

引用格式:

刘茁, 彭莎莎, 陈建芝, 周亚林, 李成刚, 王丹. 水稻抗白叶枯病基因全基因组关联分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2022, 48(1): 46–53.

LIU Z, PENG S S, CHEN J Z, ZHOU Y L, LI C G, WANG D. Genome-wide association study on rice bacterial blight resistance genes[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2022, 48(1): 46–53.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



水稻抗白叶枯病基因全基因组关联分析

刘茁¹, 彭莎莎¹, 陈建芝³, 周亚林⁴, 李成刚^{2*}, 王丹^{1*}

(1.湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128; 2.杂交水稻国家重点实验室, 湖南 长沙 410125; 3.衡阳市农业农村局, 湖南 衡阳 421001; 4.麻阳苗族自治县农业农村局, 湖南 怀化 419400)

摘要: 对水稻多样性群体(RDP-I)中的 216 份种质接种白叶枯生理小种 P2 并进行抗性鉴定, 发现温带粳稻亚群平均抗性水平最高, 其平均病斑长度最短; 奥斯稻亚群平均抗性水平最低, 平均病斑长度最长。通过全基因组关联作图鉴定了分布在水稻第 1、2、4、6、7、8、9、10、11、12 号染色体上的 59 个 QTL, 这些位点包含 5 个已知的抗白叶枯病基因。从较高阈值 SNP 位点以及附近 2 Mb 区段进行候选基因的预测, 筛选出 40 个抗白叶枯病相关基因, 并最终鉴定出 16 个抗性较好的水稻种质资源。

关键词: 水稻; 白叶枯病抗性; 全基因组关联分析; 数量性状位点

中图分类号: Q75

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2022)01-0046-08

Genome-wide association study on rice bacterial blight resistance genes

LIU Zhuo¹, PENG Shasha¹, CHEN Jianzhi³, ZHOU Yalin⁴, LI Chenggang^{2*}, WANG Dan^{1*}

(1.College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.State Key Laboratory of Hybrid Rice, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China; 3.Bureau of Agriculture and Rural Affairs of Hengyang Municipality, Hengyang, Hunan 421001, China; 4.Agricultural and rural Bureau of Mayang Miao Autonomous County, Huaihua, Hunan 419400, China)

Abstract: Resistance of rice diversity panel 1(RDP-I) including 216 varieties against *bacterial blight* was identified by inoculating the varieties with *Xoo* P2. Temperate japonica rice showed the highest average resistant level, with the shortest average length of disease spot; aus rice subpopulation showed the lowest average resistance, with the longest average length of disease spot. Genome-wide association study(GWAS) was used to analysis the resistance against the *Xoo*P2 of the Rice Diversity Panel 1(RDP-I). Disease evaluation of the RDP-I indicated that the TEJ subpopulation conferred a higher level of resistance to P2 than other subpopulations. Genome-wide association study(GWAS) showed that 59 QTLs were identified that distributing on chromosomes1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 and 12 respectively, five cloned rice bacterial blightresistance genes were also located in the regions. From the higher *p* value SNP site and the 2 Mb segment near the site, we performed the prediction and screened 40 anti-bacterial blight associated candidate genes, and 16 rice varieties with high resistance against bacterial blight were identified.

Keywords: rice; bacterial blight resistance; genome-wide association study(GWAS); quantitative trait locus(QTL)

由革兰阴性菌水稻黄单胞菌(*Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae*)引起的白叶枯病是水稻最严重的

细菌性病害^[1], 往往会使水稻枯死, 导致大幅度减产, 在热带和亚热带地区, 受害水稻一般减产

收稿日期: 2021-03-21

修回日期: 2021-10-05

基金项目: 湖南省农业科技创新资金项目(2021CX35)

作者简介: 刘茁(1996—), 女, 湖南岳阳人, 硕士研究生, 主要从事水稻抗病研究, liuzhuo@genetics.ac.cn; *通信作者, 李成刚, 助理研究员, 主要从事水稻抗病研究, lchgag777@163.com; *通信作者, 王丹, 博士, 高级实验师, 主要从事水稻抗逆研究, jessicawangdan@163.com

