

水稻高温热害发生机理与耐高温遗传基础研究

李飞², 卓壮², U. A. Kapila Siri Udawela², 高用明², 石英尧¹

(¹安徽农业大学农学院, 合肥 230036; ²中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 在全球气候变暖的大环境下, 极端天气频繁发生, 高温已经成为制约水稻产量和品质的主要因素之一。培育耐高温的水稻品种是防止高温热害最简便有效的途径。现代分子技术的发展和水稻功能基因组研究的深入, 为水稻耐高温遗传机制的剖析提供了有效手段。本文综述了近年来水稻高温热害的发生机理和耐高温遗传基础方面的研究进展, 包括耐高温 QTL 定位与克隆、转录组研究、蛋白组研究等。以期为深入剖析水稻耐高温的分子机制和培育耐高温的新品种提供有益参考。

关键词: 水稻; 耐高温; 热害; QTL 定位与克隆; 转录组学; 蛋白组学

Damage Mechanism of Heat Stress and Genetic Basis of Heat Tolerance in Rice

LI Fei^{1,2}, ZHUO Zhuang², U. A. Kapila Siri Udawela², GAO Yong-ming², SHI Ying-yao¹

(¹Agricultural University of Anhui, Hefei 230036;

²Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081)

Abstract: The extreme climate affairs occur more frequently under the trends of global warming. Heat has been one of the major constrains of rice yield and quality. The most effective way to solve the problem is to develop new rice varieties with heat tolerance. The advance of molecular biotechnology and rice functional genome research provide an effective approach for studying on the genetic bases of rice heat tolerance. The damage mechanism of heat stress and genetic basis of heat tolerance in rice were summarized in this review, such as QTL mapping and cloning, transcriptome, and proteomics. It may facilitate the deep dissection of genetic mechanism of heat tolerance in rice and the development of new rice variety with heat tolerance.

Key words: Rice; heat tolerance; heat damage; mapping QTL and cloning; transcriptome; proteomics

随着世界人口持续快速的生长, 据统计到 2050 年, 全球水稻的产量将要以每年 0.6% ~ 0.9% 的方式增产才能满足人们对粮食的需求^[1]。因此, 粮食短缺问题日益成为全球将面临的重大挑战。水稻是世界上近一半人口食用的主要粮食作物, 其产量稳定与否将直接关系到全球粮食安全和国际局势的稳定。由于工业化和人类活动的影响, 全球气候变暖问题日益突出。联合国气候变化小组提出的全球气候变暖的气候特征是: 一是地球表面平均气温持续

升高, 仅一个世纪以来就上升了 1 华氏度。近 50 多年来, 平均每 10 年升高 0.13 °C。二是气候变化标准差变大, 极端天气增多^[2]。受到全球气候变暖的影响, 近 20 年来高温热害导致我国粮食减产, 特别是水稻减产频繁发生, 其中最为严重的是 1994、2003 和 2010 年^[3-5]。2003 年夏季, 我国南方出现了极为罕见的极端高温天气, 部分稻区 38 °C 以上的高温持续了 20 d。此次热害正好发生在水稻抽穗扬花期, 给水稻生产带来严重损失, 受灾面积也达到了历

收稿日期: 2012-01-01 修回日期: 2012-03-22 网络出版日期:

URL:

基金项目: “863” 重大专项 (2010AA101806)

作者简介: 李飞, 硕士研究生, 专业: 作物遗传育种, 主要从事水稻分子育种

通信作者: 高用明, 研究员, 博士生导师。研究方向: 水稻有利基因发掘与分子设计育种。E-mail: irriyao@126.com。

石英尧, 副教授, 硕士生导师。主要研究方向: 水稻遗传育种。E-mail: shiyy123@163.com。

史之最。其中仅湖北和安徽两省的受灾面积就达到了 80 多万 hm^2 [4]。2011 年夏季,重庆达 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 以上创高温纪录并持续 38.4 d,气温最高的江津其 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 以上的高温持续 9 d [6]。

高温已经成为影响水稻产量和品质的主要因素之一。培育耐高温的水稻优良新品种和使用高效科学的栽培管理方法是解决水稻高产问题的关键。一般来说,水稻的最适生长温度白天平均为 $28\text{ }^\circ\text{C}$,夜晚平均为 $22\text{ }^\circ\text{C}$ [7]。在一天中,若白天的温度有一段时间超过 $33\text{ }^\circ\text{C}$,水稻的结实率将会下降,最终导致水稻产量的降低 [8]。Peng 等 [9] 研究表明,在水稻生长期,平均夜间最低温度每升高 $1\text{ }^\circ\text{C}$ 水稻产量就下降 10%。据预测本世纪末地球表面的温度很可能升高 $2.0\sim 4.5\text{ }^\circ\text{C}$ [10]。在这种自然环境下,作物整个生长发育时期将会遭遇高温热害。

随着现代农业生产栽培管理技术和分子生物学技术的发展,已经在栽培生理、遗传育种、基因组、转录组以及蛋白组等方面开展水稻耐高温的研究。这些研究成果将为水稻耐高温机理剖析和遗传育种研究奠定良好基础。

