

东乡野生稻低温发芽力 QTL 定位及超级稻耐冷改良

胡涛¹, 宋佳瑜¹, 吴爱婷¹, 刘思彤¹, 郭志富¹, 姜秀娟¹, 高继平¹, 赵明辉¹, 黎毛毛²

(¹ 沈阳农业大学水稻研究所, 沈阳 110866; ² 江西省农业科学院水稻研究所, 南昌 330200)

摘要: 低温发芽力是限制直播稻种子成苗的主要因素之一。研究低温发芽力遗传及分子机制对选育适宜直播的优良水稻新品种意义重大。本研究利用东乡野生稻和超级稻沈农 265 通过多代回交和自交的方法构建的回交重组自交系群体, 根据农艺性状和低温发芽力的综合表现, 筛选了 10 份综合农艺性状良好且低温发芽力较强的株系, 为超级稻沈农 265 低温发芽力的改良提供了基础材料。采用集团分离分析法 (BSA), 共检测到 4 个标记与低温发芽力连锁, 分别是 2 号染色体 RM324 和 RM166、5 号染色体 RM534 和 9 号染色体 RM257。进一步通过连锁分析, 鉴定出 15 个低温发芽力相关 QTL, 分别位于第 1、2、4、5、6、7 和 11 号染色体, 这些 QTL 的 LOD 值介于 2.57 ~ 5.00 之间, QTL 贡献率介于 11.48% ~ 17.72% 之间。其中位于 2 号染色体的 *qGP-2-1* 和 *qGP-2-4* 与 BSA 法检测到的连锁标记 RM324 和 RM166 一致, 这两个位点可用于低温发芽力分子标记辅助选择。

关键词: 东乡野生稻; 超级稻沈农 265; 回交重组自交系; 低温发芽力; QTL 定位

QTLs Mapping for Low Temperature Germinability in A Population of Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and Super Rice Variety

HU Tao¹, SONG Jia-yu¹, WU Ai-ting¹, LIU Si-tong¹, GUO Zhi-fu¹,
JIANG Xiu-juan¹, GAO Ji-ping¹, ZHAO Ming-hui¹, LI Mao-mao²

(¹ Rice Research Institute of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866;

² Rice Research Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200)

Abstract: The germination rate under relatively low temperature condition (GR-LT) is one of the main factors that restricts the development of direct-seeding rice. Understanding the genetic and molecular mechanism of GR-LT is significant interest in breeding for elite varieties in direct-seeding rice. In this study, 140 backcross inbred lines (BILs), derived from a japonica super rice shennong265 (SN265) as the recurrent parent and the Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) as the donor parent, were used for QTL mapping of GR-LT traits. According to the comprehensive performance under low temperature, 10 lines with GR-LT and good agronomic traits were selected and served as valuable resources for improving GR-LT in super rice, SN265. The Bulk Segregate Analysis (BSA) revealed four genetic markers RM324 and RM166 on chromosome 2, RM534 on chromosome 5 and RM257 on chromosome 9, that linked to the GR-LT. A total of 15 QTLs were detected on chromosomes 1, 2, 4, 5, 6, 7 and 11 by linkage map, which explained 11.48% ~ 17.72% of the phenotypic variance. Of that, *qGP-2-1* and *qGP-2-4* were associated with RM324 and RM166 that served as the selection markers for selecting HGR-LT in rice breeding.

Key words: Dongxiang wild rice; super rice shennong265; backcross inbred lines; low temperature germinability; QTL mapping

收稿日期: 2017-11-28 修回日期: 2018-01-11 网络出版日期: 2018-04-25

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180425.1618.002.html>.