20%~30%，严重的达 50%，甚至颗粒无收^[2]。

水稻黄单胞菌在固体培养基上呈现表面光滑的黄色菌落，通过叶片伤口进入水稻细胞后在维管束细胞扩散^[3]。迄今已报道至少有 45 个水稻白叶枯病抗性基因，其中 38 个抗性基因被定位^[4]。目前，已克隆 *Xa1*、*Xa2*、*Xa3/Xa26*、*Xa4*、*xa5*、*Xa10*、*xa13*、*Xa14*、*Xa21*、*Xa23*、*xa25*、*Xa27*、*Xa31*、*xa41*、*Xa45* 等 15 个抗性基因^[5-6]。已报道的抗病基因中，有 29 个显性基因、15 个隐性基因，这些基因有近 1/3 分布在水稻第 11 号染色体上。此外，第 4、6 号染色体上也有较多分布。近期研究发现，第 4 号染色体上分布有多个 *Xa1* 的等位基因^[6]，说明这些抗性基因存在基因的复制和功能进化。水稻中已鉴定并分离、克隆的主效抗病基因有 11 个，分别是 *Xa1*、*Xa3/Xa26*、*Xa4*、*xa5*、*Xa10*、*xa13*、*Xa21*、*Xa23*、*xa25*、*Xa27* 和 *xa41*^[3]，其中只有 *Xa1* 编码典型的 NLR 类抗性蛋白，其他基因的编码产物均是非典型的抗性蛋白^[7]。

目前，利用常规连锁分析已绘制了约 40 个白叶枯病抗性的 QTL^[8]。在以往的研究中，基于连锁分析的 QTL 作图法通常被用于鉴定水稻的功能基因^[9]。抗白叶枯病的 QTL 分别位于水稻的 8 条染色体上，其中共有 11 个基因座(*Xa3/Xa26*、*Xa4*、*Xa10*、*Xa21*、*Xa22(t)*、*Xa23*、*Xa30(t)*、*Xa32(t)*、*Xa35(t)*、*Xa36(t)* 和 *Xa39*)定位于 11 号染色体上；5 个基因座(*Xa11*、*Xa2*、*Xa14*、*Xa31(t)* 和 *Xa38*)定位于 4 号染色体；3 个基因座(*Xa7*、*Xa27* 和 *xa33(t)*)位于 6 号染色体；3 个基因座(*Xa29(t)*、*xa34(t)* 和 *Xa40(t)*)定位于 1 号染色体^[8]。*Xa25*^[10] 和 *xa32(t)*^[11] 定位于 12 号染色体上；*xa5*^[12] 位于 5 号染色体上；*xa8*^[13] 位于 7 号染色体上；*xa13*^[14] 位于 8 号染色体上。根据提供抗白叶枯病 QTL 的水稻亚群分类，5 个基因座(*xa5*、*Xa7*、*xa13*、*xa24* 和 *xa34(t)*)来自奥斯稻；10 个基因座(*xa2*、*Xa4*、*Xa11*、*Xa14*、*Xa16*、*Xa18*、*xa25*、*Xa26*、*xa28* 和 *Xa39*)来自籼稻；9 个基因座(*Xa21*、*Xa23*、*Xa27*、*Xa29(t)*、*Xa30(t)*、*Xa32(t)*、*Xa35(t)*、*Xa38* 和 *Xa40(t)*)来自水稻的野生近缘种^[15]。基于抗白叶枯病 QTL，9 个主要 *Xa* 基因已被克隆并鉴定，包括 *Xa21*、*Xa11*、*Xa3/Xa26*、*xa5*、*Xa27*、*xa13*、*Xa25*、*Xa10* 和 *Xa23*^[16-17]。

前期研究中，利用水稻群体 RDP-I^[18] 全基因组

关联分析已成功鉴定了多个水稻抗稻瘟病和耐寒基因^[19]。ZHANG 等^[20] 在 172 份籼稻种质中分别接种 6 个白叶枯小种，利用全基因组关联分析鉴定到 12 个白叶枯抗性位点，并且在第 2、3、6~10 号染色体上鉴定了显著关联位点，证实了全基因组关联分析具有较高的相对分辨率。KIM 等^[21] 利用 Ilpum 与 P8(对韩国白叶枯菌小种具有广谱抗性的 R 基因受体)杂交获得的 F₂ 和 BC₂F₂ 群体进行全基因组关联分析和精细定位，鉴定了主效抗病基因 *Xa43(t)*，并将其界定为位于 DNA 标记 IBb27os11_14 和 S_BB11.ssr_9 之间的大约 119 kb 片段。

笔者用 700 000 个单核苷酸多态性标记 SNP 对 RDP-I 群体中的 216 份水稻种质进行白叶枯菌 P2 小种^[22] 接种鉴定，对 RDP-I 群体接种 P2 的结果进行全基因组关联分析(GWAS)，运用 Tassel 软件来确定每个 SNP 和表型之间的关联，共鉴定出 59 个 QTL 和 40 个候选基因。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

水稻群体 RDP-I 由中国农业科学院植物保护研究所提供。采用的 216 份水稻种质，大致可分为 6 个亚群，包括籼稻 46 份、香型稻 6 份、热带粳稻 48 份、温带粳稻 53 份、混合稻 30 份、奥斯稻 30 份；另有 3 份不明确。白叶枯小种 P2 来源于菲律宾小种，由湖南农业大学水稻基因组实验室保存。

