

# 水稻籼粳交 DH 群体幼苗中胚轴长度的 QTLs 定位和上位性分析

曹立勇<sup>1,2</sup> 朱 军<sup>1</sup> 颜启传<sup>1</sup> 何立斌<sup>2</sup> 魏兴华<sup>1,2</sup> 程式华<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 浙江大学 农业与生物技术学院, 浙江 杭州 310029; <sup>2</sup> 中国水稻研究所, 浙江 杭州 310006)

## Mapping QTLs with Epistasis for Mesocotyl Length in a DH Population from indica-japonica Cross of Rice (*Oryza sativa*)

CAO Li-yong<sup>1,2</sup>, ZHU Jun<sup>1</sup>, YAN Qi-chuan<sup>1</sup>, HE Li-bin<sup>2</sup>, WEI Xing-hua<sup>1,2</sup>, CHENG Shi-hua<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> College of Agriculture & Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; <sup>2</sup> China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China)

**Abstract:** A double haploid (DH) population derived from across between an indica female parent IR64 and a japonica male parent Azucena, was used for detecting QTLs with additive effects and their epistasis for rice mesocotyl length under low temperature and moderate temperature germination condition. Four QTLs with additive effects on chromosome 1, 3, 7 and 8, two pairs of QTLs with epistasis effects on chromosome 3, 7 and 12 controlled mesocotyl length with variance explained being 21.62% and 2.27%. Two pairs of additive  $\times$  environment and epistasis  $\times$  environment interaction effects of QTLs were also detected, respectively. Molecular marker-assistant selecting mesocotyl length of rice was discussed.

**Key words:** rice; double haploid; mesocotyl length; quantitative trait loci; epistatic analysis

**摘 要:** 应用籼粳交 IR64/Azucena 的 DH 群体及其构建的分子标记遗传图谱, 在遮光条件下, 通过适温和低温逆境下发芽, 测定中胚轴长度。采用 QTL Mapper 基因定位软件检测控制中胚轴长度的加性效应 QTLs 和加性  $\times$  加性上位性 QTLs, 在第 1、3、6、7、8、12 等 6 条染色体上定位了 8 个控制中胚轴长度的 QTLs, 其中在第 1、3、7、8 染色体上定位了 4 个具有加性效应的 QTLs, 位于第 7 染色体的 1 个加性效应 QTL 的增长等位基因来自于父本 Azucena, 它能使中胚轴伸长 0.26 cm, 其贡献率达 17.5%, 其余 3 个加性效应 QTLs 的增长等位基因来自于母本 IR64, 能使中胚轴伸长 0.10~0.21 cm, 在第 3、7、12 等 3 条染色体中共检测到 2 对加性  $\times$  加性上位性效应, 其贡献率分别为 21.62% 和 2.27%, 同时各检测到 2 对加性效应  $\times$  环境的互作效应和上位性  $\times$  环境的互作效应。对应用分子标记辅助育种选育中胚轴伸长的矮秆水稻的可能性进行了讨论。

**关键词:** 水稻; 加倍单倍体; 中胚轴长度; 数量性状位点; 上位性分析

中图分类号: Q943; S511.03

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2002)03-0221-04

在我国, 水稻直播作为一种简便、省工、省力且高效的技术正日益受到重视。与传统的育秧移栽方法相比, 直播法不仅节省工时和水浆, 而且免除了稻农弯腰躬背之累。由于采用直播法时, 水稻幼苗未遭受拔秧引起的损伤, 前期生长条件好, 营养生长快, 因此直播稻比移栽稻成熟早, 即使在缺水情况下, 其单产也高于移栽稻<sup>[1]</sup>。但直播稻出苗难是继草害、倒伏等目前制约直播稻发展的三大难题之一<sup>[2,3]</sup>。直播稻田的土壤、水、温度和氧的供应状况对种子的发芽和出苗影响很大, 目前所用的一些半矮秆品种, 直播时, 在土中由于中胚轴较短, 难以出苗<sup>[2]</sup>。

