植物营养与肥料学报 2015,21(4): 823 -835 doi: 10.11674/zwyf.2015.0401
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer http://www.plantnutrifert.org

不同生长环境下水稻氮、磷、钾利用相关性状的 QTL 定位分析

杨树明[1,2], 曾亚文[1,3*], 王 荔[4*], 杜 娟[1], 普晓英[1], 杨 涛[1]

(1 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 云南昆明 650205;
2 农业部西南农业基因资源与种质创制重点实验室, 云南昆明 650223;
3 云南省农业生物技术重点实验室, 云南昆明 650223; 4 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南昆明 650201)

摘要:【目的】鉴定影响水稻氮、磷、钾利用相关性状的 QTL,为开展水稻养分高效利用分子标记辅助选择育种和肥高效基因的图位克隆提供依据。**【方法】**以云南强耐冷(2 级)粳稻地方品种丽江新团黑谷与十和田杂交、回交获包含 105 个株系的孕穗期耐冷性近等基因系 BC_4F_8 及双亲为材料,在云南白邑(冷水胁迫)、寻甸(自然低温胁迫)和玉溪(正常生长环境)3 种生长环境下进行水稻氮、磷、钾养分吸收相关性状的鉴定,并利用构建的含有 180 个 SSR 标记,全长为 1820.6 cM,标记间平均距离为 15.67 cM 的遗传图谱,用基于完备区间作图法的 QTL IciMapping V3.2 软件对 16 个性状进行 QTL 定位分析。**【结果】**3 种环境下共检测到 56 个 QTL,分布在第 1、2、3、4、5、6、7、9 和 10 染色体上,单个性状 QTL 数为 1 ~ 10 个,单个 QTL 可解释的各自性状表型贡献率为 8.88% ~ 35.30%。其中,氮、磷、钾利用效率 QTLs 数分别为 12 个、27 个和 17 个。而 *qTNA-1a*、*qTPA-1*、*qPHI-1*、*qPHI-6*、*qPHI-7b* 和 *qKHI-6* 共 6 个 QTL 在冷害和正常环境下均能检测到,稳定性较高,其贡献率变幅为 10.63% ~ 31.57%。在第 1、3、4、5、6、7 和 10 染色体上有 13 个标记区域存在 QTL 成族分布,单个 QTL 位点控制的性状数为 2 ~ 5 个,其中共同控制磷总吸收量、磷素干物质生产效率、磷素收获指数、每 100 kg 籽粒需钾量和钾素收获指数等性状的位点数最多。**【结论】**获得 56 个影响氮、磷、钾利用相关性状的 QTL,且发现的 13 个 QTL 富集区可作为水稻氮、磷、钾高效利用分子育种的重要候选区域。

关键词: 水稻(*Oryza sativa* L.); 近等基因系; 养分吸收; 数量性状基因座; QTL 多效性
中图分类号: S511.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2015)04-0823-013

Identification of QTL traits on N, P and K utilization in rice under different growth environments

YANG Shu-ming[1,2], ZENG Ya-wen[1,3*], WANG Li[4*], DU Juan[1], PU Xiao-ying[1], YANG Tao[1]

(*1 Biotechnology and Genetic Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;
2 Key Laboratory of the Southwestern Crop Gene Resources and Germplasm Innovation, Ministry of Agriculture, Kunming 650223, China; 3 Agricultural Biotechnology Key Laboratory of Yunnan Province, Kunming 650223, China;
4 College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China*)

Abstract: 【Objectives】To provide the basis for the breeding program of molecular assistant selection (MAS) and map-based cloning of high nutrition efficiency utilization, the traits of quantitative trait locus (QTLs) on nitrogen, phosphorus and potassium utilization in rice were identified. **【Methods】** A set of 105 near-isogenic lines, BC_4F_8 population was developed by backcrossing between 'Lijiangxintuanheigu' (the stongly cold-tolerant *japonica* landrace, grant No.2) as a donor parent and 'Towada' (cold-sensitive *japonica* cultivar) as a recurrent parent, and was used as materials, and were planted in Baiyi (cold water irrigation), Xundian (natural low temperature condition) and Yuxi (normal growing environment) in Yunnan, respectively. Sixteen traits associated with N, P,

收稿日期: 2014-07-03 **接受日期:** 2014-10-21 **网络出版日期:** 2015-05-20
基金项目: 云南省技术创新人才培养项目(2011CI059 和 2012HB050);云南省科技惠民计划项目(2014RA060)资助。
作者简介: 杨树明(1973—),男,云南武定人,博士,研究员,主要从事农作物种质资源高效基因挖掘、遗传育种研究。
Tel: 0871-65894145,E-mail: yangshuming126@126.com。 * 通信作者 E-mail: zengyw1967@126.com; E-mail: 13759505639@163.com

K utilization were evaluated under three different ecological environments. The phenotypic data of 105 NILs, genetic map containing 180 microsatellite markers with 1820.6 cM of the genome, and 15.67 cM average distance between the markers were used to analyze QTLs of N, P and K utilization in rice by the statistic software of QTL IciMapping V 3.2. 【**Results**】 The total 56 QTLs were detected under three different environment, and were confirmed to be distributed on chromosome 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, and 10, respectively. The number of QTL for single trait was varied from 1 to 10, and the single QTL accounted for 8.88%–35.30% of the phenotypic variation. N, P and K utilization efficiency of No. 12, 27, and 17 QTLs were respectively detected. Six QTLs, *qTNA-1a*, *qTPA-1*, *qPHI-1*, *qPHI-6*, *qPHI-7b*, and *qKHI-6* were detected under cold stress and normal condition, and had high stability and explained 10.63%–31.57% of the phenotypic variation. Moreover, QTLs showed the cluster distribution in 13 QTL regions of chromosome 1, 3, 4, 5, 6, 7, and 10, and a single QTL controlled 2–5 traits, and most of these traits co-controlled total P accumulation, P dry matter production, P harvest index, K absorption of 100-kg seeds, and K harvest index. 【**Conclusions**】 In this study, 56 QTLs related to N, P and K utilization in rice were detected, and the QTLs with high contribution might be useful for rice breeding with high nutrition efficiency utilization for N, P and K by MAS. Additionally, 13 genomic regions of QTLs cluster distribution are important candidate regions for further study.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); near-isogenic lines; nutrient uptake; quantitative trait locus; QTL pleiotropy

