

引用格式:

陈文凤, 黄浩, 丁晓雯, 林晋军, 姚威, 陈倩茹, 黄希来, 刘雄伦, 吴俊, 陈哲红, 程计华, 刘金灵. 自然储存条件下水稻种子耐储藏性状QTL的定位[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(2): 1–5.

CHEN W F, HUANG H, DING X W, LIN J J, YAO W, CHEN Q R, HUANG X L, LIU X L, WU J, CHEN Z H, CHENG J H, LIU J L. QTL mapping for seed storage tolerance trait in rice under natural conditions[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(2): 1–5.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 自然储存条件下水稻种子耐储藏性状 QTL 的定位

陈文凤<sup>1,2</sup>, 黄浩<sup>1,2</sup>, 丁晓雯<sup>1,2</sup>, 林晋军<sup>1,2</sup>, 姚威<sup>1,2</sup>, 陈倩茹<sup>1,2</sup>, 黄希来<sup>1,2</sup>,  
刘雄伦<sup>1,2</sup>, 吴俊<sup>1,2</sup>, 陈哲红<sup>3</sup>, 程计华<sup>3</sup>, 刘金灵<sup>1,2\*</sup>

(1.湖南农业大学农学院, 湖南 长沙 410128; 2.作物基因工程湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128; 3.华智生物技术有限公司, 湖南 长沙 410125)

**摘要:** 为了筛选出新的水稻耐储藏种质, 以在自然条件下储存4年的由粳稻‘魔王谷’(MWG)和籼稻‘CO39’杂交后代衍生的重组自交系群体种子为材料, 对群体种子发芽表型进行分析, 并利用复合区间作图法对该群体种子耐储藏性状QTL进行定位。结果表明: 101份重组自交系中, 67%的株系种子的发芽率、发芽势和发芽指数为0, 其余株系3个发芽性状指标分别为0~82.67%、0~46.00%和0~6.48; 鉴定到1个发芽率达82.67%的高耐储藏株系; QTL分析定位到3个控制发芽性状(发芽率、发芽势、发芽指数)的QTL, 分别为 $qGR7$ 、 $qGP7$ 和 $qGI7$ , 其中 $qGR7$ 位于SSR标记RM6344与RM5720区间18.43 cM的区域,  $qGP7$ 和 $qGI7$ 均位于标记RM5672与RM8261区间35.74 cM的区域, 3个QTL的LOD值为2.52~2.56, 表型贡献率为12.02%~12.22%。

**关键词:** 水稻; 耐储藏性; 重组自交系群体; 数量性状基因位点; 基因定位

中图分类号: S511.01

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2025)02-0001-05

## QTL mapping for seed storage tolerance trait in rice under natural conditions

CHEN Wenfeng<sup>1,2</sup>, HUANG Hao<sup>1,2</sup>, DING Xiaowen<sup>1,2</sup>, LIN Jinjun<sup>1,2</sup>, YAO Wei<sup>1,2</sup>, CHEN Qianru<sup>1,2</sup>,  
HUANG Xilai<sup>1,2</sup>, LIU Xiongjun<sup>1,2</sup>, WU Jun<sup>1,2</sup>, CHEN Zhehong<sup>3</sup>, CHENG Jihua<sup>3</sup>, LIU Jinling<sup>1,2\*</sup>

(1.College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.Hunan Provincial Key Laboratory of Crop Gene Engineering, Changsha, Hunan 410128, China; 3.Huazhi Biotechnology Co. Ltd., Changsha, Hunan 410125, China)

**Abstract:** To screen new rice storage tolerance germplasm, seed of one recombinant inbred lines (RILs) population that had been in natural storage for 4 years and derived from the cross between *japonica* cultivar ‘Mowanggu’ (MGW) and *indica* rice ‘CO39’ was used to analyze the germination phenotype of seed from the population and to map QTLs responsible for seed storage tolerance trait by composite interval mapping. The results showed that, the phenotype of germination rate, germination potential, and germination index of 67% lines from the 101 RIL lines was declined to 0. The value of the 3 traits for other lines ranged from 0-82.67%, 0-46.00% and 0-6.48 respectively. Only one line still keeps a high germination rate of 82.67%. QTL mapping yielded 3 QTLs responsible for germination traits, namely  $qGP7$ ,  $qGE7$  and  $qGI7$ . Among them,  $qGR7$  was mapped in the interval of SSR marker RM6344 and RM5720 with a distance of 18.43 cM,  $qGP7$  and  $qGI7$  located in the same interval between SSR maker RM5672 and RM8261 with a distance of 35.74 cM. The LOD values of 3 QTLs ranged from 2.52-2.56, of which the phenotypic contribution rate was

