG910—RG418A	13	qLWP-5-1	RZ649—RZ67	18	5.70	0.334	27.39	
	qLWP-1-1	RG472—RG246	13	qLWP-4-1	RG143—RG620	5	4.82	0.232	13.59	
正常灌溉 Submerged irrigation(CK)	qLWP-2-1	RZ213—RZ123	1	qLWP-9-1	RZ792—RZ404	0	4.76	-0.173	7.55	
	qLWP-3-4	RZ519—Pgi-1	19	qLWP-9-2	Amy3ABC—RZ228	2	6.54	-0.220	12.22	
	qLWP-3-5	RG910—RG418A	0	qLWP-7-1	CDO38—RG351	8	6.24	-0.169	7.21	
	qLWP-7-2	Est-9—RZ337B	0	qLWP-9-3	RZ422—Amy3ABC	4	9.94	-0.690	21.23	
	脯氨酸含量 干旱胁迫 Proline content Drought stress	qPro-2-2	RZ58—CDO686	1	qPro-7-1	CDO418—RZ978	7	3.78	0.015	8.14
qPro-2-3		CDO686—AmyLA/C	8	qPro-8-1	RZ617—RG978	3	3.93	0.015	8.14	
qPro-3		RZ678—RZ574	0	qPro-7-2	CDO497—CDO418	12	3.77	-0.019	13.06	
qPro-5-2		RZ70—RZ225	7	qPro-7-3	CDO59—RG711	1	5.23	0.039	37.19	
qPro-6		pRD10B—RG648	10	qPro-8-2	AC5—RG418B	4	4.37	0.023	12.93	
叶绿素含量 正常灌溉 Submerged irrigation(CK)		qChl-1	RG690—RZ730	12	qChl-6-2	RG172—CDO544	11	8.16	2.193	23.33
	qChl-6-1	RG162—RG172	4	qChl-8	RG20—A5J560	3	5.22	-1.531	11.37	
	qChl-7	CDO59—RG711	1	qChl-11	RG118—Adh1	2	3.72	1.782	15.40	
	qSC-1-1	RZ276—RG146	3	qSC-5-1	RG313—RZ556	6	7.40	-0.020	14.46	
	qSC-4-3	RZ565—RZ675	17	qSC-10	RG241—RZ625	0	5.58	-0.012	5.21	
	qSC-4-4	RZ675—RG163	14	qSC-8	Amy3D/E—RZ66	0	6.18	-0.014	7.09	
	qSC-3	RZ394—pRD10A	18	qSC-5-2	RZ67—RZ70	12	5.68	-0.018	2.30	
气孔导度 干旱胁迫 Stomatal conductance Drought stress	qSC-1-2	RZ276—RG146	1	qSC-6	Amy2A—RG433	0	3.90	-0.020	2.84	
	qSC-1-3	Amy1B—RZ276	3	qSC-11-1	RZ536—Npb186	4	8.76	-0.019	2.56	
	qSC-5-3	CDO105—RZ649	0	qSC-9-2	RZ206—RZ422	5	6.57	-0.017	2.05	
	qSC-7	RG477—PGMS0.7	0	qSC-11-2	CDO127—RZ638	0	3.84	-0.014	1.39	
	qTR-1	RZ276—RG146	3	qTR-5	RZ556—RG403	3	4.99	-0.274	12.09	
	qTR-3-1	RZ574—RZ284	10	qTR-9-1	Amy3ABC—RZ228	7	4.48	0.303	14.79	
	qTR-3-2	RZ284—RZ394	13	qTR-4-2	RZ565—RZ675	17	4.56	-0.208	6.97	
正常灌溉 Submerged irrigation(CK)	qTR-6	RG653—Amy2A	2	qTR-8-2	A3E396—A18A1120	2	5.72	0.291	3.40	
	qTR-7	CDO59—RG711	0	qTR-9-2	RG451—RZ792	7	7.56	-0.286	3.29	
	qTR-8-1	RZ143—RG20	6	qTR-12	Sdh1—RG463	0	6.37	0.199	1.59	
									0.423	
									14.39	
									8.92	
									5.52	

¹⁾ QTL 最高 LOD 值处与左侧标记的距离; ²⁾ 效应方向: 正值, 亲本型>重组型; 负值, 重组型>亲本型。

¹⁾ Genetic distance between the most likely position of the putative QTL and the left side marker; ²⁾ Direction of effect: positive values, parent type>recombinant type; negative value, recombinant type>parent type.

