DOI: 10.5846/stxb202006281668

杨安琪,余海英,黄化刚,张锡洲,李廷轩.籽粒镉低积累水稻地上部镉高积累遗传特性分析.生态学报,2021,41(18):7322-7330. Yang A Q, Yu H Y, Huang H G, Zhang X Z, Li T X.Pivotal genetic mechanisms of the shoot cadmium accumulation in a low grain cadmium-accumulating rice. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(18):7322-7330.

籽粒镉低积累水稻地上部镉高积累遗传特性分析

杨安琪,余海英,黄化刚,张锡洲,李廷轩*

四川农业大学资源学院,成都 611130

摘要:农田土壤镉(Cd)污染日益严重,导致稻米 Cd 含量超标事件频繁出现,使粮食安全问题备受关注。因此,合理利用 Cd 污 染农田、降低水稻籽粒 Cd 含量成为亟待解决的问题。籽粒 Cd 低积累水稻雅恢 2816 的地上部具有较强的 Cd 积累能力,研究旨 在弄清其地上部 Cd 积累能力的遗传稳定性,进一步揭示控制该性状的遗传基础,为利用分子标记辅助选育地上部 Cd 冪集能力强、籽粒 Cd 安全的水稻提供途径。以水稻雅恢 2816 和 3 个不同品种水稻分别组配获得的 F₁为研究对象,分析地上部 Cd 冪集能力强、籽粒 Cd 安全的水稻提供途径。以水稻雅恢 2816 和 3 个不同品种水稻分别组配获得的 F₁为研究对象,分析地上部 Cd 积累相关性状的杂种优势。进一步以优势组合 C268A/雅恢 2816 构建 F₂作图群体,对地上部 Cd 积累相关性状进行 QTL 定位分析。结果表明:(1)F₁地上部 Cd 积累相关性状杂种优势明显,遗传稳定性强。地上部 Cd 积累相关性状属数量性状,F₂中/超亲 分离现象明显。(2)在第 4、6 号染色体上共挖掘到 1 个控制水稻地上部生物量和 3 个控制地上部 Cd 积累量的 QTL 位点,分别 为 *qSB*-6、*qSCdA*-4、*qSCdA*-6-1 和 *qSCdA*-6-2、表型贡献率为 10.6%—14.4%,且增效等位基因均来自雅恢 2816。(3)地上部 Cd 积累量与地上部生物量、Cd 含量,根、糙米的生物量、Cd 积累量,根-地上部转移系数均呈极显著正相关,与地上部-籽粒转移系数 呈极显著负相关,存在 4 个 QTL 集簇区 *Cl*-4-1、*Cl*-6-1、*Cl*-6-2 和 *Cl*-6-3。(4)区间 *marker* 04171-*marker* 04197 控制着地上部生物 量和 Cd 积累量,与控制糙米 Cd 含量的 QTL 不重叠。研究表明:籽粒 Cd 低积累水稻雅恢 2816 携带控制地上部 Cd 高积累的等 位基因,可在世代间稳定遗传,QTL 位点 *qSCdA*-4、*qSCdA*-6-1、*qSCdA*-6-2 是控制该性状的重要遗传基础,可为分子标记辅助选育 地上部 Cd 高积累、籽粒 Cd 低积累水稻提供理论依据。

关键词:水稻; Cd 积累; 杂种优势; 数量性状

Pivotal genetic mechanisms of the shoot cadmium accumulation in a low grain cadmium-accumulating rice

YANG Anqi, YU Haiying, HUANG Huagang, ZHANG Xizhou, LI Tingxuan^{*} College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract: Farmland soil is gradually polluted by cadmium (Cd), which leads to the excessive Cd concentration in grain. Food security has attracted much attention of people all over the world. Therefore, the utilization of Cd polluted farmland soil and reduction of the Cd concentration in grain have become an urgent issue to be resolved. Yahui2816, a low grain Cdaccumulating rice line with high shoot Cd-accumulation, is potential to achieve these goals simultaneously. The genetic stability of shoot Cd accumulation and the relevant genetic basis in Yahui 2816 was investigated in this study, providing an idea for molecular marker-assisted selection of low grain Cd-accumulating rice with high shoot Cd accumulation. Three types of F_1 hybrids were constructed by rice restorer line Yahui 2816 and three male sterile lines (Lu98A, 5406A and C268A) to analyze the heterosis of shoot Cd accumulation. The F_2 population was constructed by Yahui2816 and C268A. The F_1 population (constructed by Yahui2816 and C268A) showed a distinct advantage and thus met the basic requirement of

基金项目:四川省重大科技专项(2018SZDZX0029);国家自然科学基金青年基金(41807147);德阳市重点研发科技计划(2020SZ037)

