



水稻耐储藏特性三年动态鉴定与QTL分析

刘进^{1,2}, 姚晓云^{1,2}, 余丽琴¹, 李慧¹, 周慧颖¹, 王嘉宇^{2*}, 黎毛毛^{1*}

¹江西省农业科学院水稻研究所/水稻国家工程实验室(南昌)/国家水稻改良中心南昌分中心, 南昌 330200

²沈阳农业大学水稻研究所, 沈阳 110866

摘要 种子耐储藏特性是粮食作物的特殊农艺性状之一, 耐储藏性能对种子生产和种质资源保存有重要意义。以粳型超级稻龙稻5 (LD5)和高产籼稻中优早8 (ZYZ8)杂交衍生的重组自交系(RILs)群体(共180个株系)为实验材料, 自然高温高湿条件下放置1年、2年和3年后, 对不同储藏时段种子发芽率进行比较, 并利用223个分子标记的遗传图谱进行动态QTL鉴定。结果表明, 不同储藏时段龙稻5的发芽率均显著低于中优早8, 株系间耐储性存在较大差异; 不同储藏时段发芽率显著相关, 相邻存储时段发芽率关系紧密。共检测到17个耐储性相关的QTLs, 3个老化时段分别检测到5、4和3个, 检测到5个动态条件QTLs, 单一QTL解释5.60%–32.76%的表型变异, 加性效应在–16.78%–16.95%范围内。主效QTL簇qSSC2、qSSC6、qSSC7和qSSC8能调控不同储藏时段的发芽率, qSSC6具有明显降低发芽率的效应。共检测到26对上位性互作位点, 主效QTL qSS1和qSS4参与上位性互作, 这表明上位性互作是调控耐储藏性状的重要遗传组成。研究结果为水稻(*Oryza sativa*)耐储性相关QTL的精细定位奠定基础, 同时丰富了耐储性分子标记辅助选择育种的基因资源。

关键词 水稻, 自然老化, 种子耐储藏, QTL分析, 上位性互作

刘进, 姚晓云, 余丽琴, 李慧, 周慧颖, 王嘉宇, 黎毛毛 (2019). 水稻耐储藏特性三年动态鉴定与QTL分析. 植物学报 54, 464–473.

稻谷储藏过程中陈化变质、种子活力和发芽率下降一直是水稻(*Oryza sativa*)生产、储存与经营中面临的主要问题, 也是水稻育种工作的难题之一(许惠滨等, 2017; 张安鹏等, 2018)。种子耐储藏特性是重要的农艺性状, 显著影响种子发芽率和植株活力, 与其子代的生产和管理密切相关(张文明等, 1998)。水稻是不耐储藏的粮食作物之一, 稻谷储藏时由于呼吸、氧化和酶的作用而发生一系列化学变化, 储存2年后开始劣变, 适宜的储存年限一般为2–3年(余丽琴等, 2008; 许惠滨等, 2017)。储藏过程中种子活力和发芽率随着储藏时间的延长而降低, 陈化的种子糙米表面色泽变暗、蒸煮食味品质变差、营养成分被破坏, 导致种子的播种品质和食用品质下降(江川等, 2000; 柳武革等, 2006; 贺梅等, 2007)。近年来, 我国稻谷连年丰收使得稻谷储藏问题越来越凸显, 在气候湿热的南方尤为严重。鉴定和利用优异种质与基因, 培育

耐储藏新品种对提高水稻耐储特性和粮食贮藏、生产及种质资源保存具有重要的理论和现实意义(柳武革等, 2006; 刘喜等, 2015; Dong et al., 2017)。

水稻耐储藏性常采用发芽率、发芽势和发芽指数等指标进行评价(张瑛等, 2010)。其中发芽率是指在规定时间内正常发芽种子数占供试种子数的百分率, 测定方法简单且贴近生产, 常被作为种子耐储性研究的直接指标。不同品种间耐储藏特性存在显著差异, 提高水稻种子耐储藏特性有利于提高种子活力和延长水稻贮存时间(李茂柏等, 2010)。此外, 具有良好耐储性的种子在长时间储藏后仍然表现出较高的出苗能力和较好的食用品质。水稻的耐储性受内外因素综合影响, 外在因素主要包括种子成熟度、含水量、储藏条件及加工处理等环境因素; 内在因素主要是遗传因素, 包括籼粳特性、脂肪酸含量、淀粉特性、抗氧化物和籽粒大小等(吴贻开等, 2000; 曾大力等,

收稿日期: 2018-09-03; 接受日期: 2019-02-11

基金项目: 国家重点研发计划(No.2016YFD0100101-11)、江西现代农业科研协同创新专项(No.JXXTCX201701-01)和江西省青年科学基金(No.20171BAB214026)

* 通讯作者。E-mail: ricewjy@126.com; Lmm3056@163.com

2002; 张玉兰等, 2005; 吴方喜等, 2010)。不同品种类型的水稻耐储性存在明显差异, 籼粳形态指数与耐储性存在极显著正相关, 一般籼稻耐储性强于粳稻 (Miura et al., 2002; 曾大力等, 2002)。不同来源的种质耐储藏特性差异很大, 而良好耐储特性资源具有较好的利用价值 (吴方喜等, 2010; 李茂柏等, 2010)。

