植物学报 *Chinese Bulletin of Botany* 2025, **60** (3): 342–353, www.chinbullbotany.com
doi: 10.11983/CBB24047 cstr: 32102.14.CBB24047

·研究论文·

基于高密度Bin图谱的水稻苗期耐热性QTL定位

赵凌[1], 管菊[1], 梁文化[1], 张勇[2], 路凯[1], 赵春芳[1], 李余生[1], 张亚东[1*]

[1]江苏省农业科学院粮食作物研究所, 国家水稻改良中心南京分中心, 国家耐盐碱水稻技术创新中心华东中心, 江苏省优质水稻工程技术研究中心, 南京 210014; [2]江苏省农业科学院无锡分院生物育种研究室, 无锡 214000

摘要 鉴定控制水稻(*Oryza sativa*)高温耐性的新位点和候选基因, 可为耐热遗传育种提供理论支撑, 具有重要的实践意义。利用粳稻(*O. sativa* subsp. *japonica*)品种TD70和籼稻(*O. sativa* subsp. *indica*)品种Kasalath衍生的重组自交系(RILs)群体为研究材料, 构建基于深度重测序的高密度Bin遗传图谱; 使用QTL IciMappingv软件基于完备复合区间作图法对水稻苗期高温胁迫下的幼苗存活率进行QTLs分析。共检测到26个控制苗期耐热性QTLs, 分布在除第3号染色体外的11条染色体上, LOD值为2.59–16.15, 其中4个QTLs的LOD值大于10, 7个QTLs与已知高温耐性QTLs的位置存在重叠或者部分重叠, 其主效QTL位点*qHTSR5.2*位于第5号染色体26.25–26.38 Mb区间, LOD值为16.15, 解释7.18%的表型贡献率。对4个主效QTLs区间进行基因功能注释和亲本间序列分析, 共发现27个注释有功能且在2个亲本间编码区存在非同义突变的基因。根据候选基因SNP的类型对RILs群体家系进行基因等位型分类和效应分析, 发现5个基因不同等位型的RILs群体家系高温处理后的幼苗存活率存在显著差异, 推测可能为候选基因, 可用于后续水稻高温耐性的分子机理研究。

关键词 耐热性, 高密度Bin图谱, QTL定位, 水稻, 苗期

赵凌, 管菊, 梁文化, 张勇, 路凯, 赵春芳, 李余生, 张亚东 (2025). 基于高密度Bin图谱的水稻苗期耐热性QTL定位. 植物学报 **60**, 342–353.

水稻(*Oryza sativa*)是我国主要粮食作物, 对于保障粮食安全具有重要作用。水稻虽是喜温作物, 但当外界温度超过植株生长发育所需温度的上限时, 会受到高温胁迫, 其生长发育、产量和品质形成均会受到影响(杨军等, 2020; 宋有金等, 2021; 沈泓等, 2022)。近年来, 随着地球温室效应的加剧, 极端高温环境出现的频率以及强度显著增加, 对水稻、小麦(*Triticum aestivum*)和玉米(*Zea mays*)等主要粮食作物生产造成不同程度的危害。IPCC (2021)预计2016–2035年全球地表平均温度将上升0.3–0.7°C。2022年, 世界范围内出现了超强高温, 长江中下游地区温度高达40°C以上且持续时间长达30天(郝立生等, 2022), 此时正值水稻成熟的关键期, 对水稻生产造成了巨大影响。国家统计局发布的粮食产量数据显示, 受南方地区高温和干旱影响, 2022年全国稻谷总产以及单产与2021年相比均有所下降(http://www.stats.gov.cn/sj/)。到2050年温室效应可能导致我国水稻单产降低10%–19%, 高温热害已成为影响我国水稻生产的主要气象灾害(Chen and Chen, 2018)。