收稿日期:2020-06-28; 网络出版日期:2021-06-15

^{*} 通讯作者 Corresponding author.E-mail: litinx@ 263.net

quantitative trait locus (QTL) analysis of phenotypic isolation. Furthermore, the F_2 was used to analyze the QTLs of shoot Cd accumulation combined with the genetic linkage map. The results revealed that: (1) F_1 hybrids showed a good heterosis phenomenon of shoot Cd accumulation, indicating Yahui2816 had strong genetic stability. Meanwhile, a mid-/super-parent segregation was observed in F_2 population. (2) A QTL controlling shoot biomass (*qSB*-6) and three QTLs controlling shoot Cd accumulation (*qSCdA*-4, *qSCdA*-6-1 and *qSCdA*-6-2) were detected on chromosome 4 and 6, explaining 10.6%—14.4% of the phenotypic variance in the shoot Cd accumulation of the F_2 population. (3) Shoot Cd accumulation showed significantly positive correlations with shoot biomass and Cd concentration, root and grain biomass and Cd accumulation, transfer factor of Cd to shoot, and a negative correlation with transfer factor of Cd to grain. In addition, there were 4 overlap regions (*Cl*-4-1, *Cl*-6-1, *Cl*-6-2 and *Cl*-6-3) controlling two or more traits at the same time. (4) *Marker* 04171-*marker* 04197 controlled shoot biomass and Cd accumulation simultaneously and did not overlap with the QTLs controlling grain Cd concentration. In conclusion, Yahui2816 carried an allele which can enhance the ability of shoot Cd accumulation, and its related traits could be stably inherited from generation to generation. QTLs (*qSCdA*-4, *qSCdA*-6-1 and *qSCdA*-6-2) controlling shoot Cd accumulation were beneficial for molecular marker-assisted breeding of rice with high shoot Cd accumulation.

Key Words: Oryza sativa L.; Cd accumulation; heterosis; quantitative trait locus

镉(Cd)是一种毒性极强的重金属元素,其生物有效性高、迁移性强^[1]。随着工业化和城镇化进程的加 快,农田土壤 Cd 污染日益严重,且易随食物链进入人体、危害人类健康[2-3]。水稻是人类膳食 Cd 的主要来 源,其平均 Cd 含量显著高于其他谷类食物^[4]。因此,安全利用 Cd 污染农田土壤、降低糙米 Cd 含量成为亟待 解决的粮食安全问题。选育籽粒 Cd 低积累水稻能保障 Cd 污染农田的安全生产,同时一些生物量大、地上部 Cd 积累能力较强的水稻品种表现出较好的 Cd 修复潜力^[5-6],因而选育地上部 Cd 高积累、籽粒 Cd 低积累的 水稻品种利于实现 Cd 污染农田的修复和安全生产。明晰水稻 Cd 积累的遗传机制是选育籽粒 Cd 低积累或 地上部 Cd 高积累水稻的重要前提。不同水稻品种 Cd 积累存在明显的基因型差异,利于寻找相关功能基 因^[7-8]。研究发现,水稻 Cd 积累相关性状属数量性状,遗传机制复杂,同时受环境因素影响,因此不能仅通过 表型对基因型进行选择^[9]。OTL 定位通过建立数量性状表型值与 DNA 分子标记间的关系,可以确定各个 QTL 位点在染色体上的位置、效应及其相关作用^[10-11], 使复杂数量性状的遗传改良和分子操纵成为可能, 具 有较大的应用前景^[12-13]。近年来,利用 Cd 积累能力差异显著的水稻品种构建的 F,、RIL、CSSLs 等群体进行 QTL 定位,在水稻 12 条染色体上发现了控制水稻籽粒和地上部 Cd 积累相关的 QTLs^[14-16]。Xue 等^[17]利用 DH 群体,在第7号染色体上得到控制地上部 Cd 含量的 QTL qCDS7。Ueno 等[18]和 Tezuka 等[19]利用不同亲 本构建的 F,群体,也在第7号染色体上得到控制地上部 Cd 积累量的 QTL,其中 QTL qCdT7 包含的基因 OsHMA3 发生碱基突变,以该基因作为分子标记,筛选出了 Cd 污染农田修复效果显著的水稻品种 Akita 110^[19-22]。除第7号染色体外, Ueno 等^[18]和 Yan 等^[23]分别还在第2、5、11和10号染色体上定位到控制水稻 地上部 Cd 积累量的 QTL。此外,还有研究发现水稻 Cd 积累相关 QTL 如 gCd-2、gCd-7、GCC7、gCd1-3、CAL1 等 影响籽粒、叶片、根等部位 Cd 含量^[14-15,24-25]。可见,通过 QTL 定位挖掘水稻 Cd 积累的关键基因有助于阐明 水稻 Cd 积累的遗传机制,为利用分子标记辅助选择育种奠定基础。相同土壤环境条件下,相较于其他籽粒 Cd 低积累水稻品种,雅恢 2816 具有更强的地上部 Cd 积累能力,可用于 Cd 污染农田边修复边生产。前期已 对其籽粒 Cd 低积累特性进行了探讨^[26-28],但其地上部 Cd 积累的遗传稳定性和遗传机制尚不清楚。利用雅 恢 2816 杂交后代 F₁和 F₂,分析其地上部 Cd 积累相关性状的杂种优势,挖掘控制地上部 Cd 积累相关性状的 QTL,明确其地上部 Cd 积累机制,为分子标记辅助选择籽粒 Cd 低积累且地上部 Cd 高积累材料提供理论 依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

水稻雅恢 2816(R)、泸 98A(S1)、5406A(S2)、C268A(S3)、泸 98A/雅恢 2816(H1)、5406A/雅恢 2816(H2)、C268A/雅恢 2816(H3)、F₁ 群体(包含雅恢 2816 与 3 个不育系材料(泸 98A、5406A、C268A)分别杂交 得到的第一代群体 H1、H2 和 H3)、F₂群体(共 120 个株系,为杂交组合 H3 的自交后代)。由四川农业大学农 学院提供。雅恢 2816 是四川省常用杂交生产的籼稻品种,具有地上部 Cd 高积累和籽粒 Cd 低积累特性;泸 98A(S1)、5406A(S2)和 C268A(S3)均为不育系水稻材料,其地上部 Cd 含量与积累量在盆栽和大田试验中均 显著低于雅恢 2816^[26,28]。

