



植物遗传资源学报

Journal of Plant Genetic Resources

ISSN 1672-1810, CN 11-4996/S

《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目： 基于高密度遗传图谱定位水稻抽穗期耐热性 QTL
作者： 刘进, 周慧颖, 马小定, 孟冰欣, 崔迪, 胡佳晓, 涂夯, 余丽琴, 韩龙植, 黎毛毛
DOI: 10.13430/j.cnki.jpgr.20241007002
收稿日期: 2024-10-07
网络首发日期: 2024-11-12
引用格式: 刘进, 周慧颖, 马小定, 孟冰欣, 崔迪, 胡佳晓, 涂夯, 余丽琴, 韩龙植, 黎毛毛. 基于高密度遗传图谱定位水稻抽穗期耐热性 QTL[J/OL]. 植物遗传资源学报. <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20241007002>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

基于高密度遗传图谱定位水稻抽穗期耐热性 QTL

刘进¹, 周慧颖¹, 马小定², 孟冰欣¹, 崔迪², 胡佳晓¹, 涂旻¹, 余丽琴¹, 韩龙植², 黎毛毛^{1*}

(1.江西省农业科学院水稻研究所/水稻国家工程研究中心(南昌)/江西省农作物种质资源研究中心, 南昌 330200; 2.中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 随着全球气候变暖日益加剧, 高温严重威胁水稻生产和粮食安全, 发掘耐热基因、培育耐高温新品种是应对高温危害的关键途径之一。以热敏感品种周南稻与耐热品种赣早籼 58 号杂交构建的 RIL 群体为材料, 利用极端自然高温鉴定水稻抽穗期耐热性, 基于高密度遗传图谱鉴定抽穗期耐热相关的 QTL。高温胁迫下 RIL 群体结实率显著降低, 不同家系高温结实率存在较大变异, RIL 群体高温结实率呈现连续的近似正态分布, 高温结实率与对照结实率、耐热系数呈极显著相关; 检测到 6 个调控对照环境颖花数、实粒数和结实率的 QTL, 检测到 5 个耐热相关 QTL, 分别为 *qHTSF4*、*qHTSFII4*、*qHTC2*、*qHTC4* 和 *qHTC6*, 其中 *qHTSF14*、*qHTSFII4* 和 *qHTC4* 位于 4 号染色体相同区域, 是调控耐热性状的主效 QTL 簇 *qHTH4*; 利用高密度遗传图谱、极端家系基因型及生物信息学确定 *qHTC2*、*qHTH4* 和 *qHTC6* 具有调控耐热性的功能且存在累加效应, 聚合 2 个以上主效 QTL 的 RIL 株系耐热性显著增强, 在 3 个主效 QTL 目标区域筛选到 14 个调控生长发育和抗逆响应相关的候选基因, 这为水稻耐热遗传改良和关键基因克隆及功能解析奠定了基础。

关键词: 水稻; 高密度遗传图谱; 耐热性; QTL 定位; 候选基因

QTL Mapping for Heat Tolerance at Heading Stage Based on High Density Genetic Maps in Rice (*Oryza sativa* L.)

LIU Jin¹, ZHOU Huiying¹, MA Xiaoding², MENG Bingxin¹, CUI Di², HU Jiexiao¹, TU Hang¹, YU Liqin¹, HAN Longzhi², LI Maomao^{1*}

(1. Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences/National Engineering Laboratory for Rice (Nanchang)/Research Center of Jiangxi Crop Germplasm Resources, Nanchang 330200; 2. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract With the increasing global warming, high temperature seriously threatens rice production and food security. Identifying heat-tolerant genes and cultivating new heat-resistant varieties are crucial approaches to deal with the harm of high temperature. A set of RIL population, derived from the cross between the heat-sensitive variety Junambyeo(JNB) and the strong heat-tolerant variety Ganzaoxian58(GZX58), identified the heat tolerance related traits and QTL at heading stage under extreme natural high-temperature conditions based on high-density genetic map. Under high-temperature stress, seed setting rate was significantly reduced, which is significantly correlated with the control seed setting rate and heat resistance coefficient. The RIL population's seed-setting rates under high temperature showed a continuous and approximately normal distribution, exhibiting highly significant correlations with control seed-setting rates and heat tolerance coefficients. Six QTL were detected for spikelet number, filled grain number and seed setting rate under control environment, five heat tolerance QTL were detected under high temperature stress, including *qHTSF4*, *qHTSFII4*, *qHTC2*, *qHTC4* and *qHTC6*, among these QTLs *qHTSF14*, *qHTSFII4* and *qHTC4* were located in the same chromosome region, forming a major QTL cluster *qHTH4*. Utilizing high-density genetic map, extreme lines genotype and bioinformatics, it was confirmed that *qHTC2*, *qHTH4* and *qHTC6* function in regulating heat tolerance and had additive effects, in here, the RIL lines that aggregated more than two major QTL had significantly enhanced heat resistance, and then 14 directly related gene were screened in the key QTL mapping target regions, which laid the foundation for the genetic improvement of heat tolerance and molecular mechanism analysis of key genes in rice.

Key words: rice; high-density genetic map; heat tolerance; QTL mapping; candidate gene

收稿日期: 2024-10-07

第一作者研究方向为水稻种质资源鉴定与创新利用, E-mail: riceliujin@163.com

通信作者: 黎毛毛, 研究方向为作物种质资源保护与鉴定评价, E-mail: Lmm3056@163.com

基金项目: 江西省重大科技研发专项项目(20232ACF01001); 江西现代农业科研协同创新专项(JXXTCXQN202205); 江西省自然科学基金项目(20232BAB205036); 东北粳稻遗传改良与优质高效生产省部共建协同创新中心开放课题(KF2022-09)资助

Foundation projects: The major Science and Technology Research and Development Special Project of Jiangxi Province (20232ACF01001); the Collaborative Innovation Special Project of Jiangxi Modern Agricultural Research (JXXTCXQN202205); the Natural Science Foundation of Jiangxi Province (20232BAB205036); the Open Project of Collaborative Innovation Center of Genetic Improvement and High-Quality and Efficient Production of Japonica Rice in Northeast China by the Provincial and Ministerial Co-construction (KF2022-09)

受温室气体排放不断增加和人类活动的影响,全球气候变暖加剧,2011-2020 年全球地表平均温度比 1850-1900 年期间升高了 1.09℃,其中 2003-2012 年平均气温上升 0.1℃,已突破每十年升温 0.1℃的上限阈值(IPCC, 2021)。随着全球气候变暖,我国长江流域夏季遭遇高温热害机率日益增加,高温严重影响我国水稻等农作物的安全生产^[1-3]。水稻起源于低纬度区域,喜温不耐热,当外界气温超过其生长发育上限温度将危害植株生长发育、产量和品质的形成^[4-6]。全球气候变暖、高温热害频发背景下,鉴定耐热性种质是培育耐高温新品种并减轻高温危害的关键,对保障国家粮食安全具有举足轻重的作用^[7-8]。