收稿日期: 2024-05-06

修回日期: 2025-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(31972256); 湖南省 2023 十大技术攻关项目(2023NK1010); 苏州市科技计划项目(SNG2021003)

作者简介: 陈文凤(1998—), 女, 重庆垫江人, 硕士研究生, 主要从事水稻分子遗传研究, 2957391566@qq.com; \*通信作者, 刘金灵, 博士, 副教授, 主要从事水稻分子遗传育种研究, liujinling@hunau.edu.cn

12.02%-12.22%.

**Keywords:** rice; storage tolerance; recombinant inbred lines population; quantitative trait locus; gene mapping

水稻种子的长时间储藏会导致种子活力下降和稻米品质劣变,严重影响粮食的品质和种子的生产经营。我国每年由于储藏不当、陈化变质等造成的稻谷损失超过200亿元<sup>[1]</sup>。采用控温调湿等改善性措施,可有效延缓陈化速度,但增加了储藏成本<sup>[2-3]</sup>。因此,培育耐储藏水稻新品种是有效解决稻谷耐储性问题的根本性策略,而挖掘水稻耐储种质资源和耐储基因、解析水稻耐储藏特性和种子老化机理,是培育耐储水稻品种和解决耐储性问题的关键。

经长期储藏的稻谷,稻米外观、加工、蒸煮、食味和营养品质等各项品质指标均会呈下降趋势<sup>[4-7]</sup>。储藏种子的发芽率、发芽势、生活力等种子活力指标也显著降低,严重影响了种子发芽、出苗和成苗质量<sup>[1,8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>表明,细胞膜完整性破坏和细胞内部活性物质的积累是引起种子活力下降和劣变的主要原因。经长期储藏的种子,细胞膜中的磷脂酰胆碱转变为磷脂酸,引起质膜磷脂含量降低<sup>[10]</sup>,降低了细胞膜流动性,增加了通透性,导致细胞外渗量增加<sup>[9,11]</sup>。细胞内用于清除新陈代谢产生的活性氧(ROS)的保护性酶活性下降,导致活性氧不能被有效清除,种子内活性氧、自由基、丙二醛等大量聚集,对种子产生毒害作用<sup>[12-14]</sup>。

水稻种子耐储藏性状是一个受多基因控制的复杂数量性状。目前,利用不同的遗传定位群体已在水稻12条染色体上定位到与耐储性相关的数量性状基因位点(QTL)至少有180个<sup>[15-22]</sup>。有4个QTL *qLG-9*<sup>[17]</sup>、*qSS-9*<sup>[18]</sup>、*qSS3.1*和*qSSI*<sup>[19]</sup>已被精细定位,但尚未有QTL被克隆。近年来,有部分影响水稻种子耐储性的调控基因被鉴定,如*OsFAH2*、*LOX3*、*OsHSP18.2*、*OsALDH7*等<sup>[19,23-25]</sup>。*OsFAH2*编码脂肪酸羟化酶,过表达*OsFAH2*可降低脂质氧化程度,延缓种子老化<sup>[19]</sup>。*LOX3*编码水稻脂肪氧化酶同工酶,其缺失可延缓种子的老化<sup>[23]</sup>。*OsHSP18.2*编码一种衰老响应蛋白,其通过减少种子老化过程中ROS的积累来提高种子的活力和寿命<sup>[24]</sup>。*OsALDH7*编码醛脱氢酶蛋白,通过参与清

理脂类过氧化物来维持种子活力<sup>[25]</sup>。这些结果表明抑制种子脂质的氧化和降低种子活性氧的积累可有效提高种子耐储性。

尽管目前已定位了不少水稻种子耐储藏相关QTL,并鉴定了少数调控种子耐储性的基因,但是尚未有水稻种子耐储性主效QTL基因被克隆鉴定,其耐储性分子调控机制尚未得到系统性解析。为了挖掘新的水稻耐储种质和基因,本研究以实验室前期收获的一套经自然室温储存4年的重组自交系群体株系种子为材料,分析了群体材料种子发芽率、发芽势和发芽指数等表型变异,通过构建分子遗传连锁图谱,定位了该群体材料中耐储藏相关QTL,旨在为利用分子标记辅助选择技术培育耐储藏水稻品种提供新的种质资源和分子标记。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本研究以实验室前期构建的一套由粳稻品种‘魔王谷’和籼稻品种‘CO39’杂交后代衍生的重组自交系群体种子为材料<sup>[26]</sup>。试验种子于2019年收获,干燥后在室内常温储存4年。