水稻(*Oryza sativa* L.)作为全世界约50%人口的主食,从南纬34°的南美洲大西洋沿岸至北纬53°27′的黑龙江漠河及海拔0～3000 m的范围均有分布[1],但各稻作区复杂的生态差异导致水稻生产发展极不平衡。其中,孕穗期低温冷害[2-3]和土壤氮(N)、磷(P)、钾(K)养分的亏缺[4]已成为水稻增产、品质改善的主要限制因子。因此,提高水稻耐冷性和养分高效利用已成为稻作可持续发展的关键。然而,水稻氮、磷、钾吸收效率易受品种、施肥和环境因子等影响[4]。遗传研究表明,与氮、磷、钾吸收利用有关的大多数性状属数量性状,为受加性和显性效应为主的基因控制[5],利用传统育种技术难以快速有效地培育出养分高效的水稻品种,对其深入研究也较为困难。然而,随着水稻高密度遗传连锁图谱的构建,控制氮、磷、钾效率的QTL将被分解为单个可操作的Mendel因子,这为解析其遗传控制,实现分子育种提供有效的手段和途径。目前,对于禾谷类作物中N、P、K素利用的QTL分析已有许多报道[6-13]。在氮素方面,已在水稻12条染色体上定位到与耐低氮相关的位点,例如在低氮胁迫下定位到影响稻株氮素生理利用率[6]、NH_4^+-N和NO_3^--N吸收能力[7]、控制水稻氮素利用效率[8]、地上部干物重和叶绿素含量[9]、相对地上部干物重和植株干物重[10],以及与氮、碳代谢有关酶活性的QTL[11];基因*OsENOD93-1*的过表达可提高水稻生物学产量和籽粒产量[12],*ZmDof1*基因表达可增强水稻对氮素的吸收[13]。同时,在小麦上发现氮、磷肥料影响基因的表达[14]。在磷素方面,定位到低磷胁迫下控制水稻产量[15]、根重和植株磷吸收效率[16]、酸性磷酸酶[17]、干物质重和磷利用效率[18]、相对茎叶和根干重[19]等的QTL。而钾素方面相对较少,定位到控制水稻茎叶K^+离子浓度[20-21]、茎叶钾含量[22]的QTL。上述研究的重点在于揭示低氮、磷、钾胁迫下水稻养分利用效率的遗传机制,且大多以遗传背景复杂的F_2、DH、RIL等群体为材料,基本处于QTL初级定位水平,难以进一步精细定位。高海拔稻区是我国重要的稻作生态区之一,光照充足,但气候较冷凉、日较差大,土壤速效养分低,这对水稻养分的吸收、转化和利用造成严重影响。目前关于低温生态下水稻氮、磷、钾养分吸收规律及分子机理尚缺乏深入研究。为此,本研究在云南强耐冷(2级)稻种丽江新团黑谷近等基因系孕穗期耐冷性研究[23]的基础上,在云南温暖粳稻区、冷凉粳稻区和寒冷粳稻区对水稻氮、磷、钾吸收效率相关性状进行QTL定位,试图挖掘多环境下均能稳定表达的主效QTL,为水稻养分高效利用QTL精细定位和克隆及其分子标记辅助选择育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 作图群体

以云南孕穗期强耐冷(2级)地方稻种丽江新团黑谷与十和田杂交、回交,并结合耐冷鉴定培育的包含105个株系的孕穗期耐冷性近等基因系(十和田^4//丽江新团黑谷/十和田)BC_4F_8群体[23-24]。

1.2　试验设计

2011 年将 BC_4F_8 代 105 个家系及亲本分别在云南白邑(海拔 2160 m,冷水胁迫)、寻甸(海拔 1925 m,自然低温胁迫)和玉溪(海拔 1530 m,正常生长环境)种植。3 个试验点土壤均为砂壤土,土壤肥力相近(表 1)。3 月 26 日在玉溪采用旱育秧法统一育秧。统一采用随机区组设计,2 次重复,插秧规格 20 cm × 10 cm,单本栽插,1 行区,每行 20 株。氮(N)、磷(P_2O_5)、钾(K_2O)施用量分别为 120、80 和 80 kg/hm^2,其他管理措施同常规大田生产。白邑 5 月 20 日移栽,10 月 3 日收获,整个生育期气温 13.9 ～23.5℃,其中孕穗期至灌浆结实期 7、8 和 9 月份平均最低气温分别为 17.5℃、17.9℃ 和 17.3℃;寻甸 5 月 21 日移栽,9 月 28 日收获,整个生育期气温 14.3 ～24.8℃,其中孕穗期至灌浆结实期 7、8 和 9 月平均最低气温分别为 18.2℃、17.7℃ 和 17.5℃;玉溪 5 月 22 日移栽,9 月 20 日收获,整个生育期气温 18.8 ～26.1℃,其中孕穗期至灌浆结实期 7、8 和 9 月平均最低气温分别为 22.3℃、23.5℃ 和 21.4℃。白邑冷水胁迫为从插秧后 20 d 起,用 16 ～19℃冷泉水持续灌溉处理至成熟期,长期保持田间水深 25 cm。整个生育期气温由当地气象局提供,孕穗至灌浆结实期(7 ～9 月份)最低气温采用温、湿度自动记录仪实测获得。

表 1　不同生态点土壤理化性质

Table 1　Physical and chemical properties of soils from three eco-sites

地点 Site	pH	有机质 OM (%)	全氮 Total N (%)	碱解氮 Alkali-hydrolyzable N (mg/kg)	有效磷 Available P (mg/kg)	速效钾 Available K (mg/kg)
白邑 Baiyi	6.57	2.81	2.17	97.50	18.15	137.89
寻甸 Xundian	6.82	3.43	2.54	117.64	21.43	152.46
玉溪 Yuxi	6.25	2.35	1.88	102.31	14.32	115.13

1.3　测定指标与方法

1.3.1 产量测定　成熟期,除边行株外,各小区随机选取代表性植株 10 兜齐地收割、风干,分成稻谷和稻草两部分,测定单株籽粒干重、单株稻草干重和干物质总量,并留作氮、磷、钾测定样。每个家系以该 10 株的平均值为统计单元进行 QTL 分析。

1.3.2 叶片硝态氮含量及硝酸还原酶活性测定　孕穗至抽穗期,取每个家系和亲本的剑叶装入塑料袋封口,立即放入冰盒,保存于 -80℃超低温冰箱中。硝态氮含量和硝酸还原酶活性(NR)测定参照李合生等[25]的方法进行。

1.3.3 植株氮、磷、钾含量测定　将上述测定产量时备留的稻谷和稻草样品,分别用不锈钢碾槽和微型植物粉碎机粉碎并过 0.3mm 筛,获得的样品用浓 H_2SO_4-H_2O_2 消煮,测定氮、磷和钾含量。氮采用凯氏定氮法、磷为矾钼黄比色法、钾为火焰光度计法[26]。每个样品重复测定 2 次,取其平均值为性状表型值。

1.3.4 氮、磷和钾吸收利用效率有关参数计算　3 种养分的吸收利用效率有关参数计算参照文献[27]进行。磷、钾的计算公式与氮素相同,以氮为例,计算如下:

氮总吸收量(Total N accumulation,TNA) = 稻谷产量 × 稻谷含氮量 + 稻草产量 × 稻草含氮量;

每 100 kg 籽粒需氮量(N absorption of 100-kg seeds) = 氮总吸收量/稻谷产量 × 100;

氮素干物质生产效率(N dry matter production efficiency,NDMPE) = 干物质积累量/氮总吸收量;

氮素稻谷生产效率(N grain production efficiency,NGPE) = 稻谷产量/氮总吸收量;

氮素收获指数(N harvest index,NHI) = 稻谷氮吸收量/氮总吸收量 × 100%。

1.4　基因型鉴定

1.4.1 田间取样与 DNA 提取　在水稻分蘖期,对亲本及 BC_4F_8 群体每个株系选 1 个单株(挂牌),取叶片上半部(5 g 左右),按 CTAB 法[28]提取水稻全基因组 DNA。

1.4.2 SSR 标记检测　按 Temnykh 等[29]方法进行 SSR 检测。将模板 DNA 浓度调整到 25 ng/μL,扩增反应体系为 10 μL,含 Taq 酶 0.2 μL(5 U/μL),Primer 1 0.5 μL,Primer 2 0.5 μL,10 × PCR Buffer(含 $MgCl_2$) 1.5 μL,dNTPs 0.4 μL,DNA 2.0 μL,

ddH_2O 4.9 μL。PCR 扩增程序为:94℃预变性 5 min,94℃变性 30 s,55℃退火 40 s,72℃延伸 45 s,35 个循环后再 72℃延伸 5 min。扩增产物采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,银染检测。