水稻耐热性是典型数量性状,耐热性受多基因、环境及互作效应共同决定。近年来,有关水稻耐热性遗传研究较多,鉴定了一批耐热性 QTL,并精细定位或克隆了少数几个基因,水稻耐热性调控分子机制已取得较好的进展^[8-10]。Ye 等^[11]利用 IR64/N22 杂交衍生的 F₂ 和 BC₁F₁ 群体检测到 8 个结实率相关的 QTL,其中主效 QTL *qHTSF1.1* 和 *qHTSF4.1* 具有较高的表型贡献,随后精细定位并验证了 *qHTSF4.1* 调控耐热性的功能;曹志斌等^[12]以高温结实率为性状检测到一个抽穗扬花期耐热性 QTL,并利用次级群体将 *qHTH5* 锁定在 RM592~RM17921 标记之间,物理距离为 304.2 kb;郑剑等^[13]构建了一张含 140 个 SSR 标记的遗传图谱,共检测 3 个耐热相关 QTL,其中 *qHT4* 贡献率达 39.07%,是调控耐热性关键位点。以往水稻耐热 QTL/基因定位多依赖于 SSR、Indel 等低密度遗传图谱,存在遗传标记少、覆盖度低的缺陷;虽然已鉴定多个水稻耐热性 QTL,但发掘主效 QTL 的能力受限且置信区间较大,在高效快速获取目标区域关键候选基因等方面仍存在明显不足,全基因组测序构建高密度遗传图谱在关键 QTL 发掘及目标基因筛选中具有明显的优势^[14-16]。本研究以周南稻(热敏感)和赣早籼 58 号(耐热)杂交衍生 RIL 群体为试验材料,基于高密度遗传图谱,利用极端自然高温鉴定耐热主效 QTL 并筛选候选基因,以为水稻耐高温遗传改良提供基因资源。

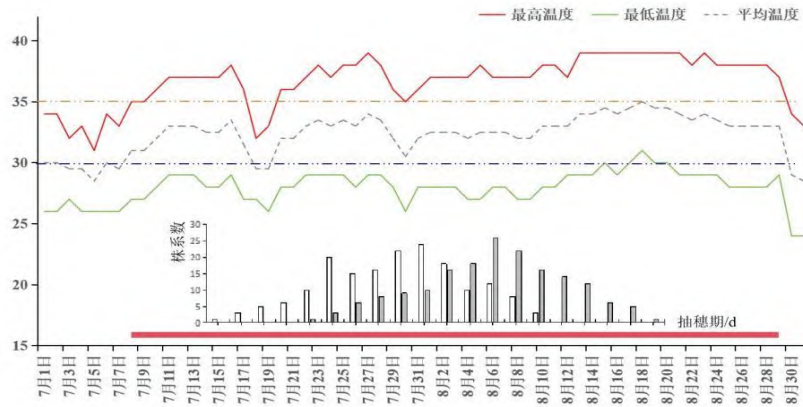
1 材料与方法

1.1 试验材料及田间试验

以热敏感品种周南稻(Junambyeo, JNB)和耐热品种赣早籼 58 号(Ganzaoxian58, GZX58)杂交获取 F₁, F₂ 代开始自交并利用单粒传形成稳定的 F₈, 构建重组自交系(Recombinant inbred lines, RIL)群体。大田试验于 2022 年在宜春市江西省农业科学院高安综合试验基地进行,亲本和 173 个家系材料均分为 I 期(5 月 8 日)、II 期(5 月 20 日)播种,25 d 秧龄移栽,每个家系栽 3 行,每行 8 穴,每穴 1 苗,行株距为 20 cm×16.5 cm,其它田间管理同当地生产田。

1.2 高温胁迫处理及耐热性鉴定评价

依据 2012-2021 年气象数据整理,预测江西省宜春市每年 8 月 1 日~8 月 20 日最高气温将超过 35℃。通过分期播种(I 期、II 期)使亲本和 RIL 群体各家系抽穗-开花期(7~10 天)介于高温时段,始穗期每个家系选取 5 个植株,每株选 3~5 个稻穗挂牌,成熟后每个株系收获 10 个挂牌典型高温危害稻穗(目测结实率偏低稻穗),测定颖花数和实粒数,计算结实率和耐热系数。2022 年 I 期播种的 RIL 群体家系抽穗日期分布于 7 月 15 日至 8 月 10 日,II 期播种的 RIL 群体抽穗日期分布于 7 月 23 日至 8 月 18 日。气象数据表明,2022 年为极端高温年份,7 月 9 日至 8 月 30 日最高气温均超过 35℃且平均气温超过 30℃,除 7 月 17-18 日强降雨高温危害减弱外,高温危害持续 40 天(图 1,表 1)。为探究高温危害的稳定性,将 I 期、II 期视为 2 个独立试验,并以 2022 年晚稻 RIL 群体的颖花数、实粒数和结实率作为对照,亲本及 RIL 群体抽穗期在 9 月 5-20 日之间,日最高气温均值低于 32℃,无高温胁迫;2023 年田间材料种植管理同 2022 年,抽穗期亲本和 RIL 群体每份材料挖取 3-5 株移入温棚进行高温处理,高温胁迫处理 7 天,日最高温度在 40~45℃,日最低气温在 29~32℃。耐热系数=(高温结实率 I/对照结实率+高温结实率 II/对照结实率)/2,以耐热系数为指标判定亲本及 RIL 群体家系耐热性,2 次重复取均值作为统计单元。



白色条框和灰色条框分别为 I 期和 II 期播种 RIL 抽穗日期分布情况

White and gray bar boxes show the distribution of RIL heading date for first and second sowing time, respectively

图 1 2022 年试验环境水稻抽穗-开花期温度统计

Fig.1 Statistical analysis of the temperature at heading-flowering in 2022 year

表 1 2022-2023 年抽穗期试验基地自然高温环境气温情况

Table 1 The temperature of the test base at heading date in 2022-2023 years

年份 Years	月份 Months	最低气温范围 (°C) Range of min temperature	最低气温均值 (°C) Average min temperature	最高气温范围 (°C) Range of max temperature	最高气温均值 (°C) Average max temperature	超过 35°C 日数 (天) Number of days exceeding 35°C
2022	7 月	26.0~29.0	27.6	29.0~39.0	35.5	22.0
	8 月	23.0~31.0	28.2	31.0~39.0	37.4	29.0
	9 月 (CK)	21.0~26.0	23.4	28.0~36.0	33.1	3.0
2023	7 月	25.0~29.0	27.2	33.0~38.0	35.1	15.0
	8 月	22.0~29.0	26.0	30.0~38.0	34.4	16.0

1.3 高密度遗传图谱构建与 QTL 分析

全基因组测序获取双亲及 RIL 群体家系基因型，测序平均深度为 8.65x，共获取 318,339 个高质量多态性 SNP。提取 RIL 群体家系标记基因型，采用滑动窗口策略将多态性 SNP 转换成 3321 个 Bin 标记，图谱覆盖基因组 1703.09 cM，染色体遗传距离均值为 195.3 cM，平均每条染色体标记数为 276.8 个，标记间遗传距离和物理距离均值分别为 0.51 cM 和 106 kb (图 2)，遗传图谱构建参考刘进等^[16]。

采用 Wang 等^[17]QTL ICI Mapping 4.2 软件完备区间作图 (ICIM) 方法定位加性效应 QTL，LOD 阈值设为 2.50，当实际求得 LOD 值大于该阈值时判定该区域存在 1 个 QTL，并估算 QTL 加性效应和表型贡献率；QTL 命名方法遵循 McCouch 等^[18]原则。

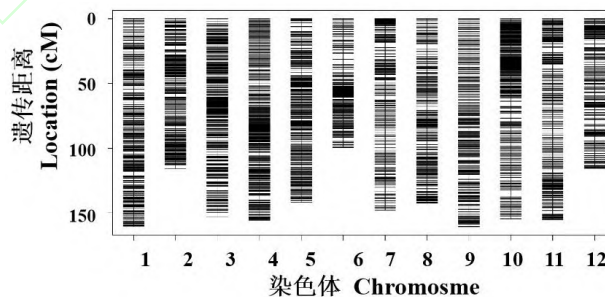


图 2 水稻 RIL 群体高密度 Bin 标记染色体分布

Fig. 2 Construction of the high-density Bin marker on the chromosome of the RIL population