### 1.2 种子发芽试验

将重组自交系株系种子经37℃处理12 h后,用0.1% NaClO溶液消毒15 min,用清水彻底洗净,放于铺有2层湿润滤纸的发芽盒内进行发芽试验,于28℃恒温箱内培养发芽。每个株系精选50粒种子进行发芽试验,3次重复。

### 1.3 发芽表型鉴定

以种子胚根1 mm长为发芽标准,每隔24 h记录种子的发芽数,调查7 d内种子的发芽数,计算种子发芽率、发芽势和发芽指数。发芽率为发芽第7天的发芽种子数占供试种子总数的百分比;发芽势为日发芽种子最高峰时发芽种子数占供试种子总数的百分比;按照文献<sup>[27]</sup>的方法计算发芽指数。取3次重复的平均值作为各项指标的表型值。

1.4 QTL定位分析

利用前期构建的含145个多态性分子标记(包括132个SSR标记和13个SFP标记)的‘魔王谷’与‘CO39’重组自交系群体连锁遗传图谱<sup>[28]</sup>,结合本研究得到的种子发芽表型数据进行QTL定位分析。利用QTL IciMapping 4.1软件,采用复合区间作图法定位耐储藏性状QTL,以LOD值2.5作为判断存在QTL的阈值,估算每个QTL加性效应值和表型贡献率。

1.5 QTL共定位分析

查询相关文献中定位在7号染色体的耐储藏性状相关QTL,将相关QTL连锁分子标记遗传距离转化至IRGSP-1.0版本日本晴参考基因组序列的物理位置,然后利用MG2C([http://mg2c.iask.in/mg2c\\_v2.1/index.html](http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.1/index.html))作图网站,构建已定位在7号染色体上种子耐储藏性状QTL的物理图谱,分析已定位QTL区间与本研究定位QTL间的关系。

2 结果与分析

2.1 重组自交系群体种子发芽表型分析

利用101个重组自交系群体种子进行发芽鉴定,统计种子发芽率、发芽势、发芽指数等表型指标。结果(表1)发现,不同株系种子储藏4年的发芽表型差异显著。有68个株系(占比约67%)种子的发芽率、发芽势和发芽指数为0,其余33个株系(占比约33%)的发芽率为0~82.67%,发芽势为0~46.00%,发芽指数为0~6.48,在这33个株系中有

19个株系的发芽率为0~20%,有14个株系的发芽率为21%~82.67%。其中鉴定到1个高耐储株系,发芽率高达82.67%。群体表型分布结构分析结果表明,3个指标表型均呈偏态分布,偏度为2.17~2.53;发芽率、发芽势、发芽指数的峰度为3.83~6.21。

表 1 重组自交系群体发芽性状群体表型特征  
Table 1 Population phenotype characteristics of seed germination traits for RIL population

| 指标  | 发芽率           | 发芽势          | 发芽指数      |
|-----|---------------|--------------|-----------|
| 平均值 | (8.20±16.48)% | (4.67±9.64)% | 0.72±1.45 |
| 变幅  | 0~82.67%      | 0~46.00%     | 0~6.48    |
| 峰度  | 4.84          | 6.21         | 3.83      |
| 偏度  | 2.28          | 2.53         | 2.17      |

2.2 重组自交系群体种子耐储藏性状QTL定位

为了定位该群体中种子耐储藏性状QTL,利用实验室前期构建的分子连锁图谱,结合本研究得到的种子发芽性状表型值进行了QTL定位。结果(图1,表2)表明,在水稻第7号染色体的长臂末端,检测到控制发芽率、发芽势和发芽指数3个性状的QTL各1个,其中控制种子发芽率的QTL *qGR7*位于SSR标记RM6344至RM5720之间,标记区间遗传距离为18.43 cM。控制种子发芽势的QTL *qGP7*和控制发芽指数的QTL *qGI7*均位于SSR标记RM5672至RM8261间,区间遗传距离为35.74 cM。3个QTL的LOD值分别为2.56、2.55和2.52,表型贡献率分别为12.22%、12.13%和12.02%。功能等位基因均来自‘CO39’。