1.5 连锁图谱构建与 QTL 分析

应用 QTL IciMapping V3.2 软件进行试验数据的统计并构建遗传连锁图谱进行 QTL 分析,共 180 个 SSR 标记,比较均匀分布于 12 个连锁群。用 MapDraw V2.1 软件绘图,按 Kosambi 函数计算遗传距离,构建的连锁图谱总共覆盖水稻基因组约 1820.6 cM,标记间平均距离为 15.67 cM。参照王建康[30]的完备区间作图法(Inclusive Composite Interval Mapping, ICIM),即 ICIM - ADD,以 $P < 0.005$ 和 LOD 值 > 3.0 为阈值来判断 QTL 的存在。QTL 的命名原则遵循 McCouch[31]方法。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫和正常温度下亲本和 NILs 群体干物质量及氮素吸收利用相关性状的表型分析

由表 2 可知,'丽江新团黑谷'在单株籽粒干重、稻草干重、干物质总量、硝酸还原酶、硝态氮含量、稻谷和稻草含氮量、N 总吸收量、每 100 kg 籽粒需氮量上为高值亲本;而'十和田'在氮素干物质生产效率、氮素稻谷生产效率和氮素收获指数上均高于'丽江新团黑谷'。BC_4F_8 各性状的平均值基本介于双亲之间,而白邑、寻甸的单株籽粒干重、硝酸还原酶活性、硝态氮含量、稻谷含氮量、氮素稻谷生产效率和氮素收获指数低于玉溪,说明低温环境对干物质积累及氮吸收利用影响较大。从变异范围看,各性状均出现一定数量的超亲类型,而同一性状的极值则低温胁迫的变异度大于正常条件。正态分布检验表明,偏度除寻甸的硝酸还原酶活性、硝态氮含量以及玉溪的氮素收获指数,而峰度除寻甸的硝酸还原酶活性、硝态氮含量、每 100 kg 籽粒需氮量以及玉溪硝酸还原酶活性、稻谷氮含量、稻草氮含量和氮素收获指数绝对值略大于 1 外,其他性状偏度和峰度绝对值都小于 1,说明多数性状呈类似正态的连续分布,适合 QTL 定位。

2.2 低温胁迫和正常温度下亲本及 NILs 群体的磷素吸收利用相关性状的表型分析

由表 3 可知,'丽江新团黑谷'在稻草含磷量、磷总吸收量、每 100 kg 籽粒需磷量和磷素干物质生产效率上均明显高于'十和田'。BC_4F_8 绝大多数指标的均值介于双亲之间,两种低温环境下的稻谷含磷量、每 100 kg 籽粒需磷量、磷素稻谷生产效率和磷素收获指数均低于正常环境。从各性状分布范围看,同一性状的极值呈现低温胁迫变异更大的趋势。偏度和峰度分析表明,偏度除白邑的稻谷磷含量、磷总吸收量和玉溪的磷总吸收量、每 100 kg 籽粒需磷量、磷素干物质生产效率、磷素稻谷生产效率、磷素收获指数,而峰度除白邑的稻谷磷含量、磷总吸收量和寻甸的磷素干物质生产效率,以及玉溪的磷总吸收量、每 100 kg 籽粒需磷量、磷素干物质生产效率、磷素稻谷生产效率、磷素收获指数绝对值略大于 1 外,其他性状偏度和峰度的绝对值都小于 1,说明多数性状表型呈正态分布。

2.3 低温胁迫和正常温度下亲本及 NILs 群体的钾素吸收利用相关性状的表型分析

由表 4 可知,水稻吸收钾主要集中在稻草中。在两种冷害胁迫下,稻草钾含量、钾素干物质生产效率、钾素稻谷生产效率、钾素收获指数降低,其他指标则明显增加。双亲的 7 个性状差异明显,其中'丽江新团黑谷'的稻草含钾量、钾总吸收量、每 100 kg 籽粒需钾量、钾素干物质生产效率和钾素收获指数均高于'十和田'。从群体的表型均值看,绝大多数性状均值介于双亲之间。从各性状变异范围看,同一性状的极值在不同环境中差异较大,但均呈连续变异,并存在明显的双向超亲分离。偏度除白邑稻谷钾含量、钾素稻谷生产效率、钾素收获指数,寻甸钾素稻谷生产效率及玉溪每 100 kg 籽粒需钾量,而峰度除白邑和寻甸的稻谷钾含量、钾总吸收量、钾素稻谷生产效率,以及玉溪每 100 kg 籽粒需钾量绝对值略大于 1 外,其他性状偏度和峰度的绝对值都小于 1,说明多数性状表型呈正态分布。

2.4 氮、磷和钾吸收利用相关性状的 QTL 定位分析

在 3 个生态环境下共定位水稻氮、磷和钾吸收相关性状的 QTL 56 个,单个性状 QTL 数为 1 ~ 10 个,分布于第 1 ~ 7 及第 9、10 染色体上(图 1 和表 5)。

2.4.1 叶片硝态氮 在白邑、玉溪各检测到 1 个 QTL,分布在第 1、6 染色体上,LOD 值为 3.55 和 4.11,加性效应为 -53.05 和 97.02,增效基因分别来自十和田和丽江新团黑谷,贡献率为 35.19%、27.07%。

2.4.2 稻草含氮量 仅在玉溪检测到 3 个 QTL,位于第 6、9 和 10 染色体,LOD 值为 4.85 ~ 6.57,加性效应范围 -0.16 ~ 0.29,贡献率变幅在 17.85% ~

表 2　低温胁迫和正常温度下亲本和 NILs 群体干物质量及氮吸收相关性状表现

Table 2　Dry matter accumulation and performance of traits associated to N uptake utilization of parents, and NILs under cold stress and normal conditions

项目 Items	亲本 Parents						NIL 群体 NIL population					
	丽江新团黑谷 LTH			十和田 Towada			均值 Average			变异范围 Range		
	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi
DGWP（g/plant）	24.21	17.80	28.81	12.72	16.18	19.90	15.74 ± 5.5	15.35 ± 2.8	20.03 ± 4.6	6.12～27.65	5.32～25.11	9.18～29.88
DSWPP（g/plant）	39.15	33.40	23.61	26.14	23.85	13.33	41.16 ± 9.6	28.00 ± 7.8	19.13 ± 3.2	15.86～69.17	2.31～46.90	9.15～27.85
DWPP（g/plant）	63.36	51.20	52.42	38.86	40.03	33.23	61.67 ± 17.3	34.38 ± 8.1	39.16 ± 6.7	21.98～96.82	18.15～60.19	20.88～47.23
NR［μg/（g·h）］	4.38	7.18	9.52	4.42	4.09	6.98	5.07 ± 3.7	6.29 ± 2.9	7.68 ± 3.0	0.34～19.85	1.09～21.90	1.63～18.77
NO_3^--N（mg/kg）	708.3	695.2	784.6	215.1	239.6	257.3	188.79 ± 39.7	207.00 ± 29.7	249.67 ± 28.7	19.76～433.99	64.15～596.90	37.52～579.15
NG（%）	1.44	1.55	1.67	1.29	1.33	1.54	1.21 ± 0.2	1.48 ± 0.2	1.61 ± 0.2	0.81～1.60	0.92～1.96	1.30～1.99
NS（%）	0.97	0.96	0.85	0.88	0.93	0.78	0.91 ± 0.1	1.02 ± 0.2	0.73 ± 0.1	0.55～1.35	0.69～1.37	0.46～1.48
TNA（g/plant）	1.36	0.58	0.68	0.46	0.39	0.38	0.63 ± 0.2	0.42 ± 0.1	0.40 ± 0.1	0.15～1.44	0.25～0.67	0.22～0.63
NAS（g/kg）	3.69	3.28	2.36	2.27	2.39	2.15	3.39 ± 0.8	2.60 ± 0.5	2.25 ± 0.3	1.83～5.56	1.53～4.59	1.75～3.12
NDMPE（kg/kg）	92.34	88.08	77.39	99.1	85.1	83.25	102.18 ± 15.9	82.07 ± 11.1	83.81 ± 9.5	71.09～145.42	61.12～114.83	63.91～106.49
NGPE(kg/kg)	28.64	33.19	42.46	47.97	41.87	46.91	31.34 ± 8.0	40.24 ± 8.6	45.17 ± 5.9	17.99～54.12	21.79～65.16	32.02～57.26
NHI（%）	37.58	50.22	70.56	67.5	55.8	72.2	37.68 ± 9.7	59.05 ± 13.3	73.12 ± 7.8	20.30～69.80	32.49～90.36	44.19～82.20