水稻谷粒包含3种脂肪氧化酶同工酶(Lox1、Lox2和Lox3), 其中Lox3含量相对较多, 其活性降低后可减轻脂质氧化反应、延缓种子衰老、增加稻谷的耐储藏性, 对稻谷的耐储性具有决定作用 (任淦等, 2005; 龚继平等, 2008; 李清华等, 2009)。以往主要通过化学药剂、控温和控湿来延长贮藏时间, 其成本高且易污染稻米, 而对耐储藏品种和基因资源的筛选和利用研究相对较少 (吴跃进等, 2004, 2005; Zeng et al., 2006)。近年来, 研究者利用不同的群体开展了水稻耐储性相关研究 (Cai and Morishima, 2000; Jiang et al., 2011), 相关QTL分布于水稻12条染色体上, 仅有少数几个QTL被精细定位, 贡献率较大的主效QTL主要有 *qLG9* (Shigemune et al., 2008)、*qSdn-1* 和 *qSdn-5* (Lu et al., 2011)、*qSSh3* 和 *qSSh7* (Hang et al., 2015)、*qSS9* (刘喜等, 2015) 和 *qGP9* (Li et al., 2017)。有关水稻耐储藏特性的遗传与分子调控机理仍不甚清楚, 诸多问题亟待解决, 仍需对稻谷耐储藏特性相关基因的分子调控机理进行深入研究 (Xue et al., 2008; Jing et al., 2008; Xie et al., 2011)。发掘水稻耐储藏种质资源和优异基因, 进一步利用优异基因从根本上解决稻谷储藏过程中发芽率和活力下降与食味品质变差的难题, 对培育新的耐储藏良种具有重要意义。本研究以龙稻5 (不耐储藏) 和中优早8 (耐储藏) 杂交衍生的重组自交系 (RILs) 群体为实验材料, 自然老化 (高温高湿) 条件下存储1、2和3年后对耐储藏特性进行动态鉴定和QTL分析, 探究不同存储时间下种子活力动态变化规律和遗传特性, 发掘新的主效QTL, 为培育强耐储水稻品种奠定理论基础和提供基

因资源。

1 材料与方法

1.1 实验材料与设计

以水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种龙稻5 (Longdao 5, LD5) 和中优早8 (Zhongyouzao 8, ZYZ8) 杂交衍生的重组自交系 (recombinant inbred lines, RILs) 群体为实验材料, 共180个株系 (F_7)。大田试验于2015年在沈阳农业大学试验基地进行, RILs群体每系种植3行, 单苗栽插, 田间管理同当地常规大田栽培管理。

1.2 性状测定

水稻成熟后混合收取1穴稻穗, 混合脱粒, 取亲本和RILs群体各株系材料, 于高温、高湿条件 (表1) 下保存于江西省农业科学院水稻研究所。发芽试验参照Li等 (2017) 的方法进行, 于存储后12个月 (2016年)、24个月 (2017年) 和36个月 (2018年) 分别测定发芽率, 并以发芽率评价耐储藏特性。每个处理50粒种子, 设3次重复, 取平均值进行后续统计分析。

1.3 遗传图谱构建

在抽穗期采集亲本及RILs群体各家系叶片, 采用CTAB法 (Dogle and Dogle, 1987) 提取水稻基因组DNA。PCR扩增总体积 (12 μ L) 包括2.0 μ L DNA模板, 上下游引物 (10 μ mol·L⁻¹) 各1.5 μ L, 6 μ L 2×Mix混合体系, 1.0 μ L ddH₂O。扩增程序为: 94°C 4分钟; 94°C 45秒, 55–58°C 45秒, 72°C 45秒, 32个循环; 72°C 10分钟, 12°C 保存。PCR扩增产物用4%–5%的琼脂糖凝胶电泳检测。利用亲本间具有明显多态性的标记构建遗传图谱, 共包括223个分子标记 (SSR、InDel和ILP标记), 图谱覆盖水稻基因组约1 514.0 cM, 标记间的平均距离为6.79 cM, 平均每对染色体上的标记数为18.58。

表1 2016–2018南昌市年温度与降雨情况

Table 1 Summary of temperature and rainfall conditions from 2016–2018 in Nanchang city

Years	Rainy days	Max temperature (°C)	Days of max temperature (>30°C)	Max mean temperature (°C)	Mean min temperature (°C)	Mean temperature (°C)
2016	192	38	101	22.68	16.10	19.39
2017	184	39	97	23.03	16.10	19.57
2018 (1–9 months)	130	38	119	25.34	17.71	21.53

1.4 QTL分析

采用QTL Ici Mapping v4.0的完备区间作图(ICIM)方法(Wang et al., 2014)进行加性效应、加性×加性上位交互效应QTL分析; LOD的阈值设为2.50, 当实际求得的LOD值大于LOD阈值时, 就判定该区段存在1个QTL; 估算每个QTL的加性效应值和贡献率, 同时应用ICIM-EPI进行上位性分析。QTL的命名遵循McCouch等(1997)的原则。

测定第1、2和3年环境下RILs各株系和亲本发芽率, 设定为非条件表型值, 即某一时刻的表型值。根据朱军(1997)提出的动态条件遗传效应值的统计分析方法, 可以获得给定的1–2年和2–3年动态变化的发芽率条件表型值, 动态条件QTL的加性效应则为某一时间段内基因表达的净加性效应。以1年和2年差值表示储藏1–2年发芽率变化的动态条件值, 2年和3年差值表示储藏2–3年发芽率变化的动态条件值, 以动态条件值计算动态条件QTL。

2 结果与讨论

2.1 表型分析

不同存储年份时段下, 双亲间发芽率均存在极显著差异。龙稻5发芽率均较低, 中优早8则表现出较高的发芽率, 存储3年后龙稻5的发芽率基本为0, 而中优早8的发芽率下降较慢, 存储3年后具有56.12%的发芽率(图1A–C); RILs群体存储1年后发芽率变化不明显(图1A), 2年后发芽率显著下降(图1B), 3年后多数株系发芽率下降至0, 但仍有部分株系表现较强的活力(图1C); RILs群体中不同株系发芽率和发芽率动态变化值存在较大幅度变异, 呈现双向超亲分离, 近似于连续的正态分布(图1A–E; 表2), 这表明不同存储时段下发芽率性状均为多基因控制的数量性状, 符合QTL作图的要求。

自然老化条件下, 不同储藏时段与发芽率间均呈显著或极显著正相关(表3)。相邻储藏时段的发芽率相关系数较大, 储藏1年与2年、2年和3年的发芽率相关系数分别为0.448和0.347, 储藏1年与3年的相关系数仅为0.166。这表明不同储藏时段的发芽率具有相关性, 随着存储时间的推移发芽率逐步降低, 发芽率具有明显的动态变化规律。