不同水稻品种的耐热性存在明显差异, 鉴定耐热种质和发掘耐热基因/位点是培育耐热品种及应对高温危害的关键途径, 业已成为水稻分子生物学与遗传育种学研究的热点之一。水稻耐热性属于典型的数量性状, 不仅受多基因控制而且易受环境的影响, 存在明显的基因型与环境互作(杨军等, 2020)。近年来, 研究人员利用不同的遗传群体(F_2、$F_{2:3}$、BC、DH、RIL和CSSLs等)在不同生育时期(苗期、孕穗期、抽穗扬花期和灌浆期等), 采用不同的评价指标(花粉育性、产量/结实率、品质相关指标和抽穗开花时间等)在水稻12条染色体上定位到200多个耐热QTLs (Chen et al., 2021)。但多数鉴定的水稻耐热QTL区间较大, 且由于涉及不同的作图群体、实验设计、统计分析和环

收稿日期: 2024-03-28; 接受日期: 2024-05-27
基金项目: 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目(No.JBGS(2021)040)
* 通讯作者。E-mail: zhangyd@jaas.ac.cn

境, 这些QTL位点的贡献率和相关性有较大差异, 区间也不一致。李林浩(2023)对170个已发表的水稻耐热性相关QTL进行了元分析, 在12条染色体上共鉴定出35个QTL元, 每个Meta-QTL至少包含2个原始耐热性相关QTL, 其中Meta-QTL10.3区间包含的原始QTL数量最多, 为9个; Meta-QTL8.1和Meta-QTL9.3包含7个原始QTL。10多个耐热主效位点/基因(*qHTCGR5*、*OsTT1*、*OsTT2*、*OsHTAS*和*TOGR1*等)被精细定位或克隆, 为阐明水稻耐热性相关生理生化与分子遗传机制奠定了基础(Li et al., 2015; 胡时开和钱前, 2016; Liu et al., 2016b; Wang et al., 2016; 曹志斌等, 2020; Cao et al., 2020; Chen et al., 2021; 阚义和林鸿宣, 2022; Kan et al., 2022)。前人对水稻耐热性鉴定多是在孕穗期、抽穗期、开花期和灌浆期进行, 并以花粉育性、结实率、稻米品质或生理特性为指标进行评价(杨梯丰和刘斌, 2009)。鉴于成熟后植株较大, 利用遗传群体进行高温鉴定所需的温光条件很难控制, 限制了水稻高温耐性位点的定位和基因克隆相关研究进展。苗期耐热性鉴定所需条件容易达到和控制, 表型鉴定结果稳定性强(不受外界环境因素的影响), 进行QTL定位和候选基因克隆更加可靠。

水稻的热应激反应十分复杂, 涉及多个基因网络调控系统。目前, 对植物高温下参与生物合成与降解、调控和转运、能量和碳水化合物代谢及氧化还原等的基因和蛋白质研究的较为深入。植物在受高温胁迫后经过信号转导, 基因表达和转录产物的积累均发生了变化, 其中最重要的耐热反应是降低正常蛋白的合成, 加速热激蛋白(heat shock proteins, HSP)的转录和翻译(盘毅等, 2008; 栗振义等, 2016)。大量研究表明, 热激蛋白具有分子伴侣的作用, 其生成量与生物耐热性呈正相关, 热激蛋白的表达能稳定细胞膜系统、防止蛋白质变性和聚集及参与热胁迫信号转换等(Khan et al., 2019; Haq et al., 2019)。除*HSP*基因外, 目前已克隆的水稻耐热基因编码产物有26S蛋白酶体亚基、G蛋白γ亚基、细胞质膜定位的E3泛素连接酶和叶绿体前体蛋白等(阚义和林鸿宣, 2022)。尽管目前对水稻耐热性的遗传及分子机制研究有了一些进展, 但对于高温信号转导、耐热基因间的互作和HSP诱导高温抗性等方面的机理研究尚有欠缺。