基金项目: 辽宁省自然科学基金 (201602670); “十三五”国家重点研发计划 (2016YFD0200707)

第一作者研究方向为水稻逆境生物学。E-mail: 2097826389@qq.com

通信作者: 赵明辉, 研究方向为水稻逆境生物学。E-mail: zmh560@163.com

水稻直播是一种轻型、高效且节水的栽培方式,日益受到人们的重视^[1]。直播稻种子成苗率与低温发芽力密切相关^[2]。因此,挖掘和定位低温发芽力优异等位基因,培育新的或改良现有水稻品种的低温发芽力,对于促进直播稻的发展具有重要意义。

随着分子标记技术的发展,前人利用多种遗传群体如重组自交系、回交重组自交系、加倍单倍体等,进行了水稻种子低温发芽力的基因定位^[3-12]。但由于定位群体和定位方法的限制,多数 QTL 定位区间较大,效应较低,可供直接利用的分子标记较少。目前为止只克隆了 1 个低温发芽力相关的 QTL^[13-15]。

东乡野生稻是迄今发现全球分布最北的普通野生稻,耐冷性极强,在江西自然条件下能越冬,最低温为 $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时地下茎仍能保持旺盛生命力,且生长起点温度低,能在低于 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温度下萌发生长,是水稻抗冷育种的优异种质资源^[16-17],引起了植物学家和水稻育种家的广泛关注。针对东乡野生稻的耐冷性,已定位了一批耐冷性相关的 QTL,如苗期耐冷性 QTL^[18-19]、孕穗期耐冷性 QTL^[20]等,但针对其低温发芽力的研究较少。前人采用杂交和回交的方式,将东乡野生稻中的耐冷基因导入到栽培稻中,已成功筛选到一批耐冷性改良的品系^[21]。证明了利用东乡野生稻耐冷性改良栽培稻的可行性。课题组前期试验结果表明,超级稻 SN265 的低温发芽力较弱,限制了其作为直播稻种子的应用。为此,本研究利用野生稻中的耐冷基因,采用高代回交再自交的方法,充分挖掘和利用野生稻中的优异耐冷基因,改良超级稻低温发芽力。

1 材料与方法

1.1 材料

东乡野生稻为父本,超级稻沈农 265(SN265)为母本杂交得到 F_1 ;再以 SN265 为轮回亲本分单株连续回交 4 次,获得 BC_4F_1 株系,并根据其表型挑选产量性状较优的单株自交,采用一粒传法获得 BC_4F_6 ,共 140 个回交重组自交系。

1.2 农艺性状调查

各株系和亲本 SN265 于 2017 年种植于沈阳农业大学水稻研究所试验地。4 月 20 日播种,5 月 25 日移栽,移栽规格 $33.3\text{ cm} \times 16.5\text{ cm}$,每穴 1 苗,亲本和各株系各种植 4 行,每行种植 10 株。成熟时每株系选取具有代表性的 5 穴,分别考察株

高、穗长、穗数、穗粒数、结实率和千粒重,结果取平均值。

1.3 低温发芽力的鉴定

有研究表明种子在 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 10 d 的发芽表现与在 $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下的结果相似,并与 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下的发芽率有高度的相关性^[7],因此,本研究以 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 作为水稻种子耐低温发芽力的鉴定温度,从中筛选优异耐冷材料。用盐水法(NaCl 浓度为 100 g/L)挑选出饱满的水稻种子,然后用 3% 次氯酸钠消毒 20 min,清洗后放于 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 2 d,打破休眠。亲本 SN265 和 140 份自交系材料分别挑选两份 50 粒饱满一致的种子,均匀置于垫有双层湿润滤纸的发芽盒中。一份放置于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中处理 5 d,统计种子发芽率,若发芽率超过 80% 则认为打破休眠。另一份在 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中低温处理 7 d,统计发芽种子数量,计算发芽率。再转移到 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中处理 5 d,再次计算发芽率,若发芽率超过 80% 则认为低温处理下发芽率未受次生休眠的影响。3 次重复,以其平均值作为统计单位^[22-24]。东乡野生稻由于其具有独特的生存环境,且生长发育特性也不同于栽培稻,且其种子量较少,因此,未对其农艺性状和低温发芽率进行调查。但从亲本 SN265 和其杂交并回交后代的低温发芽率的变异范围($0 \sim 100\%$)可以推断,东乡野生稻中含有耐低温发芽力的优异基因,因此,本研究默认其低温发芽率在 $90\% \sim 100\%$ 之间。