注(Note)：LTH—丽江新团黑谷 Lijiangxintuanheigu；DGWP—单株籽粒干重 Dry grains weight per panicle；DSWPP—单株稻草干重 Dry straw weight per panicle；DWPP—单株干物质总量 Dry matter weight per panicle；NR—硝酸还原酶 Activities of nitrate reductase；NO_3^--N—硝态氮含量 NO_3^--N content；NG—稻谷含氮量 N content of grains；NS—稻草含氮量 N content of straws；TNA—氮总吸收量 Total N accumulation；NAS—每 100kg 籽粒需氮量 N absorption of 100-kg seed；NDMPE—氮素干物质生产效率 N dry matter production efficiency；NGPE—氮素稻谷生产效率 N grain production efficiency；NHI—氮素收获指数 N harvest index.

表 3　低温胁迫和正常温度下亲本及 NILs 群体磷吸收相关性状表现

Table 3　Performance of traits associated to P uptake utilization of parents, and NILs population under cold stress and normal conditions

项目 Items	亲本 Parents						NIL 群体 NIL population					
	丽江新团黑谷 LTH			十和田 Towada			均值 Average			变异范围 Range		
	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi
PG (%)	0.29	0.30	0.32	0.27	0.31	0.34	0.25 ± 0.1	0.30 ± 0.1	0.35 ± 0.1	0.24～0.34	0.25～0.36	0.23～0.40
PS (%)	0.19	0.16	0.15	0.17	0.14	0.11	0.15 ± 0.2	0.17 ± 0.1	0.10 ± 0.2	0.03～0.25	0.09～0.21	0.06～0.17
TPA(g/plant)	0.30	0.10	0.11	0.08	0.09	0.07	0.12 ± 0.1	0.08 ± 0.2	0.11 ± 0.1	0.02～0.34	0.05～0.12	0.05～0.31
PAS (g/kg)	0.71	0.58	0.52	0.50	0.55	0.40	0.62 ± 0.13	0.48 ± 0.09	0.47 ± 0.17	0.34～0.88	0.28～0.65	0.32～1.46
PDMPE (kg/kg)	487.20	518.90	453.90	416.90	422.80	439.50	552.83 ± 72.1	448.14 ± 86.7	421.81 ± 83.4	260.12～979.6	343.44～818.8	104.31～595.1
PGPE (kg/kg)	147.30	188.86	249.59	216.20	201.44	215.20	168.51 ± 38.5	216.81 ± 44.2	225.58 ± 38.4	114.11～290.8	153.77～357.1	68.61～314.12
PHI (%)	39.65	56.91	78.86	61.94	62.42	81.42	46.01 ± 10.6	65.26 ± 11.2	76.21 ± 12.9	29.95～77.97	41.91～93.88	20.77～89.72

注(Note)：LTH—丽江新团黑谷 Lijiangxintuanheigu；PG—稻谷含磷量 P content of grains；PS—稻草含磷量 P content of straws；TPA—磷总吸收量 Total P accumulation；PAS—每 100kg 籽粒需磷量 P absorption of 100-kg seeds；PDMPE—磷素干物质生产效率 P dry matter production efficiency；PGPE—磷素稻谷生产效率 P grain production efficiency；PHI—磷素收获指数 P harvest index.

表 4　低温胁迫和正常温度下亲本及 NILs 群体钾吸收相关性状表现

Table 4　Performance of traits associated to K uptake utilization of parents, and NILs population under cold stress and normal conditions

项目 Items	亲本 Parents						NIL 群体 NIL population					
	丽江新团黑谷 LTH			十和田 Towada			均值 Average			变异范围 Range		
	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi	白邑 Baiyi	寻甸 Xundian	玉溪 Yuxi
KG（%）	0.18	0.24	0.28	0.20	0.25	0.36	0.17 ±0.02	0.19 ±0.04	0.26 ±0.05	0.15～0.25	0.13～0.35	0.17～0.43
KS（%）	1.45	1.51	1.57	1.22	1.33	1.36	1.37 ±0.19	1.59 ±0.20	1.40 ±0.19	1.01～1.72	1.07～2.05	1.03～1.77
TKA（g/plant）	0.99	0.46	0.52	0.34	0.31	0.40	0.61 ±0.21	0.32 ±0.11	0.26 ±0.06	0.17～1.38	0.10～0.75	0.14～0.42
KAS（g/kg）	3.49	2.61	1.76	1.69	1.93	1.47	3.41 ±0.95	1.98 ±0.75	1.48 ±0.39	1.29～5.05	0.60～3.97	0.83～3.03
KDMPE（kg/kg）	127.30	126.45	136.68	111.24	117.14	133.60	102.51 ±11.3	116.63 ±26.2	130.71 ±19.2	78.62～132.67	45.91～211.24	82.81～186.51
KGPE（kg/kg）	43.24	47.65	74.64	67.70	54.18	75.31	32.30 ±11.54	60.40 ±28.99	71.35 ±15.61	19.80～77.52	25.16～165.58	32.89～120.67
KHI（%）	13.39	13.20	18.08	6.08	11.40	17.12	5.87 ±2.32	11.98 ±7.01	18.17 ±4.91	3.17～17.47	4.08～29.55	7.81～31.89

注（Note）：LTH—丽江新团黑谷 Lijiangxintuanheigu；KG—稻谷含钾量 K content of grains；KS—稻草含钾量 K content of straws；TKA—K 总吸收量 Total K accumulation；KAS—每 100kg 籽粒需钾量 K absorption of 100-kg seeds；KDMPE—钾素干物质生产效率 K dry matter production efficiency；KGPE—钾素稻谷生产效率 K grain production efficiency；KHI—钾素收获指数 K harvest index.