解析水稻苗期耐热位点及相关基因, 对于揭示水稻耐热的分子机制及培育和应用高产水稻品种具有重要意义。Bin图谱是基于SNP标记的新一代遗传图谱, 由于SNP标记分布广泛、多样性高、数量大并且精确度高, 在复杂数量性状研究中具有明显的优势和广泛的应用前景(张亚东等, 2021; 赵凌等, 2022)。本研究以高温胁迫下幼苗存活率存在显著差异的粳稻TD70和籼稻Kasalath衍生的重组自交系(recombinant inbred line, RIL)为作图群体, 利用构建的密度连锁图谱进行苗期高温耐性QTL定位, 进一步鉴定候选基因, 以期为水稻耐热性遗传改良研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

以粳稻(*Oryza sativa* subsp. *japonica*)品系TD70 (天鹅谷///9520//72-496/苏御糯的后代)和籼稻(*O. sativa* subsp. *indica*)品种Kasalath的重组自交系群体为实验材料。2005年夏收取F_1代单株自交种子, 以单粒传法构建由186个家系组成的RILs。基因型调查为F_{10}世代, 表型调查为F_{12}世代。

1.2 材料种植及高温处理

2022年春季, 在江苏省农业科学院粮食作物研究所人工气候箱中种植RILs群体的186个家系及2个亲本。先用自来水浸种催芽, 7天后剔除长势较弱的幼苗, 移入剪掉底部的96孔板小孔中, 每系种植4行, 每行12株, 设置2次随机重复。实验材料在用基础盐培养基(PhytoTech LABS)配制的营养液(pH5.7–5.8)中培养至3叶1心后进行高温处理, 期间每3天更换1次营养液。幼苗培养和恢复培养期间人工气候室的光周期为16小时光照(28°C)/8小时黑暗(24°C), 相对湿度为60%。高温处理采用逐步升温的方式进行。先进行38°C 4小时、40°C 6小时高温预处理, 然后开始进行高温处理: 光周期为14小时光照(42°C)/10小时黑暗(38°C), 相对湿度为60%。高温处理5天后恢复培养7天, 然后调查高温幼苗存活率(high temperature seedling survival rate, HTSR)。幼苗存活率用高温胁迫下存活的幼苗数与处理幼苗数的百分比表示, 取2次重复的平均值进行统计分析。幼苗存活率经过反正弦转化后用于QTL定位。

1.3 QTL定位

利用186个家系及亲本的全基因组重测序数据，构建基于SNP的高密度Bin遗传图谱，图谱含有12 328个Bin标记，标记间的平均物理距离为30.26 kb (张亚东等, 2021)。利用QTL IciMappingv软件3.4版基于完备区间作图法进行全基因组扫描(王建康，2009; Meng et al., 2015)，以LOD=2.5为阈值检测控制苗期耐热性QTL，进行QTL命名(McCouch et al., 1997)。

1.4 数据统计分析

使用Microsoft Excel 2016软件处理表型数据和作图、绘制频次分布图及进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 RIL群体及其亲本的苗期耐热性表型

在高温环境下，对2个亲本与RILs群体家系进行幼苗存活率鉴定，结果表明亲本TD70的苗期耐热性较强，高温处理后的幼苗存活率为80.98%，植株生长基本不受影响。而Kasalath在苗期对高温胁迫敏感，幼苗存活率为12.54%，高温处理后幼苗基本全部死亡。TD70的幼苗存活率极显著高于Kasalath (P<0.01)。RILs群体及其双亲苗期耐热性的表型变异见图1A。

RILs群体的幼苗存活率均值为32.76%，最高的家系达98.1%，最低的家系为1.2%，群体中幼苗存活率存在明显的超亲现象。RILs群体中不同家系间的耐热性存在明显差异，幼苗存活率呈现正态连续分布，表明水稻苗期耐热性受数量性状调控(图1B)。