1.2 方法

试验于 2018 年在湖南农业大学进行。

将水稻种子浸泡 3 d 后用湿毛巾包裹，置于 37 °C 烘箱催芽 12~24 h。挑选发芽一致的种子，种植于温室小桶中，每小桶 2 株水稻苗。按照文献^[20] 的方法；白叶枯小种 P2 于 30 °C、蛋白胨和蔗糖琼脂培养基培养 2 d，细菌块悬浮在无菌水中，浓度为 1.0×10⁸ cfu/mL。

1.2.1 水稻接种白叶枯小种后的表型鉴定

在水稻分蘖期(种植后约 60 d)，用白叶枯小种 P2 接种 3 株水稻顶部的 3 片完全展开的剑叶^[23]，15 d 后，在接种叶片上测量损伤长度。重复 2 次，以获得平均病斑长度。依据王海凤等^[24] 对白叶枯抗性的判别方法，对水稻种质进行抗性分级：平均病斑

长度小于 2 mm, 为免疫(I), 0 级; 平均病斑长度大于等于 2 mm 且小于 15 mm, 为高度抗性(HR), 1 级; 平均病斑长度大于等于 15 mm 且小于 30 mm, 为中度抗性(MR), 3 级; 平均病斑长度大于等于 30 mm 且小于 50 mm, 为中度敏感(MS), 5 级; 平均病斑长度大于等于 50 mm 且小于 100 mm, 为敏感(S), 7 级; 平均病斑长度大于等于 100 mm, 为高度敏感(HS), 9 级。

1.2.2 水稻基因型检测

利用 MCCOUCH 等^[25]报道的 700 000 个单核苷酸多态性(SNP)芯片对水稻种质进行基因型分析, 在 Tassel 4.0 软件中过滤掉低质量的 SNP 位点, 选择最小等位基因频率大于 5% 以及缺失率小于 0.1 的 SNP 位点进行关联分析。

1.2.3 水稻抗白叶枯基因全基因组关联分析

使用 PLINK 的连锁不平衡修剪工具共筛选出 277 524 个次要等位基因频率大于 5% 且缺失数据比率小于 0.1 的 SNPs, 用于 216 个种质的关联分析。运用 Tassel 软件分析接种后每个 SNP 和每个接种的白叶枯病斑长度之间的关联。使用 R 包 qqman 绘制曼哈顿图和 Q-Q 图^[26]。

1.2.4 水稻抗白叶枯病相关 QTL 的定位

通过全基因组关联分析, 获得了 114 个与白叶枯病抗性相关联的 SNP ($-lgP \geq 5.0$)。为降低假阳性, 以在 200 kb 的基因组间隔内具有至少 2 个显著相关的 SNP 位点为标准, 定位抗病相关的 QTL。在国家水稻数据中心(<http://www.ricedata.cn/>)及 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中寻找已克隆或

定位的白叶枯病抗性相关基因的信息, 与所检测的 QTL 进行共定位。

1.2.5 抗白叶枯病相关候选基因分析

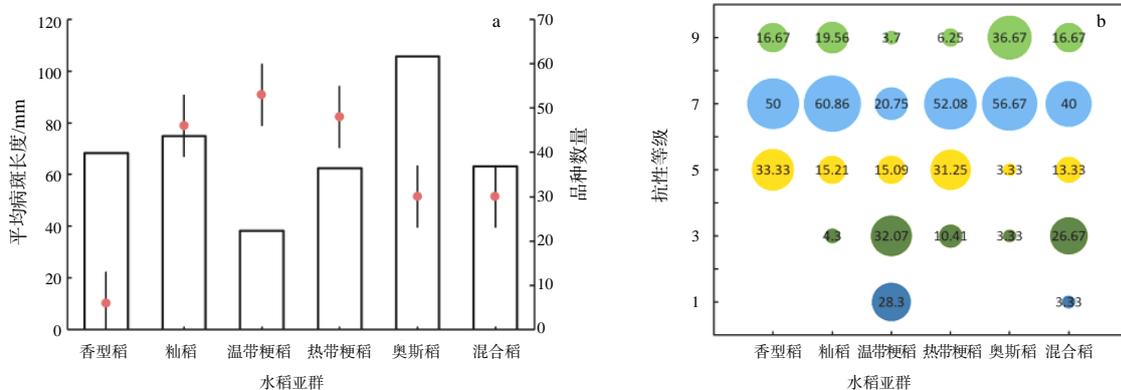
从获得的与白叶枯病抗性相关联的 SNP ($lgP \geq 5.0$), 参考日本晴(NPB)基因组数据(MSU v7.0) (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>), 在每个峰值 SNP ($-lgP \geq 5.0$) 附近 2 Mb 区域定位所有类型已报告与白叶枯抗性相关的 R 基因和防御相关基因, 并列所有基因以及注释信息。