1.4 主效 QTL 鉴定及候选基因筛选

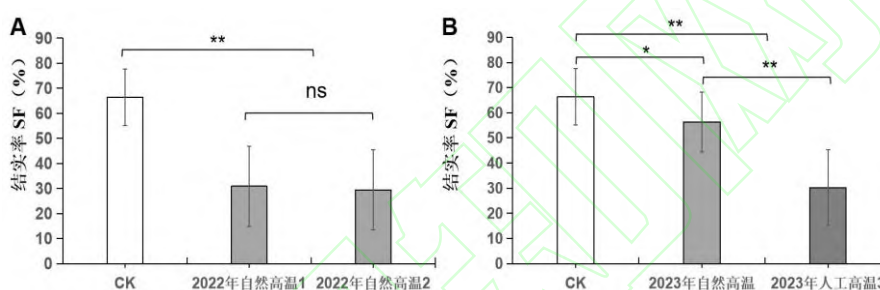
为验证主效 QTL 鉴定结果的可靠性和准确性，利用姜树坤等^[19]“选择作图”策略验证主效 QTL 功能

与效应。首先依据目标主效 QTL 区域基因型对其他 QTL 进行非增效基因固定，然后在 RIL 群体中筛选目标 QTL 区域关键重组单株，验证目标 QTL 功能和累加效应，同时利用生物信息学对耐热性关键 QTL 区域的注释基因进行功能分析，以期筛选调控水稻耐热性的目标基因。

2 结果与分析

2.1 水稻 RIL 群体耐热性表型鉴定

高温胁迫处理 RIL 群体家系结实率显著降低，其中 2022 年极端自然高温环境 RIL 群体家系结实率显著降低，极端自然高温 I 和 II 处理结实率差异较小；2023 年自然高温、人工高温结实率显著降低，人工高温胁迫结实率降幅大于自然高温处理（图 3）。对照环境下，双亲颖花数、实粒数和结实率均存在极显著，RIL 群体各家系颖花数、实粒数和结实率呈连续的近似正态分布；高温胁迫环境亲本和 RIL 群体家系的结实率显著下降，赣早籼 58 号结实率降幅较小，耐热系数显著高于周南稻，赣早籼 58 耐热性强于周南稻；RIL 群体不同家系高温结实率和耐热系数存在较大变幅，峰度值和偏度值接近于 1.00，表现为近似连续的正态分布。水稻抽穗期耐热性是数量性状，受多基因调控，符合 QTL 作图要求（表 2，图 4）。



A: 表示对照环境、2022 年极端自然高温 I 和极端自然高温 II 结实率；B 表示对照环境、2023 年自然高温和人工高温结实率。
A: represents the spikelet fertility of the control environment, extreme natural high temperature I and II in 2022 year; B represents the spikelet fertility of the control environment, natural high temperature and artificial high temperature in 2023 year, respectively

图 3 不同温度处理下水稻 RIL 群体 171 个家系结实率情况

Fig.3 The spikelet fertility of 171 lines from RIL population at different temperature environments

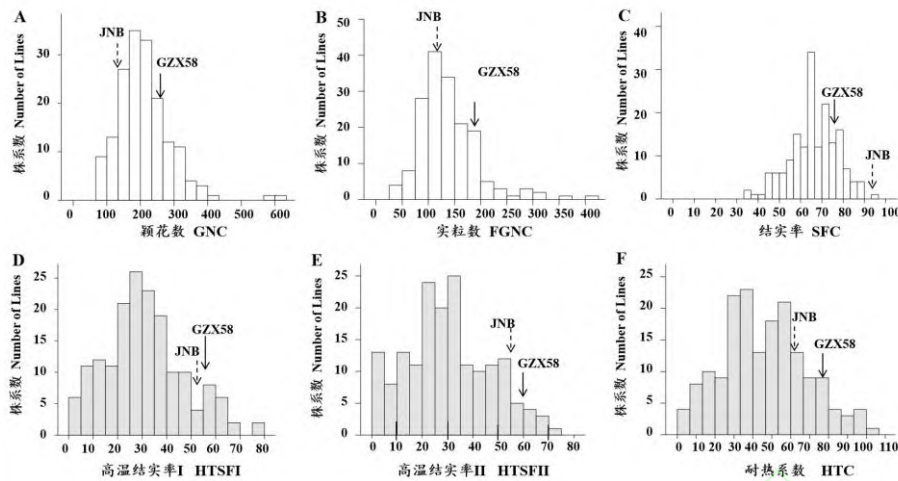
表 2 亲本和 RIL 群体水稻抽穗期耐热性表型分析

Table 2 Phenotype of heat tolerance from the parents and RIL populations at heading stage

性状 Traits	亲本 Parents		均值±标准差 Mean±SD	RIL 群体 RIL population		
	周南稻 JNB	赣早籼 58 GZX58		变幅 Range	峰度 Skewness	偏度 Kurtosis
对照颖花数 GNC (粒/穗)	135.70±16.40	230.50±24.00**	211.66±81.21	68.58~633.33	1.88	1.61
对照实粒数 SNC (粒/穗)	128.00±12.00	174.25±15.50**	137.28±56.91	36.50~400.00	1.79	1.45
对照结实率 SFC (%)	94.30±4.20	75.60±9.50**	66.32±11.24	33.55~94.67	0.10	-0.28
高温结实率 I HTSFI (%)	52.88±5.50	54.33±5.30*	31.01±16.09	0.34~79.55	0.02	0.48
高温结实率 II HTSFII (%)	55.57±4.50	59.70±6.50*	29.73±16.40	0.88~73.58	-0.47	0.32
耐热系数 HTC	0.62±0.06	0.75±0.05**	0.46±0.20	0.03~1.03	-0.32	0.30

颖花数, GNC; 实粒数, FGNC; 结实率, SFC; 高温结实率 I, HTSFI; 高温结实率 II, HTSFII; 综合耐热系数, HTC, *和**分别表示 0.05 和 0.01 显著和极显著差异

Grain number under control, GNC; filled grain number under control, FGNC; spikelet fertilit yunder control, SFC; spikelet fertility under high temperature I, HTSFI; spikelet fertility under high temperature II, HTSFII; heat tolerance coefficient, HTC; * and ** represent for significant and highly significant differences at the 0.05 and 0.01 level, respectively



A-C: 分别表示对照环境下颖花数、实粒数和结实率; D-E 分别表示极端自然高温环境高温结实率 I 和高温结实率 II, F 表示耐热系数。

A-C: indicated that the grain number, filled grain number and spikelet fertility of the parents and RIL population lines under the control; D and E indicate the high temperature spikelet fertility I and II, F indicated the heat tolerance coefficient, respectively.

图 4 RIL 群体抽穗期耐热相关表型分布情况

Fig.4 Phenotype distribution of heat tolerance traits at heading stage for RIL populations

