

贾佩陇, 李彪, 黎明辉, 等. 基于水稻染色体片段代换系的苗期耐低氮 QTL 分析[J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(4): 16-24.
JIA Peilong, LI Biao, LI Minghui, et al. QTL analysis of low nitrogen tolerance in rice seedlings based on chromosome segment substitution lines[J]. Journal of South China Agricultural University, 2019, 40(4): 16-24.

基于水稻染色体片段代换系的苗期耐低氮 QTL 分析

贾佩陇¹, 李 彪², 黎明辉², 刘剑斌², 李容柏^{1,3}, 罗继景^{2,3}

(1 广西大学 农学院, 广西南宁 530004; 2 广西大学 生命科学与技术学院, 广西南宁 530004;
3 广西大学 亚热带生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西南宁 530004)

摘要:【目的】通过定位与水稻 *Oryza sativa* 耐低氮相关的数量性状位点 (QTL), 为今后相关基因的精细定位、克隆以及功能研究奠定基础, 也为耐低氮水稻品种的培育提供理论参考。【方法】以 Koshihikari (受体) 和 Nona Bokra (供体) 为亲本构建的全基因组单片段代换系作为研究材料, 在水稻苗期进行低氮胁迫处理, 对水稻株高、根长、根鲜质量、根干质量、茎叶鲜质量、茎叶干质量、总鲜质量、总干质量共 8 个表型进行相对损失比分析和 QTL 定位。【结果】定位到 2 个与水稻低氮胁迫耐受相关的位点, 分别是 *qRL1-1* 和 *qRFW2-1*, 这 2 个 QTL 位点分别在低氮胁迫下控制水稻根长和根鲜质量。其中, *qRL1-1* 定位于 1 号染色体 M1-29 标记附近, LOD 值为 2.89, 可解释的表型变异为 11.23%; *qRFW2-1* 定位于 2 号染色体 M2-225 标记附近, LOD 值为 2.53, 可解释的表型变异为 9.90%。其他 6 个表型未检测到相关位点。【结论】初步定位了与低氮胁迫下控制水稻根长、根鲜质量相关基因, 为进一步的基因精细定位奠定基础。

关键词: 水稻; 单片段代换系; 苗期; 耐低氮; QTL 定位
中图分类号: S511; Q311.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2019)04-0016-09

QTL analysis of low nitrogen tolerance in rice seedlings based on chromosome segment substitution lines

JIA Peilong¹, LI Biao², LI Minghui², LIU Jianbin², LI Rongbai^{1,3}, LUO Jijing^{2,3}

(1 College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530004, China; 2 College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China; 3 State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: 【Objective】 To map the quantitative trait loci (QTL) associated with low nitrogen tolerance in rice (*Oryza sativa*), provide a basis for future fine mapping, cloning and functional characterization of related genes and offer theoretical references for breeding of low nitrogen tolerant rice. 【Method】 A set of chromosomal segment substitution lines which was constructed by crossing Koshihikari (recurrent parent) and Nona Bokra (donor parent) were used as test materials. Low nitrogen stress treatment was applied at rice seedling stage. The relative loss ratios of eight phenotypes including rice plant height, root length, root fresh weight, root dry weight, shoot fresh weight, shoot dry weight, total fresh weight and total dry weight were analyzed, and QTL mapping was performed. 【Result】 Two loci related to low nitrogen tolerance of rice were successfully mapped. These two QTLs were *qRL1-1* and *qRFW2-1* which were related to root length and root fresh weight respectively under low nitrogen stress. *qRL1-1* was closed to the M1-29 marker on chromosome 1 with a LOD

score of 2.89 and explained about 11.23% of total phenotypic variance. *qRFW2-1* was closed to the M2-225 marker on chromosome 2 with a LOD score of 2.53 and explained about 9.90% of total phenotypic variance. No loci was found for other six phenotypic indexes. 【Conclusion】 QTLs related to root length and root fresh weight under low nitrogen stress are mapped, which lays the foundation for further genetic fine mapping and cloning of the underlying genes.

Key words: *Oryza sativa*; chromosomal segment substitution line; seedling stage; low nitrogen tolerance; QTL mapping

水稻 *Oryza sativa* 是我国重要的粮食作物之一, 在水稻种植过程中肥料的施加是必不可少的^[1]。其中氮素在植物生长发育中具有不可替代的作用, 氮素参与植物叶绿素、维生素、能量等的合成^[2], 氮素的多少直接影响植物的生长发育。提高氮肥的利用效率可以在一定程度上减少氮肥的施加, 同时也可减少因过量施加氮肥对水源、土壤、大气环境等造成的危害^[3]。耐低氮的水稻品种可以在氮素较低条件下, 提高自身对氮素的利用效率, 维持自身的正常生长, 减少水稻对氮肥的依赖性, 改善因过量施加氮肥所造成的环境危害, 因此水稻耐低氮基因的研究变得尤为重要。

