

张龙廷, 吴静, 熊喜娟, 等. 基于单片段代换系的水稻苗高 QTL 定位和上位性效应分析 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(6): 881-888.
ZHANG Longting, WU Jing, XIONG Xijuan, et al. QTL mapping and epistatic effect analysis of seedling height based on single segment substitution lines in rice[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(6): 881-888.

基于单片段代换系的水稻苗高 QTL 定位和上位性效应分析

张龙廷^{1,2†}, 吴静^{1,2†}, 熊喜娟^{1,2†}, 董景芳¹, 张少红¹, 赵均良¹, 刘自强², 杨梯丰¹

(1 广东省农业科学院 水稻研究所/广东省水稻育种新技术重点实验室/广东省水稻工程实验室/农业农村部华南
优质稻遗传育种重点实验室(省部共建), 广东 广州 510640; 2 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】挖掘控制水稻苗高的稳定 QTL, 并分析其上位性效应, 为水稻苗高的分子育种提供 QTL 和理论参考。【方法】以 IR65598-112-2 为供体、优良品种‘华粳 74’为受体的单片段代换系 (Single segment substitution line, SSSL) 为材料, 通过测定 SSSL 与‘华粳 74’的苗高差异, 对苗高 QTL 进行定位; 通过代换作图缩小 QTL 的区间, 并分析 2 个苗高 QTL 的上位性效应。【结果】在第 3 号染色体长臂端定位到 2 个相邻的苗高 QTLs (*qSH3-1* 和 *qSH3-2*), 分别位于第 3 号染色体的 32.59—33.08 Mb 和 33.16—34.81 Mb 区间, 长度分别为 0.49 和 1.65 Mb; 加性效应分别为-0.86 和-1.09 cm; 加性效应表型贡献值分别为-4.14% 和-5.15%; 包含这 2 个 QTL 的 SSSL 的苗高与‘华粳 74’无显著差异。【结论】本研究定位到 2 个苗高 QTL, 这 2 个 QTL 之间可能存在显著的上位性。

关键词: 苗高; 单片段代换系; 代换作图; QTL 定位; 上位性效应; 水稻

中图分类号: S511; Q311.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)06-0881-08

QTL mapping and epistatic effect analysis of seedling height based on single segment substitution lines in rice

ZHANG Longting^{1,2†}, WU Jing^{1,2†}, XIONG Xijuan^{1,2†}, DONG Jingfang¹, ZHANG Shaohong¹,
ZHAO Junliang¹, LIU Ziqiang², YANG Tifeng¹

(1 Rice Research Institute/Guangdong Key Laboratory of New Technology in Rice Breeding/Guangdong Rice Engineering Laboratory/Key Laboratory of Genetics and Breeding of High Quality Rice in Southern China (Co-construction by Ministry and Province), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; 2 College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To find out the stable QTLs controlling rice seedling height, analyze their epistatic effects, and provide QTL and theoretical references for molecular breeding of rice seedling height. 【Method】The single segment substitution lines (SSSLs) with IR65598-112-2 as donor and ‘Huajingxian 74’ as receptor were used as materials. The difference of seedling height between SSSL and ‘Huajingxian 74’ was measured,

收稿日期: 2023-07-11 网络首发时间: 2023-09-14 09:49:34

首发网址: <https://link.cnki.net/urlid/44.1110.S.20230913.1220.004>

作者简介: 张龙廷, 硕士研究生, 主要从事水稻分子育种研究, E-mail: 2955134545@qq.com; 吴静, 硕士研究生, 主要从事水稻分子育种研究, E-mail: 1154966358@qq.com; 熊喜娟, 硕士研究生, 主要从事水稻分子育种研究, Email: 3511692659@qq.com; †表示同等贡献; 通信作者: 杨梯丰, 研究员, 博士, 主要从事水稻分子育种研究, E-mail: yangtifeng@gdaas.cn

基金项目: 广东省重点领域研发计划 (2022B0202060002); 广东省科技特派员项目 (KTP20210269); 广东省水稻育种新技术重点实验室课题 (2020B1212060047); 广州市科技计划重点项目 (201804020078)

and the QTLs of seedling height were mapped. The QTL interval was narrowed by substitution mapping, and the epistatic effects of two seedling height QTLs were also analyzed. 【Result】 Two adjacent QTLs (*qSH3-1* and *qSH3-2*) for seedling height were mapped on the long arm of chromosome 3, which were located in the intervals of 32.59–33.08 and 33.16–34.81 Mb, with the lengths of 0.49 and 1.65 Mb, respectively. The additive effects were -0.86 and -1.09 cm, respectively. The phenotypic contribution rate of additive effects were -4.14% and -5.15% , respectively. However, there was no significant difference of seedling height between SSSL harboring these two QTLs and ‘Huajingxian 74’. 【Conclusion】 Two QTLs for seedling height were identified, and there may be significant epistasis effects between the two QTLs.

Key words: Seedling height; Single segment substitution line; Substitution mapping; QTL mapping; Epistatic effect; *Oryza sativa* L.

