

# 太湖流域粳稻幼苗耐缺氧能力等位变异的发掘

王 洋<sup>1,2</sup>, 陈 兰<sup>2</sup>, 洪德林

(<sup>1</sup>南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095; <sup>2</sup>黑龙江大学农业资源与环境学院, 哈尔滨 150080)

**摘要:**用 91 对 SSR 标记对太湖流域 94 份粳稻品种进行基因组扫描, 分析基因组中等位变异偏分布; 调查了水稻幼苗的缺氧反应指数, 采用 TASSEL 软件的 GLM 方法对标记与幼苗耐缺氧能力进行关联分析; 并以携带无效等位基因材料表型均值为对照, 鉴别出携带有利等位变异的种质。检测到 4 个与幼苗耐缺氧能力关联的 SSR 位点。6 个 SSR 优异等位变异为 RM311-176bp、RM317-164bp、RM112-127bp、RM20-205bp、RM317-157bp 和 RM311-170bp, 携带上述优异等位变异的品种为镇稻 88、白芒糯、开青、有芒早稻、粗秆黄稻和 C 堡。

**关键词:** 粳稻; 幼苗耐缺氧; 有利等位变异; 关联分析

## Mining Elite Alleles for Seedling Anaerobic Tolerance of *Oryza sativa japonica* in Taihu Lake Region

WANG Yang<sup>1,2</sup>, CHEN Lan<sup>2</sup>, HONG De-lin<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095;

<sup>2</sup>Department of Agricultural Resource and Environment, Heilongjiang University, Harbin 150008)

**Abstract:** The purpose of this study were to detect elite alleles associated with anaerobic tolerance of seedling from *Oryza sativa japonica* varieties growing in Taihu Lake region, and to screen typical carrier genotypes of these alleles. The genotyping data of 91 simple sequence repeat (SSR) markers on representative samples of 94 varieties were used in the present study, and the anaerobic responsive index of seedling were investigated. The association analysis between SSR loci and the anaerobic tolerance was performed using General Linear Model program in Tassel 2.0. Elite alleles and their carrier materials were determined on the basis of the result of comparisons between the average phenotypic value of accessions with the specific allele and that of accessions with "null allele". Four SSR loci associated with seedling anaerobic tolerance were detected. Six elite alleles were RM311-176bp, RM317-164bp, RM112-127bp, RM20-205bp, RM317-157bp and RM311-170bp. Zhendao88, Baimangnuo, Kaiqing Youmangzaodao, Cuganhuangdao and C-bao were carrier genotypes having the elite alleles for seedling anaerobic tolerance.

**Key words:** *Oryza sativa japonica*; Seedling anaerobic tolerance; Elite alleles; Association analysis

水稻直播作为一种轻型高效节水的栽培方式在世界范围内广泛采用。美国、澳大利亚和意大利等发达国家几乎全部实行水稻直播生产; 在亚洲的斯里兰卡、韩国和马来西亚等国水稻直播面积占总种植面积的一半以上<sup>[1-2]</sup>。我国进入 21 世纪后水稻直播生产发展较快, 目前水稻直播种植面积比例已

超过 15%, 其中江苏省的水稻直播生产起步早, 种植面积比例已达 30%<sup>[3-5]</sup>。

水稻直播有旱直播和水直播 2 种, 其中水直播的稻种在深水中发芽出苗, 缺氧胁迫是导致种子田间成苗率降低的重要因素。在缺氧条件下, 水稻幼苗的根和叶的生长受抑制, 而芽鞘快速伸长到有氧

收稿日期: 2011-04-06 修回日期: 2011-05-20

基金项目: 高等学校学科创新引智计划项目 (B08025); 教育部科技基础条件平台重点项目 (505005)

作者简介: 王洋, 博士, 副教授。研究方向: 种子科学与工程。E-mail: Wangyang8731@yahoo.com.cn

通讯作者: 洪德林, 博士, 教授。研究方向: 作物遗传育种。E-mail: delinhong@njau.edu.cn

万方数据

环境为幼苗供氧<sup>[6]</sup>。不同品种在缺氧条件下芽鞘伸长能力不同,耐缺氧品种比不耐缺氧品种具有更强的芽鞘伸长能力<sup>[7-9]</sup>。培育强耐缺氧能力品种是提高直播生产中水稻田间成苗率的关键。水稻幼苗耐缺氧能力是由多个基因控制的数量性状,3 个水稻群体共报道了 13 个影响耐缺氧能力的 QTLs,第 2 和第 5 染色体上分别报道到了 3 个,第 7 染色体检测到了 2 个,在第 1、3、8、9 和 12 染色体上各检测到了 1 个<sup>[10-11]</sup>,揭示了双亲控制幼苗耐缺氧能力等位基因存在差异。

关联作图 (Association mapping, AM) 是以连锁不平衡为基础的检测数量性状位点的又一作图方法<sup>[12-13]</sup>,可检测到更多的有利等位变异<sup>[14]</sup>,其方法来源于人类疾病基因的检测<sup>[15]</sup>,现已应用于玉米、水稻、大豆和小麦等作物的 QTL 剖析<sup>[15-19]</sup>。以太湖流域地方品种和育成品种为材料,用关联作图对种子活力与 SSR 标记分析,检测到了 11 个 SSR 标记与种子活力性状相关联,发掘到 42 个控制种子活力相关性状的有利等位变异及典型的载体材料<sup>[20]</sup>。目前用关联群体检测水稻幼苗耐缺氧能力的 QTL 鲜见报道。

太湖流域是我国水稻的高产区<sup>[21]</sup>和稻种资源遗传多样性丰富的地区<sup>[22]</sup>。在太湖流域粳稻品种幼苗耐缺氧能力遗传变异<sup>[23]</sup>研究基础上,用关联作图方法发掘粳稻品种有利变异位点及其连锁标记,为培育适于水直播的水稻品种提供遗传信息和亲本材料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

