

水稻籽粒锌含量全基因组关联分析及候选基因筛选

刘 阳¹, 杜怀东¹, 孙志勇¹, 于雪然^{1,2}, 李培富¹

(¹宁夏大学农学院/宁夏优势特色作物现代分子育种重点实验室, 银川 750021; ²赤峰市农牧科学研究所, 内蒙古赤峰 024000)

摘要: 通过挖掘水稻籽粒中锌含量显著关联的QTL, 并结合基因功能注释、单倍型和灌浆期籽粒相对表达量分析, 筛选与水稻籽粒锌含量相关的候选基因。本研究以139份西北早粳稻核心种质资源为试验材料, 结合重测序获得的1800920个高可信度SNPs, 基于一般线性模型(GLM, general linear model)进行全基因组关联分析, 对显著QTL区间内候选基因进行功能注释, 并对进一步筛选后的基因进行单倍型和籽粒灌浆期相对表达量分析, 以期筛选出与籽粒锌含量相关的候选基因和优势单倍型。结果表明, 139份水稻中籽粒锌含量存在丰富的表型变异, 且符合正态分布。全基因组关联分析共关联到12个显著SNP, 分布在第1、2、4、10、11号染色体上, 结合候选区间内的基因功能注释, 推测定位在囊泡中的*OsFRDL2*可能与水稻籽粒锌元素富集相关; 单倍型和灌浆期籽粒相对表达量分析表明, *OsFRDL2*在优势单倍型Hap5中表达量相对较高。因此推测*OsFRDL2*可能与水稻籽粒锌元素富集相关。研究结果为解析水稻籽粒锌元素富集机制和开发富锌水稻分子标记提供理论基础, 为培育富锌水稻提供基因资源。

关键词: 水稻; 籽粒; 锌含量; 全基因组关联分析; 基因候选

Genome-wide Association Analysis and Candidate Genes Screening for Zn Content in Rice Seeds

LIU Yang¹, DU Huaidong¹, SUN Zhiyong¹, YU Xueran^{1,2}, Li Peifu¹

(¹College of Agriculture, Ningxia University/Key Laboratory of Modern Molecular Breeding for Dominant and Characteristic Crops in Ningxia, Yinchuan 750021; ²Chifeng Institute of Agriculture and Animal Husbandry, Chifeng 024000, Inner Mongolia)

Abstract: By mining QTL significantly associated with zinc content in rice grains, combined with gene function annotation, haplotype and grain relative expression analysis at grain filling stage, candidate genes related to zinc content in rice grains were screened. In this study, 139 core germplasm resources of early japonica rice in Northwest China were used as experimental materials. Combined with 1800920 high-confidence SNPs obtained by resequencing, genome-wide association analysis was performed based on the general linear model (GLM). The candidate genes in the significant QTL interval were functionally annotated, and the further screened genes were analyzed for haplotypes and relative expression levels at grain filling stage, in order to screen out candidate genes and dominant haplotypes related to grain zinc content. The results showed that there were abundant phenotypic variations in grain zinc content of 139 rice accessions, which were in accordance with normal distribution. Through genome-wide association analysis of zinc content in rice grains, a total of 12 significant SNPs were associated, which were distributed on chromosomes 1, 2, 4, 10 and 11. Combined with the gene function annotation in the candidate interval, it was speculated that *OsFRDL2* located in the vesicle may be related to the enrichment of zinc in rice grains. Through the analysis of haplotype and grain relative expression at filling stage, it was found that *OsFRDL2* was relatively highly expressed in the dominant haplotype Hap5.

收稿日期: 2023-12-29 网络出版日期: 2024-07-13

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20231229001>

第一作者研究方向为水稻功能品质遗传育种, E-mail: ly13039541360@163.com

通信作者: 李培富, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: peifuli@163.com

基金项目: 宁夏回族自治区粮食作物种质创制与生长调控创新团队(2022BSB03109); 宁夏农业育种专项课题(2018NYYZ0302)

Foundation projects: Ningxia Hui Autonomous Region Grain Crop Germplasm Creation and Growth Control Innovation Team(2022BSB03109); Ningxia Agricultural Breeding Special Subject(2018NYYZ0302)

Therefore, it is speculated that *OsFRDL2* may be related to the enrichment of zinc in rice grains. The results provide a theoretical basis for analyzing the mechanism of zinc enrichment in rice grains and developing molecular markers of zinc-rich rice, and provide genetic resources for cultivating zinc-rich rice.

Key words: rice; rice grains; Zn content; genome-wide association analysis; gene candidate

水稻是世界上主要粮食作物之一,是全世界近一半人口的主食^[1]。锌是人体多种酶、DNA和RNA的重要组成成分,缺锌会降低人体内多种酶活性^[2],从而诱发多种疾病,如阿尔兹海默症^[3]、糖尿病^[4]、高血压^[5]等。很多地区存在锌缺乏问题,因此,对水稻籽粒中锌含量进行生物强化是最具成本效益和可持续性的发展战略。