1 水稻高温热害的发生机理

1.1 高温与水稻生长发育

水稻一生的不同生长发育阶段对高温的敏感程度不同。其中,抽穗扬花期对高温最敏感,灌浆期次之。水稻抽穗扬花期的最适温度为 $25\sim 30\text{ }^\circ\text{C}$, $35\text{ }^\circ\text{C}$ 为水稻热害的临界温度 [11-12]。如果气温超过这个临界温度,将会导致水稻的减产和品质下降。水稻抽穗开花当天或是开花后一天对高温的敏感度最高,越往后越低 [13]。另外,在水稻抽穗扬花期,高温还会导致花药不能正常的开裂,散粉少,不能正常授粉 [14-15]。张桂莲等 [16] 人也观察到在高温胁迫下花药的开裂率、花粉活力、花粉粒数开始下降。进一步从细胞学水平进行观察,发现高温处理下花药壁的表面细胞遭受到严重的破坏,维管束细胞的形状异常,木质部和韧皮部界限不清,从而引起输导功能的障碍,致使花粉粒得不到充足的物质供应而导致花粉的败育。另外有学者认为不同的水稻品种对水稻的耐热性存在着一定的差别,一般来说籼稻品种耐热性比粳稻品种强 [15,17]。

灌浆期是水稻产量和品质形成的关键时期。森谷国男 [18] 认为在水稻灌浆期,气温在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 以下的范围内,水稻的灌浆速率会随着平均温度的升高而升高,但是灌浆的时间会相应的缩短,千粒重下降,

整精米率下降。Kim 等 [19] 研究表明高温条件下水稻灌浆速率和水稻叶片的衰老速率均增加,但持续的时间相应的缩短。同时,认为早期高温条件下,水稻灌浆的终止并不是由于早期叶片衰老导致的同化作用的减少引起的,而是由于高温条件下水稻小穗过早的衰老,致使库活性的降低。当温度超过 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 时,子粒接受光合产物的能力降低,千粒重和稻米品质均受到影响 [20]。目前关于高温对灌浆期水稻的伤害机制尚不清楚,但是对灌浆期小麦和玉米的高温胁迫机制的研究取得了一定的进展 [21-22]。

1.2 水稻高温热害的生理生化机理

光合作用是植物对高温最敏感的生理过程之一。如果光合植物长时间处于高温条件下,光合作用将会受到抑制 [23-26]。在整个光合作用过程中,1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 (Rubulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase,简称 Rubisco) 对净光合速率的调节起到至关重要的作用。Crafts-Brandner 等 [27] 研究表明,即使是在中等程度的高温胁迫下,植物的净光合速率也会受到抑制。在 CO_2 浓度一定的情况下,当光合植物叶片温度超过 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 时,Rubisco 的活化开始下降,最终导致净光合速率的下降。此外,在整个光合作用中 Rubisco 和活化酶之间存在着密切的关系。尽管 Rubisco 的最高耐受温度为大于 $50\text{ }^\circ\text{C}$,活化酶的最高耐受温度为 $42\text{ }^\circ\text{C}$,但是当活化酶缺失的时候,Rubisco 将会失活,并且这种失活的比率随着温度的升高而逐渐升高,然而 Rubisco 失活的比率并不随着 CO_2 浓度的升高而升高。另有研究也表明 Rubisco 活性的下降是由于光合作用受到中等程度高温胁迫所致 [28-31]。

Crafts-Brandner 等 [30] 认为活化酶有维持和促进 Rubisco 活化活性的作用。当温度升高时,Rubisco 失活的速率超过了活化酶对 Rubisco 活化的能力,这时光合速率将会降低。早期的研究表明,相对的低温可以使活化酶处于最佳的状态,然而,中等程度的高温就会使活化酶处于不稳定的状态 [31]。近期研究表明 [32-34],当温度超过 $42\text{ }^\circ\text{C}$ 时,腺苷三磷酸酶 (adenosine triphosphatase,简称 ATPase) 的活化活性将会受到抑制,由于 ATP 水解的比率通过一种尚未定义的途径影响 Rubisco 的活化。当温度超过 ATPase 的最适温度时,ATP 水解的比率将会下降,最终导致活化酶促进 Rubisco 活化能力下降,进而影响光合作用的光合速率。Feng 等 [35] 研究表明景天庚酮糖-1,7-二磷酸酯酶 (sedoheptulose-1,7-bisphosphatase,简称 SBPase) 的过表达,可能有助于植物耐

热性的提高。SBPase 能够阻止 Rubisco 活化酶,从水溶性基质片段向类囊体膜上转移,进而维持 Rubisco 的活化性能。

目前,关于水稻耐高温的一些生理机制,包括高温条件下 Rubisco 活化酶选择性上调的研究以及参与卡尔文循环相关酶的研究已经有报道^[36]。Gesch 等^[37]研究表明,在高温和高 CO₂ 浓度条件下,水稻叶片 Rubisco 的功能和蛋白质含量会受到一定的影响,而水稻叶片中 Rubisco 的表达与其光合作用基因型变异有关。磷酸化作用也是水稻应答高温胁迫时一种常见机制,但是,目前高温胁迫条件下水稻叶片中磷蛋白质的差异性表达情况尚不清楚^[38]。

