

王璋强, 李蕊芯, 陆怡, 等. 展颖野生稻单片段代换系芽期耐 Cd 材料筛选及 QTL 鉴定 [J]. 华南农业大学学报, 2020, 41(1): 69-77.
WANG Zhangqiang, LI Ruixin, LU Yi, et al. Cd-tolerant germplasm screen and QTL identification of single-segment substitution lines of *Oryza glumaepatula* at the germination period[J]. Journal of South China Agricultural University, 2020, 41(1): 69-77.

展颖野生稻单片段代换系芽期耐 Cd 材料筛选及 QTL 鉴定

王璋强^{1,2†}, 李蕊芯^{1†}, 陆怡¹, 杨帆¹, 刘田田¹,
何平³, 张鸿兴¹, 熊毅³, 傅雪琳^{1,2}

(1 华南农业大学农学院, 广东 广州 510642; 2 广东省植物分子育种重点实验室, 广东 广州 510642;
3 华南农业大学生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】评价 CdCl₂ 溶液对展颖野生稻 *Oryza glumaepatula* 单片段代换系 (SSSLs) 种子发芽及根芽生长的影响, 筛选耐 Cd SSSLs 材料, 初步鉴定与芽期耐 Cd 性状相关的 QTLs。【方法】对 6 个栽培稻品种在 0、30、50、100、500 μmol·L⁻¹ CdCl₂ 溶液条件下进行发芽试验, 确定水稻种子芽期耐 Cd 性研究的处理浓度, 筛选耐 Cd SSSLs 的性状指标。对 SSSLs 在 CdCl₂ 溶液处理下发芽第 7 天的根长与芽长分析, 筛选 *P*=0.01 水平耐 Cd 性较强的 SSSLs, 鉴定相应性状 QTLs。【结果】在 0、30、50 和 100 μmol·L⁻¹ CdCl₂ 浓度处理下, 栽培稻品种的种子发芽率为 91%~95%, 差异不显著, 但种子根和幼芽伸长生长受到抑制, 品种间差异显著。在 50 和 100 μmol·L⁻¹ CdCl₂ 溶液条件下, 以发芽第 7 天的相对根长和相对芽长为指标, 在 *P*=0.01 水平从 8 个 SSSLs 鉴定出 5 个相对根长 QTLs, 即 *qRRL1-1*、*qRRL2-1*、*qRRL3-1*、*qRRL3-2* 及 *qRRL6-1*, 其加性效应为 0.19~0.60, 表型贡献率为 31.18%~100.59%; 鉴定出 5 份 SSSLs 携带 3 个相对芽长 QTLs, 即 *qRSL1-1*、*qRSL1-2* 及 *qRSL2-1*, 其加性效应为 0.08~0.18, 表型贡献率为 7.43%~18.95%。【结论】展颖野生稻 SSSLs 携带芽期耐 Cd QTLs, 可以作为水稻耐 Cd 基因发掘的重要材料。

关键词: 展颖野生稻; 染色体单片段代换系; Cd 胁迫; QTL
中图分类号: S326; S511.9 文献标志码: A 文章编号: 1001-411X(2020)01-0069-09

Cd-tolerant germplasm screen and QTL identification of single-segment substitution lines of *Oryza glumaepatula* at the germination period

WANG Zhangqiang^{1,2†}, LI Ruixin^{1†}, LU Yi¹, YANG Fan¹, LIU Tiantian¹,
HE Ping³, ZHANG Hongxing¹, XIONG Yi³, FU Xuelin^{1,2}

(1 College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2 Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, Guangzhou 510642, China;
3 College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To evaluate effects of Cd stress on seed germination and growth of seminal root and shoot in chromosome single-segment substitution lines (SSSLs) of *Oryza glumaepatula* after seed germination, screen for

收稿日期: 2019-05-13 网络首发时间: 2019-12-19 14:19:37
网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20191217.1722.024.html>
作者简介: 王璋强 (1994—), 男, 博士研究生, E-mail: wanglane@outlook.com; 李蕊芯 (1998—), 女, E-mail: 1186110623@qq.com; †对本文贡献相同; 通信作者: 傅雪琳 (1967—), 女, 教授, 博士, E-mail: fluxuelin@scau.edu.cn
基金项目: 广州市科技计划项目重点专题 (201804020086); 广州市科技计划项目 (201904010183); 广东省科技计划项目 (2015A030302067)

Cd-tolerant SSSLs, and identify QTLs related to Cd-tolerant characters in bud. 【Method】 The seed germination test was carried out using six varieties at CdCl₂ concentrations of 0, 30, 50, 100, 500 μmol·L⁻¹, and the proper treatment of CdCl₂ concentration and the related character indexes to evaluate CdCl₂ tolerance of SSSLs were determined. The lengths of seminal roots and shoots of experimental SSSLs were analyzed to screen for SSSLs with strong tolerance to CdCl₂ at P=0.01 level and identify QTLs related to Cd-tolerant characters. 【Result】 At the concentrations of 0, 30, 50, and 100 μmol·L⁻¹ CdCl₂, the seed germination rates of six varieties were distributed between 91%~95%, which were insignificant among different CdCl₂ concentrations. However, the growth of seminal roots and shoots were significantly inhibited by CdCl₂, and the significant differences were observed for the tolerance to CdCl₂ among different varieties. Using relative root length and relative shoot length on the 7th day after germination as tolerance indexes, at the concentrations of 50 and 100 μmol·L⁻¹, five relative root length QTLs including *qRRL1-1*, *qRRL2-1*, *qRRL3-1*, *qRRL3-2* and *qRRL6-1* were identified in eight SSSLs at P=0.01 level, the phenotypic contribution rates of additive effects ranged from 31.18% to 100.59%. Three relative shoot length QTLs including *qRSL1-1*, *qRSL1-2*, and *qRSL2-1* were identified in five SSSLs, the phenotypic contribution rates of additive effects were 7.43%~18.95%. 【Conclusion】 SSSLs of *O. glumaepatula* carry Cd-tolerant QTLs at the germination period, which will be useful for exploring beneficial Cd-tolerant genes in rice.