植物耐低氮的遗传机制较为复杂, 可能受到多个不同途径的基因调控。*OsAMT1.4* 与 *OsAMT5* 基因的克隆揭示了氨转运蛋白在 NH_4^+ 吸收和转运过程中的重要性^[4]; *DEP1* 编码与磷脂酰乙醇胺结合蛋白有类似功能域的蛋白, 调控水稻产量性状并影响氮素的利用效率, 提高水稻在低氮条件下的耐受能力^[5]; 转录因子 *Dof1* 通过影响植物的氮素同化过程来改善植物在低氮环境下对氮素的利用效率, 增加体内氮素含量, 促进生长^[6]。研究者们在水稻耐低氮的研究方面做了大量工作, 定位了许多与低氮胁迫相关的数量性状位点 (QTL), Shan 等^[7] 利用‘珍汕 97A’与‘明恢 63’杂交构建的重组自交系作为材料, 在水稻 6 号染色体定位到 1 个与氮素利用率相关的 QTL 位点; 王彦荣等^[8] 利用 *kasalath/koshihikari* 重组自交系群体在 6、7、8、9 号染色体上定位到 10 个与耐低氮相关性状位点; 方萍等^[9] 利用重组自交系群体, 在第 2、5、6、12 号染色体上检测到 5 个与氮素吸收效率相关的 QTL 位点。但多数研究以重组自交系为材料, QTL 效应分析易受背景干扰, 为了避免这种情况, 本研究采用染色体单片段代换系作为试验材料, 可以大大减少或者清除背景片段的影响。而且不需要复杂的统计分析, 基因定位更加可靠。同时为了模拟低氮环境, 本研究以水培的方式进行处理, 通过在水稻完全培养液中减少氮素的含量来达到低氮的目的。水培培养可以满足水稻

在苗期的正常生长发育, 此法简单易行, 利于变量的控制, 不受季节影响, 重复性强。

本研究以 *Koshihikari* (受体) 和 *Nona Bokra* (供体) 构建的染色体单片段代换系 SN 群体作为材料, 进行低氮处理, 定位与水稻苗期耐低氮相关性状的 QTL, 以期以后水稻苗期耐低氮相关性状的 QTL 精细定位、图位克隆以及功能研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以 *Koshihikari* (下文用 *Koshi* 表示) 为父本, *Nona Bokra* (下文用 *Nona* 表示) 为母本经过多次回交并配合分子标记辅助选择构建的染色体单片段代换系 SN 群体为材料, 该 SN 群体材料由中国科学院上海植物生理生态研究所林鸿宣院士馈赠。其中 *Koshi* 为轮回亲本, *Nona* 为供体亲本, 代换系 SN 群体包含 154 个株系。

1.2 水稻培养和低氮处理

取 SN 群体各株系及亲本饱满的种子 100 粒, 放于含有滤纸的培养皿中, 采用 30 g/L 的 H_2O_2 溶液消毒 10 min, 蒸馏水冲洗 3~4 次, 然后加入适量的蒸馏水置于 30 °C 恒温培养箱中进行暗培养。培养 3 d 后选取发芽一致的种子 40 粒, 移栽到 96 孔塑料板中, 并将板放于避光的杯型容器上, 在容器中加入适量的蒸馏水淹没种子, 放于温室中培养。幼苗生长 3~5 d 后, 将蒸馏水更换为水稻完全培养液, 水稻完全培养液的配制参照国际水稻所配方^[10], 每 3 d 更换 1 次完全培养液。待幼苗长到三叶期时 (30 d), 首先进行亲本低氮差异耐受浓度的筛选, 以水稻完全培养液中的氮素含量为标准 (以 NH_4NO_3 质量浓度计算), 正常水平的 NH_4NO_3 质量浓度为 80.00 mg/L。在正常水平下进行 10、100、200 和 500 倍稀释来模拟低氮环境, 分别对应于 8.00、0.80、0.40 和 0.16 mg/L 的 NH_4NO_3 。通过对亲本在不同低氮水平下的表型分析, 计算各个表型的相对变化值 (处理组/对照组), 寻找合适的低氮处理浓度。待低氮处理浓度确定后, SN 群体在该低氮浓度

下进行处理, 每 3 d 更换 1 次低氮培养液, 在处理 14 d 后停止培养, 取每个株系的对照组和处理组各 3 株长势相当的幼苗, 测量每株的株高、根长、茎叶鲜质量和根鲜质量, 然后将苗和根放入称量瓶中, 做好标记, 放入电热恒温干燥箱中, 110 ℃ 杀青 30 min, 80 ℃ 烘干 4 d, 恒质量后, 称量茎叶干质量和根干质量。考虑到不同水稻品种生长差异, 本研究以相对损失比来进行统计分析, 并按照公式计算相对损失比: 相对损失比=1-(处理组/对照组)。以上试验均在广西大学亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室内进行。

1.3 水稻表型统计分析

利用 Excel 2010 软件对低氮处理前后的相关表型进行统计分析, 运用 IBM SPSS Statistics 23 软件对不同表型与低氮浓度的相关性进行分析, 采用 LSD 法对 2 个亲本不同表型在不同低氮浓度下的统计数据进行组内多重比较, 同一浓度数据进行组间 student *t* 检验。

1.4 构建遗传连锁图谱

将统计的表型与 SN 群体的基因型导入到 QTL IciMapping 4.1.0^[41] 中, 运用 QTL mapping in CSS lines 算法进行 QTL 分析。根据排列测验 Permutations=1 000, *P*=0.001, 确定选取 LOD 值≥2.5 作为检测 QTL 的阈值, 计算出 QTL 的加性效应和可解释的表型变异范围。QTL 命名遵循 McCouch 等^[42] 的原则。利用 Mapchart 2.3 软件进行染色体遗传图谱构建。

