

# 水稻耐铝遗传机理与基因定位研究进展

卢永根, 傅雪琳, 褚绍尉, 年海, 刘向东

(广东省植物分子育种重点实验室, 华南农业大学农学院, 广东广州510642)

**摘要:**对水稻耐铝性遗传与基因定位研究的主要进展进行了综述. 主要包括全营养液条件下水稻苗期耐铝遗传与QTL定位研究、简单钙溶液条件下水稻苗期耐铝遗传与QTL定位研究、水稻耐铝种质筛选与拓展, 以及水稻耐铝基因的分离与表达研究等方面. 同时展望了水稻耐铝遗传与育种研究的前景.

**关键词:**水稻; 耐铝性; 遗传机理; 基因定位

中图分类号: S332

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2009)04-0001-06

## Progress on Genetic Mechanism and Gene Mapping of Aluminum Tolerance in *Oryza sativa* L.

LU Yong-gen, FU Xue-lin, CHU Shao-wei, NIAN Hai, LIU Xiang-dong

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The main progress on genetic mechanism and gene mapping for aluminum tolerance in rice was reviewed in this paper. It focused on genetic mechanism and QTL mapping for aluminum tolerance in rice at seedling stage under the conditions of nutrient solution and simple  $\text{CaCl}_2$  solution with different concentrations of  $\text{Al}^{3+}$ , evaluation and selection of genotypes tolerant to aluminum toxicity, as well as the gene separation and expression. The perspective of the research on aluminum tolerance in rice was put forward.

**Key words:** *Oryza sativa*; aluminum tolerance; genetic mechanism; gene mapping

铝是地壳中含量最高的金属元素. 世界总陆地面积的30%为酸性土壤, 超过50%的耕地分布在酸性土壤地区<sup>[1]</sup>, 酸性土壤条件限制作物的生长及产量提高<sup>[2-4]</sup>. 尽管水稻是禾本科小粒作物中耐铝性最强的<sup>[5]</sup>, 但是酸性土壤条件同样成为热带亚热带水稻种植地区限制水稻生长的主要因素之一. 由于酸性土壤的低pH环境使得 $\text{Al}^{3+}$ 和 $\text{Fe}^{2+}$ 以可溶性离子状态存在, 导致植物生长遭受铝毒和铁毒的危害, 使根系遭受损伤, 最终导致水稻产量下降<sup>[6]</sup>. 水稻耐铝性的前期研究主要集中在耐铝毒材料的筛选<sup>[7-8]</sup>、铝毒胁迫下水稻根尖细胞结构与生长<sup>[9-10]</sup>、根系代谢与酸类物质分泌<sup>[11-14]</sup>、根尖铝积累与根际pH变化<sup>[15]</sup>, 以及 $\text{Al}^{3+}$ 与多种金属离子间的竞争性运输和

吸收<sup>[16-17]</sup>等方面. 挖掘水稻的耐铝性资源、弄清楚其耐铝性的遗传与基因控制机理, 培育耐铝品种是解决酸铝毒害、进一步提高水稻产量的根本途径. 近年来, 有关水稻耐铝性遗传与基因控制机理研究的报道越来越多. 综合来看, 主要在水稻幼苗期耐铝基因型的鉴定与筛选、耐铝性的遗传模式分析、耐铝基因/QTL的定位、基因分离及表达等方面取得进展.

### 1 全营养液条件下水稻苗期耐铝遗传与QTL定位研究

全营养液含有水稻生长所必需的各种大量元素和微量元素, 能够保证在水培条件下水稻正常生长的营养需要. 在种子发芽后幼苗生长的营养液中加

收稿日期: 2009-03-19

作者简介: 卢永根(1930—), 男, 教授, 中国科学院院士, E-mail: yglu@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金与广东省政府联合资助项目(U0631003); 广东省自然科学基金(7301008); 华南农业大学校长基金(2007K036)