Key words: *Oryza glumaepatula*; single segment substitution line; cadmium stress; QTL

近年来,在我国经济迅速发展的过程中,矿山开采和工业废物等带来的土壤和环境重金属污染日益严重,对农业生产和人们的身体健康构成严重威胁。其中,重金属 Cd 是毒性很强的环境污染物,通过空气沉降、灌溉和施肥等途径进入土壤,引起土壤污染。土壤中高含量 Cd 对植物的毒性主要表现为植物褪绿、坏疽、落叶、生长量减少、根伸长受阻等^[1]。Cd 污染农业环境后会不同程度地影响水稻生长及籽粒 Cd 含量,由此对以稻米为食的人们的生活与健康造成严重危害,如 20 世纪 60 年代日本稻田 Cd 污染导致的骨痛病。水稻在各个生长阶段都会受到土壤中 Cd 的胁迫,正常的生长发育受到严重影响。水稻种子萌发过程中,Cd 对种子发芽率影响较小,但会显著抑制胚根及胚芽的生长,对胚根的抑制作用明显大于胚芽^[2-4]。水稻幼苗期遭受 Cd 胁迫后,根系生长受到抑制,苗高和根长增长减慢^[5]。水稻籽粒 Cd 积累在不同品种间存在显著差异,研究发现了控制籽粒 Cd 积累的主效基因^[6-7]。籽粒低 Cd 积累是水稻耐 Cd 研究的重点,从水稻育种和生产需要来看,各个生育时期均耐 Cd 的材料是最理想的材料。因此,前期耐 Cd 性与籽粒低 Cd 积累的相关性研究有助于早期筛选籽粒低 Cd 积累的材料。程旺大等^[8]利用苗期耐 Cd 性和籽粒 Cd 含量差异明显的 4 个晚粳稻品种研究了 Cd 胁迫对水稻生长和营养代谢的影响,发现 Cd 胁迫下各品种的产量、每株穗数、每穗粒数、结实率、粒质量及地上部干物质质量等显著降低,苗期耐

Cd 性强的品种受到的抑制作用小于耐 Cd 性弱的品种,耐性相近的品种中,籽粒 Cd 富集程度较高的品种也严重受害。该研究预示可以探索用苗期耐 Cd 性评价不同品种籽粒 Cd 含量的差异。

水稻耐 Cd 性是多基因控制的数量性状,在耐 Cd 种质资源筛选、QTL 定位、耐 Cd 基因克隆与功能等研究方面已取得一定进展^[6-7, 9-21],上述研究有助于解析水稻耐 Cd 性的遗传控制基因及作用机理,为育种改良水稻耐 Cd 性提供重要的指导依据。野生稻是栽培稻的祖先,在长期自然进化过程中适应了多种自然环境,积累了较强的抗逆性,是天然的基因库^[22]。但是目前野生稻耐 Cd 性研究的报道还较少。广东省植物分子育种重点实验室前期构建了以展颖野生稻 *Oryza glumaepatula* 为供体的染色体单片段代换系 (Single-segment substitution lines, SSSLs) 文库^[23],本研究对部分 SSSLs 在芽期进行了不同浓度 CdCl₂ 溶液的胁迫处理,对发芽第 7 天的种子根长及芽长进行分析,以相对根长与相对芽长为指标,筛选出多份芽期耐 Cd 性强的 SSSLs,并根据代换片段的信息,进行初步的 QTL 鉴定分析。本研究有助于扩大水稻耐 Cd 资源的范围,获得新的优异基因,为水稻耐 Cd 育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

栽培稻品种‘华粳籼 74’、‘新黄占’、‘中花 11’、‘台中 65’、‘粤晶丝苗 2 号’和‘象牙

香占’用于确定芽期耐 Cd 试验中 Cd 溶液处理浓度与培养条件及 Cd 耐性分析指标。以‘华粳粳 74’为受体、展颖野生稻 IRGC104387 为供体构建的 SSSLs 材料共 37 份。

1.2 试验方法

1.2.1 种子发芽试验与处理方法 挑选颖壳光亮、大小均匀、无斑点、饱满无损伤的水稻种子,用蒸馏水洗涤 1 遍后用 70%(φ) 乙醇溶液浸泡 20 s,倒去乙醇溶液,用蒸馏水洗去残留的乙醇溶液,重复 3 次,用培养皿法进行发芽试验。栽培稻品种试验中, CdCl₂ 浓度设为 0(对照,只加蒸馏水)、30、50、100 和 500 μmol·L⁻¹。根据栽培稻品种的浓度梯度的试验结果,将野生稻 SSSLs CdCl₂ 处理浓度设为 0(对照,只加蒸馏水)、50、100 μmol·L⁻¹。每个培养皿放置 20~30 粒种子,1 个培养皿为 1 次重复,每份材料每个浓度重复 3 次。浸种时,在各培养皿中加入相同体积蒸馏水或 CdCl₂ 溶液以淹没种子,放在 (25±1) °C 的光照培养箱中培养,每日观察,待露白后,将露白的种子转移到垫有 2 层无菌滤纸的培养皿中。每天补充处理溶液,保持滤纸湿润。每日光照/黑暗时间设为 16/8 h,光照强度为 5 000 lx。

1.2.2 水稻幼苗形态指标的测量 以胚芽达到种子长度一半作为发芽的标准。于发芽后第 7 天统计发芽率,并用直尺测量已发芽种子的根长与芽长。测量根长时,测量最长根长。每份材料每个浓度测 30 棵幼苗。统计分析不同材料在不同 CdCl₂ 浓度处理下的根长、芽长,并计算根芽比、相对根长及相对芽长,以反映其耐 Cd 特性。

根芽比 = 根长/芽长,

相对根长 = 不同CdCl₂浓度处理的根长/对应材料在对照条件下的根长,

相对芽长 = 不同CdCl₂浓度处理的芽长/对应材料在对照条件下的芽长。

1.2.3 耐 Cd SSSLs 的筛选与 QTL 鉴定 以 $P=0.01$ 为差异显著标准,将供试材料的性状值进行单因素方差分析及 Duncan’s 多重比较,筛选出性状值与‘华粳粳 74’差异显著的 SSSLs,以这些 SSSLs 进行耐 Cd 性 QTL 鉴定。在本研究中,分别对衡量耐 Cd 性的相对根长与相对芽长进行 QTL 鉴定。对有重叠片段的 SSSLs 通过代换作图^[24]的方法确定 QTL 的最小区间。QTL 的命名参考 McCouch 等^[25]的命名原则。参考 Eshed 等^[26]的方法计算 QTL 的加性效应及表型贡献率:

加性效应 = (SSSL表型值 - ‘华粳粳74’表型值)/2,

加性效应表型贡献率 = 加性效应/ ‘华粳粳74’表型值 × 100%。

1.2.4 试验数据处理 数据用 Excel 软件处理,方差分析用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA),多重比较采用 Duncan’s 字母标记法, QTL 在染色体上的分布图用 Mapchart2.2 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 栽培稻品种在 CdCl₂ 溶液中发芽结果比较

对‘华粳粳 74’、‘新黄占’、‘中花 11’、‘台中 65’、‘粤晶丝苗 2 号’、‘象牙香占’ 6 个栽培稻品种的种子进行了 5 个 CdCl₂ 浓度的处理。分析发芽后第 7 天发芽率、根长、芽长、根芽比 4 个性状指标。其中在 500 μmol·L⁻¹ 浓度下,水稻种子几乎不发芽(图 1)。在 0、30、50 和 100 μmol·L⁻¹ 4 个浓度下,6 个栽培稻品种的种子发芽率为 91%~95%,虽然在 $P=0.05$ 水平,50 和 100 μmol·L⁻¹