2 水稻耐高温 QTL 定位研究

植物逆境胁迫方面的 QTL 定位研究已有大量报道^[39-42],水稻耐高温 QTL 定位方面的报道也逐步开展(表 1)。曹立勇等^[43]利用 DH 群体在水稻抽穗扬花期,以结实率相对差值为指标,定位到了位于第 1、3、4、8 和 11 条染色体上的 6 个 QTL 位点,其贡献率大小为 1.28% ~ 22.81%。朱昌兰等^[44]利用重组自交系群体,以子粒重的相对差值为指标,对灌浆水稻进行耐高温 QTL 定位,结果定位到了位于第 1、4 和 7 染色体上的 3 个 QTL 位点,贡献率为 8.94% ~ 17.25%。赵志刚等^[45]利用回交群体,在水稻孕穗期以自然条件下和高温条件下的小穗育性和小穗育性的热敏感指数为鉴定指标,定位到了位于第 2、4、5 和 8 染色体上的 7 个 QTL 位点,其贡献率为 6.4% ~ 18.6%。张涛等^[46]利用籼粳交重组自交系群体,以结

实率的相对差值为鉴定指标,定位到了位于第 2、3 和 5 染色体上的 3 个 QTL 位点。其贡献率为 6.59% ~ 10.72%。奎丽梅等^[47]利用渗入系群体,在水稻抽穗扬花期,以单株平均结实率为鉴定指标,检测到位于第 1、3、8 和 10 染色体上,贡献率为 6% ~ 12% 的 4 个 QTL 位点。陈庆全等^[48]利用重组自交系,在水稻抽穗扬花期,以结实率的相对差值为鉴定指标,两年时间里共检测 6 个位于第 2、3、8、9 和 12 染色体上的 QTL 位点,其贡献率为 7 ~ 12%。其中位于第 3 染色体上的位点 qHt3,连续两年都被检测到。Zhang 等^[49]利用 F₂ 群体,在水稻抽穗扬花期,以结实率的相对差值为指标,检测到了位于第 3 和 4 染色体上的 2 个 QTL 位点,其贡献率分别为 3% 和 17%。Thanh 等^[50]利用回交群体,在水稻抽穗扬花期,以抽穗天数和小穗开花时间为指标定位到了 8 个与水稻耐高温有关的 QTL,分别位于第 2、3、4、5、8 和 10 染色体上,贡献率为 4.99% ~ 43.72%。Jagadish 等^[51]利用重组自交系群体,在抽穗扬花期,以小穗育性为指标,定位到了位于第 1、2、3、8、10 和 11 染色体上的 8 个 QTL 位点。其中位于第 1 染色体上的 QTL 位点可以解释 18% 的表型变异,同时对株高的贡献率为 36%。盘毅等^[52]利用重组自交系群体,在水稻抽穗扬花期,以花粉育性为指标,定位到了 2 个位于第 4 和第 6 染色体上与水稻耐高温有关的 QTL 位点,贡献率分别为 9.31% 和 15.1%。Xiao 等^[53]利用重组自交系群,在抽穗扬花期,以结实率为指标,定位到了位于第 4 和第 10 染色体上的 2 个 QTL 位点,贡献率分别为 9.1% 和 25.8%。

表 1 水稻耐高温 QTL 定位情况

Table 1 QTL detection of heat tolerance in rice

作者 Author	作图群体 Mapping population	鉴定时期 Identify period	鉴定指标 Identification index	QTL 数量 No. of QTL	染色体分布 Chromosome distribution	贡献率最大值(%) Maximum value of contribution
曹立勇等 ^[43]	DH 群体	抽穗扬花期	结实率的相对差值	6	1、2、3、4、8 和 11	22.8
朱昌兰等 ^[44]	RILs 群体	灌浆期	子粒重的相对差值	3	1、4 和 7	17.3
赵志刚等 ^[45]	回交群体	孕穗期	小穗育性	7	2、4、5 和 8	16.8
张涛等 ^[46]	RILs 群体	抽穗扬花期	结实率的相对差值	3	2、3 和 5	10.7
奎丽梅等 ^[47]	渗入系	抽穗扬花期	单株平均结实率	4	1、3、8 和 10	12.0
陈庆全等 ^[48]	RILs 群体	抽穗扬花期	结实率的相对差值	6	2、3、8、9 和 12	12.0
Zhang 等 ^[49]	F ₂ 群体	抽穗扬花期	结实率的相对差值	2	3 和 4	17.0
Thanh 等 ^[50]	回交群体	抽穗扬花期	抽穗天数、小穗开花时间	8	2、3、4、5、8 和 10	43.7
Jagadish 等 ^[51]	F ₆ 群体	抽穗扬花期	小穗育性	10	1、2、3、4、8 和 10	18.0
盘毅等 ^[52]	RILs 群体	抽穗扬花期	花粉育性	2	4 和 6	15.0
Xiao 等 ^[53]	RILs 群体	抽穗扬花期	结实率	2	4 和 10	25.8