水稻是全球一半以上人口的主食来源,是我国最重要的粮食作物之一。近年来,随着年轻劳动力逐渐流向城市,我国农村人口出现老龄化、过疏化现象。水稻育苗移栽技术消耗大量的人工和物力,成本较高,已经无法适应我国农村劳动力短缺的现状。水稻直播技术相比传统育苗移栽技术减少了育秧环节,可以实现水稻生产的轻型化与机械化,减少劳动力与成本消耗,提高资源利用率^[1];但是水稻直播往往伴随着草害的发生,并且难以防除^[2]。选用前期生长迅速的直播水稻品种,在营养和光能竞争中优于杂草,将能有效抑制杂草生长,从而达到杂草防控的目的^[3-7]。苗高是衡量水稻前期生长速率最重要的指标之一,因此是直播稻育种的重要性状。

随着分子标记技术的发展,关于苗高的 QTL 研究已经取得了一定进展^[8-9]。最早,Redoña 等^[10]利用 F₂ 群体分别在第 1、3、5、9 号染色体上定位到 4 个苗高相关 QTL,贡献率为 7.4%~17.1%。随着对苗高遗传基础研究的重视,利用双亲遗传群体开展苗高 QTL 定位的研究越来越多^[4-6, 11-22]。随着测序技术的发展,全基因组关联分析成为定位苗高 QTL 的有效工具^[23-26]。2021 年, Yang 等^[27]利用由籼稻 YZX 与粳稻 02428 构建的重组自交系群体,分别在第 3、4 号染色体上检测到 2 个苗高相关 QTL *qSH-3* 和 *qSH-4*,贡献率分别为 6.98% 和 5.92%。Zeng 等^[28]利用 200 份籼稻品种进行全基因

组关联分析,定位到 32 个苗高相关 SNP 位点,分别位于第 1、3、4、5、8、9、10、11、12 号染色体上。综观上述研究,大多数研究应用的是重组自交系、分离群体等初级作图群体,这些遗传材料背景复杂,往往会使得 QTL 的定位不准确;而且大多数的研究只有单次试验的研究结果,因此大多数苗高 QTL 的稳定性不明确。此外,苗高 QTL 之间上位性效应的研究也很少。

本研究前期在进行水稻苗高的全基因组关联分析中,发现在 3 种不同栽培环境下,分别在第 3 号染色体的 32 121 054、32 457 552 和 33 812 040 bp 处检测到与苗高显著相关的 SNP;并且在繁种覆盖第 3 号染色体长臂端的单片段代换系 (Single segment substitution line, SSSL) 群体时,也观察到来源于 IR65598-112-2 SSSL 株系的苗高存在差异。因此,本研究选择了 4 份来源于 IR65598-112-2、覆盖水稻第 3 号染色体长臂端的 SSSLs 进行苗高 QTL 的定位,并分析其可能存在的上位性效应,为下一步开展苗高 QTL 精细定位和克隆打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究采用以 IR65598-112-2 为供体、优良品种‘华粳 74’为受体构建的覆盖第 3 号染色体长臂端的 4 份 SSSLs 为材料。它们的基本信息如表 1 所示。用于检测代换片段的分子标记序列见表 2。

表 1 试验 SSSLs 的信息
Table 1 Information of testing SSSLs

SSSL	供体 Donor	染色体 Chromosome	代换片段 Substitution segment	片段位置/Mb Segment position
K1	IR65598-112-2	3	3C52-5—3C33.13	31.76—33.08
K6	IR65598-112-2	3	3C52-5—3C32.70	31.69—32.59
K11	IR65598-112-2	3	3C52-7—3C34.90	33.16—34.81
K13	IR65598-112-2	3	3C52-5—3C34.90	31.69—34.81

表 2 用于检测代换片段的分子标记

Table 2 Molecular markers for screening of substitution segments

引物 Primer	染色体 Chromosome	位置/Mb Position	正向序列(5'→3') Forward sequence	反向序列(5'→3') Reverse sequence
3C52-5	3	31.69	ATTCTATGCCGCCAACCAA	GAATTGTCAACTTCAGCATCCC
3C31.83	3	31.83	GATGTCAGGGAAAGAAGAAAC	GCATTCTGGGTCAACATACAC
3C31.93	3	31.93	AGAAGGCAAACGGCTGACAAAG	CGTGCTGAACTGGAGATACAAA
3C32.10	3	32.10	CCTTTGAACCTCGTGGGC	TGGTGCGGGAACCCATC
3C52-3	3	32.24	TACAGCCTCCTAATAGCATTGACC	TCGAAGCTGCCGGTGTG
3C32.48	3	32.48	CGCAGGAACAAACAACGA	GAGGGAGTAATGGATACGAAGA
3C32.70	3	32.70	CCATCTCATTTATCAAGTCAA	AGCCGTCTCGGGAGTGTA
3C52-6	3	32.91	GAGCATAAAGGCATTGGTTG	TACCGTTTGTTCGGATAGATG
3C33.03	3	33.03	GCACTCGCCATCCTGACA	CATTAGCTCGCTTCGTTT
3C33.13	3	33.13	GGAAACTTTGGTTGTCCCTGC	TTGGAGCGTCGTTTGTGC
3C52-7	3	33.19	AGAACACCCGCTCCATCG	AGCAGCACGCAGCCGCCTT
RM130	3	33.39	TGTTGCTTGCCCTCACGAAG	GGTCGCGTGCTTGGTTTTGGTTC
3C34.25	3	34.25	GAAGTATACGGTAGGATG	GATGGACACGGACTCTTT
3C52-8	3	34.61	GACGAGGAGGAGGAAGAGGA	AGCAATCGGAGCAGCAAGAG
3C34.72	3	34.72	TGGAGGAATCAAGGAGAC	ATTGAGAAAGAGGCGTAA
3C34.90	3	34.90	TCAGCAAACAATCTACTACCGC	ACAGGACGCACTCAACAT
3C35.15	3	35.15	TTGCTGCGGTGGACCTCTTT	CGGCACCAGTGGGGACAT
3C35.39	3	35.39	TGCTCGGGAACCAGACGT	TGAATCCTGCTGCTTTGA
3C52-4	3	35.74	TGAACCAATGGAAACCTTGA	GTCCTGTATGCGGATGAT