2.2 苗期耐热性QTL定位

利用RILs群体共检测到26个控制苗期耐热性QTLs，分布在除第3号染色体外的11条染色体上(图2)。其中在第10号染色体上只定位到1个控制苗期耐热性的QTL位点，在第1、2、8、9、11和12号染色体上均定位到2个QTL位点，在第4、5和6号染色体上定位到3个QTL位点，在第7号染色体上定位到4个QTL位点。26个QTLs的LOD值介于2.59–16.15之间，贡献率为1.88%–7.18%，加性效应值为–5.99%–1.85%。其中*qHTSR2.1*、*qHTSR2.2*、*qHTSR4.1*、*qHTSR5.2*、*qHTSR8.1*、*qHTSR8.2*和*qHTSR12.1*被定位在大于0.1 Mb的区间内。

LOD值最大的位点*qHTSR5.2*位于第5号染色体RBN5335–RBN5336区间，物理位置为26 253 196–26 385 406 bp，LOD值为16.15，表型贡献率为7.18%，增效等位基因来自Kasalath，可降低高温胁迫下幼苗存活率5.99%。除*qHTSR5.2*外，还检测到3个LOD值大于10的QTL，分别为*qHTSR1.1*、*qHTSR4.1*和*qHTSR5.1*。*qHTSR1.1*位于第1号染色体距顶端约1.9 Mb处，LOD值为11.18，其表型贡献率为4.79%,来自Kasalath的增效等位基因可使幼苗存活

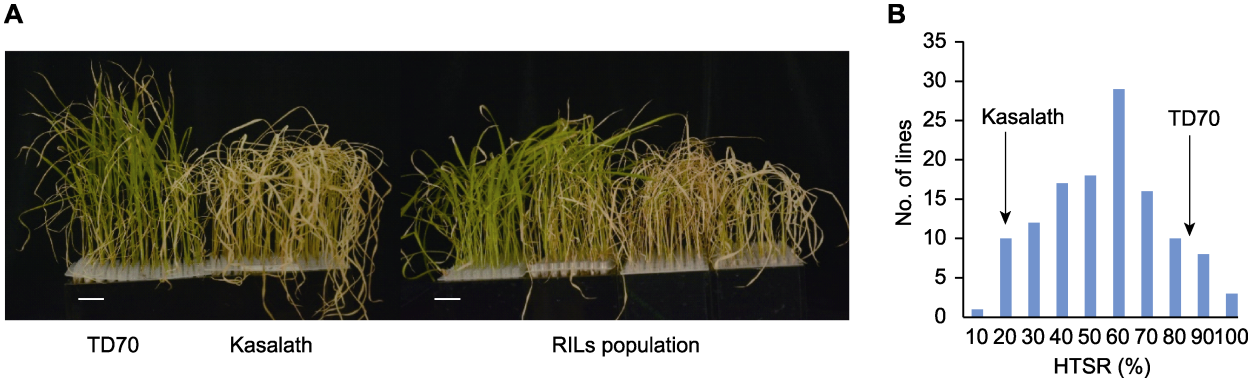


图1 亲本和重组自交系(RIL)群体的苗期耐热性

(A) 亲本和部分RILs群体的苗期耐热性表现(bars=2 cm); **(B)** RILs群体高温幼苗存活率的表型分布。HTSR: 高温幼苗存活率

Figure 1 Heat tolerance of parents and some recombinant inbred lines (RILs) during the seedling stage

(A) Heat tolerance of parents and RILs population during seedling stage (bars=2 cm); **(B)** Distribution of high-temperature seedling survival rates in the RILs. HTSR: High-temperature seedling survival rate

