

## 两种肥力水平下水稻苗高 QTL 的比较分析\*

孔迎春\*\*, 张燎\*\*

(武汉大学生命科学院生物学实验教学中心, 武汉 430072)

**摘要:** 利用一个来源于粳/籼交组合的水稻重组自交系群体进行盆栽试验, 设正常肥力(对照 CK)和低肥力(不施肥)2个处理, 分别在播种后 25 d(时期 I)和 50 d(时期 II)取样测定秧苗的苗高。结合一张含有 198 个标记的高密度分子遗传图谱, 对性状进行复合区间作图。共检测到 8 个水稻苗高 QTL, 分别位于第 1、3、5、6、8 和 10 号染色体上, 各 QTL 对性状的贡献率为 4%~12%。通过对 2 种肥力水平下水稻苗高 QTL 的比较分析, 发现大多数 QTL 只在 1 种肥力水平下表达, QTL 与不同肥力水平之间存在着显著的互作。唯一一个在 2 种肥力水平下均能稳定起作用、而且加性效应的方向一致的 QTL 是 *qSH-3-2*, 该 QTL 位于 3 号染色体标记区间 RM156-RM16, 其加性效应值为正, 增效基因来自于亲本 Lemont。此外, 有 3 个 QTL(*qSH-1*、*qSH-3-3* 和 *qSH-5*) 在 2 个抽样时期均起作用, 且加性效应的方向一致。对利用分子标记辅助选择改良水稻品种的耐低肥特性的育种策略进行了讨论。

**关键词:** 水稻; 重组自交系; 苗高; 耐低肥性能; 数量性状基因座位

中图分类号: Q943

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2005)02-0121-04

## Comparison of QTL for Seedling Height Identified under Two Fertilizer Levels in Rice\*

KONG Ying-Chun\*\*, ZHANG Liao\*\*

(Experimental Center of Biology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** A recombinant inbred line population of rice (*Oryza sativa* L.) was directly seeded in plastic pots in a randomized complete block with two treatments, control (normal fertilizer level) and no fertilizer. Seedling height was measured at stages I (25 days after seeding) and II (50 days after seeding), respectively. Composite interval mapping was carried out using a high density linkage map based on the same population, leading to the identification of 8 main-effect QTL for seedling height, each explaining 4%–12% of the phenotypic variation. Comparing the QTL identified under two fertilizer levels resulted in a finding that most of the QTL showed effects on the trait only under one fertilizer level, indicating presence of significant QTL by fertilizer level interactions. Only one QTL (*qSH-3-2*) was found to produce consistent additive effect on the trait under two fertilizer levels. This QTL was located to the interval RM156-RM16 of chromosome 3 and its positive allele contributed by the parent Lemont. In addition, there were three QTL (*qSH-1*, *qSH-3-3* and *qSH-5*) showing consistent additive effects at stages I and II. Breeding strategies for improvement of tolerance to low fertilizer stress in rice via marker-aided selection were discussed.

**Key words:** Rice (*Oryza sativa* L.); Recombinant inbred line (RIL); Seedling height; Tolerance to low fertilizer stress; Quantitative trait loci (QTL)

收稿日期: 2004-08-02, 修回日期: 2004-09-13。

基金项目: 国家973计划项目(2001CB108806); 湖北省2004年高等学校教学研究项目; 武汉大学2004年度实践教学改革研究项目(200430)。

作者简介: 孔迎春(1983-), 女, 张燎(1983-), 女, 均为武汉大学生命科学院 2001 级生物技术专业学生。

\* 本研究在章志宏副教授的指导下完成。

\*\* 同为第一作者。

施用化肥是农作物增产的一项重要措施。然而,大量化肥的施用,不仅给生态环境带来了严重的危害,而且还导致土壤板结、地力下降、生产效率降低<sup>[1,2]</sup>。培育耐低肥力农作物新品种是解决这一问题的一条重要途径。水稻是世界上近一半人口的主食,过去对水稻吸收和利用化肥的生理生化机理方面的研究较多,而遗传学特征方面的研究很少。对水稻化肥利用的遗传学基础认识的缺乏,是培育耐低肥力水稻品种的重要限制因子之一。