1.4 耐冷株系的筛选

根据株高和部分产量性状的表现,选择株高和产量性状与 SN265 差异不明显,但低温发芽力显著高于 SN265 的株系(低温发芽率 $> 80\%$),作为候选优异耐冷株系。

1.5 QTL 分析方法

利用 Excel 2003 和 SPASS 19 软件对 140 个株系的低温发芽力及各农艺性状进行统计分析。根据低温发芽力鉴定结果,将发芽率在 90% 以上和 10% 以下定为极端耐冷和极端不耐冷材料。从 BC_4F_6 的 140 份株系中分别选取极端耐冷和极端不耐冷材料各 7 株,提取 DNA 后将其 DNA 等量混合,形成耐冷和不耐冷 2 个混池。选取均匀分布的 185 个 SSR 标记,筛选在亲本和混池间具有多态性的标记。采用单因素方差分析法确定与低温发芽力基因连锁的分子标记。当 P 值 < 0.01 时,认为该标记与控制低温发芽力性状的基因连锁。

利用亲本间有多态性的 SSR 标记对 BC_4F_6 各株

系进行基因型鉴定,采用 IciMapping4.1 软件,进行低温发芽力 QTL 定位和效应检测。采用 LOD = 2.5 作为阈值判断 QTL 是否存在。

2 结果与分析

2.1 各株系农艺性状

BC₄F₆群体中株高和部分产量性状的变异幅度较大(表1)。株高的变异范围在 57.00 ~ 122.67 cm 之间,平均为 95.31 cm;穗数介于 6.00 ~ 19.00

穗之间,平均为 12.00 穗;穗粒数介于 76.00 ~ 182.00 粒之间,平均为 134.69 粒;结实率介于 75.00% ~ 97.00% 之间,平均为 92%;千粒重最大 30.91 g,多数株系的千粒重在 25 ~ 27 g 之间。BC₄F₆群体有很多株系与产量密切相关的几个性状都与 SN265 接近或相当,农艺性状表现较好。穗长、穗数、穗粒数、结实率和千粒重偏度均为正值,说明 BC₄F₆群体中多数株系在产量性状上优于均值。

表 1 株高和产量性状统计分析

Table 1 Statistic analysis of plant height and yield-related traits

指标 Index	株高 (cm) PH	穗长 (cm) PL	有效穗数 NTPP	每穗粒数 NFGP	结实率 (%) SSR	千粒重 (g) TGW
平均值 ± 标准差 Mean ± SD	95.31 ± 8.72	17.03 ± 1.31	12.00 ± 2.92	134.69 ± 18.86	92.00 ± 2.89	25.75 ± 3.58
峰度 Kurtosis	4.20	3.51	2.65	3.34	3.41	3.84
偏度 Partia	-0.45	2.52	0.16	0.12	2.03	1.49
最大值 Max.	122.67	25.76	19.00	182.00	97.00	30.91
最小值 Min.	57.00	15.00	6.00	76.00	75.00	19.46

PH: Plant height, PL: Panicle length, NTPP: Number of panicles per plant, NFGP: Number of filled grains per panicle, SSR: Seed-setting rate, TGW: 1 000-grain weight, the same as below

2.2 各株系低温发芽力鉴定

以 15 ℃冷处理 7 d 的种子发芽率作为指标进行低温发芽力的鉴定,亲本 SN265 的低温发芽率为 35%。各株系发芽率呈现 0 ~ 100% 的连续分布,且表现出超亲现象(图 1),表明低温发芽力是由多基因控制的数量性状。140 个株系中 61.4% 的株系发芽率高于 SN265,且发芽率 80% 以上的株系占 12.1%,90% 以上的占 5%。