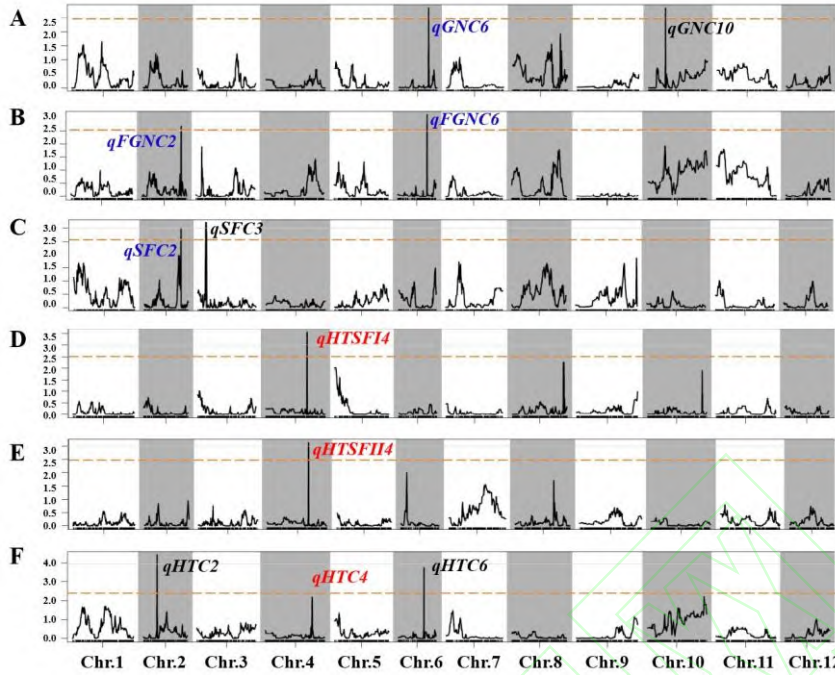
2.2 耐热主效 QTL 鉴定及聚合效应分析

对照环境检测到 6 个颖花数和结实相关 QTL, 分布于第 2、3、6 和 10 染色体上, LOD 值变异范围为 2.67~3.20, 表型贡献率变异范围为 4.80%~9.07%, 加性效应值介于 -24.73%~3.14% 之间 (表 3、图 5)。其中, *qGNC6* 和 *qFGNC6* 位于 6 号染色体 Block10295-10302 标记间, 物理距离约为 104.24 kb, 是调控颖花数和实粒数的主效 QTL, 增效等位基因来自大穗亲本赣早籼 58 号; *qFGN2* 和 *qSFC2* 位于第 2 染色体相邻区域, 该位点是调控实粒数和结实率性状的主效位点, 增效等位基因来自赣早籼 58 号。检测到 5 个高温结实率相关的 QTL, 分布于第 2、4 和 6 染色体, 其中 *qHTSFI4*、*qHTSFII4* 和 *qHTC4* 成簇分布在 4 号染色体 Block7164-7181 标记之间, 贡献率和效应值均较大, 是调控高温结实率和耐热系数的主效 QTL 簇, 来源于赣早籼 58 的等位基因可显著调控高温结实率和耐热系数; *qHTC2* 和 *qHTC6* 分别被定位 2 号染色体 Block3417~3418 和 6 号染色体 Block10246~10249 标记之间, 增效等位基因来自赣早籼 58, 显著提升水稻耐热性能。

表 3 水稻抽穗期耐热性 QTL 分析

Table 3 Putative QTLs for heat tolerance were detected at heading stage

性状 Trait	位点 Locus	标记 Marker	LOD 值 LOD value	贡献率 PVE (%)	加性效应 (%) Additive effect	基因来源 Gene source	物理距离 Physical distance
对照颖花数 GNC	<i>qGNC6</i>	Block10298~10302	2.86	6.42	20.81	GXZ58	55.47 kb
	<i>qGNC10</i>	Block15171~15223	2.84	9.07	24.73	GXZ58	445.90 kb
对照实粒数 FGNC	<i>qFGNC2</i>	Block4300~4307	2.67	5.29	13.24	GXZ58	177.42 kb
	<i>qFGNC6</i>	Block10295~10298	3.12	6.93	15.15	GXZ58	48.77 kb
对照结实率 SFC	<i>qSFC2</i>	Block4211~4226	2.98	4.80	2.49	GXZ58	304.64 kb
	<i>qSFC3</i>	Block4760~4764	3.20	7.60	-3.14	JNB	53.29 kb
高温结实率 I HTSFI	<i>qHTSFI4</i>	Block7164~7181	3.46	5.86	4.01	GXZ58	272.5 kb
高温结实率 II HTSFII	<i>qHTSFII4</i>	Block7164~7181	3.12	8.99	4.88	GXZ58	272.5 kb
耐热系数 HTC	<i>qHTC2</i>	Block3417~3418	4.42	8.86	20.49	GXZ58	69.2 kb
	<i>qHTC4</i>	Block7164~7181	2.38	2.85	11.62	GXZ58	272.5 kb
	<i>qHTC6</i>	Block10246~10249	3.74	6.70	17.82	GXZ58	151.4 kb

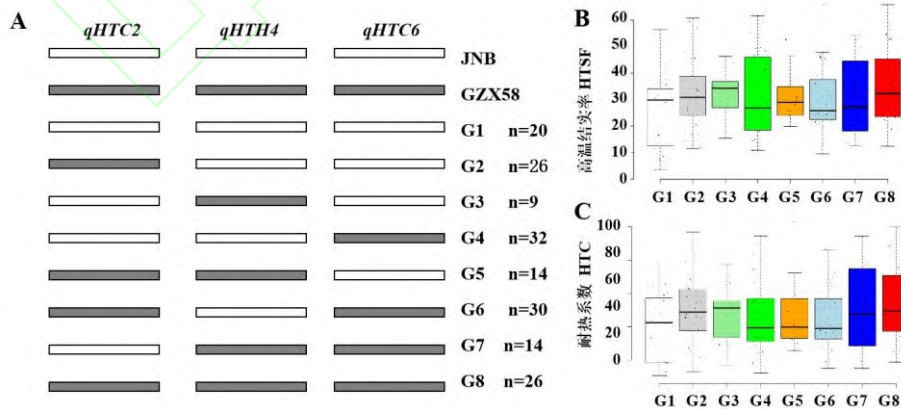


A-C: 分别为对照环境颖花数、实粒数和结实率 QTL 分布, D-E: 分别为高温胁迫处理 I 和 II 结实率 QTL 分布, F 为耐热系数 QTL 分布
A-C: indicated that the grain number, setting grain number and spikelet fertility QTL distribution under control environment, D-E: indicate the QTL of high temperature spikelet fertility I and II, F: indicated the QTL of heat tolerance coefficient, respectively

图 5 水稻抽穗期耐热性 QTL 染色体分布

Fig.5 Chromosome location of putative QTL for heat tolerance at heading stage

利用“选择作图”策略鉴定主效 QTL 的聚合效应, 不含耐热主效 QTL 的周南稻及 RIL 家系耐热性较差, 高温结实率、耐热系数均值分别为 26.32% 和 39.33%, 表现为热敏感; 同时含有 *qHTC2*、*qHTH4* 和 *qHTC6* 的赣早籼 58 号及 RIL 家系耐热性最强, 高温结实率、耐热系数均值分别为 34.51% 和 53.95%, 耐热性显著强于其它基因型家系, 表现为强耐热; 含有 3 个主效 QTL 中任一位点的家系高温结实率和耐热系数分别在 32.04%~32.50% 和 45.53%~49.25%, 耐热性明高于不含主效 QTL 簇的家系, 表现为中间型; 含有任意 2 个主效 QTL 的家系高温结实率均值和耐热系数均值高于不含或含单一主效 QTL 簇的家系, 表现出较强耐热性 (图 6)。这表明, 3 个主效 QTL 具有调控 RIL 群体家系耐热性的功能, 主效 QTL 聚合呈现明显累加效应, 随着主效 QTL 聚集数量的增加其耐热性显著增强, 含 2 个以上主效 QTL 的家系耐热性较强。



A: 依据主效 QTL *qHTC2*、*qHTH4* 和 *qHTC6* 区域标记将 RIL 群体家系分为 8 种基因型 G1-G8, n 表示该基因型家系数量; B: 表示不同基因型高温结实率; C: 表示不同基因型耐热系数比较

A: indicate that RIL lines divide to G1-G8 genotype, according to *qHTC2*, *qHTH4* and *qHTC6*; n represent to the number of lines from this genotype; B and C showed that the phenotype of high temperature SF and heat tolerance coefficient from these genotype, respectively

图 6 水稻抽穗期耐热主效 QTL 聚合效应和验证分析

Fig.6 Analysis of aggregation effect and verification of the major QTLs for heat tolerance at seedling stage in Rice