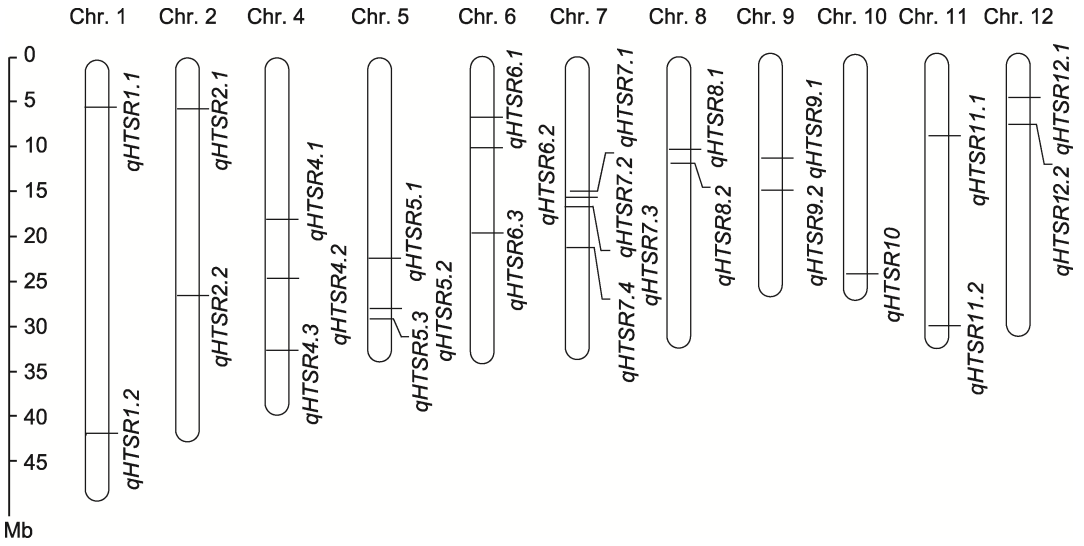


图2 苗期耐热性QTL的染色体分布

Figure 2 Locations of QTLs contributing to heat tolerance at the seedling stage

率降低3.53%。*qHTSR4.1*位于第4号染色体15.71–15.92 Mb区间, LOD值为10.25, 表型贡献率为4.81%, 来自Kasalath的增效等位基因可以使幼苗存活率降低3.38%。*qHTSR5.1*位于第5号染色体顶端20.41–20.48 Mb区间, LOD值为12.07, 表型贡献率为4.86%, 来自Kasalath的增效等位基因可使幼苗存活率降低3.78%。

2.3 候选基因的筛选

利用水稻注释数据库(Rice Annotation Project Database, https://rapdb.dna.affrc.go.jp)对检测到的影响苗期高温存活率的4个主效QTL, *qHTSR1.1*、*qHTSR4.1*、*qHTSR5.1*和*qHTSR5.2*区间内的基因进行功能注释(表1)。

*qHTSR1.1*位于第1号染色体1.90–1.95 Mb区间, LOD值为11.8, 表型贡献率为4.79%, 该区间有8个注释有功能的基因。序列分析发现, 除基因*Os01g0135000*和*Os01g0136050*外, 其它6个基因的编码区在2个亲本间均存在非同义突变。其中*Os01g0135700*编码钙调蛋白基因*OsCML16,* 与水稻非生物胁迫过程中的钙信号转导有关, *Os01g0135800*、*Os01g0135900*和*Os01g0136000*均编码热激蛋白(Yang et al., 2018; Sarkar et al., 2020)。根据这4个基因的SNP类型对RILs群体家系进行等位型分类, SNP位点核苷酸为亲本TD70型的命名为HapT, 为Kasalath型的命名为HapK。通过方差分析检测HapT和HapK等位型对群体家系高温幼苗存活率的效应, 结果发现其中3个编码热激蛋白的基因(*Os01g0135800*、*Os01g0135900*和*Os01g0136000*)不同等位型RILs家系间高温幼苗存活率存在显著差异(*P*=0.0367、0.0156、0.0218), 推测为*qHTSR1.1*可能的候选基因(图4)。*Os01g0135800*以及*Os01g0135900*编码HSP20热激蛋白, 其中*Os01g0135800* (*LOC_Os01g04340*)全长为807 bp, 编码区存在2处错义突变和4处移码突变; *Os01g0135900* (*LOC_Os01g04350*)全长为839 bp, 编码区在TD70与Kasalath间存在4处错义突变和1处移码突变。*Os01g0136000* (*LOC_Os01g04360*)编码HSP17.5热激蛋白, 全长为542 bp, 注释为水稻*OsHSP16.9C*基因(Zhang et al., 2016), 其DNA序列在TD70与Kasalath间仅存在1处错义突变(A/C), 导致编码的氨基酸由Asn变成Lys (图3)。