1.2 苗高的测定

挑选色泽鲜亮、饱满无损的种子, 报纸封装后于 49 °C 烘箱放置 4 d 打破休眠, 3%(φ) 次氯酸钠溶液消毒, 然后浸水 1 d, 将种子平铺在垫有 2 层经高压灭菌处理滤纸的培养皿底部, 加入 6 mL 无菌水, 催芽 2 d 后用镊子将萌发的种子芽朝上放入 96 孔黑色培养盒的孔中, 培养盒灌满水, 移至人工气候箱继续黑暗催芽 1 d, 调整气候箱强光照、黑暗各 12 h, 温度 30 °C, 相对湿度 75%。在气候箱中生长 2~3 d, 然后换用 0.05 %(φ)Yoshida 营养液培养, 此后每隔 7 d 换 1 次 0.05 %(φ)Yoshida 营养液, 自装入培养盒生长 14 d 后, 使用直尺测量水稻幼苗高度(根茎连接处至苗尖端长度)并记录。该试验独立进行 3 次, 每次试验 3 次重复, 每次重复测定 20 株。

1.3 分子标记

DNA 的提取、PCR 扩增及带型检测参照杨梯丰等^[29]的方法并适当修改。具体程序为: 取 1~2 cm 长嫩叶置于深孔板中, 加入高压灭菌处理的钢珠, 移液枪吸取 800 μ L 抽提液 (6.057 g Tris、17.53 g NaCl、102.68 g 蔗糖, 定容至 1 L, 调节 pH=8.0) 注入样孔, 利用 Geno Grinder 2010 高通量组织研磨仪磨碎, 95 °C 水浴 30 min, 离心机 2 000 r/min 离心 13 min, 上清液即为 DNA 模板。PCR 扩增的 15 μ L 反应体系包含 0.15 μ mol/L 正反向引物, 200

μ mol/L dNTP, 1 \times PCR 反应缓冲液 (50 mmol/L KCl、10 mmol/L Tris-HCl、1.5 mmol/L MgCl₂、0.1 mg/L 明胶、pH 8.3), 50~100 ng DNA 模板, 1U *Taq* 酶, ddH₂O 补齐。PCR 反应在 S1000 型 DNA 扩增仪 (美国 BIO-RAD 公司) 中进行, PCR 仪反应程序为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s、55 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 40 s, 35 次循环; 72 °C 终延伸 8 min。PCR 扩增产物用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 经 Goldview 染色后用凝胶成像系统 (美国 BIO-RAD 公司) 读取带型。

1.4 代换作图

QTL 代换作图参考 Wissuwa 等^[30]的方法进行。原理如下: 利用分子标记将 SSSL 的区间表示出来, 若有 1 个 QTL 存在于几个或多个 SSSLs 中, 则此 QTL 处在这些 SSSLs 重叠区域之间; 若检测到的 QTL 只在 1 个 SSSL 内, 但其不在这个 SSSL 和其他 SSSLs 的部分重叠区域, 则此 QTL 处于非重叠区间。

1.5 加性效应分析

利用 EXCEL 的 TTEST 函数对试验用 SSSLs 的苗高数据进行 *t* 测验, $P < 0.01$ 为差异极显著, $P < 0.05$ 为差异显著, 筛选与 ‘华粳 74’ 的苗高有显著差异的 SSSLs。参考 Eshed 等^[31]的方法计算 QTL 加性效应及表型贡献率:

加性效应值 = (SSSL表型值 - 华粳粳74表型值)/2, (1)

加性效应表型贡献率 =

加性效应值/华粳粳74表型值 × 100%。 (2)

1.6 上位性分析

2 个 QTL 之间上位性效应的估算参照赵芳明等^[32]的方法。对“包含双 QTL SSSL 的表型平均值+受体亲本‘华粳粳 74’的表型平均值”与“QTL₁的表型平均值+QTL₂的表型平均值”进行 *t* 测验判定差异显著性, 当 $P < 0.05$ 时, 认为 QTL 间存在上位性效应。

上位性效应值 = (包含双QTL SSSL的表型平均值 - ‘华粳粳74’的表型平均值)/2 - (QTL₁的加性效应值 + QTL₂的加性效应值)。 (3)

1.7 基因组重测序和序列差异分析

样品基因组 DNA 用 Illumina-Hiseq 4000(百迈客, 北京) 进行测序。对测序得到的原始 reads(双端序列) 进行质量评估并过滤得到 Clean reads, 以‘日本晴’ IRGSP1.0 为参考基因组, 用 Hisat2 工具将测序样品的 Clean reads 比对到参考基因组上,