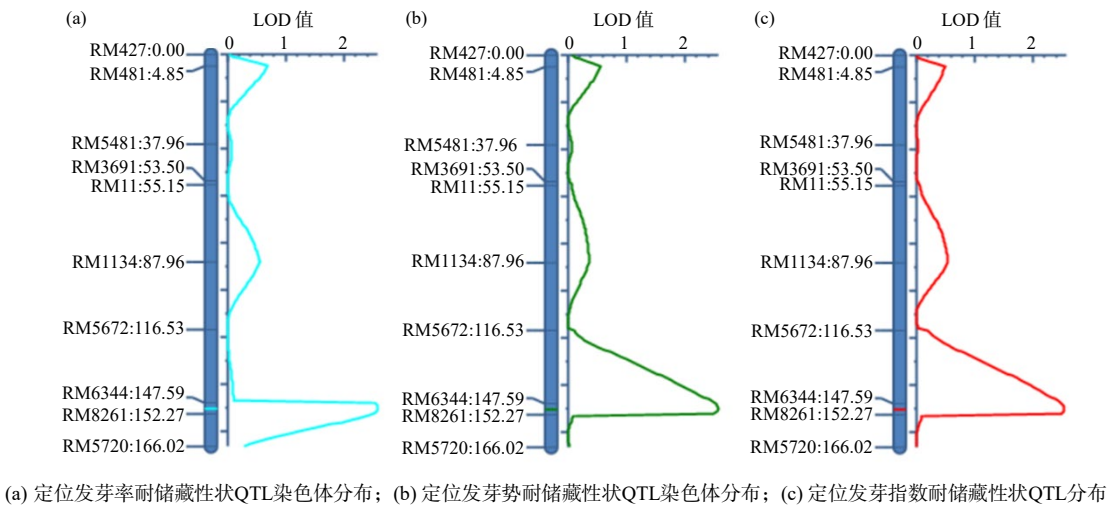


图 1 重组自交系群体定位耐储藏性状 QTL 染色体分布

Fig. 1 Chromosome location of mapped QTL responsible for seed storage tolerance traits in RILs population

表 2 重组自交系群体定位种子耐储藏性状 QTL 信息

| Table 2 The information of the mapped QTL responsible for seed storage tolerance traits in RIL population |             |     |               |             |                       |      |         |       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----|---------------|-------------|-----------------------|------|---------|-------|
| 性状                                                                                                        | 数量性状位点      | 染色体 | 标记区间          | 标记区间遗传距离/cM | 物理距离/bp               | LOD值 | 表型贡献率/% | 加性效应值 |
| 发芽率                                                                                                       | <i>qGR7</i> | 7   | RM6344—RM5720 | 18.43       | 24 964 172~29 330 337 | 2.56 | 12.22   | -0.06 |
| 发芽势                                                                                                       | <i>qGP7</i> | 7   | RM5672—RM8261 | 35.74       | 23 284 365~25 867 592 | 2.55 | 12.13   | -0.03 |
| 发芽指数                                                                                                      | <i>qGI7</i> | 7   | RM5672—RM8261 | 35.74       | 23 284 365~25 867 592 | 2.52 | 12.02   | -0.50 |

2.3 耐储藏性状QTL共定位分析

为了进一步明确本研究中定位QTL与已定位的7号染色体上水稻耐储藏性状QTL间的关系，在相关文献中共查找到8个7号染色体上定位到的耐储藏性状QTL(表3，图2)。将QTL连锁标记转化至

表 3 水稻第 7 号染色体已定位耐储藏性状 QTL 信息

Table 3 QTL information previously mapped on the rice chromosomes 7 responsible for storage tolerance traits

| QTL位点             | 连锁标记          | 物理距离/bp               | 参考文献 |
|-------------------|---------------|-----------------------|------|
| <i>qSS7a</i>      | RM8261—RM1209 | 25 867 568~26 465 843 | [15] |
| <i>qSS7b</i>      | RM3555—RM1306 | 27 891 590~27 891 614 |      |
| <i>qSS7c</i>      | RM1135—RM11   | 16 932 988~16 933 014 | [20] |
| <i>qMT-SGC7.1</i> | RM214         | 13 444 703~13 444 766 |      |
| <i>qMT-SGC7.2</i> | RM234         | 25 473 681~25 473 700 | [21] |
| <i>qSSh-7-1</i>   | C383—R1440    | 9 001 117~17 535 481  |      |
| <i>qSSh-7-2</i>   | R2677—C847    | 24 683 353~25 965 744 | [22] |
| <i>qSS7-1</i>     | —             | 13 568 523~13 590 543 |      |