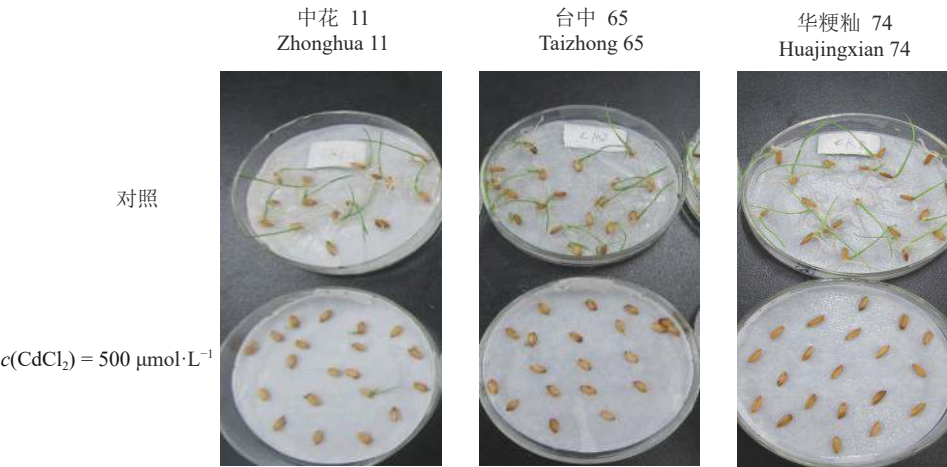


图 1 部分栽培稻品种种子萌发后第 7 天的根芽生长状况

Fig. 1 Root and shoot growth of some cultivated rice varieties on the 7th day after germination

浓度下的发芽率与 $0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下的发芽率有显著差异, 但 30、50 和 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3 个浓度下发芽率没有显著差异 (图 2)。6 个栽培稻品种的根芽伸长生长明显受到 CdCl_2 的抑制。随着 CdCl_2 浓度升高, 根长和芽长均显著变短; 在不同 CdCl_2 浓度处理下, 各品种种子根长较芽长更短, 表明种子根的生长受到更大程度的抑制。在对照条件下, 6 个品种

的根芽比接近 1, CdCl_2 处理下的根芽比均小于 0.5, 比对照显著变小 (图 2)。总体来看, CdCl_2 胁迫处理条件下, 供试水稻品种种子根、芽的伸长生长均明显受到抑制, 相同处理浓度下 CdCl_2 对根的抑制程度大于对芽的抑制程度。

此外, 不同品种的根芽生长对 Cd 胁迫的反应表现出差异 (图 3)。首先, 正常发芽条件下, 发芽第

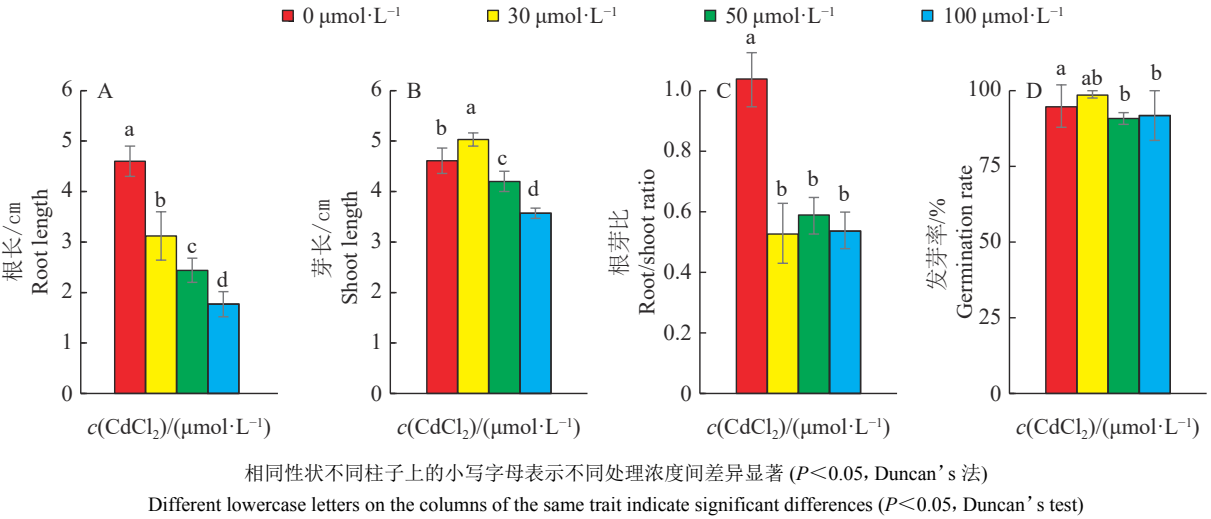


图 2 栽培稻品种在 CdCl_2 各处理浓度下的发芽结果

Fig. 2 Germination results of cultivated rice varieties at different CdCl_2 concentrations

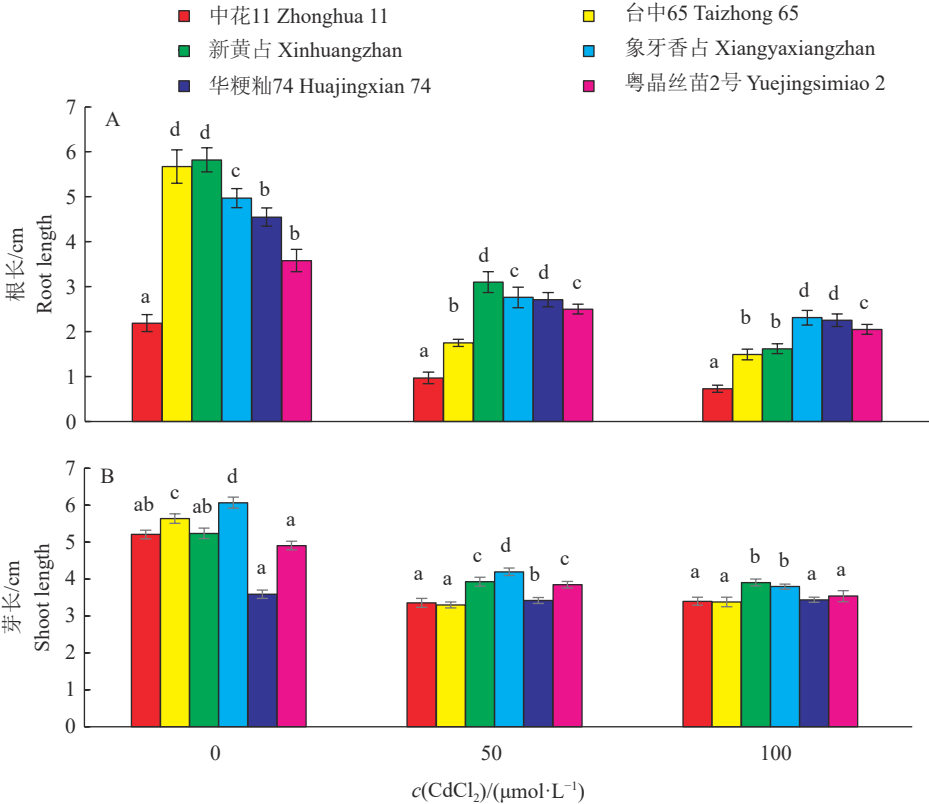


图 3 栽培稻品种在不同 CdCl_2 处理浓度下的根长与芽长

Fig. 3 Root and shoot length of cultivated rice varieties at different CdCl_2 concentrations