2.2 QTL分析

我们共检测到17个控制耐储藏性状相关的QTLs, 3个自然老化时段下分别检测到5、4和3个, 并检测到5个动态条件QTLs, 分布于第1、2、3、4、6、7、8和12号染色体上, LOD值介于2.53–6.52之间, 可解释5.60%–32.76%的表型变异, 加性效应在–16.78%–16.95%范围内(表4; 图2)。我们还检测到5个调控自然老化1年条件下发芽率的QTLs, 分别位于第3、4、6、7和8号染色体上; *qSS4*增效等位基因来自ZYZ8, 具有提高发芽率的效应; *qSS3*、*qSS6a*、*qSS7a*和*qSS8a*增效等位基因来自LD5, 具有降低存储条件下发芽率的效应; *qSS4*和*qSS6a*具有较高的表型贡献率和加性效应值, 分别为14.49%、13.53%和10.27%、–10.27%。我们共检测到4个控制储存2年后的发芽率QTLs, 分别位于第2、6、7和8号染色体上, LOD值介于2.71–3.86之间, 表型贡献率在5.78%–12.12%, 其中*qSS6b*和*qSS8b*效应明显, 表型贡献率和效应值均超过10.00%, 增效等位基因来自LD5, 具有明显的降低发芽率的功能。我们检测到3个调控存储3年后发芽率位点, 分布在第1、2和7号染色体上, *qSS1*、*qSS2b*和*qSS7c*增效等位基因均来自ZYZ8, *qSS1*贡献率和效应值较大。

我们共检测到5个耐储藏特性动态条件相关的QTLs, 分别位于2、3、6、8和12号染色体上。在存储1–2年时段仅检测到1个相关的QTL *qss2*, 其LOD值、表型贡献率和加性效应值分别为2.98、10.13%和–9.59%, 增效等位基因来自ZYZ8。我们共检测4个与存储2–3年动态条件相关的QTLs, *qss8*的加性效应值较小, *qss3*、*qss6*和*qss12*的LOD值、表型贡献率和加性效应值均较大, 具有明显的调控发芽率的功能, 其中仅*qss3*增效等位基因来自ZYZ8, 具有明显增加发芽率的效应, 其余位点增效等位基因均来自LD5, 具有明显的降低发芽率的功能。

此外, 通过比较分析发现有4个QTLs所在的相关区域能持续调控不同存储时段的发芽率, 分别位于第2、6、7和8号染色体上, 主效QTL簇*qSSC2* (*qSS2a*、*qSS2b*和*qss2*)、*qSSC6* (*qSS6a*、*qSS6b*和*qss6*)、*qSSC7* (*qSS7a*和*qSS7b*)和*qSSC8* (*qSS8a*、*qSS8b*和*qss8*); *qSSC6*、*qSSC7*和*qSSC8*能调控存储1和2年后的发芽率, 其中*qSSC6*具有明显降低发芽率的

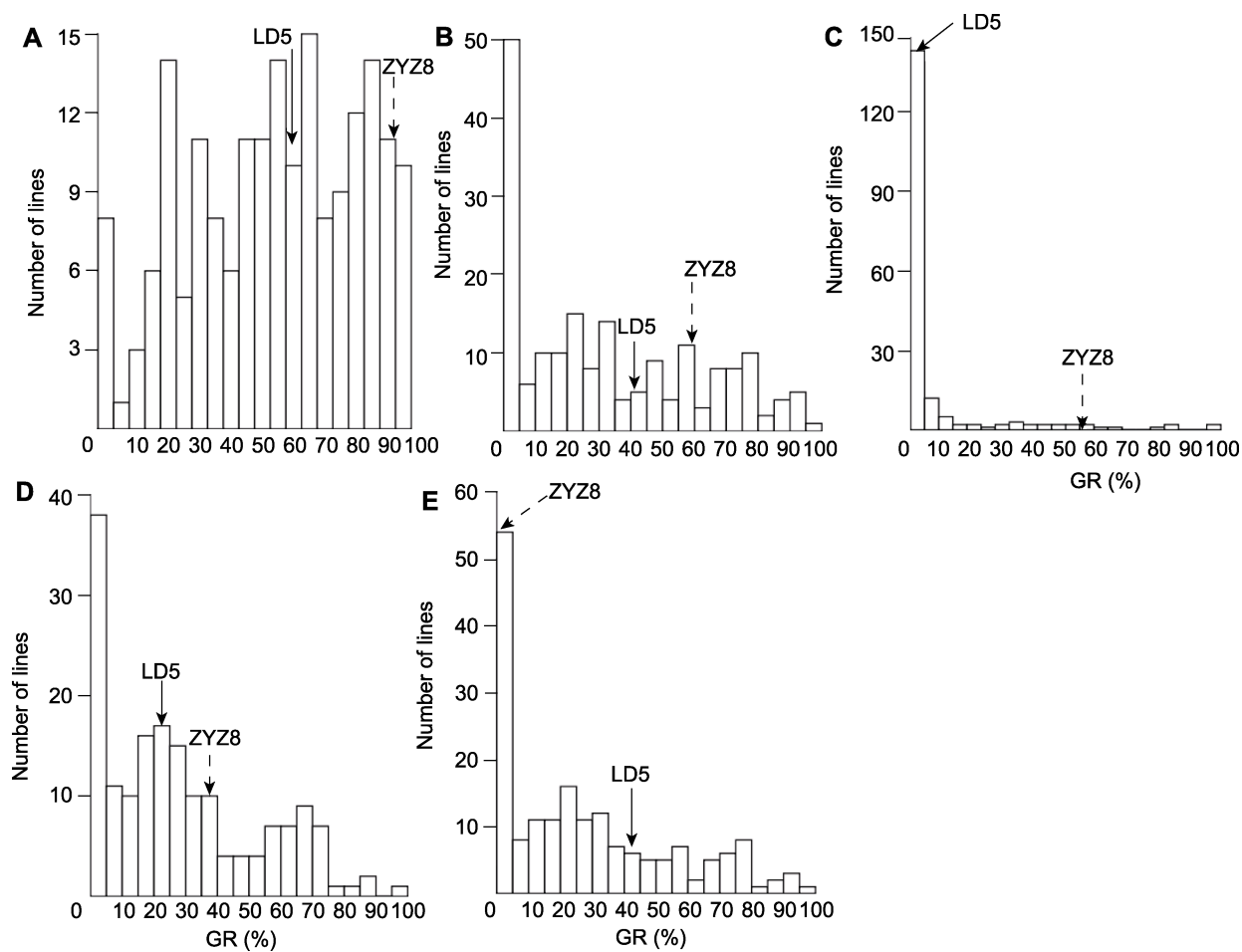


图1 自然老化条件下不同存储时间水稻重组自交系(RILs)群体发芽率(GR)分布情况
(A)–(C) 分别表示自然老化(高温高湿)条件下存储1、2和3年后的发芽率; (D), (E) 分别表示1–2年和2–3年环境下发芽率动态变化值。亲本龙稻5 (LD5)和中优早8 (ZYZ8)发芽率分别采用实线和虚线箭头表示。

