

基于高密度遗传图谱的水稻萌发耐淹性QTL定位

孙志广, 卢百关, 刘金波, 刘艳, 李景芳, 迟铭, 陈庭木, 李健,
杨波, 刘晓敏, 王宝祥, 徐大勇

(连云港市农业科学院/江苏省现代作物生产协同创新中心, 连云港 222000)

摘要: 通过对水稻萌发耐淹性进行QTL定位和稳定位点的聚合效应分析, 可以为萌发耐淹性基因的精细定位及后续分子辅助育种奠定基础。本研究利用一个包含144份家系的强萌发耐淹性粳型杂草稻WR-4与籼稻品种广百香占的 $F_{2,3}$ 定位群体, 基于1K mGPS SNP芯片构建了一个包含825个Bin标记的高密度遗传图谱, 利用完备区间作图法共检测到10个萌发耐淹性QTL, 分布于水稻第3、4、7、8、9和10染色体上, LOD值介于3.6~21.3之间, 可解释3.0%~21.1%的表型变异。其中, 具有较高LOD值和贡献率的2个主效QTL ($qGS4-1$ 和 $qGS7-1$) 能够被重复检测到, 是后续基因克隆的候选位点。根据Bin标记分型结果将不同子代在两个稳定QTL区间内分为WR型和广百香占型, 在 $F_{2,3}$ 群体中进行聚合效应分析, 发现聚合增效等位基因数量越多的家系, 其淹水条件下的胚芽鞘越长, 这些携带多个耐性QTL的株系可为分子育种培育耐低氧萌发水稻新品种提供亲本资源。

关键词: 杂草稻; 萌发耐淹性; 高密度遗传图谱; QTL

QTL Analysis for Germinability under Submergence Condition Based on a High-Density Genetic Map in Rice

SUN Zhiguang, LU Baiguan, LIU Jinbo, LIU Yan, LI Jingfang, CHI Ming, CHEN Tingmu,
LI Jian, YANG Bo, LIU Xiaomin, WANG Baoxiang, XU Dayong

(Lianyungang Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Collaborative Innovation Center for
Modern Crop Production, Lianyungang 222000)

Abstract: QTL mapping of germinability under submergence condition and pyramided effect analysis of stable sites were carried out, thus laying a foundation for fine mapping of QTL for germinability under submergence condition and marker-assisted breeding. Using an $F_{2,3}$ population with 144 individuals derived from a cross between WR-4 (a weedy rice with strong germinability under submergence condition) and Guangbaixiangzhan (a susceptible *indica* variety, GBXZ), a high density genetic map containing 825 bin markers was produced based on 1K mGPS SNP chip. Ten QTL conferring tolerance to hypoxia were identified by complete interval mapping (ICIM). These QTL were found on chromosomes 3, 4, 7, 8, 9, and 10, with LOD values ranging from 3.6 to 21.3, explaining phenotypic variation of 3.0%~21.1%. Two major QTL ($qGS4-1$ and

收稿日期: 2023-06-13 修回日期: 2023-06-28 网络出版日期: 2023-08-02

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230613004>

第一作者研究方向为水稻遗传育种, E-mail: zhiguangsun@126.com

通信作者: 徐大勇, 研究方向为农作物新品种选育和推广, E-mail: xudayong3030@sina.com

王宝祥, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: wbxrice@163.com

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-01-61); 江苏省农业重大品种创制项目(PZCZ201704); 江苏省自然科学基金(BK20201214); 江苏省种业振兴项目(JBGS[2021]039); 连云港市财政专项(QNJJ2203, QNJJ2306); 连云港市第六期“521工程”项目(LYG06521202205)

Foundation projects: National Project for Modern Agricultural Technology System (CARS-01-61); Project for Agricultural Significant New Varieties Breeding of Jiangsu Province (PZCZ201704); Natural Science Foundation of Jiangsu Province of China (BK20201214); Revitalization of the Seed Industry Project of Jiangsu Province (JBGS [2021] 039); Financial Grant Support Program of Lianyungang City (QNJJ2203, QNJJ2306); Sixth '521 Project' Research Program of Lianyungang (LYG06521202205)

qGS7-1) with high LOD value and high phenotypic variance were repeatedly detected, and both loci could be the candidate for future gene cloning studies. According to the genotyping of bin markers in each QTL interval, different progenies were classified into WR type and GBXZ type. By further data processing and analysis of QTL stacking, it was found that individuals with more pyramided synergistic alleles showed longer coleoptile under submergence condition. Thus, these lines hosting multiple synergistic alleles might provide innovative resources for breeding rice cultivars with high germinability under submergence condition.

Key words: weedy rice; germinability under submergence condition; high density genetic map; QTL

低氧胁迫下出苗率下降是限制直播稻安全生产的关键因素,筛选强萌发耐淹性的水稻种质对直播稻新品种的选育具有重要意义。由于土地的不平整和排水后强降雨的影响往往导致直播稻播种后淹涝的发生^[1-2],研究表明,土壤中O₂含量超过3%才能满足水稻对氧的正常吸收,O₂含量超过5%水稻才能正常生长,而淹水6~10 h内,稻田土壤中O₂含量可降至接近于0^[3-4]。淹涝的发生严重影响水稻种子的正常萌发,大幅降低直播稻种子的出苗率和整齐度,给直播稻的稳产高产带来严重威胁^[5],因此,为了提高直播稻的生产力,必须提高种子萌发期的耐低氧能力,使其能够在低氧条件下快速、均匀地发芽和出苗。由于萌发耐淹性是一个复杂的数量性状,受多个QTL控制,用常规育种方法提高水稻品种的耐低氧能力费时费力,且周期较长,因此,发掘更多的萌发耐淹性基因/QTL,更好地解析水稻萌发耐淹性的分子机理,利用分子标记辅助育种技术加快萌发耐淹性水稻新品种的培育十分必要。