由 94 份自然种质构成,包括太湖流域粳稻地方品种核心种质 58 份<sup>[24]</sup>和育成品种 36 份。

### 1.2 田间种植和试验方法

**1.2.1 田间种植** 2007 年正季将 94 份试验材料种植于南京农业大学江浦试验站。5 月 7 日播种,移栽后,每个材料栽 1 行,每行 12 株,单本栽插。株距 16.7cm,行距 20cm。常规田间管理。抽穗后 45~50d (因稻穗大小而异) 收获。每个材料采收行中间的 5 株,约 3000 粒。收获的种子晒干后,置于 50℃ 烘箱中处理 5d 打破休眠。

每个品种取 200 粒种子放入直径 9cm 的培养皿中,加入 0.6% 的次氯酸钠溶液浸泡 15min 进行灭菌。灭菌后用自来水冲洗 3 遍,然后在自来水中 25℃ 条件下浸泡 48h。吸足水分的种子,用于幼苗耐缺氧能力的测定试验。

**1.2.2 幼苗耐缺氧能力测定试验** 缺氧条件下幼苗芽鞘长度的测定。取 20 粒吸足水分的种子置于 5cm 水深条件下发芽。种子放在有 150 个方孔的塑料培养盘中 (由抛秧秧盘改造而来),每个方孔内放 4 粒种子;方孔的长、宽、高为 1.9cm × 1.9cm × 3.8cm,方孔的底部直径为 0.6cm 的排水孔。把塑料培养盘置于 37cm × 25cm × 9cm 的塑料周转箱中,周转箱内盛水,底部放有蛭石,种子距水面 5cm。测量第 7 天的芽鞘长,即芽鞘着生部位到芽鞘顶端的距离 (mm),精确到 1mm。计算 10 株幼苗芽鞘长度的平均值,2 次重复。试验在 GXZ 型智能光照培养箱中进行,培养箱内温度光照设置为 20℃/黑暗/16h 和 30℃/光照/8h。

正常条件下幼苗芽鞘长度的测定。采用斜板发芽法,即取 20 粒吸足水分的种子并排放置在覆盖两层发芽纸的斜板 (倾斜 70°) 上,上面加盖一层发芽纸,斜板放置在发芽盒中,盒中水量以 3cm 高为标准,可使发芽纸既保持一致的含水量又不会淹没种子。测量第 7 天的幼苗芽鞘长度。计算 10 株幼苗芽鞘长度的平均值。试验在 GXZ 型智能光照培养箱中进行。培养箱内温度光照设置为 20℃/黑暗/16h 和 30℃/光照/8h。2 次重复。

缺氧条件下芽鞘长度除以正常条件下芽鞘长度记为缺氧反应指数,以缺氧反应指数作为耐缺氧能力的衡量指标。

### 1.3 SSR 标记的选取和全基因组扫描

依据 Temnykh 等<sup>[25]</sup>和 McCouch 等<sup>[26]</sup>发表的水稻分子图谱和微卫星数据库 (<http://www.gramene.org/microsat>),选择覆盖水稻整个基因组的 91 对 SSR 引物 (图 1)。PCR 反应混合液为 10μl,含 1μmol/L DNA、0.7μmol/L 引物对、0.2μmol/L dNTPs、1μmol/L Buffer (free MgCl<sub>2</sub>), 0.6μmol/L MgCl<sub>2</sub>, 6.4μmol/L ddH<sub>2</sub>O 及 0.1μmol/L Taq DNA 酶。使用 PTC-100 扩增仪进行扩增。PCR 反应程序为 94℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 0.5min, 55~61℃ 退火 1min, 72℃ 延伸 1min, 进行 34 个循环;再经 72℃ 延伸 10min 后于 4℃ 保存。PCR 扩增产物在 8% 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳,银染显色。凝胶在 Bio-RAD visad 3.0 (Bio-RAD, USA) 成像系统中扫描。

### 1.4 自然群体标记与性状的关联分析

**1.4.1 位点多态性分析** 使用 QuantityOne 软件依据 DNAMarkerOne 计算出每个 SSR 标记等位变异的分子量,计算每一对 SSR 引物的多态信息含量指数 (polymorphism index content, 简称 PIC), 计算公式