然后用 SNPEFF 软件进行 SNP 和 InDel (≤ 50 bp) 检测和变异注释。

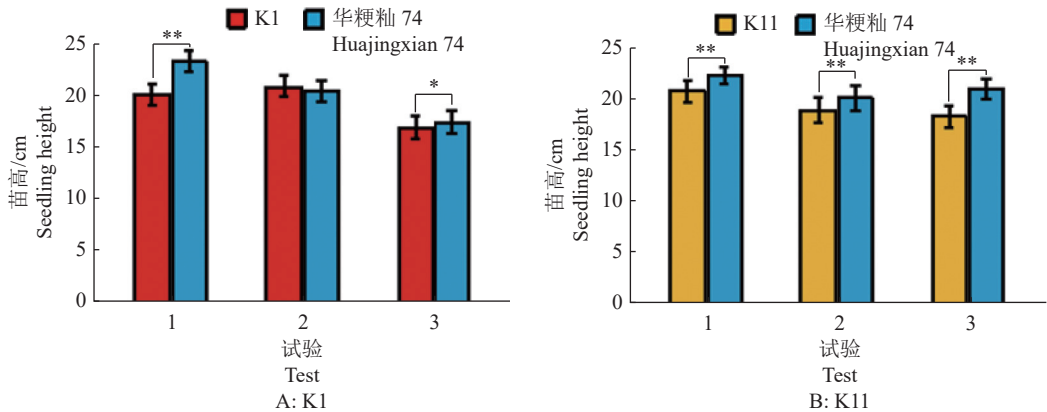
2 结果与分析

2.1 苗高 QTL 的鉴定及其效应

本研究利用 SSSLs 进行了 3 次独立的苗高鉴定试验, 结果如图 1 所示。SSSL K1 的苗高在试验 1 中相比于‘华粳粳 74’ 极显著变矮 ($P < 0.01$), 在试验 2 中无显著差异, 在试验 3 中显著矮于‘华粳粳 74’ ($P < 0.05$)(图 1A); SSSL K11 在 3 次独立试验中均极显著矮于‘华粳粳 74’ ($P < 0.01$)(图 1B)。

通过分子标记对 SSSL K1 和 K11 的染色体代换片段进行验证, 发现 K1 的代换片段区间为第 3 号染色体的 31.76—33.08 Mb, 它携带 1 个苗高 QTL, 该 QTL 命名为 *qSH3-1*, 长度为 1.32 Mb; K11 的代换片段区间为第 3 号染色体的 33.16—34.81 Mb, 它也携带 1 个苗高 QTL, 该 QTL 命名为 *qSH3-2*, 长度为 1.65 Mb(图 2)。

对 2 个 QTL 进行加性效应分析, 结果如表 3



“*” “**” 分别表示在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平差异显著和极显著 (*t* 检验)

“*” and “**” indicate significant and very significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels respectively (*t* test)

图 1 K1、K11 与‘华粳粳 74’的苗高差异

Fig. 1 Differences in seedling height between K1, K11 and ‘Huajingxian 74’

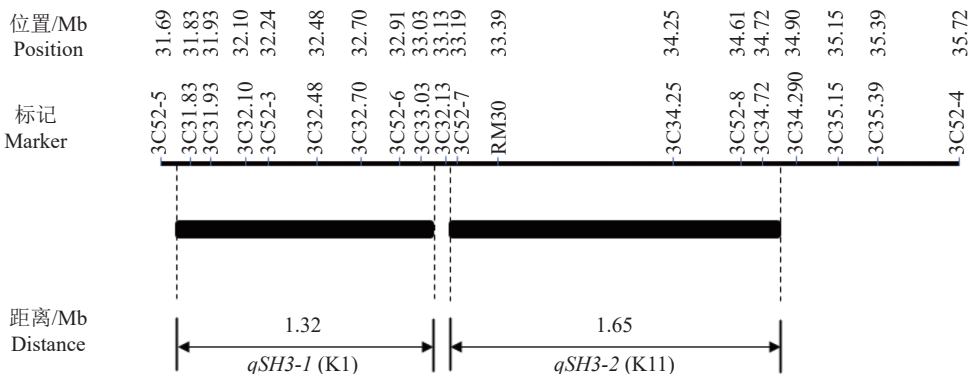


图 2 *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 位置示意图

Fig. 2 Position schematic diagram of *qSH3-1* and *qSH3-2*

表 3 苗高 QTL 的加性效应与加性效应表型贡献率¹⁾

Table 3 Additive effect and additive effect phenotypic contribution rate of QTL in seedling height

SSSL	QTL	染色体 Chromosome	位置/Mb Position	3次试验的加性效应/cm Additive effects of three tests			整体加性效应/cm Average additive effect	表型贡献率/% Phenotypic contribution rate
				1	2	3		
				K1	<i>qSH3-1</i>	3		
K11	<i>qSH3-2</i>	3	33.16—34.81	-0.75	-0.62	-1.33	-1.09**	-5.15

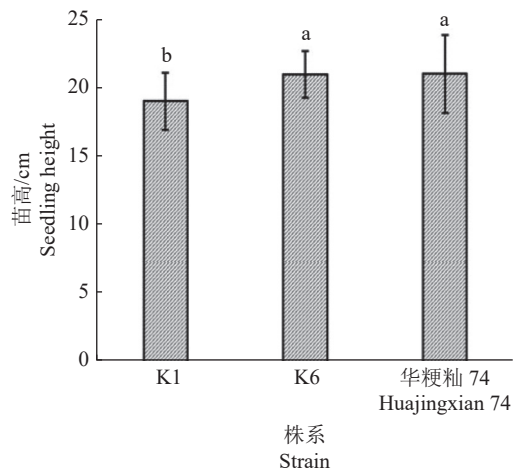
1) “**”表示K1、K11与‘华粳籼74’的苗高在 $P < 0.01$ 水平差异极显著(t 检验); “—”表示未检测到QTL; 负效应“-”表示受体表型值减小