为探明水稻萌发耐淹性的遗传基础,国内外已有多项研究报道,并在不同群体中检测到萌发耐淹性相关的QTL。Jiang等^[6]利用USSR5/N22的分离群体在水稻染色体上共检测到11个耐低氧萌发QTL,可解释表型变异的4.2%~32.8%。侯名语等^[7]利用Kinmaze/DV85 RIL群体,在水稻1、2、5和7号染色体上共检测到5个低氧发芽相关QTL位点,可解释表型变异的10.5%~19.6%。陈孙禄等^[8]利用R0380/RP2334的回交自交系群体在水稻2、3和8染色体上检测到4个QTL,贡献率为9.37%~17.34%。Hsu等^[9]结合全基因组关联分析与QTL定位,在水稻第1染色体上检测到1个萌发耐淹性主效QTL位点,解释表型变异的26.4%,该区间内包含13个响应低氧胁迫的基因,通过基因型和RT-PCR分析,认为己糖激酶HXK6可能在水稻萌发耐淹性中发挥关键作用。Sun等^[10]利用杂草稻WR04-6/七山占的RIL群体在水稻第11染色体上检测到1个主效

QTL,表型贡献率为15.9%,利用GWAS群体验证了该位点,并将定位区间缩小到584 kb,结合生物信息学分析,将*OsGF14h*认定为最终的候选基因,并通过转基因试验、蛋白互作等方法在粳型杂草稻中克隆了决定低氧下强萌发的关键基因*OsGF14h*。在上述这些QTL中,仅克隆到一个QTL(*OsGF14h*)。这是因为这些低氧发芽相关QTL大都是基于SSRs(Simple sequence repeats)等传统标记进行鉴定的,这些标记通常稀疏地分布在水稻12条染色体上,因此,很难获得这些低氧发芽QTL的准确和完整的信息,这些不确定的因素阻碍了萌发耐淹性QTL的克隆和利用,限制了对水稻萌发耐淹性机理的解析。因此,需要开发新类型的标记,以利于QTL的精细定位和克隆。

近年来,全基因组测序技术的发展为直接鉴定全基因组上的单核苷酸多态性(SNPs)提供了一个有效的平台。通过滑动窗口方法将同一基因型的相邻SNPs组合成Bins,作为QTL分析的有效遗传标记。Bin-markers构建的高密度图谱成功地促进了多个物种数量性状的遗传研究^[11]。本研究对包含144个家系的WR-4/广百香占F_{2,3}定位群体进行了基于多重PCR精准定位测序的基因分型,并进行了高分辨率QTL定位。在水稻染色体上共鉴定出10个水稻耐低氧萌发QTL,并进行了重新验证和聚合效应分析,为后续的精确定位、克隆及基因功能的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

定位群体来自以粳型杂草稻WR-4和籼稻品种广百香占杂交构建的F_{2,3}分离群体,该群体包含144个家系。其中WR-4是在江苏省连云港市青口盐场试验基地收集的杂草稻资源,该种质在前期水稻萌发耐淹性鉴定筛选中表现出较强的耐低氧能力,广百香占为来源于广东省的常规籼稻品种,耐低氧能力较弱。定位群体及双亲于2022年5-10月间均

种植于连云港市农业科学院东辛农场试验基地(东经119°32', 北纬34°56'), 每份材料种植6行, 每行8株, 行株距为26.65 cm×16.65 cm, 均单本种植于同一试验田, 常规肥水管理。为减少萌发耐淹性鉴定中种子休眠带来的干扰, 所有供试种质均在设置50℃的鼓风干燥箱(上海昕仪DHG-9240A)中处理7 d以打破种子休眠。

1.2 水稻萌发耐淹性鉴定

本研究于2022年、2023年连续两年对WR-4、广百香占及其 $F_{2,3}$ 家系进行萌发耐淹性鉴定, 每品种或家系挑选饱满均一的种子36粒, 分3次重复, 在1.5%(v/v)次氯酸钠溶液中处理12 min, 并用纯水冲洗8次, 将种子置于20 cm深的透明塑料杯中, 随后将纯水小心地倒满杯中, 确保种子沉入杯底, 将这些杯子置于30℃的人工气候培养箱(海博RX-500DH)中, 每天傍晚检查水位线刻度并补充水分, 每3 d更换一次纯水。参照孙志广等^[12]的方法, 在淹水后11 d时测量胚芽鞘长(CL, coleoptile length), 精确到1 mm, 随机区组排列, 剔除双极值后, 以3次胚芽鞘长度的平均值作为表型值, 2022年的表型数据用于QTL检测, 2023年的表型数据用于QTL验证。

1.3 连锁图谱构建及QTL分析

采集亲本及144个 $F_{2,3}$ 家系的幼嫩叶片, 采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法进行DNA提取, 利用华智水稻生物技术有限公司1K mGPS芯片进行基因分型, 利用QTL Ici Mapping V4.1软件将所有样本中同一段序列上2个交换点自检不发生重组的SNP位点看作一个Bin标记, 以Bin标记的起点确定其所在的物理位置, 最终获得由825个Bins标记构建的高密度遗传图谱, 相邻Bins间的平均间隔为442.3 kb。随后利用Kosambi函数将重组率转换为

遗传距离, 利用QTL Ici Mapping V4.1软件中的完备区间作图法(ICIM, inclusive composite interval mapping)^[13], 以LOD值3.0为阈值判定QTL是否存在, 定位结果以LOD值的峰值作为该QTL的LOD值, 以LOD峰值位置的Bin标记进行该QTL的效应分析, 以LOD值下降1.0的区域作为QTL的置信区间。