| Chr. 1 | Chr. 2 | Chr. 3 | Chr. 4 | Chr. 5 | Chr. 6 | Chr. 7 | Chr. 8 | Chr. 9 | Chr. 10 | Chr. 11 | Chr. 12 |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|
| RM84   | RM5356 | RM5480 | RM6314 | RM159  | RM508  | RM82   | RM152  | RM8206 | RM5348  | RM6544  | RM20    |
| 12.1   | 8.6    | 13.9   | 14.6   | 19.6   | 9.2    | 10.4   | 3.4    | 43.1   | 9.5     | 12.7    | 45.0    |
| RM259  | RM327  | RM5639 | RM7396 | RM267  | RM510  | RM125  | RM1235 | RM3912 | RM311   | RM3133  | RM277   |
| 5.2    | 18.3   | 28.0   | 3.9    | 3.6    | 14.7   | 5.3    | 22.9   | 4.4    | 16.4    | 21.6    | 18.4    |
| RM579  | RM262  | RM218  | RM142  | RM405  | RM225  | RM180  | RM4085 | RM566  | RM184   | RM7391  | RM7120  |
| 7.5    | 23.3   | 14.5   | 35.8   | 12.4   | 6.5    | 5.6    | 23.3   | 17.5   | 12.0    | 14.3    | 5.2     |
| RM490  | RM183  | RM7403 | RM317  | RM574  | RM50   | RM8263 | RM331  | RM6570 | RM5629  | RM287   | RM7102  |
| 9.6    | 4.7    | 12.6   | 50.8   | 12.5   | 20.3   | 6.4    | 1.0    | 11.5   | 19.4    | 10.2    | 3.7     |
| RM8095 | RM5804 | RM6266 | RM349  | RM6082 | RM136  | RM418  | RM72   | RM257  | RM171   | RM457   | RM463   |
| 17.8   | 4.7    | 27.9   |        | 9.2    | 38.9   | 4.9    | 32.7   | 1.5    | 13.3    | 6.9     | 19.0    |
| RM562  | RM6361 | RM168  |        | RM598  | RM8239 | RM346  | RM6976 | RM201  | RM590   | RM21    | RM5479  |
| 53.6   | 15.2   | 17.3   |        | 33.9   | 26.0   | 14.0   | 11.5   |        |         | 17.2    |         |
| RM297  | RM573  | RM293  |        | RM305  | RM162  | RM336  | RM80   |        |         | RM206   |         |
| 23.9   | 4.7    |        |        | 24.0   |        | 32.9   | 10.7   |        |         |         |         |
| RM265  | RM450  |        |        | RM480  |        | RM234  | RM6948 |        |         |         |         |
| 38.1   | 14.7   |        |        |        |        |        | 13.7   |        |         |         |         |
| RM14   | RM112  |        |        |        |        |        | RM281  |        |         |         |         |
|        | 6.2    |        |        |        |        |        | 10.1   |        |         |         |         |
|        | RM525  |        |        |        |        |        | RM264  |        |         |         |         |
|        | 12.6   |        |        |        |        |        |        |        |         |         |         |
|        | RM498  |        |        |        |        |        |        |        |         |         |         |
|        | 33.9   |        |        |        |        |        |        |        |         |         |         |
|        | RM48   |        |        |        |        |        |        |        |         |         |         |

图 1 91 对 SSR 引物在水稻染色体组上的分布

Fig. 1 Distribution and genetic distances of 91 SSR markers over rice genome

相连引物间数值为遗传距离 Numbers are genetic distances (cM) between adjacent markers

$PIC = 1 - \sum p_i^2$ , 其中  $p_i$  表示第  $i$  个等位变异的频率<sup>[27]</sup>。计算出每条染色体上的 SSR 位点等位变异分布的平均值, 平均值以下的位点, 其等位变异都发生了一定的偏分离。

**1.4.2 连锁不平衡程度的衡量** 使用标准不平衡系数 ( $D'$ ) 衡量位点间 LD 程度:

$$D' = \frac{\sum_{i=1}^u \sum_{j=1}^v p_i q_j |D'_{ij}|}{\sum_{i=1}^u \sum_{j=1}^v p_i q_j}$$

其中  $U$  和  $V$  分别代表两个位点等位变异数目,  $p_i$  和  $q_j$  分别代表 A 位点的第  $i$  等位变异频率和 B 位点的第  $j$  等位变异频率。

$$D'_{ij} = \frac{D_{ij}}{D_{\max}}, D_{ij} = x_{ij} - p_i q_j$$

其中  $x_{ij}$  表示配子  $A_i B_j$  出现频率,  $p_i$  和  $q_j$  分别表示等位变异  $A_i$  的频率和  $B_j$  的频率。

$$D_{\max} = \begin{cases} \min[p_i q_j, (1 - p_i)(1 - q_j)]; D_{ij} < 0 \\ \min[p_i(1 - q_j), (1 - p_i)q_j]; D_{ij} > 0 \end{cases}$$

$D'$  值的理论变化范围为 0 ~ 1。应用上式计算出所有可能位点组合的  $D'$  值后, 在配对的矩阵图上以不同颜色表示  $D'$  值大小。整个计算过程使用 Edward Buckler Lab 开发的 Tassel 软件包 (www. 万方数据

maizegenetics.net/tassel) 完成。将  $D'$  值小于 0.5 作为 LD 衰减的标志。

**1.4.3 群体结构分析** 应用 Structure 软件 (版本 2.2) 估测自然群体的结构, 并计算材料相应的  $Q$  值。 $Q$  值表示第  $i$  个材料其基因组变异源于第  $k$  个亚群体的概率。

**1.4.4 优异位点与优异等位变异的确认** 使用 2.0 版本 Tassel 软件中的 General Linear Model (GLM) 程序, 将个体  $Q$  值作为协变量, 将幼苗耐缺氧能力的表型数据对标记变异进行回归分析。GLM 回归方程式:

$$Y_j = \alpha + \beta I_{pj} + \beta_1 X_{1j} + \beta_2 X_{2j} + \dots + \beta_k X_{kj} + \varepsilon_j$$

其中,  $Y_j$  是第  $j$  个材料数量性状的表型值,  $I_{pj}$  是第  $j$  个材料第  $p$  个等位变异的指示变量,  $\beta$  是群体各位点等位变异的平均效应值,  $X_{1j} \sim X_{kj}$  是第  $j$  个材料基因组变异源于第 1 ~  $k$  个亚群体的概率  $Q$  值,  $\beta_1 \sim \beta_k$  是亚群体各位点各等位基因的平均效应值,  $\varepsilon_j$  是残差 (www. maizegenetics.net/tassel)。

SSR 位点等位变异表型效应计算方法为:  $a_i = \sum x_{ij}/n_i - \sum N_k/n_k$ , 其中  $a_i$  代表第  $i$  个等位变异的表型效应值,  $x_{ij}$  为携带第  $i$  等位变异的第  $j$  材料