2.3 主效 QTL 目标区域关键基因筛选

利用 <https://rapdb.dna.affrc.go.jp> 和 <https://www.ricedata.cn/gene/> 网站在 3 个主效 QTL 目标区域搜索注释基因, 共发现 148 个注释基因, 其中 14 个候选基因可能参与生长发育、逆境响应 (表 4)。主效 QTL *qHTC2* 位于 2 号染色体 Block3417~3418 标记间 69.2 kb 内, 包含 13 个注释基因, 其中 5 个基因可能参与生长发育及抗逆响应: *LOC_Os02g32110* 编码一个外泌素家族蛋白结构域、*LOC_Os02g32120* 编码一个细胞色素 b-c1 复合物亚基、*LOC_Os02g32140* 编码一个 AP2 类转录因子、*LOC_Os02g32160* 编码一个 OsBON1 蛋白并依赖钙的脂质结合蛋白、*LOC_Os02g32200* 编码一个硫酯酶家族蛋白并参与激素信号传递和逆境适应, 而其它 7 个注释基因编码预测蛋白、转座子或反转座子蛋白及假定蛋白; 主效 QTL 簇 *qHTH4* (*qHTSF14*、*qHTSF114* 和 *qHTC4*) 位于 4 号染色体 Block7164~7182 标记间 272.5 kb 内, 包含 108 个注释基因, 其中 4 个基因可能参与生长发育和逆境胁迫响应: *LOC_Os04g35800* 编码一个锌指蛋白、*LOC_Os04g36040* 编码一个小肽转运蛋白 PTR2、*LOC_Os04g36054* 编码一个生长素应答因子、*LOC_Os04g36070* 编码一个 OsRR1 蛋白且参与逆境响应, 而其它 103 个基因编码预测蛋白、转座子或反转座子蛋白、F-box 等结构域蛋白及假定蛋白: *qHTC6* 位于 6 号染色体 Block10246~10249 标记间 151.4 kb 内, 包含 27 个注释基因, 其中 5 个候选基因可能参与生长发育和逆境胁迫响应: *LOC_Os06g34620/LOC_Os06g34640/LOC_Os06g34650* 串联编码 C3HC4 型锌指蛋白、*LOC_Os06g34830* 编码一个氨基酸转运家族蛋白 OsAAP、*LOC_Os06g34840* 编码一个蛋白酶抑制/脂质转运蛋白, 其它 22 个基因编码预测蛋白、转座子或反转座子蛋白、X8 结构域蛋白及假定蛋白。基于高密度遗传图谱有效将 3 个调控水稻耐热性主效 QTL 目标区域锁定在相对较小的区间, 并利用生物信息学在目标区域筛选到 14 个可能调控生长发育、逆境胁迫响应的关键基因。

表 4 主效 QTL 簇定位区间关键候选基因筛选分析

Table 4 Analysis of important candidate genes within the major QTL cluster

主效 QTL Major QTL	候选基因 Candidate gene	基因功能 Gene function
<i>qHTC2</i>	候选区域 18961014-19030194, 物理距离 69.20 kb, 含 13 个注释基因	
	<i>LOC_Os02g32110</i>	Exostosin family domain containing protein, 外泌素家族结构域蛋白
	<i>LOC_Os02g32120</i>	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske, mitochondrial precursor, 细胞色素 b-c1 复合物亚基, 线粒体前体
	<i>LOC_Os02g32140</i>	AP2 domain containing protein, AP2 类转录因子
	<i>LOC_Os02g32160</i>	Copine gene <i>OsBON1</i> , calcium-dependent lipid-binding protein, <i>OsBON1</i> 基因, 依赖钙的脂质结合蛋白
<i>qHTH4</i> (<i>qHTSF14/qHTSF114/qHTC4</i>)	<i>LOC_Os02g32200</i>	Thioesterase family protein, 硫酯酶家族蛋白
	候选区域 21834003-22086708, 物理距离 252.70 kb, 含 108 个注释基因	
	<i>LOC_Os04g35800</i>	Zinc finger CCCH domain-containing protein, 锌指蛋白结构域
	<i>LOC_Os04g36040</i>	Peptide transporter PTR2, 小肽转运蛋白 PTR2
<i>qHTC6</i>	<i>LOC_Os04g36054</i>	Auxin response factor 9, 生长素应答因子
	<i>LOC_Os04g36070</i>	A-type response regulator <i>OsRR1</i> , A 型响应调节因子
	候选区域 20108296-20259658, 物理距离 151.40 kb, 含 27 个注释基因	
	<i>LOC_Os06g34620</i>	Zinc finger, C3HC4 type domain containing protein, C3HC4 型锌指蛋白
	<i>LOC_Os06g34640</i>	Zinc finger, C3HC4 type domain containing protein, C3HC4 型锌指蛋白
<i>qHTC6</i>	<i>LOC_Os06g34650</i>	Zinc finger, C3HC4 type domain containing protein, C3HC4 型锌指蛋白
	<i>LOC_Os06g34830</i>	Amino acid permease family protein, 氨基酸转运家族蛋白 OsAAP
	<i>LOC_Os06g34840</i>	LTPL5 protease inhibitor/LTP family protein precursor, 蛋白酶抑制、脂质转运蛋白

为阐明主效 QTL *qHTH4* 定位区间候选基因功能,对目标区域基因功能进行分类分析。研究表明,*qHTH4* 定位区域候选基因可分成 18 个类型(表 5),主要聚集在转录调控、DNA 复制、重组修复、信号转导和能量代谢等类别;同时这些候选基因主要富集在花粉识别、DNA 转录调控、蛋白磷酸化、线粒体活力调控等调控通路。这表明,转录调控、信号转导、蛋白磷酸化修饰调控、线粒体能量代谢、花粉识别等基因可能是调控水稻耐热性的分子基础,这也为主效 QTL 定位目标区域关键候选基因的筛选提供理论基础。

表 5 主效 QTL *qHTH4* 定位区域注释基因功能分类

Table 5 Functional classification analysis of annotated genes for the major QTL *qHTH4* mapping regions

分类 Classification	功能类型 Function type	数量 Numbers
C1	预测基因, General function prediction only	18
C2	DNA 复制、重组及修复, Replication, recombination and repair	15
C3	信号转导途径, Signal transduction mechanisms	15
C4	转录调控, Transcription	14
C5	翻译蛋白修饰、调控及伴侣蛋白分子, Posttranslational modification, protein turnover, chaperones	11
C6	能量代谢, Energy production and conversion	11
C7	翻译、核糖体结构和生物发生, Translation, ribosomal structure and biogenesis	3
C8	细胞壁/膜/包膜生物发生, Cell wall/membrane/envelope biogenesis	3
C9	碳水化合物转运和代谢, Carbohydrate transport and metabolism	3
C10	辅酶转运和代谢, Coenzyme transport and metabolism	3
C11	脂质转运和代谢, Inorganic ion transport and metabolism	3
C12	细胞骨架, Cytoskeleton	2
C13	氨基酸转运和代谢, Amino acid transport and metabolism	2
C14	染色质结构和动力, Chromatin structure and dynamics	1
C15	细胞周期控制、细胞分裂、染色体分配, Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning	1
C16	防御机制, Defense mechanisms	1
C17	细胞内转运、分泌和囊泡转运, Intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport	1
C18	功能未知, Function unknown	1