挖掘水稻籽粒锌含量相关的基因是培育富锌水稻的关键,然而,水稻籽粒中锌元素的富集机制尚不明确。目前,部分水稻籽粒锌含量的相关基因已被克隆,如 *OsZIP9*、*OsNAS1*、*OsNAS2*、*OsNAS3*、*ZIP8*等。定位在质膜上的 *OsZIP9* 具有锌内转运蛋白活性,与野生型相比,敲除 *OsZIP9* 的转基因株系的根、茎和籽粒中的锌含量显著降低,过表达株系籽粒中的锌含量则显著增加^[6-7]。麦根酸类植物Fe载体(PS, phyto siderophores)可以螯合锌离子,从而增强植株对锌元素的吸收能力^[8],其中烟酰胺合成酶(NAS, nicotianamine synthase)是麦根酸的前体物质^[9],因此,激活烟酰胺合成酶可提高水稻植株中锌含量,*OsNAS1*、*OsNAS2*和*OsNAS3*的过表达株系均可显著提高糙米的锌含量^[10]。定位于质膜的*OsZIP8*负责水稻植株内锌元素的分配,与野生型植株相比,其过表达株系的种子中锌含量显著降低,而根中的锌含量显著增加^[11]。

水稻籽粒锌含量是由多基因控制的数量性状,长期以来,学者们大多采用连锁分析法来挖掘相关基因。张现伟等^[12]以奉新红米×明恢100的F₂群体为试验材料,共检测到了3个控制水稻籽粒锌含量的QTLs,贡献率为4.97%~12.75%。朱鸿宇等^[13]以粳稻品种热研为母本,籼稻品种华占为父本,构建重组自交系群体,结合遗传图谱和候选基因定量分析,推测 *LOC _ Os01g14440*、*LOC _ Os01g18584*、*LOC _ Os01g20160*可能与水稻籽粒锌元素的富集相关。Ashmit^[14]测定了503份水稻籽粒锌含量,全基因组关联分析(GWAS, genome-wide association study)共关联到了69个与锌含量相关的QTL,通过CRISPR/Cas9方法敲除*OsLCT1*基因,突变体材料的籽粒中锌、铁、镉含量均显著降低,证明了*OsLCT1*基因与水稻籽粒中的锌含量和镉含量相

关,并且能够用于富锌育种。Descalsota-Empleo等^[15]以152份有色水稻为材料,利用全基因组关联分析获得的22112个高可信度SNP对农艺性状进行定位,关联到5个与水稻籽粒锌含量有关的QTL,推测*OsHMA9*、*OsMAPK6*、*OsNRAMP7*、*OsMADS13*和*OsZFP252*可能影响水稻籽粒锌含量。

随着生物信息技术的迅速发展,全基因组关联分析成为近年来基因组学研究的热点,与传统的双亲种群绘图法相比,全基因组关联分析无需构建双亲后代群体,可以使用自然群体或者人工选择群体,且SNP标记密度高^[16-17],可以探究多个位点与表型之间的关系^[18]。因此,本研究以139份西北早粳稻核心种质资源为试验材料,结合重测序获得的1800920个高质量SNPs,基于一般线性模型(GLM, general linear model)进行全基因组关联分析,并对显著QTL区间内候选基因进行功能注释,结合单倍型分析和籽粒灌浆期相对表达量分析,以期筛选出与籽粒锌含量相关的候选基因和优势单倍型,为探究水稻富锌机制和开发相关分子标记提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

139份西北早粳稻核心种质资源,由宁夏大学农学院宁夏优势特色作物现代分子育种重点实验室提供^[19-20]。2021年种植于宁夏永宁试验农场,每份种质种植2行,行长1.2 m,行距0.26 m,株距0.1 m,水稻田间管理同大田栽培技术一致,水稻成熟期收获,用于测定水稻籽粒锌元素含量。

1.2 试验方法

1.2.1 水稻籽粒锌含量测定 采用GB 5009.14-2017食品安全国家标准食品中锌的测定(https://www.miit.gov.cn/cms_files/filemanager/oldfile/threestrategy/threestrategy/ueditorupload/file/20170420/1492665719113006905.pdf)的火焰原子吸收光谱法测定水稻籽粒中的锌元素。将139份西北早粳稻核心种质资源籽粒烘干,使用砬谷机(东孚久恒JDMZ 100,北京)脱壳、粉碎机(飞穗JFSD-70,上海)粉碎磨成米粉。准确称取样品1 g(±0.0001g)于锥形瓶内并加入10 mL混合酸(V_{硝酸}:V_{高氯酸}=5:1),静置12 h

以上,直至完全消解;消解液放置在电热板(格丹纳 HT-400,广州)上,设置温度 120℃ 0.5 h、180℃ 2 h 进行消煮,210℃ 消煮至白烟散尽,停止加热,此时溶液为无色透明或淡黄色;待溶液冷却至室温后,转移到 50 mL 棕色容量瓶中用超纯水定容,进行 2~3 次润洗,过滤、稀释,每次消煮设置 3 次重复及 2 个空白对照,置于 4℃ 冰箱。通过稀释 1000 mg/kg 标准溶液制备校准标准溶液,分别为 0、0.4、0.8、1.2、2.0、2.4 $\mu\text{g/mL}$,用原子吸收分光光度计(日立 Z-2000,日本)测定水稻籽粒中锌含量^[20-21]。

1.2.2 候选基因在籽粒灌浆期表达动态分析 水稻在开花时标记为 1 d,每间隔 5 d 取水稻籽粒,使用 RNAsimple 总 RNA 试剂盒(北京天根生化有限公司)提取 RNA,使用微量核酸蛋白仪(Thermo Nanodrop2000 分光光度计,上海)和电泳法检测 RNA 质量,若 A260/A280=2.0,有 3 条带或前两条带,则说明 RNA 质量良好。使用 PrimeScriptTMII 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒(TaKaRa)进行反转录获取 cDNA,使用生物染料法荧光定量试剂盒(TB Green™ Premix EX TaqTMII)测定候选基因在灌浆期的相对表达量,扩增体系如下:2×TB Green™ Premix Ex Taq 10 μL ,正反向引物各 0.8 μL (F: TTGGCGTTCAGGTGGGAC, R: GACCGGGTC AGCCATGAG), cDNA 2 μL , RNase Free dH₂O 6.4 μL 。扩增程序如下:95℃ 30 s;95℃ 5 s,60℃ 30 s,45 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta\text{CT}$} 法计算基因的相对表达量,内参基因为 Actin(F: GACCTTCAACACCCCTGCTA, R: AC AGTGTGGCTGACACCATC)。