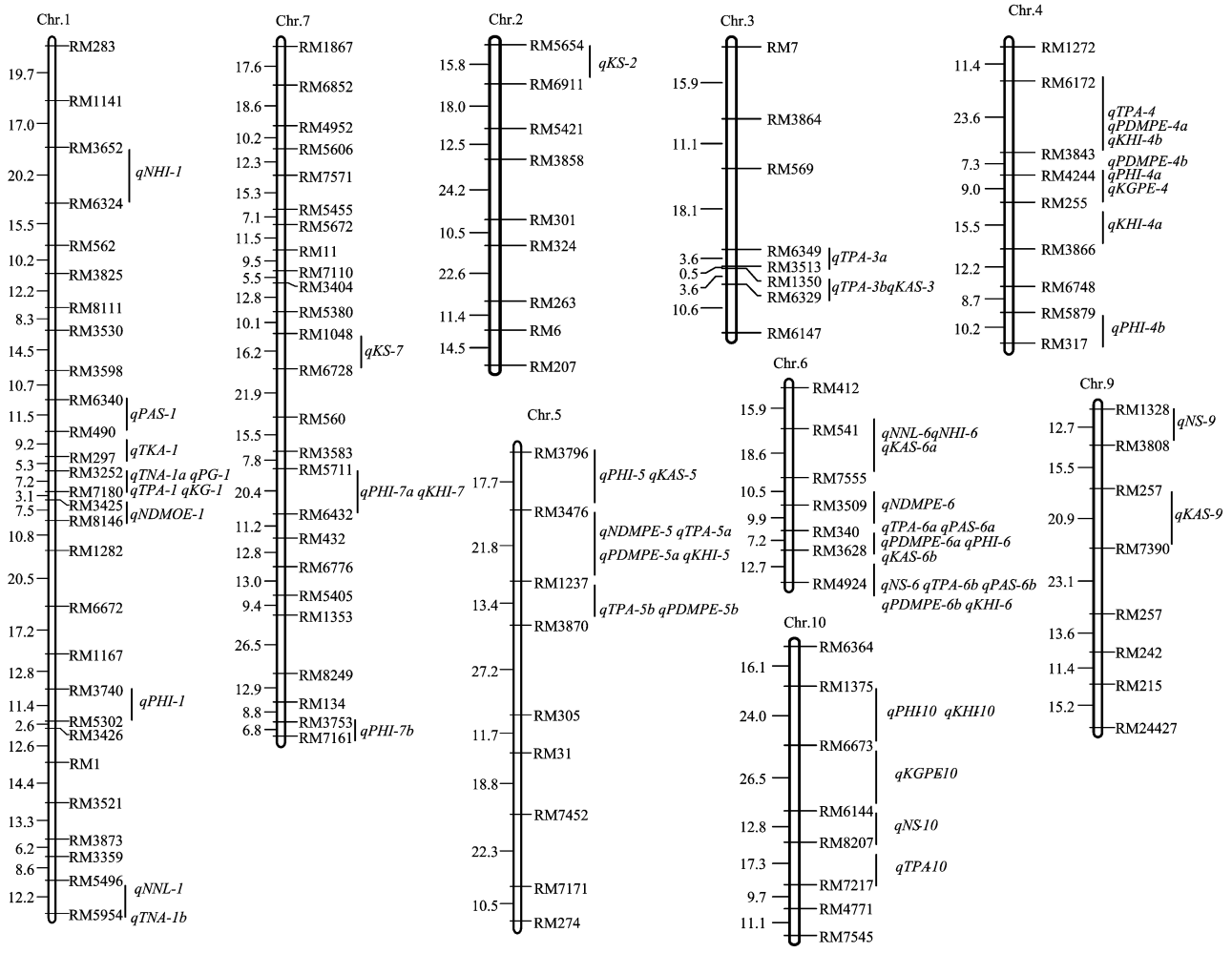

图 1 低温胁迫和正常生长环境下检测到的氮、磷和钾吸收利用相关性状的主效 QTL

Fig. 1 Summary of QTLs for traits associated to N, P and K uptake utilization of NILs population detected under cold stress and normal conditions

29.26%,*qNS-6* 和 *qNS-10* 增效基因均来自丽江新团黑谷,*qNS-9* 来自十和田。

2.4.3 氮素总吸收量 共检测到 2 个 QTL,位于第 1 染色体,LOD 值为 3.27～4.21,加性效应范围为 0.03～0.35,贡献率变幅为 12.23%～20.82%。其中位于第 1 染色体 RM3252-RM7180 区间的 *qTNA-1a* 在白邑和玉溪均能检测到,贡献率为 17.69%～20.82%,为主效基因,增效基因来自丽江新团黑谷。

2.4.4 氮素干物质生产效率 仅在寻甸检测到 3 个 QTL,位于第 1、5 和 6 染色体,LOD 值 3.05～4.97,加性效应范围 5.86～8.82,贡献率变幅 23.16%～35.30%,为主效基因,增效基因均来自丽江新团黑谷。

2.4.5 氮素收获指数 在玉溪、寻甸各检测到 1 个 QTL,分别位于第 1、6 染色体的 RM3652-RM6324 和 RM541-RM7555 区间,LOD 值分别为 3.51、3.09,加性效应为 -3.02、-8.54,贡献率分别为 14.47% 和 31.85%,增效基因均来自十和田。

2.4.6 稻谷磷含量 仅在白邑点检测到 1 个 QTL,位于第 1 染色体 RM3252-RM7180 区间,LOD 值为 4.15,贡献率为 27.89%,加性效应为 0.03,增效基因来自丽江新团黑谷。

2.4.7 磷素总吸收量 检测到 9 个 QTL,分布于第 1、3、4、5、6 和 10 染色体上。LOD 值 3.82～8.96,加性效应范围 0.05～0.21。其中 *qTPA-1*、*qTPA-3a*、*qTPA-3b*、*qTPA-4*、*qTPA-6a* 和 *qTPA-6b* 效应较大,贡献率变幅为 25.99%～30.61%,仅 *qTPA-1* 在白邑和玉溪均检测到,对表型变异的贡献率分别为 30.61% 和 21.22%。增效基因均来自丽江新团黑谷。

2.4.8 每 100 kg 籽粒需磷量 仅在玉溪检测到 3 个

表 5　低温胁迫和正常生长环境下检测到的氮、磷和钾吸收利用相关性状的主效 QTL

Table 5　Summary of QTLs for traits associated to N, P and K uptake utilization of NILs population detected under cold stress and normal conditions

QTL 名称 QTL name	染色体 Chr.	标记区间 Marker interval	生境 Eco-site	LOD	贡献率 R^2(%)	加性效应 Additive effect	效应来源 Positive allele
叶片硝态氮 Nitrate nitrogen of leaves (NNL)							
qNNL-1	1	RM5496-RM5954	白邑 Baiyi	3.55	35.19	-53.05	T
qNNL-6	6	RM541-RM7555	玉溪 Yuxi	4.11	27.07	97.02	L
稻草含氮量 N content of straws (NS)							
qNS-6	6	RM3628-RM4924	玉溪 Yuxi	5.67	17.85	0.17	L
qNS-9	9	RM1328-RM3808	玉溪 Yuxi	4.85	29.26	-0.16	T
qNS-10	10	RM6144-RM8207	玉溪 Yuxi	6.57	26.35	0.29	L
氮总吸收量 Total N accumulation (TNA)							
qTNA-1a	1	RM3252-RM7180	白邑 Baiyi	4.21	20.82	0.35	L
			玉溪 Yuxi	3.27	17.69	0.08	L
qTNA-1b	1	RM5496-RM5954	玉溪 Yuxi	3.61	12.23	0.03	L
氮素干物质生产效率 N dry matter production efficiency (NDMPE)							
qNDMPE-1	1	RM3425-RM8146	寻甸 Xundian	4.97	35.30	8.39	L
qNDMPE-5	5	RM3476-RM1237	寻甸 Xundian	3.05	32.72	8.82	L
qNDMPE-6	6	RM3509-RM340	寻甸 Xundian	3.38	23.16	5.86	L
氮素收获指数 N harvest index (NHI)							
qNHI-1	1	RM3652-RM6324	玉溪 Yuxi	3.51	14.47	-3.02	T
qNHI-6	6	RM541-RM7555	寻甸 Xundian	3.09	31.85	-8.54	T
稻谷磷含量 P content of grains (PG)							
qPG-1	1	RM3252-RM7180	白邑 Baiyi	4.15	27.89	0.03	L
磷总吸收量 Total P accumulation (TPA)							
qTPA-1	1	RM3252-RM7180	白邑 Baiyi	7.74	30.61	0.11	L
			玉溪 Yuxi	4.87	21.22	0.09	L
qTPA-3a	3	RM6349-RM3513	玉溪 Yuxi	3.84	29.00	0.13	L
qTPA-3b	3	RM1350-RM6329	玉溪 Yuxi	4.51	25.99	0.06	L
qTPA-4	4	RM6172-RM3843	玉溪 Yuxi	7.07	27.57	0.07	L
qTPA-5a	5	RM3476-RM1237	玉溪 Yuxi	7.14	23.21	0.08	L
qTPA-5b	5	RM1237-RM3870	玉溪 Yuxi	7.33	17.13	0.16	L
qTPA-6a	6	RM340-RM3628	玉溪 Yuxi	8.96	29.77	0.21	L
qTPA-6b	6	RM3628-RM4924	玉溪 Yuxi	8.16	28.58	0.18	L
qTPA-10	10	RM8207-RM7217	玉溪 Yuxi	3.82	21.52	0.05	L
每 100 kg 籽粒需磷量 P absorption of 100-kg seeds (PAS)							
qPAS-1	1	RM6340-RM490	玉溪 Yuxi	3.12	26.8	0.38	L
qPAS-6a	6	RM340-RM3628	玉溪 Yuxi	3.77	28.46	0.51	L
qPAS-6b	6	RM3628-RM4924	玉溪 Yuxi	3.69	19.31	0.27	L
磷素干物质生产效率 P dry matter production efficiency (PDMPE)							
qPDMPE-4a	4	RM6172-RM3843	寻甸 Xundian	3.08	14.68	104.87	L
qPDMPE-4b	4	RM4244-RM255	寻甸 Xundian	6.96	31.30	94.28	L
qPDMPE-5a	5	RM3476-RM1237	寻甸 Xundian	4.88	25.87	97.57	L
qPDMPE-5b	5	RM1237-RM3870	寻甸 Xundian	4.71	16.71	98.03	L