中胚轴长的作物适于直播, 在种子发芽后, 中胚轴明显伸长, 顶土能力强, 易出苗<sup>[3]</sup>, 因此对水稻幼苗中胚轴进行研究, 如筛选幼苗中胚轴伸长的品种, 研究中胚轴的遗传机理, 定位控制中胚轴长度的基因等, 将有利于水稻直播技术的发展。水稻中胚轴伸长属于基因型与环境互作的范畴, 在控制中胚轴长

度的基因的定位上, 虽也曾有过报道<sup>[4]</sup>, 不过只涉及加性效应 QTL 的定位, 未涉及加性效应及上位性效应与环境互作。本研究以一个构建分子标记连锁图谱的籼粳交 DH 群体为遗传材料, 在遮光条件下, 通过适温和低温逆境下发芽, 对幼苗中胚轴长度的测定和 QTLs 及上位性进行分析, 研究水稻中胚轴伸长的基因位点 (QTL) 数目、分布, 探讨水稻中胚轴伸长的分子标记辅助育种的可能性。

## 1 材料与方法

### 1.1 DH 群体的产生

以典型的籼稻 IR64 和粳稻 Azucena (热带粳稻品种) 为亲本进行杂交, 对 F<sub>1</sub> 代花药进行离体培

收稿日期: 2001-10-09; 修改稿收到日期: 2002-03-11。

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划资助项目; 国家 863 计划资助项目; 浙江省自然科学基金资助项目。

第一作者简介: 曹立勇 (1965—), 男, 副研究员。

养,共获得纯合二倍体(DH系)135个,并构建含175个RFLP标记的遗传连锁图谱,以上工作由国际水稻研究所完成<sup>[5]</sup>。

## 1.2 幼苗中胚轴的测定

本研究选用了该套DH群体的109个株系及其亲本的干燥、饱满种子进行发芽试验,试验在适温(25~28℃)和低温逆境(16~19℃)两种温度下进行,每种温度设置2次重复。实验所用培养皿为种子发芽实验专用培育皿,培养皿底部垫吸水纸5~6层,加水湿润吸水纸,每个株系挑选10粒饱满、干燥、无病种子整齐均匀排放在培养皿中的吸水纸上,每个培养皿用不透光的纸包裹严密,置于小型人工气候箱中在黑暗条件下斜板培养10d。出箱后,测定每一株系的每一棵幼苗的中胚轴长度<sup>[4]</sup>(指幼苗根部节间到芽鞘节之间的长度),最后求出每个株系2次重复的平均中胚轴长度,用于统计分析。

## 1.3 QTL定位和上位性分析

利用IR64/Azucena的DH群体构建了一张含175个RFLP标记的水稻连锁遗传图谱,该图谱各标记均匀分布于全部12条水稻染色体上<sup>[5]</sup>,适合于加性效应QTLs定位和上位性分析。采用QTL Mapper软件<sup>[6,7]</sup>检测控制中胚轴长度的加性效应QTL和上位性QTL,将不同温度当作环境因子处理,进行中胚轴长度的QTL定位、上位性分析及其与环境的互作效应的分析,同时计算其贡献率。以 $LOD \geq 2.4$ 作为阈值来判断QTL的存在与否,加性效应及上位性互作效应分析以 $P < 0.01^*$ 、 $P < 0.005^{**}$ 为显著水平进行检验<sup>[6,7]</sup>。QTL的命名原则遵循文献<sup>[8]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 中胚轴长度在双亲和DH群体中的表现

DH群体的双亲在低温和适温下的中胚轴长度相差较大,IR64和Azucena在低温下中胚轴长度分别为0.100和0.050cm,在适温下为0.730和0.075cm,差异达显著水平。IR64/AzucenaDH群