1.2.3 GWAS 分析 以日本晴 IRGSP 1.0 (https://plants.ensembl.org/Oryza_sativa/Info/Index)为参考基因组,利用 139 份水稻种质表型值进行全基因组关联分析,计算模型采用 GLM。使用 plink 1.8 (<https://zzz.bwh.harvard.edu/plink/download.shtml>)检测全基因组中所有潜在的多态性 SNP 位点,以最大缺失率高于 5%、最小等位基因频率 10% 以下为标准筛选出可信度高的 SNP 位点,利用 Admixture 软件(www.genetics.ucla.edu/software/admixture)结合主成分分析(PCA, principal component analysis)和邻接法(NJ, neighbor-joining)进化树进行群体结构分析,R 语言和 Python 进行绘图,通过 R 4.3.2 (<https://www.r-project.org/>)绘制曼哈顿图与 QQ 图展示关联分析结果。

1.2.4 候选基因分析 以显著 SNPs 上下游各延伸 300 kb 作为候选区间,利用国家水稻数据中心 (<https://www.ricedata.cn>)对候选区间内的基因进行注释。筛选出与水稻籽粒锌累积相关的基因,使用

plink 1.8 提取候选基因外显子区域的基因型,Microsoft Excel 2010 进行数据处理,使用 Haploview (<https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>)进行单倍型分析、Origin 2022 (<https://www.originlab.com/2022>)绘图。

2 结果与分析

2.1 水稻籽粒锌含量表型统计分析

139 份水稻籽粒平均锌含量为 19.46 mg/kg,最大值为 38.67 mg/kg,最小值为 11.58 mg/kg,变异系数为 20.87%,水稻籽粒锌含量表型符合正态分布,可用于 GWAS 分析(图 1)。

