

· 研究报告 ·

水稻茎秆细胞壁相关组分含量QTL定位及 候选基因分析

贾绮玮^{1†}, 钟芊芊^{1†}, 顾育嘉¹, 陆天麒¹, 李玮¹, 杨帅¹, 朱超宇¹
胡程翔¹, 李三峰², 王跃星^{2*}, 饶玉春^{1*}

¹浙江师范大学生命科学学院, 金华 321004; ²中国水稻研究所, 水稻生物育种全国重点实验室, 杭州 310006

摘要 水稻(*Oryza sativa*)倒伏是制约其生产的主要因素之一, 而茎秆的机械强度影响水稻抗倒伏能力, 且与茎秆细胞壁相关组分含量密切相关。通过调控水稻茎秆细胞壁相关组分含量提高水稻抗倒伏能力, 是提高水稻产量与品质的有效途径。该研究用籼稻品种华占(*O. sativa* subsp. *indica* cv. 'HZ')和粳稻品种热研2号(*O. sativa* subsp. *japonica* cv. 'Nekken2')杂交获得F₁代, 经连续多代自交得到120个重组自交系(RILs)群体, 并以此构建遗传连锁图谱。基于构建的高密度遗传图谱, 对水稻茎秆细胞壁中纤维素、半纤维素和木质素含量相关QTLs进行定位, 结果共检测到4个与纤维素含量相关的QTLs、12个与半纤维素含量相关的QTLs和8个与木质素含量相关的QTLs。对检测到的QTLs区间进行候选基因分析, 共筛选到13个候选基因。利用qRT-PCR检测候选基因的表达水平, 结果表明除LOC_Os02g58590和LOC_Os12g41720外, 其余候选基因的表达量在双亲间均存在显著差异。研究结果为挖掘调控水稻茎秆机械强度的基因, 进而筛选和培育抗倒伏能力强的水稻品种奠定了重要基础。

关键词 水稻, 茎秆机械强度, QTL定位, 候选基因, 抗倒伏

贾绮玮, 钟芊芊, 顾育嘉, 陆天麒, 李玮, 杨帅, 朱超宇, 胡程翔, 李三峰, 王跃星, 饶玉春 (2023). 水稻茎秆细胞壁相关组分含量QTL定位及候选基因分析. 植物学报 58, 882–892.

水稻(*Oryza sativa*)是全球三大粮食作物之一, 也是我国第一大粮食作物, 其产量直接影响我国的粮食安全(辛良杰和李秀彬, 2009)。因此, 提高水稻产量已成为研究者关注的焦点。倒伏是制约水稻生产最主要的因素之一, 其多发生在谷粒灌浆后期(王士强等, 2011)。由于此时贮藏在茎秆和叶鞘中的营养物质向籽粒转移, 造成茎秆机械强度降低而发生倒伏(周雷, 2018), 进而影响水稻的产量及品质。水稻倒伏后, 植株间通风及透光条件不好, 植株接触田间的部分湿度较高, 易发生霉变及病菌感染(丰安徽, 2017); 同时, 茎秆的输导系统被破坏, 从而极大地影响植株中营养物质及光合产物的运输, 产量随之下降(苏仕华等, 2008; 赵新勇等, 2018)。自20世纪60年代以来, “绿色革命”中的矮化育种在提高水稻产量及解决倒

伏问题上发挥了关键作用(杨波和杨文钰, 2011; 王晓飞等, 2022)。但由于传统的矮秆品种自身生物量积累较少, 水稻产量很难进一步提高。有学者提出通过增加水稻植株高度来提高水稻生物量进而提升产量(Peng et al., 1999)。研究表明, 水稻倒伏主要与茎秆机械强度及植株高度有关(陈桂华等, 2016), 且抗倒伏能力与茎秆机械强度(包括茎秆粗度和茎秆壁厚度等)成正比, 与植株高度成反比(李丰成, 2015)。随着植株高度的增加, 水稻倒伏的可能性增大, 因此提高水稻茎秆机械强度从而提高水稻抗倒伏能力成为当前水稻生产的迫切需求。

水稻茎秆机械强度与茎秆形态及细胞壁组分含量密切相关(Ishimaru et al., 2008)。目前, 国内外学者利用不同的遗传群体分别以各种水稻茎秆性状为

收稿日期: 2023-07-28; 接受日期: 2023-11-02

基金项目: 浙江省自然科学基金重点项目(No.LZ23C130003)和浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划(No.2023R404040, No.2023R404041)

† 共同第一作者

* 通讯作者。E-mail: wangyuexing@caas.cn; ryc@zjnu.cn

指标进行QTL定位。Kashiwagi等(2008)利用98个回交自交系(BIL)群体材料,定位到5个与茎秆直径相关的QTLs,分布在第1、7、8和12号染色体上,对表型的解释率为79%;同时,他们发现聚合多个茎秆直径相关的QTLs可能会提高水稻茎秆机械强度及植株的抗倒伏性。肖应辉等(2005)利用Nipponbare(粳)/Kasalath(籼)及Nipponbare回交重组自交系群体,检测到第6号染色体上的 $qCT-6$ 对茎秆粗度变异的解释率为25%,第1号染色体上的 $qLI-1$ 对倒伏指数的解释率为18%。杨德卫等(2009)利用染色体片段置换系(chromosome segment substitution line, CSSL)分析了水稻穗颈长的遗传效应,在第2、3、7、8、9和11号染色体上共检测到8个与水稻穗颈长相关的QTLs。代建秀等(2017)以粗茎R404和茎秆较细的日本晴杂交获得的152个F₂群体为材料,定位到7个与茎粗、茎壁厚和穗颈部性状相关的QTLs。Wang等(2011)利用93-11和日本晴杂交构建的重组自交系(recombinant inbred line, RIL)对14个农艺性状进行检测,得到2个与茎粗相关的QTLs。穆平等(2004)以粳型早稻IRAT109和粳型水稻越富杂交得到的116个DH群体为材料,在水、旱2种栽培条件下,共检测到8个与茎粗性状相关的QTLs,7个与植株高度相关的QTLs,4个与茎秆机械强度相关的QTLs,其中在旱田条件下检测到的6个QTLs贡献率大于30%。目前,虽然已定位到较多与茎秆机械强度相关的QTLs,但大多是以茎秆形态结构为量化指标进行检测,而对与茎秆机械强度密切相关的茎秆细胞壁组分含量的QTLs挖掘仍较缺乏,可供育种利用的抗倒伏QTL位点很少。

