

QTL 技术在水稻耐盐育种上的应用

谢树鹏¹,李俊峰²,张广彬¹,聂守军¹,高世伟¹,刘立超¹

(1.黑龙江省农业科学院 绥化分院,黑龙江 绥化 152052;2.延寿县种子管理站,黑龙江 延寿 150700)

摘要:介绍了利用分子标记 QTL 定位的原理和方法以及该方法在目前水稻研究中应用的进展。主要对耐盐数量性状基因座(QTL)技术在水稻育种中的应用进行了综述。为寒地耐盐水稻育种提出建议。

关键词:分子标记辅助选择;数量性状基因座位;水稻;耐盐;育种

中图分类号:S511.035.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2010)04-0007-04

土壤盐渍化是农业生产面临的严峻问题,近 50%的灌溉种植耕地和全球 20%的土地都不同程度地受到盐渍化威胁。耕地的盐渍化是抑制农作物生长,造成农作物减产最严重的非生物胁迫之一。据不完全统计,世界上的盐渍化土地面积超过 10 亿 hm²,其中,我国的盐渍土地面积达到了 1 亿 hm²。而在我国的现有耕地中,至少有 800 万 hm² 的土地因为施肥和灌溉不当,增加土壤中盐分积累,导致不同程度地降低了农作物的产量。虽然人口增长,工业发展,使耕地面积逐渐减少,但是盐渍化土地的改良和利用已经得到各方面的极大重视;除了通过暗管排水处理外,耐盐水稻品种的选育和利用将是盐渍化土地改良的一个重要研究方向。盐渍化土地改良结合耐盐水稻品种栽培技术,对于盐渍化土地利用和提高水稻生物产量、增加稻农收入及提高社会效益和经济

效益将起到积极作用。传统的个体选择方法是对符合高产育种目标的农艺性状进行直接选择,即选择的是个体表现型而不是基因型。一般而言,这种方法对质量性状的选择是有效的;对数量性状的选择,由于存在一因多效、多因一效、调控基因以及修饰基因等作用,个体的表现型与基因型存在较大差异,因而通过田间表型性状进行个体选择的准确性较差。而利用分子标记辅助选择技术可弥补传统选择技术准确率低的缺点,并可加快育种进程。该文综述了 QTL 技术在水稻耐盐育种上的应用概况。

1 数量性状基因座技术原理和方法

1.1 QTL 技术原理

分析分子标记与目标性状 QTL 之间的连锁关系实质就是分子标记 QTL 的主要原理。通过计算 QTL 与分子标记之间的交换率,来确定 QTL 的具体位置,即利用已知的分子标记来标记未知座位的 QTL。该技术的理论根据是 Morgan 的连锁遗传规律;使用的工具是具有高度多态性的分子标记;以分子标记基因型是 QTL 定位方法为主要依据,对分离群体中的个体进行分组,通

收稿日期:2009-12-28
基金项目:农业部 948 资助项目(2006-G1)
第一作者简介:谢树鹏(1980-),男,黑龙江省鸡西市人,学士,研究实习员,从事水稻育种研究。Email: xsp-1125@163.com.

Study on Identification Methods of Foreign Monosomic Alien Addition Lines in Plant

MA Lan

(Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing, Heilongjiang 163311)

Abstract: Monosomic alien addition lines are important materials to improve varieties and studuy genome with foreign chromosomes. The advantages and defects of morphological markers, cytological markers, biochemical markers, molecular markers and in situ hybridization were described.

Key words: foreign monosomic alien addition lines in plant; morphological markers; cytological markers; biochemical markers ; molecular markers; in situ hybridization

过比较不同分子标记基因型组间目标性状的表现型及差异显著性,来推理影响该性状的基因与分子标记座位的连锁关系及遗传关系^[1]。

1.2 QTL 技术方法

因为数量性状是连续变异的,无法确定分组,因此 QTL 定位不能利用孟德尔遗传学中的连锁分析方法,所以必须研究发展特殊的统计分析方法。按照个体分组依据的不同,目前已有的 QTL 定位方法可以分成两大类。一类 QTL 定位方法是以数量性状表现型为依据进行分组,称为基于性状的分析法(Trait Based Analysis, TBA)。在一份分离群体中,选择高低两种极端表现型的个体分成两组。假设某个标记与 QTL 有连锁,则它的基因型分离比例在两组中都会偏离孟德尔遗传学规律。只有检验出这种偏离,才能推知该标记是否与 QTL 连锁。TBA 中还有一种更简单的做法,称为混合分离分析法(Bulked Segregation Analysis, BSA),该方法是将高、低两组极端表现型的个体的 DNA 分别混合,形成两个 DNA 池,然后分析两池间的遗传多态性。在两池间表现出差异的标记则被认为与 QTL 连锁。另一类是以标记基因型为依据进行分组,称为基于标记的分析法(Marker Based Analysis, MBA)。倘若某个标记与某个(些)QTL 连锁,那么在它们的杂交后代中,该标记与 QTL 间就会发生一定程度的分离,于是该标记的不同基因型在数量性状的分布、均值和方差上将存在差异。检测这些差异,就能推知该标记是否与 QTL 连锁。但是 TBA 法只适用于单个性状的 QTL 定位,且准确度和灵敏度都不高。所以, MBA 法是主要方法。

