

## 栽培稻抗旱性相关性状 QTL 的定位

罗继景<sup>1,2</sup> 黄巍<sup>2,3</sup> 朱瑞良<sup>1</sup> 林鸿宣<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>华东师范大学生命科学学院, 上海 200062; <sup>2</sup>中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 上海 2000032;

<sup>3</sup>兰州大学生命科学学院, 兰州 730000

## QTL Mapping of Drought-resistance of Cultivated Rice

LUO Ji-Jing<sup>1,2</sup>, HUANG Wei<sup>2,3</sup>, ZHU Rui-Liang<sup>1</sup>, LIN Hong-Xuan<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062; <sup>2</sup>Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai

Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032; <sup>3</sup>College of Life Science, Lanzhou University,

Lanzhou 730000

**提要** 就分子标记技术的发展及其应用于栽培稻的抗旱性相关性状 QTL 定位的研究进展作了初步阐述。

**关键词** 分子标记; 栽培稻; 抗旱性; QTL 定位; 研究进展

栽培稻(*Oryza sativa*)是世界约三分之一人口的主要食物来源<sup>[1]</sup>。其栽培环境多种多样,从坡地到低洼地,从富氧的土壤环境到淹水环境,从温带赤道都有种植。全世界约有45%的稻作产区没有灌溉系统<sup>[2]</sup>,随着全球水资源的日益贫乏和旱灾的日趋严重,干旱成了稻作产量的主要限制因素。因此,栽培稻的抗旱性研究显得越来越重要,人们从多方面、多个角度对栽培稻的抗旱性进行研究,其中一个方向是栽培稻的抗旱性分子遗传学的研究。随着分子标记技术的发展并广泛应用于抗旱性的遗传研究,几年来已经应用DNA分子标记技术在栽培稻中定位了很多与抗旱性相关性状的QTL(quantitative trait loci, QTL)。本文就栽培稻抗旱性相关性状 QTL 定位的研究进展作阐述,并对不同遗传背景和不同环境条件下定位的与抗旱性相关性状的主要 QTL 进行比较。

### 1 DNA 分子标记技术在作物 QTL 定位研究中的应用

**1.1 DNA分子标记** 遗传标记是指遗传学中可识别的等位基因,是研究数量性状的重要工具,其主要包括形态标记、细胞学标记、生化标记和DNA标记等几种。随着分子生物学技术的发展,高效的DNA分子标记技术已经成为人们研究数量性状的主要工具,推动了数量性状遗传研究的发展。目前广泛应用的DNA分子标记已经有很多种,根据对DNA多态性的检测手段,DNA标记可分为四大类:(1)基于DNA-DNA杂交的DNA标记,其中最具代表性的是发现最早和应用广泛的限制性片

段长度多态性标记(restriction fragment length polymorphism, RFLP)<sup>[3,4]</sup>;(2)基于PCR技术的DNA标记,其主要包括随机扩增多态性DNA标记(random amplified polymorphism DNA, RAPD)<sup>[5,6]</sup>、简单序列重复标记(simple sequence repeats, SSR)<sup>[7,8]</sup>、序列标签位点标记(sequence-tagged sites, STS)<sup>[9]</sup>等;(3)基于PCR与限制性酶切技术结合的DNA标记,主要包括扩增片段长度多态性标记(amplified fragment length polymorphism, AFLP)<sup>[10]</sup>、扩增酶切多态性序列标记(cleaved amplified polymorphism sequence, CAPS)<sup>[11]</sup>等;(4)基于单核苷酸多态性的DNA标记,如单核苷酸多态性标记(simple nucleotide polymorphism, SNP)。分子标记技术的发展为制作高密度遗传连锁图谱和进行QTL定位提供了基础。

**1.2 栽培稻DNA分子标记连锁图谱的构建** 为了有效地分析利用分子标记所提供的遗传信息和希望知道不同分子标记在染色体上的相对位置或排列情况,就需要构建分子标记连锁图谱。栽培稻遗传图谱的构建较早得到重视并取得了重大进展,迄今为止,已用不同作图群体构建了多幅相当饱和的分子标记连锁图。目前广泛应用的2个连锁图

收稿 2004-05-08 修定 2004-09-30

资助 “973”项目(2003CB114303)和转基因专项(JY03-A-10-02)。

\*通讯作者(E-mail: hxlin@iris.sipp.ac.cn, Tel: 54924129)。

分别是由美国康乃尔大学和日本的RGP构建的。分子连锁图谱在数量性状的遗传研究,尤其是QTL的定位方面广泛应用。QTL定位实质上就是确定与数量性状基因座相连锁的分子标记及其在染色体上的位置,并对其遗传效应进行估算。通过选择不同类型的定位群体和作图方法,定位相关性状的QTL,可以了解其在染色体上的位置,为作物育种和进一步克隆相关性状基因建立基础。自Wang等<sup>[12]</sup>首次用RFLP连锁图定位了水稻对稻瘟病有部分抗性的14个QTL以来,有关水稻QTL定位的研究报道不断增加<sup>[13]</sup>。目前,水稻中几乎所有的重要性状都已进行了QTL定位,这些性状包括生育期、株高及其组成性状、产量及其组成性状、谷粒的外观品质和食味等;同时,国内外在栽培稻抗旱性相关性状的QTL的定位研究方面也有很大的进展,表1是近年来栽培稻抗旱性相关性状的QTL定位的部分结果。