本研究以华占(HZ)和热研2号(Nekken2)以及120个重组自交系群体为实验材料,以茎秆细胞壁相关组分纤维素、半纤维素和木质素含量为量化指标进行QTL定位分析,筛选出调控水稻茎秆机械强度的候选基因,以期阐明茎秆机械强度遗传调控机理,进而为水稻抗倒伏育种提供优异的种质资源。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验以粳稻热研2号(*Oryza sativa* L. subsp. *japonica* cv. 'Nekken2')为母本、籼稻华占(*O. sativa* L. subsp. *indica* cv. 'HZ')为父本进行杂交产生F₁代,采用单粒传代套袋自交的方法,经12代得到表型和基因

型均稳定遗传的120个重组自交系(RILs)群体。

1.2 实验方法

1.2.1 种植与管理

在F₁₂代120个稳定遗传的株系中各取80粒种子,依次用70%乙醇和10%次氯酸钠对种子表面进行消毒处理,整个过程约20分钟,消毒后用去离子水冲洗数次以保证种子表面无消毒液残留。催芽时,先将种子浸没在水中48小时,期间换1次水,然后用湿毛巾包裹种子,置于37°C恒温培养箱中催芽48小时,挑取露白一致的种子在水稻育秧田进行播种。1个月后,各株系分别挑取24株长势一致的秧苗移栽到常规水稻田中,每株系4行6列,进行常规田间管理,及时除草和除虫等。

1.2.2 茎秆细胞壁相关组分测定

参考Van Soest等(1991)的方法测定水稻茎秆细胞壁中纤维素、半纤维素和木质素含量。在水稻抽穗期取倒2节间茎秆,烘干后备用。其中用于测定半纤维素和木质素含量的样品烘干后磨成粉末,过40目筛。

1.2.3 遗传图谱构建

利用华占/热研2号杂交产生的F₁代,通过单粒传代法连续套袋自交至12代,获得120个RILs群体。提取并纯化双亲及120个RILs的DNA后进行基因测序。整理重组自交系的测序数据,获得均匀分布在12条染色体上的4 858个标记,以此构建遗传图谱(金佳怡等, 2023)。

1.2.4 QTL定位

结合实验室前期已构建的高密度SNP分子标记遗传连锁图谱及已测得的细胞壁相关组分含量数据,采用复合区间作图法,利用Mapmaker/QTL1.1B软件对茎秆细胞壁中纤维素、半纤维素和木质素含量数据进行QTL定位分析。设置LOD (likelihood of odd)阈值为2.5,若标记区间的LOD \geq 2.5,则认为该区间可能存在与所测性状相关的QTL位点。QTL命名方法遵循McCouch等(1997)的原则。

1.2.5 基因表达定量分析

取双亲成熟期叶片,利用TRIzol总RNA提取试剂盒(Invitrogen, 美国)提取RNA,再按照逆转录试剂盒ReverTra Ace qRT-PCR Kit (Toyobo, 上海)使用说

说明书将RNA反转录成cDNA。结合QTL定位结果,在中国水稻基因组注释数据库(<http://rice.plantbiology.msu.edu/>)中筛查可能与茎秆细胞壁相关成分有关的基因,用实时荧光定量PCR (qRT-PCR)法检测候选基因在双亲中的表达量(魏和平等, 2022)。相关引物序列见表1。采用7500 Real-time PCR体系(ABI, 上海),以OsActin为内参基因,每个反应做3个平行复孔,实验重复3次。qRT-PCR反应体系:总体积10 μL , 1 μL cDNA模板, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 正、反向引物各0.4 μL , 5 μL SYBR qPCR Mix (Toyobo), 加ddH₂O补足体积至10 μL 。qRT-PCR扩增程序: 95°C15秒, 60°C15秒, 72°C45秒, 38个循环。

1.2.6 数据处理

采用Microsoft Excel和SPSS 26.0软件对实验数据进行统计分析。用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法对基因表达量进行相对定

量分析(Livak and Schmittgen, 2001)。采用t双尾检验法比较不同数据在0.01和0.05水平上的差异显著性。

2 结果与讨论

2.1 双亲与RILs群体的表型

双亲华占和热研2号分蘖盛期表型如图1所示。对双亲和RILs群体抽穗期茎秆细胞壁相关组分含量进行测定,结果表明,2年数据均显示热研2号3种细胞壁相关组分的含量均低于华占,说明华占细胞壁组分整体含量高于热研2号,机械强度更高。在茎秆细胞壁相关3种组分中,重组自交系的纤维素、半纤维素和木质素含量数据均呈连续的正态分布且范围广泛,存在超亲个体(图2),表明水稻茎秆细胞壁相关组分含量属于多基因控制的数量性状,符合QTL区间作图需要。

表1 qRT-PCR所用引物序列

Table 1 Primer sequences for qRT-PCR

Primer name	Sequence (5'-3')	Tm (°C)	Length (bp)	Size (bp)
LOC_Os01g04930-F-qrt	GAGGGGGAAGTGGTTCATGG	60.00	20	164
LOC_Os01g04930-R-qrt	CGAGGTCCCTGAAGTGGTTC	60.00	20	
LOC_Os01g08440-F-qrt	AGCAACGACCTCTTCAAGCA	59.90	20	178
LOC_Os01g08440-R-qrt	TCCTCAGCACCCACAAGAAC	59.90	20	
LOC_Os01g09850-F-qrt	CTCCTCCTACCAGCAACGTG	60.10	20	180
LOC_Os01g09850-R-qrt	GACCCAAGAAGTCCCTGGTG	60.00	20	
LOC_Os02g56460-F-qrt	CTGCTGGAGCGACTACGAAT	59.90	20	182
LOC_Os02g56460-R-qrt	CGTGGTTGGTGTGAAGTTG	60.00	20	
LOC_Os02g58480-F-qrt	ACCGTCGGACTACCTCAAGA	60.00	20	187
LOC_Os02g58480-R-qrt	GTCGGTCAGCTTGAAGACA	60.00	20	
LOC_Os02g58590-F-qrt	GCCTCGCACAAAGCAGAAAAA	60.00	20	183
LOC_Os02g58590-R-qrt	AGGTCTGCACGCTCCTTTTT	60.00	20	
LOC_Os04g52280-F-qrt	GGATGAGGGTGACGGTGATC	59.90	20	179
LOC_Os04g52280-R-qrt	TGCCAGGTAAGAGTGCATGG	60.00	20	
LOC_Os08g14760-F-qrt	AATACCAGTCGCCTTCGTGG	60.10	20	186
LOC_Os08g14760-R-qrt	AGATGTTGCAGCTGCTTCCT	60.00	20	
LOC_Os11g04400-F-qrt	CAGTGCACCCATGGAGGATT	60.00	20	183
LOC_Os11g04400-R-qrt	TTCTCCAACATCTCGCCGAC	60.10	20	
LOC_Os12g29300-F-qrt	GTCTTCTTCGACTGCACCGA	60.00	20	155
LOC_Os12g29300-R-qrt	TCTTCTCCGAGTAGGCGACA	60.00	20	
LOC_Os12g36890-F-qrt	CTTCACCTCCGTGTTCTCCTCC	60.00	20	162
LOC_Os12g36890-R-qrt	CCGACCCTTGATCTCGAG	59.90	20	
LOC_Os12g41720-F-qrt	CAACTACGTCCGCATCCAGG	60.80	20	163
LOC_Os12g41720-R-qrt	CCGGTTTGACTTCTCCGACA	60.00	20	
LOC_Os12g41780-F-qrt	TTCACTGGCATCCCGAAGTC	60.00	20	187
LOC_Os12g41780-R-qrt	CAATGCCTGATCTTCGACG	60.00	20	