1.2 试验设计与处理

第一期试验共设 21 个试验小区(1 m×2 m),种植亲本及 F₁,每个材料设 3 次重复。第二期试验共设 6 个 试验小区和 1 个试验大区(1 m×4 m),分别种植亲本(雅恢 2816、C268A)和 F₂。各小区随机区组排列,各区 间设 20 cm 缓冲带。每小区种植水稻 32 穴,每大区种植水稻 120 穴,每穴 1 株,株行距为 20 cm×25 cm。三叶 期栽插,采用旱地育秧,于当年 4 月播种,5 月移栽,按当地习惯进行水肥管理和病虫害防治。

试验区位于四川省成都平原某市的 Cd 污染农田,属中纬度亚热带湿润气候区,海拔 507 m,年均温15.9— 16.1 ℃,年均降水量 900—1000 mm。试验土壤基本理化性质为 pH 6.60、有机质 34.61 g/kg、全氮 2.43 g/kg、 碱解氮 100.31 mg/kg、有效磷 19.03 mg/kg、速效钾 69.25 mg/kg、全 Cd 1.92 mg/kg、有效 Cd 0.63 mg/kg。 13 样只平焦 与制冬

1.3 样品采集与制备

于水稻抽穗期,分单株采集雅恢 2816、C268A 和 F₂幼叶鲜样于 2mL 灭菌灭酶冻存管中,经液氮冷冻后储 存于-75℃超低温冰箱中,用于 DNA 提取。于水稻成熟期采样,将样品用自来水冲洗干净,根部用 20 mmol/L Na₂-EDTA 溶液浸泡 15 min 去除根表附着的 Cd²⁺,再用去离子水洗净,最后用吸水纸擦干。将植株分为根、 茎、叶、穗,根、茎、叶于 105 ℃下杀青 30 min 后,75 ℃烘干至恒重,称重后粉碎备用,穗部经风干称重后,脱粒 制成糙米备用。

1.4 测定项目及方法

土壤基本理化性质采用常规分析方法^[29];土壤全 Cd 含量采用 HNO₃-HClO₄-HF(5:1:1,体积分数)消化, 有效态 Cd 含量采用 DTPA 提取,植株 Cd 含量采用 HNO₃-HClO₄(5:1,体积分数)消化,火焰原子吸收分光光度 计(AA400P, Analytikjena, Germany)测定。

1.5 基因型分析

采用 Takara 试剂盒提取叶片 DNA。利用简化基因组测序技术(Genotyping by sequencing)进行基因型鉴 定。内切酶组合为 *Ecorl/NIaIII*(New England Biolabs, Ipswich, MA)。

1.6 QTL 定位

利用已构建的遗传连锁图谱和表型数据^[27],采用 WinQTL Cartographer v2.5 程序包的复合区间作图法 (Composite Interval Mapping, CIM)进行 QTL 定位分析。选择 0.5 cM 的扫描区间,在整个遗传图谱上逐步扫描寻找 QTL。同时,选择距离待检测区间至少 10 cM,与性状相关性显著性最强的前 15 个标记作为协变量,校正背景 QTL 效应对目标区间 QTL 分析的影响。以 LOD 值 2.5 作为阈值来判断 QTL 是否存在,若标记区间 中 LOD>2.5,则认为该区间 LOD 最高处所对应的位点为一个 QTL,并估计各个 QTL 对表型变异的贡献率。QTL 的命名基本按照 McCouch 等^[30]的方法并稍作改动:q+目标性状英文缩写名称(首字母大写)+"-"+连锁群的序号+"-"+同一连锁群上 QTL 数,本文中 QTL 名称均用斜体表示。*qSB* 指控制指地上部生物量的 QTL; *qSCdA* 指控制指地上部 Cd 积累量的 QTL。

1.7 数据处理

地上部 Cd 积累量=茎生物量×茎 Cd 含量+叶生物量×叶 Cd 含量,超亲优势=(F₁表型值-高值亲本表型

值)/高值亲本表型值×100%,中亲优势=(F₁表型值-双亲表型平均值)/双亲平均值×100%。 统计分析在 SPSS 24.0 中进行,多重比较选择 LSD 法;图表制作采用 Origin 8.0 和 Excel 2013。

2 结果与分析

2.1 F₁地上部 Cd 积累相关性状的杂种优势

亲本及其 F₁地上部生物量、Cd 含量和 Cd 积累量差异显著(表1,表2)。总体而言,F₁地上部生物量显著 高于雅恢 2816,除 H2,杂交组合 H1 和 H3 与其不育系母本无显著差别。H1、H2 和 H3 地上部生物量分别为 雅恢 2816 的 1.43、1.35 和 1.43 倍。所有杂交组合地上部 Cd 含量显著低于雅恢 2816,显著高于不育系母本。 所有杂交组合地上部 Cd 积累量显著高于各不育系母本,与雅恢 2816 无显著差别。H1、H2 和 H3 地上部 Cd 积累量分别为雅恢 2816 的 1.17、1.16 和 1.16 倍。F₁地上部 Cd 积累相关性状表现出较好的中/超亲优势,Cd 积累相关性状杂种优势受遗传效应的影响,C268A/雅恢 2816 后代表现较好,可利用其 F₂进行遗传特性分析。