体各株系在两种温度下的中胚轴长度呈正态分布,表现数量性状的特点,其偏斜度和峰值均小于1,适合于进行耐热性QTL分析(表1)。

### 2.2 中胚轴长度的加性效应QTL分析

应用QTL分析软件QTL Mapper进行中胚轴长度的QTL定位,共检测到控制中胚轴长度的8个QTLs,其中4个QTLs具有加性效应,包括2个只具有加性效应(*qml1-1*、*qml8*,称为I型)的,另外2个还同时具有上位性效应(*qml3*、*qml7-1*,称为II型),有4个只具有上位性效应(称为III型)。所定位的QTLs及其标记区间列于表2。中胚轴长度的加性效应QTL分析结果和上位性分析结果分别列于表3、表4。

从表3可见,在第1、3、7、8等4条染色体中,共检测到控制中胚轴长度的4个具有加性效应的QTLs;其中位于第7染色体的一个加性效应的QTL增长等位基因来自于父本Azucena,它能使中胚轴伸长0.26cm,其贡献率为17.5%,位于其余3条染色体的3个加性效应的QTL增长等位基因来自于母本IR64,它们能使中胚轴伸长0.10~0.21cm,其贡献率为3.45%~11.32%;在第3、第8染色体上还各检测到1个QTL存在显著的加性效应与环境的互作效应,其贡献率分别为0.41%和0.02%,这表明控制中胚轴长度的基因分散在两个亲本中,QTLs的聚合能产生比双亲中胚轴更长的株系,在适温下能有较长的中胚轴。

### 2.3 上位性效应分析

在该DH群体中共检测到2对加性×加性上位性效应(表4),其贡献率为2.27%和21.62%,共涉及第3、7、12等3条染色体,其中位于第3条染色体的RZ403~RG179和第7条染色体RZ638~RZ400区间的两个位点的互作贡献率达21.62%,其重组型上位性效应大于亲本型上位性效应,在所形成的加性×加性上位性效应中,有2个加性效应QTL即*qml3*、*qml7-1*参与了上位性效应的形成,其余1对上位性效应发生在2个未检测到显著加性效应的

表1 IR64/Azucena DH群体在适温和低温下中胚轴长度的分布

Table 1. Distribution of mesocotyl length in IR64/Azucena population under moderate temperature and low temperature.

cm

环境 Environment	亲本 Parent		DH群体 DH population					
	IR64	Azucena	平均数 Mean	最大值 Max	最小值 Min	标准差 Sd	偏斜度 Skewness	峰值 Kurtosis
适温 MT (25-28℃)	0.730	0.075	0.389	2.413	0.033	10.318	0.861	0.914
低温 LT (16-19℃)	0.100	0.050	0.286	2.050	0.010	14.427	0.733	0.856

MT—Moderate temperature; LT—Low temperature.

表 2 IR64/Azucena DH 群体中检测到的控制中胚轴长度的加性效应 QTLs

Table 2. QTLs with additive effects for mesocotyl length detected in IR64/Azucena DH population.

染色体	数量性状座位	标记区间	遗传距离 <sup>1)</sup>
Chromosome	QTL	Marker interval	Distance <sup>1)</sup> /M
1	<i>qml1-1</i>	RZ276 ~ RG146	0.03
1	<i>qml1-2</i>	RZ19 ~ RG690	0.05
3	<i>qml3</i>	RZ403 ~ RG179	0.00
6	<i>qml6</i>	AmP-3 ~ Est-20	0.00
7	<i>qml7-1</i>	RG511 ~ RG477	0.02
7	<i>qml7-2</i>	CDO38 ~ RG351	0.09
8	<i>qml8</i>	A18A1120 ~ TGMS1.2	0.11
12	<i>qml12</i>	RG958 ~ RG181	0.05

<sup>1)</sup>QTL 最高 LOD 值处于左侧标记的距离。

<sup>1)</sup>Genetic distance between the most likely position of the putative QTL and the left-hand side marker.