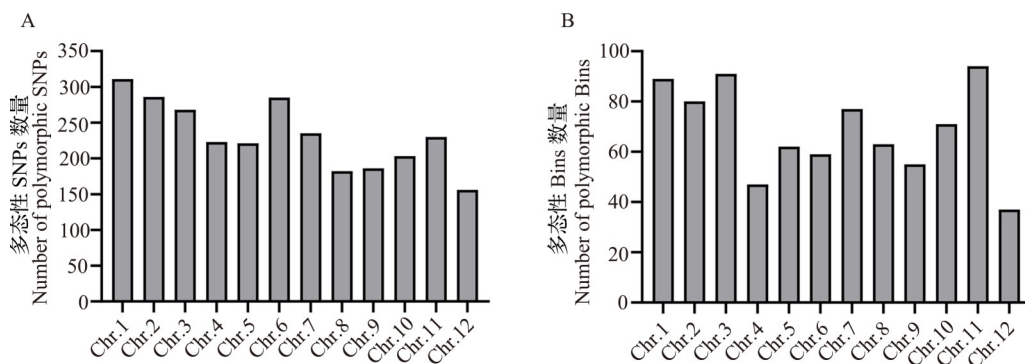
1.4 数据统计分析

利用Microsoft Excel 2010软件进行数据录入和三线表的绘制; 利用GraphPad Prism 8.3.0软件进行柱状图、频率分布直方图的绘制和统计分析; 利用MapGene2Chromosome v2.0 (http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.0/)进行连锁图谱的绘制; 利用QTL Ici Mapping V4.1软件进行上位性分析环状图的绘制。

2 结果与分析

2.1 多态性SNP位点的分布及连锁图谱构建

利用1K mGPS水稻SNP芯片对WR-4、广百香占及其 $F_{2,3}$ 群体进行检测, 共获得位于水稻12条染色体上的5420个高质量SNP标记, 其中多态性良好的标记多达2787个, 占比51.4%, 每条染色体上平均携带的多态性标记为232.3个, 在水稻第1染色体上分布最多(311个), 占比11.2%; 在第12染色体上分布最少(156个), 占比0.57%(图1A)。经过分析和筛选最终获得分布于12条染色体上的Bin标记825个, 平均每条染色体分布68.8个, 在水稻第11染色体连锁组的Bin标记数量最多(94个), 12号染色体连锁组的Bin标记数量最少(37个)(图1B)。利用这些Bins标记构建连锁图谱, 连锁图谱的总遗传距离为3847.9 cM, 相邻Bins间的平均间隔为4.7 cM。这些多态性标记相对均匀的分布在水稻12条染色体上, 能够满足QTL定位的需要。



A: 多态性SNP标记在水稻染色体上的分布; B: 多态性Bin标记在水稻染色体上的分布

A: Distribution of polymorphic SNP markers throughout the rice chromosomes;

B: Distribution of polymorphic Bin markers throughout the rice chromosomes

图1 多态性标记在水稻染色体上的分布

Fig.1 Distribution of polymorphic markers on rice chromosomes

2.2 WR-4 萌发耐淹性表现

在前期的萌发耐淹性种质资源筛选中,本研究获得了1份强萌发耐淹性粳型杂草稻种质资源WR-4,为验证其萌发耐淹性,本研究对其进行了重新鉴定,30 °C下淹水11 d后WR-4的胚芽鞘长为38.7 mm,

表现较强的萌发耐淹性,广百香占的胚芽鞘长仅为19.0 mm,表现为感性,两者之间存在极显著差异(图2),因此WR-4和广百香占可作为理想的亲本资源进行耐低氧萌发QTL的定位。



A: 淹水条件下WR-4与广百香占表型图;B: 淹水条件下WR-4与广百香占胚芽鞘长。**表示在 $P < 0.01$ 水平上差异显著;黑色圆点表示每个个体的原始值;GBXZ代表籼稻品种广百香占;下同

A: Phenotypic image of WR-4 and GBXZ under submerged condition; B: Coleoptile length of WR-4 and GBXZ under submerged condition.

** indicate significant difference at the level of $P < 0.01$; The black dot indicates each individual's raw value;

GBXZ stands for Guangbaixiangzhan (an *indica* cultivar); The same as below

图2 杂草稻WR-4的萌发耐淹性表现

Fig.2 Germinability of weedy rice WR-4 under submerged condition

2.3 萌发耐淹性QTL检测和验证

为了检测萌发耐淹性QTL,本研究于2022年对WR-4、广百香占及其 $F_{2,3}$ 群体进行萌发耐淹性鉴定,粳型杂草稻WR-4淹水后的胚芽鞘长平均值为37.8 mm,而籼稻品种广百香占淹水后的胚芽鞘长为18.4 mm,WR-4/广百香占 $F_{2,3}$ 分离群体胚芽鞘长的变化范围为13.2~38.9 mm,在28~32 mm处出现峰值,呈典型的正态分布特征(KS-检验, $P > 0.05$),表明该群体的萌发耐淹性由多个QTL共同控制(图3A)。2022年以平均胚芽鞘长为表型值,利用ICIMappingV4.1软件采用完备区间作图法进行分析,在水稻第3、4、7、8、9和10号染色体上检测到7

个萌发耐淹性QTL,分别命名为 $qGS3$ 、 $qGS4-1$ 、 $qGS7-1$ 、 $qGS7-2$ 、 $qGS8-1$ 、 $qGS9$ 和 $qGS10$,分别坐落于Bin标记M791~M792、M928~M930、M1797~M1807、M1757~M1758、M1906~M1908、M2123~M2133和M2325~M2326之间,表型贡献率分别为9.4%、14.0%、21.1%、8.5%、3.1%、3.8%和6.0%,LOD值分别为11.0、15.4、21.3、10.2、3.6、5.0和7.5,共解释表型变异的65.9%(表1、图4)。加性效应分析表明, $qGS3$ 、 $qGS7-1$ 、 $qGS8-1$ 和 $qGS10$ 增强萌发耐淹性的等位基因来自粳型杂草稻WR-4,而 $qGS4-1$ 、 $qGS7-2$ 和 $qGS9$ 增强萌发耐淹性的QTL来自籼稻品种广百香占(表1)。