Table 1 Comparison of differences of traits related to shoot Cd accumulation between rice parents and their F ₁ hybrids									
水稻材料 Rice lines	生物量 Biomass/ (g/株)	Cd 含量 Cd concentration/ (mg/kg)	Cd 积累量 Cd accumulation/ (µg/株)	水稻材料 Rice lines	生物量 Biomass/ (g/株)	Cd 含量 Cd concentration/ (mg/kg)	Cd 积累量 Cd accumulation/ (µg/株)		
R	27.51±2.16c	8.88±0.22a	245.28±24.58ab	H1	39.42±1.71ab	$7.32 \pm 0.28 \mathrm{bc}$	288.57±14.63a		
S1	40.57±0.58a	$5.02{\pm}0.35{\rm d}$	$204.01 {\pm} 16.74 {\rm b}$	H2	$37.22 \pm 0.49 \mathrm{ab}$	$7.64 \pm 0.17 \mathrm{b}$	284.07±3.38a		
S2	$29.41 \pm 2.35c$	6.77±0.11c	$198.61{\pm}12.48{\rm bc}$	Н3	39.41±2.67ab	$7.23 \pm 0.1 \mathrm{bc}$	285.03±20.83a		
S3	$35.08{\pm}1.18\mathrm{b}$	$4.29 \pm 0.25 e$	$150.82 \pm 13.38c$						

表1 亲本及其 F₁地上部 Cd 积累相关性状

字母代表不同水稻材料,即R:雅恢2816, S1: 泸98A, S2: 5406A, S3: C268A, H1: 泸98A/雅恢2816杂交第一代, H2: 5406A/雅恢2816;杂交 第一代, H3: C268A/雅恢2816杂交第一代;不同小写字母表示不同水稻间差异显著(P<0.05)

表 2 F ₁ 地上部 Cd 积累相关性状的中/超亲优势	
---	--

Table 2	Mid-/Super-parent	heterosis of	traits related	to shoot	Cd accumulation	in F ₁ hybrids
---------	-------------------	--------------	----------------	----------	-----------------	---------------------------

杂交组合 Hybrids	中亲	〔优势 Mid-parent hetero	sis/%	超亲优势 Super-parent heterosis/%			
	生物量 Cd 含量 Cd 积累		Cd 积累量	生物量	Cd 含量	Cd 积累量	
·	Biomass	Cd concentration	Cd accumulation	Biomass	Cd concentration	Cd accumulation	
H1	15.83	18.67	28.46	-2.81	-17.56	17.65	
H2	30.76	8.37	27.99	26.53	-14.04	15.82	
H3	25.93	24.53	43.92	12.34	-18.64	16.21	

2.2 F₂地上部 Cd 积累相关性状的遗传特性分析

雅恢 2816 地上部 Cd 含量、Cd 积累量显著高于 C268A,生物量无显著差异(表 3)。雅恢 2816 地上部 Cd 含量和 Cd 积累量分别为 C268A 的 2.17 和 2.03 倍。F₂地上部生物量、Cd 含量和 Cd 积累量表现为连续分布 和中/超亲分离,变异系数分别为 51.14%、15.18%和 57.79%,其中 Cd 积累量变异较大。说明地上部 Cd 积累 相关性状均为数量性状,适合进行 QTL 定位。

	衣 5 示 平 与	F ₂ 地上部 Cd	1 积系怕大性状	的衣型受异						
Table 3 Phenotypic variation of traits related to shoot Cd accumulation in rice parents and F ₂ population										
	亲本 P	arents	F2群体 F2 population							
性状 Trait	雅恢 2816	C268A	最大值 Maximum	最小值 Minimum	标准差 Standard deviation	平均值 Avgerage value	变异系数 Coefficient variation/%			
生物量 Biomass/(g/株)	40.46	43.18	93.70	7.56	19.06	37.27	51.14%			
Cd 含量 Cd concentration/(mg/kg)	9.19*	4.23	11.37	5.93	1.26	8.28	15.18%			
Cd 积累量 Cd accumulation/(µg/株)	371.77 *	182.77	1007.00	57.95	179.55	310.69	57.79%			

*表示两亲本间差异显著(P<0.05)

对 F₂地上部 Cd 积累量与各性状间进行相关性分析(表 4),除根和糙米 Cd 含量外,地上部 Cd 积累量与 地上部生物量、Cd 含量,根、糙米的生物量、Cd 积累量和根-地上部转移系数呈极显著正相关,与地上部-籽粒 转移系数呈极显著负相关。说明水稻地上部 Cd 积累量与地上部生物量、Cd 含量,根、糙米的生物量、Cd 积累 量和根-地上部转移系数、变化趋势相同,而与根-地上部转移系数变化趋势相反。