性状表型测定值,  $n_i$  为具有第  $i$  等位变异的材料数。  $N_k$  为携带无效等位变异的第  $k$  个材料的表型测定值,  $n_k$  为具有无效等位变异的材料数。若  $a_i$  值为正, 则认为该等位变异为增效等位变异, 反之为减效等位变异<sup>[18]</sup>。携带第  $i$  等位变异的材料中, 表型值大于  $\sum x_{ij}/n_i$  值的材料, 视为典型载体材料。

全部增效(减效)等位变异的平均效应(Average positive(negative) allele effect of locus, AAE)可用于该位点增效能力的整体评价, 计算方法为  $AAE = \sum a_c/n_c$ , 其中  $a_c$  为某关联位点内第  $c$  个增效(减效)等位变异的表型效应值,  $n_c$  为位点内增效(减效)等位变异数。增效(减效)等位变异的表型

效应的增效(减效)比例 :  $AN = \frac{\sum a_c/n_c}{\sum N_k/n_k} \times 100\%$

表 1 太湖流域地方品种和育成品种不同染色体上检测到的具有高丰度等位变异但 PIC 低的 SSR 位点  
Table 1 SSR marker loci with high allelic richness but low PIC in genotype of Landrace and Cultivar in Taihu Lake region

| 染色体<br>Chromosome | 位点数<br>No. of loci | 等位变异位点 Allele loci |                  | 染色体<br>Chromosome | 位点数<br>No. of loci | 等位变异位点 Allele loci |                  |
|-------------------|--------------------|--------------------|------------------|-------------------|--------------------|--------------------|------------------|
|                   |                    | 地方品种<br>Landrace   | 育成品种<br>Cultivar |                   |                    | 地方品种<br>Landrace   | 育成品种<br>Cultivar |
| 1                 | 3                  | RM8059 (0.12)      | RM84 (0.12)      | 7                 | 3                  | RM82 (0.03)        | RM125 (0.05)     |
|                   |                    | RM486 (0.35)       | RM8059 (0.22)    |                   |                    | RM234 (0.39)       | RM234 (0.20)     |
|                   |                    |                    | RM486 (0.35)     | 8                 | 6                  | RM1235 (0.23)      | RM152 (0.23)     |
| 2                 | 6                  | RM7288 (0.03)      | RM7288 (0.0)     |                   |                    | RM331 (0.32)       | RM6976 (0.10)    |
|                   |                    | RM6361 (0.03)      | RM262 (0.03)     |                   |                    | RM6976 (0.17)      | RM281 (0.18)     |
|                   |                    | RM112 (0.12)       | RM106 (0.10)     |                   |                    | RM6948 (0.10)      |                  |
|                   |                    | RM498 (0.17)       | RM112 (0.18)     | 9                 | 2                  | RM566 (0.13)       | RM566 (0.18)     |
| 3                 | 2                  | RM7 (0.09)         | RM7 (0.18)       |                   |                    | RM201 (0.16)       | RM201 (0.18)     |
|                   |                    | RM740 (0.03)       | RM7403 (0.05)    | 10                | 1                  | RM184 (0.09)       | RM184 (0.18)     |
| 4                 | 2                  | RM6314 (0.10)      | RM6314 (0.05)    |                   |                    | RM6455 (0.09)      | RM6455 (0.15)    |
|                   |                    | RM317 (0.35)       | RM317 (0.15)     | 11                | 2                  | RM457 (0.12)       | RM457 (0.10)     |
|                   |                    | RM307 (0.03)       | RM307 (0.10)     | 12                | 1                  | RM712 (0.12)       | RM7120 (0.0)     |
| 5                 | 3                  | RM267 (0.15)       | RM267 (0.10)     |                   |                    |                    |                  |
|                   |                    | RM305 (0.06)       | RM305 (0.10)     |                   |                    |                    |                  |
| 6                 | 2                  | RM508 (0.03)       | RM508 (0.10)     |                   |                    |                    |                  |
|                   |                    |                    | RM50 (0.36)      |                   |                    |                    |                  |

括号内数值为每个 SSR 位点的 PIC 值, The number in bracket is the value of PIC of SSR

2.2 太湖流域粳稻自然群体 SSR 位点间的连锁不平衡

91 个 SSR 位点的 4095 个组合中, 在相同和不同染色体的组合中都存在一定程度的连锁不平衡 ( $D' > 0.5$ , 见图 2 对角线上方), 但得到统计概率  
万方数据

[A: average positive (negative) allele, N: null allele]<sup>[18]</sup>。

2 结果与分析

2.1 太湖流域自然群体中等位变异严重偏分离的 SSR 位点

对太湖流域地方品种和育成品种 91 个位点 SSR 数据的分析, 共发现了 33 个等位变异严重偏分离的 SSR 位点(即具有高丰度等位变异但 PIC 低的 SSR 位点)(表 1), 其中育成品种包含了 28 个位点, 地方品种包含 26 个位点, 既存在于育成品种又存在于地方品种的位点有 21 个位点。以上 33 个位点的产生可能是太湖流域粳稻在进化过程中承受强选择作用在群体中的多样性显著降低, 同时这些基因附近区域的遗传多样性也明显下降, 利用标记/性状关联分析(Marker/Trait association analysis), 就可发现这些区段所控制的重要性状。

( $P < 0.01$ ) 支持的不平衡成对位点的比例并不大(见图 2 对角线下方)。在地方品种群体中, 不平衡位点对数占全部位点对数的 16.4%, 育成品种群体中, 不平衡位点对数占全部位点对数的 8.2%。然而从  $D'$  值和分布看, 育成品种略高于地方品种, 说