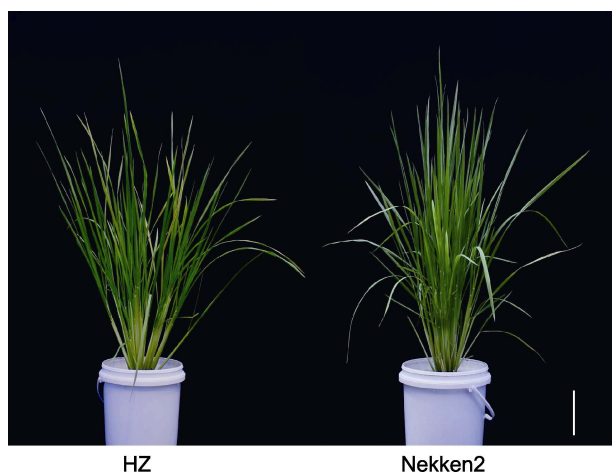


图1 父本华占与母本热研2号的表型
Bar=10 cm

Figure 1 Phenotype of the male parent HZ and the female parent Nekken2
Bar=10 cm

2.2 茎秆细胞壁相关组分含量QTL定位分析

利用RILs群体构建高密度SNP遗传连锁图谱,对茎秆细胞壁中纤维素、半纤维素及木质素含量进行QTL定位,以 $LOD=2.5$ 作为QTL存在与否的阈值。结果共检测到4个与纤维素含量相关的QTLs、12个与半纤维素含量相关的QTLs和8个与木质素含量相关的QTLs。其中,与纤维素含量相关的QTLs分布于第1、2、4和12号染色体上,与半纤维素含量相关的QTLs分布于第1、3、4、8和12号染色体上,与木质素含量相关的QTLs分布于第2、4、5、11和12号染色体上。在纤维素含量性状中,LOD值最大的QTL位于第12号染色体,遗传距离为109.35–117.95 cM,LOD值为3.94;半纤维素含量性状中,LOD值最大的QTL位于第12号染色体,遗传距离为96.13–117.95 cM,LOD值为5.52;木质素含量性状中,LOD值最大的QTL位

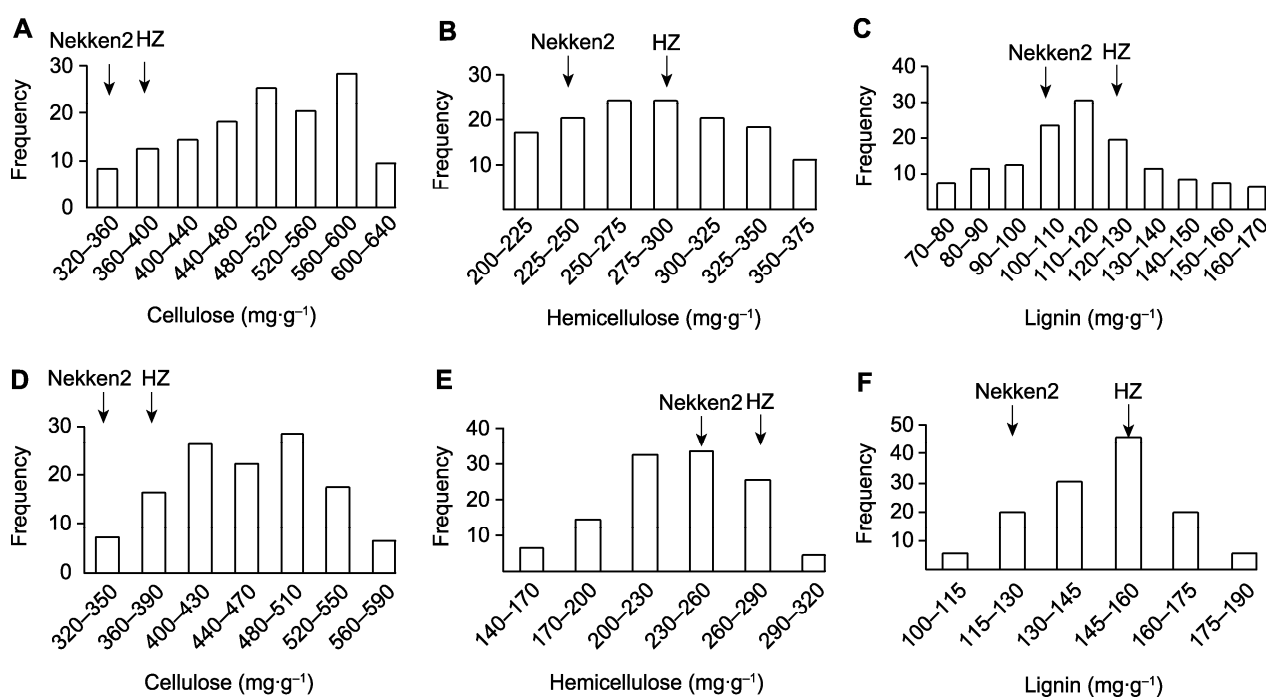


图2 水稻重组自交系群体茎秆细胞壁相关组分含量

(A) 2020年测定的纤维素含量; (B) 2020年测定的半纤维素含量; (C) 2020年测定的木质素含量; (D) 2021年测定的纤维素含量; (E) 2021年测定的半纤维素含量; (F) 2021年测定的木质素含量

Figure 2 The contents of stem cell wall related components in rice recombinant inbred line population