1) “**” indicates that the seedling heights of K1 and K11 are highly significantly different from that of ‘Huajingxian 74’ at $P < 0.01$ (t test); “—” indicates that no QTL is detected; Negative effect “-” indicates a decrease in receptor phenotype value

所示。*qSH3-1* 在试验 1 和 3 的加性效应分别为 -1.57 和 -0.27 cm, 在试验 2 中未检测到加性效应; *qSH3-2* 在 3 次试验中都检测到加性效应, 分别是 -0.75、-0.62、-1.33 cm。通过 3 次试验整体估算, *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 加性效应分别为 -0.86 和 -1.09 cm, 加性效应表型贡献率分别为 -4.14% 和 -5.15%。结合图 1、2 和表 3 可知, *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 是 2 个相邻的苗高 QTL, 而 *qSH3-2* 稳定性更好。

2.2 *qSH3-1* 代换作图

为了进一步缩小苗高 QTL *qSH3-1* 的区间, 用 K1 和 K6 进行代换作图, 虽然 K1 和 K6 有部分重叠区间, 但是苗高检测结果表明: K6 的苗高与 ‘华粳籼 74’ 没有显著差异, 而 K1 与 ‘华粳籼 74’ 存在显著性差异 (图 3)。可见, K1 与 K6 的非重叠区域就是 *qSH3-1* 的区间, 该区间为第 3 号染色体的 32.59—33.08 Mb, 长度为 0.49 Mb (图 4)。



柱子上方的不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著 (Duncan’s 法) Different lowercase letters on the columns indicate significant differences at $P < 0.05$ level (Duncan’s method)

图 3 K1、K6 和 ‘华粳籼 74’ 的苗高差异

Fig. 3 Differences in seedling height of K1, K6 and ‘Huajingxian 74’

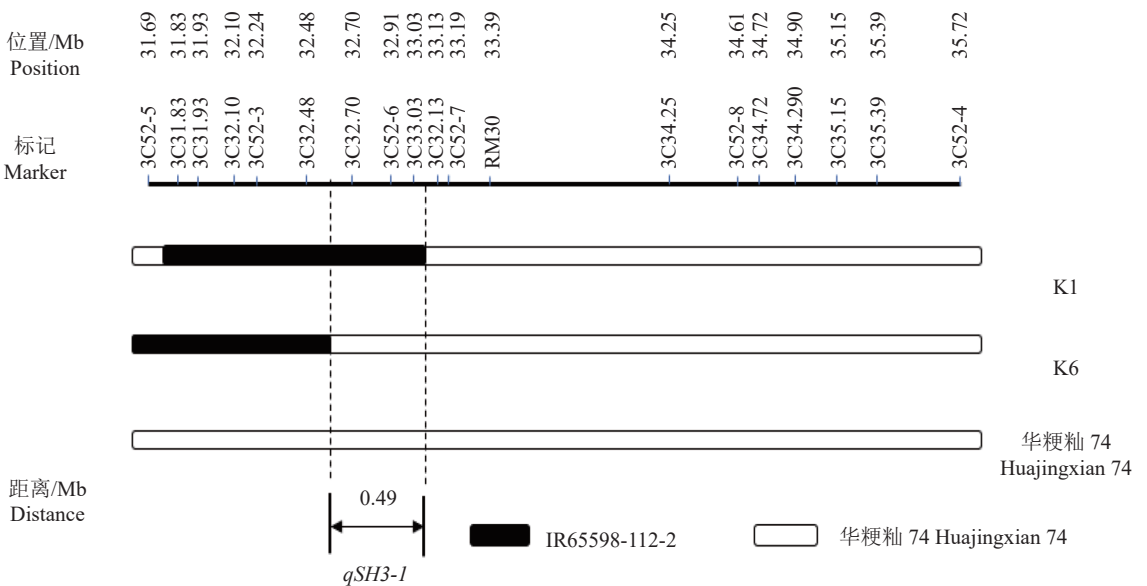


图 4 *qSH3-1* 的代换作图

Fig. 4 Substitution mapping of *qSH3-1*

2.3 2 个 QTL 区间的候选预测

根据 SSSL K13(代换区间为第 3 号染色体的 31.69—34.81 Mb) 以及 ‘华粳 74’ 的基因组序列信息, 对在 *qSH3-1*(32.59—33.08 Mb) 区间内的基因组序列进行差异分析, 该区间共有 90 个预测基因, 有变异的基因为 79 个, 其中 15 个 CDS 变异的基因, 64 个启动子变异的基因。同时在 CDS 区和启动子有变异的基因共有 11 个; 这 11 个基因的 CDS 区域有 4 种变异类型, 其中发生移码等较大变异的有 4 个基因, 分别是 *Os03g0788000*、*Os03g0790000*、*Os03g0793100* 和 *Os03g0793700*

(表 4)。

在 *qSH3-2*(33.16—34.81 Mb) 区间, 共有 270 个预测基因, 有变异的基因为 200 个, 其中有 41 个基因在 CDS 区域发生变异, 159 个基因在启动子上发生变异。在 2 个区域都发生变异的基因有 31 个; 这 31 个基因的 CDS 区域有 7 种变异类型, 其中发生移码、起始密码子缺失、终止密码子缺失等较大变异的有 6 个基因, 分别是 *Os03g0814500*、*Os03g0824300*、*Os03g0824400*、*Os03g0826600*、*Os03g0815100* 和 *Os03g0821250*(表 4)。