2 结果与分析

2.1 水稻 RDP-I 群体抗白叶枯病的表型

对水稻 RDP-I 群体 216 份种质进行白叶枯病抗性鉴定的结果表明, 高抗种质 16 个, 占群体的 7.4%; 中抗种质 34 个, 占群体的 15.7%; 中感种质 36 个, 占群体的 16.7%; 感病种质 98 个, 占群体的 45.4%; 高感种质 32 个, 占群体的 14.8%。在整个群体中, 抗病种质占 23.1%, 感病种质占 76.9%, 没有免疫种质, 表明该群体总体对白叶枯小种 P2 表现为感病。

水稻群体中亚群的抗病表型直方图(图 1-a)表明, 温带粳稻亚群平均病斑长度最短, 奥斯稻亚群平均病斑长度最长。气泡图(图 1-b)显示, 气泡自上而下分别代表 1~9 级抗病等级, 气泡大小代表种质数目, 通过分析发现, 在抗病等级 ≤ 3 (表型表现为抗病) 时, 温带粳稻亚群中含有 32 个种质, 而热带粳稻亚群仅有 5 个种质, 混合型水稻有 8 个种质。



a RDP-I 群体的亚群抗病表型直方图; b RDP-I 群体的亚群抗病表型气泡图。

图 1 RDP-I 群体的亚群抗病表型

Fig.1 Disease resistance phenotype in subpopulations of RDP-I

对 216 份水稻种质的表型数据进行统计,发现在 50 个抗性种质中温带粳稻亚群的种质最多,占总数的 64%,热带粳稻亚群的种质仅占 10%,混合型水稻亚群的种质占 18%。该结果同群体材料中亚群

白叶枯病抗性分布较一致。此外,高抗的 16 个种质分别来自亚洲(75%)、非洲(6.25%)、北美洲(6.25%)、南美洲(6.25%)以及欧洲(6.25%),其中亚洲大部分抗性种质来自日本(表 1)。

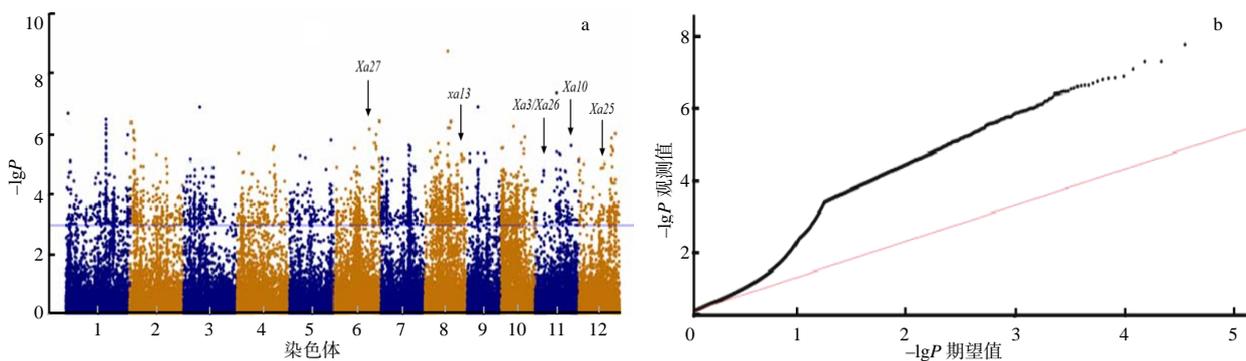
表 1 水稻高抗种质亚群及地区分布

Table 1 Subpopulation and regional distribution of high resistant varieties				
种质编号	名称	来源	亚群	抗性等级
YW001	Agostano	意大利	温带粳稻	1
YW029	Chodongji	韩国	温带粳稻	1
YW030	Chuan 4	中国台湾	温带粳稻	1
YW043	Early Wataribune	日本	温带粳稻	1
YW078	Kibi	日本	温带粳稻	1
YW148	Nipponbare	日本	温带粳稻	1
YW187	WC 4443	玻利维亚	温带粳稻	1
YW201	Shangyu 394	中国	温带粳稻	1
YW235	Hiderisirazu	日本	混合稻	1
YW236	Hatsunishiki	日本	温带粳稻	1
YW250	Patna	摩洛哥	温带粳稻	1
YW259	Amposta	波多黎各	温带粳稻	1
YW280	56-122-23	泰国	温带粳稻	1
YW328	Edomen Scented	日本	温带粳稻	1
YW343	Tainan-Iku No. 512	中国台湾	温带粳稻	1
YW362	Heukgyeong	韩国	温带粳稻	1