(A) The content of cellulose components in 2020; (B) The content of hemicellulose components in 2020; (C) The content of lignin components in 2020; (D) The content of cellulose components in 2021; (E) The content of hemicellulose components in 2021; (F) The content of lignin components in 2021

于第11号染色体, 遗传距离为6.21–23.17 cM, LOD值为3.46。

在以上检测到的水稻茎秆细胞壁组分含量相关QTLs区间中, 纤维素和半纤维素含量相关的QTLs在第1和12号染色体上有重复区间, 遗传距离分别为9.39–12.15 cM和109.35–117.95 cM; 纤维素和木质素含量相关的QTLs在第2号染色体上有重复区间, 遗传距离为151.67–152.60 cM; 半纤维素和木质素含量相关的QTLs在第12号染色体上有重复区间, 遗传距离分别为104.25–105.66 cM和117.60–117.95 cM (表2; 图3)。

2.3 茎秆细胞壁相关组分候选基因分析

根据茎秆细胞壁组分含量相关QTLs定位区间分布, 查阅水稻基因组注释项目网站(<http://rice.plantbio->

www.ricedata.cn/gene/)和国家水稻数据中心基因库(<http://www.ricedata.cn/gene/>)的基因注释信息, 并结合前人研究成果, 我们初步筛选出与茎秆机械强度相关的13个候选基因(表3)。

通过对13个候选基因在成熟期双亲间的表达量进行qRT-PCR检测, 结果表明, 除LOC_Os02g-58590和LOC_Os12g41720在双亲间的表达量无显著差异外, LOC_Os01g04930、LOC_Os01g08440、LOC_Os01g09850、LOC_Os02g58480、LOG_Os04g52280、LOC_Os08g14760和LOC_Os12g2-9300在父本华占中的表达量均显著高于母本热研2号; LOC_Os02g56460在母本热研2号中的表达量显著高于父本华占; LOC_Os11g04400、LOC_Os12g-36890和LOC_Os12g41780在母本热研2号中的表达量极显著高于父本华占, 且这3个基因均位于LOD

表2 水稻重组自交系群体茎秆细胞壁相关组分含量的QTL分析

Table 2 QTL analysis of stem cell wall related components in rice recombinant inbred line population

Year	Cell wall component	QTL	Chromosome	Physical distance (bp)	Position of support (cM)	Likelihood of odd (LOD)
2020	Cellulose	<i>qCel202</i>	2	35381094–35599368	151.67–152.60	3.48
		<i>qCel204</i>	4	29276416–29507404	125.50–126.49	2.82
	Hemicellulose	<i>qHem201</i>	1	2070966–6568005	8.88–28.16	5.02
		<i>qHem203</i>	3	29806859–30321190	127.77–129.99	2.53
		<i>qHem208</i>	8	4587694–8917564	19.67–38.23	3.48
		<i>qHem2012-1</i>	12	15484322–15779533	66.38–67.64	2.94
		<i>qHem2012-2</i>	12	22426037–27516985	96.13–117.95	5.52
	Lignin	<i>qLig202</i>	2	33583953–35902152	143.97–153.90	3.03
		<i>qLig204-1</i>	4	27558155–28380156	118.13–121.66	3.19
		<i>qLig204-2</i>	4	31066903–31212801	133.18–133.80	3.25
		<i>qLig2011</i>	11	1449031–5404218	6.21–23.17	3.46
		<i>qLig2012-1</i>	12	24319945–24511904	104.25–105.66	3.45
		<i>qLig2012-2</i>	12	27434341–27516085	117.60–117.95	2.60
2021	Cellulose	<i>qCel211</i>	1	2192312–2834929	9.39–12.15	3.34
		<i>qCel2112</i>	12	25510919–27516085	109.35–117.95	3.94
	Hemicellulose	<i>qHem211</i>	1	5699636–6152981	24.43–26.37	3.34
		<i>qHem213-1</i>	3	8841716–8989609	37.90–38.53	2.55
		<i>qHem213-2</i>	3	20915784–21229182	89.66–91.00	3.07
		<i>qHem214</i>	4	2647701–5256057	11.34–22.53	3.81
		<i>qHem218</i>	8	1430252–1451568	6.13–6.22	2.50
		<i>qHem2112-1</i>	12	7276559–7573232	31.19–32.46	2.55
		<i>qHem2112-2</i>	12	17268215–18172857	74.02–77.90	3.40
	Lignin	<i>qLig215-1</i>	5	327464–853216	1.40–3.65	2.90
		<i>qLig215-2</i>	5	25519701–27453301	109.39–117.68	3.35