Figure 1 Distribution of germination rates (GR) under different seed dormancy time in the recombinant inbred lines (RILs) population of rice
(A)–(C) GR of natural storage condition for 1, 2 and 3 years, respectively; (D), (E) Dynamic GR of natural storage condition for 1–2 and 2–3 years, respectively. GR of the parents (LD5 and ZYZ8) are indicated by black and dotted line arrows, respectively.

表2 不同存储年份水稻亲本和重组自交系(RILs)群体发芽率(GR)分布情况

Table 2 Distribution of germination rate (GR) after different aging treatments for parents and recombinant inbred lines (RILs) population of rice

Trait	Environment (Year)	Parents		RILs population			
		LD5	ZYZ8	Means±SD	Range	Skewness	Kurtosis
GR (%)	1	63.97±6.10	95.95±4.51**	56.34±26.89	0.00–100.00	–0.30	–0.88
	2	43.19±4.30	59.79±2.20**	32.92±29.32	0.00–96.55	0.49	–1.04
	3	0.00±0.00	56.12±2.05**	6.89±16.80	0.00–87.68	2.92	3.36
Dynamic GR	1–2	20.78±5.20	36.16±2.75**	23.42±29.59	–5.70–97.79	–0.03	0.01
	2–3	43.19±5.63	3.67±3.50**	26.02±28.28	–2.9–96.55	0.64	–0.45

**表示在0.01水平差异显著。 ** represent significant differences at the 0.01 level.

表3 自然老化条件下不同存储时间水稻发芽率(GR)性状间的相关系数

Table 3 Correlation coefficients among germination rates (GR) of rice under different natural storage conditions

Traits	Environment (Year)	1	2	3
GR	1	1.000		
	2	0.448**	1.000	
	3	0.166*	0.347**	1.000

*和**分别表示在0.05和0.01水平差异显著。* and ** represent significant differences at the 0.05 and 0.01 level, respectively.

效应, 增效等位基因来自LD5, 贡献率和效应值均值分别介于11.27%–32.76%和–16.78%–10.19%之间; *qSSC2*能持续调控存储2年和3年后的发芽率, 贡献率和效应值分别介于6.46%–10.47%和–9.59%–9.69%之间, 效应值相对较小。

2.3 上位性分析

采用ICIM-EPI模型检测耐储藏性状上位性效应位点, 共检测到26对上位性互作位点, 分布于1–10和12号

染色体上, LOD值和表型贡献率均值分别为13.71和24.75%, 加性效应介于–20.45%–17.72%之间(图3)。位于第1、4、5和7号染色体上相应的染色体区域对具有明显的上位性作用, 其中主效QTL *qSS1*所在的第1号染色体R1M30–RM3240区域与第1–7和12号染色体间存在明显的上位性效应; 第4号染色体RM5688–RM471区域的主效QTL *qSS4*与第1、5、7、8、10和12号染色体间存在明显的上位性效应。此外, 第5号染色体的R5M13–RM3476区域非加性效应位点与第1–7、9和12号染色体的相应区域存在较强的上位性效应; 第7号染色体RM5711–RM1135区域非加性效应位点与第1、3、4、5和7号染色体的相应区域存在较强的上位性效应。上述研究结果表明, 本研究RILs群体中包含多个调控耐储藏性状的上位性互作位点, 上位性互作效应既可存在于加性效应QTL间和加性效应QTL与非加性效应位点间, 也可存在于非加性效应位点间, 这也表明上位性互作效应是调控水稻耐储藏特性的重要遗传组成之一。

表4 自然存储条件下水稻种子耐储藏性状QTL定位

Table 4 Putative QTL for seed storability were detected under natural storage conditions in rice

Trait	Locus	Position	Marker	LOD value	PVE (%)	Additive effect
1 year	<i>qSS3</i>	75.5	RM6676–STS3.8	2.53	10.58	–8.77
	<i>qSS4</i>	26.1	R4M17–RM5688	2.85	14.49	10.27
	<i>qSS6a</i>	121.4	RM5814–RM412	5.28	13.53	–10.27
	<i>qSS7a</i>	96.2	RM8261–RM1209	2.85	7.29	–7.27
	<i>qSS8a</i>	85.5	R8M33–RM6976	2.79	6.88	–7.04
2 years	<i>qSS2a</i>	40.5	RM5897–RM5699	3.86	10.47	9.69
	<i>qSS6b</i>	107.4	RM6395–RM5814	2.88	11.27	–10.19
	<i>qSS7b</i>	108.2	RM3555–RM1306	2.71	5.78	–7.03
	<i>qSS8b</i>	89.5	R8M33–RM6976	3.79	12.12	–10.18
3 years	<i>qSS1</i>	102.5	R1M30–RM3240	3.13	9.20	5.78
	<i>qSS2b</i>	50.5	RM5699–RM300	3.01	6.46	4.29
	<i>qSS7c</i>	64.2	RM1135–RM11	3.21	10.05	5.32
1–2 years	<i>qss2</i>	41.5	RM5897–RM5699	2.98	10.13	–9.59
2–3 years	<i>qss3</i>	40.5	STS3.3–STS3.4	4.46	25.22	16.95
	<i>qss6</i>	107.4	RM6395–RM5814	6.52	32.76	–16.78
	<i>qss8</i>	91.5	R8M33–RM6976	2.54	5.60	–6.68
	<i>qss12</i>	86	STS12.2–RM1226	2.89	24.42	–14.64