入一定浓度的  $\text{Al}^{3+}$  形成铝毒的胁迫条件,在此溶液中水稻种子根的生长受到抑制,不同遗传背景的水稻种子表现出根生长或受抑制程度的差异,从而产生耐铝性和铝敏感品种. Khatiwada 等<sup>[18]</sup> 利用全营养液培养法对来自亚洲和西非地区酸性土壤种植的 62 个常规稻品种进行了耐铝性的比较,在添加  $225 \mu\text{mol/L Al}^{3+}$  的营养液中培养 14 d,供试材料的相对根长 (Relative root length, RRL) 变化在 0.450 ~ 1.159 之间,表明不同品种之间的耐铝性存在显著差异. 他们利用筛选出来的 2 个铝敏感品种 (IR45 和 IR1552)、2 个中度敏感品种 (IR29 和 IR43)、3 个耐铝品种 (Azucena, IRAT104 和 Moroberekan) 配制完全双列杂交组合,以 RRL 为指标分析其遗传力、亲本的一般配合力及特殊配合力. 结果表明,高的 RRL 同时受基因的加性效应和显性效应控制,以加性效应为主. RRL 是一个部分显性性状,受 1 组基因的控制. 他们认为在水稻耐铝性遗传中,亲本的一般配合力与特殊配合力都很重要. 通过系统选育,可以在以耐性品种做母本的杂交早代选育出具有耐铝性的水稻品种. Wu 等<sup>[7]</sup> 利用不完全双列杂交,以根耐性指数 (Root tolerance index, RTI) 为指标对包括 7 个雄性不育系在内的 15 个耐铝性不同的水稻品种及其 56 个杂交组合  $F_1$  的苗期耐铝性进行了遗传研究,表明在  $1 \text{ mmol/L Al}^{3+}$  的营养液中培养 6 周后,亲本间 RTI 表现显著的一般配合力方差与特殊配合力方差,且一般配合力方差更大,表明在耐铝性状的遗传控制方面基因的加性效应更大. 而高的狭义遗传力 (48%) 表明,基于 RTI 指标开展水稻苗期耐铝性的遗传选择是可行的. 其中恢复系 02428 和 Pedel 以及不育系协青早 A 的耐铝性较强,是酸性土壤地区杂交稻育种的有利资源.

近年来,随着 DNA 分子标记的不断开发和应用,水稻耐铝遗传研究在分子水平取得较大进展,这有助于深入探索水稻耐铝性的遗传机理和促进耐性育种研究. Wu 等<sup>[19]</sup> 以铝敏感籼稻品种 IR1552 与耐铝的粳稻品种 Azucena 及其杂交构建的重组自交系 (Recombinant inbred lines, RILs) 群体为材料,对发芽 7 d 根长 1 cm 的幼苗在  $1 \text{ mmol/L Al}^{3+}$  的营养液中分别培养,以相对根长 (RRL) 为材料耐铝性的表型值,结合 AFLP 和 RFLP 标记基因型分析,利用非条件作图方法,在铝胁迫 14 和 28 d 后分别在 1 号和 12 号染色体上检测到 2 个耐铝的 QTLs,这 2 个 QTLs 两侧的分子标记分别是 RZ801 与 RG323,以及 RG9 与 RG457. 12 号染色体上的 QTL 分别解释了在铝胁迫 14 和 28 d 后 RRL 总变异的 10% 和 20%,表明该