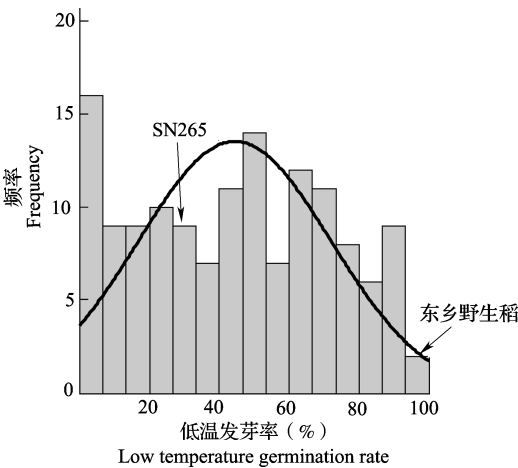


图 1 BC₄F₆株系种子低温发芽率频数分布图

Fig. 1 Frequency distribution of seed germination in BC₄F₆ lines under low temperature condition

2.3 耐冷株系的筛选

综合各株系株高和产量性状表现,以低温发芽率大于 80% 为筛选指标,筛选出 10 个农艺性状表现良好且低温发芽力强的株系(表 2),这些株系在株高和产量性状的平均值都与 SN265 接近,但低温发芽率(平均 89.51%)高于 SN265。这些农艺性状优良且低温发芽力得到明显改善的新株系,可作为耐冷优异种质资源加以利用。

2.4 BSA 法筛选低温发芽力相关基因连锁标记

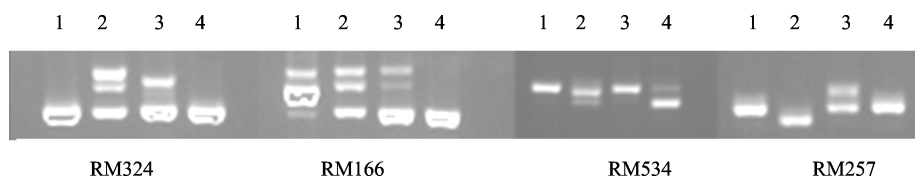
选择极耐冷株系和极不耐冷株系各 7 个构建极端混池。利用均匀分布于水稻 12 条染色体上的 185 对 SSR 引物共筛选出 46 对亲本间有多态性的引物,多态率为 24.9%。其中有 4 个标记在亲本间和极端混池间都表现出多态性,分别是 2 号染色体的 RM324 和 RM166,5 号染色体的 RM534,9 号染色体的 RM257(图 2)。从图中可以看出,RM324 在极端不耐冷池的带型与亲本 SN265 一致,极端耐冷池与东乡野生稻带型一致,RM534 则相反;另外 2 个标记在两个极端池中的带型并不完全与两个亲本的一致。将这 4 个标记结合低温发芽率数据作单因素方差分析(表 3),结果表明 4 个标记都与低温发芽力相关基因连锁。

表 2 10 个耐冷株系性状表现

Table 2 The agronomic traits and low temperature germinability of 10 BC₄F₆ lines

株系编号 Line number	株高 (cm) PH	穗长 (cm) PL	有效穗数 NTPP	每穗粒数 NFGP	结实率 (%) SSR	千粒重 (g) TGW	低温发芽率 (%) LTG
92	95.00 ± 1.25	18.74 ± 0.23	12.30 ± 2.66	142.24 ± 10.25	91.25 ± 2.33	26.53 ± 2.11	84.12 ± 5.36
100	97.00 ± 5.89	17.03 ± 0.85	15.23 ± 1.32	121.46 ± 20.11	91.46 ± 1.23	24.95 ± 1.56	89.28 ± 2.69
39	90.67 ± 2.25	16.99 ± 1.35	12.49 ± 1.55	127.08 ± 16.23	92.48 ± 3.45	23.69 ± 2.42	95.33 ± 2.33
48	94.33 ± 3.56	17.2 ± 1.53	18.36 ± 3.22	110.46 ± 22.66	92.33 ± 2.69	29.39 ± 4.26	93.41 ± 3.22
81	109.33 ± 5.78	19.75 ± 2.36	13.33 ± 2.65	157.43 ± 17.66	92.40 ± 2.33	23.85 ± 2.36	94.51 ± 1.02
11	106.67 ± 7.23	16.36 ± 2.45	12.12 ± 3.66	120.47 ± 18.55	93.21 ± 3.66	26.27 ± 1.44	86.58 ± 2.64
38	104.00 ± 5.26	16.06 ± 2.35	13.66 ± 5.47	121.40 ± 12.48	93.30 ± 2.47	25.60 ± 2.11	91.21 ± 3.85
49	92.67 ± 2.65	17.45 ± 2.54	9.49 ± 5.41	103.41 ± 14.33	93.44 ± 1.85	27.97 ± 1.50	87.32 ± 1.03
67	107.00 ± 8.26	18.21 ± 2.66	11.03 ± 3.12	118.02 ± 14.36	93.35 ± 2.46	27.13 ± 1.89	80.69 ± 3.58
56	96.67 ± 8.56	17.22 ± 3.24	12.69 ± 2.78	130.10 ± 19.66	95.43 ± 3.66	25.52 ± 2.30	92.80 ± 2.63
平均值 Mean	99.33 ± 8.77	17.5 ± 2.35	13.07 ± 2.83	125.21 ± 16.87	92.50 ± 2.66	26.09 ± 1.98	89.51 ± 2.65
SN265	104 ± 3.89	17.25 ± 2.88	15.11 ± 1.23	145.30 ± 20.36	93.33 ± 2.69	27.77 ± 1.32	35.36 ± 4.28