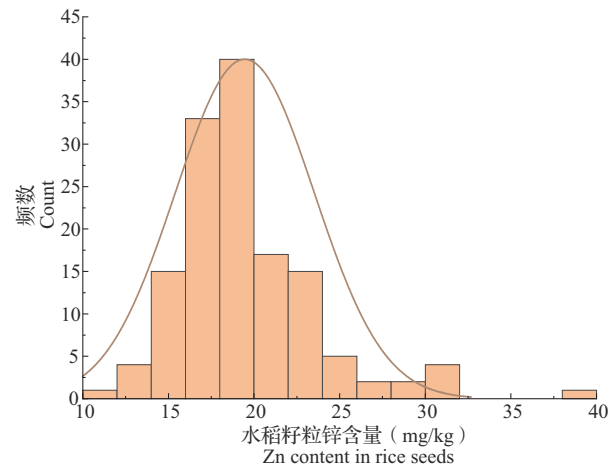


图 1 锌含量正态分布图

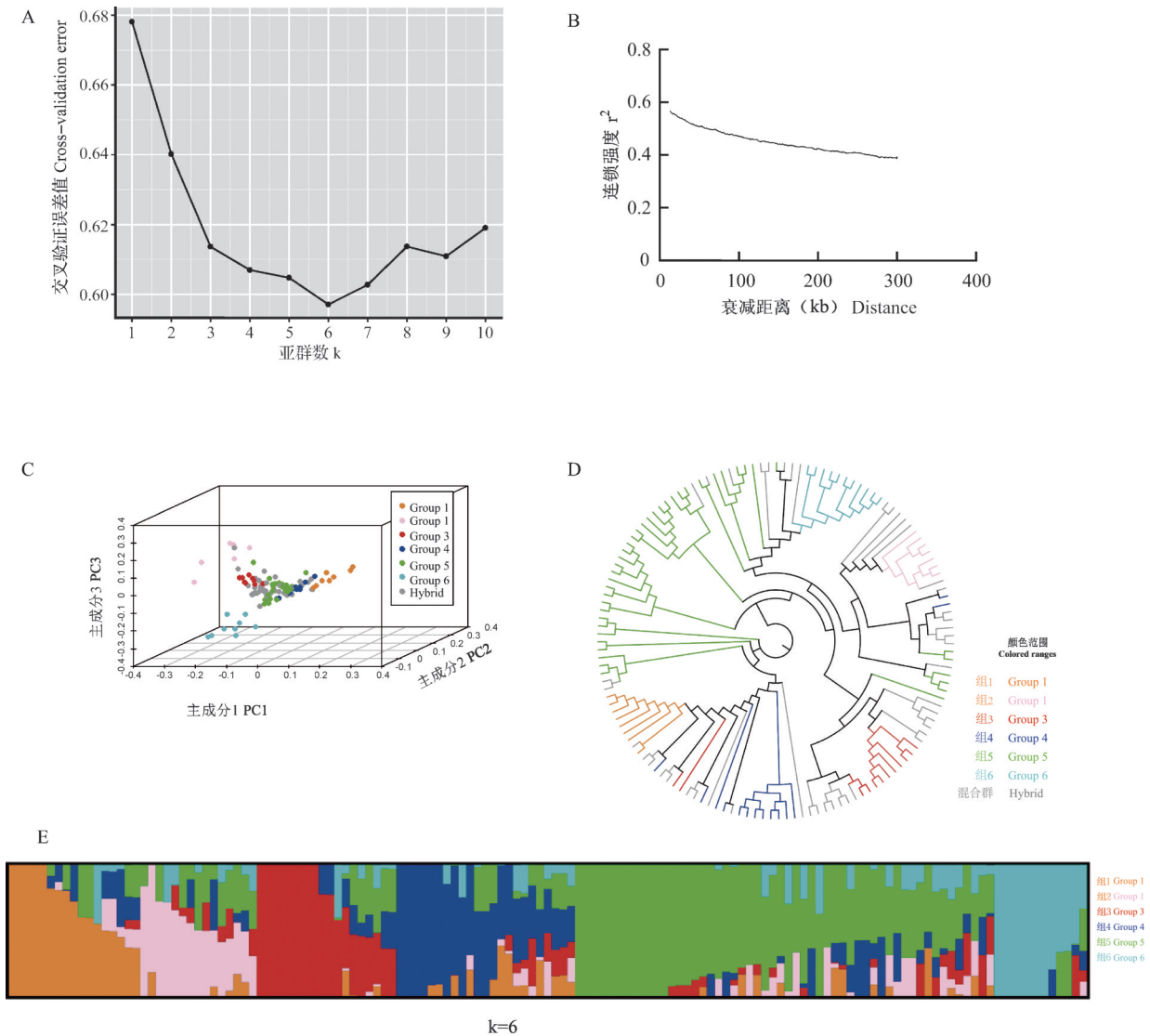
Fig.1 Zn content normal distribution

2.2 群体结构及连锁不平衡分析

通过 illumina 技术对 139 份西北早粳稻核心种质进行 10×重测序获得 1800920 个高质量 SNPs(数据未发表),假定该群体的亚群数为 1~10,计算其交叉验证误差,结果发现当亚群数为 6 时,交叉验证误差值最小,为 0.59709(图 2A)、结合主成分分析(图 2C)及构建系统进化树(图 2D)等方法,证实交叉验证误差值结果较为可靠,因此将 139 份种质划分为 6 个亚群及 1 个混合群(图 2E)。当连锁强度 r^2 降至一半时,对应的遗传衰减距离为 300 kb(图 2B),因此,该群体的 LD 衰减距离约为 300 kb。

2.3 全基因组关联分析

使用一般线性模型进行全基因组关联分析(图 3),以阈值 7.39 为标准,共关联到 12 个显著 SNPs, $-\log_{10}(p)$ 介于 7.41~8.76,分别分布在水稻第 1、2、4、10 和 11 号染色体上,其中第 10 号染色体显著的 SNPs 数量最多,达到 6 个(图 3,表 1),可为后续开发分子标记奠定理论基础。

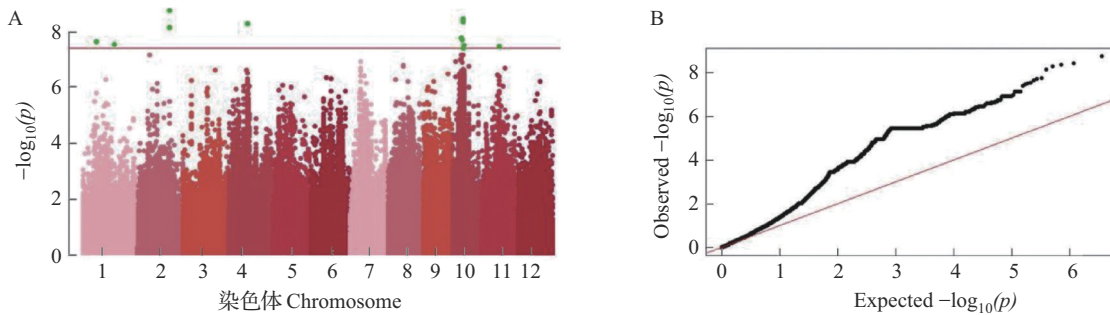


A: 不同K值水平下的交叉验证误差值; B: 连锁不平衡衰减图; C: 139份水稻种质群体结构主成分分析结果;
 D: 139份水稻种质系统发育树; E: 139份水稻种质的群体结构分析

A: Cross-validation error values at different K levels; B: Chain imbalance decay diagram; C: Results of principal component analysis of the population structure of 139 rice germplasm; D: Phylogenetic tree of 139 rice germplasm; E: Population structure analysis of 139 rice germplasm

图2 139份水稻种质资源分析

Fig. 2 Analysis of 139 rice germplasm resources



绿点表示 $-\log_{10}(p) > 7.39$ 的 SNP 位点

Green dots represent SNP loci with $-\log_{10}(p) > 7.39$

图3 水稻籽粒锌元素含量 GLM 模型曼哈顿图 (A) 和 QQ 图 (B)

Fig.3 Manhattan (A) and QQ plots (B) of GLM model for Zn element content of rice seeds