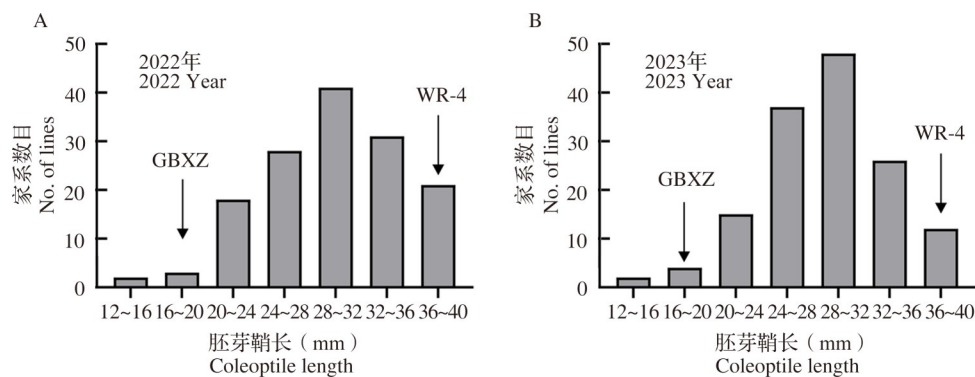


图3 WR-4/广百香占 $F_{2,3}$ 群体萌发耐淹性表型分布直方图

Fig.3 Frequency distribution of germinability under submerged condition (GS) in an $F_{2,3}$ population derived from the cross between WR-4 and Guangbaixiangzhan (GBXZ)

表 1 WR-4/广百香占 $F_{2,3}$ 群体中检测到的萌发耐淹性 QTLTable 1 QTL for germinability under submerged condition (GS) detected in the WR-4/GBXZ $F_{2,3}$ population

年份 Year	数量性状位点 QTL	染色体 Chromosome	标记区间 Marker interval	LOD 值 LOD scores	贡献率 (%) Phenotypic variation explained	加性效应 Additive effect	
2022	<i>qGS3</i>	3	M791~M792	11.0	9.4	2.1	
	<i>qGS4-1</i>	4	M928~M930	15.4	14.0	-2.7	
	<i>qGS7-1</i>	7	M1797~M1807	21.3	21.1	3.4	
	<i>qGS7-2</i>	7	M1757~M1758	10.2	8.5	-0.1	
	<i>qGS8-1</i>	8	M1906~M1908	3.6	3.1	0.4	
	<i>qGS9</i>	9	M2123~M2133	5.0	3.8	-0.6	
	<i>qGS10</i>	10	M2325~M2326	7.5	6.0	1.9	
	2023	<i>qGS3</i>	3	M791~M792	8.9	7.6	1.7
		<i>qGS4-1</i>	4	M928~M930	14.6	13.8	-2.5
		<i>qGS4-2</i>	4	M912~M913	7.7	7.2	2.0
<i>qGS7-1</i>		7	M1797~M1807	16.0	15.4	2.8	
<i>qGS7-2</i>		7	M1757~M1758	3.9	3.0	-0.4	
<i>qGS8-2</i>		8	M1956~M1957	5.7	5.2	0.4	
<i>qGS8-3</i>		8	M1999~M2001	3.6	3.3	-0.1	
<i>qGS9</i>		9	M2123~M2133	4.9	3.9	-0.3	
<i>qGS10</i>		10	M2325~M2326	6.3	5.2	1.6	

正的加性效应表示有益等位基因来自亲本 WR-4, 负的加性效应表示有益等位基因来自亲本广百香占

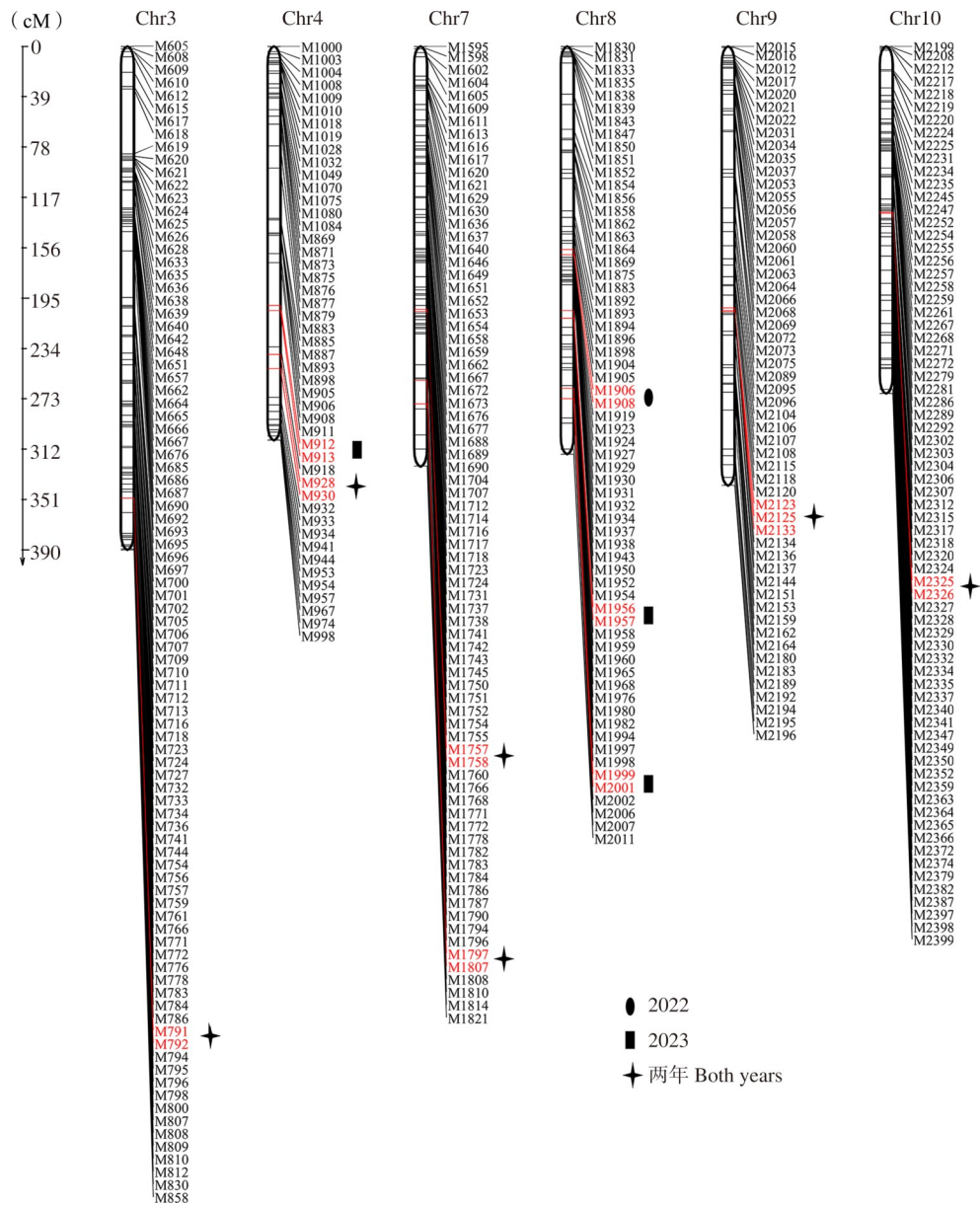
A positive additive effect indicates that beneficial alleles come from parent WR-4, a negative effect indicates that beneficial alleles come from parent Guangbaixiangzhan (GBXZ)