*qHTSR4.1*位于第4号染色体15.72–15.92 Mb区间, 该区间内有7个注释有功能的基因, 其中4个基因的编码区在2个亲本间存在非同义突变, 分别编码天冬氨酰蛋白酶结构域蛋白、SAD2、IN2-2蛋白和氧化还原酶。但是4个基因的不同等位型RILs家系间的HTSR差异不显著。

*qHTSR5.1*位于第5号染色体20.41–20.48 Mb区

表1 主效QTL区间内基因的注释

Table 1 Annotated genes within the interval of major QTLs

QTL	Chr.	Interval (Mb)	Genes	Annotation	Reference
qHTSR1.1	1	1.90–1.95	*Os01g0134800**	Glycosyl hydrolase family	
			*Os01g0134900**	Glycosyl hydrolase family	
			Os01g0135000	Similar to 1,4-beta-D xylan xylanohydrolase	
			*Os01g0135700**	OsCML16, calmodulin, calcium signaling during abiotic stress	Yang et al., 2018
			*Os01g0135800**	HSP20, heat shock protein	
			*Os01g0135900**	HSP20, heat shock protein	Sarkar et al., 2020
			*Os01g0136000**	OsHSP16.9C, HSP17.5 heat shock protein	Sarkar et al., 2020
			Os01g0136050	16.9 kDa heat shock protein	
qHTSR4.1	4	15.72–15.92	*Os04g0336600*	Peptidase aspartic, catalytic domain containing protein	
			*Os04g0337000**	Aspartyl protease domain containing protein	
			*Os04g0337201**	SAD2, sensitive to ABA and drought2	
			Os04g0337300	SAD2, sensitive to ABA and drought2	
			Os04g0337500	Oxidoreductase	
			*Os04g0337800**	IN2-2 protein	
			*Os04g0338000**	Aldo/keto reductase family protein	Kim et al., 2019
qHTSR5.1	5	20.41–20.48	*Os05g0417000**	DUF260 domain containing protein	
			*Os05g0417100**	Deg Protease Protein, chloroplast development and maintenance of PSII function under high temperatures	Zheng et al., 2016
			*Os05g0417800**	ulp1 protease family	
qHTSR5.2	5	26.25–26.39	*Os05g0418000**	GDP-dissociation inhibitor	Shad et al., 2023
			Os05g0528500	OsWRKY58, WRKY transcription factor	
			Os05g0528600	OsYUCCA2, flavin monooxygenase-like enzyme, auxin biosynthesis	Yamamoto et al., 2007
			Os05g0528900	Ribosomal protein	
			*Os05g0529000**	OsCOLE1, regulation of intracellular auxin transport	Liu et al., 2016a
			Os05g0529200	Enoyl-CoA hydratase/isomerase family protein	
			Os05g0529300	ER lumen protein retaining receptor	
			*Os05g0529400**	Ubiquitin domain-containing protein	
			*Os05g0529600**	ATP binding protein	
			Os05g0529700	Electron transporter/heat shock protein binding protein	
			Os05g0529900	Cell cycle control protein, OsHsfA4d; Heat stress transcription factor	Mittal et al., 2009
			*Os05g0530400**	Plant growth and balancing reactive oxygen species during biotic and abiotic stress	
			Os05g0530500	Snf1 protein kinase; sucrose non-fermenting-1 related protein kinase 1	Kanegae et al., 2005
			Os05g0530701	Leucine-rich repeat	
			*Os05g0531000**	A member of S40 gene family, regulation of crosstalk among abiotic and biotic and developmental senescence	
			Os05g0531100	A member of S40 gene family, regulation of crosstalk among abiotic and biotic and developmental senescence	
			Os05g0531200	Pollen Ole e I allergen and extensin family protein precursor	
			Os05g0531400	Pollen Ole e I allergen and extensin family protein precursor	
			Os05g0531500	Hydrolase	

*基因编码区在亲本间存在非同义突变。

*There are non-synonymous mutations in the coding sequence (CDS) of genes between parents.