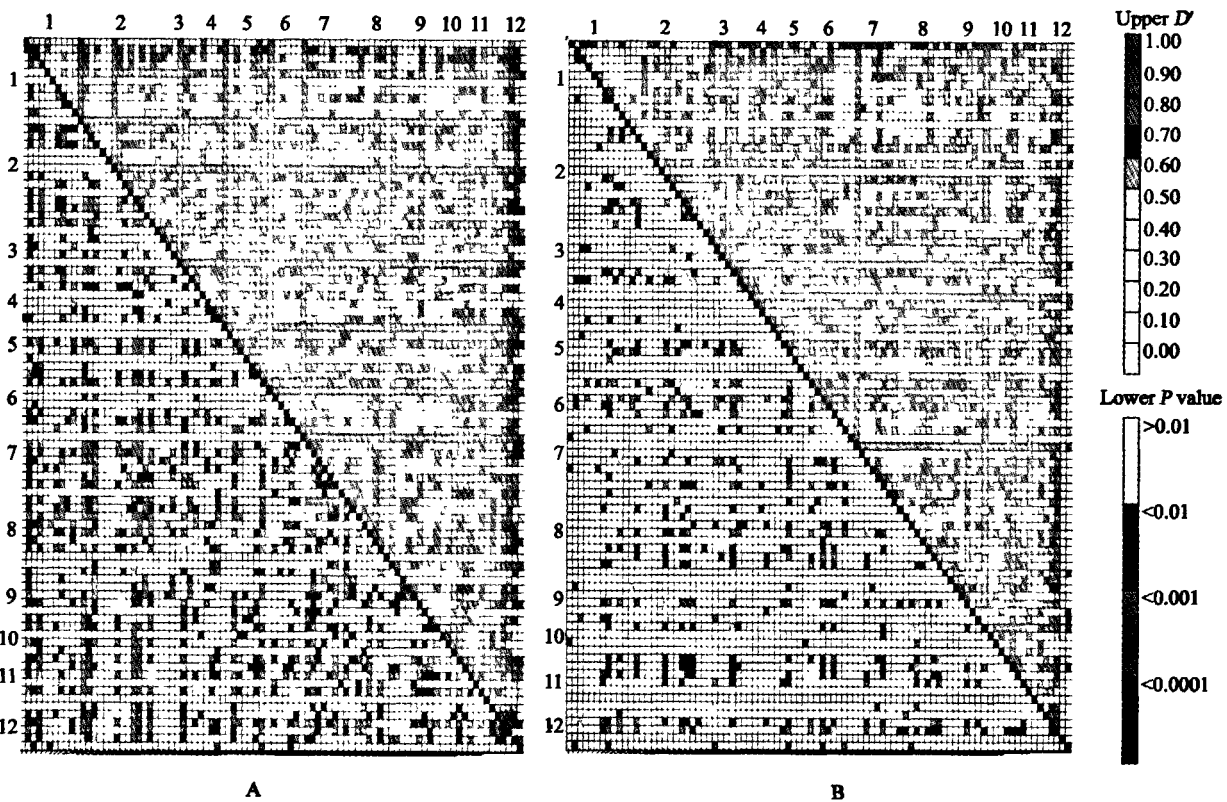


图2 地方品种(A)和育成品种(B)12条染色体上91个SSR位点间连锁不平衡的分布  
Fig. 2 Distribution of LD among 91 SSR loci on 12 chromosomes in landrace (A) and cultivar (B)

SSR 位点以染色体为单位,按正文描述顺序排列在 X,Y 轴方向。黑色对角线上方的每一像素格使用右侧上方色差代码表征成对位点间 D' 值大小,对角线下方的每一像素格是用右侧下方色差代码表示的测验成对位点间 LD 的 p 值(概率)大小  
SSR markers are organized in chromosomes ( as specified in text ) marked along the X- and Y- axis, each pixel above the diagonal indicates the D' size of the corresponding marker pair as shown in the color at the upper right while each pixel below the diagonal indicates the p-value size of the testing LD of the corresponding marker pairs as shown in the color code at the lower right

明人工选择加大了连锁不平衡。

2.3 太湖流域梗稻自然群体的结构分析

利用 Structure 软件,基于 70 对(删除遗传距离较近的 21 对引物)覆盖水稻全基因组的 SSR 标记对自然群体进行结构分析。依据似然值(lnPr(X/K))最大的原则(参考 Structure 软件帮助文件,http://tch.bsd.uchicago.edu/sftware),分析结果表明,自然群体的等位变异频率特征类型数 K=8 时,其模型后验概率最大。

2.4 太湖流域梗稻自然群体中幼苗耐缺氧能力优异等位变异与载体材料

太湖流域梗稻自然群体为多个亚群体组成,将各个体相应的 Q 值作为协变量,分别进行标记变异对缺氧反应指数变异的回归分析,寻找与幼苗耐缺氧能力位点相关联的标记。在 91 个标记位点中共有 4 个标记位点 RM112、RM317、RM311 和 RM20 与幼苗耐缺氧能力相关,其中位于第 8 染色体的 RM311 对表型变异的解释率为 15%(表 2)。

表 2 与幼苗耐缺氧能力相关联的 SSR 位点增效(减效)等位变异的平均效应

Table 2 Average positive(negative) allele effect of SSR locus associated with seedling anoxic tolerance

| 标记<br>Marker | 贡献率(%)<br>Variance explained | 等位变异平均效应值 AAE |              |
|--------------|------------------------------|---------------|--------------|
|              |                              | 增效 Positive   | 减效 Negative  |
| RM112        | 7                            | +1.12(+17.9)  | -1.12(-15.2) |
| RM317        | 14                           | +0.76(+13.4)  | -0.62(-9.7)  |
| RM311        | 15                           | +0.85(+13.9)  | -1.05(-14.4) |
| RM20         | 7                            | +0.35(+5.8)   | -0.35(-5.4)  |

等位变异平均效应栏中括号内数字为 AAE 的增效(减效)比例(%)