为验证以上 QTL 的可靠性, 本研究于 2023 年再次对 144 个 WR-4/广百香占 $F_{2,3}$ 家系及双亲进行萌发耐淹性鉴定, 粳型杂草稻 WR-4 淹水后的胚芽鞘长平均值为 39.6 mm, 而籼稻品种广百香占淹水后的胚芽鞘长为 19.5 mm, WR-4/广百香占 $F_{2,3}$ 分离群体胚芽鞘长的变化范围为 12.0~38.9 mm, 与 2022 年的表型数据整体趋势一致, 呈现出典型的正态分布特征 (KS-检验, $P>0.05$) (图 3B), 结合分子数据对萌发耐淹性 QTL 进行重新检测。在水稻第 3、4、7、8、9 和 10 号染色体上共检测到 9 个 QTL, 分别命名为 *qGS3*、*qGS4-1*、*qGS4-2*、*qGS7-1*、*qGS7-2*、*qGS8-2*、*qGS8-3*、*qGS9* 和 *qGS10*, 表型贡献率分别为 7.6%、13.8%、7.2%、15.4%、3.0%、5.2%、3.3%、3.9% 和 5.2%, LOD 值分别为 8.9、14.6、7.7、16.0、3.9、5.7、3.6、4.9 和 6.3, 共解释表型变异的 64.6% (表 1、图 4)。其中 *qGS3*、*qGS4-1*、*qGS7-1*、*qGS7-2*、*qGS9* 和 *qGS10* 能够被重新检测到, 以上结果证明这些 QTL 是真实存在的。

2.4 2 个稳定 QTL 的聚合效应分析

本研究选取稳定表达且 LOD 值大于 10、贡献率

超过 10% 的 2 个 QTL (*qGS4-1* 和 *qGS7-1*) 进行聚合效应分析, 根据不同 QTL 区间的 Bin 标记基因型将株系分为 WR 型和 GBXZ 型, 剔除杂合型株系, 取淹水处理后的胚芽鞘长平均值进行统计分析。根据 2 个 QTL 位点的组合情况将 WR-4/广百香占 $F_{2,3}$ 群体分为 4 种组合类型, 依次命名为 *qGS4-1+qGS7-1*、*qGS4-1*、*qGS7-1*、None, 表型值分别为 33.4 mm、27.7 mm、26.7 mm、23.7 mm (图 5A)。分析表型值与携带 QTL 的数量发现, 所有家系的表型值均显著低于 WR-4, 而高于感性亲本广百香占; 携带 2 个 QTL 家系的表型值显著高于携带单个 QTL 或不携带 QTL 的家系; 单独携带 *qGS4-1* 的家系的表型值显著高于不携带 QTL 的家系, 而单独携带 *qGS7-1* 的家系虽然表型值高于不携带 QTL 的家系, 但是在统计上并没有达到显著水平 (图 5A)。双基因聚合分析表明, 不同 QTL 间聚合会产生不同的表型效应, 总的来说, 携带更多 QTL 的家系具有更强的萌发耐淹性, 说明本研究定位到的 2 个 QTL (*qGS4-1* 和 *qGS7-1*) 是稳定可靠的, 携带该 QTL 家系的萌发耐淹性得到了显著的提高。



红色字体的分子标记指示相应QTL的位置

Markers in red font indicates the location of corresponding QTL

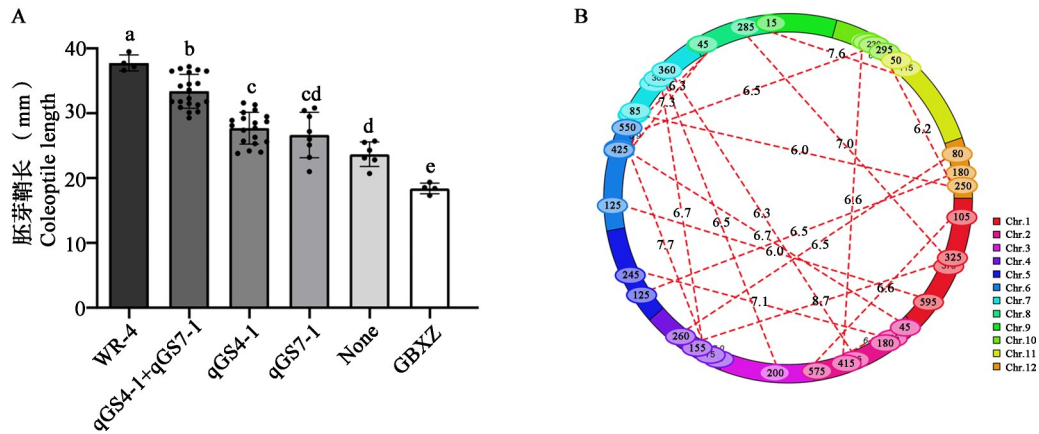
图4 WR-4/广百香占 $F_{2,3}$ 群体中检测到的萌发耐淹性 QTL

Fig.4 QTL for germinability under submerged condition (GS) detected in WR-4/GBXZ $F_{2,3}$ population