QTL 涉及第 1 和第 10 染色体,两个位点的互作贡献率为 7.62%,其上位性效应能提高相对含水量 4.081%。

水势:未检测到控制水势的加性 QTL,但检测到 8 对控制水势的加性 × 加性上位性互作效应,其中干旱胁迫条件下检测到 3 对,正常灌溉条件下检测到 5 对,其贡献率为 7.21% ~ 27.39%,涉及第 1、2、3、4、5、7、9、12 等 8 条染色体,其中位于第 3 条染色体的 *qLWP 3 3* 与第 5 条染色体的 *qLWP 5 1* 两个位点的互作贡献率达 27.39%,其亲本型上位性效应大于重组型上位性效应,上位性效应能提高水势 0.334%。

游离脯氨酸含量:干旱胁迫条件下检测到控制游离脯氨酸含量的 2 个加性效应 QTL,分别位于第 2 和第 5 染色体上,其贡献率分别达到 3.87% 和 6.89%;检测到 5 对控制脯氨酸含量的上位性 QTL,其中干旱胁迫条件下检测到 3 对,正常灌溉条件下检测到 2 对,涉及第 2、3、5、6、7、8 等 6 条染色体,其贡献率为 8.14% ~ 37.19%,其中位于第 5 染色体的 *qPro 5 2* 与第 7 染色体的 *qPro 7 3* 两个位点的互作贡献率达 37.19%。同时检测到 1 对 *qPro 3* 与 *qPro 7 2* 上位性 QTL 与环境的互作效应,其贡献率达到 14.18%。这说明上位性效应对该群体脯氨酸含量的遗传具有重要的作用,但与加性效应的 QTL 相比,它受环境的影响比加性效应大。

叶绿素含量:未检测到控制叶绿素含量的加性 QTL,但正常灌溉条件下检测到 3 对控制叶绿素含量的加性 × 加性上位性互作效应,其贡献率为 11.37% ~ 23.33%,涉及第 1、6、7、8、11 等 5 条染色体,其中位于第 1 染色体的 *qChl 1* 与第 6 染色体的 *qChl 6 2* 两个位点的互作贡献率达 23.33%,其亲本型上位性效应大于重组型上位性效应,上位性效应能提高叶绿素含量 2.193%。

气孔导度:检测到 3 个控制气孔导度的加性 QTL,其中干旱胁迫条件下检测到 1 个,正常灌溉条件下 2 个,分别位于第 4 和第 9 染色体上,其贡献率分别达到 5.86%、2.84% 和 1.19%;同时检测到 *qSG 4 2* 与环境的互作效应,其互作效应贡献率达 6.38%;检测到 8 对控制气孔导度的上位性 QTL,其中干旱胁迫条件下检测到 3 对,正常灌溉下检测到 5 对,涉及第 1、3、4、5、6、7、8、9、10 和 11 共 10 条染色体,其贡献率为 1.39% ~ 14.46%,其上位性效应能显著提高气孔导度;检测到 5 对上位性 QTL

(*qSG 1 1* 与 *qSG 5 1*, *qSG 4 4* 与 *qSG 8*, *qSG 1 3* 与 *qSG 11 1*, *qSG 3* 与 *qSG 5 2*, *qSG 5 3* 与 *qSG 9 2*) 存在与环境的互作效应,其贡献率分别为 14.17%、14.17%、6.26%、3.64% 和 3.64%。这说明气孔导度受环境影响较大,在不同的环境下,气孔导度变化较大。

蒸腾速率:干旱胁迫条件下检测到控制蒸腾速率的 1 个加性效应 QTL,位于第 4 染色体上,其提高蒸腾速率的加性效应 QTL 来自父本 Azucena 的等位基因,其表型贡献率为 4.25%,加性 QTL 存在与环境的互作效应,其贡献率为 12.15%;检测到 6 对上位性 QTL,其中干旱胁迫条件下检测到 3 对,正常灌溉条件下检测到 3 对,其贡献率为 1.59% ~ 14.79%,上位性 QTL 涉及 1、3、4、5、6、7、8、9 和 12 共 9 条染色体。其中位于第 3 染色体的 *qTR 3 1* 与第 9 染色体的 *qTR 9 1* 两个位点的互作贡献率达 14.79%,其亲本型上位性效应大于重组型上位性效应,还检测到 3 对上位性 QTL 与环境的互作效应,其贡献率分别为 5.52%、8.92% 和 14.39%。从本研究可知,蒸腾速率受环境影响较大。

综上所述,共检测到与抗旱性相关的 6 个叶片生理指标的 7 个加性 QTL,31 对上位性 QTL,其中有 2 个主效 QTL 存在环境互作效应,9 对上位性 QTL 存在环境互作效应,说明干旱胁迫对控制相关生理性状基因的表达有显著的影响。在 6 个与抗旱性相关的叶片生理指标中,检测到的控制气孔导度和水势的 QTL 较多,有 3 个加性 QTL 和 8 个上位性 QTL 控制气孔导度,有 8 对上位性 QTL 控制水势。