2 结果与分析

2.1 亲本低氮差异耐受浓度的筛选

为了寻找适合的低氮浓度, 本研究将氮浓度分为 5 个水平。在不同低氮浓度下, Koshi 与 Nona 表型相比于对照组出现了一定的差异性 (图 1)。通过对不同氮素浓度与表型的相关性分析 (表 1), 发现 2 个亲本的根长、茎叶鲜质量、茎叶干质量、总鲜质量都表现出与氮素浓度极显著相关。除此之外, Koshi 的株高、根鲜质量、根干质量、总干质量与氮素浓度也表现出极显著相关, 而 Nona 的相应表型变化则与氮素浓度不相关, 可能 Nona 在株高、根鲜质量、根干质量、总干质量表型方面受低氮影响较弱或不受其影响。当水稻培养液中 NH₄NO₃ 质量浓度为 0.4 mg/L 时, Nona 在相对根长、茎叶鲜质量、根鲜质量、根干质量、总鲜质量、总干质量等 6 个表型相比 Koshi 显著增加。Nona 表现出较强的适应能力, 各表型相比对照组变化较小, 低氮耐受能力较强, 而 Koshi 则受低氮影响较大, 5 个表型相比对

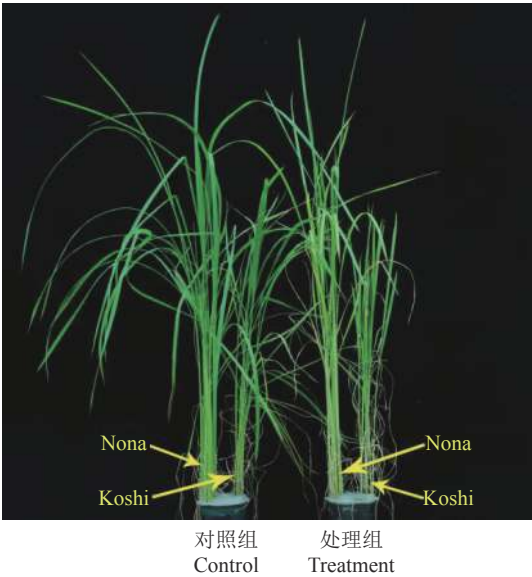


图 1 亲本对照组与低氮处理组表型

Fig. 1 Parental phenotypes of low nitrogen treatment (0.4 mg/L NH₄NO₃) and control groups