3 讨论

3.1 水稻抽穗期耐热相关 QTL 定位

随着全球气候变暖日益加剧,高温危害已成为影响作物生长发育、产量和品质形成的瓶颈因素^[20-21],耐热种质和耐热基因的发掘与利用是应对高温危害的关键途径,已成为分子生物学和育种学的研究热点^[22-23]。目前,国内外研究者利用自然群体和遗传材料精细定位了 32 个耐热主效 QTL/基因,并克隆了 *TT1*、*TT2*、*TT3*、*HTH5* 等耐热基因^[9, 23]。尽管水稻耐热性优异种质鉴定筛选和基因发掘及利用已取得较大进展,但耐热性调控分子网络十分复杂,有关水稻耐热调控的机制与途径尚不清晰^[25-26]。Li 等^[27]鉴定到 5 个耐热性 QTL,并克隆了苗期耐热基因 *OsTT1*; Liu 等^[28]克隆了一个编码 E3 泛素连接酶的苗期耐热基因 *OsHTAS*,该基因诱导气孔关闭进而提高水稻耐热性; Wang 等^[29]克隆了一个编码 DEAD-BoxRNA 解旋酶的 *TOGR1*,该基因表达受高温胁迫诱导,调控细胞增殖和生长发育; Kan 等^[30]鉴定了一个编码 G 蛋白 γ 亚基的耐热基因 *TT2*,该基因功能缺失将增强水稻全生育期的耐热性, *TT2* 功能正常时植株表现为高温敏感; Zhang 等^[31]克隆耐高温基因 *TT3*,含 *TT3* 的非洲栽培稻 CG14 呈现强耐热性, *TT3* 基因内部存在相互拮抗的 *TT3.1* 和 *TT3.2*,且位于遗传上游 *TT3.1* 正调控耐热性。本研究利用热敏感周南稻与较耐热的赣早籼 58 号杂交构建 RIL 群体,构建高密度遗传图谱并利用极端自然高温鉴定耐热表型,共检测到 5 个控制水稻耐热性主效 QTL,分别为 *qHTC2*、*qHTSF14*、*qHTSF14*、*qHTC4* 和 *qHTC6*,同时聚合 2 个以上主效位点可以显著提高 RIL 群体家系耐热性;其中, *qHTC2* 与 Ravikiran 等^[32]发现的 *qSFht2* 染色体区域相近,具有较强调控耐热性的效

应, 该位点在不同环境下重复性较好, 可能是一个耐热主效 QTL; *qHTH4* 和 *qHTC6* 为新发现的主效 QTL, 其中 *qHTH4* 区域包含 *qHTSF14*、*qHTSF114* 和 *qHTC4* 三个 QTL, 其 LOD 值、贡献率和效应值较大, 与 Ye 等^[1]发现的 *qHTSF4.1* 位于相同染色体但不在相同区段, 是一个新的调控耐热性的主效 QTL 簇, 具有明显调控水稻耐热性的功能。

3.2 水稻抽穗期耐热候选基因发掘

以往传统 QTL 定位常采用 RFLP、SSR、InDel 等标记构建遗传图谱, 由于标记密度较低, 鉴定 QTL 数量少且定位区间较大, 影响目标基因的精细定位与克隆^[16, 33-34]。近年来, 随着全基因组测序技术的发展与完善, 基于高通量测序构建遗传图谱具有标记高密度、覆盖度好、高通量、省时省力等优势, 可快速精准锁定主效 QTL 区间及候选基因, 已成为快速高效定位主效 QTL 的关键技术^[35-36]。张健等^[33]利用构建的高密度遗传图谱检测出 5 个 QTL 簇 *qGS1*、*qGS2*、*qGS3-1*、*qGS3-2* 和 *qGS7*, 联合生物信息学基因功能注释、表达谱信息筛选确定 *qGS2*、*qGS3-1* 目标基因分别为 *LOC_Os02g42314* 和 *LOC_Os03g39020*; 董骥驰等^[37]利用高密度遗传图谱定位了 14 个抽穗期 QTL, 在稳定表达的 *qHD2.2* 目标区域筛选到 33 个注释基因, 其中 *LOC_Os02g46450*、*LOC_Os02g46710* 和 *LOC_Os02g46940* 功能相关且存在多个变异, 是调控抽穗期的关键候选基因; 赵凌等^[38]利用高密度遗传图谱检测到 19 个叶绿素含量 QTL, 其中 *qCHL2-1* 和 *qCHL5-1* 稳定表达, 最终将天冬氨酸氨基转移酶基因和叶面斑点蛋白基因确定为目标基因。高密度遗传图谱具有高效、精准定位和筛选主效 QTL 和目标基因的功能, 这将为分子标记辅助选择育种奠定良好的基础^[38-39]。本研究基于构建的高密度遗传图谱鉴定到 11 个主效 QTL, 目标 QTL 定位区段物理距离在 69.2-252.7 kb 范围, 利用生物信息学快速鉴定筛选多个关键候选基因, 这与已往利用传统方法构建遗传图谱并开展 QTL 定位的研究存在明显差异。本研究共鉴定到 5 个耐热性主效 QTL, 其中 *qHTC2* 被定位在 2 号染色体 69.2 kb (18961014-19030194 bp) 区域、*qHTH4* (*qHTC4*、*qHTSF14*、*qHTSF114*) 被定位在 4 号染色体 272.5 kb (21834003-22086708 bp) 区域、*qHTC6* 被定位在 6 号染色体 151.4 kb (20108296-20259658 bp) 区域, 目标区域共筛选出 148 个注释基因, 结合候选基因功能和主效 QTL 簇 *qHTH4* 候选基因分类及富集条目等信息, 共挑选出 14 个生长发育调控及逆境响应相关基因: *LOC_Os02g32110*、*LOC_Os02g32120*、*LOC_Os02g32140*、*LOC_Os02g32160*、*LOC_Os02g32200*、*LOC_Os04g36040*、*LOC_Os04g36054*、*LOC_Os04g36070*、*LOC_Os04g35800*、*LOC_Os06g34620*、*LOC_Os06g34640*、*LOC_Os06g34650*、*LOC_Os06g34830* 和 *LOC_Os06g34840*, 这些候选基因与耐热等抗逆性调控相关, 可能是调控水稻耐热性的关键因子, 研究为后续开展水稻耐热基因鉴定和分子机制研究奠定了基础。

4 结论

采用热敏感品种周南稻与耐热品种赣早粳 58 号杂交衍生的 RIL 群体为试验材料, 利用极端自然高温和高密度遗传图谱检测到 5 个抽穗期耐热性 QTL (*qHTSF4*、*qHTSF114*、*qHTC2*、*qHTC4* 和 *qHTC6*), 其中 *qHTSF14*、*qHTSF114* 和 *qHTC4* 形成调控耐热性的主效 QTL 簇 *qHTH4*; 利用高密度遗传图谱、极端家系基因型和生物信息学确定 *qHTC2*、*qHTH4* 和 *qHTC6* 具有调控耐热性的功能且存在累加效应, 聚合 2 个以上主效 QTL 的 RIL 株系耐热性显著增强, 在 3 个主效 QTL 目标区域筛选到 14 个调控生长发育和抗逆响应相关的候选基因, 为水稻耐热遗传改良和关键基因克隆及功能解析奠定了基础。

参考文献

- [1] 杨沈斌, 申双和, 赵小艳, 赵艳霞, 许吟隆, 王主玉, 刘娟, 张玮玮. 气候变化对长江中下游稻区水稻产量的影响. 作物学报, 2010, 36(9): 1519-1528
Yang S B, Shen S H, Zhao X Y, Zhao Y X, Xu Y L, Wang Z Y, Liu J, Zhang W W. Impacts of climate changes on rice production in the middle and lower reaches of the Yangtze River. *Acta Agronomica Sinica*, 2010, 36(9): 1519-1528
- [2] 王小波, 关攀峰, 辛明明, 汪永法, 陈西勇, 赵爱菊, 刘曼双, 李红霞, 张明义, 逯腊虎, 魏亦勤, 刘旺清, 张金波, 倪中福, 姚颖垠, 胡兆荣,