QTL 的效应随着铝胁迫时间的延长而增加. 相反,1 号染色体上的 QTL 在铝胁迫 14 和 28 d 后分别解释了 RRL 总变异的 19% 和 15%,其效应随着铝胁迫时间的延长而下降,而在利用条件作图方法分析时 1 号染色体上的 QTL 未能在胁迫处理 28 d 后检测到. 此外,在 3 号和 9 号染色体上也检测到 2 个效应较小的耐铝 QTLs. 该研究结果同时表明水稻耐铝性涉及多个等位基因座,水稻幼苗期的耐铝性主要受基因的加性效应控制,当幼苗长大后,基因的上位性效应则更大. Nguyen 等<sup>[20]</sup> 利用籼稻耐铝品种 Chiembau 和籼稻铝敏感品种 Omom269-65 杂交的  $F_2$  和  $F_3$  群体进行耐铝基因的分子定位. 在添加  $225 \mu\text{mol/L Al}^{3+}$  的全营养液中培养 10 d 后,测量每棵幼苗的最长根长,以  $\text{Al}^{3+}$  处理幼苗的最长根长 (Stress root length, SRL) 与对照幼苗的最长根长 (Control root length, CRL) 之比 (Root length ratio, RR) 为耐性指标,结合 RFLP 标记基因型分析,发现在全基因组 8 条染色体上有 9 个区域与铝胁迫下根生长的遗传控制有关,其中耐铝性效应最大的区域位于 1 号染色体上标记 WG110 附近,该座位来自耐铝品种 Chiembau 的等位基因,表现出与铝胁迫下较长的根长有关,即为耐铝基因. 结合生理研究和分子作图研究等认为,水稻的耐铝性是一个多基因控制的复杂性状. 随后,Nguyen 等<sup>[21]</sup> 利用耐铝的粳稻品系 CT9993 和对铝毒敏感的籼稻品系 IR62266 构建 DH 群体,以此研究不同遗传背景下水稻苗期耐铝性的基因控制. 他们以  $225 \mu\text{mol/L Al}^{3+}$  的营养液处理 10 d 后幼苗 RR 作为耐铝性的性状指标,在 10 条染色体上检测到 20 个 QTLs,表明耐铝性是多基因控制的性状. 其中遗传效应最大的 2 个 QTLs ( $qALRR-1-1$  和  $qALRR-8$ ) 分别位于 1 号和 8 号染色体上. 比较前人的研究结果发现,在 3 个不同遗传背景下,水稻基因组 1 号染色体上有 1 个保守区域,该区域含有与耐铝性相关的 QTLs. 这是分离控制水稻耐铝基因开展耐性机理研究,以及进行水稻与其他谷类作物耐铝性的比较基因组学研究的一个重要起点. Mao 等<sup>[22-23]</sup> 在 Wu 等<sup>[19]</sup> 研究的基础上,继续以铝敏感的籼稻品种 IR1552 与耐铝的粳稻品种 Azucena 构建的 RILs 群体为材料进行耐铝 QTL 的定位,结果表明,在  $183 \mu\text{mol/L Al}^{3+}$  的营养液条件下胁迫处理 7 和 14 d 的定位结果是基本一致的,即分别在 1 号染色体上的标记 RZ801-RG381、9 号染色体上的标记 RZ698-ACA-CTA1、12 号染色体上的 ACA-CTT1-RM117 等 3 个区间各检测到 1 个 QTL. 1 号染色体上 QTL 的有利等位基因来自 Azucena,在  $\text{Al}^{3+}$  处理 7 和 14 d 后对表

型的贡献率分别为 16% 和 9%; 9 号染色体上 QTL 的有利等位基因来自 IR1552, 在  $Al^{3+}$  处理 7 和 14 d 后对表型的贡献率分别为 13% 和 15%; 第 3 个 QTL 的有利等位基因来自 Azucena, 在  $Al^{3+}$  处理 7 和 14 d 后对表型的贡献率分别为 10% 和 11%. 通过 cDNA-AFLP 分析筛选到 34 个铝诱导的来自转录本的片段 (Transcript derived fragments, TDFs), 在这些 TDFs 中发现了 19 个已知功能的基因, 其中有些基因与细胞壁组分代谢相关, 有些与蛋白代谢相关, 有些参与次生代谢、氧胁迫以及其他的细胞过程. 表明铝胁迫诱导木质素等水稻种子根的细胞壁成分的生物合成, 铝毒害影响多个代谢过程, 使植物产生一系列的生理生化反应. 进一步分析表明位于 1 号染色体上的 *OsAR28* 基因很可能是耐铝性的候选基因.

以上结果表明, 利用全营养液培养法研究水稻苗期耐铝性的方法已成熟, 在培养液中添加一定浓度的  $Al^{3+}$  作为胁迫压力, 以 RRL 为耐性衡量指标, 已经在多个不同遗传群体中检测和定位了数个与耐铝性有关的 QTLs. 但是由于同一品种不同种子存在生理和适应性差异等, 以及对营养液中多种离子之间的竞争性吸收和离子之间的拮抗作用, 使得能够反映基因型之间的根长和耐铝性差异的  $Al^{3+}$  浓度非常高, 远远高于酸性土壤中的铝含量, 而且培养时间的长短和溶液的环境 (包括溶液 pH、离子浓度、温度等) 均会影响种子根的生长. 因此, 在全营养液条件下研究水稻苗期耐铝性的方法存在局限性, 加上操作较繁杂, 摸索更为简便可靠的研究方法是进一步开展水稻耐铝性研究的重要内容之一.