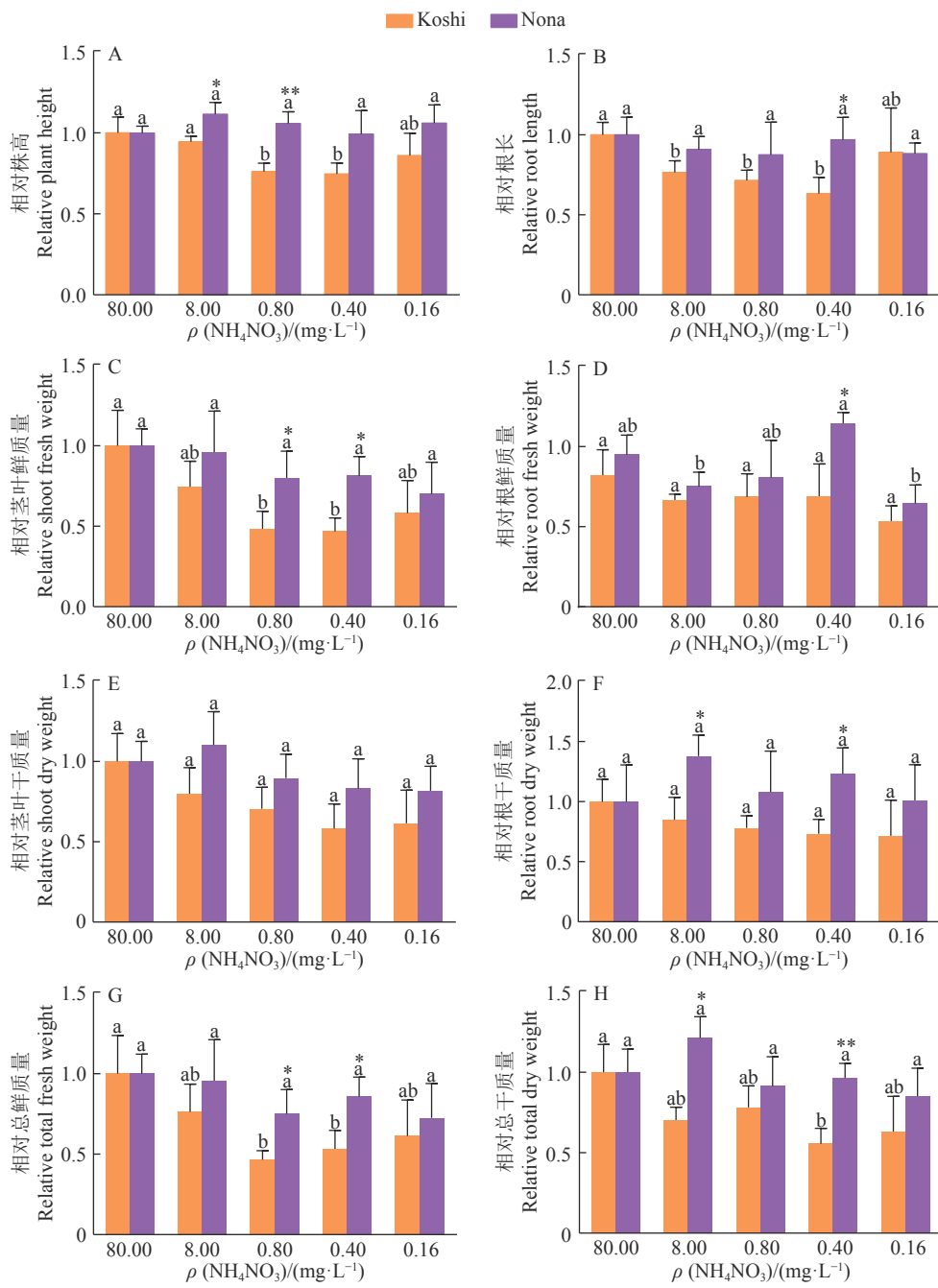
表 1 亲本表型与氮素浓度相关性分析

Table 1 Correlation analysis between parental phenotype and nitrogen level

亲本 Parent	表型 Phenotype	Pearson 相关系数 ¹⁾ Pearson correlation coefficient		<i>P</i>
Koshi	株高 Plant height	0.732**		0.002
	根长 Root length	0.776**		0.001
	茎叶鲜质量 Shoot fresh weight	0.880**		0.000
	根鲜质量 Root fresh weight	0.743**		0.002
	茎叶干质量 Shoot dry weight	0.850**		0.000
	根干质量 Root dry weight	0.666**		0.007
	总鲜质量 Total fresh weight	0.873**		0.000
	总干质量 Total dry weight	0.821**		0.000
Nona	株高 Plant height	-0.125		0.658
	根长 Root length	0.775**		0.001
	茎叶鲜质量 Shoot fresh weight	0.707**		0.003
	根鲜质量 Root fresh weight	0.308		0.264
	茎叶干质量 Shoot dry weight	0.707**		0.003
	根干质量 Root dry weight	0.014		0.960
	总鲜质量 Total fresh weight	0.652**		0.008
	总干质量 Total dry weight	0.029		0.918

1) “*” 和 “**” 分别表示在 0.05 和 0.01 水平显著相关
1) “*” and “**” represent significant correlation at 0.05 and 0.01 levels respectively

照组显著降低 (图 2)。因此, 选取含有 0.4 mg/L NH₄NO₃ 的水稻低氮培养液用于 SN 群体处理, 进行下一步耐低氮 QTL 分析。



各图中, 相同颜色柱子上方的不同的小写字母表示 Koshi 或 Nona 组内差异显著 ($P < 0.05$, LSD 法); “*” 和 “**” 分别表示同一 NH_4NO_3 质量浓度的 Koshi 与 Nona 组间差异达到 0.05 和 0.01 的显著水平 (t 检验)

In each figure, different lowercase letters on bars of the same color indicate significant difference in Koshi or Nona group ($P < 0.05$, LSD method); “*” and “**” represent significant difference between Koshi and Nona groups of the same NH_4NO_3 content at 0.05 and 0.01 levels respectively (t test)