随着 DNA 分子标记技术的发展, QTL (quantitative trait loci) 分析已成为剖析多基因控制数量性状遗传基础的重要工具<sup>[3]</sup>。近年来,利用 QTL 分析技术,方萍等<sup>[4]</sup>比较分析了 2 种氮水平下水稻的穗长 QTL, Ming F (明凤) 等<sup>[5]</sup>对不同磷水平下水稻生长特性的 QTL 进行了定位研究。可以预期,随着越来越多的水稻氮、磷、钾等肥料要素高效利用相关 QTL 的发掘及其分子标记鉴定,利用分子标记辅助选择 (marker-assisted selection, MAS) 对水稻化肥高效利用特性进行有效遗传改良将成为现实。

本研究利用 1 个水稻重组自交系 (recombinant inbred line, RIL) 群体及其高密度分子连锁图谱,在 2 个肥力水平下对水稻幼苗苗高进行 QTL 比较分析,以发掘和定位水稻耐低肥力有利基因,并揭示其在不同肥力水平下的表达特征。

## 1 材料与方法

### 1.1 水稻 RIL 群体及其在 2 种肥力水平下秧苗苗高的测定

所用的水稻 RIL 群体包含有 264 个 F<sub>12</sub> RILs, 通过“一粒传”来源于粳/籼杂交组合 Lemont (粳稻)/特青 (籼稻)。

利用以上 RIL 群体于 2003 年夏季进行盆栽试验,测定该 RIL 群体的苗期生长性状。实验设正常肥力 (对照 CK) 和低肥力 (不施肥) 2 个处理。塑料盆大小为 62 cm × 38 cm × 14 cm (长 × 宽 × 高), 盆中

装入混合均匀的稻田土厚 10 cm, 对照 CK 每盆中拌入进口复合肥 30 g (相当于 1 260 kg/hm<sup>2</sup>), 低肥力处理不施肥。264 个 RILs 按随机区组排列。每盆中横向等间距播种 4 行, 每行播种 1 个 RIL 的已催芽种子 20 粒。播种 7 d 后间苗, 每个 RIL 留下生长较为一致的秧苗 12 株。播种后 25 d (时期 I, 大多数 RIL 达到 4 叶期) 进行第 1 次取样, 每个 RIL 取生长一致的秧苗 4 株, 测量苗高 (从分蘖节到叶尖的高度, cm); 同时再次间苗, 每个 RIL 留下生长一致的秧苗 6 株。在播种后 50 d (时期 II, 大多数 RIL 达到 7~8 叶期) 进行第 2 次取样, 每个 RIL 取生长一致的秧苗 4 株, 测量苗高 (cm)。

### 1.2 连锁图谱构建及 QTL 定位

利用 Lemont/特青 RIL 群体进行 RFLP 和 SSR 分子标记分析和构建分子连锁图谱的详细过程见 Zhang 等<sup>[6]</sup>。该图谱包含有覆盖水稻全基因组 12 条染色体的 198 个标记。其中 RFLP 标记 91 个, SSR 标记 106 个, 另有 1 个光叶单基因形态标记 *gl-1*。连锁图谱全长 1980.1 cM (Kosambi 函数), 标记间平均距离为 10.7 cM。

采用作图软件 QTLMapper 1.0<sup>[7]</sup>对 2 种肥力水平下的苗高性状进行复合区间作图。以 LOD 值 2.4 为阈值判定 QTL 的存在, 并计算各 QTL 的加性效应值和对性状的贡献率。依照 McCouch 等<sup>[8]</sup>提出的原则命名各 QTL。

## 2 结果与分析

### 2.1 两种肥力水平下水稻苗高的表型分析

表 1 结果表明, 在取样时期 I, 在对照 CK 中 2 个亲本的苗高大致相同; 但在不施肥处理中, Lemont 为 32 cm, 特青为 37 cm, 2 者差异极显著 ( $P < 0.01$ )。在取样时期 II, CK 中 Lemont 和特青的苗高分别为 79 cm 和 88 cm, 相差极显著 ( $P < 0.01$ ); 在不施肥处理中, 2 亲本间的差异更大 ( $P < 0.01$ ), Lemont 和特青的苗高分别为 58 cm 和 71 cm。该结果表明, 尽