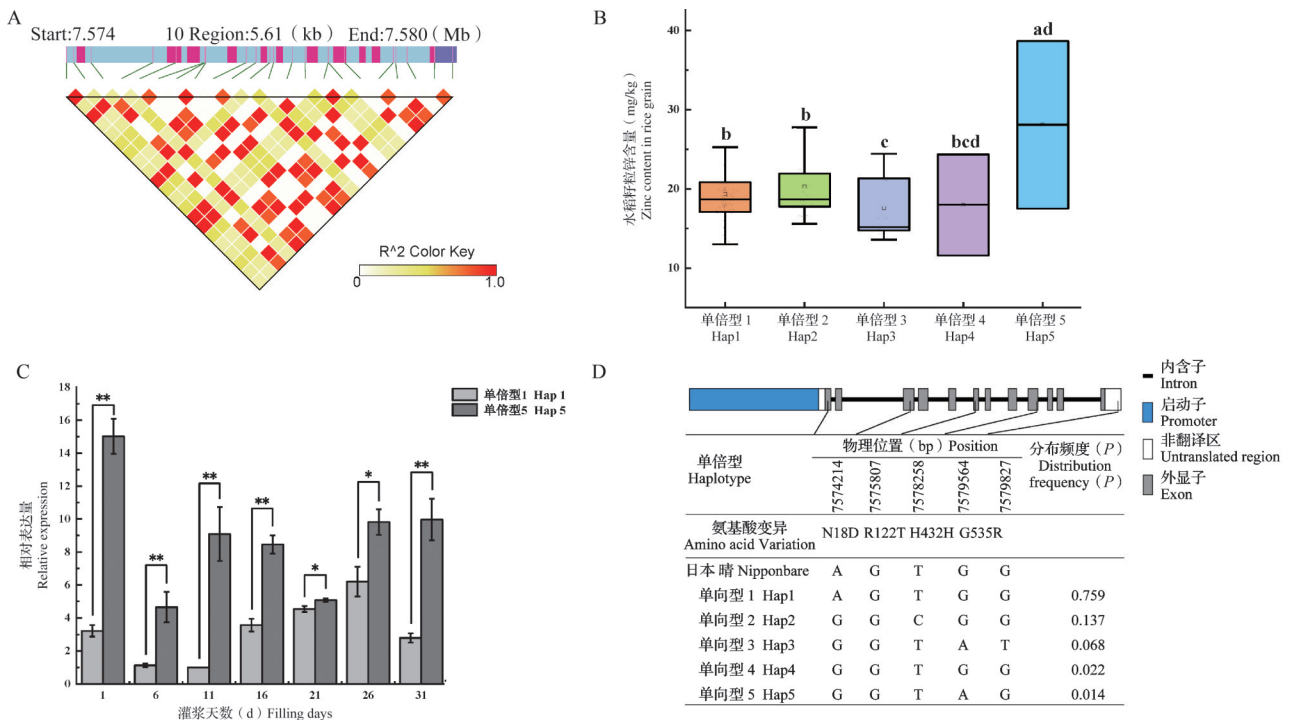
表1 GLM分析模型关联显著SNPs统计表
Table 1 GLM analysis model association significant SNPs statistics table

染色体 Chromosomes	物理位置 (bp) Position	参考碱基 Reference base	变异碱基 Alternative base	-log10 (P)
1	10733893	G	T	7.65
	24685613	T	A	7.54
2	25039237	A	G	8.76
	25039216	G	A	8.16
4	14561845	C	T	8.30
10	8209641	T	C	8.45
	8209600	T	C	8.36
	6697167	G	C	7.78
	7805849	G	T	7.72
	9010319	G	A	7.52
11	8211675	G	A	7.41
	13732866	G	A	7.48

2.4 候选区间的筛选

2.4.1 候选基因功能注释 以显著SNPs上下游各延伸300 kb作为候选区间,区内共包含717个候选基因,通过国家水稻数据中心对其进行功能注释,筛选到4个与水稻籽粒锌含量相关的基因,分别为LOC_Os01g18670、LOC_Os01g42900、LOC_Os10g11860、LOC_Os10g13940 (OsFRDL2)。基因LOC_Os01g18670为MDR型ABC转运蛋白^[22], LOC_Os01g42900为ABC-2型转运蛋白^[23],均为ABC转运蛋白家族,参与金属离子、次生代谢物和外源性物质等跨膜转运^[24-25]。LOC_Os10g11860和OsFRDL2为多药及毒性化合物外排转运蛋白家族成员(MATE, multidrug and toxic compound extrusion),该家族蛋白通过分泌柠檬酸来整合离子并进行转运^[26]。

2.4.2 候选基因分析 通过单倍型和灌浆期籽粒表达差异显著性分析,结果表明OsFRDL2可能与水稻籽粒中锌元素的富集相关。OsFRDL2在外显子和非翻译区具有5个差异SNPs位点且连锁性较强(图4A),共产生5种单倍型,其中Hap1分布频率达



A: 外显子区单倍型分析; B: 不同单倍型品种籽粒锌含量差异显著性分析, 不同小写字母表示在P<0.05水平上差异显著; C: 籽粒灌浆期的相对表达量, *与**分别表示在P<0.05和P<0.01水平上差异显著; D: OsFRDL2单倍型分析
A: Haplotype analysis of exon region; B: Significant difference analysis of grain zinc content in different haplotype varieties, different lowercase letters indicated significant difference at the P < 0.05 level; C: The relative expression of grain filling stage, * and ** indicate, significant difference at the level of P < 0.05 and P < 0.01, respectively; D: Haplotype analysis of OsFRDL2