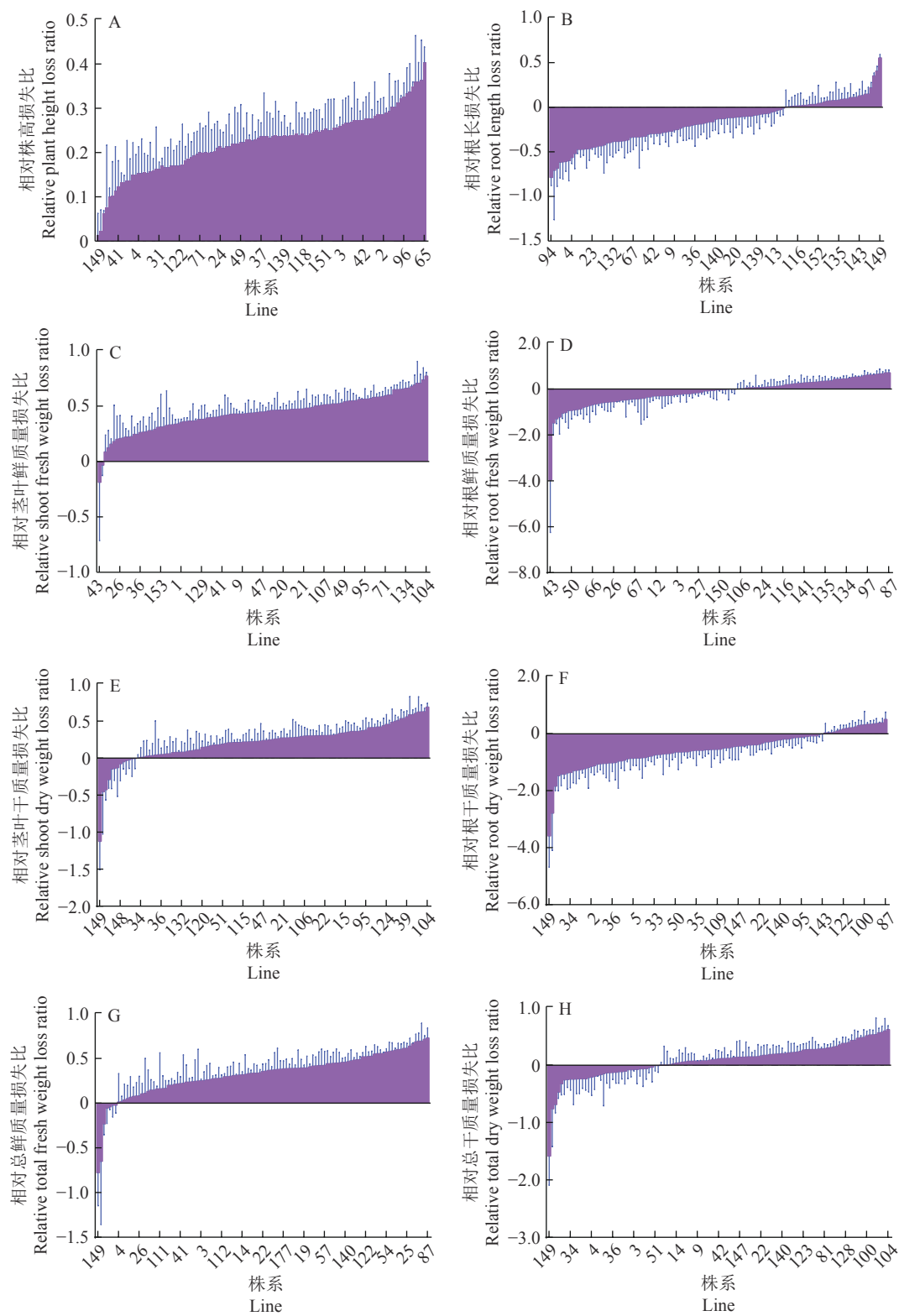
图 2 亲本合适低氮浓度筛选

Fig. 2 Selection of suitable low nitrogen level for parents

2.2 SN 群体低氮处理表型分析

SN 群体在低氮 (0.4 mg/L NH_4NO_3) 处理后, 各株系在株高、根长、根鲜质量、根干质量、茎叶鲜质量、茎叶干质量、总鲜质量、总干质量等 8 个表型均存在差异 (图 3)。其中, 低氮处理后多数株系在株高、茎叶鲜质量、茎叶干质量等方面出现明显下降, 相对损失量较多, 在茎叶鲜质量、茎叶干质量两种表型中则有极少数株系呈现增长趋势 (图 3C、3E), 如

株系 43(相对茎叶鲜质量损失比-0.187, 相对茎叶干质量损失比-0.453) 等, 相比对照组有所增加; 而根长、根鲜质量、根干质量等表型在低氮胁迫后多数株系呈现增长趋势, 在根长、根干质量与根鲜质量 3 个表型中少数株系相比对照组损失量较多 (图 3B、3D、3F), 如株系 87(相对根长损失比 0.407, 相对根干质量损失比 0.506, 相对根鲜质量损失比 0.714)、88(相对根长损失比 0.352, 相对根干质量损失比



图中紫色部分为 SN 群体表型损失比，蓝色部分为误差线
The purple part in figure is the phenotypic loss ratio of SN group, and the blue part is the error bar

图 3 SN 群体在低氮胁迫下不同表型值的损失比

Fig. 3 The loss ratios of different phenotypes under low nitrogen stress among SN population

0.378, 相对根鲜质量损失比 0.615) 等, 可能在这 2 个株系中存在与根部低氮敏感相关基因, 而株系 43(相对根长损失比-0.706, 相对根干质量损失比-2.791, 相对根鲜质量损失比-3.950)、44(相对根长

损失比-0.615, 相对根干质量损失比-1.298, 相对根鲜质量损失比-1.057) 在低氮条件下相比对照组增加量较多; 多数株系总鲜质量以及总干质量在低氮胁迫后出现下降趋势, 总鲜质量表型中只有极少数

株系相对增长 (图 3G), 如株系 43(相对总鲜质量损失比-0.650)、39(相对总鲜质量损失比-0.232) 等, 而总干质量表型中有近 1/3 株系相比对照组有所增加 (图 3H)。综合以上群体表型分析, 发现在低氮条件下株系 43 的茎叶鲜质量 (相对损失比-0.187)、茎叶干质量 (相对损失比-0.453)、根长 (相对损失比-0.706)、根鲜质量 (相对损失比-3.950)、根干质量 (相对损失比-2.791)、总鲜质量 (相对损失比-0.650)、总干质量 (相对损失比-0.760) 等 7 个表型相比对照组都有增长趋势, 表现出较强的低氮耐受能力; 而株系 87(相对株高损失比 0.363, 相对根长损失比 0.407, 相对茎叶鲜质量损失比 0.736, 相对茎叶干质量损失比 0.623, 相对根鲜质量损失比 0.714, 相对根干质量损失比 0.506, 相对总鲜质量损失比 0.730, 相对总干质量损失比 0.595)、88(相对株高损失比 0.276, 相对根长损失比 0.352, 相对茎叶鲜质量损失比 0.678, 相对茎叶干质量损失比 0.508, 相对根鲜质量损失比 0.615, 相对根干质量损失比 0.378, 相对总鲜质量损失比 0.665, 相对总干质量损失比 0.478) 的 8 个表型均相比对照组有较多损失, 表现出低氮敏感表型 (图 4)。其他株系在不同的表型相比对照组表现出不同的增加或损失, 一些根长、根鲜质量、根干质量增加的株系在总鲜质量与总干质量表型中也表现出增长趋势, 如株系 34、43、44 等, 但这些株系中只有少数在茎叶鲜质量、茎叶干质量中表现出增长趋势, 可能在低氮条件下根部的增长只能满足极少数株系茎叶对养分的需求, 而大多数株系则不能满足, 导致多数株系茎叶鲜质量、茎叶干质