Table 4 Correlation analysis betw	veen shoot Cd accur	nulation and traits related to organs Cd accumulati	ion in F ₂ population
	地上部 Cd 积累量		地上部 Cd 积累量
性状	Shoot Cd	性状	Shoot Cd
Trait	accumulation/	Trait	accumulation/
	(µg/株)		(µg/株)
地上部生物量 Shoot Biomass/(g/株)	0.953 **	糙米生物量 Grain Biomass/(g/株)	0.263 **
地上部 Cd 含量 Shoot Cd concentration/(mg/kg)	0.356 **	糙米 Cd 含量 Grain Cd concentration/(mg/kg)	0.067
根生物量 Root Biomass/(g/株)	0.439 **	糙米 Cd 积累量 Grain Cd accumulation/(µg/株)	0.279 **
根 Cd 含量 Root Cd concentration/(mg/kg)	0.164	根-地上部转移系数 Transfer factor of Cd to shoot	0.458 **
根 Cd 积累量 Root Cd accumulation/(µg/株)	0.458 **	地上部-籽粒转移系数 Transfer factor of Cd to grain	-0.422 **

表 4 F₂地上部 Cd 积累量与各器官 Cd 积累相关性状之间的相关性分析

**表示各性状相关性极显著(P<0.01),*表示各性状相关性显著(P<0.05)

2.3 F₂地上部 Cd 积累相关性状 QTL 定位

利用 C268A 与雅恢 2816 构建的 F₂作图群体,共定位到 4 个与地上部生物量和 Cd 积累量紧密连锁的主 效 QTL 位点(表 5,图 1)。其中,地上部生物量紧密连锁的 QTL *qSB*-6 位于第 6 号染色体,物理区间大小为 4.28cM,表型贡献率为 14.4%。3 个控制地上部 Cd 积累量的 QTL *qSCdA*-4、*qSCdA*-6-1 和 *qSCdA*-6-2 分别位于 第 4、6 和 6 号染色体,其物理区间大小分别是 9.64、13.5 和 2.43cM,表型贡献率分别为 11.7%、14.4% 和 10.6%。4 个 QTL 的加性效应均为负,表明控制增加地上部生物量及 Cd 积累量的基因均来自父本雅恢 2816。 在第 6 号染色体上,区间 marker 04171-marker 04197 同时控制地上部生物量与 Cd 积累量,其物理区间大小为 3.28cM。

性状		染色体编号	标记区间	阈值	物理区间 Physical interval	表型贡献率 <i>R²/%</i>	加性效应 Additive effect
Trait	QTL	Chromosome	Maker	LOD			
ITat		No.	interval	LOD			
地上部生物量 Shoot Biomass	<i>qSB</i> -6	6	marker 04171-marker 04197	4.06	17.24-21.52	14.4	-8.94
地上部 Cd 积累量	qSCdA-4	4	marker 03334-marker 03367	3.25	92.98-102.62	11.7	-94.78
Shoot Cd Accumulation	qSCdA- 6- 1	6	marker 04124-marker 04200	4.06	9.77-23.27	14.4	-91.97
	<i>qSCdA</i> -6-2	6	marker 04225-marker 04239	2.92	26.26-28.69	10.6.	-81.18

表 5 F₂地上部 Cd 积累相关性状 QTL 定位 Table 5 QTL mapping of traits related to shoot Cd accumulation in F₂ population

3 讨论

3.1 水稻地上部 Cd 积累的杂种优势及遗传机理

Cd 胁迫下,植物的正常生长发育会受到影响,首先体现在根、茎、叶生物量的变化^[32]。本研究中,杂交组 合泸 98A/雅恢 2816、5406A/雅恢 2816 和 C268A/雅恢 2816 的地上部生物量显著高于父本雅恢 2816,表现出 中/超亲优势,表明利用杂交育种,可以明显提高水稻的生物量。同时,各杂交组合地上部 Cd 含量和 Cd 积累 量显著高于不育系母本,表现出中/超亲优势。前期发现,在 Cd 污染大田和不同 Cd 处理的盆栽试验中,各杂 交组合籽粒 Cd 含量显著低于双亲,表现出明显的负向超亲优势^[31,33]。研究表明,杂交水稻对 Cd 的积累主要 受双亲遗传背景影响^[34]。雅恢 2816 具有籽粒 Cd 低积累、地上部 Cd 高积累特性,可稳定遗传给后代。因此, 以上杂交组合可应用于 Cd 污染农田的边生产边修复。具有杂种优势的性状一般属数量性状,受多基因控

Chr6







QTL qT-r-s-6-2、qGB-4 和 qRCdA-6 来源于前期研究结果^[27,31]

制,亲本材料的遗传背景差异可能导致杂交组合 Cd 积累量存在较大差异^[34-35],从分子层面深入挖掘水稻 Cd 积累的遗传机制可提高杂种优势利用效率。本研究利用地上部 Cd 积累特性差异显著的亲本材料,在第 4 和 6 号染色体上得到控制地上部 Cd 积累量的 QTL qSCdA-4、qSCdA-6-1 和 qSCdA-6-2,与前人结果比较,是新的 控制水稻地上部 Cd 积累量的主效 QTL。