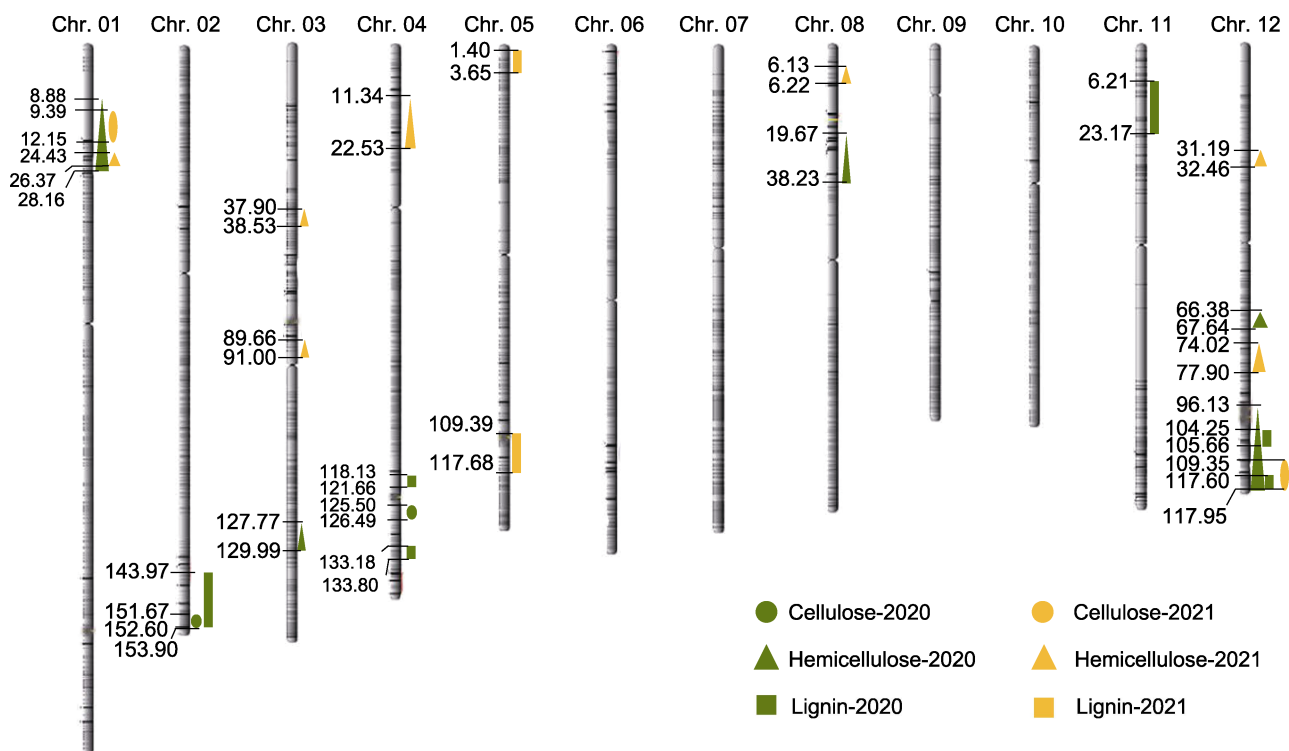


图3 水稻重组自交系茎秆细胞壁相关组分含量的QTL定位

Figure 3 QTL mapping of stem cell wall related components in rice recombinant inbred lines

表3 水稻茎秆细胞壁相关组分含量候选基因及其功能

Table 3 Rice stem cell wall related components candidate genes and their function

Gene ID	Chromosome	Function	Cloned or not
<i>LOC_Os01g04930</i>	1	MYB transcription factor	Not cloned
<i>LOC_Os01g08440</i>	1	UDP glucoside transferase	Not cloned
<i>LOC_Os01g09850</i>	1	C2H2-type zinc finger transcription factor	Cloned (Huang et al., 2018)
<i>LOC_Os02g56460</i>	2	Cinnamyl CoA reductase	Cloned (Kawasaki et al., 2006)
<i>LOC_Os02g58480</i>	2	Sucrose synthase	Not cloned
<i>LOC_Os02g58590</i>	2	N-acetylglucosaminyltransferase I	Cloned (Fanata et al., 2013)
<i>LOC_Os04g52280</i>	4	Cinnamyl alcohol dehydrogenase	Cloned (Li et al., 2009b)
<i>LOC_Os08g14760</i>	8	4-coumarate:coenzyme A ligase	Cloned (Gu et al., 2011)
<i>LOC_Os11g04400</i>	11	GRAS family transcription factor	Not cloned
<i>LOC_Os12g29300</i>	12	CESA10-cellulase synthesis	Not cloned
<i>LOC_Os12g36890</i>	12	Cellulose synthase-like	Cloned (Hu et al., 2010)
<i>LOC_Os12g41720</i>	12	Patatin-related phospholipase A	Not cloned
<i>LOC_Os12g41780</i>	12	Glycosyltransferase	Not cloned

值超过3的区间内, 最大LOD值为5.52 (图4)。综上, 本研究筛选出11个基因在双亲间的表达量存在差异, 说明它们与茎秆机械强度及茎秆形态性状存在相关性, 可能参与水稻茎秆细胞壁相关组分含量的调控。

2.4 讨论

水稻倒伏会导致植株感染病菌及霉变, 同时阻碍光合产物的运输, 进而降低结实率, 是制约水稻生产的主要因素之一。水稻茎秆的机械强度直接决定其能否支撑起自身重量, 是水稻倒伏的重要影响因素(刘畅和

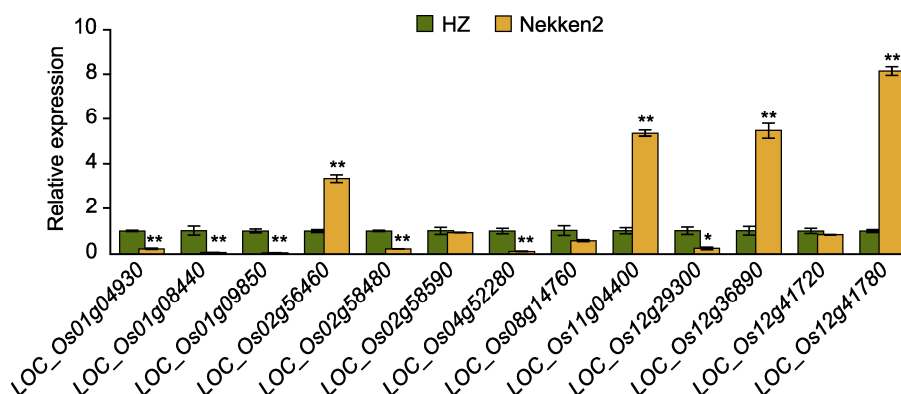


图4 双亲中候选基因的表达

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Figure 4 Expression of candidate genes in both parents

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

李来庚, 2016)。挖掘水稻茎秆细胞壁组分含量相关 QTLs 与候选基因, 是增强水稻茎秆机械强度进而提高水稻产量和品质的有效方法。本研究以水稻茎秆细胞壁纤维素、半纤维素及木质素含量作为 QTL 检测指标, 对利用籼稻华占与粳稻热研2号构建的 RILs 群体进行 QTL 定位, 检测到4个纤维素含量、12个半纤维素含量及8个木质素含量相关的 QTLs, 分布于1、2、3、4、5、8、11和12号染色体上。

已有研究表明, 水稻茎秆的机械强度受多基因调控。结合定位的 QTLs 区间, 我们筛选出13个候选基因。*LOC_Os01g04930* 编码 MYB 家族转录因子, 是调控水稻细胞建成与生长发育的核心因子 (Rosinski and Atchley, 1998)。*LOC_Os12g41780* 编码糖基转移酶, 该酶参与水稻次生细胞壁(如木聚糖)的生物合成, 并通过糖基化反应稳定各种次生代谢产物, 从而影响水稻的生长发育 (Zhang et al., 2014)。*LOC_Os08g09715* 调控水稻 F-box 蛋白的结构域, F-box 蛋白参与 DELLA 蛋白的降解, 影响 GA 信号转导, 从而调控水稻的生长发育 (吴丹等, 2015)。此外, 同样影响该过程的 *LOC_Os11g04400* 属于 GRAS 家族转录因子, 调控 DELLA 蛋白含量 (罗兵等, 2018; 刘子玮, 2018)。*LOC_Os01g09850* 编码 C2H2 型锌指蛋白转录因子, 负责调控水稻茎秆细胞壁相关组分的基因表达 (Huang et al., 2018)。*LOC_Os02g58590* 编码 N-乙酰葡萄糖胺酰基转移酶, 参与水稻脂多糖的合成 (罗兵等, 2018)。*LOC_Os01g08440* 编码 UDP 葡萄糖