LTG: Low temperature germination rate



1: SN265; 2: 东乡野生稻; 3: 极端耐冷池; 4: 极端不耐冷池

1: SN265, 2: Dongxiang wild rice, 3: Extreme cold-tolerance pool, 4: Extreme cold-sensitive pool

图 2 RM324, RM166, RM534 和 RM257 在亲本和混池中的多态性

Fig. 2 The polymorphism of RM324, RM166, RM534 and RM257 in parents and bulk segregant group

表 3 各标记遗传参数

Table 3 Genetic parameters of each marker

分子标记 Molecular marker	染色体 Chromosome	F 值 F value	P 值 P value
RM324	2	5.45	0.004
RM166	2	5.37	0.005
RM534	5	7.23	0.001
RM257	9	5.56	0.003

2.5 低温发芽力 QTL 定位

利用亲本间有多态性的 SSR 标记,对 140 个株系基因组进行扩增,结合低温发芽力表型数据,采用连锁分析法以确定低温发芽力相关基因所在的区域。共定位 15 个低温发芽力相关 QTL (表 4),其中 1 号、5 号和 11 号染色体各 2 个,2 号染色体 4 个,7 号染色体 3 个,4 号和 6 号染色体各 1 个。LOD 值介于 2.57 ~ 5.00 之间,贡献率在 11.48% ~ 17.72% 之间。其中第 1 染色体的 *qGP-1-2* 贡献率最大,为

17.72%;位于 2 号染色体的 *qGP-2-1* 和 *qGP-2-4* 与前文 BSA 法筛选低温发芽力基因连锁标记一致,且 *qGP-2-4* 加性效应值为 -15.30%,表明该位点上来自野生稻的等位基因能增加 15.30% 的低温发芽率。

3 讨论

东乡野生稻是水稻耐冷性改良的良好基因供体^[21]。以东乡野生稻作为亲本,进行粳稻耐冷性改良已有成功的报道,如耐冷性改良的 4913-1 粳稻品种,自然条件下能在南昌越冬再生,在农艺性状上也取得较理想的效果^[25],证明了利用东乡野生稻优异基因进行粳稻改良是可行的。野生稻优异基因往往和不良农艺性状和不利基因连锁存在,增加了优良基因利用的难度。高代回交 QTL 分析法,对野生种质资源中有利基因的研究和利用提供了新的途径^[26]。为此,本研究利用超级稻 SN265 和东乡野生稻杂交,并以 SN265 作为轮回亲本,连续回交并自交,构建了 140 个株系组成的 BC₄F₆ 回交重组自交