3.2 水稻 Cd 积累相关性状遗传关系分析

了解水稻地上部与籽粒 Cd 积累的遗传关系对于实现 Cd 污染农田边生产边修复目标至关重要。Wang 等^[36]利用 RIL 群体,在 7 号染色体上定位到同时控制水稻地上部 Cd 含量和糙米 Cd 含量的 QTL *qCd*7.1。 Ishikawa 等^[37]利用 BILs 群体,在第 2 号染色体上控制籽粒 Cd 含量的 QTL *qGCd*2 与控制地上部 Cd 含量的 QTL *qSCd*2 紧密连锁,在第 7 号染色体上控制籽粒 Cd 含量 QTL *qGCd*7 和地上部 Cd 含量的 QTL *qSCd*7 完全重叠。Hu 等^[38]与 Abe 等^[39]在 3 号染色体上分别定位到控制糙米 Cd 含量的 QTL *qCCBR*3 和控制地上部 Cd 含量的 QTL *qIGCd*3,二者存在重叠区域。Ueno 等^[18]和 Liu 等^[15]利用不同的作图群体,以水稻地上部 Cd 积累量 与糙米 Cd 含量为指标进行 QTL 定位,在第 2 号染色体上,两个 QTL 存在重叠部分。本研究中控制水稻地上 部 Cd 积累量的 QTL 与前期得到的 4 个控制糙米 Cd 含量的 QTL 位点位于不同的染色体^[27],与 Wang 等^[36]和 Liu 等^[15]结果不同。这可能与不同研究的双亲遗传差异和群体类型不同有关^[40]。本研究中,控制糙米 Cd 含 量和地上部 Cd 积累量的 QTL 增效等位基因来源不同,且定位于不同染色体,表明源于雅恢 2816 的等位基因 不会同时增加地上部 Cd 积累量和糙米 Cd 含量。

水稻地上部 Cd 积累量与各器官生物量、Cd 积累量、转移系数之间存在明显的相关性,且在4 号和6 号染 色体出现 QTL 集簇区 Cl4-1、Cl6-1、Cl6-2 和 Cl6-3。在4 号染色体上,集簇区 Cl4-1 发生 qGB-4 与 qSCdA-4 重 叠,且加性效应一致^[31],表明 Cl4-1 能增加地上部 Cd 积累量并提高稻米产量。经基因预测,在集簇区 Cl4-1 内含有基因 Os04g0613000(OsZIP3)。研究发现, OsZIP3 在水稻节点表达较高, 负责扩大维管束的木质部中 Zn 的卸载,从而调控 Zn 在地上部的分配^[41]。Cd 和 Zn 具有相似的化学性质,一些 Zn 转运蛋白同时负责 Cd 的转运^[42],因而推测 OsZIP3 可能参与了 Cd 的分配,进一步研究 OsO4g0613000 的功能,有助于解释雅恢 2816 地上部 Cd 积累机制。亲本雅恢 2816 具有较高的根-地上部转移系数,且地上部--籽粒转移系数较低,使其具 有籽粒 Cd 低积累、地上部 Cd 高积累特性。相关研究表明, OsHMA2 和 OsHMA3 在 Cd 从根向地上部的转运过 程中起到重要作用, OsHMA2 参与 Cd 向木质部的装载^[43], 而 OsHMA3 能将 Cd 区隔化在根细胞的液泡 中^[20,44]。但在本研究中同时控制根-地上部转移和地上部 Cd 积累量的集簇区 Cl6-1 不包含 OsHMA2 和 OsHMA3,有望在集簇区 Cl6-1 挖掘到类似功能的新基因。集簇区 Cl6-2 发生 qSCdA-6-1、qSB-6、qRCdA-6 重 叠, Cl6-3 发生 qSCdA-6-1、qRCdA-6 重叠^[31], F,地上部 Cd 积累量与地上部生物量、根 Cd 积累量呈极显著正相 关,可见增加地上部生物量和根系 Cd 积累量,能有效提高水稻对 Cd 的提取效率。控制数量性状的 OTL 在染 色体上成簇分布的现象可见于绝大多数研究中,这可能是同一基因控制不同性状的表达,也可能是控制多个 性状表达的基因紧密连锁的结果^[39,45],后续可针对重叠区段进行深入研究,以期挖掘控制地上部 Cd 积累的 关键基因。

4 结论

籽粒 Cd 低积累亲本材料雅恢 2816 具有地上部 Cd 高积累特性,且能稳定遗传。地上部 Cd 积累相关性 状由多基因控制,F₂代中/超亲优势明显。QTL qSB-6 控制地上部生物量,QTL qSCdA-4、qSCdA-6-1和 qSCdA-6-2 控制地上部 Cd 积累量。区间 marker 04171-marker 04197 同时关联着水稻地上部生物量(qSB-6)与地上部 Cd 积累量(qSCdA-6-1),且与控制籽粒 Cd 含量的 QTL 未发生重叠,该区间为后期利用分子标记辅助育种同 时实现籽粒 Cd 低积累、地上部 Cd 高积累提供可能。

参考文献(References):

- [1] Touceda-González M, Brader G, Antonielli L, Ravindran V B, Waldner G, Friesl-Hanl W, Corretto E, Campisano A, Pancher M, Sessitsch A. Combined amendment of immobilizers and the plant growth-promoting strain *Burkholderia phytofirmans* PsJN favours plant growth and reduces heavy metal uptake. Soil Biology & Biochemistry, 2015, 91:140-150.
- [2] Du B Y, Zhou J, Lu B X, Zhang C, Li D M, Zhou J, Jiao S J, Zhao K Q, Zhang H H. Environmental and human health risks from cadmium

exposure near an active lead-zinc mine and a copper smelter, China. Science of the Total Environment, 2020, 720:137585.