2.5 上位性分析

利用 QTL Ici Mapping V4.1 软件,以 LOD 值等于 6 作为阈值,共检测到 23 对上位性互作位点,共解释了 47.0% 的表型变异(图 5B)。其中位于第 7 染色体上的 $qGS7-2$ 与 2 号染色体 Bin 标记 M444~M451 区域存在明显的上位性互作,LOD 值为 6.3,可解释 2.2% 的表型变异;位于第 6 染色体上 Bin 标记 M1322~M1344 区域与第 2 染色体 Bin 标记 M354~M463 区域、第 4 染色体 Bin 标记 M871~M957 区域同时存在上位

性互作,表型贡献率分别为 3.5%、3.4%,LOD 值分别为 6.7、7.7;位于第 4 染色体上 Bin 标记 M1075~M1080 区域与第 12 染色体 Bin 标记 M2728~M2736 区域存在明显的上位性互作,表型贡献率为 4.0%,LOD 值为 6.5;另外的 19 对上位性互作位点均为非加性效应点之间的上位性互作。这些结果表明,本研究使用的定位群体中存在较多的调控水稻萌发耐淹性的上位性互作位点,表明上位性互作效应在调控水稻萌发耐淹性状的遗传上发挥着重要作用。



A: 两个稳定 QTL 的聚合效应分析; B: 上位性分析环形图。柱状图上方的不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著, 环形图上的数字表示分子标记在相应染色体上的位置(cM), 红色虚线上的数字表示两处扫描位置间的 LOD 值

A: Analysis of pyramiding effect of two stable QTL; B: Cyclic graph for epistatic analysis. Different letter above the bar indicate significant difference at the level of $P < 0.05$, numbers on the cyclic graph represent marker position in cM on the corresponding chromosome, numbers on the dotted red lines represent LOD score between the two scanning positions

图5 QTL 的聚合效应和上位性分析

Fig.5 Pyramiding effect and epistatic effect analysis of QTL

3 讨论

QTL 定位分辨率的大小取决于标记密度和 QTL 置信区间^[14-15]。一般说来, 标记密度越大, 所获得 QTL 的定位区间就越小, 因此, 增加遗传标记的密度是提高 QTL 定位分辨率的有效途径^[16]。目前大多数研究者利用 SSR、Indel 等传统分子标记构建遗传图谱, 相对于 SNP 标记, 其存在数量不足、分布不均等问题, 不能满足 QTL 定位高分辨率的要求, 严重影响 QTL 定位结果的精确性, 而基于新一代测序技术开发的 SNP 标记不仅密度高而且能够提供准确的物理位置, 增加了 QTL 定位的准确性和精度。本研究利用水稻 SNP 芯片构建了高分辨率的分子图谱, 用于水稻萌发耐淹性 QTL 定位, 包含 2287 个 SNP 标记, 标记间的平均物理距离为 86.3 kb, 与以往报道的 QTL 相比, 本研究鉴定的 QTL 在以日本晴为参考基因组 (MSU V7.0) 的定位区间明显缩小, 显著提高了 QTL 定位的分辨率, 有助于这些 QTL 的精细定位, 为解析低氧条件下水稻萌发机理奠定了基础。

低氧胁迫下直播稻种子的萌发与出苗能力, 是选育直播稻品种的先决条件, 因此强萌发耐淹性种质和基因的发掘、利用是实现直播稻育种可持续发展的关键所在。本研究共鉴定到 10 个萌发耐淹性 QTL 位点, 分别坐落于水稻第 3、4、7、8、9、10 号染色体上, LOD 值介于 3.6~21.3, 表型贡献率介于 3.0%~21.1% (表 1)。通过与前人在这些区间定位的 QTL

或克隆的相关基因比较发现, 本研究在水稻第 3 染色体上检测到的 *qGS3* 的定位区间包含了 Nghi 等^[17] 鉴定的萌发耐淹性 QTL, *AQEP010*, 因此两者可能为同一个 QTL; 刘利成等^[18] 报道的耐厌氧萌发关联位点 *qAG3-2* 也在该区域附近, 也可能和 *qGS3* 是同一个 QTL; 此外, *qGS3* 与孙凯等^[19]、Angaji 等^[20] 和 Baltazar 等^[21] 在水稻第 3 染色体上检测到的 QTL 或显著关联位点有着较远的物理距离。目前前人在水稻第 7 染色体上鉴定的萌发耐淹性 QTL 超过 8 个, 本研究在该染色体短臂上鉴定出 2 个萌发耐淹性 QTL, *qGS7-1* 和 *qGS7-2*; 其中 *qGS7-1* 与 Baltazar 等^[21] 报道的 *qAG7* 物理位置十分接近, 不能排除此二者是否为同一位点; Zhang 等^[22] 报道的萌发耐淹性显著关联位点包含于本研究鉴定 *qGS7-2* 的定位区间内, 两者可能为同一个 QTL, 同时 *qGS7-2* 与刘利成等^[18] 报道的 *qAG7-1* 位置十分接近, 因此两者也可能为同一个 QTL 位点; 此外, 前人鉴定获得的耐低氧萌发 QTL, *qAG-7-2*^[20]、*qSAT-7-R*^[23]、*qAG-7-1*^[7]、*qAG7.2*^[24]、*qAG7.3*^[24] 均位于水稻第 7 染色体长臂上, 与本研究检测的 *qGS7-1* 和 *qGS7-2* 均不是相同的 QTL。本研究在水稻第 8 染色体上共检测到 3 个萌发耐淹性 QTL, 其中 *qGS8-2* 与 Kim 等^[25] 检测的耐低氧萌发 QTL (*qAG8*), 物理位置十分接近, 可能为同一个 QTL; 此外, 这 3 个 QTL 与前人报道 QTL/ 候选基因, *qGS8*^[8]、*LOC_Os08g42750*^[26]、*qAG-8-1*^[20]、*qGS8:5689664*^[19]、*qGS8:18019426*^[19] 存在相对较远的物理距离。张光恒等^[27] 利用 DH 群体在水稻第 9