SS: 种子耐储藏; ss: 不同年份动态耐储藏特性; LOD: QTL的LOD值峰值; PVE: QTL的表型贡献率

SS: Seed storability; ss: Dynamic seed storability under different years; LOD: The peak logarithm of odds for QTL; PVE: Percentage of total phenotypic variance explained by the QTL

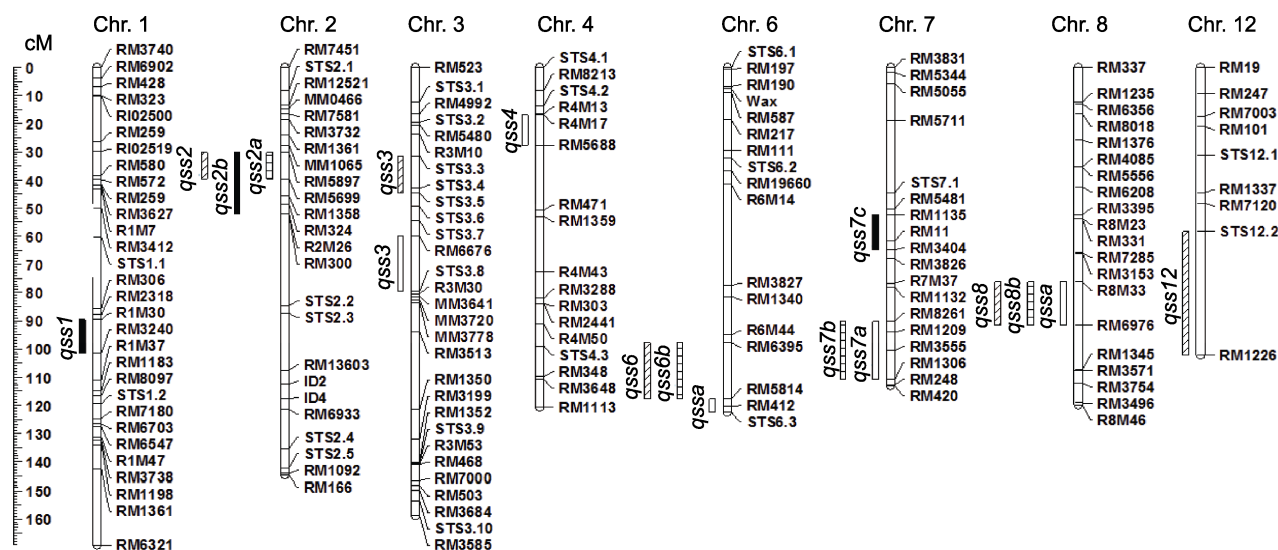


图2 自然存储条件下水稻种子耐储藏性状QTL在重组自交系(RILs)群体中的染色体分布

□、▨、■和▨分别表示在自然存储1、2、3年和不同年份动态条件QTL。

Figure 2 Location of QTLs detected for seed storability under natural storage conditions in rice on the genetic map of recombinant inbred lines (RILs)

□, ▨, ■ and ▨ were QTLs detected in one, two, three years and dynamic conditionals QTLs under different years, respectively.

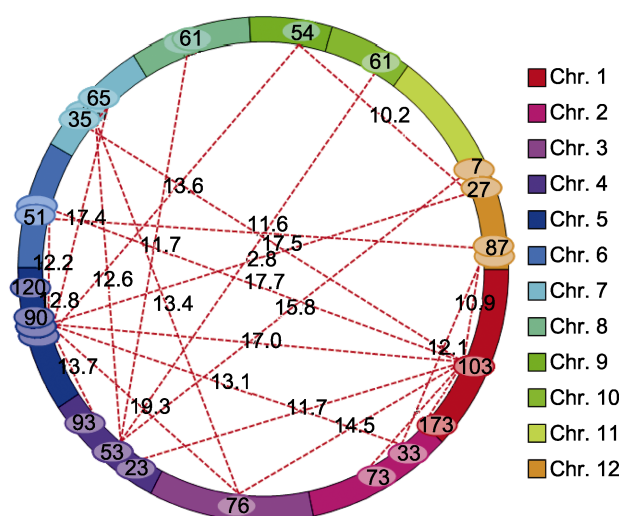


图3 自然存储条件下水稻种子耐储藏性状QTL的上位性互作效应分析

Figure 3 QTL with epistasis effect estimate for seed storability in rice under natural storage conditions

2.4 讨论与结论

本研究表明, 不同储藏时段双亲发芽率均存在极显著差异, 龙稻5耐储藏性低于中优早8, 中优早8存储3年后仍表现较高的发芽率; RILs群体不同株系发芽率存在较大幅度变异, 呈现双向超亲分离; 自然老化

条件下, 不同储藏时段发芽率关系紧密, 相邻储藏时段的发芽率相关系数较大, 随着存储时间的推移发芽率逐步降低。存储1年的种子发芽率下降相对较小, 存储2年后种子活力显著下降但仍存在部分种子活力较强的株系, 存储3年后仅少数几个株系具有发芽能力, 这表明稻谷种子最适宜的存储时间为1–2年。

种子耐储藏性是复杂的数量性状, 受种子发育期间环境条件、储藏条件和遗传基因等因素的共同影响(Sasaki et al., 2005; Wan et al., 2005; Li et al., 2012)。外在因素主要包括种子成熟度、储藏条件和加工处理等; 内在因素主要是遗传因素, 包括籼粳特性、脂肪酸含量、淀粉特性、抗氧化物和籽粒大小等(吴跃进等, 2004, 2005; Zeng et al., 2006; 周玉亮等, 2016)。目前, 已有许多研究者利用不同的群体相继开展了水稻种子耐储藏性相关QTL分析, 耐储藏性是受多基因控制的复杂的数量性状, 相关QTL分布于1、2、3、4、5、6、7、9、11和12号染色体(Hang et al., 2015; Li et al., 2017; Dong et al., 2017)。Li等(2017)利用DH和CSSL群体检测到19个耐储藏相关的QTL位点, 主效QTL成簇分布于第1、3、4、8和9号染色体上, 并将具有明显效应的主效QTL *qGP9*精细定位在第9号染色体的标记P6–P8之间, 物理距离为90.2 kb。Lu等(2011)检测到2个耐储藏相关的QTLs