从 QTL 定位结果可以看出,所定位到的与耐高温有关的 QTL 位点在水稻全部 12 条染色体上都有分布,相对集中于第 3 和第 4 染色体,分别占检测到的耐高温 QTL 总数的 10.53% 和 21.05%。其中,一些 QTL 的位置有些相同或相近。奎丽梅等^[47]定位到的位于第 3 染色体上遗传区间为 RM3601 ~ RM5813 的 QTL 位点 qHT3 和 Thanh 等^[50]定位到的位于水稻第 3 染色体上贡献率为 43.72% 的 QTL 位点(遗传区间为 RM135 ~ RM571)与 Zhang 等^[49]定位到的位于第 3 染色体上的 QTL 位点 RM3586 相近。其他定位到的 QTL 位点分别位于第 3 染色体上的不同位置^[43,46,48,52]。在第 4 号染色体上,Xiao 等^[53]定位到遗传区间为 RM5687 ~ RM471 的 QTL 位点 SSPc,此位点对表型变异的贡献率为 25.82%。盘毅等^[52]定位到的遗传区间为 RM5687 ~ RM471 的 QTL 位点 qPF4,其贡献率为 15.1%。这两个位点与朱昌兰等^[44]检测到的位于 C1100 ~ R1783 区间,对表型变异贡献率为 17.25% 的 QTL 位点 qHT4 位于相邻位置。此外,Zhang 等^[49]定位到的位于第 4 号染色体上的 RM3735 位点,与赵志刚等^[45]定位到的同样位于 4 号染色体上遗传区间为 RM1018 ~ RM451 的 QTL 位点 qhts-4 极为相似,可能为同一位点。

在水稻耐高温 QTL 定位研究报道中,还发现耐热性 QTL 上位性的存在。曹立勇等^[43]利用 DH 群体,共检测到了 8 对加-加上位性效应 QTL,贡献率从 2.27% ~ 8.13% 不等。朱昌兰等^[44]也检测到了贡献率为 2.45% ~ 5.29% 之间的 8 对上位性 QTL。赵志刚等^[45]利用回交群体,检测到 8 条染色体上的 4 对 QTL 位点存在上位性效应,其贡献率为 3.44% ~ 11.3%。陈庆全等^[48]利用重组自交系在抽穗扬花期,进行水稻耐高温 QTL 定位研究,发现 7 对耐热性上位性 QTL,其贡献率从 0.4% ~ 8.0% 不等。从这些研究可以看出,上位性 QTL 对表型变异的贡献率相对于加性效应 QTL 的贡献率普遍偏小^[43,48]。上位性效应的存在也说明了水稻耐高温的遗传机理是比较复杂的。

3 水稻耐高温基因克隆

Zhu 等^[54]利用粳稻品种日本晴花药不开裂突变体,定位到位于第 6 染色体上控制花药开裂的基因 *aidi*,此基因能编码 262 个氨基酸蛋白。Yamanouchi 等^[55]通过图位克隆的方法在水稻第 5 染色体上定位到一个控制水稻斑点叶的候选基因 *Spl7*,此基因中一个 ORF(开放阅读框,open reading frame)

和 HSF(heat stress transcription factor) 高度相似,并且能编码 HSF 蛋白。Katiyar-Agarwal 等^[56]通过农杆菌介导法,将拟南芥中 *Athsp101* cDNA 转入到受体细胞,从而获得转基因水稻再生植株及其后代。对此转基因水稻和非转基因水稻进行高温 45 ~ 50 °C 处理,常温 28 °C 恢复处理。发现转基因水稻长势良好,非转基因水稻枯萎死亡。说明此转基因水稻比非转基因水稻具有更好的耐热性。Wu 等^[57]在水稻中发现了能够编码 WEKYII 蛋白的 *OsWRLYLL* 基因。当植物遇到高温胁迫时,该基因的表达有明显的降低。另外,与编码植物逆境胁迫相关蛋白的基因也陆续的被发现^[58-60]。事实证明,水稻耐高温的分子机理的研究,为水稻耐高温遗传机制的剖析提供了有力的证据,也为培育耐高温新品种奠定了坚实的理论基础。

4 水稻耐高温转录组研究

随着水稻基因组测序和转录组技术的发展,基因芯片(gene chip)技术已经被广泛用于植物逆境胁迫的研究领域^[61-64]。基因芯片又称 DNA 芯片(DNA chip)、DNA 微阵列(DNA microarray)等。它是将成千上万个核苷酸或 DNA 密集排列在固相支持物上作为探针,将研究的样品标记后,与微点阵进行杂交,用恰当的检测系统进行检测,根据杂交信号强弱及探针的位置可确定样品的表达情况。

Yamakawa 等^[65]在水稻灌浆期,对水稻品种日本晴(Nipponbare)进行高温(白天平均 33 °C,夜晚平均 28 °C)和常温(白天平均 25 °C,夜晚 20 °C)处理,利用基因芯片进行分析。结果表明,在高温条件下,几个与淀粉合成有关的基因,比如颗粒结合型淀粉合成酶基因、分支酶基因和丙酮酸磷酸激酶基因均开始下调。然而,一些与淀粉消耗有关的 α 淀粉酶和热激蛋白基因开始上调。对其淀粉进行生物学分析,发现在“高温逼熟”的谷物中,直链淀粉和长链支链淀粉的含量下降,这可能是由于高温条件下颗粒结合型淀粉合成酶基因和分支酶基因各自的表达受到抑制所致。对贮运蛋白进行双向电泳分析结果显示,在高温条件下,13-D 醇溶蛋白的积累下降,这可能与醇溶基因在高温条件下的表达受限制有关。

目前,基因芯片在水稻中的应用主要集中于分析水稻病原菌浸染情况^[66-67],如稻瘟病^[68]等。而对水稻在高温胁迫下基因的表达研究较少(Khush and Toenniessen, 1991)。Yamakawa 等^[69]认为,高温造