- 彭惠茹, 孙其信. 小麦种质资源耐热性评价. 中国农业科学, 2019, 52(23): 4191-4200
- Wang X B, Guan P F, Xin M M, Wang Y F, Chen X Y, Zhao A J, Liu M S, Li H X, Zhang M Y, Lu L H, Wei Y Q, Liu W Q, Zhang J B, Ni Z F, Yao Y Y, Hu Z R, Peng H R, Sun Q X. Evaluation of heat tolerance in wheat germplasm resources. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(23): 4191-4200
- [3] 江珊, 吴龙英, 赵宝生, 黄佳惠, 蒋宇喆, 焦元, 黄进. 植物耐受高温胁迫的分子机制研究进展. 中国农学通报, 2024, 40(9): 132-138
- Jiang S, Wu L Y, Zhao B S, Huang J H, Jiang Y Z, Jiao Y, Huang J. Molecular Mechanism of Heat Stress Tolerance in Plants: A Review. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2024, 40(9): 132-138
- [4] 刘鸣, 李玉花, 解莉楠. 水稻非生物胁迫相关 QTL 研究进展. 植物生理学报, 2013, 49(12): 1301-1308
- Liu M, Li Y H, Xie L N. Progress in QTL research for abiotic stress in rice. *Plant Physiology Journal*, 2013, 49(12): 1301-1308
- [5] 凌霄霞, 张作林, 翟景秋, 叶树春, 黄见良. 气候变化对中国水稻生产的影响研究进展. 作物学报, 2019, 45(3): 323-334
- Ling X X, Zhang Z L, Zhai J Q, Ye S C, Huang J L. A review for impacts of climate change on rice production in China. *Acta Agronomica Sinica*, 2019, 45(3): 323-334
- [6] 胡菊芳, 占龙飞, 谢远玉. 江西省近 60 年极端高温变化特征及其对水稻的影响. 湖北农业科学, 2022, 61(9): 27-32, 40
- Hu J F, Zhan L F, Xie Y Y. Variation characteristics of extreme high temperature in Jiangxi Province in recent 60 years and its impact on rice. *Hubei Agricultural Sciences*, 2022, 61(9): 27-32, 40
- [7] 刘刚, 夏快飞, 吴艳, 张明永, 张再君, 杨金松, 邱东峰. 水稻耐热新种质 R203 的创制与应用. 中国农业科学, 2023, 56(3): 405-415
- Liu G, Xia K F, Wu Y, Zhang M Y, Zhang Z J, Yang J S, Qiu D F. Breeding and application of a new thermo-tolerance rice germplasm R203. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(3): 405-415
- [8] Jagadish S V K, Craufurd P Q, Wheeler T R. High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(7): 1627-1635.
- [9] 杨军, 章毅之, 贺浩华, 李迎春, 陈小荣, 边建民, 金国花, 李翔翔, 黄淑娥. 水稻高温热害的研究现状与进展. 应用生态学报, 2020, 31(8): 2817-2830
- Yang J, Zhang Y Z, He H H, Li Y C, Chen X R, Bian J M, Jin G H, Li X X, Huang S E. Current status and research advances of high-temperature hazards in rice. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(8): 2817-2830
- [10] 刘进, 崔迪, 余丽琴, 张立娜, 周慧颖, 马小定, 胡佳晓, 韩冰, 韩龙植, 黎毛毛. 水稻苗期耐热种质资源筛选及 QTL 定位. 中国水稻科学, 2022, 36(3): 259-268
- Liu J, Cui D, Yu L Q, Zhang L N, Zhou H Y, Ma X D, Hu J X, Han B, Han L Z, Li M M. Screening and QTL mapping of heat-tolerant rice (*Oryza sativa* L.) germplasm resources at seedling stage. *Chinese Journal of Rice Science*, 2019, 33(2): 124-134
- [11] Ye C, Tenorio F A, Redona E D, Cortezano P S M, Cabrega G A, Jagadish K S V, Gregorio G B. Fine-mapping and validating *qHTSF4.1* to increase spikelet fertility under heat stress at flowering in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, 128: 1507-1517
- [12] 曹志斌, 谢红卫, 聂元元, 毛凌华, 李永辉, 蔡耀辉. 水稻抽穗扬花期耐热 QTL (*qHTH5*) 定位及其遗传效应分析. 中国水稻科学, 2015, 29(2): 119-125
- Cao Z B, Xie H W, Nie Y Y, Mao L H, Li Y H, Cai Y H. Mapping a QTL (*qHTH5*) for heat tolerance at the heading stage on rice chromosome 5 and its genetic effect analysis. *Chinese Journal of Rice Science*, 2015, 29(2): 119-125
- [13] 郑剑, 李兴星, 苏华英, 周军杰, 秦小健, 南文斌, 杨永清, 张汉马, 李贤勇, 梁永书. 粳稻资源热梗 35 遗传图谱构建与耐热 QTL 分析. 核农学报, 31(5): 844-851
- Zheng J, Li X X, Su H Y, Zhou J J, Qin X J, Nan W B, Yang Y Q, Zhang H M, Li X Y, Liang Y S. Construction of a genetic linkage map and QTL location for heat tolerance in japonica rice resources Rejing35. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 31(5), 844-851
- [14] 张桂莲, 廖斌, 唐文帮, 陈立云, 肖应辉. 稻米垩白性状对高温耐性的 QTL 分析. 中国水稻科学, 2017, 31(3): 257-264
- Zhang G L, Liao B, Tang W B, Chen L Y, Xiao Y H. Identifying QTLs for thermo-tolerance of grain chalkiness trait in rice. *Chinese Journal of Rice Science*, 2017, 31(3): 257-264
- [15] 张亚东, 梁文化, 赫磊, 赵春芳, 朱镇, 陈涛, 赵庆勇, 赵凌, 姚姝, 周丽慧, 路凯, 王才林. 水稻 RIL 群体高密度遗传图谱构建及粒型 QTL 定位. 中国农业科学, 2021, 54(24): 5163-5176
- Zhang Y D, Liang W H, He L, Zhao C F, Zhu Z, Chen T, Zhao Q Y, Zhao L, Yao S, Zhou L H, Lu K, Wang C L. Construction of high-density genetic map and QTL analysis of grain shape in rice RIL population. *Scientia Agricultura Sinica*, 2021, 54(24): 5163-5176.
- [16] 刘进, 胡佳晓, 马小定, 陈武, 勒思, Jo Sumin, 崔迪, 周慧颖, 张立娜, Shin Dongjin, 黎毛毛, 韩龙植, 余丽琴. 水稻 RIL 群体高密度遗传图谱的构建及苗期耐热性 QTL 定位. 中国农业科学, 2022, 55(22): 4327-4341
- Liu J, Hu J X, Ma X D, Chen W, Le S, Jo Sumin, Cui D, Zhou H Y, Zhang L N, Shin D, Li M M, Han L Z, Yu L Q. Construction of high density genetic map for RIL population and QTL analysis of heat tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(22): 4327-4341
- [17] Wang J K, Li H H, Zhang L Y, Meng L. QTL IciMapping Version 4.2. <http://www.isbreeding.net>, 2019
- [18] McCouch S R. Gene nomenclature system for rice. *Rice*, 2008, 1: 72-84
- [19] 姜树坤, 王立志, 杨贤莉, 李伟杰, 董世晨, 车韦才, 李志杰, 迟力勇, 李明贤, 张喜娟, 姜辉, 李锐, 赵茜, 李文华. 基于高密度 SNP 遗传图谱的粳稻芽期耐低温 QTL 鉴定. 作物学报, 2020, 46(8): 1174-1184
- Jiang S K, Wang L Z, Yang X L, Li W J, Dong S C, Che W C, Li Z J, Chi L Y, Li M X, Zhang X J, Jiang H, Li R, Zhao Q, Li W H. Detection of QTLs controlling cold tolerance at bud bursting stage by using a high-density SNP linkage map in japonica rice. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, 46(8): 1174-1184
- [20] 段骅, 唐琪, 剧成欣, 刘立军, 杨建昌. 抽穗灌浆早期高温与干旱对不同水稻品种产量和品质的影响. 中国农业科学, 2012, 45(22): 4561-4573
- Duan H, Tang Q, Ju C X, Liu L J, Yang J C. Effect of high temperature and drought on grain yield and quality of different rice varieties during heading and early grain filling periods. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(22): 4561-4573