3 讨论

3.1 关于各叶片生理指标与水稻抗旱性的关系

植物在遇到干旱胁迫时体内会产生一系列的反映,表现在生理生化上的变化,便是调动自身防御胁迫系统,启动一系列与逆境有关的基因表达。生理变化中,最重要的有渗透调节、气孔的运动及水分代谢。近些年,有关这些生理生化指标在干旱胁迫下与抗旱性关系方面的研究较多,就本文研究的几个与抗旱性相关的指标研究而言,研究的结论也不尽相同,但研究者普遍认为,在干旱处理下,这些指标均发生了不同程度的变化^[7-16]。

脯氨酸被认为是植物和细菌内的一种相容渗透剂^[17]。王邦锡等^[18]研究认为,在干旱胁迫下叶片脯氨酸累积量与品种抗旱性无相关关系,指出不宜

用脯氨酸数量的多少作为植物抗旱性的指标。Singh^[8]、吕丽华等^[19]和李冠等^[20]则研究认为,抗旱性强的品种叶片中脯氨酸累积多,品种的抗旱性与脯氨酸累积有一定的联系。可见,脯氨酸的累积与抗旱性的关系至今尚有争论,还有待深入研究。

气孔是空气中 CO₂ 进入植物体和植物体内水分蒸发的主要通道^[21]。陈明亮^[22]认为干旱直接影响水分代谢,使水分吸收减少,代谢失调,叶片气孔开度变小甚至关闭,使蒸腾减弱;高吉寅等^[23]研究认为,抗旱品种叶片蒸腾速率大,气孔阻力小,气孔导度大,而胡荣海等^[24]的研究结果却与此相反;凌祖铭等^[10]也认为,在不同的土壤水分状况下,不同品种间叶片气孔阻力的增加或减小并无一致性。因此,直接用蒸腾速率和气孔导度来评价品种抗旱性也不够准确。

本研究中,正常灌溉和干旱胁迫下叶片脯氨酸含量、气孔导度和蒸腾速率与抗旱系数的相关性均未达显著水平,说明这些指标与品种抗旱性的关系不密切,因此,笔者也认为这些指标不宜作为水稻抗旱性鉴定指标。

叶片叶绿素含量是作物生长的重要生理参数,表征了作物的生产能力^[25]。本研究中,叶绿素含量与抗旱系数的相关性不显著,这与孟宪梅等^[7]和张燕之等^[26]的研究结果不尽相同,有待做进一步的研究。

叶片水势反映的是植株体内的水分状况,许多土壤学家和生理学家采用植物的水势表示植物的受旱程度,能保持较高植株水势的植物具有较强的抗旱性。李冠等^[20]研究表明,在干旱胁迫下,抗旱品种叶片水势变化较小。陈承慈等^[9]和葛圣伦等^[27]的研究结果表明,在干旱胁迫下,抗旱品种叶片水势明显高于不抗旱品种。凌祖铭等^[10]研究认为,叶片水势与抗旱系数显著相关,在相同条件下,特别是在干旱处理条件下测定水、陆稻品种的叶片水势,用以比较其抗旱性较为可靠。Jongdee 等^[28]研究认为,干旱条件下御旱作物能够通过维持较高的组织含水量来抵抗干旱胁迫,其叶片水势较高,而且在不同的试验环境、不同时间的水势一致性较强。本研究两年利用 DH 群体的研究表明,在正常水分管理状况下,叶片水势与抗旱系数呈一定的正相关,在干旱胁迫下叶片水势与抗旱系数呈显著正相关,这与前人的研究结果是一致的。

叶片相对含水量是指叶片的含水量与该叶片在充分膨胀时所持最大含水量的比值,可反映叶片中

水分缺乏的程度,它是不受水分之外其他物质影响的水分生理指标,所以能更好地反映细胞的水分生理状态。缺水条件下,叶片细胞内水分减少,相对含水量下降,抗旱品种与不抗旱品种相比,在干旱胁迫下相对含水量下降幅度小^[11]。蒋明义等^[12]研究表明,抗旱性较强的品种叶片在渗透胁迫下能维持较高的相对含水量。本研究两年利用 DH 群体的研究表明,在正常水分管理状况下,叶片相对含水量与抗旱系数正相关接近于显著水平,在干旱胁迫下叶片水势与抗旱系数呈极显著和显著正相关。