成贮存物质如淀粉、蛋白质的积累减少,从而影响灌浆期水稻籽粒的充实。他们对高温胁迫下灌浆期的水稻进行转录组分析,揭示了引起贮存物质短缺的可能的代谢途径。结果表明,蔗糖合成与降解的比例、淀粉生物合成的减少和(或)淀粉降解以及色素呼吸链抑制 ATP 合成,导致了淀粉积累量的减少,从而最终引起贮运物质的短缺。

5 水稻耐高温蛋白组研究

目前,关于利用蛋白组学研究植物在逆境条件下生理机制的报道已有很多^[70-76]。此外,在高温条件下水稻蛋白组学的研究也有了一定的进展,但是现有的报道大多集中在单个蛋白的功能及其应对胁迫的方式,对蛋白之间的互作及对胁迫响应的研究还相对较少。

Jagadish 等^[77]以耐高温水稻品种 N22 为试验材料,进行高温胁迫处理以后,利用双向电泳的方法,对其花药进行蛋白组分析,发现了 46 个差异蛋白点。对其中 13 个差异表达蛋白进行质谱分析,发现其中一个冷激蛋白和一个热激蛋白对其花药蛋白表达有显著的上调作用,这可能是 N22 具有明显抗性的原因。Lin 等^[78]对高温胁迫下水稻颖果组织的蛋白进行了双向电泳分析,发现了 400 多个差异蛋白。对其中 70 个差异表达蛋白进一步的质谱分析,发现 54 个已知功能的蛋白,其中,21 个蛋白参与碳水化合物的代谢,14 个参与蛋白质的合成和分解,9 个参与胁迫响应的基因。此外,一个分子量比较小的热激蛋白的表达量,在水稻灌浆期遭受到高温胁迫时,也有明显的上升。Lee 等^[79]用同样的方法,在 42℃ 高温胁迫条件下,对水稻叶片的蛋白组表达分析,发现了 48 个差异表达蛋白。这些蛋白大致可分为热激蛋白、能量和碳同化蛋白、氧化还原蛋白和调节蛋白。这几种蛋白中,比例比较大的是参与上调的热激蛋白和能量代谢蛋白。Han 等^[80]对水稻的苗期进行高温胁迫处理,发现在 35℃ 时一些维护光合作用的胁迫保护机制被激活;在 40℃ 时一些特定的抗氧化机制开始起作用;在 45℃ 时,除了保护机制和抗氧化机制开始起作用外,与热激蛋白有关的基因也开始启动。此外,高温胁迫条件下,具有保护作用的蛋白和抗氧化蛋白可能开始上调。其他一些与蛋白合成、能量和碳水化合物代谢有关的蛋白也发生复杂的变化应对胁迫。

从以上的结果中不难看出,当水稻遭遇到高温胁迫时,其组织中的蛋白表达会发生不同程度的变

化来应对高温胁迫,热激蛋白的表达一般会不同程度的上调^[77,79-80]。热激蛋白的研究将会为高温胁迫下植物的伤害机理的剖析提供一定的依据。

6 结语与展望

随着气候变暖和极端气候频繁发生,高温已经成为水稻生产重要限制因子之一,避免高温热害给水稻生产带来损失的最有效途径就是培育耐高温的水稻新品种。目前虽然已经对于水稻高温热害的生理生化进行了初步研究,并在分子水平进行高温热害的遗传剖析,如 QTL 初步定位、转录组和蛋白组学研究等。要把高温热害的分子基础研究应用于水稻遗传育种实践,相关研究特别是水稻耐高温 QTL 定位还需要进一步加强。

传统的 QTL 定位大多采用的是两个亲本杂交培育的作图群体,群体培育周期长、工作量大,不利于大规模发掘利用种质资源存在的有利 QTL;作图群体的亲本多数也不是生产上广为种植的当家品种,由于普遍存在的 QTL 与遗传背景的互作,使得这些定位的成果难以直接应用于作物品种的遗传改良,导致 QTL 发掘定位与作物遗传育种实践相脱节。借鉴 Tanksley 等^[81]的高代回交 QTL 分析(AB-QTL)方法进行基因发掘定位和品种改良的思路,前人提出了一个新的分子育种策略,即利用 DNA 标记技术和改进的回交方法,通过提高基因流动和选择有利基因型,有效提高种质资源的利用效率,将有利 QTL 高效发掘和作物遗传育种实践有机结合起来^[83-84]。

利用 Li 等^[82]提出的分子育种策略,选择生产上大面积推广应用的当家品种作为轮回亲本,来自世界各地的各类种质资源为供体,培育高代回交群体,在高温频发地区进行耐高温筛选和鉴定,进而获得耐高温的选择导入系,并进行 QTL 定位。优良耐高温导入系可以在生产上直接使用,同时通过基因组学、转录组学和蛋白质学的手段,确定目标候选基因和获得功能基因标记,再借助分子标记辅助选择,进一步改良水稻品种的耐高温性。该分子育种技术路线,已经被广泛用于水稻的产量、抗旱、耐盐和抗病虫育种和基因发掘中^[85-86],在水稻的耐高温育种中也得到应用,在玉米、小麦和大豆等作物的分子育种中也逐步推广。