## 2 作物抗旱的生理机制

**2.1 作物的抗旱性和抗旱策略** 抗旱性(drought resistance)是一个总的概念,是很多对作物抗旱有贡献的性状相互作用的特性<sup>[21]</sup>和植物在水分缺乏的环境中的耐受能力的集中体现,它是一个复杂的生理机制。作物主要通过以下途径获得抗旱能力:(1)在水分缺乏的环境中维持较高的含水量;(2)作物在较低的含水量情况下仍能维持正常的生理机能;(3)旱后作物植株的含水量和生理机能的恢复<sup>[28]</sup>。

不同作物由于生长环境及其遗传因素不同,其所采用的抗旱策略也不尽相同,总的来说有4种策略:(1)逃旱性(drought escape),是指作物的生长发育避开干旱时期的机制,作物在水分供应充足的季节里完成生活史中对水分最敏感的阶段,如在适宜的物候条件下作物开花结实完成生活史以避过旱期;(2)避旱性(drought avoidance),是指作物受到干旱胁迫时维持植株较高含水量和维持细胞膨胀的机制,如有发达根系的植物能吸收更多水分或茎叶在受到干旱胁迫时通过叶片卷曲和叶片干枯死亡以降低水分散失和蒸腾以提高植株的抗旱能力;(3)耐旱性(drought tolerance),是指作物在叶片水势降低时能维持植株受到最小伤害的机制,如在相对低的叶片水势下通过渗透调节维持细胞膨

压和生理机能,使植株免受由于水分胁迫造成的伤害;(4)旱后恢复(drought recovery),指旱后作物植株的水分含量及其生理机能恢复的机制,如通过耐脱水<sup>[29]</sup>使作物度过干旱期而幸存下来。

**2.2 栽培稻的主要抗旱策略** 根据栽培稻的生长环境和水分供给模式的不同,人们将栽培稻分为4种类型:灌溉稻(irrigated rice)、浮水稻(flood prone rice)、旱稻(upland rice)和雨育低洼稻(rainfed lowland rice)。生长在不同环境和水分供给模式下的栽培稻所采用的抗旱策略是不同的,旱稻和雨育低洼稻容易受到干旱的威胁,由于它们的生长环境不同,所采用的抗旱策略是不同的。旱稻栽培面积约占全世界栽培稻种植面积的13%<sup>[30]</sup>。旱稻栽培区(upland)的耕地缺乏灌溉系统和淹水条件<sup>[31]</sup>,由于降雨的不确定性和降雨量分布的不均衡性使得生长于这些地区的旱稻频繁面临水分亏缺的威胁。能适应于这一地区的抗旱品种,则能通过发展出深而且粗的发达根系以吸收土壤深层中可用的水分,或者在水分胁迫下通过叶片卷曲和叶片干枯死亡减少水分散失和蒸腾,以维持植株较高的含水量。Turner<sup>[32]</sup>认为能适应于这种地区的品种是粳型(*Japonica*)旱稻,它们采用的是避旱策略。另外,雨育低洼稻栽培面积约占全世界栽培稻种植面积的28%<sup>[33]</sup>。雨育低洼地区(rainfed lowland region)水稻靠雨水灌溉,降雨量及分布情况影响水稻产量,由于降雨的不确定性和雨量分布的不均衡性,这些区域的雨育低洼稻有时也常面临严重的水分亏缺的威胁<sup>[23]</sup>。能适应于这一地区的抗旱品种通常是籼型(*Indica*)水稻<sup>[34,35]</sup>,Turner<sup>[32]</sup>认为能适应于这种地区的雨育低洼稻常采用的是耐旱策略。由于作物生长环境和抗旱策略的复杂性,国际上至今没有建立起一套综合鉴定作物抗旱性的标准系统。但人们在作物抗旱遗传研究中曾做过大量的尝试,如通过调查与抗旱性相关的形态性状(根、茎、叶等)和生理性状(相对含水量、渗透调节和脱落酸等),选择与抗旱性相关的性状来筛选有抗旱性的品系,并进行抗旱性性状相关QTL的定位研究,试图通过筛选与抗旱性相关的性状来探讨栽培稻的抗旱性。

## 3 栽培稻抗旱性相关性状的QTL定位

目前栽培稻抗旱性的QTL定位研究主要以根

表1 栽培稻与抗旱性相关QTL的分子标记定位

性状	定位群体		QTL数	在染色体上的分布												参考文献
	类型	大小		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
根基粗 <sup>1)</sup>	D H	105	5	1	1			2			1				14	
	RI	203	18	2	1	3	2		1	2	2	2	1	1	1	15
	D H	154	6		1	1	1				1	1			1	16
穿透根粗 <sup>2)</sup>	D H	116	6			1							2	2	1	17
	D H	154	11	2	2		1		1	1		2			2	16
	D H	109	4	1		1	1				1	1				18
根穿透指数	RI	202	6		1		1	1	1					2		19
	D H	154	4			1	2								1	16
	D H	109	4		1	1				1	1					18
总根数	RI	202	19	2	1	2	2	1	2	2	1	2		3	1	19
	D H	109	2	1						1						18
	D H	116	10	2	1		1	1	1	1				3		17
穿透根数	RI	202	4	1		1			1						1	19
	D H	109	2		1					1						18
总根干重	D H	105	9	1		1		2	3	1		1				14
	D H	154	5	1	1		1		1				1			16
	D H	127	1		1											20
	D H	116	12	2	1	1		2		1	1	1		2	1	17
深根茎比 <sup>3)</sup>	D H	105	14	2	1		1	2	2	1	2	1			2	14
根茎鲜重比	D H	116	4		1	1			1						1	17
根茎干重比	RI	203	16	2	1	3	2		1	1	1	2	1	1	1	15
	D H	127	3			1		1	1							20
	D H	116	10		1	2	1	1	2		1			2		17
	D H	105	12	2		2	1	2	3		2					14
深根干重	D H	105	12	2		2	1	2	3		2					14
根抗拉力	DH	154	6		1	2	1	1						1		16
穿透根干重	DH	154	3			1					1				1	16
穿透根长	DH	154	1											1		16
最长根长	DH	105	12	3	2	1		1	1	2	1	1				14
	DH	127	4		1		1				1	1				20
	DH	116	4		1	1		1			1					17
分蘖数	RI	202	10	1	1		2		1		1			2	2	19
叶片卷曲度	DH	135	11	2		3	1	1		2		2				21
	RI	203	18	1	4	2	2		2	1	1	1	2	2		15
	F <sub>2</sub>	178	1	1												22
	DH	154	3	1							1			1		23
叶片干枯程度	F <sub>6</sub>	15	4			2		4	1	4						24 <sup>4)</sup>
	D H	135	10	2			2	1	1	1			1	1	1	21
	D H	154	3	1					1		1					23
相对含水量	F <sub>6</sub>	11	2	2	1	1	1	1		1	1			1	1	24
	D H	135	11	3		2		1	2			1			2	21
	D H	154	2	1							1					23
气孔阻力	F <sub>6</sub>	8	1		1	1	1	1		1	1	1				24
	F <sub>2</sub>	178	2		1										1	22
	F <sub>2</sub>	178	1							1						22
渗透调节	RI	52	1								1					25
	B C	142	14	3	1	1	1	2		2	3		1			2
	D H	154	5	1	1	1					1	1				16
致死渗透势	RI	52	4	1		1				1	1					25
冠层温度	D H	154	1		1											23
脱落酸含量	F <sub>2</sub>	79	11		3	2	2			1		1		2		26