表 4 控制低温发芽力 QTL

Table 4 QTLs detected for low temperature germinability

基因位点 QTL	染色体 Chromosome	区间 Interval	LOD 值 LOD value	贡献率(%) Variance	加性效应(%) Additive effect
<i>qGP-1-1</i>	1	RM562-RM8129	4.87	17.71	16.32
<i>qGP-1-2</i>	1	RM8129-RM3825	4.65	17.72	16.43
<i>qGP-2-1</i>	2	RM324-RM5378	3.40	14.06	1.62
<i>qGP-2-2</i>	2	RM3685-RM112	3.51	14.18	1.84
<i>qGP-2-3</i>	2	RM112-RM250	2.72	11.48	-10.07
<i>qGP-2-4</i>	2	RM250-RM166	4.00	15.73	-15.30
<i>qGP-4-1</i>	4	RM119-RM241	3.68	13.94	-1.96
<i>qGP-5-1</i>	5	RM440-RM459	3.86	14.08	1.14
<i>qGP-5-2</i>	5	RM459-RM534	3.71	13.88	1.09
<i>qGP-6-1</i>	6	RM454-RM400	3.06	13.14	-1.29
<i>qGP-7-1</i>	7	RM82-RM505	2.57	13.16	-3.58
<i>qGP-7-2</i>	7	RM505-RM473C	5.00	16.92	-6.88
<i>qGP-7-3</i>	7	RM473C-RM429	4.44	15.91	-6.26
<i>qGP-11-1</i>	11	RM260-R11-RM473E	4.84	14.19	9.38
<i>qGP-11-2</i>	11	RM473E-RM206	4.78	14.62	14.08

系群体,根据农艺性状和低温发芽力鉴定结果筛选到的 10 个株系,农艺性状表现接近 SN265 而低温发芽力极显著高于 SN265,可作为水稻低温发芽力改良的优异种质资源。利用均匀分布于水稻 12 条染色体上的 185 条 SSR 引物共筛选出 46 条亲本间有多态性的引物,多态率为 24.9%,与前人研究结果相近(东乡野生稻与南京 11 多态率为 25.3%;桂朝 2 号与东乡野生稻多态率为 30%)^[18]。本研究用 BSA 法检测到 4 条与低温发芽力连锁的标记,其 *P* 值都小于 0.01,表明这 4 个 SSR 标记可用于低温发芽力分子标记辅助育种。其中位于 2 号染色体的 RM324 附近有 2 个抗性相关的 QTL,分别是 Andaya 等^[27]利用温带粳稻杂交的 191 个重组自交系定位于 RM324 和 RM301 之间的拔节期耐冷 *qCTB2a* 和 You 等^[28]利用 154 个重组自交系群体定位于 RM322 和 RM324 之间的苗期抗旱 *qLRS-2*,由于用 BSA 法定位到的紧密连锁的标记并不是区间范围,所以尚不能确定是否为基因多效或不同基因,但该位点除与低温发芽力相关基因连锁外,还可能与其他抗性基因紧密连锁。另外,与低温发芽力相关基因紧密连锁的 RM166、RM534 和 RM257 在耐冷池和不耐冷池的带型与亲本东乡野生稻和 SN265 的带型不完全相同,可能是因为 SN265 属于不耐冷但偏中间类型,所以有些情况下有自己的特异带,同

样,东乡野生稻中也可能存在其特有的、不存在于栽培稻的耐冷性标记带,有待于进一步研究。

通过比较用连锁图定位的 QTL 发现,*qGP-2-1* 所在区间(RM324-RM5378)内有 1 个低温发芽力相关基因 *osFAD2*^[29] 和 1 个苗期耐冷基因 *qSDW2*^[30],但由于 *qGP-2-1* 所在区间较大,尚不能确定是否为基因的多效性还是不同基因;Suh 等^[31]在第 5 染色体定位到 1 个低温发芽力 *qLTG-5*,位于 RM249 和 RG13 区间,贡献率为 15.6%,本研究也在第 5 染色体上定位到 2 个效应较大的 *qGP-5-1* 和 *qGP-5-2*,虽然位于 *qLTG-5* 区间附近,但并不重合,表明可能是新的耐冷基因位点;Hou 等^[9]和 Han 等^[10]在第 7 号染色体上检测到了 3 个耐冷相关的 QTL 位点,分别是位于 RM336-RM118 区间与低温发芽势相关的 *qLVG7-2*、同一区间的冷响应萌发活力指数 *qCIVG7-2*^[10] 和位于 R1440-R1357 区间与低温发芽力相关的 *qLTG-7*。本研究在第 7 号染色体上检测到 3 个新的与低温发芽力相关的位点,贡献率和加性效应值均较大,这为其进一步精细定位奠定了基础。本研究在第 11 号染色体检测到的低温发芽力 *qGP-11-1* 所在的区间 RM260-R11-RM473E 与 Oh 等^[32]检测到的 2 个生殖生长期耐冷性 QTL 位点重合,进一步确定了此区间存在耐冷相关基因。另外在 11 号染色体上还检测到了 1 个新的耐冷位点 *qGP-11-1* 位于