参考文献

- [1] Carriger S, Vallee D. More crop per drop [J]. Rice Today, 2007, 6:10-13

- [2] 蒋丽,徐飞彪. 气候变化与粮食安全问题研究综述[J]. 国际资料信息,2011,5:37-42
- [3] 李才媛,彭春华,赵勤炳,等. 武汉市2003年盛夏异常高温特征分析[J]. 华中师范大学学报:自然科学版,2004,38(3):379-381
- [4] 黄文德,曹流俭,武立权,等. 2003年安徽省中稻花期高温热害的调查与分析[J]. 安徽农业大学学报,2004,31(4):385-388
- [5] 柳军,岳伟,邓斌. 2010年安徽江淮地区高温热害气象成因及其对一季水稻生产影响分析[J]. 安徽农学通报,2011,17(10):199-201
- [6] 何慧根,董新宇,程炳岩,等. 2011年夏季重庆异常高温和干旱特征及成因分析[C]//中国气象局国家气候中心暨气候研究开放实验室2011年度学术年会,北京:气象出版社,2012,68-69.
- [7] Prasad P V V,Boote K J,Allen L H, et al. Species ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress [J]. Field Crop Res,2006,95:398-411
- [8] Nakagawa H,Horie T,Matsui T. Rice Science: Innovations and Impact for Livelihood [M]. Laguna:International Rice Research Institute,2003:935-658.
- [9] Peng S B,Huang J L,Sheehy J E, et al. Rice yields decline with high temperature from global warming [J]. PNAS,2004,101(27):9971-9975
- [10] Adger N,Aggarwal P,Agrawala S, et al. Presents projections of future climate change and related impacts under different scenarios [C]// Intergovernmental Panel On Climate Change 2007: Impacts,Adaptation and Vulnerability Working Group II Contribution to the Intergovernmental Panel on Climate Change Fourth Assessment Report Summary for Policymakers, Cambridge: Cambridge University,2007:976
- [11] 谭中和,蓝泰源,任昌福,等. 杂交水稻开花期高温危险及其对策的研究[J]. 作物学报,1985,11(2):103-108
- [12] 朱兴明,曾庆曦,宁清利. 自然高温对杂交稻开花受精的影响[J]. 中国农业科学,1983,(2):37-44
- [13] 张彬,芮雯奕,郑建初,等. 水稻开花期花粉活力和结实率对高温的响应特征[J]. 作物学报,2007,33(7):1177-1181
- [14] Mackill D J,Coffinan W R,Rutger J N. Pollen shedding and combining ability for high temperature tolerance in rice [J]. Crop Sci,1982,22:730-733
- [15] Matsui T,Kobayasi K,Kagata H, et al. Correlation between viability of pollination and the length of basal dehiscence of the theca in rice and a hot-and-humid condition [J]. Plant Prod Sci,2005,8(2):109-114
- [16] 张桂莲,陈立云,张顺堂,等. 高温胁迫对水稻花粉粒性状及花药显微结构的影响[J]. 生态学报,2008,28(3):1090-1098
- [17] Matsui T,Omasa K,Horie T. The difference in sterility due to high temperatures during the flowering period among japonica rice varieties [J]. Plant Prod Sci,2001,4:90-93
- [18] 森谷国男. 水稻高温胁迫抗性遗传育种研究概况[J]. 徐正进译,杂交水稻,1992,1:47-48
- [19] Kim J,Shon J,Lee C H, et al. Relationship between grain filling duration and leaf senescence of temperate rice under high temperature [J]. Field Crop Res,2011,122:207-213
- [20] 黄英金,罗永锋,黄兴作,等. 水稻灌浆期耐热性的品种间差异及其与剑叶光合特性和内源多胺的关系[J]. 中国水稻科学,1999,13(4):205-210
- [21] Feng C N,Guo W S,Shi J S. Effect of high temperature after anthesis on endosperm cell development and grain weight in wheat [J]. Acta Agr Sinica,2000,26(4):399-405
- [22] 刘霞,穆春华,伊燕萍,等. 花后高温、弱光及其双重胁迫对小麦籽粒内源激素含量与增重进程的影响[J]. 作物学报,2006,26(11):3671-3677
- [23] 许大权,沈允钢. 植物生理与分子生物学[M]. 北京:北京科学出版社,1986:262-276
- [24] Larcher V. Physiological plant ecology [M]. Berlin:Springer,1995:340-353
- [25] 吴韩英,寿森炎,朱祝军. 高温胁迫对甜椒光合作用叶绿素荧光的影响[J]. 园艺学报,2001,28(6):517-521
- [26] 范双喜,谷建田,韩莹琰. 园艺植物高温逆境生理研究进展[J]. 北京农学院学报,2003,18(2):147-151