表 1 水稻 RIL 群体在 2 种肥力水平下苗高的表型分析  
Table 1 Phenotypic analysis of seedling height in the RIL population of rice

取样时期 Stages	处理 Treatment	Lemont (cm)	特青 (cm) Teqing	RIL 群体 RIL Population		
				均值 Mean	S. D.	变异范围 Range
I	对照 CK	49.39	49.93	50.68	6.77	31.50~74.83
	不施肥 No fertilizer	31.66**	37.06	33.59	3.68	22.83~48.03
II	对照 CK	78.71**	87.71	82.27	11.57	49.33~112.95
	不施肥 No fertilizer	57.66**	71.35	66.34	8.08	41.70~86.80

\*\* 两亲本间的性状差异达到 1% 的显著水平 ( $P < 0.01$ )。

\*\* Indicate difference between the two parents significant at the level of  $P < 0.01$ .

管在不施肥处理中 2 个亲本的正常生长均受到影响,但 Lemont 对缺肥胁迫更敏感,特青具有相对较强的耐低肥性能。

在 RIL 群体中,不同基因型的耐低肥性能呈现为连续变异,并在 2 个方向上表现出超亲分离。表明水稻的耐低肥性能可能受多基因控制。

2.2 两种肥力水平下水稻苗高的 QTL 定位

对全基因组扫描共检测到 8 个苗高 QTL,分别位于第 1、3、5、6、8 和 10 号染色体上(表 2,图 1)。各 QTL 对性状的贡献率为 4%~12%。该结果与该性状在 RIL 群体中表型的连续变异相一致,表明水稻苗高受多基因控制,各基因对性状的效应均较小。

表 2 在 2 种肥力水平下水稻苗高 QTL 及其参数估计  
Table 2 Putative QTL for the traits measured in the RIL population of rice

QTL	Chr.	标记区间 Intervals	时期 I Stage I											
			对照 CK Check			不施肥 No fertilizer								
			LOD	a*	R <sup>2</sup> **	LOD	a*	R <sup>2</sup> **						
<i>qSH-1</i>	1	RM246-CDO118	4.66	3.12	8.0				4.66	3.12	8.0			
<i>qSH-3-1</i>	3	C515-RG348a	2.92	-2.25	4.2									
<i>qSH-3-2</i>	3	RM156-RM16				3.84	-2.15	9.3				8.56	2.04	12.3
<i>qSH-3-3</i>	3	RM148-RM85												3.10
<i>qSH-5</i>	5	RM163-RM161	4.44	-2.97	7.3				6.45	-1.77	9.2			
<i>qSH-6</i>	6	OSR19-C76							3.93	1.39	5.7			
<i>qSH-8</i>	8	OSR7-RM230										4.05	0.98	7.4
<i>qSH-10</i>	10	RM228-RM333				3.13	-1.64	5.4						

\* 加性效应值为正,表示增效等位基因来自 Lemont; \*\* 各 QTL 对性状的贡献率。  
\* The additive effect is the effect associated with substitution of a Teqing allele by the corresponding Lemont allele; \*\* The variance explained by individual QTL.