1) 离根基部2 cm处测量的根的直径; 2) 在离石蜡-凡士林(wax-petrolatum)板<sup>[27]</sup>下3 mm处测量的根的直径; 3) 离根基部30 cm以外的根的部分; 4) 在trial1、trial2和trial3中所使用的是同一定位群体, 但每一个实验中所用的群体株系数目各不一样, 所以表中未注明群体大小。

形态性状<sup>[14~16, 18, 19]</sup>、叶形态变化特征<sup>[15, 21~24]</sup>、生理特征(脱落酸、渗透调节、相对含水量)<sup>[2, 16, 21, 23~26]</sup>、产量<sup>[23]</sup>等作为抗旱性鉴定指标进行相关性状QTL的定位, 大部分筛选工作还只限于温室(greenhouse)条件下进行。但有些研究者也已着手进行田间实验(field trials)定位与抗旱性相关性状的QTL<sup>[15, 21, 23, 24]</sup>。

**3.1 避旱性相关性状的QTL定位** 栽培稻根系的形态性状、叶片卷曲度(leaf rolling)、叶片干枯程度(leaf drying)、气孔行为(stomatal behavior)、气孔导度(stomatal conductance)和叶片角质层(leaf cuticle)等都与作物避旱性相关。栽培稻品种之间的根系特性有明显的遗传差异<sup>[36~38]</sup>, 某些根系性状有较高的遗传力, 如根粗(root thickness)、根干重(root dry weight)和根长密度(root length density)等遗传力较高, 而根抗拉力(root pulling force)遗传力则较低<sup>[38~40]</sup>; 栽培稻在受到水分胁迫时, 茎叶性状的变化在抗旱性方面也具有显著的遗传差异<sup>[41]</sup>。

近年来, 人们采用分子标记技术对栽培稻的根系性状进行了大量的遗传学研究。Champoux等<sup>[15]</sup>首次用分子标记对根系的形态性状和田间避旱性进行了QTL定位研究。他们所用的群体是由籼型水稻C039和粳型早稻Moroberekan杂交而建立的重组自交系(RI), 以此制作了由127个RFLP标记组成的分子标记连锁图谱, 并在温室内调查了它们的根系形态性状, 发现18个QTL与根粗有关, 16个QTL与根茎干重比(root dry weight/shoot dry weight ratio)有关, 14个QTL与每分蘖根干重(root dry weight per tiller)有关, 8个QTL与深根干重(root dry weight per tiller below 30 cm)有关, 多数QTL可同时影响这4个根系性状。Ray等<sup>[19]</sup>采用石蜡(wax, 60%)和凡士林(petrolatum, 40%)熔合制作而成的5 mm厚的圆板(下文简称石蜡-凡士林板)模拟雨育低洼田的硬质土壤层(hardpans)<sup>[27]</sup>, 以同一群体为材料对水稻根的穿透力(root penetration ability)等根系性状进行了QTL定位, 发现19个QTL与总根数(total root number)有关, 6个控制根穿透指数(root penetration index)的QTL, 10个控制分蘖数(tillers number)的QTL和4个控制穿透石蜡-凡士林板根数(penetrated roots number)的QTL。Yadav等<sup>[14]</sup>用IR64/Azucena的DH群体为材

料进行根形态性状的QTL定位, 发现有9个QTL与总根重(total root weight)相关, 12个QTL与深根干重(deep root dry weight)有关, 14个影响深根干重/茎干重比(deep root dry weight/shoot dry weight ratio)的QTL, 10个控制每分蘖深根干重(deep root dry weight per tiller)的QTL, 12个QTL与最大根长(maximum root length)相关, 5个QTL与根粗相关。Zheng等<sup>[18]</sup>用同一DH群体为材料, 以石蜡-凡士林板模拟雨育低洼田的硬质土壤层, 发现总根数的QTL有2个, 穿透石蜡-凡士林板的根数的QTL有2个, 根穿透指数的QTL有4个, 穿透根粗(penetrated root thickness)的QTL有4个。另外, Zhang等<sup>[16]</sup>以CT9993/IR62266的DH群体为材料, 也是用石蜡-凡士林板模拟雨育低洼田的硬质土壤层, 分别发现根穿透指数、根基粗(basal root thickness)、穿透根粗、根抗拉力、总根干重、穿透根干重和穿透根长(penetrated root length)的QTL分别为4、6、11、6、5、3、1个。