- [3] Tang L, Deng S H, Tan D, Long J M, Lei M. Heavy metal distribution, translocation, and human health risk assessment in the soil-rice system around Dongting Lake area, China. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(17):17655-17665.
- [4] Song Y, Wang Y, Mao W F, Sui H X, Yong L, Yang D J, Jiang D G, Zhang L, Gong Y Y. Dietary cadmium exposure assessment among the Chinese population. PLoS One, 2017, 12(5):e0177978.
- [5] Hu Y A, Cheng H F, Tao S. The challenges and solutions for cadmium-contaminated rice in China: a critical review. Environment International, 2016, 92-93:515-532.
- [6] Murakami M, AE N, Ishikawa S, Ibaraki T, Ito M. Phytoextraction by a high-Cd-accumulating rice: reduction of Cd content of soybean seeds. Environmental Science & Technology, 2008, 42(16):6167-6172.
- [7] Zhao J L, Yang W, Zhang S H, Yang T F, Liu Q, Dong J F, Fu H, Mao X X, Liu B. Genome-wide association study and candidate gene analysis of rice cadmium accumulation in grain in a diverse rice collection. Rice, 2018, 11(1):61.
- [8] 肖清铁, 王经源, 郑新宇, 戎红, 张国君, 王良华, 谢惠玲, 李艺, 陈珊, 林瑞余, 林文雄. 水稻根系响应镉胁迫的蛋白质差异表达. 生态 学报, 2015, 35(24):8276-8283.
- [9] Rao Y C, Li Y Y, Qian Q. Recent progress on molecular breeding of rice in China. Plant Cell Reports, 2014, 33(4):551-564.
- [10] Chen J G, Zou W L, Meng L J, Fan X R, Xu G H, Ye G Y. Advances in the uptake and transport mechanisms and QTLs mapping of cadmium in rice. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(14):3417.
- [11] Sehgal D, Singh R, Rajpal V R. Quantitative trait loci mapping in plants: concepts and approaches//Rajpal V R, Rao S R, Raina S N, eds. Molecular Breeding for Sustainable Crop Improvement. Cham:Springer, 2016:31-59.
- [12] 邹文莉, 冷语佳, 李娇龙, 孟丽君, 贺浩华, 陈景光, 叶国友. 水稻镉积累的吸收与转运机制及镉胁迫相关 QTL 定位的研究. 分子植物育种, 2018, 16(24):8128-8141.
- [13] Yoneyama T, Ishikawa S, Fujimaki S. Route and regulation of zinc, cadmium, and iron transport in rice plants (*Oryza sativa* L.) during vegetative growth and grain filling: metal transporters, metal speciation, grain Cd reduction and Zn and Fe biofortification. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(8):19111-19129.
- [14] Luo J S, Huang J, Zeng D L, Peng J S, Zhang G B, Ma H L, Guan Y, Yi H Y, Fu Y L, Han B, Lin H X, Qian Q, Gong J M. A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice. Nature Communications, 2018, 9(1):645.
- [15] Liu W Q, Pan X W, Li Y C, Duan Y H, Min J, Liu S X, Liu L C, Sheng X N, Li X X. Identification of QTLs and validation of qCd-2 associated with grain cadmium concentrations in rice. Rice Science, 2019, 26(1):42-49.
- [16] Huang Y, Sun C X, Min J, Chen Y L, Tong C, Bao J S. Association mapping of quantitative trait loci for mineral element contents in whole grain rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(50):10885-10892.
- [17] Xue D W, Chen M C, Zhang G P. Mapping of QTLs associated with cadmium tolerance and accumulation during seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica, 2009, 165(3):587-596.
- [18] Ueno D, Kono I, Yokosho K, Ando T, Yano M, Ma J F. A major quantitative trait locus controlling cadmium translocation in rice (*Oryza sativa*). New Phytologist, 2009, 182(3):644-653.
- [19] Tezuka K, Miyadate H, Katou K, Kodama I, Matsumoto S, Kawamoto T, Masaki S, Satoh H, Yamaguchi M, Sakurai K, Takahashi H, Satoh-Nagasawa N, Watanabe A, Fujimura T, Akagi H. A single recessive gene controls cadmium translocation in the cadmium hyperaccumulating rice cultivar Cho-Ko-Koku. Theoretical and Applied Genetics, 2010, 120(6):1175-1182.
- [20] Miyadate H, Adachi S, Hiraizumi A, Tezuka K, Nakazawa N, Kawamoto T, Katou K, Kodama I, Sakurai K, Takahashi H, Satoh-Nagasawa N, Watanabe A, Fujimura T, Akagi H. OsHMA3, a P_{1B}-type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles. New Phytologist, 2011, 189(1):190-199.
- [21] Murakami M, Nakagawa F, AE N, Ito M, Arao T. Phytoextraction by rice capable of accumulating Cd at high levels: reduction of Cd content of rice grain. Environmental Science & Technology, 2009, 43(15):5878-5883.
- [22] Takahashi R, Ito M, Katou K, Sato K, Nakagawa S, Tezuka K, Akagi H, Kawamoto T. Breeding and characterization of the rice (*Oryza sativa* L.) line "Akita 110" for cadmium phytoremediation. Soil Science and Plant Nutrition, 2016, 62(4):373-378.
- [23] Yan Y F, Lestari P, Lee K J, Kim M Y, Lee S H, Lee B W. Identification of quantitative trait loci for cadmium accumulation and distribution in rice (*Oryza sativa*). Genome, 2013, 56(4):227-232.
- [24] Liu C L, Gao Z Y, Shang L G, Yang C H, Ruan B P, Zeng D L, Guo L B, Zhao F J, Huang C F, Qian Q. Natural variation in the promoter of OsHMA3 contributes to differential grain cadmium accumulation between Indica and Japonica rice. Journal of Integrative Plant Biology, 2020, 62 (3):314-329.
- [25] Pan X W, Li Y C, Liu W Q, Liu S X, Min J, Xiong H B, Dong Z, Duan Y H, Yu Y Y, Li X X. QTL mapping and candidate gene analysis of