- [27] Crafts-Brandner S J,Salvucci M E. Rubisco activase constrains the photosynthetic potential of leaves at high temperature and CO₂ [J]. PNAS,2000,97:13430-13435
- [28] Kobza J,Edwards G E. Influences of leaf temperature on photosynthetic carbon metabolism in wheat [J]. Plant Physiol,1987,83:69-74
- [29] Law R D,Crafts Brandner S J. Inhibition and Acclimation of Photosynthesis to Heat Stress Is Closely Correlated with Activation of Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase [J]. Plant Physiol,1999,120:173-180.
- [30] Crafts Brandner S J,Law R D. Effects of heat stress on the inhibition and recovery of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase activation state [J]. Planta,2000,21(2):67-73.
- [31] Robinson S P,Portis A R. Adenosine triphosphate hydrolysis by purified rubisco activase [J]. Arch Biochem Biophys,1989,268:93-99.
- [32] Wang Z Y,Portis A R. Dissociation of Ribulose-1,5-Bisphosphate Bound to Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase and Its Enhancement by Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Activase-Mediated Hydrolysis of ATP1 [J]. Plant Physiol,1992,99:1348-1353
- [33] Salvucci M E. Subunit interactions of Rubisco activase: Polyethylene glycol promotes self-association, stimulates ATPase and activation activities and enhances interactions with Rubisco [J]. Arch Biochem Biophys,1992,298:688-696
- [34] van de Loo F J,Salvucci M E. Activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase (rubisco) involves rubisco activase trp16 [J]. Biochemistry,1996,35:8143-8148
- [35] Feng L L,Wang H,Li Y, et al. Overexpression of SBPase enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic rice plants [J]. Plant Cell Rep,2007,26:1635-1646
- [36] Scafarò A P,Haynes P A,Atwell B J. Physiological and molecular changes in *Oryza meridionalis* Ng, a heat-tolerant species of wild rice [J]. Exp Bot,2010,61(1):191-202.
- [37] Gesch R W,Kang I H,Gallo-Meagher M, et al. Rubisco expression in rice leaves is related to genotypic variation of photosynthesis under elevated growth CO₂ and temperature [J]. Plant Cell Environ,2003,26:1941-1950
- [38] Chen X H,Zhang W F,Zhang B Q, et al. Phosphoproteins regulated by heat stress in rice leaves [J]. Proteome Sci,2011,37:1-9
- [39] 王阳,于永涛,王天宇,黎裕,等. 作物耐旱性 QTL 定位和分析的思路[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(1):146-151
- [40] 李永祥,刘成,石云素,等. 玉米花期耐旱导入系群体的构建与评价[J]. 植物遗传资源学报,2008,9(3):293-296
- [41] 祁栋梁,郭桂珍,李明哲,等. 水稻耐盐碱性生理和遗传研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2007,8(4):486-493
- [42] 周晓果,景蕊莲,昌小平,等. 小麦苗期水分利用效率及其相关性状的 QTL 分析[J]. 植物遗传资源学报,2005,6(1):20-25
- [43] 曹立勇,朱军,赵松涛,等. 水稻籼梗交 DH 群体耐热性的 QTLs 定位[J]. 农业生物技术学报,2002,10(3):21-25
- [44] 朱昌兰,肖应辉,王春明,等. 水稻灌浆期耐热性的数量性状基因位点分析[J]. 中国水稻科学,2005,9(2):117-121
- [45] 赵志刚,江玲,肖应辉,等. 2006,水稻孕穗期耐热性 QTLs 分析[J]. 作物学报,2006,32(5):640-644
- [46] 张涛,杨莉,蒋开锋,等. 水稻抽穗扬花期耐热性 QTL 的分析[J]. 分子植物育种,2008,6(5):867-873
- [47] 奎丽梅,谭禄宾,涂建,等. 云南元江野生稻抽穗开花期耐热 QTL 定位[J]. 农业生物技术学报,2008,16(3):461-464