2 QTL 技术在水稻研究中的进展

近年来对水稻 QTL 定位的研究发展很快,已得到 QTL 定位的性状很多,其中对抽穗期的 QTL 定位研究报道特别多,例如,谭震波等^[2]和 Lu 等^[3]在窄叶青 8 号×京系 17 的 DH 群体中定位到 1 个位于第 8 染色体 RG885-RZ617A 处的抽穗期主效基因 *Hd8a* 和 3 个微效基因 *hd1*、*hd10a*、*hd10b*。Yano 等^[4]利用 Nipponbare(粳)和 Kasalath(籼)杂交的 F₂ 群体检测到 2 个抽穗期主效基因(Hd21、Hd22)和 3 个抽穗期微效基

因(Hd23、Hd24、Hd25), Hd21 和 Hd22 分别位于第 6 染色体中部的 R1679 处和第 7 染色体末端的 C728 处, Hd23、Hd24 和 Hd25 分别位于第 6、7 和 8 号染色体上,这 5 个 QTL 可解释该群体抽穗期总表型变异的 84%。Lin 等^[5]检测到 3 个效应较小的抽穗期基因,分别位于第 2、3 和 4 号染色体上的 C560、C1488 和 R2373 标记附近。Xiao 等^[6]定位了 5 个抽穗期 QTL,其中 1 个为主效基因,位于第 8 染色体的 RZ562 附近,另外 4 个,分别位于第 3、4、7 和 11 染色体。徐吉臣等^[7]在第 7 染色体检测到 1 个与抽穗期有关的染色体区域。Sarmarn 等^[8]在第 3 和第 9 染色体上分别检测到 1 个和 2 个抽穗期 QTL。

3 与耐盐相关的 QTL 在水稻耐盐育种中的应用

作物的抗逆性以及其它许多重要的农艺性状,如产量性状、植株高矮、生育期长短、果实的大小等性状,是由多个基因共同控制,性状的表现型为连续变异,表现型与基因型之间没有明确的对应关系,这样的性状称为数量性状。数量性状基因座(QTL)是控制数量性状的基因在基因组中的位置。水稻耐盐性就是一组数量性状控制的基因。可以利用先进的分子标记连锁分析及作图技术,发掘、定位、克隆耐盐基因相关性状。

研究发现不同的染色体区间影响耐盐性状的主效 QTL 不同,孙勇等^[9]发现影响耐盐相关数量性状的 23 个 QTL 中有 12 个与以往不同群体中影响耐盐性状的 QTL 定位在同一或者相邻的染色体区域,其中在第 2 个染色体 RM240-RM112 区间检测到 1 个影响地上部所有 4 个耐盐相关性状的主效 QTL。不同 QTL 对表现型的贡献率和解释是不同的,如汪斌等^[10]检测到 13 个 QTL,分别位于第 1、2、5、6、7 和 12 染色体上,对表现型变异的总贡献率达到 60.88%,其中位于第 1 条染色体上的 1 个 QTL 的效应最大,可解释约 45%的表现型变异。一个耐盐品种,如果同一耐盐主效基因定位于不同的染色体之间,其耐盐基因是来源于不同的亲本,龚继明等^[11]将水稻耐盐主要基因 *Std* 定位于第 1 条染色体的 RQ612 和 C131 之间,其加性效应来源于亲本籼稻窄叶青