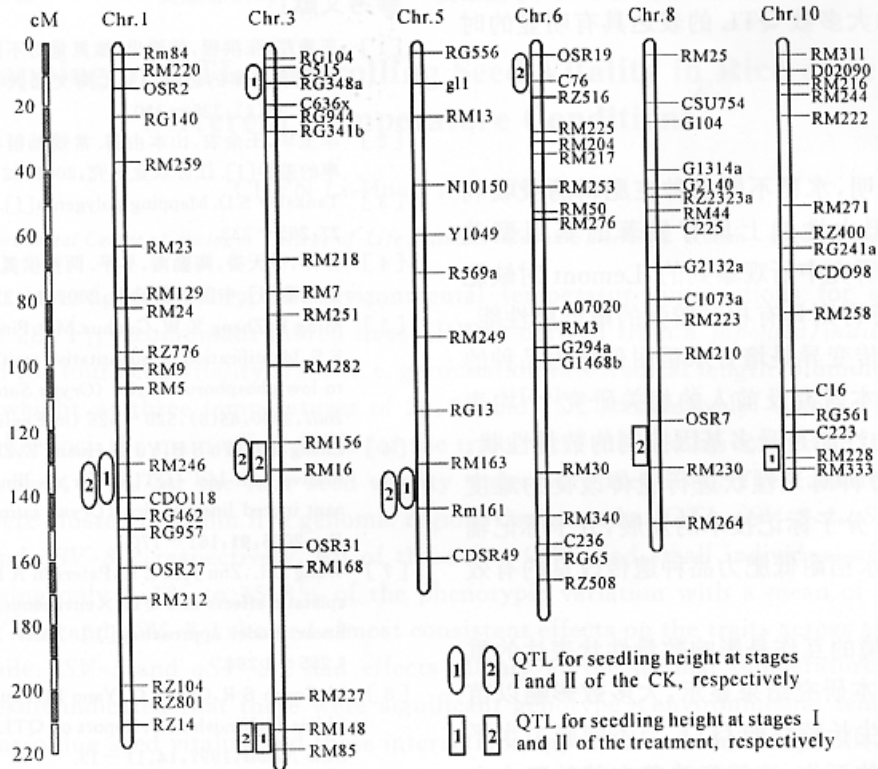


图 1 在 2 种肥力水平下水稻苗高 QTL 在分子标记连锁图谱上的位置  
Fig. 1 Molecular linkage map of rice with locations of putative QTL for seedling height identified under two fertilizer levels

在抽样时期 I,对照 CK 中检测到 3 个苗高 QTL (*qSH-1*,*qSH-3-1* 和 *qSH-5*),不施肥处理中检测到另外 2 个不同的苗高 QTL (*qSH-3-3* 和

*qSH-10*);在抽样时期 II,对照 CK 中检测到 4 个苗高 QTL (*qSH-1*,*qSH-3-2*,*qSH-5* 和 *qSH-6*),不施肥处理中检测到的 3 个 QTL (*qSH-3-2*,*qSH-3-3*

和  $qSH-8$ ) 中, 有 1 个 ( $qSH-3-2$ ) 与对照 CK 中相同。此结果表明, 水稻苗高 QTL 可以分为 3 类: ①只在常规肥力水平下(对照 CK)表达的 QTL, 如  $qSH-1$ 、 $qSH-3-1$ 、 $qSH-5$  和  $qSH-6$ ; ②只在不施肥条件下起作用的 QTL, 如  $qSH-3-3$  和  $qSH-8$ ; ③在常规肥力水平和不施肥条件下均稳定表达的 QTL, 如  $qSH-3-2$ 。此外, 该结果还表明, 大多数 QTL, 如上述①和②类 QTL, 与不同肥力水平之间存在着显著的互作; 上述③类 QTL 中,  $qSH-3-2$  是唯一在 2 种肥力水平下均稳定起作用、而且加性效应方向一致的一个 QTL, 该 QTL 位于 3 号染色体 RM156-RM16 标记区间, 其加性效应值为正, 表明增效基因来自于亲本 Lemont。

在检测到的 8 个 QTL 中, 有 3 个 QTL 在 2 个抽样时期均起作用, 且加性效应的方向一致。在对照 CK 中, 在 2 个时期均起作用的 QTL 为  $qSH-1$  和  $qSH-5$ ; 在不施肥处理中在 2 个时期均起作用的 QTL 为  $qSH-3-3$ (表 2)。除了上述 3 个 QTL 外, 其余 5 个 QTL 均只在 1 个时期被检测到。由此表明, 控制水稻苗高的大多数 QTL 的表达具有明显的时期特异性。

### 3 讨论

已有研究表明, 水稻不同品种在肥料的吸收利用效率和耐低肥力性能上具有显著的基因型差异<sup>[3,9,10]</sup>。正如本研究中所观察到的, Lemont 对缺肥胁迫更敏感, 而特青则具有相对较强的耐低肥性能。该性状丰富的遗传变异是培育水稻耐低肥力品种的重要基础材料。本研究及前人的相关研究<sup>[4,5]</sup>均表明, 水稻耐低肥力性能是受多基因控制的数量性状。因此, 通过常规育种对该性状进行遗传改良的难度很大。随着 DNA 分子标记技术的发展, 分子标记辅助育种有望成为水稻耐低肥力品种遗传改良的有效途径。