(*qSdn-1*和*qSdn-5*), 分别位于第1和5号染色体。Shigemune等(2008)利用CSSL群体检测到3个QTLs (*qLG-2*、*qLG-4*和*qLG-9*)。Gu等(2004)利用DH群体检测到4个耐储藏相关QTLs, 分别位于第3、5、6和11号染色体, 其中*qSD4*在不同群体中重演性较强。Hang等(2015)利用BILs和CSSL群体检测到16个耐储藏相关的QTLs, 分布于第1、2、3、4、5、7、11和12号染色体, 其中*qSSh-2-1*和*qSSh-2-2*能在不同环境下被检测到, 其增效等位基因来自Habataki, 并利用CSSL验证了*qSSh-1*、*qSSh-3*、*qSSh-4*、*qSSh-7*和*qSSh-11*。Cheng等(2014)利用RILs群体对水稻耐储藏特性进行QTL分析, 检测到10个耐储藏相关的QTL位点, 分别位于第1、2、3、4、6、8和9号染色体上, 其中*qSD3.1*、*qSD3.2*、*qSD4*和*qSD9*贡献率和效应值均较大, 具有明显的遗传效应。沈圣泉等(2005)采用人工老化方法, 检测到2个与耐储藏相关的主效QTLs (*qSS4*和*qSS9*)。本研究共检测到控制耐储藏性状相关的17个QTLs, 3个自然老化时段下分别检测到5、4和3个, 位于第2、6、7和8号染色体上的主效QTL簇*qSSC2*、*qSSC6*、*qSSC7*和*qSSC8*能调控不同存储时段的发芽率QTL, *qSSC6*、*qSSC7*和*qSSC8*具有明显遗传效应, 能调控存储2–3年后的发芽率。本研究还检测到5个耐储藏性动态条件相关的QTLs (*qss2*、*qss3*、*qss6*、*qss8*和*qss12*), 其中*qss3*、*qss6*和*qss12*的LOD值、表型贡献率和加性效应值均较大, 具有明显的调控发芽率的功能。此外, 通过比较分析, 发现非条件QTL *qSS2*、*qSS6*和*qSS8*与条件QTL *qss2*、*qss6*和*qss8*所在区间基本一致, 其它条件与非条件QTL定位区间不同, 这表明控制耐储藏特性的QTL可能分段表达, 与耐储藏性和发芽率降低动态变化过程相符, 耐储藏相关基因的表达具有时空性。与前人研究结果相比, 本研究检测到的主效QTL簇*qSSC6*与Guo等(2004)和Dong等(2017)检测到的*qSD6*和*qSC6*位置相近, *qSSC7*与*qSSh-7-1*、*qSSh-7-2*位于相同区间(Hang et al., 2015)。*qSSC2*和*qSSC8*是新鉴定的2个主效QTL簇。后续我们将进一步对2个新的主效QTL簇进行遗传解析, 以期精细定位相关QTL, 并阐述相关的基因功能与生理机制。

不同等位基因间的互作效应对表型值的影响称为上位性互作效应。上位性互作效应的类型主要有3种, 即主效QTL间、主效QTL与非QTL位点间及2个非主效QTL间的互作。诸多研究表明, 上位性互作在数

量性状遗传体系中具有普遍性, QTL普遍参与互作且互作效应存在于各种位点间(Zhuang et al., 2002; Gao and Zhu, 2007; 江良荣等, 2017)。上位性互作是复杂数量性状遗传的重要组成部分, 也是作物杂种优势的遗传基础和进化的动力(Zhang et al., 2005; 任德勇等, 2010; 商连光等, 2017)。江良荣等(2017)对垩白性状进行QTL分析, 共检测到5对上位性效应QTLs, 上位性互作QTL单一位点贡献率不大, 互作位点较多, 综合贡献率较大, 上位性互作QTL也是稻米垩白形成的一个重要因素。Guo等(2004)利用DH群体检测到9对耐储藏相关的上位性QTLs, 位于第1、2、3和6号染色体的相应染色体区域具有明显的上位性互作效应。Cheng等(2014)利用RILs群体对耐储藏特性进行上位性QTL分析, 共检测到8对耐储藏相关的上位性位点, 其中第1、2和5号染色体上的区域存在明显的上位性作用。Li等(2017)利用DH和CSSL群体检测到9对耐储藏相关的上位性位点, 多个主效QTL参与上位性互作, 上位性位点能引起较大的表型变异。本研究检测到26对上位性互作位点, 分布于1–10和12号染色体上, LOD值和表型贡献率均值分别为13.71和24.75, 加性效应介于–20.45%–17.72%之间; 其中部分上位性位点在主效QTL分析中被检测到, 占上位性互作位点总数的40.00%, 而其它位点在主效QTL分析中未检测到; 位于第1、4、5和7号染色体上的相应染色体区域具有明显的上位性效应, 其中主效QTL *qSS1*和*qSS4*与相应染色体区域的上位性互作效应较强; 而第5和7号染色体的R5M13–RM3476区间和RM5711–RM1135区间的非加性效应位点所在的区域与相关染色体区域存在明显的上位性互作效应。这表明, 上位性互作是调控水稻耐储藏性状的重要遗传组成, 存在多个调控耐储藏特性上位性互作位点, 这些上位性互作存在于加性效应QTL间, 也可存在于加性效应QTL与非加性效应位点间及非加性效应位点间。水稻耐储藏特性不仅由加性效应QTL决定, 还受非等位基因之间的互作或多重互作效应的基因位点影响, 耐储藏特性具有受多基因调控的复杂分子网络机制。

参考文献

- 龚继平, 吴方喜, 吴跃进, 郑家团, 黄庭旭, 王乌齐, 张建福, 谢华安 (2008). 籼稻脂肪酶基因的遗传分析及定位. 中国水稻科学 22, 125–130.