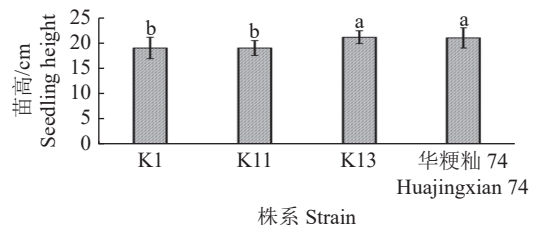
表 4 *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 区间内 CDS 和启动子区域都发生变异的基因

Table 4 Variation genes in both CDS and promoter regions in *qSH3-1* and *qSH3-2* intervals

QTL	变异类型 Variation type	基因名称 Gene name
<i>qSH3-1</i>	密码子改变和删除 Codon change and deletion	<i>Os03g0793300</i> 、 <i>Os03g0786600</i>
	密码子删除 Codon deletion	<i>Os03g0785200</i>
	密码子插入 Codon insertion	<i>Os03g0785800</i> 、 <i>Os03g0787000</i> 、 <i>Os03g0791432</i> 、 <i>Os03g0792300</i>
	移码 Frame shift	<i>Os03g0788000</i> 、 <i>Os03g0790000</i> 、 <i>Os03g0793100</i> 、 <i>Os03g0793700</i>
<i>qSH3-2</i>	密码子改变和删除 Codon change and deletion	<i>Os03g0800200</i> 、 <i>Os03g0800500</i> 、 <i>Os03g0809400</i> 、 <i>Os03g0812800</i> 、 <i>Os03g0816000</i> 、 <i>Os03g0820700</i>
	密码子删除 Codon deletion	<i>Os03g0796900</i> 、 <i>Os03g0797500</i> 、 <i>Os03g0798400</i> 、 <i>Os03g0802900</i> 、 <i>Os03g0810800</i> 、 <i>Os03g0811400</i> 、 <i>Os03g0812400</i> 、 <i>Os03g0816500</i> 、 <i>Os03g0816700</i> 、 <i>Os03g0821200</i> 、 <i>Os03g0825900</i>
	密码子插入 Codon insertion	<i>Os03g0800900</i> 、 <i>Os03g0801800</i> 、 <i>Os03g0802700</i> 、 <i>Os03g0817200</i> 、 <i>Os03g0823400</i> 、 <i>Os03g0824650</i> 、 <i>Os03g0828300</i>
	密码子插入/剪接位点区域 Codon insertion/splice site region	<i>Os03g0828500</i>
	移码 Frame shift	<i>Os03g0814500</i> 、 <i>Os03g0824300</i> 、 <i>Os03g0824400</i> 、 <i>Os03g0826600</i>
	起始密码子缺失 Start codon lost	<i>Os03g0815100</i>
	终止密码子缺失 Stop codon lost	<i>Os03g0821250</i>

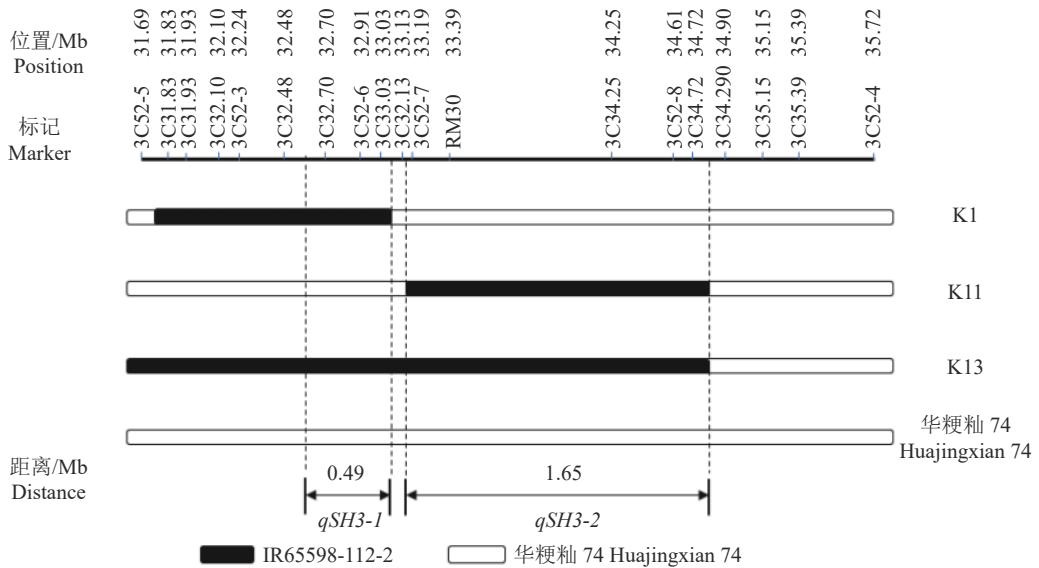
2.4 2 个 QTL 的上位性效应分析

分别携带苗高 QTL *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 的 SSSL K1 和 K11 的苗高与 ‘华粳 74’ 差异显著, 而同时包含苗高 QTL *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 的 SSSL K13 的苗高与 ‘华粳 74’ 无显著差异(图 5)。可见, *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 单独存在时, 水稻苗高会与 ‘华粳 74’ 表现出差异, 当 *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 同时存在时, 苗高与 ‘华粳 74’ 没有显著差异; 因此, *qSH3-1* 和 *qSH3-2* 存在显著的上位性效应, 为 2.07 cm(图 5、6)。



柱子上方的不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著 (Duncan's 法) Different lowercase letters on the columns indicate significant differences at $P < 0.05$ level (Duncan's method)