表 4 IR64/Azucena DH 群体中检测到的控制中胚轴长度的加性×加性上位性效应及其与环境的互作效应的 QTLs

Table 4. QTLs with epistasis and epistasis×environment interaction effects for mesocotyl length in IR64/Azucena DH population.

座位	座位	LOD 值	上位性效应	贡献率	互作效应 <sup>1)</sup>	贡献率
QTL <sub>i</sub>	QTL <sub>j</sub>	LOD	AA	H <sup>2</sup> (AA)/%	AAE <sub>1</sub> <sup>1)</sup>	H <sup>2</sup> (AAE <sub>1</sub> )/%
<i>qml3</i>	<i>qml7-1</i>	3.67	-0.29**	21.62	-0.10**	4.94
<i>qml7-2</i>	<i>qml12</i>	4.27	-0.10**	2.27		
<i>qml1-2</i>	<i>qml6</i>	3.93			-0.14**	9.18

<sup>1)</sup>互作在低温下的处理效应,在适温下的处理效应与其方向相反,大小一样。

\*\*代表显著水准为  $P < 0.005$ 。

<sup>1)</sup>AAE<sub>1</sub> represented the effect of epistasis×environment under low temperature,AAE<sub>2</sub> in moderate temperature is the reverse of AAE<sub>1</sub>.

\*\*Significant at  $P < 0.005$ .

QTL 座位之间。还检测到 2 对加性×加性上位性与环境的互作效应,其贡献率为 4.94%、9.18%,这说明上位性效应对该群体中胚轴长度的遗传具有重要的作用,但与加性效应的 QTL 相比,它受环境的影响比加性效应大。从加性效应 QTL 和上位性效应在连锁图谱中的分布可看出(图 1),尽管所检测到的所有加性效应 QTLs 中,不一定都参与上位性效应的形成,但加性效应较大的 QTL 参与了上位性效应的形成。

从表 3、表 4 中还可见,在各种效应中,以加性×加性上位性效应的贡献率最高,达 21.62%,其次为加性效应,它的贡献率为 17.55%,而加性效应与环境的互作效应则较小,说明这个群体的中胚轴长度受上位性效应和加性效应的影响较大。

### 3 讨论

水稻幼苗中胚轴长度因品种即遗传基础的不同而异,也常因周围环境因素的变化而产生较大的变异,中胚轴长度的直接鉴定方法主要采用在黑暗条件下种子发芽若干天后,测定其幼苗中胚轴的长

表 3 IR64/Azucena DH 群体中检测到的具有显著中胚轴长度加性效应及其与环境的互作效应的 QTL

Table 3. QTLs with additive and/or additive×environment effects for mesocotyl length detected in IR64/Azucena DH population.

数量性状位点	LOD 值	加性效应	贡献率	互作效应 <sup>1)</sup>	贡献率
QTL	LOD score	A	H <sup>2</sup> (A)/%	AE <sub>1</sub> <sup>1)</sup>	H <sup>2</sup> (AE <sub>1</sub> )/%
<i>qml1-1</i>	4.19	0.17**	3.45		
<i>qml3</i>	3.67	0.21**	11.32	0.08*	0.41
<i>qml7-1</i>	3.67	-0.26**	17.55		
<i>qml8</i>	4.87	0.14**	4.59	0.07*	0.02

<sup>1)</sup>互作在低温下的处理效应,在适温下的处理效应与其方向相反,大小一样。

\*,\*\* 代表显著水准分别为  $P < 0.01$ 、 $P < 0.005$ 。

<sup>1)</sup>AE<sub>1</sub> represented the effect of QTL×environment under low temperature,AE<sub>2</sub> in moderate temperature is the reverse of AE<sub>1</sub>.

\*,\*\* Significant at  $P < 0.01$  and  $P < 0.005$ , respectively.