7 天供试品种种子根长与芽长有显著差异。‘台中 65’和‘新黄占’的根长最长,‘中花 11’的根长最短;‘象牙香占’的芽长最长,‘华粳籼 74’的芽长最短。其次,在 Cd 胁迫条件下,在不同 CdCl₂ 处理浓度下 6 个品种种子的根长均比对照短,且品种间差异显著,随着处理浓度升高,根长越

来越短(图 3A);不同品种间及不同 CdCl₂ 处理浓度间芽长的差异较小(图 3B)。这说明根长能更好地反映栽培稻品种间耐 Cd 性差异。就相对长度而言,各处理浓度下各品种的相对芽长均大于相对根长(图 4)。

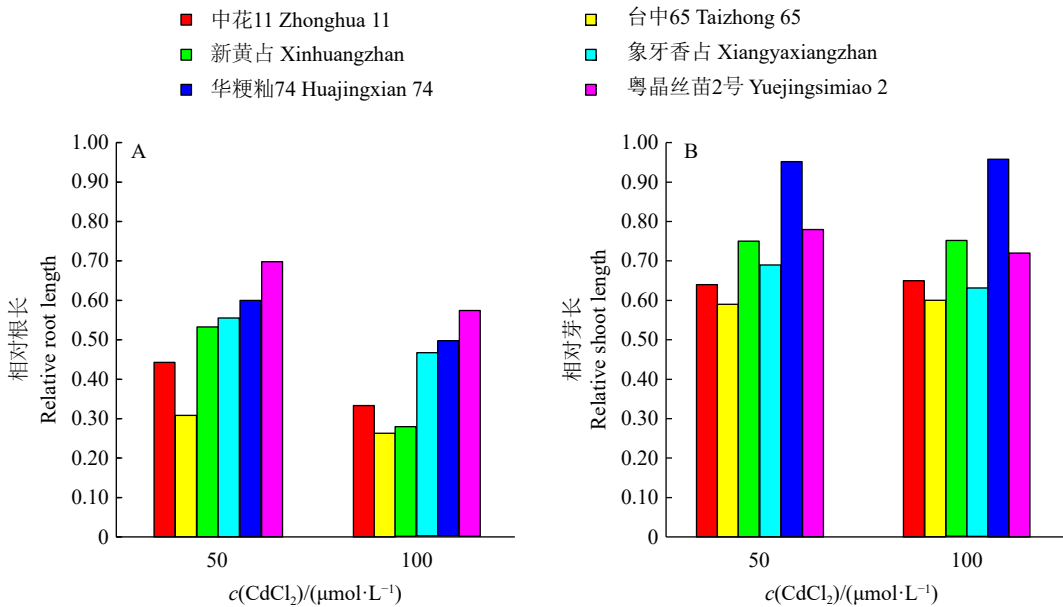


图 4 栽培稻品种在不同 CdCl₂ 处理浓度下的相对根长与相对芽长

Fig. 4 Relative root and shoot length of cultivorted rice varieties at different CdCl₂ concentrations

以上分析结果表明,6 个供试品种芽期耐 Cd 性存在显著差异,籼稻品种(‘华粳籼 74’、‘新黄占’、‘粤晶丝苗 2 号’、‘象牙香占’)较粳稻品种(‘中花 11’、‘台中 65’)更耐 Cd 胁迫。就耐 Cd 性的分析而言,本研究 CdCl₂ 处理浓度为 50、100 μmol·L⁻¹ 时,相对根长和相对芽长能够较好反映水稻品种间的耐 Cd 性差异。因此,在本研究 SSSLs 耐 Cd 处理筛选及 QTL 鉴定时,CdCl₂ 处理浓度采用 50 和 100 μmol·L⁻¹。

2.2 耐 Cd SSSLs 材料的筛选

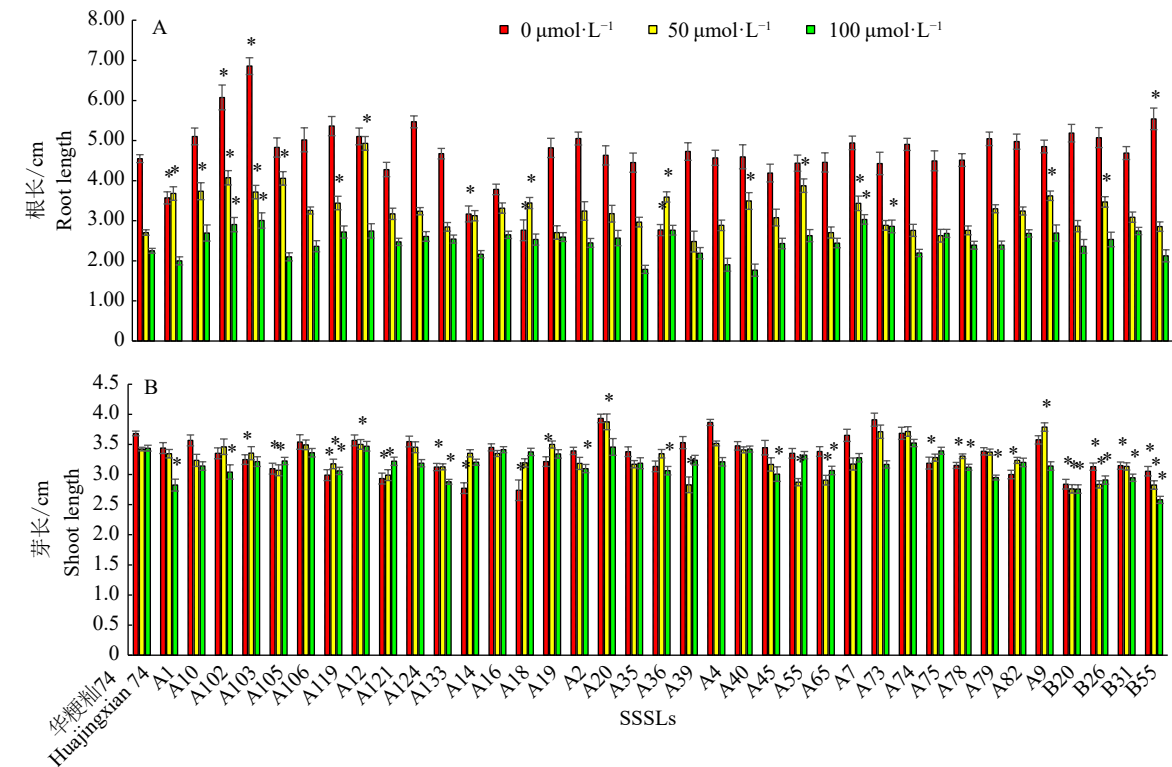
对 37 个 SSSLs 材料和受体亲本‘华粳籼 74’做了多个批次的发芽试验。 $P=0.01$ 水平的方差分析结果表明,在 CdCl₂ 胁迫下,供试材料种子发芽第 7 天的根长、相对根长、芽长及相对芽长等存在显著差异(数据尚未发表)。以根长与芽长为性状指标时,在 $P=0.01$ 水平,CdCl₂ 浓度为 50 和 100 μmol·L⁻¹ 时,供试 SSSLs 的平均根长分布范围分别为 2.48~4.93 cm 及 1.77~3.03 cm,分别有 14 个和 4 个 SSSLs 的根长显著长于‘华粳籼 74’(图 5A);供试 SSSLs 的平均芽长分布范围分别为 2.76~3.88 cm 及 2.58~3.52 cm,50 μmol·L⁻¹ 处理浓度下有 2 个 SSSLs 的芽长显著长于‘华粳籼 74’