续表 5 Table 5 Continued

QTL 名称 QTL name	染色体 Chr.	标记区间 Marker interval	生境 Eco-site	LOD	贡献率 R^2(%)	加性效应 Additive effect	效应来源 Positive allele
qPDMPE-6a	6	RM340-RM3628	寻甸 Xundian	4.33	33.16	109.57	L
qPDMPE-6b	6	RM3628-RM4924	寻甸 Xundian	4.42	29.70	105.85	L
磷素收获指数 P harvest index (PHI)							
qPHI-1	1	RM3740-RM5302	寻甸 Xundian	3.99	10.63	3.65	T
			玉溪 Yuxi	3.04	12.54	-4.74	T
qPHI-4a	4	RM4244-RM255	寻甸 Xundian	9.49	17.18	-5.35	T
qPHI-4b	4	RM5879-RM317	寻甸 Xundian	3.41	10.60	-3.68	T
qPHI-5	5	RM3796-RM3476	寻甸 Xundian	7.29	14.83	-4.77	T
qPHI-6	6	RM340-RM3628	寻甸 Xundian	11.29	21.11	-5.86	T
			玉溪 Yuxi	14.08	29.92	-23.07	T
qPHI-7a	7	RM5711-RM6432	寻甸 Xundian	5.33	12.21	-4.77	T
qPHI-7b	7	RM3753-RM7161	寻甸 Xundian	3.62	25.82	-2.71	T
			玉溪 Yuxi	3.76	31.57	-12.23	T
qPHI-10	10	RM1375-RM6673	寻甸 Xundian	3.50	8.88	3.35	L
稻谷钾含量 K content of grains (KG)							
qKG-1	1	RM3252-RM7180	白邑 Baiyi	5.62	32.29	0.03	L
稻草钾含量 K content of straws (KS)							
qKS-2	2	RM5654-RM6911	白邑 Baiyi	6.11	30.81	-0.16	T
qKS-7	7	RM1048-RM6728	白邑 Baiyi	4.56	27.68	-0.15	T
钾总吸收量 Total K accumulation (TKA)							
qTKA-1	1	RM297-RM3252	白邑 Baiyi	3.58	13.87	0.25	L
每 100 kg 籽粒需钾量 K absorption of 100-kg seeds (KAS)							
qKAS-3	3	RM1350-RM6329	寻甸 Xundian	3.50	14.14	0.71	L
qKAS-5	5	RM3796-RM3476	寻甸 Xundian	7.05	28.65	0.44	L
qKAS-6a	6	RM541-RM7555	寻甸 Xundian	4.03	25.18	0.48	L
qKAS-6b	6	RM340-RM3628	寻甸 Xundian	5.76	21.10	0.39	L
qKAS-9	9	RM257-RM7390	寻甸 Xundian	4.91	34.57	-0.50	T
钾素稻谷生产效率 K grain production efficiency (KGPE)							
qKGPE-4	4	RM4244-RM255	寻甸 Xundian	4.09	15.23	-13.03	T
qKGPE-10	10	RM6673-RM6144	寻甸 Xundian	3.49	17.07	12.11	L
钾素收获指数 K harvest index (KHI)							
qKHI-4a	4	RM255-RM3866	寻甸 Xundian	4.15	9.25	-2.44	T
qKHI-4b	4	RM6172-RM3843	玉溪 Yuxi	3.02	24.55	5.13	L
qKHI-5	5	RM3476-RM1237	寻甸 Xundian	6.77	15.60	-3.12	T
qKHI-6	6	RM3628-RM4924	寻甸 Xundian	8.36	19.66	-3.54	L
			玉溪 Yuxi	3.19	28.30	4.56	L
qKHI-7	7	RM5711-RM6432	寻甸 Xundian	4.06	11.77	-2.89	T
qKHI-10	10	RM1375-RM6673	寻甸 Xundian	5.40	13.87	2.43	L

注(Note): L—增效基因来自丽江新团黑谷 Efficiency gene expressed from Lijiangxintuanheigu; T—增效基因来自十和田 Efficiency gene expressed from Towada.

QTL,分布在第 1、6 染色体上,LOD 值为 3.12 ～ 3.77,贡献率变幅为 19.31% ～ 28.46%,加性效应范围为 0.27 ～ 0.51。增效基因均来自丽江新团黑谷。

2.4.9 磷素干物质生产效率　仅在寻甸检测到 6 个 QTL,位于第 4、5 和 6 染色体,LOD 值 3.08 ～ 6.96,贡献率变幅 14.68% ～ 33.16%,加性效应范围 94.28 ～ 109.57。位于第 4、6 染色体 RM4244 – RM255 和 RM340 – RM3628 区间的 *qPDMPE – 4b*、*qPDMPE – 6a* 效应较大。增效基因来自丽江新团黑谷,贡献率分别达到 31.30%、33.16%。

2.4.10 磷素收获指数　共检测到 8 个 QTL,分布于第 1、4、5、6、7 和 10 染色体上,LOD 值为 3.04 ～ 14.08,贡献率变幅为 5.82% ～ 31.57%,加性效应范围为 – 23.07 ～ 3.65。其中分别位于第 1、6 和 7 染色体 RM3740 – RM5302、RM340 – RM3628 和 RM3753–RM7161 区间的 *qPHI – 1*、*qPHI – 6*、*qPHI – 7b* 在寻甸和玉溪 2 种环境下均检测到,贡献率变幅 10.63%～31.57%。增效基因均来自十和田。

2.4.11 稻谷钾含量　仅在白邑检测到 1 个 QTL,位于第 1 染色体 RM3252 – RM7180 区间的 *qKG – 1*,LOD 值为 5.62,贡献率为 32.29%,加性效应为 0.03,增效基因来自丽江新团黑谷。

2.4.12 稻草钾含量　仅白邑检测到 2 个 QTL,位于第 2、7 染色体 RM5654 – RM6911 和 RM1048 – RM6728 区间,LOD 值为 6.11、4.56,贡献率分别为 30.81%、27.68%,加性效应 – 0.16、– 0.15。增效基因来自十和田。

2.4.13 钾素总吸收量　仅在白邑检测到 1 个 QTL,*qTKA – 1* 位于第 1 染色体 RM297 – RM3252 区间,LOD 值为 3.58,贡献率为 13.87%,加性效应为 0.25,增效基因来自丽江新团黑谷。