AN,其中  $AAE = \sum a_c/n_c$ ,  $AN = \frac{\sum a_c/n_c}{\sum N_k/n_k} \times 100\%$

The number inbracket is AN which is the ratioof average positive(negative) allele effect (AAE) of SSR locus,  $AAE = \sum a_c/n_c$ ,  $AN =$

$\frac{\sum a_c/n_c}{\sum N_k/n_k} \times 100\%$

与幼苗耐缺氧能力相关的 4 个 SSR 标记位点,分别求出同一位点不同等位变异的表型效应值。表 3 列出了耐缺氧能力关联位点增效(减效)表型效应的等位变异和相应的效应值。

4 个 SSR 位点上共扩增出 6 个对幼苗耐缺氧能力具有增效作用的优异等位变异, RM112 扩增出 1 个, RM317 扩增出 2 个, RM311 扩增出 2 个, RM20 扩增出 1 个。其中 3 个等位变异 RM311 - 176bp (引物 RM311 扩增出等位变异的大小)、RM317 - 164bp 和 RM112 - 127bp 具有较大的效应值分别为 1.48、1.20 和 1.12, 携带这 3 个优异等位变异的典型材料分别为镇稻 88、白芒糯和开青(表 3)。优异等位变异 RM112 - 127bp 的增效等位变异平均效应值(+1.12)最高, 表型效应的增效比例也最大为 17.9%(表 2)。

表 3 与幼苗耐缺氧能力显著关联的位点及其等位变异对应的表型效应

Table 3 Phenotypic effect of some marker alleles at loci significantly associated with anoxic tolerance of seedling

| 位点 - 等位变异<br>Locus-allele | 表型效应<br>$a_i$ | 典型材料<br>Typical material |
|---------------------------|---------------|--------------------------|
| RM112 - 127bp             | +1.12         | 开青                       |
| RM112 - 132bp             | -1.12         | 台梗 9 号选                  |
| RM317 - 164bp             | +1.20         | 白芒糯                      |
| RM317 - 157bp             | +0.33         | 粗秆黄稻                     |
| RM317 - 139bp             | -0.44         | 粗秆晚洋稻                    |
| RM317 - 142bp             | -0.46         | 晚野稻                      |
| RM317 - 167bp             | -0.68         | 红芒沙梗                     |
| RM317 - 159bp             | -0.91         | 老叠谷                      |
| RM311 - 176bp             | +1.48         | 镇稻 88                    |
| RM311 - 170bp             | +0.22         | C 堡                      |
| RM311 - 174bp             | -0.06         | 慢野稻                      |
| RM311 - 187bp             | -2.04         | 嘉 159                    |
| RM20 - 205bp              | +0.35         | 有芒早稻                     |
| RM20 - 299bp              | -0.35         | 荒三稻糯                     |

### 3 讨论

本研究利用关联作图群体检测水稻幼苗耐缺氧 QTL, 在太湖流域梗稻品种中共发掘到了 6 个有利等位变异和 6 个携带有利等位变异的载体材料, 其中以 RM311 - 176 表型效应值最大。携带 RM311 - 176 等位变异的典型载体材料为镇稻 88, 可作为培

育适于直播梗稻品种资源在生产中加以利用。利用关联作图技术, Zhang 等<sup>[17]</sup>对水稻株型、剑叶、粒型和花期等 12 个重要农艺性状进行定位检测到的位点与前人利用家系作图群体检测到的 23 个 QTL 位点相同或相近, 而且检测到的位点多于家系作图。Eizenga 等<sup>[28]</sup>利用关联分析对稻瘟病抗性基因进行定位, 检测到了 32 个位点与稻瘟病抗性关联, 其中 20 个位点与家系作图结果相一致。本研究利用关联作图群体共检测到 4 个水稻幼苗耐缺氧 QTL, 与利用家系群体检测到的幼苗耐缺氧 QTL<sup>[11,17]</sup>相比, 位于第 4、8 和 12 染色体上的 RM317、RM311 和 RM20 是本文首次报道的。

太湖流域梗稻作图群体中发现了 33 个等位变异严重偏分离的位点, 利用表型/标记关联作图检测到的 4 个与控制水稻幼苗耐缺氧能力相关联的标记中 RM112 和 RM317 正处于发生严重偏分离的位点上, 另外两个标记 RM311 和 RM20 则在严重偏分布的位点附件区段上。在王洋等<sup>[20]</sup>所检测到的与控制水稻种子活力相关性状的 11 个标记中, 也有 5 个标记在发生严重偏分布的位点上。以上结果表明, 选择牵连分析发掘到具有明显选择“痕迹”的位点, 可能是控制农作物重要性状的位点, 但选择牵连分析不能将基因与功能完全联系起来, 利用以连锁不平衡为基础的关联作图进一步将表型和标记进行关联, 是发掘作物重要基因的有效方法。

与连锁作图相比关联作图更容易造成假阳性, 其原因在于群体结构能增加染色体间的连锁不平衡性, 使目的性状与不相关的位点间表现出关联, 即造成了伪关联(spurious association)<sup>[29-30]</sup>。因此, 在关联分析前要对群体进行结构分析和调节。本研究利用多位点基因型数据采用了基于模型的聚类来分析群体结构, 将本研究的关联群体划分为 8 个亚群。进一步分析亚群的生物学意义, 发现太湖流域核心种质亚群的划分与按照抽穗期的早晚分为 5 个生态型相关( $\chi^2 = 45.22$ , 大于  $\chi^2_{(0.05, 28)} = 41.34$ ), 表明亚群遗传上的分化与抽穗期划分的生态类型有关联, 说明抽穗期的划分具有一定的遗传基础, 可能是不同生育期群体之间因抽穗开花期不相遇导致基因不易交流之故。王洋等<sup>[23]</sup>将太湖流域的梗稻地方品种以抽穗期不同划分为 5 个生态类型来研究幼苗耐缺氧能力的遗传变异, 发现不同生态类型幼苗耐缺氧能力遗传变异存在一定差异。本研究结果表明, 这种差异来源于不同的遗传基础。