- [26] 李堃, 余海英, 黄富, 陈光登, 张路. 镉低积累水稻亲本及其杂交组合镉积累特征分析. 农业环境科学学报, 2016, 35(8):1444-1450.
- [27] Guo J Y, Li K, Zhang X Z, Huang H G, Huang F, Zhang L, Wang Y D, Li T X, Yu H Y. Genetic properties of cadmium translocation from straw to brown rice in low-grain cadmium rice (*Oryza sativa* L.) line. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 182:109422.
- [28] Zhang H J, Zhang X Z, Li T X, Huang F. Variation of cadmium uptake, translocation among rice lines and detecting for potential cadmium-safe cultivars. Environmental Earth Sciences, 2014, 71(1):277-286.
- [29] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京:中国农业科技出版社, 1999.
- [30] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E. Report on QTL nomenclature. Rice Genet Newsl, 1997, 14:11-13.
- [31] 李堃. 镉低积累水稻遗传分析及镉积累相关性状 QTL 定位[D]. 雅安:四川农业大学, 2017.
- [32] 顾翠花, 王懿祥, 白尚斌, 吴建强, 杨一. 四种园林植物对土壤镉污染的耐受性. 生态学报, 2015, 35(8):2536-2544.
- [33] Li K, Yu H Y, Li T X, Chen G D, Huang F. Cadmium accumulation characteristics of low-cadmium rice (*Oryza sativa* L.) line and F₁ hybrids grown in cadmium-contaminated soils. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(21):17566-17576.
- [34] Sun L, Xu X X, Jiang Y R, Zhu Q H, Yang F, Zhou J Q, Yang Y Z, Huang Z Y, Li A H, Chen L H, Tang W B, Zhang G Y, Wang J R, Xiao G Y, Huang D Y, Chen C Y. Genetic diversity, rather than cultivar type, determines relative grain Cd accumulation in hybrid rice. Frontiers in Plant Science, 2016, 7:1407.
- [35] Yu Y H, Zhu M M, Cui Y, Liu Y, Li Z Y, Jiang N, Xu Z J, Xu Q, Sui G M. Genome sequence and QTL analyses using backcross recombinant inbred lines (BILs) and BILF₁ lines uncover multiple heterosis-related loci. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3):780.
- [36] Wang C C, Tang Z, Zhuang J Y, Tang Z, Huang X Y, Zhao F J. Genetic mapping of ionomic quantitative trait loci in rice grain and straw reveals OsMOT1;1 as the putative causal gene for a molybdenum QTL qMo8. Molecular Genetics and Genomics, 2020, 295(2):391-407.
- [37] Ishikawa S, Abe T, Kuramata M, Yamaguchi M, Ando T, Yamamoto T, Yano M. A major quantitative trait locus for increasing cadmium-specific concentration in rice grain is located on the short arm of chromosome 7. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(3):923-934.
- [38] Hu D W, Sheng Z H, Li Q L, Chen W, Wei X J, Xie L H, Jiao G A, Shao G N, Wang J L, Tang S Q, Hu P S. Identification of QTLs associated with cadmium concentration in rice grains. Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(7):1563-1573.
- [39] Abe T, Nonoue Y, Ono N, Omoteno M, Kuramata M, Fukuoka S, Yamamoto T, Yano M, Ishikawa S. Detection of QTLs to reduce cadmium content in rice grains using LAC23/Koshihikari chromosome segment substitution lines. Breeding Science, 2013, 63(3):284-291.
- [40] 林晗, 徐江民, 胡瑚倩, 郑安, 徐婉璐, 漏平, 王跃星, 曾大力, 饶玉春. 水稻耐金属离子胁迫的 QTL 分析. 中国水稻科学, 2018, 32 (1):23-34.
- [41] Sasaki A, Yamaji N, Mitani-Ueno N, Kashino M, Ma J F. A node-localized transporter OsZIP3 is responsible for the preferential distribution of Zn to developing tissues in rice. The Plant Journal, 2015, 84(2):374-384.
- [42] Tan L T, Zhu Y X, Fan T, Peng C, Wang J R, Sun L, Chen C Y. OsZIP7 functions in xylem loading in roots and inter-vascular transfer in nodes to deliver Zn/Cd to grain in rice. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 512(1):112-118.
- [43] Takahashi R, Ishimaru Y, Shimo H, Ogo Y, Senoura T, Nishizawa N K, Nakanishi H. The OsHMA2 transporter is involved in root-to-shoot translocation of Zn and Cd in rice. Plant, Cell & Environment, 2012, 35(11):1948-1957.
- [44] Sasaki A, Yamaji N, Ma J F. Overexpression of OsHMA3 enhances Cd tolerance and expression of Zn transporter genes in rice. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(20):6013-6021.
- [45] Sato H, Shirasawa S, Maeda H, Nakagomi K, Kaji R, Ohta H, Yamaguchi M, Nishio T. Analysis of QTL for lowering cadmium concentration in rice grains from 'LAC23'. Breeding Science, 2011, 61(2):196-200.