苷转移酶, 是水稻纤维素合成途径的关键酶 (Song et al., 2011)。*LOC_Os02g58480* 编码蔗糖合成酶, 纤维素的合成以 UDP-葡萄糖为底物, 蔗糖合成酶催化蔗糖逆转化为 UDP-葡萄糖, 从而促进水稻细胞壁中纤维素的合成, 且蔗糖合成酶的表达模式与纤维素合成酶有很大的相似性, 是水稻纤维素合成中的必需成分 (Haigler et al., 2001; Paredes et al., 2006)。*LOC_Os12g29300* 编码 CESA10-纤维素合成酶, 植物初生细胞壁和次生细胞壁中的纤维素合成由含有不同组合类型的 CSCs 控制, CSCs 则由多个 CESA 构成 (Nixon et al., 2016), 因此, CESA10-纤维素合成酶在水稻纤维素的合成和定向沉积过程中发挥重要作用。*LOC_Os12g36890* 编码水稻类纤维素合酶, 是细胞壁生物合成和植株生长的必需酶, 其缺失导致植物茎秆中的纤维素含量降低 (Li et al., 2009a)。*LOC_Os12g41720* 编码糖蛋白相关磷脂酶 A, 过表达该基因导致植株机械强度和纤维素含量降低, 但促进一些纤维素合成酶基因的表达 (Liu et al., 2015)。*LOC_Os02g56460* 编码肉桂酰辅酶 A 还原酶, 该酶是水稻木质素合成途径中第1个关键酶, 催化肉桂酰辅酶 A 硫酯转变成相应的肉桂醛 (白勇等, 2003)。*LOC_Os04g52280* 编码肉桂醇脱氢酶 (卢雯莹等, 2020), 在 NADP 辅酶的作用下将肉桂醛还原成对应的醇, 参与茎秆木质素的生物合成 (胡文冉等, 2019)。*LOC_Os08g14760* 编码 4-香豆酸: 辅酶 A 连接酶, 该酶位于苯丙酸途径与木质素特异合成途径的转折点上, 因此

影响木质素的生物合成(冯春燕, 2010; 罗兵等, 2018)。

本研究检测到与纤维素含量相关的4个QTLs分别位于第1、2、4和12号染色体上。其中, 在第1号染色体上检测到与纤维素含量相关的 $qCel211$, 与鞠晓晨等(2016)定位的茎宽相关位点 $qBCM1$ 、位点 $qFCM1$ 及位点 $qSCM1$ 相邻; 在第4号染色体上29 276 416–29 507 404 bp区间内与纤维素组分含量相关的 $qCel-204$ 位点, 与袁新捷(2021)在第4号染色体29 178 862–29 181 665 bp区间内检测到的调控水稻基部第1节间短轴的位点遗传距离较近, 推测以上区段可能存在影响水稻抗倒伏能力的相关基因, 具有较大的研究价值。与半纤维素含量相关的QTLs位点共12个, 分布于第1、3、4、8和12号染色体上。其中, 第1号染色体上24.43–26.37 cM区间内检测到与半纤维素含量相关的 $qHem211$, 与韩雷锋等(2023)定位的水稻抗折力相关位点 $qFS1$ 位于相同染色体区域, 且遗传距离较近, 表明该区段内很可能存在与水稻抗倒伏能力相关的位点。我们检测到8个与木质素含量相关的QTLs分布于第2、4、5、11和12号染色体上。其中, 在第2号染色体上检测到与木质素含量相关的位点 $qLig202$, 与许作鹏(2017)定位到的腔壁厚度相关位点 $qWTh2j$ 相邻, 推测该区段内可能存在影响水稻茎秆机械强度的细胞壁木质素含量调控基因。在第4号染色体上118.13–121.66 cM区间内与木质素含量相关的 $qLig204-1$ 位点与杨窑龙等(2011)在第4号染色体上定位到的倒2节节间茎粗相关QTL相邻。此外, 在第1号染色体上纤维素含量相关QTL位点 $qCel211$ 与半纤维素含量相关位点 $qHem201$ 的区间存在重叠; 在第2号染色体上纤维素含量相关位点 $qCel202$ 与木质素含量相关位点 $qLig202$ 的区间存在重叠; 在第12号染色体上半纤维素含量相关位点 $qHem2012-2$ 与木质素含量相关位点 $qLig2012-1$ 的区间存在重叠; 且在第12号染色体上纤维素含量相关位点 $qCel2112$ 、半纤维素含量相关位点 $qHem2012-2$ 与木质素含量相关位点 $qLig2012-2$ 的区间存在重叠。由此推测, 这些区间内存在同时调控茎秆细胞壁各种组分含量的多效基因, 可利用这些QTLs进行水稻茎秆机械强度的综合改良, 从而提高水稻的抗倒伏能力。

本研究定位到一些新的QTLs位点。其中, 第1号染色体上遗传距离在8.88–28.16 cM区间内的 $qHem-201$ 与第12号染色体上遗传距离在96.13–117.95 cM

区间内的 $qHem2012-2$, 其LOD值分别为5.02和5.52, 二者LOD值均超过5, 说明这2个区间很可能存在调控水稻茎秆细胞壁半纤维素含量的主效基因。在第12号染色体物理距离为25 510 919–27 516 085 bp区间内定位到1个LOD值达3.94的控制纤维素含量的QTL位点 $qCel2112$, 说明该区间内很可能存在1个与水稻茎秆细胞壁纤维素含量显著相关的QTL, 后续可利用这段QTL进行水稻抗倒伏能力的品种改良。综上, 本研究定位到的QTL位点LOD值较大, 置信度较高, 研究结果为后续育种奠定了重要基础。

本研究利用华占与热研2号构建RILs群体, 定位到24个与水稻茎秆细胞壁组分含量相关的QTLs, 筛选出13个候选基因, 为进一步挖掘水稻茎秆机械强度相关基因奠定了基础。后续我们将深入探究水稻茎秆机械强度多效基因间的复杂调控网络, 为培育抗倒伏能力强的水稻新品种提供更多种质资源, 进而为水稻增产并确保国家粮食安全提供有力支撑。