RM473E-RM206 区域。这些研究结果表明,东乡野生稻中有其特有的耐冷基因,本研究检测到的新的耐冷基因位点对于东乡野生稻优异耐冷基因的挖掘和利用具有重要意义。值得注意的是连锁分析法定位的 *qGP-2-1* 和 *qGP-2-4* 与 BSA 法定位的标记 RM324 和 RM166 相同,表明这两个标记是更可靠的与低温发芽力连锁的标记,可用于改良水稻低温发芽力实际分子育种。

参考文献

- [1] 吴文革,陈烨,钱银飞,王小军,吴一梅. 水稻直播栽培的发展概况与研究进展. 中国农业科技导报,2006,8(4):30-36
- [2] 赵步洪,戴正元,谢成林,王宝和,陆春泉,张洪熙. 直播水稻的研究与应用进展及发展策略. 江苏农业科学,2010(5):13-15
- [3] Wan J, Tamura K, Sakai M, Imbe T. Linkage analysis of low temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). Breeding Science, 1999(S2):122
- [4] Suh J P, Jeung J U, Lee J I, Choi Y H, Yea J D, Virk P S, Mackill D J, Jena K K. Identification and analysis of QTLs controlling cold tolerance at the reproductive stage and validation of effective QTLs in cold-tolerant genotypes of rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics, 2010, 120(5):985-995
- [5] Miura K, Lin S Y, Yano M, Nagamine T. Mapping of quantitative trait loci controlling low temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). Breeding Science, 2001, 51:293-299
- [6] Teng S, Zeng D L, Qian Q. QTL analysis of rice low temperature germinability. Chinese Science Bulletin, 2001, 46(21):1800-1803
- [7] 纪素兰,江令,王益华,刘世家,刘喜,翟虎渠,吉村醇,万建民. 水稻种子耐低温发芽力的 QTL 定位及上位性分析. 作物学报,2008,34(4):551-556
- [8] 巩迎军,阮雯君,荀星,董彦君,林冬枝,叶胜海,张小明. 水稻芽性耐冷性的 QTL 分析. 分子植物育种,2009,7(2):273-278
- [9] Hou M Y, Wang C M, Jiang L, Wan J M. Inheritance and QTL mapping of low temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). Acta Genetica Sinica, 2004, 31:701-706
- [10] Han L Z, Zhang Y Y, Qiao Y L, Cao G L, Zhang S Y, Kim J H, Koh H J. Genetic and QTL analysis for low-temperature vigor of germination in rice. Acta Genetica Sinica, 2006, 33(11):998-1006
- [11] 陈亮,楼巧君,孙宗修,邢永忠,余新桥,罗利军. 水稻低温发芽力的 QTL 定位. 中国水稻科学,2006,20(2):159-164
- [12] Jiang L, Liu S, Hou M, Tang J, Chen L, Zhai H, Wan J. Analysis of QTLs for seed low temperature germinability and anoxia germinability in rice (*Oryza sativa* L.). Field Crops Research, 2006, 98:68-75
- [13] Fujino K, Sekiguchi H, Matsuda Y, Sugimoto K, Ono K, Yano M. Molecular identification of a major quantitative trait locus, *qLTG3-1*, controlling low-temperature germinability in rice. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008, 105(34):12623-12628
- [14] Kenji F, Yasuyuki M. Genome-wide analysis of genes targeted by *qLTG3-1* controlling low-temperature germinability in rice. Plant Molecular Biology, 2009, 72:137-152