基因型与环境的互作是影响数量性状表达的重要因素之一<sup>[11]</sup>。本研究结果显示, 大多数影响以苗高为代表的水稻生长特性的 QTL 与不同肥力水平之间存在着显著的互作, 这就意味着在某种肥力水平下表达的基因, 在其它不同的肥力条件下可能不再起作用。类似地, 方萍等<sup>[4]</sup>在两种供氮水平下对水稻穗长进行了 QTL 分析, 在低氮水平下检测到的 5 个穗长 QTL 中, 只有 1 个在高氮水平下表现出相同方向的加性效应。尽管如此, 我们特别应该注意的是, 本研究也鉴定到了在 2 种肥力水平下均稳定表

达的一个 QTL, 即位于 3 号染色体 RM156-RM16 标记区间的  $qSH-3-2$ 。方萍等<sup>[4]</sup>也定位到了在 2 种供氮水平下均表现出相同方向的加性效应的一个穗长 QTL。

从水稻耐低肥力分子标记辅助育种的角度来看, 在不同肥力水平下能稳定表达 QTL 的增效基因的聚合自然是最佳选择, 这就要求能从大量的水稻种质资源中发掘出这种在不同肥力水平下稳定表达的优异基因。此外, 由于在某特定肥力水平下起作用的 QTL, 在其它不同肥力水平下并不表现出相反的遗传效应, 因此, 通过 MAS 重组聚合在不同肥力水平下起作用的 QTL 的增效基因, 也是水稻耐低肥力分子标记辅助育种的重要策略之一。

**致谢:** 本研究中所用的 Lemont/Teqing RIL 群体及其分子标记数据由国际水稻研究所傅彬英博士和黎志康博士提供。华中农业大学作物遗传与改良国家重点实验室余四斌教授对分子标记数据的整理和遗传图谱的构建给予了热心的帮助。

### 参考文献:

- [1] 王秀芹, 张洪程, 黄银忠. 施氮量对不同水稻品种吸氮特性及氮肥利用率的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2003, 21(4): 325 - 330.
- [2] 单玉华, 王余农, 山本由德. 常规籼稻与杂交籼稻氮素利用效率的差异[J]. 江苏农业研究, 2001, 22(1): 12 - 15.
- [3] Tanksley S D. Mapping polygenes[J]. *Annu Rev Genet*, 1993, 27: 205 - 233.
- [4] 方萍, 季天委, 陶勤南, 吴平. 两种供氮水平下水稻穗长 QTLs 的检测[J]. 中国水稻科学, 2002, 16(2): 176 - 178.
- [5] Ming F, Zheng X W, Guohua M I, Ping H E, Zhu L H, Zhang F S. Identification of quantitative trait loci affecting tolerance to low phosphorus in rice (*Oryza Sativa* L.) [J]. *Chinese Sci Bull*, 2000, 45(6): 520 - 525 (in English).
- [6] Zhang Z H, Yu S B, Yu T, Huang Z, Zhu Y G. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling-vigor using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Field Crops Res*, 2005, 91: 161 - 170.
- [7] Wang D L, Zhu J, Li Z K, Paterson A H. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL  $\times$  environment interactions by mixed linear model approaches [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 1 255 - 1 264.
- [8] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Morishima H, Kinoshita T. Report on QTL nomenclature [J]. *Rice Gene Newsl*, 1997, 14: 11 - 13.
- [9] 李华, 杨肖娥, 罗安程. 不同氮钾条件下水稻基因型氮、钾积累利用差异[J]. 中国水稻科学, 2002, 16(1): 86 - 88.
- [10] Fageria N K, Wright R J, Baligar V C. 1988 Rice cultivar evaluation for phosphorous use efficiency [J]. *Plant and Soil*, 1988, 111: 105 - 109.
- [11] Zhuang J Y, Lin H X, Lu J, Lu J, Qian H R, Hittalmani S, Huang N, Zheng K L. Analysis QTL  $\times$  environment interaction for yield components and plant height in rice [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 799 - 808.