参考文献

- 白勇, 巩威, 刘天均, 朱玉贤 (2003). 水稻肉桂酰辅酶A还原酶基因的克隆与表达分析. 科学通报 48, 1780–1784.
- 陈桂华, 邓化冰, 张桂莲, 唐文帮, 黄璜 (2016). 水稻茎秆性状与抗倒性的关系及配合力分析. 中国农业科学 49, 407–417.
- 代建秀, 唐子清, 吴春文, 史培康, 韦良艳, 施洁, 黎晨, 罗继景, 蔡中全 (2017). 水稻特异粗茎相关性状QTL的初步定位分析. 分子植物育种 15, 1395–1402.
- 丰安徽 (2017). 控制水稻茎秆粗细的OsTB1等位基因发掘与功能分析. 硕士论文. 成都: 四川农业大学. pp. 1–47.
- 冯春燕 (2010). 植物4-香豆酸:辅酶A连接酶(4CL)研究进展. 现代农业科技 (8), 39–40.
- 韩雷锋, 周燃, 周涛, 林翠香, 甘泉, 倪大虎, 石英尧, 宋丰顺 (2023). 水稻抗倒伏和产量性状的相关性分析及QTLs定位. 生物学杂志 40(2), 65–70.
- 胡文冉, 李晓东, 周小云, 杨洋, 李波, 李晓荣 (2019). 棉花肉桂醇脱氢酶基因在棉纤维中的表达及其对结构组分的影响. 西北植物学报 39, 1114–1120.
- 金佳怡, 罗悻婷, 杨惠敏, 芦涛, 叶涵斐, 谢继毅, 王珂欣, 陈芊羽, 方媛, 王跃星, 饶玉春 (2023). 水稻叶绿素含量QTL定位与候选基因表达分析. 植物学报 58, 394–403.
- 鞠晓晨, 胡杰, 高冠军, 张庆路, 何予卿 (2016). 水稻茎秆抗

- 倒伏相关QTL定位与分析. 分子植物育种 **14**, 475–481.
- 李丰成 (2015). 植物细胞壁结构特征与生物质高效利用分子机理研究. 博士学位论文. 武汉: 华中农业大学. pp. 1–136.
- 刘畅, 李来庚 (2016). 水稻抗倒伏性状的分子机理研究进展. 中国水稻科学 **30**, 216–222.
- 刘子玮 (2018). 水稻GRAS转录因子家族的系统分析与功能研究. 硕士学位论文. 南京: 南京大学. pp. 1–44.
- 卢雯莹, 崔贺云, 高杉, 崔顺梅, 吴营照 (2020). 肉桂醇脱氢酶基因研究进展及其在小麦抗倒伏中的应用. 天津农业科学 **26**(10), 7–10.
- 罗兵, 韩永笑, 张淇鑫, 郭浩, 李红梅, 王静, 杨志刚, 孙海燕 (2018). 水稻UDP-N-乙酰葡萄糖胺酰基转移酶基因(*OsLpxA*) RNA干扰载体的构建及遗传转化. 分子植物育种 **16**, 5311–5317.
- 穆平, 李自超, 李春平, 张洪亮, 王象坤 (2004). 水、旱条件下水稻茎秆主要抗倒伏性状的QTL分析. 遗传学报 **31**, 717–723.
- 苏仕华, 王珏, 孙成亮, 成英, 卢红 (2008). 水稻倒伏对产量影响的调查与分析. 北方水稻 **38**, 41–43.
- 王士强, 顾春梅, 沈巧梅, 赵黎明, 王丽萍, 王贺 (2011). 水稻倒伏发生规律及防御技术的研究进展. 北方水稻 **41**, 69–72.
- 王晓飞, 陆展华, 刘维, 卢东柏, 王石光, 巫浩翔, 方志强, 何秀英 (2022). “绿色革命”以来水稻抗倒伏研究进展. 广东农业科学 **49**(3), 1–13.
- 魏和平, 芦涛, 贾绮玮, 邓飞, 朱浩, 岂泽华, 王玉玺, 叶涵斐, 殷文晶, 方媛, 穆丹, 饶玉春 (2022). 水稻抽穗期QTL定位及候选基因分析. 植物学报 **57**, 588–595.
- 吴丹, 唐冬英, 李新梅, 李丽, 赵小英, 刘选明 (2015). F-box蛋白在植物生长发育中的功能研究进展. 生命科学研究 **19**, 362–367.
- 肖应辉, 罗丽华, 闫晓燕, 高艳红, 王春明, 江玲, 矢野昌裕, 翟虎渠, 万建民 (2005). 水稻品种倒伏指数QTL分析. 作物学报 **31**, 348–354.
- 辛良杰, 李秀彬 (2009). 近年来我国南方双季稻区复种的变化及其政策启示. 自然资源学报 **24**, 58–65.
- 许作鹏 (2017). 水稻茎秆强度相关性状QTL分析及基因克隆. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学. pp. 19–78.
- 杨波, 杨文钰 (2011). 水稻抗倒伏研究进展. 耕作与栽培 (2), 1–5, 9.
- 杨德卫, 朱镇, 张亚东, 林静, 陈涛, 赵凌, 朱文银, 王才林 (2009). 基于CSSL的水稻穗颈长度QTL的代换作图. 遗传 **31**, 741–747.
- 杨密龙, 饶玉春, 李庚觅, 黄李超, 冷语佳, 张光恒, 高振宇, 胡江, 朱丽, 郭龙彪, 钱前, 曾大力 (2011). 水稻茎秆相关性状遗传分析. 分子植物育种 **9**, 160–168.
- 袁新捷 (2021). 水稻抗倒伏研究及相关性状QTL初步定位分析. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学. pp. 9–61.
- 赵新勇, 邵在胜, 吴艳珍, 赵铁鹏, 王余龙, 王云霞, 杨连新 (2018). 花后人为模拟倒伏对超级稻生长、产量和品质的影响. 中国生态农业学报 **26**, 980–989.
- 周雷 (2018). 一个水稻茎粗抗倒QTL的定位及其候选基因分析. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学. pp. 2–40.
- Fanata WID, Lee KH, Son BH, Yoo JY, Harmoko R, Ko KS, Ramasamy NK, Kim KH, Oh DB, Jung HS, Kim JY, Lee SY, Lee KO (2013). N-glycan maturation is crucial for cytokinin-mediated development and cellulose synthesis in *Oryza sativa*. *Plant J* **73**, 966–979.
- Gui JS, Shen JH, Li LG (2011). Functional characterization of evolutionarily divergent 4-coumarate: coenzyme A ligases in rice. *Plant Physiol* **157**, 574–586.
- Haigler CH, Ivanova-Datcheva M, Hogan PS, Salnikov VV, Hwang S, Martin K, Delmer DP (2001). Carbon partitioning to cellulose synthesis. *Plant Mol Biol* **47**, 29–51.
- Hu J, Zhu L, Zeng DL, Gao ZY, Guo LB, Fang YX, Zhang GH, Dong GJ, Yan MX, Liu J, Qian Q (2010). Identification and characterization of *NARROW AND ROLLED LEAF 1*, a novel gene regulating leaf morphology and plant architecture in rice. *Plant Mol Biol* **73**, 283–292.
- Huang P, Yoshida H, Yano K, Kinoshita S, Kawai K, Koketsu E, Hattori M, Takehara S, Huang J, Hirano K, Ordonio RL, Matsuoka M, Ueguchi-Tanaka M (2018). *OsIDD2*, a zinc finger and INDETERMINATE DOMAIN protein, regulates secondary cell wall formation. *J Integr Plant Biol* **60**, 130–143.
- Ishimaru K, Togawa E, Ookawa T, Kashiwagi T, Madoka Y, Hirotsu N (2008). New target for rice lodging resistance and its effect in a typhoon. *Planta* **227**, 601–609.
- Kashiwagi T, Togawa E, Hirotsu N, Ishimaru K (2008). Improvement of lodging resistance with QTLs for stem diameter in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* **117**, 749–757.
- Kawasaki T, Koita H, Nakatsubo T, Hasegawa K, Wakabayashi K, Takahashi H, Umemura K, Umezawa T, Shimamoto K (2006). Cinnamoyl-CoA reductase, a key enzyme in lignin biosynthesis, is an effector of small GTPase Rac in defense signaling in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 230–235.
- Li M, Xiong GY, Li R, Cui JJ, Tang D, Zhang BC, Pauly M, Cheng ZK, Zhou YH (2009a). Rice cellulose synthase-