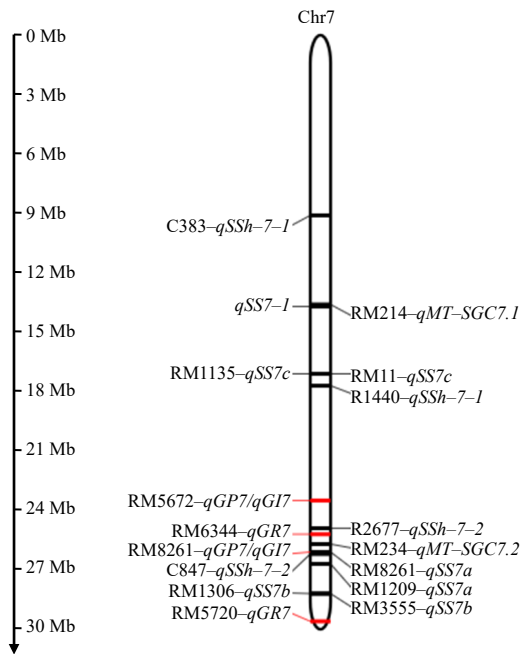


图 2 本研究定位的 3 个 QTL 与已定位的 7 号染色体上耐储藏性状 QTL 染色体共定位物理图谱

Fig.2 Co-localization physical map for the previously mapped QTLs on chromosome 7 and the 3 QTLs mapped in this study responsible for rice seed storage tolerance traits

日本晴参考基因组序列物理位置后进行共定位分析，发现本研究定位的3个QTL与已定位的2个QTL *qMT-SGC7.2*和*qSSh-7-2*的物理区间重叠，表明它们可能是相同或等位QTL。

3 结论与讨论

水稻耐储性是稻谷储藏期间稻米品质和种子活力保持的重要特性。已有研究表明，不同水稻品种经过自然老化1年左右后发芽率为40%~90%<sup>[29]</sup>；自然老化2年以上的水稻种子发芽率显著降低，储存3年的种子超过70%的种子发芽率为0<sup>[20]</sup>。本研究对一套自然储存4年的重组自交系群体种子发芽特性进行研究，发现67%的株系种子发芽率为0，其余株系种子发芽率大多数处于0~20%的较低水平，这与前人的研究结果相似<sup>[20]</sup>。本研究中发现有1个株系种子经4年自然储存后发芽率仍高达82.67%，这个高耐储株系的发现可能为进一步挖掘、克隆耐储藏基因和培育耐储水稻品种提供了重要的种质资源。

定位耐储藏QTL是进一步克隆水稻耐储藏基因和深入探索水稻耐储藏遗传机制的重要基础。本研究利用自然储藏4年的重组自交系群体，在7号染色体上定位到3个控制种子耐储藏的性状(发芽率、发芽势和发芽指数)的QTL *qGR7*、*qGP7*和*qGI7*。3个QTL均位于水稻7号染色体，其中*qGR7*定位区间位于标记RM6344与RM5720间；*qGP7*和*qGI7*定位区间相同，均位于标记RM5672与RM8261间，而*qGR7*和*qGP7*、*qGI7*有部分区域重叠，表明3个QTL有可能为同一个QTL，但有待进一步通过精细定位证实。

目前已有众多水稻种子耐储藏性状QTL定位，但由于不同的研究者利用不同的背景材料、不同类型或大小的遗传材料群体进行定位，得到的QTL在染色体上的遗传距离有所差异，不容易区分定位在染色体相似区域的QTL是否为同一QTL