- [15] Kenji F, Hiroshi S. Origins of functional nucleotide polymorphisms in a major quantitative trait locus, *qLTG3-1*, controlling low-temperature germinability in rice. Plant Molecular Biology, 2011, 75(1):1-10
- [16] 向彦,贺浩华,刘宜柏,傅军如. 东乡野生稻耐冷性研究进展. 江西农业大学学报:自然科学版,2003,25(4):482-486
- [17] 陈大洲,肖叶青,赵社香,熊焕金,皮勇华,罗利军. 东乡野生稻苗期和穗期的耐寒性研究. 江西农业学报,1996(1):1-6
- [18] 夏瑞祥,肖宁,洪义欢,张超,苏琰,张小蒙,陈建民. 东乡野生稻苗期耐冷性的 QTL 定位. 中国农业科学,2010,43(3):443-451
- [19] 陈大洲,钟平安,肖叶青,黄英金,谢建坤. 利用 SSR 标记定位东乡野生稻苗期耐冷性基因. 江西农业大学学报:自然科学版,2002,24(6):753-756
- [20] 简水溶,万勇,罗向东,方军,储成才,谢建坤. 东乡野生稻苗期耐冷性的遗传分析. 植物学报,2011,46(1):21-27
- [21] 刘凤霞,孙传清,谭禄宾,李德军,付永彩,王象坤. 江西东乡野生稻孕穗开花期耐冷基因定位. 科学通报,2003,48(17):1864-1867
- [22] 张成良,姜伟,肖叶青,鄢文昌,陈大洲,黄英金. 东乡野生稻耐寒性研究现状与展望. 种子,2006(10):44-47
- [23] 姜秀娟. 利用东乡野生稻进行超级稻低温萌发力改良及 QTL 定位. 沈阳:沈阳农业大学,2017
- [24] 金铭璐,杨春刚,余腾琼,郭桂珍,汤翠凤,张俊国,阿新祥,曹桂兰,徐福荣,刘宪虎,戴陆园,张三元,韩龙植. 中国水稻微核心种质不同生育时期耐冷性鉴定及其相关分析. 植物遗传资源学报,2009,10(4):540-546
- [25] 陈大洲,肖叶青,皮勇华,鄢文昌,胡兰香,罗世友,谢金水. 东乡野生稻耐冷性的遗传改良初步研究. 江西农业大学学报:自然科学版,2003,25(1):8-11
- [26] Tanksley S D, Nelson J C. Advanced backcross QTL analysis: A method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 92:191-203
- [27] Andaya V, Mackill D. QTLs conferring cold tolerance at the booting stage of rice using recombinant inbred lines from a japonica x indica cross. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(6):1084-1090
- [28] You J, Li Q, Yue B, Xue W Y. Identification of quantitative trait loci for ABA sensitivity at seed germination and seedling stages in rice. Acta Genetica Sinica, 2006, 33(6):532-541
- [29] Shi J L, Cao Y P, Fan X R, Li M, Wang Y F, Feng M. A rice microsomal delta-12 fatty acid desaturase can enhance resistance to cold stress in yeast and *Oryza sativa*. Molecular Breeding, 2012, 29(3):743-757
- [30] Han L Z, Qiao Y L, Zhang S Y, Zhang Y Y, Cao G L, Kim J H, Lee K S, Koh H J. Identification of quantitative trait loci for cold response of seedling vigor traits in rice. Acta Genetica Sinica, 2007, 34(3):239-246
- [31] Suh J P, Ahn S N, Moon H P, Suh H S. QTL analysis of low temperature germinability in a Korean weedy rice (*Oryza sativa* L.). Rice Research Newsletter, 1999, 16:53-55
- [32] Oh C S, Choi Y H, Lee S J, Yoon D B, Moon H P, Ahn S N. Mapping of quantitative trait loci for cold tolerance in weedy rice. Breeding Science, 2004, 54:373-380