度<sup>[4]</sup>。本试验采用适温和低温逆境两种处理相结合对水稻籼粳交 DH 群体在黑暗条件下进行发芽,以测定水稻幼苗中胚轴长度,试验方法简便直观。利用这一方法,成功地进行了控制水稻幼苗中胚轴长度的 QTL 定位,检测到了 8 个控制中胚轴长度的 QTLs,定位在第 1、3、6、7、8、12 等 6 条染色体上,其中定位在第 1、3、7、8 等 4 条染色体上的 4 个加性效应 QTLs,与 Redofia 等<sup>[4]</sup>所定位的结果相似,表明这几个 QTLs 是可以稳定遗传的,但 Redofia 等的研究中未涉及上位性效应的分析,而上位性效应对水稻的数量性状起着十分重要的作用<sup>[9~12]</sup>。在本研究结果中,上位性效应及其与环境的互作效应对水稻幼苗中胚轴长度的影响超过了加性效应的 QTL,说明中胚轴长度受上位性效应的影响较大。本研究在适温和低温逆境两个环境中进行,虽然检测到了加性效应与环境的互作效应,但其贡献率较低,这意味着中胚轴的长度受加性效应×环境的影响较小,它的遗传率较高。当然本研究如果采用室内发芽试验与田间生产试验相结合,其结果可能更有说服力。

本研究从父母本中都发现了加性效应 QTL 的

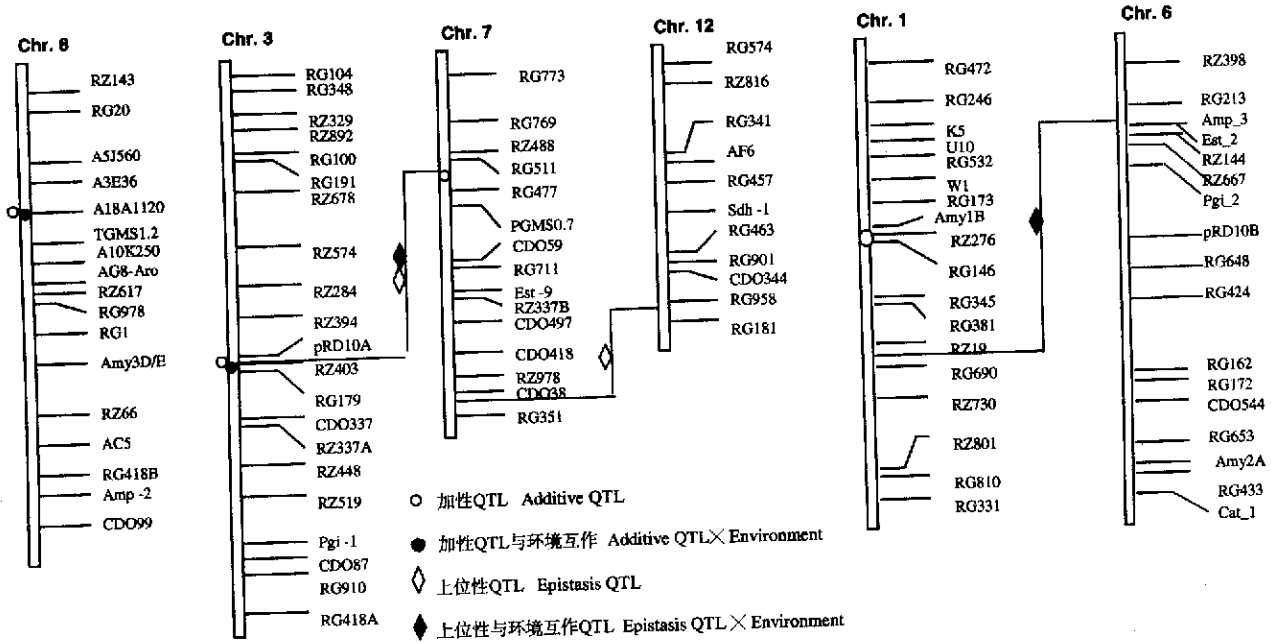


图 1 中胚轴长度的 QTL 图谱

Fig. 1. QTL map of mesocotyl length.