(图 5B)。由于本研究中各基因型材料在对照条件下发芽第 7 天的根长与芽长存在显著差异,因此以各材料的相对根长与相对芽长为指标进行耐 Cd SSSLs 筛选与 QTL 鉴定。

在 $P=0.01$ 水平,以相对根长为性状指标时,CdCl₂ 浓度为 50 μmol·L⁻¹ 时筛选出 7 个相对根长显著长于‘华粳籼 74’的 SSSLs,分别为 A1、A12、A124、A14、A18、A36、A9;CdCl₂ 浓度为 100 μmol·L⁻¹ 时筛选出 6 个相对根长显著长于‘华粳籼 74’的 SSSLs,分别为 A16、A14、A124、A18、A36、A9(图 6A)。以相对芽长为性状指标时,CdCl₂ 浓度为 50 μmol·L⁻¹ 时筛选出 5 个相对芽长显著长于‘华粳籼 74’的 SSSLs,分别为 A9、A14、A18、A19、A36;CdCl₂ 浓度为 100 μmol·L⁻¹ 时筛选出 4 个相对芽长显著长于‘华粳籼 74’的 SSSLs,分别为 A9、A14、A18、A19(图 6B)。

2.3 SSSLs 耐 Cd QTLs 鉴定

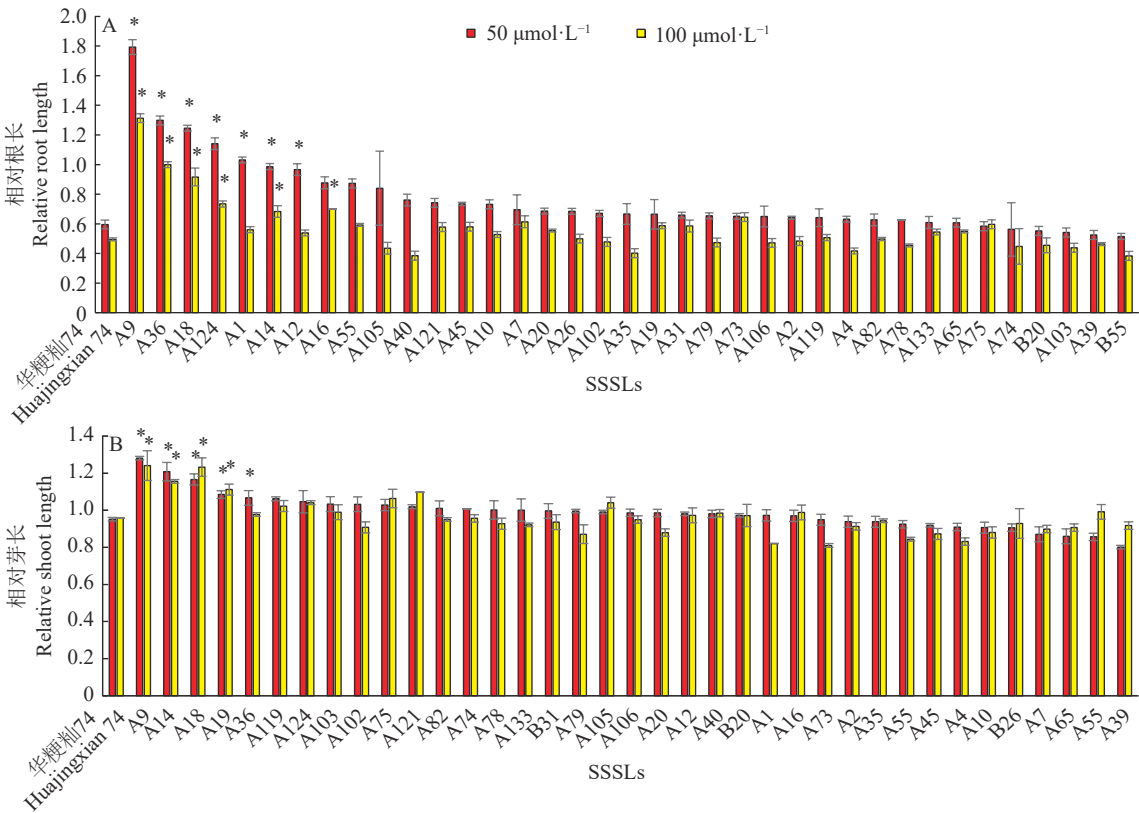
2.3.1 相对根长 QTLs 鉴定及其遗传效应 在 $P=0.01$ 水平、2 个 Cd 处理浓度下,A9、A14、A18、A36 及 A124 相对根长均显著长于‘华粳籼 74’,表明其耐 Cd 性强且稳定。根据 SSSLs QTL 鉴定的原理,认为以上这些 SSSLs 的代换片段上携带有来



“*” 表示供试材料的相关性状值与 ‘华粳粳 74’ 在 $P=0.01$ 水平差异显著 (单因素方差分析)
“*” represents significant difference of relative character between experimental material and ‘Huajingxian 74’ at $P=0.01$ level (One-way ANOVA)