## 2 简单钙溶液条件下水稻苗期耐铝遗传与 QTL 定位研究

目前在简单钙溶液条件下对发芽种子的根利用短期 (12 或 24 h) 铝胁迫定位了耐铝的 QTLs. 薛永等<sup>[24]</sup> 采用全营养液水培检测方法 (RRL) 和简单钙液水培检测方法 (相对根伸长量, Relative root elongation, RRE) 测定了粳稻品种 Asominori (耐铝品种) 和籼稻品种 IR24 (铝敏感品种) 的耐铝性, 结果表明 Asominori 的耐铝性在 2 种检测方法之间不存在显著差异 ( $t=0.4919, t_{0.01}=2.2281$ ), IR24 的耐铝性在 2 种方法之间也不存在显著差异 ( $t=0.0122, t_{0.01}=2.1788$ ). 由于在营养液条件下  $Al^{3+}$  处理时间较长, RRL 可能还受到一些诸如营养吸收、处理时期温度等其他非铝胁迫因素的影响, RRE 则是一个比 RRL 更准确更快速的耐铝毒评价指标. 他们采用简单营养液方法, 以  $100 \mu\text{mol/L } Al^{3+}$  作筛选压处理 24 h 的

RRE 为指标, 对 Kinmaze (*japonica*)/DV85 (*indica*) RILs 群体共 81 个株系进行了水稻耐铝毒 QTL 的检测, 结果共检测到 5 个耐铝毒 QTLs, 分别位于第 1、5、8、9 和 11 号染色体上, 各个 QTL 对表型的贡献率在 8.64% ~ 18.60% 之间, 其中位于第 5、8 和 11 号染色体上的 QTLs 对铝毒的抗性基因来自亲本 DV85, 位于第 1 和 9 号染色体上的 QTLs 对铝毒的抗性基因则来自亲本 Kinmaze. Ma 等<sup>[5]</sup> 在简单钙溶液条件下利用  $50 \mu\text{mol/L } Al^{3+}$  作筛选压, 以处理 24 h 的 RRE 为指标, 以耐铝的粳稻品种 Koshihikari 和铝敏感籼稻品种 Kasalath 构建的重组自交系为材料, 鉴定出 3 个分别位于 1、2 和 6 号染色体上的控制耐铝性的 QTL, 这 3 个 QTLs 解释了耐铝性表型总变异的 27%. 来自于铝敏感品种 Kasalath 的 1 号和 2 号染色体上的等位 QTL 对水稻的耐铝性起减弱作用, 其 6 号染色体上的等位 QTL 则起到增强耐铝性的作用. 他们通过用 Koshihikari 背景下带有 Kasalath 染色体片段的 3 个代换系进行耐铝性检测, 进一步证实了以上结果. Xue 等<sup>[25]</sup> 以耐铝品种 Nipponbare 和铝敏感籼稻品种 Kasalath 构建的回交近交系 (Back-cross inbred lines, BILs) 群体为材料, 以  $0.5 \text{ mmol/L } CaCl_2$  (pH4.5) 溶液中添加  $100 \mu\text{mol/L } Al^{3+}$  处理萌发 4 d 后幼苗的种子根, 以非胁迫条件下根伸长量 (Control root elongation, CRE)、胁迫条件下根伸长量 (Stress root elongation, SRE) 以及 RRE 为性状指标, 利用 245 个 RFLP 标记定位了 7 个 QTLs. 其中 3 个 CRE QTLs (*qCRE-6*、*qCRE-8* 和 *qCRE-9*) 分别定位在第 6、8 和 9 号染色体上; 1 个 SRE QTL (*qSRE-4*) 定位在第 4 号染色体上; 3 个 RRE QTLs (*qRRE-5*、*qRRE-9* 和 *qRRE-10*) 分别定位在第 5、9 和 10 号染色体上, 对表型总变异的贡献率为 9.7% ~ 11.8%. *qRRE-10* 为仅在该研究材料中发现的 QTL, 而 *qRRE-9* 类似于其他研究者以不同水稻群体定位的 QTL. 他们用在 Nipponbare 背景下建立的 Kasalath 的染色体片段代换系 (Chromosome segment substitution lines, CSSLs) CSSL22、CSSL40 和 CSSL47 进一步证实了已检测到的 QTLs. Xue 等<sup>[25-26]</sup> 在相同的简单钙溶液条件下, 以  $100 \mu\text{mol/L } Al^{3+}$  的筛选压处理的种子 RRE 为表型指标, 利用耐铝粳稻品种 Asominori 和铝敏感籼稻品种 IR24 构建了 71 个 RILs, 结果表明耐铝性状的广义遗传力为 79.6%, 并鉴定出 3 个 QTLs (*qRRE-1*、*qRRE-9* 和 *qRRE-11*) 分别位于第 1、9 和 11 号染色体上. 同时, 他们利用 66 个 IR24 遗传背景下的 Asominori CSSLs 材料, 进一步证实了这 3 个 QTLs 的存在. 他们以 (CSSL51  $\times$  IR24)  $\times$  IR24 的

BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 和 BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> 群体精细定位了 *qRRE-9*, 表明它是一个符合孟德尔遗传规律的隐性耐铝基因 *alt-9*, 与 SSR 标记 RM5765 完全连锁, 位于标记 ID47-2 和 RM24702 之间 0.9 cM 处。

### 3 水稻耐铝研究的资源拓展

在大多数研究者重点开展水稻耐铝种质筛选并研究其耐性遗传控制机理和基因定位的同时, Satoshi 等<sup>[27]</sup> 在水稻种子萌发阶段筛选铝敏感的材料, 并对小麦和水稻在幼苗生长阶段和种子萌发阶段的耐性进行了比较。结果表明, 在幼苗生长阶段, 水稻品种 Nipponbare 和小麦品种 ET8 的幼苗在 50 μmol/L Al<sup>3+</sup> 处理 24 h 后根生长的抑制率均接近 50%。表明水稻和小麦幼苗根对铝的敏感性几乎相同。但是在种子萌发阶段进行耐铝性鉴定的结果则表明在 50 μmol/L Al<sup>3+</sup> 处理下萌发 4 d 后小麦种子根的生长被完全抑制, 而水稻种子根的生长受抑程度要小得多, 其根长相当于无 Al<sup>3+</sup> 处理下种子根长的 42%, 说明水稻种子在萌发阶段生出的种子根耐铝性比小麦的强。通过对种子萌发阶段的耐铝性鉴定, 在水稻品种 Nipponbare 中筛选出了铝敏感突变体 ASRG1, 其对铝毒具有超敏性, 致使种子在 Al<sup>3+</sup> 溶液中萌发时不能形成种子根, 这种铝敏感的作用可能对根尖细胞分裂的影响大过对细胞体积膨大的影响。这一研究丰富了水稻苗期耐铝性研究的内容, 也有助于揭示耐性机理。Ma 等<sup>[28]</sup> 通过用 γ-射线诱变耐铝品种 Koshihikari 的种子, 在 M<sub>3</sub> 代 560 个株系中分离到 1 个铝敏感突变体 *als1*。在无铝的简单钙溶液中生长 24 h 后, 突变体与野生型的根生长表现相同, 但是在添加 10 μmol/L Al<sup>3+</sup> 的简单钙溶液中生长 24 h 后, 野生型的根伸长抑制率仅为 8%, 而突变体的根伸长抑制率则高达 70%; 在酸性土壤中的栽培试验结果表明, 突变体根的生长同样受到更大的抑制。遗传分析的结果表明, 突变体 *als1* 的铝敏感表现受 1 对隐性基因控制。该基因被定位在 6 号染色体长臂上, 其侧翼的标记为 MaOs0619 和 MaOs0615。

在开展栽培稻品种耐铝资源和遗传控制研究的同时, 也急需拓宽栽培稻之外的基因库以进一步创新和改良水稻耐铝毒资源。在此方面, 近年来研究者在挖掘野生稻所蕴藏的耐铝基因方面开展了研究。Nguyen 和 Brar 等<sup>[29]</sup> 在普通野生稻 (*Oryza rufipogon*) 中筛选到 1 个具有耐铝性的 Acc 106424, 通过栽培稻铝敏感品种 IR64 与之构建的 171 个 RILs, 以 300 μmol/L Al<sup>3+</sup> (pH4.0) 营养液为选择压, 以 RRL 为指标, 结合 RFLP 标记分析, 定位了来自普通野生稻的

耐铝 QTLs。在第 1、3、7、8 和 9 号染色体上检测到 5 个 RRL 的 QTLs, 分别是 *QALR1.1*、*QALR3.1*、*QALR7.1*、*QALR8.1* 和 *QALR9.1*, 能够解释表型总变异的 70.8%, 其中 *QALR3.1* 解释了总变异的 24.9%, 为主效 QTL。这 5 个 QTLs 均是来自普通野生稻有利于减轻水稻受铝毒危害的基因。因此, 利用与 *QALR3.1* 连锁的标记 CDO1395 向栽培稻转移该主效 QTL 以培育耐铝的新种质材料成为可能。此外, 通过发展近等基因系 (Nearly isogenic lines, NILs) 将有助于对来自普通野生稻的耐铝等位基因的效应进行评价, 也为开展分子标记辅助选择育种和聚合 QTLs 以改良水稻种质奠定了基础。同时在 NILs 基础上构建大量的回交后代群体能够帮助精细定位和克隆目标 QTL。近年来, 在国家基金委与广东省政府联合基金资助下, 笔者开展了广东高州野生稻耐铝毒基因的发掘利用研究。在简单钙溶液条件下, 对高州野生稻居群 77 个编号进行了种子苗期耐铝性的鉴定以及 21 个编号的离蘖茎再生根的耐铝性鉴定。结果表明, 以 RRE 为指标, 与耐铝品种日本晴相比较, 有多个编号的高州野生稻苗期耐铝性高于日本晴。表明高州野生稻中可能蕴藏着耐铝基因。目前笔者正在进行利用铝敏感品种 HJX74 为背景构建的高州野生稻染色体片段代换系的耐铝性研究, 期望能够定位来自高州野生稻的耐铝基因, 为开展华南地区水稻耐铝性机理研究和耐铝品种选育提供材料和理论基础。