- [48] 陈庆全,余四斌,李春海,等. 水稻抽穗开花期耐热性 QTL 的定位分析[J]. 中国农业科学,2009,42(2):315-321
- [49] Zhang G L,Chen L Y,Xiao G Y, et al. Bulk Segregant Analysis to Detect QTL Related to Heat Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.) Using SSR Markers [J]. Agric Sci Chn, 2009, 8 (4): 482-487
- [50] Thanh P T,Phan P D T,Ishikawa R, et al. QTL analysis for flowering time using backcross population between *Oryza sativa* Nipponbare and *O. rufipogon* [J]. Genes Genet,2010,85:273-279
- [51] Jagadish S V K,Cairns J,Lafitte R, et al. Genetic analysis of hat tolerance at atthesis in rice [J]. Crop Sci, 2010, 50 (5): 1633-1641
- [52] 盘毅,罗丽华,邓化冰,等. 水稻开花期高温胁迫下的花粉育性 QTL 定位[J]. 中国水稻科学,2011,25(1):99-102
- [53] Xiao Y H,Pan Y,Luo L H, et al. Quantitative trait loci associated with seed set under high temperature at the flowering stage in rice [J]. Euphytica,2011,178:331-338
- [54] Zhu Q H,Ramm K,Shivakkumar R, et al. The anther indec1 gene encoding a single MYB domain protein is involved in anther development in rice [J]. Plant Physiol,2004, 135: 1514-1525.
- [55] Yamanouchi U,Yano M,Lin H, et al. A rice spotted leaf gene, *Spl7*, encodes a heat stress transcription factor protein [J]. PNAS,2002,99(11):7530-7535.
- [56] Katiyar-Agarwal S, Agarwal M, Grover A. Heat-tolerant basmati rice engineered by over-expression of hsp101 [J]. Plant Mol Biol,2003,51:677-686
- [57] Wu X,Shiroto Y,Kishitani S, et al. Enhanced heat and drought tolerance in transgenic rice seedlings overexpressing *OsWRKY1* under the control of HSP101 promoter [J]. Plant Cell Rep,2009, 28:21-30
- [58] Koh S, Lee S, Kim M, et al. T-DNA tagged knockout mutation of rice *OsGSK1*, an orthologue of Arabidopsis *BIN2*, with enhanced tolerance to various abiotic stresses [J]. Plant Mol Biol,2007,65: 453-466
- [59] Sohn S,Back K. Transgenic rice tolerant to high temperature with elevated contents of dienoic fatty acids [J]. Biol Plantarum, 2007,51:340-342
- [60] Qi Y,Wang H,Zou Y, et al. overexpression of mitochondrial heat shock protein 70 suppresses programmed cell death in rice [J]. FEBS Lett,2011,585:231-239
- [61] Akimoto-Tomiyama C,Sakata K,Yazaki J, et al. Rice gene expression in response to N-acetylchitoooligosaccharide elicitor: comprehensive analysis by DNA microarray with randomly selected ESTs [J]. Plant Mol Biol,2003,52(3):537-551
- [62] Zhang Y,Mian M A,Chekhovskiy K, et al. Differential gene expression in *Festuca* under heat stress conditions [J]. J Exp Bot, 2005,56(413):897-907
- [63] Lian X,Wang S,Zhang J, et al. Expression profiles of 10,422 genes at early stage of low nitrogen stress in rice assayed using a cDNA microarray [J]. Plant Mol Biol,2006,60:617-631
- [64] Wan B L,Lin Y J,Mou T M. Expression of rice Ca^{2+} -dependent protein kinases (CDPKs) genes under different environmental stresses [J]. FEBS Lett,2007,581(6):1179-1189.
- [65] Yamakawa H,Hirose T,Kuroda M, et al. Comprehensive Expression Profiling of Rice Grain Filling-Related Genes under High Temperature Using DNA Microarray [J]. Plant Physiol,2007, 144:258-277
- [66] Delseny M,Salses J,Cooke R, et al. Rice genomics: Present and future [J]. Plant Physiol Biochem,2001,39:23-334
- [67] Yazaki J,Kishimoto N,Ishikawa M, et al. The Rice Expression Database (RED): gateway to rice functional genomics [J]. Trend Plant Sci,2002,7(12):563-564
- [68] Li Q,Chen F,Sun L X, et al. Expression profiling rice genes in early defense responses to blast and bacterial blight pathogens using cDNA microarray [J]. Physiol Mol Plant Pathol,2006,68 (1-3):51-60
- [69] Yamakawa H,Hakata M. Atlas of rice grain filling-related metabolism under high temperature: joint analysis of metabolome and transcriptome demonstrated inhibition of starch accumulation and induction of amino acid accumulation [J]. Plant Cell Physiol, 2010,51(5):795-809
- [70] Majoul T,Chahed K,Zamiti E, et al. Analysis by two-dimensional electrophoresis of the effect of salt stress on the polypeptide peptide patterns in roots of a salt-tolerant and a salt-sensitive cultivar of wheat [J]. Electrophoresis,2000,21:2562-2565
- [71] Salekdeh G H,Siopongco J,Wade L J, et al. Proteomic analysis of rice leaves during drought stress and recovery [J]. Proteomics, 2002,2:1131-1145
- [72] Lee S, Lee E J, Yang E J, et al. proteomic identification of annexins, calcium-dependent membrane binding proteins that mediate osmotic stress and abscisic acid signal transduction in Arabidopsis [J]. The Plant Cell,2004,16:1378-1391
- [73] Hajheidari M,Abdollahian-Noghabi M,Askari H, et al. Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress [J]. Proteomics, 2005,5:950-960
- [74] Dani V,Simon W J,Duranti M, et al. Changes in the tobacco leaf apoplast proteome in response to salt stress [J]. Proteomics, 2005,5:737-745
- [75] Yan S,Tang Z,Su W, et al. Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root [J]. Proteomics,2005,5:235-244
- [76] Yah S P,Zhang Q Y,Tang Z C, et al. Comparative proteomic analysis provides new insights into chilling stress responses in rice [J]. Mol Cell Proteomics,2006,5:484-496
- [77] Jagadish S V K,Muthurajan R,Oane R, et al. Physiological and proteomic approaches to address heat tolerance during anthesis in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. J Exp Bot,2010,61(1):143-156
- [78] Lin S K,Chang M C,Tsai Y G, et al. Proteomic analysis of the expression of proteins related to rice quality during caryopsis development and the effect of high temperature on expression [J]. Proteomics,2005,5:2140-2156
- [79] Lee D G,Ahsan N, Lee S H, et al. A proteomic approach in analyzing heat-responsive proteins in rice leaves [J]. Proteomics, 2007,7:3369-3383
- [80] Han F,Chen H,Li X J, et al. A comparative proteomic analysis of rice seedlings under various high-temperature stresses [J]. Biochim Biophys Acta,2009,1794:1625-1634
- [81] Tanksley 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 [J]. Theor Appl Genet,1996,92:191-203
- [82] Li Z K,Fu B Y,Gao Y M, et al. Genome-wide introgression lines and their use in genetic and molecular dissection of complex phenotypes in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Mol Biol,2005,59: 33-52
- [83] 查仁明,杨正林,赵芳明,等. 分子标记遗传效应预测杂交水稻产量性状[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(1):72-77
- [84] 龙萍,杨华,余四斌,等. 水稻导入系群体的构建与保存[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(1):51-54.
- [85] 时克,雷财林,程治军,等. 稻瘟病抗性基因 *Pita* 和 *Pib* 在我国水稻主栽品种中的分布[J]. 植物遗传资源学报,2009,10 (1):21-26
- [86] 康乐,徐建龙,. 水稻产量相关 QTL 研究现状[J]. 植物遗传资源学报,2008,9(4):545-550