图 5 不同 SSSLs 在不同 CdCl_2 处理浓度下根长和芽长的差异

Fig. 5 Differences of root and shoot length in SSSLs at different CdCl_2 concentrations



“*” 表示供试材料的相关性状值与 ‘华粳粳 74’ 在 $P=0.01$ 水平差异显著 (单因素方差分析)
“*” represents significant difference of relative character between experimental material and ‘Huajingxian 74’ at $P=0.01$ level (One-way ANOVA)

图 6 不同 SSSLs 在不同 CdCl_2 处理浓度下相对根长和相对芽长的差异

Fig. 6 Differences of relative root and shoot length in SSSLs at different CdCl_2 concentrations

自展颖野生稻的耐 Cd QTLs(表 1, 图 7)。此外, 根据各 SSSLs 代换片段的染色体分布及重叠关系, A9、A12、A14 及 A36 的代换片段均在 1 号染色体上, 片段重叠区间是 RM490-RM572, 因此, 这 4 个

SSSLs 携带相同的 1 个相对根长 QTL *qRRL1-1*。A18、A16、A1 及 A124 分别在第 2、3、3 及 6 号染色体上携带 QTLs *qRRL2-1*、*qRRL3-1*、*qRRL3-2* 及 *qRRL6-1*。其中 *qRRL1-1*、*qRRL2-1* 及 *qRRL6-1* 在

表 1 相对根长及相对芽长 QTLs 及其遗传效应¹⁾
Table 1 Identified QTLs and genetic effects for relative root and shoot length

性状 Character	SSSLs	QTL	染色体 Chromosome	位置 Position	加性效应		表型贡献率/%	
					Additive effect		Phenotypic contribution rate	
					50 μmol·L ⁻¹ CdCl ₂	100 μmol·L ⁻¹ CdCl ₂	50 μmol·L ⁻¹ CdCl ₂	100 μmol·L ⁻¹ CdCl ₂
相对根长 Relative root length	A36	<i>qRRL1-1</i>	1	PSM012-RM572	0.35	0.25	59.08	50.91
	A14	<i>qRRL1-1</i>	1	RM490-RM572	0.20	0.09	32.86	18.99
	A9	<i>qRRL1-1</i>	1	RM490-RM572	0.60	0.41	100.59	82.63
	A12	<i>qRRL1-1</i>	1	RM490-RM449	0.19	—	31.18	—
	A18	<i>qRRL2-1</i>	2	PSM375-end	0.33	0.21	54.71	42.53
	A16	<i>qRRL3-1</i>	3	end-RM489	—	0.10	—	20.71
	A1	<i>qRRL3-2</i>	3	RM3280-PSM379	0.22	—	36.64	—
	A124	<i>qRRL6-1</i>	6	PSM388-RM454	0.27	0.12	45.80	24.14
相对芽长 Relative shoot length	A19	<i>qRSL1-1</i>	1	end-PSM024	0.08	0.08	8.40	7.98
	A36	<i>qRSL1-2</i>	1	PSM012-RM572	0.07	—	7.43	—
	A14	<i>qRSL1-2</i>	1	RM490-RM572	0.14	0.10	15.02	10.27
	A9	<i>qRSL1-2</i>	1	RM490-RM572	0.18	0.14	18.95	14.70
	A18	<i>qRSL2-1</i>	2	PSM375-end	0.12	0.14	12.76	14.29

1) “—” 表示未检测到QTL
1) “—” represents no QTL detected

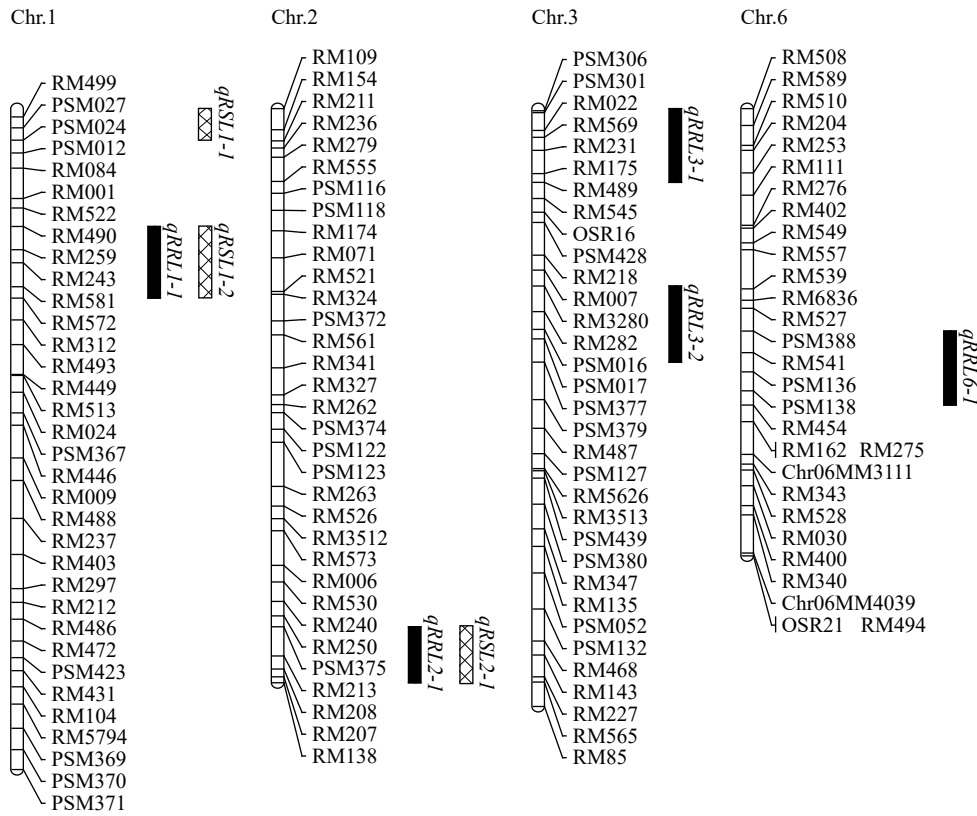


图 7 耐 Cd QTLs 染色体分布
Fig. 7 Chromosome distribution of identified QTLs for Cd tolerance

2 个 CdCl₂ 胁迫浓度均能鉴定到, 而 *qRRL3-1* 只在 100 μmol·L⁻¹ 浓度出现, *qRRL3-2* 只在 50 μmol·L⁻¹ 浓度出现, 说明 *qRRL1-1*、*qRRL2-1* 及 *qRRL6-1* 是相对稳定的 QTLs。从各 QTL 的加性效应来看, 在 50 μmol·L⁻¹ CdCl₂ 浓度条件下, 各 QTL 的加性效应分布范围为 0.19~0.60, 表型贡献率为 31.18%~100.59%。*qRRL1-1* 的平均加性效应为 0.33, 表型贡献率为 55.92%, 为遗传效应最大的 QTL。在 100 μmol·L⁻¹ CdCl₂ 浓度条件下, 各 QTL 的加性效应及表型贡献率均小于 50 μmol·L⁻¹ CdCl₂, 其中 *qRRL1-1* 的平均加性效应为 0.25, 表型贡献率为 50.84%, 依然是遗传效应最大的 QTL。