与避旱性相关的茎叶性状(叶片卷曲度、叶片干枯程度和相对含水量等)的QTL定位的研究也做了不少工作。Champoux等<sup>[15]</sup>通过田间实验调查C039/Moroberekan RI群体的3个不同生长时期(幼苗期、营养生长早期和晚期)的避旱情况, 以水分胁迫时叶片卷曲度[叶片卷曲程度以数值1(叶片未卷曲, 抗旱类型)~5(叶片全卷曲, 敏旱类型)来描述]<sup>[41]</sup>作为水稻避旱性指标, 发现控制叶片卷曲度的QTL共有18个。Price等<sup>[22]</sup>用Bala/Azucena的F<sub>2</sub>群体, 定位了1个叶片卷曲度的QTL, 同时发现气孔阻力(stomatal resistance)、气孔关闭速度、气孔关闭最快时间和抽穗期天数的QTL分别为2、1、1、3个。后来, Price等<sup>[24]</sup>又在田间条件下, 用同一群体和两个不同的试验地点[菲律宾国际水稻研究所, International Rice Research Institute (IRRI), Philippines; 西非水稻发展协会, West Africa Rice Development Association (WARDA), Côte, d'Ivoire]在3个不同年份(1996、1997和1998年)进行的实验结果表明, 虽然同一地点不同年份的实验结果的相关性显著(IRRI96和IRRI98之间 $r=0.663^{***}$ ,  $P<0.001$ ), 但两个地点之间的实验结果相关性低。在这一实验里总共定位了15个QTL,

其中1号染色体C949-RZ14上的QTL与先前报道的叶片卷曲度的QTL<sup>[22]</sup>在染色体的同一位置上。另外还定位了11个叶片干枯程度[以数值1(未发现叶片干枯,抗旱类型)~5(叶片全死亡,敏旱类型)来描述]QTL和8个相对含水量(relative water content, RWC)QTL。Courtois等<sup>[21]</sup>在用IR64/Azucena的DH群体所进行的田间实验中(3个地点,2个年份),共发现11个叶片卷曲度的QTL,另外还发现10个叶片干枯程度的QTL和11个相对含水量QTL。Babu等<sup>[23]</sup>用CT9993/IR62266的DH群体为材料,于3个不同试验地点所进行的田间实验中,调查了叶形态、相对含水量、株高、抽穗期、产量等多个指标,发现3个叶片卷曲度的QTL和3个叶片干枯程度的QTL。

**3.2 耐旱性相关性状的QTL定位** 植物在低叶片水势下通过渗透调节(osmotic adjustment, OA)仍然保持其生理功能而表现出耐旱性。渗透调节是一个适应过程,当土壤水分亏缺时,叶片水势降低,细胞内的溶质增加,渗透势降低,维持了细胞的膨压和生理机能,延长了叶片的卷曲和死亡时间,从而能适应不良环境的胁迫<sup>[42]</sup>。栽培稻品种之间的渗透调节能力存在着显著的遗传差异,胁迫时的渗透调节能力大约为0.5~0.6 MPa<sup>[32, 43~45]</sup>。Lilley等<sup>[25]</sup>发现一个基因型个体在相对含水量为70%时的OA可达1.7 MPa,渗透调节能力高的品种表现为耐旱,反之,则表现为敏旱。Lilley等<sup>[25]</sup>在用C039/Moroberekan的RI群体所进行的实验中,于8号染色体上的RG1标记附近定位了一个控制OA的QTL,并在1、3、7、8号染色体上各发现1个致死渗透势(lethal osmotic potential)QTL。Zhang等<sup>[16]</sup>用CT9993/IR62266的DH群体为材料,定位了5个OA的QTL。Robin等<sup>[2]</sup>用IR62266/IR60080的BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>群体为材料定位了14个OA的QTL。这3个不同群体所定位的QTL中,都有一个QTL位于8号染色体上的RG1标记的附近(图1),表明这些QTL可能就是同一个QTL。

**3.3 不同遗传背景和实验条件下抗旱性相关QTL定位的比较** 不同的研究者在QTL定位研究中所用的定位群体不同,其所使用的标记也有很大差异,但其中都用到了些相同的RFLP标记。这些RFLP标记在水稻基因组染色体上的确切位置都

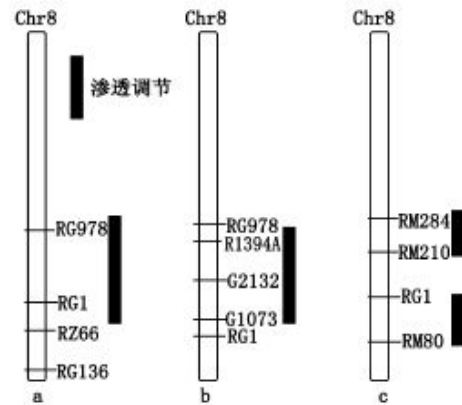


图1 3个不同群体中8号染色体的同一区域所定位的控制渗透调节(OA)的QTL及其附近的RFLP标记

a. C039/Moroberekan的RI群体中定位的控制渗透调节的QTL及其所在区域的标记<sup>[1]</sup>; b. CT9993/IR62266的DH群体中定位的控制渗透调节的QTL及其所在区域的标记<sup>[16]</sup>; c. IR62266/IR60080的BC群体中定位的控制渗透调节的QTL及其所在区域的标记<sup>[2]</sup>。