图 5 K1、K11、K13 和 ‘华粳 74’ 的苗高差异
Fig. 5 Differences in seedling height of K1, K11, K13 and ‘Huajingxian 74’

图 6 $qSH3-1$ 和 $qSH3-2$ 上位性效应Fig. 6 Epistatic effects between $qSH3-1$ and $qSH3-2$

3 讨论与结论

3.1 与已有苗高 QTL 位置的比较

在直播稻中,苗高对于抑制杂草生长非常重要,是水稻直播育种的重要性状之一。剖析水稻苗高 QTL 是开展分子育种的关键。本研究基于单片段代换系在第 3 号染色体的 32.59—33.08 Mb 和 33.16—34.81 Mb 区间内分别定位到 2 个相邻的苗高 QTL $qSH3-1$ 和 $qSH3-2$ 。水稻第 3 号染色体控制与苗高相关 QTL 的研究已经有不少报道^[4, 6, 10, 13, 16-19, 22, 25, 27-28],在第 3 号染色体长臂端还克隆了 1 个苗高基因 $OsGA20ox1$ ^[17, 33]。通过定位区间的比较,发现 $qSH3-1$ 与 Yang 等^[27]定位的 $qSH-3$ 相邻; $qSH3-2$ 包含在 $qSV3e$ 区间内^[24],而且与 $qPh3$ 和 $OsGA20ox1$ 相邻^[17, 19, 33]。 $qSV3e$ 是通过全基因组关联分析得到的 QTL 区间,可见该 QTL 在广泛的遗传背景中都有显著的控制苗高的效应。本研究定位的稳定 QTL $qSH3-2$ 也在该区间内,但是区间范围更小,可能具有广泛的育种应用价值。

3.2 $qSH3-2$ 是一个稳定表达的 QTL

水稻苗高是多基因控制的复杂性状^[10, 14, 27],不同 QTL 的表达受环境因素的影响也不同^[6, 10, 14-15, 18, 21-22],要在生产上产生应用效果,需找到稳定表达的 QTL。不少研究通过单次试验鉴定相关 QTL^[4-5, 11-13, 16-17, 19-20, 23-28],但单次试验无法检验 QTL 效应的稳定性。分子育种中首选稳定表达遗传的 QTL,避免不确定性和偶然性,因此开展多次试验准确鉴定稳定可靠的 QTL 很有必要。在本研究中,3 次独立表型试验结果显示,携带苗高 QTL $qSH3-2$ 的 K11 与‘华粳粳 74’存在显著差异,说明 $qSH3-2$ 是一个

稳定表达的 QTL,具有潜在育种应用价值。

3.3 2 个苗高 QTL 之间可能存在上位性

QTL 聚合育种除了要定位能稳定表达的 QTL,还需要了解用于聚合的 QTL 之间的互作关系。上位性效应常用来度量 QTL 之间的互作,被估算为基因型效应与单 QTL 累加效应的偏差。带有单个 QTL 的近等基因系是上位性分析的理想材料^[34]。SSSL 与近等基因系类似,如果片段聚合后的基因型效应显著地偏离各单片段系加性效应之和,则表明片段之间存在上位性。

在本研究中, $qSH3-1$ 和 $qSH3-2$ 的加性效应分别是 -0.86 和 -1.09 cm;而 K13 包含了 $qSH3-1$ 和 $qSH3-2$,如果这 2 个 QTL 之间没有上位性,K13 的加性效应理论值为 -1.95 cm;但是,K13 的苗高与‘华粳粳 74’无显著差异,未检测到加性效应。由于遗传背景一致,因此推测这 2 个紧密连锁的苗高 QTL 之间存在显著上位性效应。通过遗传背景一致的 SSSL 开展聚合育种来培育聚合系,并调查聚合系与亲本的累加加性效应偏差,是检验 QTL 的上位性最直接有效的手段。因此,在后续研究中,将通过 K1 和 K11 的聚合系来进一步确证这 2 个苗高 QTL 之间的互作效应。

致谢:感谢华南农业大学张桂权教授提供单片段代换系材料。

参考文献:

- [1] 胡卫安. 水稻直播栽培技术推广意义及措施[J]. 世界热带农业信息, 2020(12): 10-11.
- [2] 刘朝志. 水稻直播栽培存在问题及对策[J]. 现代农村科技, 2019(5): 23.