或者等位QTL。为了明确本研究中定位的QTL与已定位在7号染色体上的耐储藏QTL间可能的关系,利用本研究定位的3个QTL与已定位在7号染色体上的8个QTL连锁标记的物理位置进行了共定位分析,发现本研究定位的3个QTL所在区间与已定位的2个QTL *qMT-SGC7.2*和*qSSh-7-2*共定位。*qMT-SGC7.2*是利用水稻品种‘Milyang 23’和‘Tong 88-7’杂交构建的重组自交系群体定位的影响储藏种子萌发能力特性的QTL,在不同储存期下该QTL的LOD值为6.76~8.68,可以解释群体材料12.5%~17.5%的表型变异<sup>[20]</sup>。*qSSh-7-2*则是利用水稻品种‘Sasanishiki’和‘Habataki’构建的回交自交群体定位的1个耐储藏性状QTL,该位点对群体表型变异的贡献率为13.28%<sup>[21]</sup>。这些结果说明,本研究中定位的QTL可能与这2个QTL相同或者等位,在其他不同背景的遗传群体表现出较好的可重复性。此外,本研究定位的3个QTL表型贡献率与*qMT-SGC7.2*和*qSSh-7-2*的贡献率相近,均大于10%,表明本研究鉴定的3个QTL是水稻耐储性控制的主效位点,可以作为进一步精细定位和耐储藏QTL基因克隆的重点目标。

本研究利用一套水稻重组自交系群体材料鉴定到了一份自然老化4年后仍保持高发芽率的耐储种质,定位到了3个控制种子发芽率、发芽势和发芽指数的主效QTL *qGR7*、*qGP7*和*qGI7*,为进一步克隆水稻耐储基因和培育耐储藏水稻新品种提供重要的种质材料和分子标记支撑。

#### 参考文献:

- [1] 江川,李书柯,李清华,等. 水稻耐储藏性研究进展[J]. 江西农业学报, 2011, 23(10): 39-43.
- [2] 包清彬,猪谷富雄. 储藏条件对水稻种子发芽活性影响的研究[J]. 粮食储藏, 1997, 26(4): 30-34.
- [3] WANG W Q, HE A B, PENG S B, et al. The effect of storage condition and duration on the deterioration of primed rice seeds[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 172.
- [4] ZHU D W, LI M, FANG C Y, et al. Effects of storage on the starch fine structure and physicochemical properties of different rice variety types[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 300: 120273.
- [5] 李清华,郑长林,郑苹立. 不同基因型水稻在贮藏过程中米质性状的变化[J]. 江西农业学报, 2020, 32(12): 7-11.
- [6] LOU G M, BHAT M A, TAN X, et al. Research progress on the relationship between rice protein content and cooking and eating quality and its influencing factors[J]. Seed Biology, 2023, 2: 16.
- [7] WANG Q, ZHANG D, LIU J L, et al. Storage drives alterations of proteomic and protein structural properties in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. Foods, 2022, 11(21): 3541.
- [8] 胡伟民,胡晋,宋文坚,等. 超干长期贮藏对不同类型水稻种子生活力和活力的影响[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(4): 379-382.
- [9] 张春慧,曲红彤,孙杰. 种子老化过程中的相关变化及研究进展[J]. 中国农业信息, 2016, 28(6): 3.
- [10] AIBARA S, ISMAIL I A, YAMASHITA H, et al. Changes in rice bran lipids and free amino acids during storage[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1986, 50(3): 665-673.
- [11] 徐亮,包维楷,何永华. 种子贮藏物质变化及其贮藏生理[J]. 种子, 2003, 22(5): 60-63.
- [12] JEEVAN KUMAR S P, RAJENDRA PRASAD S, BANERJEE R, et al. Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology[J]. Annals of Botany, 2015, 116(4): 663-668.
- [13] DANTAS A F, FASCINELLI M L, JOSÉ S C B R, et al. Loss of genetic integrity in artificially aged seed lots of rice(*Oryza sativa* L.) and common bean(*Phaseolus vulgaris* L.)[J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2019, 846: 403080.
- [14] ZHANG K L, ZHANG Y, SUN J, et al. Deterioration of orthodox seeds during ageing: influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 158: 475-485.
- [15] 刘进,姚晓云,余丽琴,等. 水稻耐储藏特性三年动态鉴定与QTL分析[J]. 植物学报, 2019, 54(4): 464-473.
- [16] LI C S, SHAO G S, WANG L, et al. QTL identification and fine mapping for seed storability in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. Euphytica, 2017, 213(6): 127.
- [17] SASAKI K, TAKEUCHI Y, MIURA K, et al. Fine mapping of a major quantitative trait locus, *qLG-9*, that controls seed longevity in rice(*Oryza sativa* L.)[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2015, 128(4): 769-778.
- [18] 刘喜,林秋云,孙爱玲,等. 水稻种子耐贮性QTL *qSS-9*的精细定位[J]. 南京农业大学学报, 2015, 38(6): 877-882.

(下转第35页)