- [21] 万丙良, 查中萍. 气候变暖对水稻生产的影响及水稻耐高温遗传改良. 中国农学通报, 2012, 28(36): 1-7
Wan B L, Zha Z P. Effects of climate warming on rice production and genetic improvement for rice heat tolerance. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(36): 1-7
- [22] 陈赛华, 仲伟杰, 薛明. 植物有性生殖对高温胁迫的响应机制. 作物学报, 2023, 49(12): 3143-3153
Chen S H, Zhong W J, Xue M. Advances in heat-stress responses at sexual reproduction stage in plants. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, 49(12): 3143-3153
- [23] 刘二华, 周广胜, 武炳义, 宋艳玲, 何奇瑾, 吕晓敏, 周梦子. 1981-2010 年长江中下游地区单季稻生殖生长期对气候变化和技术进步的响应. 2023, 49(5): 1305-1315
Liu E H, Zhou G S, Wu B Y, Song Y L, He Q J, Lv X M, Zhou M Z. Response of reproductive growth period length to climate warming and technological progress in the middle and lower reaches of the Yangtze River during 1981–2010 in single-cropping rice. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, 49(5): 1305-1315
- [24] 唐婷, 陈艳艳, 杨洋, 杨远柱, 孟桂元, 周静. 水稻耐高温性研究进展. 分子植物育种, 2017, 15(9): 3694-3700
Tang T, Chen Y Y, Yang Y, Yang Y Z, Meng G Y, Zhou J. Research progress of rice resistance to high temperature. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15(9): 3694-3700
- [25] Cao Z B, Li Y, Tang H W, Zeng B H, Tang X Y, Long Q Z, Wu X F, Cai Y H, Yuan L F, Wan J L. Fine mapping of the *qHTB1-1* QTL, which confers heat tolerance at the booting stage, using an *Oryza rufipogon* Griff. introgression line. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133(4): 1161-1175
- [26] Chen L, Wang Q, Tang M, Zhang X, Pan Y, Yang X, Gao G, Lv R, Tao W, Jiang L, Liang T. QTL Mapping and identification of candidate genes for heat tolerance at the flowering stage in rice. *Frontiers in Genetics*, 2021, 11: 621871
- [27] Li X M, Chao D Y, Wu Y, Huang X H, Chen K, Cui L G, Su L, Ye W W, Chen H, Chen H C, Dong N Q, Guo T, Shi M, Feng Q, Zhang P, Han B, Shan J X, Gao J P, Lin H X. Natural alleles of a proteasome $\alpha 2$ subunit gene contribute to thermotolerance and adaptation of African rice. *Nature Genetics*, 2015, 47(7): 827-833
- [28] Liu J P, Zhang C C, Wei C C, Liu X, Wang M G, Yu F F, Xie Q, Tu J M. The RING finger ubiquitin E3 ligase *OsHTAS* enhances heat tolerance by promoting H_2O_2 -induced stomatal closure in rice. *Plant Physiology*, 2016, 170: 429-443
- [29] Wang D, Qin B X, Li X, Tang D, Zhang Y E, Cheng Z K, Xue Y B. Nucleolar DEAD-Box RNA helicase *TOGR1* regulates thermotolerant growth as a Pre-rRNA chaperone in rice. *PLOS Genetics*, 2016, 12(2): e1005844
- [30] Kan Y, Mu X R, Zhang H, Gao J, Han J X, Ye W W, Lin H X. *TT2* controls rice thermotolerance through SCT1-dependent alteration of wax biosynthesis. *Nature Plants*, 2022, 8: 53-67
- [31] Zhang H, Zhou J F, Kan Y, Shan J X, Ye W W, Dong N Q, Guo T, Xiang Y H, Yang Y B, Li Y C, Zhao H Y, Yu H X, Lu Z Q, Guo S Q, Lei J J, Liao B, Mu X R, Cao Y J, Yu J J, Lin Y S, Lin H X. A genetic module at one locus in rice protects chloroplasts to enhance thermotolerance. *Science*, 2022, 376: 1293-1300
- [32] Ravikiran K T, Krishnan S G, Vinod K K, Dhawan G, Dwivedi P, Kumar P, Bansal V P, Nagarajan M, Bhowmick P K, Ellur R K, Bollinedi H, Pal M, Mithra A C R, Singh A K. A trait specific QTL survey identifies NL44, a NERICA cultivar as a novel source for reproductive stage heat stress tolerance in rice. *Plant Physiology Reports*, 2020, 25(4): 1-13
- [33] 张健, 杨靖, 王豪, 李冬秀, 杨瑰丽, 黄翠红, 周丹华, 郭涛, 陈志强, 王慧. 基于高密度遗传图谱定位水稻籽粒大小相关性状 QTL. 中国农业科学, 2020, 53(2): 225-238
Zhang J, Yang J, Wang H, Li D X, Yang G L, Huang C H, Zhou D H, Guo T, Chen Z Q, Wang H. QTL mapping for grain size related traits based on a high-density map in rice. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(2): 225-238
- [34] 王朝欢, 宋博文, 余思佳, 肖武名, 黄明. 基于全基因组测序构建水稻 RIL 群体遗传图谱. 华南农业大学学报, 2021, 42(2): 44-50
Wang C H, Song B W, Yu S J, Xiao W M, Huang M. Construction of a genetic map of rice RILs based on whole genome sequencing. *Journal of South China Agricultural University*, 2021, 42(2): 44-50
- [35] Yang J, Sun K, Li D X, Luo L X, Liu Y Z, Huang M, Yang G L, Liu H, Wang H, Chen Z Q, Guo T. Identification of stable QTLs and candidate genes involved in anaerobic germination tolerance in rice via high-density genetic mapping and RNA-Seq. *BMC Genomics*, 2019, 20: 15
- [36] Zhang Y, Wang L, Xin H, Li D, Ma C, Ding X, Hong W, Zhang X. Construction of a high-density genetic map for sesame based on large scale marker development by specific length amplified fragment (SLAF) sequencing. *BMC Plant Biology*, 2013, 13: 141
- [37] 董骥驰, 杨靖, 郭涛, 陈立凯, 陈志强, 王慧. 基于高密度 Bin 图谱的水稻抽穗期 QTL 定位. 作物学报, 2018, 44(6): 938-946
Dong J C, Yang J, Guo T, Chen L K, Chen Z Q, Wang H. QTL mapping for heading date in rice using high-density Bin map. *Acta Agronomica Sinica*, 2018, 44(6): 938-946
- [38] 赵凌, 张勇, 魏晓东, 梁文化, 赵春芳, 周丽慧, 姚妹, 王才林, 张亚东. 利用高密度 Bin 图谱定位水稻抽穗期剑叶叶绿素含量 QTL. 中国农业科学, 2022, 55(5): 825-836
Zhao L, Zhang Y, Wei X D, Liang W H, Zhao C F, Zhou L H, Yao S, Wang C L, Zhang Y D. Mapping of QTLs for chlorophyll content in flag leaves of rice on high-density bin map. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(5): 825-836
- [39] 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. 基于高密度遗传图谱的水稻萌发耐淹性 QTL 定位. 植物遗传资源学报, 2024, 25(1): 21-29
Sun Z G, Lu B G, Liu J B, Liu Y, Li J F, Chi M, Chen T M, Li J, Yang B, Liu X M, Wang B X, Xu D Y. QTL analysis for germinability under submergence condition based on a high-density genetic map in rice. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2024, 25(1): 21-29