### 4 水稻耐铝基因的分离与表达研究

抑制差减杂交技术 (Suppression subtractive hybridization, SSH) 是快速有效分离差异表达基因的一种较普遍应用的方法<sup>[30-31]</sup>。利用此方法, 在小麦<sup>[32-34]</sup> 和玉米<sup>[35]</sup> 中已分离出多个耐铝基因。而铝毒诱导表达基因的分离对进一步研究铝毒害、耐铝机理与培育耐铝品种都有重要的指导意义。目前在水稻耐铝基因分离及其表达方面的研究报道不多。明凤等<sup>[36]</sup> 采用 SSH 技术对正常条件与铝毒处理的普通野生稻植株进行表达基因差异性分析。通过对差异表达基因的 PCR 选择性研究、阳性表达基因的测序、Northern blotting 的进一步分析, 确定有 3 个 cDNAs 在铝毒处理的叶片中高效表达, 其中 2 个与光合系统代谢相关, 1 个与花的发育有关。进一步研究这 2 个与光合系统代谢相关基因 *cwrali1* 和 *cwrali2* 的全长序列及其在野生稻耐铝毒中的作用将有助于揭示其在铝毒胁迫环境下真正的生物学意义。此外, 在水稻耐铝基因的表达方面, 张立平等<sup>[37]</sup> 利用差异显示 PCR (Differential display PCR, DD-PCR) 技术比较了水稻

对铝极敏感的品种 pp2462-11 和极抗品种 Pedel 在铝胁迫条件下基因的表达差异. 结果表明, 抗性品种和敏感品种在铝胁迫下其苗期 mRNA 存在明显差异, 试验共发现 25 个差异 cDNA, 铝既可诱导抗性品种和敏感品种的基因表达, 又可抑制其基因表达. 抗性品种特异表达的片段可能与合成抗性蛋白有关, 敏感品种基因的特异表达可能产生一些有毒害作用的蛋白抑制根的生长. Zhang 等<sup>[38]</sup> 利用差异显示反转录 PCR (Differential display reverse transcription-PCR, DDRT-PCR) 结合 Northern blotting 分析, 在不同铝敏感的水稻品种中证实了铝响应基因的存在. 在水稻耐铝品种 XN1 和铝敏感品种 XX2 中共发现 37 个铝响应基因, 其中有 4 个基因编码离子转运蛋白, 2 个基因与信号转导有关, 另有 5 个基因合成半胱氨酸和金属硫蛋白. 因此, 离子转运与硫代谢对水稻的耐铝性起了主要作用. Yang 等<sup>[39]</sup> 通过蛋白质组学的方法, 研究了在添加  $Al^{3+}$  的简单钙溶液和全营养液条件下, 耐铝品种 XN1 的根尖铝响应蛋白. 共鉴定到 17 个铝响应蛋白, 其中 12 个为上游调节蛋白, 5 个为下游调节蛋白, 有一些新发现的铝毒影响蛋白. 其中大多数蛋白是与信号传导、抗氧化和解毒作用相关的. 因此, 他们认为涉及硫代谢尤其是与半胱氨酸代谢有关的半胱氨酸合成酶在水稻适应铝毒的过程中发挥着关键作用.

## 5 水稻耐铝遗传与育种研究展望

目前水稻耐铝遗传与育种研究以对水稻苗期耐铝性的研究为主, 筛选到了一些耐性品种或材料, 阐明了一些材料的耐性遗传模式, 利用分子标记定位了多个控制耐铝性的 QTLs (包括少数主效 QTLs), 但是在主效基因的精细定位、基因克隆和表达等方面的研究仍然较少. 弄清楚水稻耐铝性的遗传控制机理是合理挖掘耐铝资源, 开展水稻耐铝性育种的重要基础, 因此需要进一步深入开展水稻耐铝的关键基因或 QTL 的筛选、鉴定和功能研究. 此外, 今后在水稻育种上, 也需加强对耐性资源的利用, 培育耐铝品种. 可借鉴大豆、烟草、小麦、玉米及大麦等作物的经验, 尝试利用常规育种结合分子标记辅助选择、转基因技术<sup>[40]</sup>、体细胞变异体筛选<sup>[41]</sup>等方法, 开展水稻耐铝新种质的创建和新品种的培育.