- 贺梅, 张文忠, 宋冬明, 王嘉宇, 谢文孝 (2007). 不同储藏温度及储藏时间对稻米品质的影响. 沈阳农业大学学报 **38**, 472–477.
- 江川, 王金英, 丁红萍, 缪小红 (2000). 影响水稻种子贮藏的因素. 福建稻麦科技 **18**(4), 46–47.
- 江良荣, 黄荣裕, 黄育民, 王侯聪, 郑景生 (2017). 稻米垩白性状的QTL检测、上位性及环境效应分析. 分子植物育种 **15**, 1385–1394.
- 李茂柏, 王慧, 朴钟泽, 沈国辉, 温广月 (2010). 杂草稻人工老化和耐储藏特性的初步研究. 作物杂志 (5), 30–33.
- 李清华, 郑苹立, 吴方喜, 林玲娜, 王乌齐 (2009). 优质耐储藏水稻的初步研究和探讨. 中国农学通报 **25**(17), 47–51.
- 柳武革, 王丰, 刘振荣, 廖亦龙, 李金华 (2006). 水稻耐储藏特性研究进展. 生物技术通报 (增刊), 50–52, 62.
- 刘喜, 林秋云, 孙爱玲, 曹鹏辉, 姜一梅, 陈亮明, 江玲, 万建民 (2015). 水稻种子耐贮性QTL *qSS-9*的精细定位. 南京农业大学学报 **38**, 877–882.
- 任德勇, 何光华, 凌英华, 桑贤春, 杨正林, 赵芳明 (2010). 基于单片段代换系的水稻穗长QTL加性及其上位性效应. 植物学报 **45**, 662–669.
- 任淦, 彭敏, 唐为江, 徐才国, 邢永忠 (2005). 水稻种子衰老相关基因定位. 作物学报 **31**, 183–187.
- 商连光, 高振宇, 钱前 (2017). 作物杂种优势遗传基础的研究进展. 植物学报 **52**, 10–18.
- 沈圣泉, 庄杰云, 王淑珍, 杨国花, 夏英武 (2005). 水稻种子耐贮藏性QTL主效应和上位性效应分析. 分子植物育种 **3**, 323–328.
- 吴方喜, 朱永生, 谢鸿光, 张建福, 谢华安 (2010). 中国水稻微核心种质的耐储藏特性初步研究. 中国粮油学报 **25**(10), 124–128.
- 吴贻开, 陈文杰, 李清华, 李清华, 郑向华 (2000). 相对湿度对水稻种子贮藏寿命的影响. 福建农业科技 (4), 6–7.
- 吴跃进, 卢义宣, 吴敬德, 余增亮, 张瑛, 童继平, 郑乐娅, 余德红 (2004). 耐储藏专用型水稻选育及相关技术研究. 中国稻米 (3), 6–7.
- 吴跃进, 吴先山, 沈宗海, 张瑛, 吴敬德, 卢义宣, 余增亮 (2005). 水稻耐储藏种质创新及相关技术研究. 粮食储藏 **34**, 17–20.
- 许惠滨, 江敏榕, 连玲, 朱永生, 蒋家焕, 谢鸿光, 谢华安, 张建福 (2017). 稻谷耐储性研究进展. 福建农业科技 (11), 41–44.
- 许惠滨, 魏毅东, 连玲, 朱永生, 谢华安, 王宗华, 张建福 (2013). 水稻种子人工老化与自然老化的分析比较. 分子植物育种 **11**, 552–556.
- 余丽琴, 熊玉珍, 黎二妹, 饶淑芳 (2008). 水稻耐贮藏种质资源的筛选. 江西农业学报 **20**(4), 17–19.
- 曾大力, 钱前, 国广泰史, 滕胜, 藤本宽 (2002). 稻谷储藏特性及其与籼粳特性的关系研究. 作物学报 **28**, 551–554.
- 张安鹏, 钱前, 高振宇 (2018). 水稻种子活力的研究进展. 中国水稻科学 **32**, 296–303.
- 张文明, 倪安丽, 王昌初 (1998). 杂交水稻种子活力的研究. 种子 (2), 7–10.
- 张瑛, 滕斌, 吴敬德, 吴跃进, 宣红, 朱学桂 (2010). 水稻种子高温高湿人工加速老化试验方法研究. 中国粮油学报 **25**(10), 8–12.
- 张玉兰, 汪晓峰, 景新明, 林坚 (2005). 水稻种子含水量及其对贮藏寿命的影响. 中国农业科学 **38**, 1480–1486.
- 周玉亮, 刘春保, 潘招远, 谭斌, 曾瑞珍 (2016). 水稻种子休眠的QTL定位研究进展. 中国科技论文 **11**, 2837–2844.
- 朱军 (1997). 遗传模型分析方法. 北京: 中国农业出版社. pp. 240–292.
- Cai HW, Morishima H (2000). Genomic regions affecting seed shattering and seed dormancy in rice. *Theor Appl Genet* **100**, 840–846.
- Cheng JP, Wang L, Du WL, Lai YY, Huang X, Wang ZF, Zhang HS (2014). Dynamic quantitative trait locus analysis of seed dormancy at three development stages in rice. *Mol Breeding* **34**, 501–510.
- Dong XY, Fan SX, Liu J, Wang Q, Li MR, Jiang X, Liu ZY, Yin YC, Wang JY (2017). Identification of QTLs for seed storability in rice under natural aging conditions using two RILs with the same parent Shennong 265. *J Integr Agr* **16**, 1084–1092.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* **19**, 11–15.
- Gao YM, Zhu J (2007). Mapping QTLs with digenic epistasis under multiple environments and predicting heterosis based on QTL effects. *Theor Appl Genet* **115**, 325–333.
- Gu XY, Kianian SF, Foley ME (2004). Multiple loci and epistases control genetic variation for seed dormancy in weedy rice (*Oryza sativa*). *Genetics* **166**, 1503–1516.
- Guo LB, Zhu LH, Xu YB, Zeng DL, Wu P, Qian Q (2004). QTL analysis of seed dormancy in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* **140**, 155–162.
- Hang NT, Lin QY, Liu LL, Liu X, Liu SJ, Wang WY, Li LF, He NQ, Liu Z, Jiang L, Wan JM (2015). Mapping QTLs related to rice seed storability under natural and artificial