2.2 水稻 RDP-I 群体抗白叶枯病的全基因组关联分析

基于 216 份水稻种质的抗病表型数据及 700 000 个 SNP 基因型数据,选择 MLM 模型进行抗病表型数据和 SNP 标记的全基因组关联分析。在阈值

$[-\lg P \geq 5.0]$ 判定 SNP 标记与抗病表型关联的显著性,共检测到 114 个相关联的 SNP 位点,覆盖全部染色体。抗病表型关联分析结果如图 2 所示,曼哈顿图中紫色实线以上代表抗病相关性显著的位点。



a RDP-I 群体全基因组关联分析曼哈顿图; b RDP-I 群体全基因组关联分析 Q-Q plot 图。

图 2 白叶枯病抗病表型全基因组关联分析

Fig.2 Genome-wide association analysis of rice blast resistance phenotype

以 SNP 上、下游 200 kb 范围内至少 2 个显著相关 SNP 位点作为 1 个 QTL,对 GWAS 结果所检测的 114 个抗病相关 SNP 进行 QTL 分析。由表 2 可知,在除第 3、5 号外的 10 条染色体上,定位到

59 个白叶枯病抗性相关位点(qBBRs)。第 8 号染色体上的分布最多,为 16 个,其中最关联的 SNP 标记(SNP-8.15871032)位于第 8 号染色体上。将这些检测的 qBBRs 同已克隆或定位的白叶枯病抗性相

关基因进行共定位,共定位了5个已克隆的白叶枯子,表达量下调,其余4个均为抗病反应的正调控病抗性基因,分别是 *Xa27*、*xa13*、*Xa3/Xa26*、*Xa10*、因子。
Xa25。分析发现,这5个基因中,*xa13*为负调控因

表2 59个白叶枯病抗性显著相关位点

Table 2 Fifty-nine significant qBBRs for rice blast resistance

染色体编号	数量性状基因座	显著单核苷酸多态性	SNP位点峰值	基因分型	P值	共定位数量性状基因座或基因
1	qBBR1-1	SNP-1.1542536	1 543 537	G/A	6.70	
	qBBR1-2	SNP-1.3095559	3 096 560	G/A	5.13	
	qBBR1-10	SNP-1.27058341	27 059 386	G/T	6.50	
	qBBR1-12	SNP-1.41026148	41 027 192	G/T	5.37	
	qBBR1-13	SNP-1.42013809	42 014 853	G/C	6.01	
2	qBBR2-1	SNP-2.788873	788 874	G/A	6.41	
	qBBR2-2	SNP-2.2203459	2 203 460	G/A	8.36	
	qBBR2-3	SNP-2.2607443	2 607 446	G/A	5.48	
	qBBR2-4	SNP-2.3023033	3 023 036	G/A	5.83	
	qBBR2-7	SNP-2.17927866	17 933 736	G/A	5.33	
	qBBR2-9	SNP-2.24460018	24 465 888	C/T	5.19	
4	qBBR4-1	SNP-4.1142911	1 147 362	C/T	5.38	
6	qBBR6-1	SNP-6.13576755	13 577 755	C/T	5.55	
	qBBR6-2	SNP-6.23780194	23 781 192	C/T	6.20	<i>Xa27</i>
	qBBR6-3	SNP-6.26970574	26 971 572	G/C	5.73	
	qBBR6-4	SNP-6.27845958	27 846 957	C/T	6.02	
	qBBR6-5	SNP-6.30033140	30 034 139	G/A	6.45	
7	qBBR7-1	SNP-7.768998	769 999	T/C	5.23	
	qBBR7-2	SNP-7.4691218	4 692 218	G/A	5.19	
	qBBR7-4	SNP-7.19060454	19 061 448	G/A	5.66	
	qBBR7-5	SNP-7.19356619	19 357 613	A/G	5.49	
	qBBR7-6	SNP-7.19990647	19 991 641	T/C	5.60	
8	qBBR8-2	SNP-8.3664670	3 665 668	T/C	5.46	
	qBBR8-3	SNP-8.7181214	7 182 210	A/T	5.20	
	qBBR8-4	SNP-8.8205663	8 206 660	C/T	5.07	
	qBBR8-5	SNP-8.8783147	8 784 144	A/C	5.26	
	qBBR8-6	SNP-8.9286586	9 287 583	G/A	5.72	
	qBBR8-7	SNP-8.10560485	10 561 482	G/A	5.40	
	qBBR8-10	SNP-8.15549103	15 551 818	C/T	5.31	
	qBBR8-11	SNP-8.15871032	15 873 747	C/T	8.78	
	qBBR8-12	SNP-8.16258643	16 261 358	G/A	5.71	
	qBBR8-13	SNP-8.16537239	16 539 954	G/T	5.06	
	qBBR8-14	SNP-8.17144373	17 147 088	G/A	6.24	
	qBBR8-15	SNP-8.17992634	17 995 348	G/A	6.44	
	qBBR8-16	SNP-8.21092768	21 095 482	G/C	5.02	
qBBR8-17	SNP-8.21770711	21 773 425	C/T	5.04		
qBBR8-18	SNP-8.24524862	24 527 577	C/T	5.35		
qBBR8-19	SNP-8.26377179	26 379 894	C/A	5.18	<i>xa13</i>	
9	qBBR9-5	SNP-9.1924745	1 925 746	G/C	5.36	
	qBBR9-16	SNP-9.7522536	7 523 537	A/T	6.92	
	qBBR9-17	SNP-9.11803193	11 804 195	G/T	5.37	
	qBBR9-18	SNP-9.12931138	12 932 140	A/G	5.13	