8 号,而定位的另外 7 个 QTL 位点耐盐基因多数来源于亲本粳稻京系 17。影响苗期和成熟期耐盐性的 QTL 是分布在不同的染色体上,而增效的等位基因来自不同的亲本,但是苗期和成熟期的耐盐性存在共同的遗传基础,顾兴友等^[12]从水稻 12 条染色体上共检出 15 个连锁标记,其中存在 4 个影响苗期耐盐性的 QTL,分别分布在第 5、6、7 和 9 染色体上,其增效的等位基因均来自亲本耐盐品种 Pokkali,影响成熟期耐盐性的数量性状位点的有利基因来自于双亲;RG678 和 RZ400B-RZ792 附近的 2 个数量性状位点在全生育期均表达出较强的耐盐性,并且指出水稻苗期和成熟期耐盐性存在共同的遗传基础。在盐胁迫下,与幼苗存活率有关的 QTL 不同,分别位于不同的染色体上,但是与幼苗存活率有关的 QTL 并不全是主效 QTL,而且解释不同的表型变异,Lin 等^[13]在盐胁迫下检测到与幼苗存活率有关的 3 个 QTL,分别分布在第 1、6 和 7 染色体上,其中两个为主效 QTL,即 SNC7 和 SKC1,两者可分别解释 48.5% 和 40.1% 的表现型变异。不同染色体上存在不同数量的耐盐 QTL,Prasad 等^[14]在第 6 染色体上检测到 7 个耐盐 QTL。Zhang 等^[15]在水稻第 7 染色体上检测到 1 个耐盐相关 QTL。在染色体上的位点与幼苗存活天数相关的 QTL 的表型贡献率不是很大,林鸿宣等^[16]在盐胁迫条件下检测到在第 5 染色体上的 RG13 位点存在 1 个与幼苗存活天数相关的 QTL,其表型贡献率仅达到 11.6%。水稻茎秆对 Na、K 吸收量不同,就能检测到与耐盐性有关的 QTL,Koyama 等^[17]对水稻植株茎中的 Na、K 吸收量等 5 个性状进行了 QTL 分析,共检测到 11 个与耐盐性有关的 QTL。目前,利用分子标记手段在水稻染色体上检测到的耐盐 QTL 达到 70 多个,其中以第 6、2 号染色体上检测到的耐盐性 QTL 最多,其次是第 1、7 染色体,第 10、11 染色体上最少;其中有一部分为主效 QTL,对表型变异的贡献率最大可达到 48.5%;指出苗期和成熟期耐盐性存在共同的遗传基础;检测到的以与苗期耐盐相关的 QTL 居多。高继平等^[18]将耐盐的籼稻品种 Nona Bokra 与盐敏感优质粳稻栽培品种越光杂交,对其 F₂ 进行处理并结合 NaCl 处理 F₃ 株系

幼苗,定位了 3 个与幼苗生存天数相关的 QTL 和 8 个与 Na⁺、K⁺ 浓度相关的 QTL;其中一个耐盐 QTL 就位于第 1 号染色体上。该耐盐 QTL 对表型的贡献率很高,达 40% 以上,是一个主效 QTL,已被成功克隆,这是第一个被克隆的耐盐主效 QTL。目前,水稻耐盐相关的基因还不是很多,而分离出的基因大部分是在胁迫诱导下表达的,随着基因的精确定位,将会有更多的与耐盐相关的 QTL 被复制。

4 结论

以前的耐盐 QTL 定位群体大多不是用生产上的主栽水稻品种作亲本培育的,由于存在复杂的 QTL 之间和 QTL 与遗传背景之间的上位性互作,导致定位到的耐盐 QTL 无法应用于水稻高产品系耐盐性状改良。用生产上广为种植的当家品种构建高代回交群体并进行产量选择,对产量选择导入系进行耐盐性鉴定和耐盐 QTL 定位,进而培育高产耐盐的水稻新品种,将是今后盐渍化土地水稻高产耐盐育种的发展方向。

分子标记辅助选择是现代生物技术 in 作物遗传改良领域中应用的一个重要方法。实践证明,分子标记辅助选择为传统的育种提供了一种有力的辅助手段。松嫩平原盐渍化土地主要分布在中国东北平原的中部和西部地区,该地区盐渍化土地面积达 342 万 hm²,占总土地面积的 1/5,是世界上苏打盐渍土集中分布区之一,也是全国北部地区土地贫瘠化、荒漠化十分严重的地区之一。该地区被嫩江和松花江分割成南北两部分,即吉林省以镇赉、前郭、通榆等县市为集中的分布区,黑龙江省以齐齐哈尔西部,杜蒙、大庆、安达、三肇等市县为集中分布区。苏打盐碱地存在的主要问题是水田受盐碱胁迫严重,产量低,品质不好,需要对土壤进行改良、品种筛选或者改变栽培管理模式。而直接改良土壤成本太高,难度大,也达不到一劳永逸的效果。改变栽培管理模式,其技术难度大、操作不便、推广难度大。但是,如果选育出耐盐的优良水稻品种,那么在栽培过程中不仅能够节约成本投入、改善品质、提高产量,而且也容易接受。