2.3.2 相对芽长 QTLs 鉴定及其遗传效应 在 $P=0.01$ 水平、CdCl₂ 浓度为 50 和 100 μmol·L⁻¹ 时, 分别筛选出 5 个 (A9、A14、A18、A19、A36) 和 4 个 (A9、A14、A18、A19)SSSLs 的相对芽长显著长于 ‘华粳粳 74’, 本研究认为这些 SSSLs 携带相对芽长的 QTLs, 具体见表 1 及图 7。A19 在 1 号染色体短臂端 end-PSM024 区间携带 QTL *qRSL1-1*; A36、A14 及 A9 的代换片段在 1 号染色体上有重叠区间 RM490-RM572, 因此这 3 个 SSSLs 在重叠区间有 1 个共同的 QTL, 为 *qRSL1-2*; A18 在 2 号染色体长臂端 PSM375-end 区间携带 QTL *qRSL2-1*。对各 QTL 遗传效应分析表明, 3 个 QTLs 加性效应均较小, 分布范围为 0.08~0.18, 表型贡献率为 7.43%~18.95%。其中 A9 携带的 *qRSL1-2* 在 2 个胁迫处理条件下均具有最大的加性效应和表型贡献率, 这与其在相对根长中的 QTL 表现一致。

3 讨论与结论

土壤 Cd 污染严重影响水稻的正常生长, 而大米又是我国居民 Cd 摄入的主要途径, 约占 Cd 摄入总量的 56%^[27], Cd 的摄入对人体健康破坏特别大^[28], 所以水稻耐 Cd 研究以及培育高耐 Cd 水稻品种十分关键。目前关于水稻种子萌发及根芽生长过程对 Cd 胁迫响应的研究报道不多, 孟桂元等^[3]研究表明 Cd 胁迫对水稻种子的发芽率、发芽指数影响不显著, 对种子活力指数及根芽生长具有显著影响; Cd 胁迫对根的抑制作用明显大于对芽的抑制。Cd 对水稻生长的影响存在浓度效应和时间效应, 对根系的抑制程度大于对苗的抑制程度^[29]。本研究以相对根长和相对芽长为指标分析不同基因型栽培稻品种芽期耐 Cd 性, 结果表明, 6 个供试品种的相对根长在 2 个 CdCl₂ 处理浓度下耐 Cd 性顺序相同, 即: ‘台中 65’ < ‘中花 11’ < ‘新黄占’ < ‘象牙香占’ < ‘华粳粳 74’ < ‘粤晶丝苗

2 号’; 供试品种相对芽长在 2 个 Cd 处理浓度下耐 Cd 性的变化存在差别。陈毓瑾等^[30]对 30 个常规稻品种在发芽期进行 2 mg·L⁻¹ Cd 胁迫处理, 以发芽率、发芽指数、幼苗根长和幼苗芽长等指标进行耐 Cd 性研究及低 Cd 积累种质的筛选, 结果表明 Cd 胁迫对水稻种子的根长具有明显的抑制效应, 对种子发芽率、发芽指数、幼苗芽长等指标无显著影响, 水稻根长可以作为评价水稻种质耐 Cd 性的参考指标, 水稻品种间根长指数有显著差异, ‘IR24’ 是耐 Cd 性最强的品种。同时, 孙亚莉等^[4]以 50 个水稻品种 (系) 为材料, 研究了不同 Cd 浓度胁迫对种子发芽率、发芽指数、活力指数、胚芽长、胚根长、胚芽鲜质量与胚芽干质量等性状的影响, 表明 0.5 mmol·L⁻¹ Cd 胁迫浓度对各水稻品种种子的发芽率和发芽指数影响不显著, 不同 Cd 胁迫浓度对水稻种子胚根的抑制作用明显大于胚芽, 50 个供试品种 (系) 分为 Cd 胁迫敏感型、中间型和耐受型等。在水稻芽期耐 Cd 性指标分析及选择上, 本研究结果与陈毓瑾等^[30]及孙亚莉等^[4]的结果较为一致, 说明以相对根长为指标筛选耐 Cd 种质是可靠的。

近年来, 水稻耐 Cd QTL 的鉴定与定位研究取得一定进展, 主要是苗期耐 Cd QTL 定位^[15-18]及籽粒低 Cd 积累含量 QTL/基因的定位与克隆^[6-7, 14, 19-21]等研究, 但未见芽期耐 Cd QTL 定位的报道。在水稻幼苗期耐 Cd QTL 定位研究中, 林辉锋等^[15]以 ‘Lemont’ 和 ‘Dular’ 杂交建立的 RIL 群体, 对水培条件下水稻幼苗耐 Cd 胁迫的 QTL 进行了初步定位, 利用根长和株高作为抗性指标分别检测到 QTLs *qRAP-1a* 和 *qSAP-1b*, 均位于 1 号染色体 RM243-RM578 区间 (在染色体上的物理区间: 7 971 722~8 411 145 bp), 经与本研究 1 号染色体定位 QTL *qRRL1-1* 及 *qRSL1-2* 的标记区间 RM490-RM572 (6 677 153~9 866 595 bp) 进行比对, 发现 RM243-RM578 包含在标记区间 RM490-RM572 内, 因此, 本研究鉴定的相对根长 QTL *qRRL1-1* 与林辉锋等^[15]定位的 *qRAP-1a* 很可能是同一个 QTL, 相对芽长 QTL *qRSL1-2* 与林辉锋等^[15]定位的 *qSAP-1b* 很可能是同一个 QTL。该区间与李炜星等^[18]利用籼稻品种 ‘昌恢 121’ 与粳稻品种 ‘越光’ 构建的 RIL 群体在幼苗期以根长作为抗性指标所定位到的 QTL 的位置 (1 号染色体 RM8111 处) 非常接近, 因此, 认为在 1 号染色体 RM490-RM572 附近应该存在控制水稻耐 Cd 性的 QTL。此外, 陈志德等^[17]利用 ‘韭菜青’ × ‘IR26’ 构建的 RIL 群体在幼苗耐 Cd 胁迫 QTL 定位中, 在 2 号染色体长臂端标记 RM6312-RM3860 (物理区间:

35 390 710~35 431 667 bp) 之间定位了一个控制相对苗高的 QTL *qRSH-2*, 该区间包含在本研究鉴定的相对芽长 QTL *qRSL2-1* 的区间 PSM375 -end(物理区间: 33 175 495 bp~35 680 037 bp) 内, 表明水稻 2 号染色体该区间存在与水稻地上部耐 Cd 相关的 QTL。综合来看, 本研究鉴定到的其余 5 个 QTLs, 即 *qRRL2-1*、*qRRL3-1*、*qRRL3-2*、*qRRL6-1* 及 *qRSL1-1*, 所在染色体区间与前人已定位的水稻苗期或芽期耐 Cd QTL 不存在重叠区域, 表明这 5 个 QTLs 可能为新的 QTLs, 且各 QTL 来自展颖野生稻的等位基因产生了增效作用, 增强了 SSSL 的耐 Cd 性。水稻不同生育期耐 Cd 性及其籽粒 Cd 积累特性极其复杂, 目前研究者们对其遗传及生理机制的研究尚在进行。对本文鉴定的 QTLs 进一步进行精细定位与克隆将有助于揭示展颖野生稻 SSSLs 芽期耐 Cd 性的机理; 此外, 对携带芽期耐 Cd QTL 的 SSSLs 进一步开展苗期耐 Cd 性以及籽粒 Cd 积累的研究也有助于探索 QTL 的多效性, 为开展水稻耐 Cd 性的分子育种奠定基础。

参考文献:

[1] 陶战. 农业环境中的 Cd[J]. 环境保护, 1978(6): 31-33.

[2] 何俊瑜, 任艳芳, 任明见, 等. 不同品种水稻种子萌发和幼苗生长的耐 Cd 性评价 [J]. 中国农学通报, 2010, 26 (9): 184-189.

[3] 孟桂元, 唐婷, 周静, 等. 不同水稻品种种子萌发及根芽生长的耐 Cd 性差异研究 [J]. 杂交水稻, 2015, 30(5): 65-69.

[4] 孙亚莉, 刘红梅, 徐庆国. Cd 胁迫对不同水稻品种种子萌发特性的影响 [J]. 中国水稻科学, 2017, 31(4): 425-431.

[5] 江淼, 余海娟, 李亮, 等. 水稻核心种质的耐 Cd 性鉴定 [J]. 植物生理学报, 2015, 51(10): 1617-1624.

[6] ISHIKAWA S, ABE T, KURAMATA M, et al. A major quantitative trait locus for increasing cadmium-specific concentration in rice grain is located on the short arm of chromosome 7[J]. *J Exp Bot*, 2010, 61(3): 923-934.

[7] HU D W, SHENG Z H, LI Q L, et al. Identification of QTLs associated with cadmium concentration in rice grains[J]. *J Integr Agr*, 2018, 17(7): 1563-1573.

[8] 程旺大, 姚海根, 张国平, 等. Cd 胁迫对水稻生长和营养代谢的影响 [J]. 中国农业科学, 农学通报, 2017, 33 (17): 76-81.

[9] DUAN G, SHAO G, TANG Z, et al. Genotypic and environmental variations in grain cadmium and arsenic concentrations among a panel of high yielding rice cultivars[J]. *Rice*, 2017, 10. doi: 10.1186/S12284-017-0149-2.

[10] 姚春馨, 隆四清, 和立忠, 等. 水稻镉积累基因型差异及其对镉胁迫的反应 [J]. 湖南农业大学学报, 2007, 8 (33): 37-41.

[11] 林晗, 徐江民, 胡珊倩, 等. 水稻耐金属离子胁迫的 QTL 分析 [J]. 中国水稻科学, 2018, 32(1): 23-34.

[12] ZHANG M, PINSON S R M, TARPLEY L, et al. Mapping and validation of quantitative trait loci associated with concentrations of 16 elements in unmilled rice

grain[J]. *Theor App Gene*, 2014, 127(1): 137-165.

[13] LUO J, HUANG J, ZENG D, et al. A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 645-654.

[14] SUI F Q, ZHAO D K, ZHU H T, et al. Map-based cloning of a new total loss-of-function allele of *OsHMA3* causes high cadmium accumulation in rice grain[J]. *J Exp Bot*, 2019, 70(10): 2857-2871.

[15] 林辉锋, 熊君, 林文熊. 水稻苗期耐 Cd 胁迫的 QTL 定位分析 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(9): 26-31.

[16] XUE D, CHEN M, ZHANG G. Mapping of QTLs associated with cadmium tolerance and accumulation during seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Euphytica*, 2009, 165(3): 587-596.

[17] 陈志德, 仲维功, 王军, 等. 水稻苗期耐 Cd²⁺胁迫的 QTL 定位研究 [J]. 南京农业大学学报, 2010, 33(3): 1-5.

[18] 李炜星, 欧阳林娟, 文文, 等. 水稻幼苗耐镉胁迫 QTL 的定位研究 [J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(1): 19-24.

[19] ISHIKAWA S, AE N, YANO M. Chromosomal regions with quantitative trait loci controlling cadmium concentration in brown rice (*Oryza sativa*)[J]. *New Phytol*, 2005, 168(2): 345-350.

[20] ABE T, NONOUE Y, ONO N, et al. Detection of QTLs to reduce cadmium content in rice grains using LAC23/Koshihikari chromosome segment substitution lines[J]. *Breed Sci*, 2013, 63(3): 284-291.

[21] ZHAO J, YANG W, ZHANG S, et al. Genome-wide association study and candidate gene analysis of rice cadmium accumulation in grain in a diverse rice collection[J]. *Rice*, 2018, 11. doi: 10.1186/s12284-018-0254-x.

[22] 钟代彬, 罗利军, 应存山. 野生稻有利基因转移研究进展 [J]. *中国水稻科学*, 2000, 14(2): 103-106.

[23] ZHAO H, SUN L, XIONG T, et al. Genetic characterization of the chromosome single-segment substitution lines of *O. glumaepatula* and *O. barthii* and identification of QTLs for yield-related traits[J]. *Mol Breed*, 2019, 39(4). doi: 10.1007/s11032-019-0960-0.

[24] PATERSON A H, DeVERNA J W, LANINI B, et al. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes, in an interspecies cross of tomato[J]. *Genetics*, 1990, 124(3): 735-742.

[25] MCCOUCH SR, CHO Y G, YANOM, et al. Report on QTL nomenclature[J]. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11-13.

[26] ESHED Y, ZAMIR D. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL[J]. *Genetics*, 1995, 141(3): 1147-1162.

[27] SONG Y, WANG Y, MAO W, et al. Dietary cadmium exposure assessment among the Chinese population[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177978.

[28] NORDBERG G F. Historical perspectives on cadmium toxicology[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 238(3): 192-200.

[29] 马孟莉, 卢丙越, 刘艳红, 等. 镉对云南省主栽水稻品种幼苗生长的影响 [J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 50-52.

[30] 陈毓瑾, 欧阳林娟, 朱红, 等. 常规水稻耐镉性及镉低积累种质的筛选 [J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2017, 35(6): 701-706.