因此,本研究认为可把干旱胁迫下的叶片水势和叶片相对含水量作为水稻生育后期(孕穗期至灌浆期)的抗旱鉴定指标。

3.2 关于与抗旱性相关的叶片生理指标的定位

作物自身抗旱性的改良是节约水资源的基本途径之一。不同品种在抗旱性方面所表现的差异,都有其相应的生理生化基础。水稻抗旱性生理性状的遗传研究已成为国内外抗旱性研究的热点。近些年有关水稻抗旱性相关 QTL 定位的研究较多,但大都集中在对形态指标如根系形态性状、叶片形态变化特征等方面^[29-34],在抗旱性生理指标方面,有一些关于脱落酸、渗透调节及相对含水量方面的报道^[35-38],但有关本研究中所涉及的叶片生理指标定位的报道较少。

本研究利用水稻 DH 群体对 6 个抗旱性相关叶片生理性状(相对含水量、水势、脯氨酸含量、叶绿素含量、气孔导度及蒸腾速率)进行了 QTL 定位,共检测到 7 个加性 QTL,31 对上位性 QTL,涉及到了所有的 12 条染色体,且基本比较均匀地分布在这些染色体上,表现出水稻抗旱性生理性状遗传的复杂性。其中相对含水量的主效 QTL *qRWC 1* 位于第 1 染色体 K5 - U10 区间,其效应值为 -2.969,贡献率为 4.18%;检测到 1 对上位性 QTL,涉及第 1 和第 10 两条染色体,这与 Courtois 等^[31]的定位结果基本相同,不同之处可能在于所用的阈值和标准不同,检测到的 QTL 数量不同;另据罗继景等^[38]报道,前人定位的有关相对含水量的 QTL 在第 1 染色体较多,这与本研究结果一致,说明相对含水量的遗传与第 1 染色体关系密切。另外,本研究中,第 3 染色体上检测到较多的与叶片水势有关的 QTL,第 4 染色体上检测到较多与气孔导度有关的 QTL,因而认为这两条染色体可能在叶片水势和气孔导度遗传方面发挥重要作用。

从定位结果还可知道,在第 3 染色体 RZ394 -

PRD10A 区间的相同位置有同时控制叶片水势和气孔导度的 QTL, 在第 1 染色体 RG690 - RZ730 区间的非常相近处有控制叶片相对含水量和叶绿素含量的 QTL, 另外还有控制叶片水势和蒸腾速率的 QTL 等, 表现出较多的一因多效或紧密连锁效应。

本研究定位结果表明, 6 个叶片生理指标的 7 个加性 QTL 和 31 对上位性 QTL 中, 有 2 个主效 QTL 和 9 对上位性 QTL 存在环境互作效应, 其中的 2 个主效 QTL 均是控制叶片气孔导度和蒸腾速率的 QTL, 9 对上位性 QTLs 中有 1 对控制叶片脯氨酸含量, 其余 8 对也均为控制气孔导度和蒸腾速率, 说明叶片气孔导度和蒸腾速率受环境影响很大。叶片相对含水量、水势及叶绿素含量均未检测到环境互作 QTL, 从文中的相关分析结果可知, 叶片相对含水量和叶片水势与抗旱系数呈显著或极显著正相关关系。因此, 利用与叶片相对含水量和叶片水势紧密连锁的分子标记进行辅助选择对抗旱性育种具有重要的参考意义。

参考文献:

- [1] Brown L R, Halweil B. China's water shortage could shake world food security. *World Watch*, 1998, 7(8): 3-4.
- [2] Clark R. Water: The International Crisis. London: Earth Scan Publications LTD, 1991: 3-4.
- [3] 郝建军, 刘延吉. 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2001.
- [4] 朱军. 复杂数量性状基因定位的混合线性模型方法//全国作物育种学术讨论会论文集. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 11-20.
- [5] 朱军. 运用混合线性模型定位复杂数量性状基因的方法. 浙江大学学报, 1999, 33(3): 327-335.
- [6] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, et al. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11-13.
- [7] 孟宪梅, 黄义德, 李奕松, 等. 水稻若干生理指标与品种抗旱性关系的研究. 安徽农业大学学报, 2003, 30(1): 15-22.
- [8] Singh T N. Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley: A potential metabolic measure of drought resistance. *Nat New Biol*, 1972, 236: 188-190.
- [9] 陈承慈, 刘鲁民. 抗旱力不同的陆稻品种叶水势的差异. 北京农业大学学报, 1990, 16(1): 45-48.
- [10] 凌祖铭, 李自超, 余荣, 等. 水旱栽培条件下水、陆稻品种产量和生理性状比较. 中国农业大学学报, 2002, 7(3): 13-18.
- [11] 吕凤山, 侯建华. 陆稻抗旱性主要指标研究. 华北农学报, 1994, 9(4): 7-12.
- [12] 蒋明义, 荆家海, 王韶唐. 水稻湘 1 和陆稻 763612 的抗旱性研究. 八一农学院学报, 1992, 15(1): 16-20.
- [13] 张燕之. 水稻抗旱性鉴定方法与指标探讨. 辽宁农业科学, 1994(5): 46-50.
- [14] 张燕之, 周珩毓, 邹吉承, 等. 水稻抗旱性鉴定方法与指标研究: 旱作时稻的主要农艺性状与其抗旱性指标. 辽宁农业科学, 1996(2): 6-8.
- [15] 张燕之, 周珩毓, 邹吉承, 等. 水稻抗旱性鉴定方法与指标研究: 水稻抗旱性指数与抗旱性. 辽宁农业科学, 1996(3): 13-16.
- [16] 吴竞仑, 蒋荷, 徐树照. 陆稻种质资源抗旱特性研究. 江苏农业学报, 1992, 8(1): 13-18.
- [17] 许祥明, 叶和春, 李国风. 脯氨酸代谢与植物抗渗透胁迫的研究进展. 植物学通报, 2000, 17(6): 536-542.
- [18] 王邦锡, 黄久常, 王辉, 等. 不同植物在水分胁迫条件下脯氨酸累积与抗旱性的关系. 植物生理学报, 1989, 15(1): 46-51.
- [19] 吕丽华, 胡玉昆, 李雁鸣. 水分胁迫下不同抗旱性冬小麦脯氨酸积累动态. 华北农学报, 2006, 21(2): 75-78.
- [20] 李冠, 石雪梅, 冉雪琴, 等. 陆稻抗旱性与某些生理生化特性的关系. 新疆大学学报, 1990, 7(1): 65-67.
- [21] 郑凤英, 彭少麟. 不同尺度上植物叶气孔导度对升高 CO₂ 的影响. 生态学杂志, 2003, 22(1): 26-30.
- [22] 陈明亮. 水分状况及环境条件对水稻蒸腾的影响. 应用生态学报, 2001, 12(1): 63-67.
- [23] 高吉寅, 胡荣海. 水稻等品种苗期抗旱生理指标的探讨. 中国农业科学, 1984, 17(4): 41-45.
- [24] 胡荣海. 农作物抗旱鉴定方法和指标. 作物品种资源, 1986(4): 36-39.
- [25] 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.
- [26] 张燕之, 周珩毓, 曾祥宽, 等. 不同类型稻抗旱性鉴定指标研究. 沈阳农业大学学报, 2002, 33(2): 90-93.
- [27] 葛圣伦, 谈家云, 王化琪, 等. 水稻高产抗旱的水分生理研究. 安徽农学通报, 2000, 6(4): 34.
- [28] 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.
- [29] Zhang J, Zheng H G, Aarti A, et al. Locating genomic regions associated with components of drought resistance in rice: Comparative mapping within and across species. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 19-29.
- [30] Zheng H G, Babu R C, Pathan M S, et al. Quantitative trait loci for root penetration ability and root thickness in rice: Comparison of genetic backgrounds. *Genome*, 2000, 43: 53-61.
- [31] Courtois B, McLaren G, Sinha P K, et al. Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice. *Mol Breeding*, 2000, 6: 55-66.
- [32] Babu R C, Nguyen B D, Chamarerk V, et al. Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: Association between secondary traits and field performance. *Crop Sci*, 2003, 43(4): 1457-1469.
- [33] Price A H, Townend J, Jones M P, et al. Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. *Plant Mol Biol*, 2002, 48: 683-695.
- [34] 滕胜, 钱前, 曾大力, 等. 水稻苗期耐旱性基因位点及其互作的分析. 遗传学报, 2002, 29(3): 235-240.
- [35] Robin S, Pathan M S, Courtois B, et al. Mapping osmotic adjustment in an advanced back cross inbred population of rice. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 1288-1296.
- [36] Lilley J M, Ludloy M M, McCouch S R, et al. Locating QTLs for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice. *J Exp Bot*, 1996, 47: 1427-1436.
- [37] Tripathy J N, Zhang J X, Robin S, et al. QTLs for cell membrane stability mapped in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress. *Theor Appl Genet*, 2000, 100(8): 1197-1202.
- [38] 罗继景, 黄巍, 朱瑞良, 等. 栽培稻抗旱性相关性状 QTL 的定位. 植物生理学通讯, 2005, 41(2): 260-268.