可在美国康乃尔大学构建的水稻饱和分子标记连锁图谱中查到<sup>[46]</sup>,所以可以参考这个连锁图谱进行比较,以寻找位于染色体同一位置上的QTL。

**3.3.1 根粗和根穿透指数QTL定位的比较** 根粗和根穿透指数是判别作物抗旱能力好坏的重要性状,很多实验室都以这两个性状作为鉴定作物抗旱性的指标。根据比较不同定位群体在不同实验条件下所定位的根粗和根穿透指数QTL的结果,发现控制这两个性状的部分QTL重叠在同一染色体区域。值得关注的染色体区域有2个,1个区域位于1号染色体上(图2)。图2中所示分别是1号染色体的分子标记连锁图谱中的部分标记。在C039/Moroberekan的RI群体的RG101-RG197<sup>[15]</sup>(图2-a)、IR64/Azucena的DH群体的RZ19-RZ801<sup>[14, 18]</sup>(图2-b、d)和CT9993/IR62266的DH群体的RG345-RG957<sup>[16]</sup>(图2-e),分别定位了根粗或穿透根粗QTL。据报道,RG957与RZ19紧密连锁<sup>[46]</sup>,说明CT9993/IR62266的DH群体的RG345-RG957与前3个分子标记连锁图谱的所示区域为同一染色体区域。这表明在4个定位群体的第1号染色体的同一区域都定位到了QTL,但这一区域是存在一因多效的基因还是存在多个紧密连锁的基因,目前还不清楚,尚待进一步深入研究。另外,在以IR64/Azucena的DH群体为材料的定位实验中,

在1号染色体的RZ730标记附近的位置上已定位了一个控制植株半矮化(*semi-dwarf*)的基因*sd-1*。这个基因通过其多效性影响植物形态和生理的很多方面, 如株高、分蘖、穗长、对肥料的响应、生

物量、收成指数<sup>[47, 48]</sup>和根系的形态<sup>[14]</sup>等, 这个基因是否也与水稻的抗旱性有关, 尚需进一步研究。第2个区域位于4号染色体上(图3), 在C039/Moroberekan的RI群体中的RG620-RG214<sup>[15]</sup>(图3-

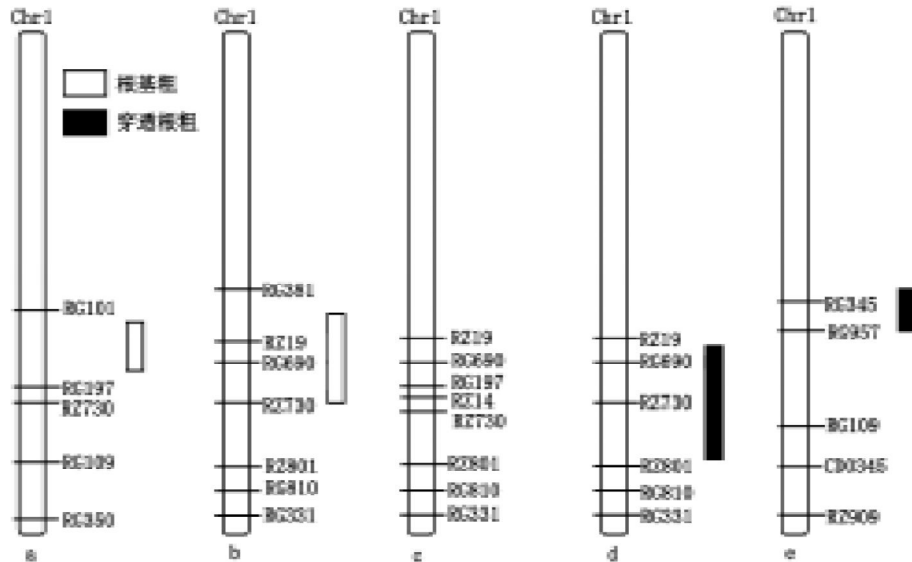


图2 在4个不同群体的1号染色体的同一区域中定位的控制根粗的QTL及其附近的RFLP标记

a. C039/Moroberekan的RI群体中定位的控制根粗的QTL及其所在区域及附近的标记<sup>[15]</sup>; b. IR64/Azucena的DH群体中定位的控制根粗的QTL及其所在区域及附近的标记<sup>[14]</sup>; c. 美国康乃尔大学构建的水稻饱和分子标记连锁图谱中的部分标记<sup>[46]</sup>, 比较时以此图谱作为参考; d. IR64/Azucena的DH群体中定位的控制根粗的QTL及其所在区域及附近的标记<sup>[18]</sup>; e. CT9993/IR62266的DH群体中定位的控制根粗的QTL及其所在区域及附近的标记<sup>[16]</sup>。