图4 OsFRDL2分析结果

Fig.4 Analysis results of OsFRDL2

到了 0.759, 是主要的单倍型, 且与参考基因组 (IRGSP 1.0) 基因型相同 (图 4D)。含有 Hap1 和 Hap2 的品种籽粒锌含量显著高于含有 Hap3 的品种 ($P < 0.05$), 含有 Hap5 的品种籽粒锌含量显著高于含有 Hap1、Hap2 和 Hap3 的品种 ($P < 0.05$) (图 4B)。因此, Hap5 可能是水稻籽粒富锌含量的优势单倍型。通过测定含有 Hap1 和 Hap5 的不同品种籽粒灌浆期的相对表达量, 结果表明, 在水稻籽粒中, *OsFRDL2* 的相对表达量在第 1、6、11、16、31 天时, 含有 Hap5 的品种中基因表达量极显著高于含有 Hap1 的品种 ($P < 0.01$), 在第 21、26 天时, 含有 Hap5 的品种中基因表达量显著高于含有 Hap1 的品种 ($P < 0.05$)。总体呈现出含有 Hap5 的品种中基因表达量始终高于含有 Hap1 的品种 (图 4C), 因此推测 *OsFRDL2* 基因正向调控水稻籽粒锌含量。

3 讨论

多药及毒性化合物外排转运蛋白, 又称解毒外排转运蛋白 (DTXs, detoxification efflux carriers), 广泛存在于细菌、真菌、植物和哺乳动物中^[27], 与细菌和动物相比, 植物的转运体多样性更高, 其中拟南芥基因组内至少有 50 个, 水稻基因组内至少有 40 个^[28]。Yokosho 等^[29]通过对 *OsFRDL1* 在烟草中异源表达分析, 表明 *OsFRDL1* 参与铁元素的转运, 与野生型水稻相比, 敲除 *OsFRDL1* 会导致水稻叶片中铁含量显著降低, 但锌和锰浓度有所增高。Wu 等^[30]通过对 *AtFRD3* 在水稻中进行异源表达, 结果表明, 受体植株籽粒的锌、铁含量都有所增加。李洪有等^[31]研究发现高浓度铁元素可以诱导甜荞 *FeFRD3* 在根中的表达。*MsmATE*、*ZmMATE* 和 *GmMATE* 分别在苜蓿^[32]、玉米^[33]、大豆^[34] 中参与离子转运的功能。通过基因家族并结合系统进化树分析, 表明 MATE 家族成员参与了离子的转运, 且不同离子间具有协同性^[35], 故推测 *OsFRDL2* 可能参与锌离子的转运。

MATE 蛋白家族代表了植物中的一个大型转运家族, 但大多数基因在该家族中的作用尚未得到研究^[36]。Yokosho 等^[26]对 MATE 家族成员 *OsFRDL2* 在水稻幼苗时期进行了功能鉴定, 发现 *OsFRDL2* 受铝元素胁迫后, 主要在幼苗根部表达, 但并未验证其在水稻籽粒中的功能。本研究通过 GWAS 关联到 12 个 SNPs, 通过基因功能注释获得 4 个编码转运蛋白的基因, 基于单倍型及灌浆期籽粒表达量分析, 发现仅有 MATE 家族的 *OsFRDL2* 符合实验预

期, 这可能是由多个碱基突变导致的籽粒锌含量呈现出显著差异, 第 10 号染色体 7574214 处 A 突变为 G, 导致无电荷的天冬酰胺突变为带负电荷的天冬氨酸, 7579564 处 G 突变为 A, 导致甘氨酸突变为精氨酸, 碱基突变导致氨基酸链发生变化, 从而改变蛋白质的构型。因此, 推测 *OsFRDL2* 可能与水稻籽粒锌元素的富集相关。

4 结论

基于全基因组重测序数据, 使用一般线性模型对 139 份种质的籽粒锌含量进行全基因组关联分析。结果显示, 水稻籽粒的锌元素共关联到 12 个显著 SNPs, 其候选区间包含 717 个候选基因。通过基因功能注释, 初步筛选获得 4 个可能与水稻籽粒锌元素积累相关的候选基因。将候选基因进行单倍型和灌浆期籽粒表达量分析, 最终确定基因 *OsFRDL2* 的不同单倍型在水稻籽粒锌含量上具有差异显著性, 通过测定含有 Hap1 和 Hap5 的不同品种籽粒灌浆期的相对表达量, 结果表明, 含有 Hap5 的品种中基因表达量始终高于含有 Hap1 的品种。因此 *OsFRDL2* 可作为与水稻籽粒锌含量相关的候选基因进行后续分析与验证。

参考文献

- [1] Zuo J, Li J. Molecular genetic dissection of quantitative trait loci regulating rice grain size. *Annual Review of Genetics*, 2014, 48(1): 99-118
- [2] 马彦平, 石磊, 何源. 微量元素铁、锰、硼、锌、铜、钼营养与人体健康. *肥料与健康*, 2020, 47(5): 12-17
Ma Y P, Shi L, He Y. Trace elements Iron, manganese, boron, zinc, copper, molybdenum and human health. *Fertilizer & Health*, 2020, 47(5): 12-17
- [3] Hambidge M. Human zinc deficiency. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(5S): 1344-1349
- [4] Berezovsky B, Bájecný M, Frýdlová J, Gurieva I, Rogalsky D W, Příkryl P, Pospíšil V, Nečas E, Vokurka M, Krijt J. Effect of erythropoietin on the expression of murine transferrin receptor 2. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(15): 8209
- [5] 黄秋婵, 韦友欢, 石景芳. 微量元素锌对人体健康的生理效应及其防治途径. *微量元素与健康研究*, 2009, 26(1): 68-70
Huang Q C, Wei Y H, Shi J F. The physiological effects of zinc trace elements on the human health and its measures of preventing. *Studies of Trace Elements and Health*, 2009, 26(1): 68-70
- [6] Huang S, Sasaki A, Yamaji N, Okada H, Mitani-Ueno N, Ma J F. The ZIP transporter family member OsZIP9 contributes to root zinc uptake in rice under zinc-limited conditions. *Plant*