由于水稻直播是将种子直接播在复杂田间土壤

环境中,全苗壮苗问题成为继草害、倒伏等后目前直播稻发展又一制约因素。缺氧胁迫直接影响水稻的田间成苗率,直播品种具有耐缺氧能力是解决苗期迅速一致萌发的关键。本研究获得的耐缺氧有利等位变异和载体材料以及前期研究发掘的高活力有利变异和载体材料可作为直播品种选育的分子辅助标记和亲本材料,为培育适宜直播水稻品种提供理论基础。

#### 参考文献

- [1] 吴文革,陈烨,钱银飞,等.水稻直播栽培的发展概况与研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2006, 8 (4): 32-36
- [2] 王洋,张祖立,张亚双,等.国内外水稻直播种植发展概况[J]. 农机化研究, 2007(1): 48-50
- [3] 杜娟,刘国华.水稻栽培方式研究进展[J]. 作物研究, 2007, 21 (5): 593-597
- [4] 金千瑜,欧阳由男,陆永良,等.我国南方直播稻若干问题及其技术对策研究[J]. 中国农学通报, 2001, 17 (5): 16-18
- [5] 郑克武.客观面对直播稻的迅速发展 研究掌握直播稻的稳产技术[J]. 江苏农业科学, 2009(1): 59-62
- [6] Fred T T, Chen C C, Garry N M. Morphological development of rice seedling in water at controlled oxygen levels[J]. Agron J, 1981, 73: 556-560
- [7] Yamauchi M, Aguilar A M, Vaughan D A. Rice (*Oryza sativa* L.) germplasm suitable for direct sowing under flooded soil surface[J]. Euphytica, 1993, 67: 177-184
- [8] Yamauchi M, Biswas J K. Rice cultivar difference in seedling establishment in flooded soil [J]. Plant & Soil, 1997, 189: 145-153
- [9] Setter E S, Ella E S, Valdez A P. Relationship between coleoptile elongation and alcoholic fermentation in rice exposed to anoxia: II. Cultivar differences[J]. Ann Bot, 1994, 74: 273-279
- [10] 王洋,郭媛,洪德林.水稻幼苗耐缺氧能力的 QTL 分析[J]. 中国水稻科学, 2010, 24 (1): 18-24
- [11] 侯名语,江玲,王春明,等.水稻种子低氧发芽力的 QTL 定位和上位性分析[J]. 中国水稻科学, 2004, 18 (6): 483-488
- [12] 杨小红,严建兵,郑艳萍,等.植物数量性状关联分析研究进展[J]. 作物学报, 2007, 33 (4): 523-530
- [13] Ju W, Phillip E M, Rian L, et al. Association mapping of iron deficiency chlorosis loci in soybean (*Glycine max* L. Merr.) advanced breeding lines [J]. Theor Appl Genet, 2008, 116: 777-787
- [14] Sherry A F, Anne C T, Jiang Y, et al. Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection[J]. Plant J, 2005, 44: 1054-1064
- [15] March R E. Gene mapping by linkage and association analysis [J]. Mol Biotechnol, 1999, 13: 113-122
- [16] Yu J M, Buckler E S. Genetic association mapping and genome organization of maize[J]. Curr Opin Biotechnol, 2006, 17: 1-6
- [17] Zhang N, Xu Y, Akash M, et al. Identification of candidate markers associated with agronomic traits in rice using discriminant analysis[J]. Theor Appl Genet, 2005, 110: 721-729
- [18] Breseghello F, Sorrells M S. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars [J]. Genetics, 2006, 172: 1165-1177
- [19] 文自翔,赵团结,郑永战,等.中国栽培和野生大豆农艺品质性状与 SSR 标记的关联分析 I. 群体结构及关联标记[J]. 作物学报, 2008, 34 (7): 1169-1178
- [20] 王洋,郭媛,洪德林.太湖流域梗稻两类群体种子活力性状有利等位变异的发掘[J]. 作物学报, 2010, 36 (5): 754-763
- [21] 王才林,邹江石,汤陵华,等.太湖流域新石器石器古稻作[J]. 江苏农业学报, 2000, 16 (3): 129-138
- [22] 金伟栋,程保山,洪德林.基于 SSR 标记的太湖流域梗稻地方品种遗传多样性研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41 (11): 3822-3830
- [23] 王洋,王盈盈,洪德林.太湖流域水稻种子活力和耐缺氧能力遗传变异研究[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32 (3): 1-7
- [24] 金伟栋,洪德林.太湖流域梗稻地方品种遗传多样性研究[J]. 生物多样性, 2006, 14 (6): 479-487
- [25] Temnykh S, Park W D, McCouch S R. Mapping and genome organization of microsatellite sequence in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100: 697-712
- [26] McCouch S R, Teytelman L, Xu Y. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) [J]. DNA Res, 2002, 9: 199-207
- [27] Anderson J A, Churchill G A, Sutcliffe J E. Optimizing parental selection for genetic linkage maps[J]. Genome, 1993, 36: 181-186
- [28] Eizenga G C, Agrama H A, Lee F N, et al. Identifying novel resistance gene in newly introduced blast resistant rice germplasm [J]. Cro Sci, 2006, 46: 1870-1878
- [29] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. Genetics, 2000, 155: 945-959
- [30] Flint G S A, Thornsberry J M, Buckler E S I V. Structure of Linkage disequilibrium in plants[J]. Ann Rev Plant Bio, 2003, 54: 357-374