### 参考文献:

- [1] UEXKULL H R, MUTERT E. Global extent, development and economic impact of acid soils [J]. *Plant and Soil*, 1995, 171: 1-15.
- [2] LEON V K, NICOLE S P, DEBORAH L D, et al. Mechanisms of metal resistance in plants; Aluminum and heavy metals [J]. *Plant and Soil*, 2002, 247: 109-119.
- [3] KOCHIAN L V. Cellular mechanisms of aluminium toxicity and resistance of higher plants [J]. *Ann Rev Plant Physiol and Plant Mol Biol*, 1995, 46: 237-260.
- [4] MARGARETE B, ANDREA K, KARL D, et al. New insights into abiotic stress signalling in plants [J]. *Progress in Botany*, 2006, 67: 248-274.
- [5] MA Jian-feng, SHEN Ren-fang, ZHAO Zhu-qing, et al. Response of rice to Al Stress and identification of quantitative trait loci for Al tolerance [J]. *Plant Cell Physiology*, 2002, 43(6): 652-659.
- [6] ABDELBAGI M I, SIGRID H, MICHAEL J T, et al. Genetic and genomic approaches to develop rice germplasm for problem soils [J]. *Plant Mol Biol*, 2007, 65: 547-570.
- [7] WU Ping, ZHAO B, YAN Ju-qiong, et al. Genetic control of seedling tolerance to aluminum toxicity in rice [J]. *Euphytica*, 1997, 97: 289-293.
- [8] BIDHAN R, ASIT B M. Towards development of Al-toxicity tolerant lines in indica rice by exploiting somaclonal variation [J]. *Euphytica*, 2005, 145: 221-227.
- [9] SUPRAVA M, ANATH B D, PREMANANDA D, et al. Effect of a low dose of aluminum on mitotic and meiotic activity, 4C DNA content, and pollen sterility in rice, *Oryza sativa* L. cv. Lalat [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 59: 70-75.
- [10] WANG J W, KAO C H. Protective effect of ascorbic acid and glutathione on  $AlCl_3$ -inhibited growth of rice roots [J]. *Biologia Plantarum*, 2007, 51 (3): 493-500.
- [11] CHOWDHURY B, SHEEJA T E, MANDAL A B. Modulation in isozyme profiles in relation to Al toxicity tolerance in rice [J]. *Journal of Genetics & Breeding*, 2001, 55(2): 111-118.
- [12] RAMOS F T, ROSSIELLO R O, FRANCA M G, et al. Aluminum hematoxylin complex indicates the contribution of mucilage to Al tolerance in the apex of rice roots [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2007, 13(1): 9-16.
- [13] JAN F, YAMASHITA K, MATSUMOTO H, et al. Protein and peroxidase changes in various root-cell fractions of two upland rice cultivars differing in Al tolerance [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2001, 46(2): 141-146.
- [14] PALLAVI S, DUBEY R S. Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum [J]. *Plant Cell Rep*, 2007, 26: 2027-2038.
- [15] CHEN Rong-fu, SHEN Ren-fang. Root phosphate exudation and pH shift in the rhizosphere are not responsible for alu-