染色体末端检测到1个耐淹成苗率QTL, *qL-9*, 贡献率高达41.1%, LOD值为3.8, 与本研究在第9染色体上检测到 *qGS9* 有重叠区域, 两者是否为同一QTL, 有待进一步的验证; 此外, Angaji等^[20]在水稻第9染色体上定位到2个耐低氧萌发QTL, *qAG-9-1* 和 *qAG-9-2*, 随后 Kretschmar等^[28]克隆了 *qAG-9-2*, 命名为 *OsTPP7*, 该基因编码一个海藻糖-6-磷酸磷酸酶, 通过增加海藻糖-6-磷酸的转运来增强淀粉的利用, 驱动胚芽鞘的伸长, 进而提高对厌氧萌发的耐受性, 这两个QTL与本研究鉴定的 *qGS9* 有着较远的物理位置。本研究在水稻第10染色体上检测到1个萌发耐淹性QTL, 刘利成等^[18]利用全基因组关联分析检测到的耐低氧萌发QTL (*qAG10-2*) 也在该区域附近, 两者是否为同一位点, 仍需进一步验证; 此外, 本研究在水稻第4和10号染色体上鉴定到的3个QTL均与孙凯等^[19]利用全基因组关联分析获得的显著关联位点存在着一定的物理距离。

综上所述, 本研究鉴定获得的萌发耐淹性QTL, *qGS4-1*、*qGS4-2*、*qGS8-1*、*qGS8-3* 尚未被报道, 可能是新鉴定的QTL。其中 *qGS4-1* 能够被重复检测到, 贡献率为13.8%~14.0%, LOD值为14.6~15.4, 且经过聚合效应分析能显著提高携带家系的萌发耐淹能力, 是稳定表达的QTL, 具有一定的育种价值。本研究结果为这些QTL的克隆、功能分析和分子设计育种奠定了良好的基础。

参考文献

- [1] Kashiwagi J, Hamada K, Jitsuyama Y. Rice (*Oryza sativa* L.) germplasm with better seedling emergence under direct sowing in flooded paddy field. *Plant Genetic Resources*, 2018, 16(3): 352-358
- [2] Mahajan G, Chauhan B S. Performance of dry direct-seeded rice in response to genotype and seeding rate. *Agronomy Journal*, 2016, 108(1):257-265
- [3] 朱鹤健, 何宜庚. 土壤地理学. 第一版. 北京: 高等教育出版社, 1992:55
Zhu H J, He Y G. *Soil Geography*. First edition. Beijing: Higher Education Press, 1992:55
- [4] 徐春梅, 谢涛, 王丹英, 陈松, 计成林, 章秀福, 石庆华. 根际氧浓度对水稻分蘖期养分吸收和根系形态的影响. *中国水稻科学*, 2015, 29(6):619-627
Xu C M, Xie T, Wang D Y, Chen S, Ji C L, Zhang X F, Shi Q H. Effects of rhizosphere oxygen concentration on nutrient uptake and root morphology of rice at tillering stage. *Chinese Journal of Rice Science*, 2015, 29(6):619-627
- [5] Yu S M, Lee H T, Lo S F, Ho T H D. How does rice cope with too little oxygen during its early life? *New Phytologist*, 2021, 229:36-41
- [6] Jiang L, Liu S J, Hou M Y, Tang J Y, Chen L M, Zhai H Q, Wan J M. Analysis of QTLs for seed low temperature germinability and anoxia germinability in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research*, 2006, 98(1):68-75
- [7] 侯名语, 江玲, 王春明, 万建民. 水稻种子低氧发芽力的QTL定位和上位性分析. *中国水稻科学*, 2004, 18(6): 483-488
Hou M Y, Jiang L, Wang C M, Wan J M. Quantitative trait loci and epistatic analysis for seed anoxia germinability in rice (*Oryza sativa*). *Chinese Journal of Rice Science*, 2004, 18(6):483-488
- [8] 陈孙禄, 王俊敏, 潘佑找, 马健阳, 张建辉, 张红生, 滕胜. 水稻萌发耐淹性的遗传分析. *植物学报*, 2012, 47(1):28-35
Chen S L, Wang J M, Pan Y Z, Ma J Y, Zhang J H, Zhang H S, Teng S. Genetic analysis of rice germination tolerance to flooding. *Chinese Bulletin of Botany*, 2012, 47(1):28-35
- [9] Hsu S K, Tung C W. Genetic mapping of anaerobic germination-associated QTLs controlling coleoptile elongation in rice. *Rice*, 2015, 8(1):1-12
- [10] Sun J, Zhang G C, Cui Z B, Kong X M, Yu X Y, Gui R, Han Y Q, Li Z, Lang H, Hua Y C, Zhang X M, Xu Q, Tang L, Xu Z J, Ma D R, Chen W F. Regain flood adaptation in rice through a 14-3-3 protein OsGF14h. *Nature Communications*, 2022, 13:5664
- [11] 李龙, 彭智, 毛新国, 王景一, 吕小平, 柳玉平, 景蕊莲. 小麦高密度遗传图谱构建及抗旱相关生理性状的遗传解析. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(3):531-538
Li L, Peng Z, Mao X G, Wang J Y, Chang X P, Liu Y P, Jing R L. Genetic map construction and genetic dissection of drought-tolerant related physiological traits in wheat. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19(3):531-538
- [12] 孙志广, 刘艳, 李景芳, 周振玲, 邢运高, 徐波, 周群, 王德荣, 卢百关, 方兆伟, 王宝祥, 徐大勇. 水稻萌发耐淹性鉴定评价方法研究及种质资源筛选. *中国稻米*, 2023, 29(4): 53-58
Sun Z G, Liu Y, Li J F, Zhou Z L, Xing Y G, Xu B, Zhou Q, Wang D R, Lu B G, Fang Z W, Wang B X, Xu D Y. Identification and evaluation method for germinability under submerged condition in rice and germplasm screening. *China Rice*, 2023, 29(4):53-58
- [13] Li H H, Ye G Y, Wang J K. A modified algorithm for the improvement of composite interval mapping. *Genetics*, 2007, 175:361-374
- [14] Visscher P M, Thompson R, Haley C S. Confidence intervals in QTL mapping by boots trapping. *Genetics*, 1996, 143:1013-1020
- [15] Da Y, Vanraden P M, Schook L B. Detection and parameter estimation for quantitative trait loci using regression models and multiple markers. *Genetics Selection Evolution*, 2000, 32: 357-381