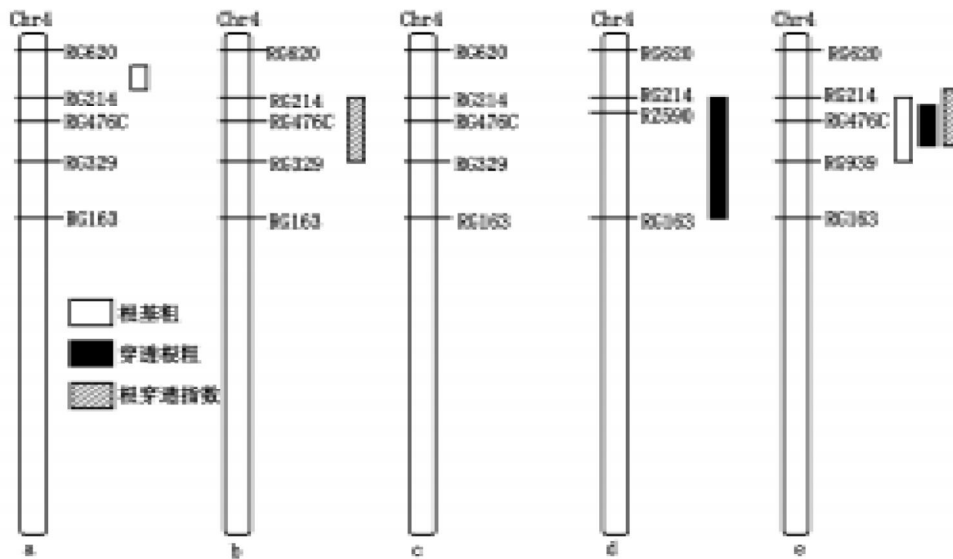


图3 在4个不同群体的4号染色体的同一区域中所定位的控制根粗和根穿透指数的QTL及其附近的RFLP标记

a. C039/Moroberekan的RI群体中定位的控制根粗的QTL及其所在区域及附近的标记<sup>[15]</sup>; b. C039/Moroberekan的RI群体中定位的控制根穿透指数的QTL及其所在区域及附近的标记<sup>[19]</sup>; c. 美国康乃尔大学构建的水稻饱和分子标记连锁图谱中的部分标记<sup>[46]</sup>, 比较时以此图谱作为参考; d. IR64/Azucena的DH群体中定位的控制根粗的QTL及其所在区域及附近的标记<sup>[18]</sup>; e. CT9993/IR62266的DH群体中定位的控制根粗和根穿透指数的QTL及其所在区域及附近的标记<sup>[16]</sup>。

a)和RG214-RG329<sup>[19]</sup>(图3-b)分别定位了根基粗和根穿透指数QTL, IR64/Azucena的DH群体上的RG214-RG163<sup>[18]</sup>(图3-d)定位了穿透根粗QTL, 在CT9993/IR62266的DH群体中的RG214-RG939(图3-e)分别定位了根基粗、穿透根粗和根穿透指数QTL<sup>[16]</sup>。通过对这些分子标记连锁图谱进行比较, 可推测这6个QTL可能是同一基因或是多个基因紧密连锁在一起的。需要说明的是, 以上的结果都是在粳-粳亲本杂交构建的定位群体中获得的。穆平等<sup>[17]</sup>曾以粳-粳亲本杂交构建的定位群体为材料进行根形态性状QTL的定位, 他们虽然没有在上述两个区域中定位到根粗的QTL(未鉴定根穿透力指数), 但在其他染色体上则定位到一些共同的QTL。而有关利用粳-粳亲本杂交构建的定位群体进行根形态性状QTL的定位研究的报道还较少。

**3.3.2 与避旱性相关的茎叶性状的QTL定位的比较** 与避旱性相关的茎叶性状(叶片卷曲度、叶片干枯程度和相对含水量等)QTL的定位研究实验主要是在田间进行的, 用同一定位群体分别于不同试验地点、不同年份或不同的生长时期调查与避旱性相关的茎叶性状, 定位茎叶性状QTL, 然后比较同一试验地点不同年份之间或者同一年份不同试验地点之间定位的QTL, 寻找具有一致性的QTL。Champoux等<sup>[15]</sup>曾在田间实验中, 定位了18个避旱性(叶片卷曲度)QTL, 其中第4号染色体的RG214-RG476C和RG190-RZ69、第8号染色体的RG1-RZ649、第9号染色体的RZ12-RG662和第11号染色体的CD0365-RG211五个区域中, 在3个生长时期中都定位到了QTL。Price等<sup>[24]</sup>发现不同环境条件(IRRI和WARDA)下定位的茎叶性状QTL的一致性低, 而在同一地点不同年份之间的结果一致性较高。通过对定位的结果进行比较, 发现在第1号染色体的C86-RZ14、第3号染色体的RZ474-C136、第5号染色体的C624-C43和第7号染色体的C39-G20都定位到了叶片卷曲度的QTL。而在Courtois等<sup>[21]</sup>的3个实验中, 曾定位了11个叶片卷曲度的QTL, 其中第1号染色体的RZ801-RG331、第5号染色体的RZ67-RZ70和第9号染色体的RZ12-RG451三个染色体区域, 在3个地点的实验中检测到QTL。Babu等<sup>[23]</sup>在3

个地点进行了与抗旱性相关性状QTL的定位实验, 只在其中一个实验中定位到3个叶片卷曲度的QTL。值得注意的是, 在第1号染色体上, IR64/Azucena的DH群体<sup>[21]</sup>中的RZ801-RG331、Bala/Azucena的F<sub>6</sub>群体<sup>[24]</sup>的C86-RZ14及CT9993/IR62266的DH群体<sup>[23]</sup>的RG109-CD0345都定位到了叶片卷曲度的QTL。参考Causse等<sup>[46]</sup>的水稻饱和分子标记连锁图谱, 这3个区域和第1号染色体(图2)上的RG101-RZ730是同一染色体区域, 而这一区域也正是一些根系性状的QTL和*sd-1*基因位点所处的区域, 从而显示这一区域的重要性。另外, 在第5号染色体上, Bala/Azucena的F<sub>6</sub>群体<sup>[24]</sup>的C624-C43和IR64/Azucena的DH群体<sup>[21]</sup>的RZ67-RZ70是处于染色体的同一位置; 在第9号染色体上, C039/Moroberekan的RI群体<sup>[15]</sup>的RZ12-RG662和IR64/Azucena的DH群体<sup>[21]</sup>的RZ12-RG451处于染色体的同一位置上。说明两个染色体区域存在控制避旱性状QTL或基因的可能性是大的, 这些区域值得人们进一步关注。