- minum resistance in rice [J]. *Acta Physiol Plant*, 2008, 30:817-824.
- [16] TOSHIHIRO W, KENSUKE O. Interactive effects of Al, Ca and other cations on root elongation of rice cultivars under low pH [J]. *Annals of Botany*, 2005, 95(2):379-385.
- [17] CHEN Reng-fu, SHEN Ren-fang, GU Pei, et al. Response of rice (*Oryza sativa*) with root surface iron plaque under aluminium stress [J]. *Annals of Botany*, 2006, 98:389-395.
- [18] KHATIWADA S P, SENADHIRA D, CARPENA A L, et al. Variability and genetics of tolerance for aluminum toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 93:738-744.
- [19] WU Ping, LIAO Chun-yan, HU Bin, et al. QTLs and epistasis for aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) at different seedling stages [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 100:1295-1303.
- [20] NGUYEN V T, BUROW M D, NGUYEN H T, et al. Molecular mapping of genes conferring aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102:1002-1010.
- [21] NGUYEN V T, NGUYEN B D, SARKARUNG S, et al. Mapping of genes controlling aluminum tolerance in rice: Comparison of different genetic backgrounds [J]. *Mol Genet Genomics*, 2002, 267:772-780.
- [22] MAO Chuang-zao, YANG Ling, ZHENG Bing-seng, et al. Comparative mapping of QTLs for Al tolerance in rice and identification of positional Al-induced genes [J]. *Journal of Zhejiang University Science*, 2004, 5(6):634-643.
- [23] MAO Chuang-zao, YI Ke-ke, YANG Ling, et al. Identification of aluminium regulated genes by cDNA-AFLP in rice (*Oryza sativa* L.): Aluminium-regulated genes for the metabolism of cell wall components [J]. *J Exp Bot*, 2004, 55:137-143.
- [24] 薛永, 江玲, 张文伟, 等. 利用重组自交系群体检测水稻耐铝毒数量性状基因座 [J]. *作物学报*, 2005, 31(5):560-564.
- [25] XUE Yong, WAN Jian-min, JIANG Ling, et al. Identification of quantitative trait loci associated with aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Euphytica*, 2006, 150:37-45.
- [26] XUE Yong, JIANG Ling, SU N, et al. The genetic basic and fine-mapping of a stable quantitative-trait loci for aluminium tolerance in rice [J]. *Planta*, 2007, 227:255-262.
- [27] SATOSHI K, TAKAYUKI S, MASAHIO M, et al. Physiological and genetic analyses of aluminium tolerance in rice, focusing on root growth during germination [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2005, 99:1837-1844.
- [28] MA Jian-feng, SAKIKO N, HUANG Chao-feng, et al. Isolation and characterization of a rice mutant hypersensitive to Al [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(7):1054-1061.
- [29] NGUYEN B D, BRAR D S, BUI B C, et al. Identification and mapping of the QTL for aluminum tolerance introgressed from the new source, *Oryza rufipogon* Griff., into *indica* rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106:583-593.
- [30] DIATCHENKO L, LAU Y F, CAMPBELL P A, et al. Suppression subtractive hybridization: A method for generating differentially regulated or tissue specific cDNA probes and libraries [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93:6025-6030.
- [31] DIATCHENKO L, LUKYANOV S, LAU Y F, et al. Suppression subtractive hybridization: A versatile method for identifying differentially expressed genes [J]. *Meth Enz*, 1998, 303:349-380.
- [32] XIAO Kai, BAI Gui-hua, CARVER B F. Nylon filter arrays reveal differential expression of expressed sequence tags in wheat roots under aluminum stress [J]. *J Integ Plant Biol*, 2005, 47:839-848.
- [33] 谷俊涛, 韩胜芳, 柏贵华, 等. 铝胁迫条件下小麦根系特异表达基因的研究 [J]. *作物学报*, 2007, 33(6):1025-1028.
- [34] GUO Pei-guo, BAI Gui-hua, BRETT C, et al. Transcriptional analysis between two wheat near-isogenic lines contrasting in aluminum tolerance under aluminum stress [J]. *Mol Genet Genomics*, 2007, 277:1-12.
- [35] 汤华, 郑用琏, 贺立源, 等. 玉米耐铝毒基因的分离 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(5):507-514.
- [36] 明凤, 梁斌, 娄玉霞, 等. 铝诱导普通野生稻 (*Oryza rufipogon* L.) 光合系统相关基因表达 [J]. *复旦学报:自然科学版*, 2002, 41(6):679-683.
- [37] 张立平, 吴平, 祝金明, 等. 利用 DD-PCR 技术分析水稻铝诱导基因的表达差异 [J]. *中国农业科学*, 1997, 30(5):71-74.
- [38] ZHANG Jian-jun, HE Zheng-hui, TIAN Hua, et al. Identification of aluminium-responsive genes in rice cultivars with different aluminium sensitivities [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(8):2269-2278.
- [39] YANG Qiao-seng, WANG Yu-qi, ZHANG Jian-jun, et al. Identification of aluminum-responsive proteins in rice roots by a proteomic approach: Cysteine synthase as a key player in Al response [J]. *Proteomics*, 2007, 7:737-749.
- [40] FUENTE J M, RAMIREZ V, CABRERA J L, et al. Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis [J]. *Science*, 1997, 276:1566-1568.
- [41] SAMAC D A, TESFAYE M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils: A review [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2003, 75:189-207.