- Physiology, 2020, 183(3): 1224-1234
- [7] Yang M, Li Y, Liu Z, Tian J, Liang L, Qiu Y, Wang G, Du Q, Cheng D, Cai H, Shi L, Xu F, Lian X. A high activity zinc transporter OsZIP9 mediates zinc uptake in rice. *The Plant Journal*, 2020, 103(5): 1695-1709
- [8] 夏海勇, 薛艳芳, 孟维伟, 于丽敏, 刘灵艳, 张正. 间套作体系作物-土壤铁和锌营养研究进展. *应用生态学报*, 2015, 26(4): 1263-1270
Xia H Y, Xue Y F, Meng W W, Yu L M, Liu L Y, Zhang Z. Research advances in iron and zinc transfer from soil to plant in intercropping systems. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(4): 1263-1270
- [9] 杨临泽. 水稻根系分泌物2-脱氧麦根酸(DMA)对根际及根内微生物群落组成的影响. 杭州:浙江大学, 2023
Yang L Z. Effects of DMA from rice root exudates on rhizosphere and endosphere microbial community composition. Hangzhou: Zhejiang University, 2023
- [10] Johnson A A, Kyriacou B, Callahan D L, Carruthers L, Stangoulis J, Lombi E, Tester M. Constitutive overexpression of the *OsNAS* gene family reveals single-gene strategies for effective iron-and zinc-biofortification of rice endosperm. *PLoS ONE*, 2011, 6(9): e24476
- [11] Lee S, Kim S A, Lee J, Guerinot M L. Zinc deficiency-inducible *OsZIP8* encodes a plasma membrane-localized zinc transporter in rice. *Molecules and Cells*, 2010, 29(6): 551-558
- [12] 张现伟, 杨莉, 张涛, 蒋开锋, 王贵学, 郑家奎, 倪先林, 田翠, 曹应江. 水稻籽粒锌含量的QTL定位. *植物学报*, 2009, 44(5): 594-600
Zhang X W, Yang L, Zhang T, Jiang K F, Wang G X, Zheng J K, Ni X L, Tian C, Cao Y J. QTL mapping for zinc content in rice grains. *Bulletin of Botany*, 2009, 44(5): 594-600
- [13] 朱鸿宇, 王盛, 张月, 林晗, 路梅, 吴先美, 李三峰, 朱旭东, 饶玉春, 王跃星. 水稻籽粒砷、铜、铁、汞、锌含量QTL挖掘及候选基因分析. *中国科学: 生命科学*, 2020, 50(6): 623-632
Zhu H Y, Wang S, Zhang Y, Lin H, Lu M, Wu X M, Li S F, Zhu X D, Rao Y C, Wang Y X. QTL excavation and analysis of candidate genes in contents of As, Cu, Fe, Hg and Zn in rice grain. *Scientia Sinica: Vitae*, 2020, 50(6): 623-632
- [14] Ashmit Kumar. 水稻籽粒锌含量的全基因组关联分析及候选基因验证. 北京:中国农业科学院, 2021
Ashmit K. Genome-wide association analysis of Zn content in rice grains and validation of candidate genes. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021
- [15] Descalzo-Empleo G I, Noraziyah A A S, Navea I P, Chung C, Dwiyantri M S, Labios R J D, Ikmal A M, Juanillas V M, Inabangan-Asilo M A, Amparado A, Reinke R, Cruz C M V, Chin J H, Swamy B P M. Genetic dissection of grain nutritional traits and leaf blight resistance in rice. *Genes (Basel)*, 2019, 10(1):30
- [16] Korte A, Farlow A. The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: A review. *Plant Methods*, 2013, 9(1): 29
- [17] Li Y, Liang J, Zeng X Z, Guo H, Luo Y W, Philip Kear, Zhang S M, Zhu Z T. Genome-wide analysis of MYB gene family in potato provides insights into tissue-specific regulation of anthocyanin biosynthesis. *Horticultural Plant Journal*, 2021, 7(2): 129-141
- [18] 朱容. 水稻再生季分蘖能力的QTL定位及候选基因分析. 武汉:长江大学, 2023
Zhu R. QTL mapping and candidate gene analysis of tillering ability in rice ratoon season. Wuhan: Yangtze University, 2023
- [19] 马伟, 孙志勇, 刘阳, 徐强, 杨小丽, 陈思怡, 李培富. 西北早粳稻核心种质资源蛋白质含量全基因组关联分析. *种子*, 2023, 24(5): 1277-1290
Ma W, Sun Z Y, Liu Y, Xu Q, Yang X L, Chen S Y, Li P F. Genome-wide association analysis of protein content of core germplasm resources of northwest early japonica rice. *Seed*, 2023, 24(5): 1277-1290
- [20] 杜怀东, 刘晓刚, 刘阳, 王纪元, 宋佳伟, 孙志勇, 马伟, 陈思怡, 杨小丽, 田蕾, 李培富. 粳稻种质资源产量性状和籽粒矿质营养品质综合评价. *植物遗传资源学报*, 2023, 24(5): 1277-1290
Du H D, Liu X G, Liu Y, Wang J Y, Song J W, Sun Z Y, Ma W, Chen S Y, Yang X L, Tian L, Li P F. Comprehensive evaluation of yield traits and seed mineral nutrient quality of japonica rice germplasm resources. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, 24(5): 1277-1290
- [21] 薛欣月. 宁夏水稻地方品种籽粒锌含量qZn7位点的候选基因分析及分子标记辅助选择. 银川:宁夏大学, 2022
Xue X Y. Analysis of candidate genes and molecular marker assisted selection at the qZn7 locus of zinc content in ningxia rice landraces. Yinchuan: Ningxia University, 2022
- [22] 孙铭优, 吴照晨, 王斌, 王婷婷, 李雪明, 宋佳露, 刘鹏飞, 刘西莉. ABC转运蛋白及其相关的多药抗性研究现状. *植物保护学报*, 2022, 49(1): 374-382
Sun M Y, Wu Z C, Wang B, Wang T T, Li X M, Song J L, Liu P F, Liu X L. Research status of ATP-binding cassette transporters and related multidrug resistance. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49(1): 374-382
- [23] 陈道波, 王教瑜, 肖琛闻, 王艳丽, 孙国昌. ABC转运蛋白结构及在植物病原真菌中的功能研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2021, 48(3): 309-316
Chen D B, Wan J Y, Xiao C W, Wang Y L, Sun G C. Research progress in structure of ABC transporters and their function in pathogenic fungi. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2021, 48(3): 309-316
- [24] 陈孟洁. ABC转运蛋白在水稻籽粒微量元素积累中的作用初步研究. 武汉:华中农业大学, 2023
Chen M J. Preliminary study on the role of ABC transporters in the accumulation of trace elements in rice grains. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023
- [25] 聂智毅, 李波, 白瑞璞, 黎瑜. 橡胶树一个胶乳高表达MDR