- aging storage conditions. *Euphytica* **203**, 673–681.
- Jiang WZ, Lee J, Jin TM, Qiao YL, Piao RH, Jang SM, Woo MO, Kwon SW, Liu XH, Pan HY, Du XL, Koh HJ** (2011). Identification of QTLs for seed germination capability after various storage periods using two RIL populations in rice. *Mol Cells* **31**, 385–392.
- Jing W, Jiang L, Zhang WW, Zhai HQ, Wan JM** (2008). Mapping QTL for seed dormancy in weedy rice. *Acta Agron Sin* **34**, 737–742.
- Li CS, Shao GS, Wang L, Wang ZF, Mao YJ, Wang XQ, Zhang XH, Liu ST, Zhang HS** (2017). QTL Identification and fine mapping for seed storability in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* **213**, 127.
- Li LF, Lin QY, Liu SJ, Liu X, Wang WY, Hang NT, Liu F, Zhao ZG, Jiang L, Wan JM** (2012). Identification of quantitative trait loci for seed storability in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed* **131**, 739–743.
- Lu BY, Xie K, Yang CY, Wang SF, Liu X, Zhang L, Jiang L, Wan JM** (2011). Mapping two major effect grain dormancy QTL in rice. *Mol Breeding* **28**, 453–462.
- McCouch SR, Cho YG, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Morishima H, Kinoshita T** (1997). Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl* **14**, 11–13.
- Miura K, Lin Y, Yano M, Nagamine T** (2002). Mapping quantitative trait loci controlling seed longevity in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* **104**, 981–986.
- Sasaki K, Fukuta K, Sato T** (2005). Mapping of quantitative trait loci controlling seed longevity of rice (*Oryza sativa* L.) after various periods of seed storage. *Plant Breed* **124**, 361–366.
- Shigemune A, Miura K, Sasahara H, Goto A, Yoshida T** (2008). Role of maternal tissues in *qLG-9* control of seed longevity in rice (*Oryza sativa* L.). *Breed Sci* **58**, 1–5.
- Wan JM, Cao YJ, Wang CM, Ikehashi H** (2005). Quantitative trait loci associated with seed dormancy in rice. *Crop Sci* **45**, 712–716.
- Wang JK, Li HH, Zhang LY** (2014). QTL Ici Mapping V4.0 [2014]. <http://www.isbreeding.net>.
- Xie K, Jiang L, Lu BY, Yang CY, Li LF, Liu X, Zhang L, Zhao ZG, Wan JM** (2011). Identification of QTLs for seed dormancy in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breed* **130**, 328–332.
- Xue Y, Zhang SQ, Yao QH, Peng RH, Xiong AS, Li X, Zhu WM, Zhu YY, Zha DS** (2008). Identification of quantitative trait loci for seed storability in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* **164**, 739–744.
- Zeng DL, Guo LB, Xu YB, Yasukumi K, Zhu LH, Qian Q** (2006). QTL analysis of seed storability in rice. *Plant Breed* **125**, 57–60.
- Zhang ZH, Yu SB, Yu T, Huang Z, Zhu YG** (2005). Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling-vigor using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crop Res* **91**, 161–170.
- Zhuang JY, Fan YY, Rao ZM, Wu JL, Xia YW, Zheng KL** (2002). Analysis on additive effects and additive-by-additive epistatic effects of QTLs for yield traits in a recombinant inbred line population of rice. *Theor Appl Genet* **105**, 1137–1145.

Detection and Analysis of Dynamic Quantitative Trait Loci at Three Years for Seed Storability in Rice (*Oryza sativa*)

Jin Liu^{1,2}, Xiaoyun Yao^{1,2}, Liqin Yu¹, Hui Li¹, Huiying Zhou¹, Jiayu Wang^{2*}, Maomao Li^{1*}

¹Nanchang Sub-center, National Rice Improvement Center/National Engineering Laboratory for Rice (Nanchang)/Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China; ²Rice Research Institute, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, china

Abstract Seed storability is one of the most important special agronomic traits of grain crops, which has great significance for seed production and germplasm conservation. In this study, we obtained a set of recombinant inbred lines (RILs), containing 180 lines and 223 molecular markers for a genetic map, derived from the cross between Longdao5 (LD5) and Zhongyouzao8 (ZYZ8). The set was used to identify quantitative trait loci (QTL) for seed storability traits under natural aging (higher temperature and humidity) at 1, 2 and 3 years after rice harvest. Then the germination rates of seeds at different storage stages were compared and identified by dynamic QTLs. The germination rate of the parents (the germination rate of LD5 was significantly lower than ZYZ8 under different storage stages) and RILs population was significant different under different storage stages, with a significant correlation of germination rate under different storage stages. A total of 17 QTLs were detected to control seed storability; 5, 4 and 3 QTLs were detected for 3 natural aging stages; and 5 dynamic conditional QTLs were detected; these QTLs explained 5.60% to 32.76% of the phenotypic variation, with an additive effect of -16.78% to 16.95%. Among these QTLs, 4 major clusters *qSSC2*, *qSSC6*, *qSSC7* and *qSSC8* were stably and reliably detected under 3 environments; the remaining QTLs were expressed in a single environment. *qSSC6* reduced the germination rate. We detected 26 pairs of epistatic interaction sites. The major QTLs *qSS1* and *qSS4* were also involved in the epistasis effect, so epistatic interaction was an important genetic component for seed storability. These results will provide information for genetic analysis and related QTL fine mapping and will also enrich the gene resources for molecular marker-assisted selection of seed storability.

Key words rice, natural aging, seed storability, QTL analysis, epistasis interaction

Liu J, Yao XY, Yu LQ, Li H, Zhou HY, Wang JY, Li MM (2019). Detection and analysis of dynamic quantitative trait loci at three years for seed storability in rice (*Oryza sativa*). *Chin Bull Bot* **54**, 464–473.

* Authors for correspondence. E-mail: ricewjy@126.com; Lmm3056@163.com

(责任编辑: 朱亚娜)