除了以上的区域外, 其它一些区域也不能忽视, 如C039/Moroberekan的RI群体中2号染色体的RG73-RG322<sup>[19]</sup>和8号染色体的RG1-RZ649<sup>[15]</sup>, IR64/Azucena的DH群体中6号染色体的RG172-RG563<sup>[21]</sup>。在这些区域都已定位到了根系形态性状与避旱性相关性状的QTL, 这些结果证明控制与抗旱性状相关的不同性状的QTL均有聚集在染色体同一位置上的趋势。CT9993/IR62266的DH群体中有相当多的与避旱性相关的茎叶和根形态性状QTL定位在染色体的同一位置上<sup>[23]</sup>。McCouch等<sup>[49]</sup>发现C039/Moroberekan的RI群体中有超过50%的田间实验所定位的与避旱性相关的茎叶性状QTL分别与根形态性状QTL位于或重叠在染色体的同一区域, 它们当中具有同向效应的等位基因都是来自抗旱的粳型品种Moroberekan。通过比较观察, 在不同遗传背景和不同实验条件下都能检测到位于染色体同一区域的位点, 表明这些位点的可靠性较高, 并且它们具有显著提高栽培稻抗旱性的潜力。

#### 4 结束语

人们在大量的抗旱性相关性状的QTL定位研究中, 定位了很多相关QTL。但由于栽培稻的生

长环境和抗旱机制的复杂性以及两者之间存在着复杂的相互作用,所以在不同遗传背景和不同实验条件下抗旱性相关性状的QTL的一致性比较少。Price等<sup>[24]</sup>在两个试验地点中用同一水稻定位群体为材料鉴定抗旱性相关性状并进行QTL定位时,发现同一种性状在两个试验地点之间的相关性很低,一种性状在一种环境中与抗旱性相关,而在另一种环境中却与抗旱性不存在相关性,说明在不同环境条件下栽培稻的抗旱机制和所采用的抗旱策略并不相同,不同环境中对水稻抗旱性起作用的遗传成分不同。正因为如此,所以难以建立一套综合鉴定作物抗旱性的标准系统,因而成了抗旱性QTL研究的“瓶颈”。由于可靠的抗旱性相关性状的QTL比较少,所以进一步进行QTL精细定位的研究或直接以这些QTL来进行抗旱育种的报道也很少。近年来,在水稻抗旱性相关性状的QTL的定位研究中虽然已积累了一些实验数据,但仍需要更深入研究。Courtois等<sup>[21]</sup>认为,在分子标记辅助选择(marker assisted selection, MAS)育种研究中,虽然已经验证了干旱胁迫下所定位的抗旱性相关QTL中的等位基因在特定实验条件下(环境)能够提高栽培稻的抗旱性,但还不能预测这些QTL中的等位基因在各种干旱环境条件下都能够提高栽培稻的抗旱性。因此,需要进一步调查目前所用的与抗旱性相关的性状或者发现与栽培稻抗旱性相关的新的性状,在不同环境、同一季节或不同季节中用同一遗传背景的定位群体进行实验,以定位相关QTL;另外,对不同研究者的实验结果应进行分析比较,从不同遗传背景、不同环境条件和季节下定位QTL的数据中寻找他们所定位的可靠位点。这些位点的发现将会促进下一步的研究,如利用这些可靠的位点进行分子标记辅助选择培育抗旱新品种,或者构建近等基因系(near-isogenic lines, NIL)和替换系(chromosome segment substitution lines, CSSL)进行相关QTL的精细定位,从而最终为克隆抗旱基因奠定基础。

### 参考文献

- Lilley JM, Ludlow MM. Expression of osmotic adjustment and dehydration tolerance in diverse rice lines. *Field Crop Res*, 1996, 48:185~197
- Robin S, Pathan MS, Courtois B et al. Mapping osmotic adjustment in an advanced back-cross inbred population of rice. *Theor Appl Genet*, 2003, 107:1288~1296
- Botstein D, White RL, Skolnicj M et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am J Hum Genet*, 1980, 32:314~331
- McCouch SR, Kochert G, Yu ZH et al. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor Appl Genet*, 1988, 76:815~829
- Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl Acid Res*, 1990, 18:7213~7218
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acid Res*, 1990, 18:6532~6535
- Wu KS, Tanksley SD. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. *Mol Gen Genet*, 1993, 241:225~235
- McCouch SR, Chen X, Panaud O et al. Microsatellite markers development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Mol Biol*, 1997, 35:89~99
- Olson M, Hood L, Cantor C et al. A common language for physical mapping of the human genome. *Science*, 1989, 245:1434~1435
- Vos P, Hogers R, Bleeker M et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acid Res*, 1995, 23:4407~4414
- Konieczny A, Ausubel FM. A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant J*, 1993, 4(2):403~410
- Wang GL, Mackill DJ, Bonman JM et al. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. *Genet*, 1994, 136:1421~1434
- Yano M, Sasaki T. Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. *Plant Mol Biol*, 1997, 35:145~153
- Yadav R, Courtois B, Huang N et al. Mapping genes controlling root morphology and root distribution in a doubled-haploid population of rice. *Theor Appl Genet*, 1997, 94:619~632
- Champoux MC, Wang G, Sarkarung S et al. Locating genes associated with root morphology and drought avoidance in rice via linkage to molecular markers. *Theor Appl Genet*, 1995, 90:969~981
- Zhang J, Zheng HG, Aarti A et al. Locating genomic regions associated with components of drought resistance in rice: comparative mapping within and across species. *Theor Appl Genet*, 2001, 103:19~29
- 穆平, 李自超, 李春平等. 旱稻根系性状与抗旱性相关分析及其QTL定位. *科学通报*, 2003, 48(20):2162~2169
- Zheng HG, Babu RC, Pathan MS et al. Quantitative trait loci for root-penetration ability and root thickness in rice: comparison of genetic backgrounds. *Genome*, 2000, 43:53~61
- Ray JD, Yu L, McCouch SR et al. Mapping quantitative trait