- like D4 is essential for normal cell-wall biosynthesis and plant growth. *Plant J* **60**, 1055–1069.
- Li XJ, Yang Y, Yao JL, Chen GX, Li XH, Zhang QF, Wu CY** (2009b). *FLEXIBLE CULM 1* encoding a cinnamyl-alcohol dehydrogenase controls culm mechanical strength in rice. *Plant Mol Biol* **69**, 685–697.
- Liu GM, Zhang K, Ai J, Deng XJ, Hong YY, Wang XM** (2015). Patatin-related phospholipase A, pPLAIII α , modulates the longitudinal growth of vegetative tissues and seeds in rice. *J Exp Bot* **66**, 6945–6955.
- Livak KJ, Schmittgen TD** (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* **25**, 402–408.
- 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.
- Nixon BT, Mansouri K, Singh A, Du J, Davis JK, Lee JG, Slabaugh E, Vandavasi VG, O'Neill H, Roberts EM, Roberts AW, Yingling YG, Haigler CH** (2016). Comparative structural and computational analysis supports eighteen cellulose synthases in the plant cellulose synthesis complex. *Sci Rep* **6**, 28696.
- Paredes AR, Somerville CR, Ehrhardt DW** (2006). Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science* **312**, 1491–1495.
- Peng S, Cassman KG, Virmani SS, Sheehy J, Khush GS** (1999). Yield potential trends of tropical rice since the release of IR8 and the challenge of increasing rice yield potential. *Crop Sci* **39**, 1552–1559.
- Rosinski JA, Atchley WR** (1998). Molecular evolution of the MYB family of transcription factors: evidence for polyphyletic origin. *J Mol Evol* **46**, 74–83.
- Song XQ, Zhang BC, Zhou YH** (2011). Golgi-localized UDP-glucose transporter is required for cell wall integrity in rice. *Plant Signal Behav* **6**, 1097–1100.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA** (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* **74**, 3583–3597.
- Wang L, Wang AH, Huang XH, Zhao Q, Dong GJ, Qian Q, Sang T, Han B** (2011). Mapping 49 quantitative trait loci at high resolution through sequencing-based genotyping of rice recombinant inbred lines. *Theor Appl Genet* **122**, 327–340.
- Zhang BL, Zhao TM, Yu WG, Kuang BQ, Yao Y, Liu TL, Chen XY, Zhang WH, Wu AM** (2014). Functional conservation of the glycosyltransferase gene *GT47A* in the monocot rice. *J Plant Res* **127**, 423–432.

Mapping of QTL for Cell Wall Related Components in Rice Stem and Analysis of Candidate Genes

Qiwei Jia^{1†}, Qianqian Zhong^{1†}, Yujia Gu¹, Tianqi Lu¹, Wei Li¹, Shuai Yang¹, Chaoyu Zhu¹
Chengxiang Hu¹, Sanfeng Li², Yuexing Wang^{2*}, Yuchun Rao^{1*}

¹College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; ²National Key Laboratory of Rice Biological Breeding, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China

Abstract Lodging of rice is one of the main factors reducing rice yield. The mechanical strength of stem affects lodging resistance of rice and is closely related to the content of stem cell wall related components. Improving lodging resistance of rice by regulating the related components in the cell wall of stem is an effective way to improve the yield and quality of rice. In this study, *indica* rice variety Huazhan (*Oryza sativa* subsp. *indica* cv. 'HZ') and *japonica* rice variety Nekken2 (*O. sativa* subsp. *japonica* cv. 'Nekken2') were crossed to obtain F₁ generation. A total of 120 RILs (recombinant inbred lines) population were obtained by successive multigeneration self-crossing and the genetic linkage map was constructed. Based on the constructed high-density genetic map, the QTLs related to the content of cellulose, hemicellulose, and lignin in the cell wall of rice stem were located and analyzed. The results showed that 4 QTLs related to cellulose, 12 QTLs related to hemicellulose, and 8 QTLs related to lignin. At the same time, candidate genes analyses were conducted on the detected QTLs' intervals, and a total of 13 candidate genes were screened. The expression levels of candidate genes were detected by qRT-PCR. Except for *LOC_Os02g58590* and *LOC_Os12g41720*, the other candidate genes showed significant differences between parents. The results laid an important foundation for exploring genes that regulate the mechanical strength of rice stems, further screening and breeding rice varieties with strong lodging resistance.

Key words *Oryza sativa*, mechanical strength of stem, QTL mapping, candidate genes, lodging-resistant

Jia QW, Zhong QQ, Gu YJ, Lu TQ, Li W, Yang S, Zhu CY, Hu CX, Li SF, Wang YX, Rao YC (2023). Mapping of QTL for cell wall related components in rice stem and analysis of candidate genes. *Chin Bull Bot* 58, 882–892.

† These authors contributed equally to this paper

* Authors for correspondence. E-mail: wangyuexing@caas.cn; ryc@zjnu.cn

(责任编辑: 白羽红)