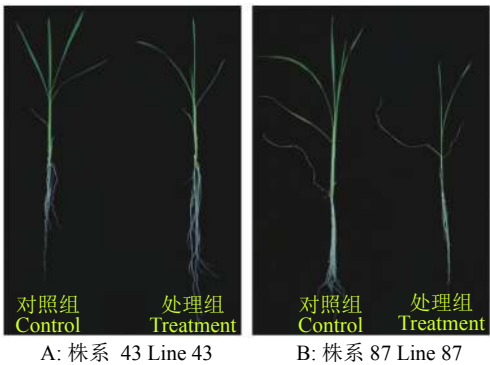


图 4 株系 43、87 在低氮胁迫下的处理组与对照组表型
Fig. 4 Phenotypes of line 43 and line 87 of the treatment and control groups under low nitrogen stress

量的减少; 大部分茎叶鲜质量、茎叶干质量增加的株系在总鲜质量与总干质量表型中表现出增长趋势, 如株系 25、39、43 等, 这些株系在根鲜质量、根干质量表型中也表现出相应的增长趋势; 多数根鲜质量、茎叶鲜质量损失较多的株系在根干质量、茎叶干质量、总鲜质量、总干质量也表现出较多损失, 如株系 80、87、88、104 等, 在低氮条件下根部与茎叶的鲜质量损失会影响整个植株的生长情况; 总鲜质量、总干质量增加的株系在茎叶鲜质量、茎叶干质量表型中也表现出增长趋势, 如株系 25、39、43、149 等, 但在根鲜质量、根干质量表型中只有少数株系出现增长趋势, 如株系 39、43 等, 而在总鲜质量、总干质量损失较多的株系中, 大多数株系在其他 6 个表型中均出现较多损失。低氮胁迫后株系中多个表型出现相似的变化趋势, 各表型变幅与变异系数调整到可接受范围内 (表 2), 为接下来的 QTL 分析提供一定基础。

表 2 低氮胁迫下 SN 代换系群体表型分析

Table 2 Analysis of the phenotypes in the chromosomal segment substitution lines of SN population under low nitrogen stress

表型 Phenotype	对照 (80.00 mg/L NH ₄ NO ₃)			低氮处理(0.40 mg/L NH ₄ NO ₃)		
	Control			Low N treatment		
	平均值 Mean	变异范围 Variation range	变异系数/% Variation coefficient	平均值 Mean	变异范围 Variation range	变异系数/% Variation coefficient
株高/cm Plant height	43.886	28.500~56.766	9.61	33.690	26.333~43.200	9.96
根长/cm Root length	21.648	17.433~28.433	11.30	25.317	18.900~33.333	12.68
茎叶鲜质量/g Shoot fresh weight	0.613	0.446~0.817	13.15	0.326	0.223~0.496	14.33
根鲜质量/g Root fresh weight	0.170	0.135~0.231	13.11	0.178	0.135~0.242	14.73
茎叶干质量/g Shoot dry weight	0.094	0.075~0.113	11.68	0.073	0.047~0.094	14.16
根干质量/g Root dry weight	0.020	0.015~0.025	13.28	0.034	0.025~0.043	14.67
总鲜质量/g Total fresh weight	0.099	0.077~0.131	10.80	0.076	0.053~0.101	13.36
总干质量/g Total dry weight	0.111	0.075~0.146	14.31	0.105	0.076~0.128	13.82

2.3 水稻苗期低氮胁迫相关基因 QTL 分析

以相对损失比作为指标, 对 8 个相关表型进行 QTL 分析, 共定位到 2 个与低氮胁迫相关的位点, 分别位于 1 号染色体和 2 号染色体 (图 5)。其中 1 个与根长相关耐低氮位点 (*qRLI-1*) 定位于 1 号染色体 M1-29 引物附近, LOD 值为 2.89, 可解释的表型变异为 11.23%, 加性效应值为负数, 等位基因来源

源于亲本 Koshi。另一个与根鲜质量相关耐低氮位点 (*qRFW2-1*) 定位于 2 号染色体 M2-225 引物附近, LOD 值为 2.53, 可解释的表型变异为 9.90%, 加性效应值为负数, 等位基因来源于亲本 Koshi(表 3)。其他 6 个表型低氮处理后的相对损失比 QTL 分析, 未检测到耐低氮相关位点。