表 2(续)

染色体编号	数量性状基因座	显著单核苷酸多态性	SNP 位点峰值	基因分型	P 值	共定位数量性状基因座或基因
10	qBBR10-1	SNP-10.183038	184 039	C/T	5.56	
	qBBR10-2	SNP-10.476823	477 848	C/T	5.55	
	qBBR10-3	SNP-10.8339312	8 410 451	C/T	6.30	
	qBBR10-7	SNP-10.15427898	15 499 131	C/T	5.37	
	qBBR10-8	SNP-10.16176762	16 247 989	A/G	5.94	
11	qBBR11-1	SNP-11.13860606	14 324 286	G/T	7.40	
	qBBR11-2	SNP-11.15723668	16 188 799	C/T	5.37	
	qBBR11-3	SNP-11.16277327	16 742 451	C/T	5.33	
	qBBR11-6	SNP-11.23821429	24 287 560	C/T	5.65	<i>Xa10</i>
12	qBBR11-7	SNP-11.28386092	28 909 314	C/T	5.15	<i>Xa3/Xa26</i>
	qBBR12-1	SNP-12.145456	146 457	A/C	5.19	
	qBBR12-6	SNP-12.17594747	17 600 793	A/G	5.05	<i>Xa25</i>
	qBBR12-7	SNP-12.22063901	22 097 355	G/A	5.82	
	qBBR12-8	SNP-12.22484389	22 517 951	G/A	5.90	
	qBBR12-9	SNP-12.23086339	23 119 880	A/G	5.53	
	qBBR12-10	SNP-12.23373800	23 407 341	T/C	5.45	
	qBBR12-11	SNP-12.24816908	24 850 455	G/A	6.05	

2.3 白叶枯病抗性候选基因分析

基于 QTL 数据及阈值($-lgP \geq 5.0$)的 SNP 位点, 结合水稻参考基因组注释(MSU v7.0)(<http://rice.plantbiology.msu.edu/>), 对水稻每条染色体上较高阈值 SNP 位点以及这些位点附近 40 kb 区段候选基因

进行预测, 共获得了 40 个白叶枯抗性候选基因(表 3), 包含编码富含亮氨酸蛋白、转录因子、F-box 类型蛋白、MYB 家族蛋白、细胞色素、泛素酶等蛋白的基因。

表 3 水稻 RDP-I 群体 40 个白叶枯病抗性候选基因

Table 3 Forty candidate genes in rice RDP-I population for bacterial blight resistance

数量性状基因座	关联单核苷酸多态性	SNP 位点峰值	$-lgP$	候选基因 ID	蛋白编码区域(5'-3')
qBBR1-1	SNP-1.1542536	1 543 537	6.70	LOC_Os01g03710	1534135 - 1539627
				LOC_Os01g03720	1551011 - 1549229
				LOC_Os01g03690	1518245 - 1521644
qBBR1-10	SNP-1.27058341	27 059 386	6.50	LOC_Os01g47360	27056849 - 27055960
				LOC_Os01g47370	27064167 - 27063892
qBBR2-2	SNP-2.2203459	2 203 460	8.36	LOC_Os02g04810	2214632 - 2207419
				LOC_Os02g04840	2239525 - 2230652
qBBR2-1	SNP-2.788873	788 874	6.41	LOC_Os02g02350	785217 - 780642
				LOC_Os02g02370	791081 - 789597
				LOC_Os02g02360	785941 - 789235
qBBR4-1	SNP-4.1142911	1 147 362	5.38	LOC_Os04g02900	1135879 - 1139939
				LOC_Os04g02910	1152219 - 1148798
				LOC_Os04g02920	1160646 - 1166868
qBBR6-5	SNP-6.30033140	30 034 139	6.45	LOC_Os06g49650	30039576 - 30038569
qBBR6-3	SNP-6.26970574	26 971 572	5.73	LOC_Os06g44620	26949889 - 26943094
				LOC_Os06g44750	27025437 - 27029339
				LOC_Os06g44660	26958611 - 26957536
qBBR7-4	SNP-7.19060454	19 061 448	5.66	LOC_Os07g32060	19060762 - 19062609
				LOC_Os07g32040	19053629 - 19055955
				LOC_Os07g32080	19068310 - 19069374