- loci associated with root penetration ability in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1996, 92:627~636
- 20 徐吉臣, 李晶昭, 郑先武等. 苗期水稻根部性状的QTL定位. *遗传学报*, 2001, 28(5):433~438
- 21 Courtois B, McLaren G, Sinha PK et al. Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice. *Mol Breed*, 2000, 6:55~66
- 22 Price AH, Yong EM, Tomos AD. Quantitative trait loci associated with stomatal conductance, leaf rolling and heading date mapped in upland rice (*Oryza sativa*). *New Phytol*, 1997, 137:83~91
- 23 Babu RC, Nguyen BD, Chamarek V et al. Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: association between secondary traits and field performance. *Crop Sci*, 2003, 43(4):1457~1469
- 24 Price AH, Townend J, Jones MP et al. Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. *Plant Mol Biol*, 2002, 48:683~695
- 25 Lilley JM, Ludlow MM, McCouch SR et al. Locating QTLs for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice. *J Exp Bot*, 1996, 47:1427~1436
- 26 Quarrie SA, Laurie DA, Zhu JH et al. QTL analysis to study the association between leaf size and abscisic acid accumulation in droughted rice leaves and comparisons across cereals. *Plant Mol Biol*, 1997, 35:155~165
- 27 Yu LX, Jeffery DR, O'Toole J et al. Use of wax-petrolatum layers for screening rice root penetration. *Crop Sci*, 1995, 35:684~687
- 28 Turner NC. Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants. New York:Wiley, 1979. 343~372
- 29 Blum A. Evidence for genetic variability in drought. In: *Drought Resistance in Crops with Emphasis on Rice*. Manila, Philippines:IRRI, 1982. 53~70
- 30 David CC. The world rice economy: challenges ahead. In: Khush GS, Toenniessen GH (eds). *Rice Biotechnology*. Manila, Philippines:IRRI, 1991. 1~18
- 31 Oldeman LR, Woodhead T. Physical aspects of upland rice environments. In: *Progress in Upland Rice Research*. Manila, Philippines:IRRI, 1986. 3~5
- 32 Turner NC. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Aust J Plant Physiol*, 1986, 13:175~190
- 33 Khush GS. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Mol Biol*, 1997, 35:25~34
- 34 Glaszmann JC. A varietal classification of Asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.) based on isozyme polymorphism. In: *Rice Genetics*. Los Banos, Philippines:IRRI, 1985. 83~90
- 35 Dingkuhn M, De Datta SK, Dorffling K et al. Varietal differences in leaf water potential, leaf net CO<sub>2</sub> assimilation, conductivity and water use efficiency in upland rice. *Aust J Agr Res*, 1989, 40:1183~1192
- 36 Pérez-Molphe-Balch E. Effects of water stress on plant growth and root proteins in three cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) with different levels of drought tolerance. *Physiol Plant*, 1996, 96:284~290
- 37 Maurya DM, O'Toole J. Screening upland rice for drought tolerance. In: *Progress in Upland Rice Research. A Proceeding of the 1985 Jakarta Conference*. Laguna, Philippines:IRRI, 1986
- 38 Ehanayake IJ, O'Toole J, Garrity D et al. Inheritance of root characters and their relations to drought resistance in rice. *Crop Sci*, 1985, 25:927~933
- 39 Ehanayake IJ, Garrity D, Masajo T et al. Root pulling resistance in rice, inheritance and association with drought tolerance. *Euphytica*, 1985, 34:905~913
- 40 Thanh ND, Zheng H, Dong NV et al. Genetic variation in root morphology and microsatellite DNA loci in upland rice (*Oryza sativa* L.) from Vietnam. *Euphytica*, 1999, 105:43~51
- 41 O'Toole J, Cruz RT. Response of leaf water potential, stomatal resistance, and leaf rolling to water stress. *Plant Physiol*, 1980, 65:428~432
- 42 Fukai S, Cooper M. Development of drought-resistance cultivars using physio-morphological traits in rice. *Field Crops Res*, 1995, 40:67~86
- 43 Hsiao TC, O'Toole J, Yambao EB et al. Influence of osmotic adjustment on leaf rolling and tissue death in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol*, 1984, 75:338~341
- 44 Culter JM, Shahan KW, Steponkus PL. Alteration of internal water relations of rice in response to drought hardening. *Crop Sci*, 1980, 20:307~310
- 45 Steponkus PL, Shahan KW, Culter JM. Osmotic adjustment in rice. In: *Drought Resistance in Crops with Emphasis on Rice*. Los Banos, Laguna, Philippines:IRRI, 1982. 181~194
- 46 Causse M, Fulton TM, Cho YG et al. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genet*, 1995, 138:1251~1274
- 47 Xia BS, Hanada K, Kizuchi F. Character expression of the semi-dwarfism gene sd-1 in rice. Effect of nitrogen levels on the expression of some agronomic characteristics. *Jpn J Crop Sci*, 1991, 60:36~41
- 48 Courtois B, Huang N, Guiderdoni E. RFLP mapping of genes controlling yield components and plant height in an indica x japonica doubled haploid population. In: *Proceedings of the International Rice Research Conference*. Los Banos, Philippines:IRRI, 1995. 963~976
- 49 McCouch SR, Doerge RW. QTL mapping in rice. *Trends Genet*, 1995, 11:482~487