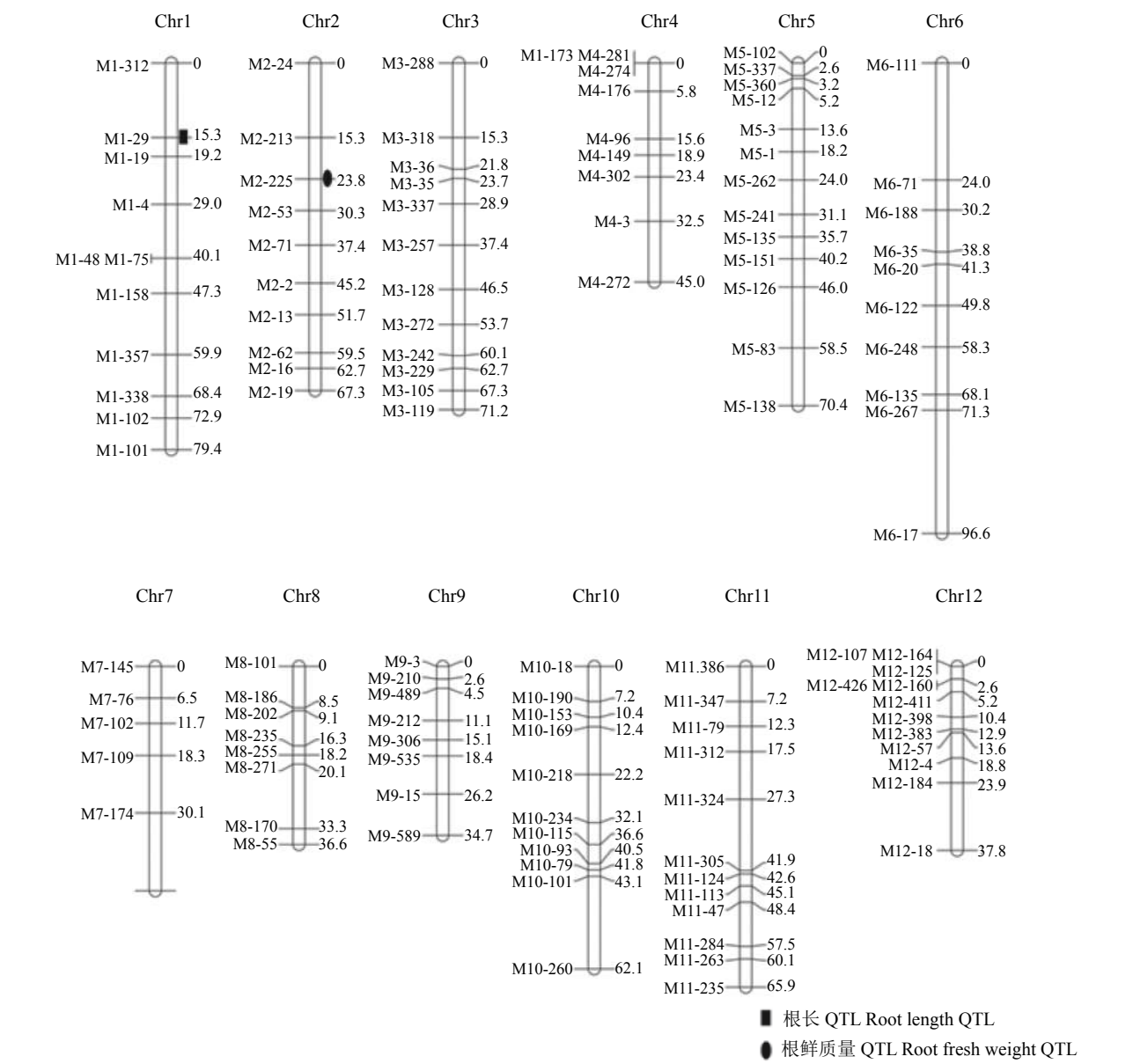


图 5 QTL 在水稻染色体上的位置
Fig. 5 Location of QTL mapped on rice chromosome

表 3 低氮胁迫相关性状的 QTL 位点分析
Table 3 Analysis of QTL identified trait related to low nitrogen tolerance

性状 Trait	数量性状位点 QTL	染色体编号 Chr. number	标记 Marker	LOD	加性效应 Additive effect	可解释的表型变异/% PVE
根长 Root length	<i>qRLI-1</i>	1	M1-29	2.89	-0.15	11.23
根鲜质量 Root fresh weight	<i>qRFW2-1</i>	2	M2-225	2.53	-0.31	9.90

3 讨论与结论

氮元素参与水稻叶绿素和体内多种酶的合成, 其含量的多少对水稻生长发育以及产量具有重要意义^[13]。目前随着人口的增长, 人们对水稻产量需求也相应提高, 而提高水稻产量则需要增加肥料的施加, 其中最主要是氮肥^[14]。但大量使用氮肥会降低肥料的利用率, 同时也会对水源、土壤、大气环境造成严重危害, 因此选育耐低氮的水稻品种在经济效益和环境效益上都具有非常重要的意义。水稻耐低氮基因研究已经成了这个时代许多农学科研工作者的研究内容, 但传统育种周期太长且变异方向不明确, 将分子辅助育种与传统育种相结合, 可大大提高耐低氮品种的育种效率, 选育出耐低氮型水稻新品种。

QTL 定位是进行遗传分析的有效方式^[15], 也是培育耐低氮水稻品种的理论基础。目前有关水稻耐低氮 QTL 定位的报道已有很多, 其中多数研究者采用不同的栽培方法进行试验, 主要以大田法和盆栽法为主。大田法提供的水稻生长环境与田间土壤条件基本一致^[16], 在自然条件下进行田间筛选有利于获得更准确的数据, 但周期长, 工作量大, 耗费资源, 不能进行大批量的筛选。同时土壤肥力较难控制, 易受降雨量及气温等气候因素影响, 数据重复性较差。盆栽法有利于对氮素含量的控制, 规模小, 周期较短, 调查方便。但盆栽的生长环境与田间土壤条件存在一定差异, 不能真实地反映水稻受到低氮胁迫后的生长情况。本次研究采用的是水培的方式进行试验, 其最大的优点是可以对培养介质进行准确有效的控制, 能对某些形态或生理指标进行快速筛选, 并且培养条件可以准确无误地进行重复^[17], 但水培条件与田间土壤有着本质的区别, 水培只适用于初步筛选, 进一步的确认仍需要在田间进行。总之, 各个筛选方法之间各有优缺点, 要根据实验室条件、试验目的、筛选指标、筛选时期等因素来确定合适的筛选方法。

本研究结合实验室条件与筛选工作量等因素决定采用水培的方式进行筛选, 以染色体单片段代换系作为 QTL 定位材料, 在苗期进行低氮处理。统计分析后定位到 2 个与低氮胁迫相关的基因区域, 其中一个与根长相关耐低氮位点定位于 1 号染色体, 贡献率为 11.23%; 另一个与根鲜质量相关耐低氮位点定位于 2 号染色体, 贡献率为 9.90%。根是水稻吸收水分和无机盐的重要组织^[18], 根长以及根鲜质量在受到低氮胁迫后的变化可作为水稻耐低