#### 欢迎订阅 2012 年《中国生态农业学报》

《中国生态农业学报》由中国科学院遗传与发育生物学研究所和中国生态经济学会主办,中国科学院主管,科学出版社出版。主要报道全球环境变化与农业、农业生态系统与生态农业理论基础、农田生态系统与农业资源、生态农业模式和技术体系、农业生态经济学、农业环境质量及环境保护、农业有害生物的综合防治等领域创新性研究成果。适于从事农业生态学、生态学、生态经济学以及环境保护等领域科技人员、高等院校有关专业师生、农业及环境管理工作者和基层从事生态农业建设的技术人员阅读与投稿。

月刊,国际标准大 16 开本,128 页,每期定价 35 元,全年 420 元。邮发代号:82-973。

地址:(050022) 河北省石家庄市槐中路 286 号 中科院遗传发育所农业资源中心《中国生态农业学报》编辑部

电话:(0311) 85818007 传真:(0311) 85815093

网址: <http://www.ecoagri.ac.cn>

E-mail: editor@sjziam.ac.cn

作者: [王洋, 陈兰, 洪德林, WANG Yang, CHEN Lan, HONG De-lin](#)  
作者单位: [王洋, 洪德林, CHEN Lan, HONG De-lin\(南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京210095; 黑龙江大学农业资源与环境学院, 哈尔滨150080\), 陈兰, WANG Yang\(黑龙江大学农业资源与环境学院, 哈尔滨, 150080\)](#)  
刊名: [植物遗传资源学报](#) **ISTIC** **PKU**  
英文刊名: [Journal of Plant Genetic Resources](#)  
年, 卷(期): 2011(5)

## 参考文献(30条)

1. [Pritchard J K; Stephens M; Donnelly P Inference of population structure using multilocus genotype data](#) 2000
2. [Eizenga G C; Agrama H A; Lee F N Identifying novel resistance gene in newly introduced blast resistant rice germplasm](#) 2006
3. [Anderson J A; Churchill G A; Sutriquer J E Optimizing parental selection for genetic linkage maps](#) 1993
4. [McCouch S R; Teytelman L; Xu Y Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice \(Oryza sativa L.\)](#) 2002
5. [Temnykh S; Park W D; McCouch S R Mapping and genome organization of microsatellite sequence in rice \(Oryza sativa L.\)](#) [外文期刊] 2000
6. [Flint G S A; Thornsberry J M; Buckler E S I V Structure of Linkage disequilibrium in plants](#) 2003
7. [金伟栋; 洪德林 太湖流域粳稻地方品种遗传多样性研究](#) 2006(06)
8. [王洋; 王盈盈; 洪德林 太湖流域水稻种子活力和耐缺氧能力遗传变异研究](#) 2009(03)
9. [王洋; 郭媛; 洪德林 太湖流域粳稻两类群体种子活力性状有利等位变异的发掘](#) 2010(05)
10. [文自翔; 赵团结; 郑永战 中国栽培和野生大豆农艺品质性状与SSR标记的关联分析 I. 群体结构及关联标记](#) 2008(07)
11. [Breseghello F; Sorrells M S Association mapping of kernel size and milling quality in wheat \(Triticum aestivum L.\) cultivars](#) 2006
12. [Zhang N; Xu Y; Akash M Identification of candidate markers associated with agronomic traits in rice using discriminant analysis](#) 2005
13. [Yu J M; Buckler E S Genetic association mapping and genome organization of maize](#) [外文期刊] 2006
14. [March R E Gene mapping by linkage and association analysis](#) [外文期刊] 1999
15. [金伟栋; 程保山; 洪德林 基于SSR标记的太湖流域粳稻地方品种遗传多样性研究](#) 2008(11)
16. [王才林; 邹江石; 汤陵华 太湖流域新石器石器古稻作](#) 2000(03)
17. [Sherry A F; Anne C T; Jiang Y Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection](#) 2005
18. [Ju W; Phillip E M; Rian L Association mapping of iron deficiency chlorosis loci in soybean \(Glycine max L. Merr.\) advanced breeding lines](#) 2008
19. [杨小红; 严建兵; 郑艳萍 植物数量性状关联分析研究进展](#) 2007(04)
20. [侯名语; 江玲; 王春明 水稻种子低氧发芽力的QTL定位和上位性分析](#) 2004(06)
21. [王洋; 郭媛; 洪德林 水稻幼苗耐缺氧能力的QTL分析](#) 2010(01)
22. [Setter E S; Ella E S; Valdez A P Relationship between coleoptile elongation and alcoholic fermentation in rice exposed to anoxia: II. Cultivar differences](#) 1994
23. [Yamauchi M; Biswas J K Rice cultivar difference in seedling establishment in flooded soil](#) [外文期刊] 1997
24. [Yamauchi M; Aguilar A M; Vaughan D A Rice \(Oryza sativa L.\) germplasm suitable for direct sowing under flooded soil surface](#) [外文期刊] 1993
25. [王洋; 张祖立; 张亚双 国内外水稻直播种植发展概况](#) 2007(01)
26. [吴文革; 陈烨; 钱银飞 水稻直播栽培的发展概况与研究进展](#) 2006(04)



27. [Fred T T;Chen C C;Garry N M Morphological development of rice seedling in water at controlled oxygen levels](#) 1981
28. [郑克武](#) 客观面对直播稻的迅速发展研究掌握直播稻的稳产技术 2009(01)
29. [金千瑜;欧阳由男;陆永良](#) 我国南方直播稻若干问题及其技术对策研究 2001(05)
30. [杜娟;刘国华](#) 水稻栽培方式研究进展 2007(05)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwyczyxb201105015.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201105015.aspx)