增长等位基因,其中有 1 个来自父本 Azucena 的等位基因,3 个来自母本 IR64 的等位基因,这一结果表明,即使亲本间数量性状的差异较小,通过 QTL 定位,也可能将不同水稻品种中散布的控制中胚轴长度的基因聚集在一起,QTLs 的聚合能产生比双亲中胚轴更长的株系。目前利用 DNA 分子标记技术进行水稻遗传改良实践已经开始<sup>[13]</sup>,由于中胚轴长度主要由基因型决定<sup>[14]</sup>,因此利用分子标记技术分析定位控制中胚轴长度的微效多基因(QTL),进而通过分子标记辅助选择等方法,利用中胚轴长度的 QTLs 的聚合、重组,再辅之以农艺性状的改良就可以把控制中胚轴长度的基因聚合到矮秆水稻品种中,从而解决水稻直播中出苗难的问题。

谢辞:本文所用材料由国际水稻研究所提供,谨致谢意。

#### 参考文献:

- Wang K Z (汪开治). IRR1 recommend rice direct sowing. *Agriculture Sci-tech* (农业科技), 1994, (32):7. (in Chinese)
- Zhu D F (朱德峰), Yan X Q (严学强). Survey of rice direct sowing and cultivation in overseas. *Cropping and Cultivation* (耕作与栽培), 1997, (1-2):102-103. (in Chinese)
- LI X Q (李秀棋), Jin L G (金龙光), Zhou L Z (周卢泽). Characteristics of direct of sowing double-cropped hybrid rice and its cultural techniques in coastal region of southern Zhejiang. *J Zhejiang Agri Sci* (浙江农业科学), 1998, (3):115-117. (in Chinese)
- Redona E D, Mackill D J. Mapping quantitative trait loci for seeding vigor in rice using RFLP. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 395-402.
- Huang N, McCouch S R, New T W, et al. Development of an RFLP map from a doubled haploid population in rice. *Rice Genet Newsl*, 1994, 11:134-137.
- Wang D L (王道龙), Zhu J (朱军), Li Z K (黎志康), et al. Simulation studies on identification of interaction markers representing QTL epistasis by stepwise regression. *J Zhejiang Univ (Agric & Life Sci)* (浙江大学学报(农业与生命科学版)), 1999, 25(5):453-461. (in Chinese with English abstract)
- Wang D L, Zhu J, Li Z K, et al. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL × environment interaction by mixed linear model approaches. *Theor Appl Genet*, 1999, 99:1255-1264.
- McCouch S R, Cho Y G, Yano M, et al. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14:11-13.
- Yu S B (余四斌), Li J X (李建雄), Xu C G (徐才国), et al. Importance of epistasis as the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid. *Science in China (Series C)* (中国科学(C辑)), 1998, 28(4):333-342. (in Chinese)
- Cao G, Zhu J, He C, et al. Impact of epistasis and QTL × environment interaction on the developmental behavior of plant height in rice. *Theor Appl Genet*, 2001, 103:153-160.
- Liao C Y, Wu P, Hu B, et al. Effects of genetic background and environment on QTLs and epistasis for rice panicle number. *Theor Appl Genet*, 2001, 103:104-111.
- Zhang W P, Shen X Y, Wu P, et al. QTLs and epistasis for seminal root length under a different water supply in rice. *Theor Appl Genet*, 2001, 103:118-123.
- Wu W R (吴为人), Tang D Z (唐定中), Li W M (李维民). Genetis did dection and molecular dissection of quantitative traits. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2000, 26(4):501-506. (in Chinese with English abstract)
- Dilday R H, Mgonja M A, Wells B R. Plant height vs. mesocotyl and elongation in rice: linkage or pleiotropism. *Crop Sci*, 1990, 30:815-818.