表 3(续)

数量性状基因座	关联核苷酸多态性	SNP 位点峰值	-lgP	候选基因 ID	蛋白编码区域(5'-3')
qBBR7-6	SNP-7.19990647	19 991 641	5.60	LOC_Os07g33450	19989136-19996356
				LOC_Os07g33440	19985712-19987668
qBBR8-11	SNP-8.15871032	15 873 747	8.78	LOC_Os08g26100	15873772-15871604
				LOC_Os08g26080	15864756-15865780
qBBR8-15	SNP-8.17992634	17 995 348	6.44	LOC_Os08g29400	18027778-18031385
				LOC_Os08g29340	17997619-17995699
				LOC_Os08g29370	18020117-18023998
qBBR9-17	SNP-9.11803193	11 804 195	5.37	LOC_Os09g19710	11796046-11798919
				LOC_Os09g19700	11789182-11793501
qBBR10-3	SNP-10.8339312	8 410 451	6.30	LOC_Os10g16870	8406015-8409743
qBBR10-8	SNP-10.16176762	16 247 989	5.94	LOC_Os10g31040	16235092-16238853
qBBR11-1	SNP-11.13860606	14 324 286	7.40	LOC_Os11g25160	14329178-14336166
qBBR11-2	SNP-11.15723668	16 188 799	5.37	LOC_Os11g28150	16185184-16179817
qBBR12-11	SNP-12.24816908	24 850 455	6.05	LOC_Os12g40130	24821104-24822507
				LOC_Os12g40140	24823270-24824513
				LOC_Os12g40190	24877350-24872483
qBBR12-8	SNP-12.22484389	22 517 951	5.90	LOC_Os12g36670	22457228-22461984
				LOC_Os12g36740	22507721-22510597
				LOC_Os12g36730	22502497-22497534

3 讨论

对 RDP-I 群体 216 份水稻种质进行白叶枯病抗性评估, 其中温带粳稻亚群平均抗性水平最高, 其平均病斑长度最短, 奥斯稻亚群平均抗性水平最低, 平均病斑长度最长, 籼稻、香型稻、热带粳稻、混合型水稻亚群的平均抗性水平居中。对高抗种质的亚群分布进行分析, 发现来自温带粳稻亚群的种质最多, 16 个高抗种质中有 15 个种质属于温带粳稻, 只有 1 个种质属于混合型水稻, 这与群体分布结果相一致。此外, 高抗种质中有 12 个种质来自亚洲(75%), 可能与亚洲地区的白叶枯病抗性选择较高有关。

选择混合线性模型 MLM 对抗病表型及 700 000 个 SNP 基因型进行全基因组关联分析, 共检测到分布于 12 条染色体上的 114 个相关联 SNP 位点。对这些 SNP 位点进行 QTL 分析, 发现在除 3 号和 5 号外的 10 条染色体上定位到 59 个 qBBRs, P 值介于 5.02 和 8.78 之间。将这些 qBBRs 同已克隆或定位的基因进行共定位, 发现 5 个位点(qBBR6-2、qBBR8-19、qBBR11-7、qBBR11-6、qBBR12-6)共定位了 5 个白叶枯病抗性相关基因, 全部为已克隆的基因, 分别位于第 6、8、11、12 号染色体上。这 5 个位点对应的峰值 SNP 分别为 SNP-

6.23780194、SNP-8.26377179、SNP-11.28386092、SNP-11.23821429、SNP-12.17594747。其余 54 个显著关联位点为首次发现。从阈值相对较高的 SNP 位点附近共筛选到 40 个抗白叶枯病候选基因, 其编码锌指蛋白、转录因子、富亮氨酸重复等类型蛋白。基于以上研究, 后续工作将主要集中于候选基因的鉴定以及白叶枯病抗性基因的克隆与功能分析, 为水稻抗病提供有效的抗性基因, 为培育广谱抗性水稻品种打下基础。

参考文献:

- [1] YU J, HU S N, WANG J, et al. A draft sequence of the rice genome(*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) [J]. *Science*, 2002, 296: 79-92.
- [2] 黄贵修. 水稻白叶枯病菌致病性功能基因组学分析 [D]. 海口: 华南热带农业大学, 2005.
- [3] 张标明. 水稻抗白叶枯病主效基因 *Xa14* 的克隆与功能分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
- [4] 陈复旦, 颜丙霄, 何祖华. 水稻白叶枯病抗病机制与抗病育种展望 [J]. *植物生理学报*, 2020, 56(12): 2533-2542.
- [5] HUTIN M, SABOT F, GHESQUIERE A, et al. A knowledge-based molecular screen uncovers a broad-spectrum OsSWEET14 resistance allele to bacterial blight from wild rice [J]. *Plant J*, 2015, 84(4): 694-703.
- [6] JI C, JI Z, LIU B, et al. *Xa1* allelic R genes activate rice

- blight resistance suppressed by interfering TAL effectors[J]. *Plant Commun*, 2020, 1(4): 9.
- [7] 张海涛, 王石平. 水稻抗病功能基因组研究进展[J]. *生命科学*, 2016, 28: 1189–1199.
- [8] KIM S M, SUH J P, QIN Y, et al. Identification and fine-mapping of a new resistance gene, *xa40*, conferring resistance to bacterial blight races in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Theoretical & Applied Genetics*, 2015, 128(10): 1933–1943.
- [9] LI C, SU P, WANG D, et al. Dissection of the genetic architecture of rice resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* using a genome wide association study[J]. *Journal of Phytopathology*, 2018, 166(7/8): 470–476.
- [10] GAO D Y, LIU A M, ZHOU Y H, et al. Molecular mapping of a bacterial blight resistance gene *xa-25* in rice[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(2): 183.
- [11] RUAN H H, YAN C Q, AN D R, et al. Identifying and mapping new gene *xa32(t)* for resistance to bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*) from *Oryza meyeriana* L[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2008, 17: 170–174.
- [12] PETPISIT V, KHUSH G S, KAUFFMAN H E. Inheritance of resistance to bacterial blight in rice[J]. *Crop Science*, 1977, 17(4): 551–554.
- [13] SINGH K, VIKAL Y, SINGH S, et al. S mapping of bacterial blight resistance gene *xa8* using microsatellite markers[J]. *Rice Genetics Newsletter*, 2002, 19: 94–96.
- [14] OGAWA T, LUO L, TABIEN R E, et al. A new recessive gene for resistance to bacterial blight of rice[J]. *Rice Genetics Newsletters*, 1987, 4: 98–100.
- [15] DILLAERMITA C J, TANDAYU E, JUANILLAS V M, et al. Genome-wide association analysis tracks bacterial leaf blight resistance loci in rice diverse germplasm[J]. *Rice*, 2017, 10(1): 8.
- [16] LIU W, LIU J, TRIPLETT L, et al. Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2014, 52(1): 213.
- [17] WANG C, ZHANG X, FAN Y, et al. *Xa23* is an executor R protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice s[J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(2): 290–302.
- [18] ZHAO K, TUNG C W, EIZENGA G C, et al. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*[J]. *Nature Communications*, 2011, 2(1): 467.
- [19] KANG H, WANG Y, PENG S, et al. Dissection of the genetic architecture of rice resistance to the blast fungus *Magnaporthe oryzae*[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2016, 17(6): 959.
- [20] ZHANG F, WU Z, WANG M, et al. Genome-wide association analysis identifies resistance loci for bacterial blight in a diverse collection of indica rice germplasm[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e174598.
- [21] KIM S, REINKE R F. A novel resistance gene for bacterial blight in rice, *Xa43(t)* identified by GWAS, confirmed by QTL mapping using a bi-parental population[J]. *PLoS One*, 2019, 14(2): e211775.
- [22] 于晶, 周永力, 苍晶, 等. 水稻白叶枯病数量抗性座位定位及其小种专化性[J]. *作物学报*, 2006, 32(11): 1611–1617.
- [23] KAUFFMAN H E, REDDY A P K, HSIEH S P Y, et al. A improved technique for evaluation of resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*[J]. *Plant Disease Reporter*, 1973, 57: 537–541.
- [24] 王海凤, 陈峰, 张洪瑞, 等. 几个水稻品种的白叶枯病抗性鉴定[J]. *山东农业科学*, 2012, 44(10): 92–94.
- [25] MCCOUCH S R, WRIGHT M H, TUNG C W, et al. Open access resources for genome-wide association mapping in rice [J]. *Nature Communications*, 2016, 7(1): 1–14.
- [26] KANG H M, SUL J H, SERVICE S K, et al. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies[J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(4): 348.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维