氮的参照。抗性植株在受到低氮胁迫后, 其根长与根鲜质量相比正常条件下会增长, 利于寻找和吸收相对较多的氮素, 提高氮素的利用效率, 维持植株的营养生长以及生殖生长^[19]。其他 6 个表型未检测到耐低氮相关位点, 可能在这些性状中参与耐低氮的基因是由多个微效基因组成, 单个基因贡献率较低, 导致无法检测到。在赵春芳等^[20]的研究中, 定位到一个位于 2 号染色体与株高相关的耐低氮位点, 与本研究根鲜质量耐低氮位点相近, 可能在此区域内存在一个或多个调控水稻不同性状的耐低氮位点。并且在前人的研究中^[16, 20-22], 1 号与 2 号染色体中存在较多的耐低氮相关位点, 说明这 2 个染色体与低氮胁迫相关性较高, 在今后的研究中可以着重关注。本研究对根长、根鲜质量相关耐低氮位点的定位, 可为以后基因的精细定位与克隆提供试验依据, 同时也为耐低氮育种提供一定理论依据, 加快育种进程。

致谢: 非常感谢中国科学院上海植物生理生态研究所林鸿宣院士馈赠 SN 群体材料!

参考文献:

- [1] 许学宏, 王红慧. 肥料对农产品品质的影响综述 [J]. 磷肥与复肥, 2003(4): 66-68.
- [2] 顾骏飞, 周振翔, 李志康, 等. 水稻低叶绿素含量突变对光合作用及产量的影响 [J]. 作物学报, 2016, 42(4): 551-560.
- [3] BACON P E. Nitrogen fertilization in the environment[J]. Biol Rev, 1995, 32(3): 296-348.
- [4] 邓若磊. 水稻铵转运蛋白基因 *OsAMT1.4* 和 *OsAMT5* 的克隆、表达和遗传转化[D]. 保定: 河北农业大学, 2007.
- [5] SUN H, QIAN Q, WU K, et al. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice[J]. Nat Genet, 2014, 46(6): 652-657.
- [6] YANAGISAWA S, AKIYAMA A, KISAKA H, et al. Metabolic engineering with *Dof1* transcription factor in plants: Improved nitrogen assimilation and growth under low-nitrogen conditions[J]. P Natl Acad Sci USA, 2004, 101(20): 7833-7838.
- [7] SHAN Y H, WANG Y L, PAN X B. Mapping of QTLs for nitrogen use efficiency and related traits in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Agr Sci China, 2005, 4(10): 721-727.
- [8] 王彦荣, 代贵金, 大杉立, 等. 水稻苗期氮素吸收及其相关性状的 QTL 分析 [J]. 中国水稻科学, 2010, 24(5): 463-468.
- [9] 方萍, 陶勤南, 吴平. 水稻吸氮能力与氮素利用率的 QTLs 及其基因效应分析 [J]. 植物营养与肥料学报, 2001(2): 159-165.
- [10] YOSHIDA S, FORNO D A, COCK J H, et al. Laboratory manual for physiological studies of rice[M]. 2nd ed.

- Los Banos: IRRI, 1972: 57-63.
- [11] WANG J K, WAN X Y, CROSSA J, et al. QTL mapping of grain length in rice (*Oryza sativa* L.) using chromosome segment substitution lines[J]. *Genet Res*, 2006, 88(2): 93-104.
- [12] MCCOUCH S R, CHO Y G, YANO M, et al. Report on QTL nomenclature[J]. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11-13.
- [13] 王玉雯, 郭九信, 孔亚丽, 等. 氮肥优化管理协同实现水稻高产和氮肥高效 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2016, 22(5): 1157-1166.
- [14] CHOUDHURY A, KENNEDY I R. Nitrogen fertilizer losses from rice soils and control of environmental pollution problems[J]. *Commun Soil Sci Plant*, 2005, 36(11/12): 1625-1639.
- [15] 阮成江, 何祯祥, 钦佩. 我国农作物 QTL 定位研究的现状和进展 [J]. *植物学通报*, 2003(1): 10-22.
- [16] 吕海霞, 周广生, 丁泽红, 等. 水稻染色体片段代换系对氮反应的 QTL 分析 [J]. *分子植物育种*, 2010, 8(6): 1074-1081.
- [17] GEIOFF G C. Intact-plant screening for tolerance of nutrient deficiency stress[J]. *Plant Soil*, 1987, 99(1): 3-16.
- [18] 梁永书, 周军杰, 南文斌, 等. 水稻根系研究进展 [J]. *植物学报*, 2016, 51(1): 98-106.
- [19] LIU K, HE A, YE C, et al. Root morphological traits and spatial distribution under different nitrogen treatments and their relationship with grain yield in super hybrid rice[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 131-139.
- [20] 赵春芳, 赵凌, 张亚东, 等. 水稻苗期耐低氮相关性状的 QTL 定位 [J]. *华北农学报*, 2015, 30(6): 1-7.
- [21] FENG Y, CAO L Y, WU W M, et al. Mapping QTLs for nitrogen-deficiency tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Plant Breeding*, 2010, 129(6): 652-656.
- [22] CHO Y I, JIANG W, CHIN J H, et al. Identification of QTLs associated with physiological nitrogen use efficiency in rice[J]. *Mol Cells*, 2007, 23(1): 72-79.

【责任编辑 庄 延】