- [16] Liu X, Zhang H, Li H, Li N, Zhang Y, Zhang Q, Wang S, Wang H. Fine-mapping quantitative trait loci for body weight and abdominal fat traits: Effects of marker density and sample size. *Poultry Science*, 2008, 87:1314-1319
- [17] Nghi K N, Tondelli A, Vale G, Tagliani A, Mare C, Perata P, Pucciariello C. Dissection of coleoptile elongation in *japonica* rice under submergence through integrated genome-wide association mapping and transcriptional analyses. *Plant Cell & Environment*, 2019, 42(6):1832-1846
- [18] 刘利成, 李小湘, 黎用朝, 潘孝武, 闵军, 刘三雄, 刘文强, 胡敏, 段永红, 余亚莹, 张海清. 水稻种子耐厌氧萌发全基因组关联分析. *植物遗传资源学报*, 2021, 22(6):1644-1650
Liu L C, Li X X, Li Y C, Pan X W, Min J, Liu S X, Liu W Q, Hu M, Duan Y H, Yu Y Y, Zhang H Q. Genome wide association study of anaerobic germination tolerance in seeds of rice accessions. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2021, 22(6):1644-1650
- [19] 孙凯, 李冬秀, 杨靖, 董骥驰, 严贤诚, 罗立新, 刘永柱, 肖武名, 王慧, 陈志强, 郭涛. 水稻耐淹成苗率相关性状全基因组的关联分析. *中国农业科学*, 2019, 52(3):385-398
Sun K, Li D X, Yang J, Dong J C, Yan X C, Luo L X, Liu Y Z, Xiao W M, Wang H, Chen Z Q, Guo T. Genome-wide association analysis for rice submergence seedling rate. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(3):385-398
- [20] Angaji S A, Septiningsih E M, Mackill D J, Ismail A M. QTLs associated with tolerance of flooding during germination in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2010, 172(2):159-168
- [21] Baltazar M D, Ignacio J C I, Thomson M J, Ismail A M, Mendioro M S, Septiningsih E M. QTL mapping for tolerance of anaerobic germination from IR64 and the *aus* landrace Nanhi using SNP genotyping. *Euphytica*, 2014, 197(2):251-260
- [22] Zhang M, Lu Q, Wu W, Niu X, Wang C, Feng Y, Xu Q, Wang S, Yuan X, Yu H, Wang Y, Wei X. Association mapping reveals novel genetic loci contributing to flooding tolerance during germination in *indica* rice. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:678
- [23] 王洋, 郭媛, 洪德林. 水稻幼苗耐缺氧能力的QTL分析. *中国水稻科学*, 2010, 24(1):18-24
Wang Y, Guo Y, Hong D L. QTL analysis of the anoxic tolerance at the seedling stage in rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 2010, 24(1):18-24
- [24] Septiningsih E M, Ignacio J C I, Sendon P M D, Sanchez D L, Ismail A M, Mackill D J. QTL mapping and confirmation for tolerance of anaerobic conditions during germination derived from the rice landrace Ma-Zhan Red. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(5):1357-1366
- [25] Kim S M, Reinke R F. Identification of QTLs for tolerance to hypoxia during germination in rice. *Euphytica*, 2018, 214(9):160
- [26] 饶玉春, 林晗, 肖飒清, 吴仪, 张月, 王盛, 胡佳青, 薛大伟. 水稻耐淹性的QTL定位与候选基因分析. *浙江师范大学学报:自然科学版*, 2020, 43(3):312-319
Rao Y C, Lin H, Xiao S Q, Wu Y, Zhang Y, Wang S, Hu J Q, Xue D W. Identifying of QTL for resistance to submergence in rice. *Journal of Zhejiang Normal University: Social Sciences*, 2020, 43(3):312-319
- [27] 张光恒, 曾大力, 胡时开, 苏岩, 阿加拉铁, 郭龙彪, 钱前. 水稻苗期耐淹相关性状QTL分析. *作物学报*, 2006, 32(9):20-26
Zhang G H, Zeng D L, Hu S K, Su Y, A J L T, Guo L B, Qian Q. QTL analysis of traits concerned submergence tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(9):20-26
- [28] Kretzschmar T, Pelayo M A F, Trijatmiko K R, Gabunada L F M, Alam R, Jimenez R, Mendioro M S, Slamet-Loedin I H, Sreenivasulu N, Bailey-Serres J, Ismail A M, Mackill D J, Septiningsih E M. A trehalose-6-phosphate phosphatase enhances anaerobic germination tolerance in rice. *Nature Plants*, 2015, 1:15124