- [3] DIMAANO N G B, ALI J, MAHENDER A, et al. Identification of quantitative trait loci governing early germination and seedling vigor traits related to weed competitive ability in rice[J]. *Euphytica*, 2020, 216(10): 159. doi: 10.1007/s10681-020-02694-8.
- [4] ZHANG Z, YU S, YU T, et al. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling-vigor using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Field Crops Research*, 2005, 91(2): 161-170.
- [5] DIWAN J R, CHANNBYREGOWDA M, SHENOY V, et al. Molecular mapping of early vigour related QTLs in rice[J]. *Research & Reviews: Journal of Biology*, 2013, 1: 24-30.
- [6] SINGH U M, YADAV S, DIXIT S, et al. QTL hotspots for early vigor and related traits under dry direct-seeded system in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 286. doi: 10.3389/fpls.2017.00286.
- [7] RAO A N, JOHNSON D E, SIVAPRASAD B, et al. Weed management in direct-seeded rice[M]. *Advances in Agronomy*, 2007, 93: 153-255.
- [8] 闫晓霞, 王丰, 柳武革, 等. 水稻直播适应性的遗传基础与育种策略[J]. *广东农业科学*, 2022, 49(1): 1-13.
- [9] 马雅美, 张少红, 赵均良. 水稻直播相关性状遗传分析及分子机制研究进展[J]. *广东农业科学*, 2021, 48(10): 13-22.
- [10] REDOÑA E D, MACKILL D J. Mapping quantitative trait loci for seedling vigor in rice using RFLPs[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 92(3/4): 395-402.
- [11] EIZENGA G C, NEVES P C F, BRYANT R J, et al. Evaluation of a M-202 × *Oryza nivara* advanced backcross mapping population for seedling vigor, yield components and quality[J]. *Euphytica*, 2016, 208(1): 157-171.
- [12] ZHANG A P, LIU C L, CHEN G, et al. Genetic analysis for rice seedling vigor and fine mapping of a major QTL *qSSL1b* for seedling shoot length[J]. *Breeding Science*, 2017, 67(3): 307-315.
- [13] LU X, NIU A, CAI H, et al. Genetic dissection of seedling and early vigor in a recombinant inbred line population of rice[J]. *Plant Science*, 2007, 172(2): 212-220.
- [14] KARLA I C L, HYUNJUNG K, THOMAS H T. Identification of seedling vigor-associated quantitative trait loci in temperate *japonica* rice[J]. *Plant Breeding and Biotechnology*, 2016, 4(4): 426-440.
- [15] CAIRNS J E, NAMUCO O S, TORRES R, et al. Investigating early vigour in upland rice (*Oryza sativa* L.): Part II: Identification of QTLs controlling early vigour under greenhouse and field conditions[J]. *Field Crops Research*, 2009, 113(3): 207-217.
- [16] MANANGKIL O E, VU H T T, MORI N, et al. Mapping of quantitative trait loci controlling seedling vigor in rice (*Oryza sativa* L.) under submergence[J]. *Euphytica*, 2013, 192(1): 63-75.
- [17] ABE A, TAKAGI H, FUJIBE T, et al. *OsGA20ox1*, a candidate gene for a major QTL controlling seedling vigor in rice[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125(4): 647-657.
- [18] ZHOU L, WANG J, YI Q, et al. Quantitative trait loci for seedling vigor in rice under field conditions[J]. *Field Crops Research*, 2007, 100(2/3): 294-301.
- [19] WU B, MAO D, LIU T, et al. Two quantitative trait loci for grain yield and plant height on chromosome 3 are tightly linked in coupling phase in rice[J]. *Molecular Breeding*, 2015, 35(8): 156. doi: 10.1007/s11032-015-0345-y.
- [20] 包劲松, 何平, 夏英武, 等. 不同发育阶段水稻苗高的 QTL 分析[J]. *遗传*, 1999(5): 38-40.
- [21] 杨习武, 高云, 顾后文, 等. 基于染色体单片段代换系的水稻苗期氮利用相关 QTL 鉴定[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2020, 41(5): 1-8.
- [22] 孔迎春, 张燎. 两种肥力水平下水稻苗高 QTL 的比较分析[J]. *武汉植物学研究*, 2005(2): 121-124.
- [23] ZHAO Y, JIANG C H, REHMAN R M A, et al. Genetic analysis of roots and shoots in rice seedling by association mapping[J]. *Genes & Genomics*, 2019, 41(1): 95-105.
- [24] CHEN K, ZHANG Q, WANG C C, et al. Genetic dissection of seedling vigour in a diverse panel from the 3, 000 Rice (*Oryza sativa* L.) Genome Project[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 4804. doi: 10.1038/s41598-019-41217-x.
- [25] DANG X, THI T G T, DONG G, et al. Genetic diversity and association mapping of seed vigor in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Planta*, 2014, 239(6): 1309-1319.
- [26] LU Q, ZHANG M, NIU X, et al. Uncovering novel loci for mesocotyl elongation and shoot length in *indica* rice through genome-wide association mapping[J]. *Planta*, 2016, 243(3): 645-657.
- [27] YANG J, GUO Z, LUO L, et al. Identification of QTL and candidate genes involved in early seedling growth in rice via high-density genetic mapping and RNA-seq[J]. *The Crop Journal*, 2021, 9(2): 360-371.
- [28] ZENG M S, YANG J, WU K J, et al. Genome-wide association study reveals early seedling vigour-associated quantitative trait loci in *indica* rice[J]. *Euphytica*, 2021, 217(7): 141. doi: 10.1007/s10681-021-02868-y.
- [29] 杨梯丰, 张子怡, 董景芳, 等. 水稻低温发芽力 QTL *qLTG3-1* 基因内分子标记的开发及其在华南籼稻中的应用评价[J]. *广东农业科学*, 2021, 48(10): 32-41.
- [30] WISSUWA M, WEGNER J, AE N, et al. Substitution mapping of *Pup1*: A major QTL increasing phosphorus uptake of rice from a phosphorus-deficient soil[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 105(6/7): 890-897.
- [31] 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.
- [32] 赵芳明, 张桂权, 曾瑞珍, 等. 利用单片段代换系研究水稻产量相关性状 QTL 加性及上位性效应[J]. *作物学报*, 2012, 38(11): 2007-2014.
- [33] YANO K, TAKASHI T, NAGAMATSU S, et al. Efficacy of microarray profiling data combined with QTL mapping for the identification of a QTL gene controlling the initial growth rate in rice[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2012, 53(4): 729-739.
- [34] TANKSLEY S D. Mapping polygenes[J]. *Annual Review of Genetics*, 1993, 27: 205-233.