- 型 ABC 转运蛋白的克隆与表达研究. 中国农学通报, 2011, 27(12): 181-186
- Nie Z Y, Li B, Bai R P, Li Y. Cloning and expression analysis of a MDR-type ABC transporter abundant in rubber tree latex. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(12): 181-186
- [26] Yokosho K, Yamaji N, Fujii-Kashino M, Ma J F. Functional analysis of a MATE gene *OsFRDL2* revealed its involvement in Al-induced secretion of citrate, but a lower contribution to Al tolerance in rice. Plant and Cell Physiology, 2016, 57(5): 976-985
- [27] Omote H, Hiasa M, Matsumoto T, Otsuka M, Moriyama Y. The MATE proteins as fundamental transporters of metabolic and xenobiotic organic cations. Trends in Pharmacological Sciences, 2006, 27(11): 587-593
- [28] 张嘉, 李启东, 李翠, 王庆海, 侯新村, 赵春桥, 李树和, 郭强. 植物 MATE 转运蛋白研究进展. 植物学报, 2023, 58(3): 461-474
- Zhang J, Li Q D, Li C, Wang Q H, Hou X C, Zhao C S, Li S H, Guo Q. Research progress on MATE transporters in plants. Bulletin of Botany, 2023, 58(3): 461-474
- [29] Yokosho K, Yamaji N, Ueno D, Mitani N, Ma J F. *OsFRDL1* is a citrate transporter required for efficient translocation of iron in rice. Plant Physiology, 2009, 149(1): 297-305
- [30] Wu T Y, Gruissem W, Bhullar N K. Facilitated citrate-dependent iron translocation increases rice endosperm iron and zinc concentrations. Plant Science, 2018, 270: 13-22
- [31] 李洪有, 钟长春, 蔡芳, 霍冬敖, 张晓娜, 陈庆富. 甜莽柠檬酸转运蛋白基因 *FeFRD3* 的克隆及表达分析. 西北植物学报, 2018, 38(3): 409-415
- Li H Y, Zhong C C, Cai F, Huo D A, Zhang X N, Chen Q F. Cloning and expression analysis of *FeFRD3* citrate efflux transporter gene in *Fagopyrum esculentum*. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2018, 38(3): 409-415
- [32] Min X, Jin X, Liu W, Wei X, Zhang Z, Ndayambaza B, Wang Y. Transcriptome-wide characterization and functional analysis of MATE transporters in response to aluminum toxicity in *Medicago sativa* L. PeerJ, 2019, 7:e6302
- [33] Zhu H, Wu J, Jiang Y, Jin J, Zhou W, Wang Y, Han G, Zhao Y, Cheng B. Genomewide analysis of MATE-type gene family in maize reveals microsynteny and their expression patterns under aluminum treatment. Journal of Genetics, 2016, 95(3): 691-704
- [34] Wang P, Yu W, Zhang J, Rengel Z, Xu J, Han Q, Chen L, Li K, Yu Y, Chen Q. Auxin enhances aluminium-induced citrate exudation through upregulation of GmMATE and activation of the plasma membrane H^+ -ATPase in soybean roots. Annals of Botany, 2016, 118(5): 933-940
- [35] 张慧玲, 张耀艺, 彭清清, 杨静, 倪祥银, 吴福忠. 中亚热带同质园不同生活型树种微量元素重吸收效率的差异. 植物生态学报, 2023, 47(7): 978-987
- Zhang H L, Zhang Y Q, Peng Q Q, Yang J, Ni X Y, Wu F Z. Variations of trace-elements resorption efficiency in leaves of different tree species as affected by life forms in a mid-subtropical common arden. Chinese Journal of Plant Ecology, 2023, 47(7): 978-987
- [36] 柳聚阁. 铝毒胁迫下大豆根部的生理和表达谱特征及耐铝毒相关 MATE 基因的功能分析. 南京: 南京农业大学, 2020
- Liu J G. Characteristics of physiology and expression profiling of soybean roots under aluminum toxicity and functional study of the MATE gene related to aluminum tolerance. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020