2.4.14 每 100 kg 籽粒需钾量　仅在寻甸检测到 5 个 QTL,分布在第 3、5、6 和 9 染色体上,LOD 值为 3.50 ～ 7.05,贡献率变幅为 14.14% ～ 34.57%,加性效应范围为 – 0.50 ～ 0.71。其中位于第 5 和第 9 染色体 RM3796 – RM3476 和 RM257 – RM7390 区间的 *qKAS – 5* 和 *qKAS – 9* 效应较大,贡献率分别为 28.65% 和 34.57%。增效基因分别来自丽江新团黑谷和十和田。

2.4.15 钾素稻谷生产效率　仅在寻甸检测到 2 个 QTL,位于第 4、10 染色体,LOD 值分别为 4.09 和 3.49,贡献率为 15.23% 和 17.07%,加性效应为 – 13.03、3.11。增效基因分别来自十和田和丽江新团黑谷。

2.4.16 钾素收获指数　共检测到 6 个 QTL,位于第 4、5、6、7、10 染色体,LOD 值为 3.02 ～ 8.36,贡献率变幅 9.25% ～ 28.30%,加性效应范围 – 3.54 ～ 5.13。其中第 6 染色体 RM3628 – RM4924 区间的 *qKHI – 6* 在寻甸和玉溪均检测到,贡献率分别为 19.66%、28.30%,其增效基因来自丽江新团黑谷。

3　讨论与结论

3.1　QTL 定位

本研究表明,水稻氮、磷、钾养分吸收相关的 16 个性状,如氮、磷、钾素稻谷生产效率、收获指数以及钾素干物质生产效率等在 BC_4F_8 家系群中均表现为近似正态的连续分布,说明其为受多基因控制的数量性状,这与前人[5,15–17]研究结果一致。QTL 检测表明,不同环境下所检测到与水稻氮、磷和钾吸收相关的 QTL 数目有较大差异,且多数 QTL 仅在单一环境中检测到,说明上述 QTL 受环境的影响较大,QTL 与环境有互作效应,这与前人[32–33]研究结果一致。此外,虽然白邑和寻甸 2 种环境气温相近,但所定位的 QTL 不尽相同,这可能是白邑采用了 16 ～ 19℃ 冷泉水持续灌溉处理,发生低温胁迫的强度大、持续时间更长、土温更低等原因使其不同性状、养分在植株体内转化和代谢等受影响的程度、方式与寻甸不同所致。Wan 等[33]认为,效应较大的 QTL 总能在不同环境下被重复检测到。本研究中控制氮总吸收量的 *qTNA – 1a*、控制磷总吸收量的 *qTPA – 1*、控制磷素收获指数的 *qPHI – 6*、*qPHI – 6* 和 *qPHI – 7b*,以及控制钾素收获指数的 *qKHI – 6* 共 6 个 QTL 在 2 种环境(冷害与正常)下均检测到,对表型变异的贡献率为 10.63% ～ 31.57%,为较稳定的主效基因,值得今后深入研究。根据 Gramene 网站(http://www.Gramene.org/)数据,本研究定位的 56 个 QTL 中,与前人相近区域的 QTL 有 5 个,即第 6 染色体 RM541 – RM7555 区间的 *qNNL – 6*[7],RM3628 – RM4924 区间的 *qTPA – 6b*、*qPDMOE – 6b*[34];以及第 10 染色体 RM6144–RM8207 和 RM8207–RM7217 区间的 *qNS – 10*[6]、*qTPA – 10*[34],在这些区域的部分基因功能已被鉴定,如与氮吸收相关的 LOC_Os08g02700、LOC_Os12g3640 和 LOC_Os02g02170[8,14];*OsSPX1* 属缺磷诱导表达基因[35]。其次,本研究检测到的 QTL 未覆盖第 8、11 和 12 染色体,可能是所用 SSR 标记相对较少,部分区间标记过于宽泛,造成部分 QTL 被漏检所致。

3.2 控制各性状的 QTL 比较

QTL 检测显示,本研究有 13 个区间同时控制多个性状,第 1 和第 4 染色体上有 2 个区间,第 5 和第 6 染色体上有 3 个区间,第 3、7 和 10 染色体上各 1 个区间。其中 *qNNL-1* 和 *qTNA-1b* 位于第 1 染色体 RM5496-RM5954 区间;*qTNA-1a*、*qPG-1*、*qTPA-1* 和 *qKG-1* 位于第 1 染色体 RM3252-RM7180 区间;*qTPA-3b* 和 *qKAS-3* 位于第 3 染色体 RM1350-RM6329 区间;*qTPA-4*、*qPDMPE-4a* 和 *qKHI-4b* 位于第 4 染色体 RM6172-RM3843 区间;*qPDMPE-4b*、*qPHI-4a* 和 *qKGPE-4* 位于第 4 染色体 RM4244-RM255 区间;*qNDMPE-5*、*qTPA-5a*、*qPDMPE-5 a* 和 *qKHI-5* 位于第 5 染色体 RM3476-RM1237 区间;*qTPA-5b* 和 *qPDMPE-5b* 位于第 5 染色体 RM1237-RM3870 区间;*qPHI-5* 和 *qKAS-5* 位于第 5 染色体 RM3796-RM3476 区间;*qNNL-6*、*qNHI-6* 和 *qKAS-6a* 位于第 5 染色体 RM541-RM7555 区间;*qNS-6*、*qTPA-6b*、*qPAS-6b*、*qPDMPE-6b* 和 *qKHI-6* 位于第 6 染色体 RM3628-RM4924 区间;*qTPA-6a*、*qPAS-6a*、*qPDMPE-6a*、*qPHI-6* 和 *qKAS-6b* 位于第 6 染色体 RM340-RM3628 区间;*qPHI-7a* 和 *qKHI-7* 位于第 7 染色体 RM5711-RM6432 区间;*qPHI-10* 和 *qKHI-10* 位于第 10 染色体 RM1375-RM6673 区间。上述 QTL 富集区域,可能为部分区域重叠,或者为"一因多效"或"紧密连锁",初定位很难确定。但这种 QTL 成族现象,说明控制同一性状的 QTL 可能不是随机分布,而是在染色体上存在着控制某一特定性状的 QTL 集中区域,同时证实 N、P、K 养分吸收存在复杂的交互作用。另外,本研究检测到第 1、第 5 和第 6 染色体的 RM3252-RM7180、RM3796-RM3476、RM3628-RM4924 标记区域的 QTL 与利用同一群体检测孕穗期耐冷性 QTL 相同(未发表),且有 4 个位点位于前人定位的耐冷性 QTL 集中区域,即第 3 染色体 RM1350-RM6329 区间的 *qTPA-3b*[36]、第 4 染色体 RM255-RM3866 区间的 *qKHI-4a*[37]、第 7 染色体 RM1048-RM6728 区间的 *qKS-7*[38]、第 10 染色体 RM8207-RM7217 区间的 *qTPA-10*[39],表明控制水稻耐冷性与养分利用的 QTL/基因间关系紧密。Zhang 等[40]研究认为,丽江新团黑谷携有冷调节基因 *COR*,本研究利用相同供体亲本的近等基因系,基因 *COR* 是否也具有养分吸收调节功能有待进一步研究。针对这 13 个重要的 QTL 富集区域将来可进行不同年份间重现性验证,并通过构建相应的分离群体,借助于生物信息学手段,进一步开展精细定位研究,以分解这些 QTL 族或探索它们间的多效性关系,最终实现控制耐冷、养分吸收的 QTL 聚合育种,提高水稻耐冷、肥高效利用新品种的改良和选育效率。

参 考 文 献:

[1] Chakravarthi B K, Naravaneni R. SSR marker based DNA fingerprinting and diversity studying rice (*Oryza sativa* L)[J]. African Journal of Biotechnology, 2006, 5(9): 684-688.