由此可见,盐碱地限制了黑龙江水稻面积的

扩大,同时也制约着寒地水稻的健康快速发展。目前黑龙江省耐盐育种主要依靠常规育种,培育出的品种较少,且因为品质等原因已经被淘汰。因此,为进一步加快耐盐品种的培育,应当与 QTL 分子标记技术相结合,而 QTL 分子标记辅助技术培育耐盐品种尚属起步阶段。因此,在今后的育种过程中应加强分子标记辅助选择技术的应用,加快育种进程,提高育种效率,满足黑龙江省水稻健康快速发展的需要。相信随着分子标记技术的迅速发展及检测技术的简化和试验成本的降低,分子标记辅助选择这一重要而有效的育种工具将会在水稻耐盐育种研究中发挥越来越重要的作用。

参考文献:

- [1] 席章营,朱芬菊,台国琴,等. 作物 QTL 分析原理与方法[J]. 中国农学通报,2005(1):88-89.
- [2] 谭震波,沈利爽,袁祚廉,等. 水稻再生能力和头季稻产量性状的 QTL 定位及其遗传效应分析[J]. 作物学报,1997,23(3):289-295.
- [3] Lu C, Shen L, Tan Z, et al. Comparativemapping of QTLs for Agronomic traits of rice across environments by using a doubled 2 haploid population[J]. Theor Appl Genet,1997,94:145-150.
- [4] Yano M, Haru S H, Ima Y, et al. Identification of quantitative traits loci controlling heading date of rice using a high 2 density linkagemap[J]. Theor Appl Genet, 1997, 95: 1025-1032.
- [5] Lin S Y, Sasaki T, Yano M. Mapping quantitative trait loci controlling seed dormancy and heading [J]. Thero Appl Genet,1998,96:991-1003.
- [6] Xiao J, Li J, Yuan L, et al. Dominance is the major genet icbasis of heterosis in rice as revealed by QTL analysis using molecular markers[J]. Genetics, 1995, 140: 745-754.
- [7] 徐吉臣,陆朝福,陈洪,等. 用单双倍体群体构建水稻的分 子连锁图[J]. 遗传学报,1994,21(3):205-214.
- [8] Sarmarn, Gillbs, Sasa K, et al. Comparative mapping of thew heat chromo some 5A Vrn-A 1 region with rice and its relationship to QTL for flowering time[J]. Theor Appl Genet, 1998,97:103-109.
- [9] 孙勇,藏金萍,王韵,等. 利用回交导入系群体发掘水稻种 质资源中的有利耐盐 QTL[J]. 作物学报,2007,33(10): 1611-1617.
- [10] 汪斌,兰涛,吴为人. 盐胁迫下水稻苗期 Na^+ 含量的 QTL 定位[J]. 中国水稻科学,2007,21(6):585-590.
- [11] 龚继明,郑先武,杜保兴,等. 控制水稻重要农艺性状的 QTL 在盐胁迫与非胁迫条件下的对比研究[J]. 中国科学 C 辑,2000,30(6):561-569.
- [12] 顾兴友,梅曼彤,严小龙,等. 水稻耐盐数量性状位点的初步检测[J]. 中国水稻科学,2000,14(2):65-70.
- [13] Lin H X, Zhu M Z, Yano M, et al. QTLs for Na^+ and K^+ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance[J]. Theor Appl Genet, 2004,108:253-260.
- [14] Prasad S R, Bagali P G, Hittalmanis S, et al. Molecular mapping of quantitative trait loci associated with seedling tolerance to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Cur. Sci.,2000,78:162-164.
- [15] Zhang G Y, Guo Y, Chen S L, et al. RFLP tagging of a salt tolerance gene in rice[J]. Plant Sci., 1995, 110: 227-234.
- [16] 林鸿宣,柳原城司,庄杰云,等. 利用分子标记检测水稻耐 盐性的 QTL[J]. 中国农业科学,1998,12(2):72-78.
- [17] Koyama M L, Levesley A, Koebner R M D, et al. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice[J]. Plant Physiol., 2001, 125:406-422.
- [18] 高继平,林鸿宣. 水稻耐盐机理研究的重要进展—耐盐数量性状基因 *SKC1* 的研究[J]. 生命科学,2005,17(6): 563-565.

Application of QTL Technology on Breeding of Salt Tolerance in Rice

XIE Shu-peng¹, LI Jun-feng², ZHANG Guang-bin¹, NIE Shou-jun¹, GAO Shi-wei¹, LIU Li-chao¹
(1. Suihua Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Suihua, Heilongjiang 152052; 2. Yanshou Seed Management Station, Yanshou, Heilongjiang 150700)

Abstract: The principle and methods of QTL and progress in rice breeding research were introduced. The application of QTL technology on breeding salt tolerance in rice was summarized. Give recommendations of salt-tolerant rice breeding in cold region.

Key words: Marker-assisted Selection (MAS); Quantitative trait locus (QTL); rice; salt tolerance; breeding