[2] Mori M, Onishi K, Tokizono Y *et al*. Detection of a novel quantitative trait locus for cold tolerance at the booting stage derived from a troppical *japonica* rice variety silewah[J]. Breeding Science, 2011, 61(1): 61-68.

[3] Theocharis A, Clement C, Barka E A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures[J]. Planta, 2012, 235(6): 1091-1105.

[4] Zia M S, Salim M, Aslam M, Gill and Rahmatullah M A. Effect of low temperature of irrigation water on rice growth and nutrient uptake[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 1992, 173(1): 22-31.

[5] 林海建, 张志明, 张永中, 等. 作物氮、磷、钾利用相关性状的 QTL 定位研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(3): 732-743.
Lin H J, Zhang Z M, Zhang Y Z *et al*. Advancement of QTL analysis for traits associated to N, P and K utilization[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(3): 732-743.

[6] Cho Y I, Jiang W Z, Chin J H. Identification of QTLs associated with physiological nitrogen use efficiency in rice[J]. Molecular Cells, 2007, 23(1): 72-79.

[7] 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, 7(2): 159-165.
Fang P, Tao Q N, Wu P. QTLs underlying rice root to uptake NH_4-N and NO_3-N and rice N use efficiency at seedling stage[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2001, 7(2): 159-165.

[8] Wei D, Cui K H, Ye G Y *et al*. QTL mapping for nitrogen-use efficiency and nitrogen-deficiency tolerance traits in rice[J]. Plant and Soil, 2012, 359(2): 281-295.

[9] Tong H H, Chen L, Li W P *et al*. Identification and characterization of quantitative trait loci for grain yield and its components under different nitrogen fertilization levels in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Molecular Breeding, 2011, 28(4): 495-509.

[10] 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.

[11] Obara M, Kajiura M, Fukuka Y *et al*. Mapping of QTLs associated with cytosolic glutamine synthetase and NADH-glutamate synthase in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(359): 1209-1217.

[12] Bi Y M, Kant S, Clarke J *et al*. Increased nitrogen-use efficiency

in transgenic rice plants over-expressing a nitrogen-responsive early nodulin gene identified from rice expression profiling[J]. Plant Cell and Environment, 2009, 32(12): 1749-1760.

[13] Kurai T, Wakayama M, Abiko T *et al*. Introduction of the ZmDof1 gene into rice enhances carbon and nitrogen assimilation under low-nitrogen conditions[J]. Plant Biotechnology Journal, 2011, 9(8): 826-837.

[14] Xu Y F, Wang R F, Tong Y P *et al*. Mapping QTLs for yield and nitrogen related traits in wheat: influence of nitrogen and phosphorus fertilization on QTL expression[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2014, 127(1): 59-72.

[15] 穆平, 黄超, 李君霞, 等. 低磷胁迫下水稻产量性状变化及其 QTL 定位[J]. 作物学报, 2008, 34(7): 1137-1142.
Mu P, Huang C, Li J X *et al*. Yield trait variation and QTL mapping in a DH population of rice under phosphorus deficiency [J]. Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(7): 1137-1142.

[16] Ming F, Zheng X W, Mi G H *et al*. Identification of quantitative trait loci affecting tolerance to low phosphorus in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Chinese Science Bulletin, 2000, 45(6): 520-525.

[17] Hu B, Wu P, Liao C Y *et al*. QTLs and epistasis underlying activity of acid phosphatase under phosphorus sufficient and deficient condition in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. Plant and Soil, 2001, 230(1): 99-105.

[18] Yohei K, Juan P T, Terry R *et al*. QTLs for phosphorus deficiency tolerance detected in upland NERICA varieties[J]. Plant Breeding, 2013, 132(3): 259-265.

[19] Ni J J, Wu P, Senadhira D, Huang N. Mapping QTLs for phosphorus deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Theoretical Applied Genetics, 1998, 97(8): 1361-1369.

[20] Koyama M L, Levesley A, Koebner R M *et al*. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice[J]. Plant Physiology, 2001, 125(1): 406-422.

[21] 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]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 108(2): 253-260.

[22] Shimizu A, Guerta C Q, Gregorio G B *et al*. QTLs for nutritional contents of rice seedlings(*Oryza sativa* L.) in solution cultures and its implication to tolerance to iron-toxicity[J]. Plant and Soil, 2005, 275(1): 57-66.

[23] 杨树明, 王荔, 曾亚文, 等. 粳稻丽江新团黑谷近等基因系孕穗期耐冷性指标性状的遗传分析[J]. 华北农学报, 2013, 28(1): 7-11.
Yang S M, Wang L, Zeng Y W *et al*. Genetic analysis on cold tolerance characteristics at booting stage in the near-isogenic lines from Japonica rice Lijiangxintuanheigu[J]. Acta Agriculturae Boreali Sinica, 2013, 28 (1): 7-11.

[24] 曾亚文, 叶昌荣,申时全. 水稻穗期耐冷 NILs 研制和 QTL 分析[J]. 中国农业科学, 2000, 33(4): 109.
Zeng Y W, Ye C R, Shen S Q. Chromosomal Location of gene and development of near-isogenic lines for cold tolerance in rice [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2000, 33(4): 109.

[25] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 184-185.
Li H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000. 184-185.

[26] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 2000. 30-107.
Bao S D. Soil agrochemistry analysis[M]. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 2000. 30-107.

[27] Jiang L G, Dai T B, Jiang D *et al*. Characterizing physiological N-use efficiency as influenced by nitrogen management in three rice cultivars[J]. Field Crops Research, 2004, 88(2): 239-250.

[28] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA[J]. Nucleic Acids Research, 1980, 8(19): 4321-4325.

[29] Temnykh S, Park W D, Ayres N *et al*. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100(5): 697-712.

[30] 王建康. 数量性状基因的完备区间作图方法[J]. 作物学报, 2009, 35 (2): 239-245.
WANG J K. Inclusive composite interval mapping of quantitative trait genes[J]. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35 (2): 239-245.

[31] Mccouch S R. Gene nomenclature system for rice[J]. Rice, 2008, 1(1): 72-84.

[32] Dong W, Ke H C, Jun F P *et al*. Genetic dissection of grain nitrogen use efficiency and grain yield and their relationship in rice[J]. Field Crops Research, 2011, 124(3): 340-346.

[33] Wan X Y, Wan J M, Weng J F *et al*. Stability of QTLs for rice grain dimension and endosperm chalkiness characteristics across eight environments [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 110(7): 1334-1346.

[34] Wissuwa M, Yano M, Ae N. Mapping of QTLs for phosphorus deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97(6): 777-783.

[35] Wang C, Ying S, Huang H *et al*. Involvement of *OsSPX1* in phosphate homeostasis in rice[J]. Plant Journal, 2009, 57(5): 895-904.

[36] Shirasawa S, Endo T, Nakagomi K *et al*. Delimitation of a QTL region controlling cold tolerance at booting stage of a cultivar, 'Lijiangxintuanheigu', in rice, *Oryza sativa* L[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 124(5): 937-946.

[37] Saito K, Hayano S Y, Kuroki M, Sato Y. Map-based cloning of the rice cold tolerance gene *Ctb1* [J]. Plant Science, 2010, 179 (1): 97-102.

[38] Zhou L, Zeng Y W, Hu G L *et al*. Characterization and identification of cold tolerant near-isogenic lines in rice[J]. Breeding Science, 2012, 62(2): 196-201.

[39] Ye C, Fukai S, Godwin I D *et al*. A QTL controlling low temperature induced spikelet sterility at booting stage in rice [J]. Euphytica, 2010, 176(3): 291-301.

[40] Zhang T, Zhao X, Wang W S *et al*. Comparative transcriptome profiling of chilling stress responsiveness in two contrasting rice genotypes[J]. PloS One, 2012, 7(8): e43274.