间，LOD值为12.07，表型贡献率为4.86%，区间内有4个注释有功能的基因，编码区在2个亲本间均存在非同义突变，分别编码DUF 260结构域蛋白质、Deg蛋白酶、ulp1蛋白酶家族成员以及GDP解离抑制剂蛋白。进一步分析发现，*Os05g0417100*和*Os05g0417800*基因不同等位型的RILs家系间高温幼苗存活率存在显著差异(P=0.044 7、0.041 6)，推测它们为该位点可能的候选基因(图4)。*Os05g0417100* (*LOC_Os05g34460*)基因(*TCM5*)全长1 845 bp，编码615 aa的Deg蛋白酶，具有在高温下维持叶绿体发育和PSII功能的作用(Zheng et al., 2016)，其DNA序列在2个亲本间仅存在1处错义突变(A/G)，导致编码的氨基酸由Lys变成Arg。*Os05g0417800* (*LOC_Os05g34520*)基因全长2 289 bp，编码ulp1蛋白酶家族成员，其DNA序列在2个亲本间存在8处错义突变、7处移码突变和1处同义突变(图3)。

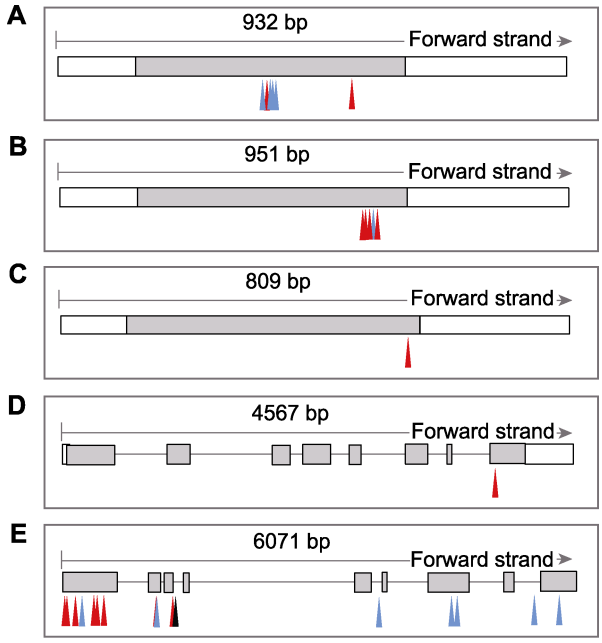


图3　TD70与Kasalath之间5个候选基因的结构和非同义突变
(A) *LOC_Os01g04340*; **(B)** *LOC_Os01g04350*; **(C)** *LOC_Os01g04360*; **(D)** *LOC_Os05g34460*; **(E)** *LOC_Os05g34520*。黑色框: 外显子; 灰色部分: 蛋白编码序列; 红色箭头: 错义突变; 蓝色箭头: 移码突变; 黑色箭头: 同义突变

Figure 3　Gene structure and non-synonymous mutation of five candidate genes between TD70 and Kasalath
(A) *LOC_Os01g04340*; **(B)** *LOC_Os01g04350*; **(C)** *LOC_Os01g04360*; **(D)** *LOC_Os05g34460*; **(E)** *LOC_Os05g34520*. Frames with black lines: Exon; Grey boxes: Protein coding sequence; Red arrow: Missense mutation; Blue arrow: Frameshift mutation; Black arrow: Synonymous mutation

*qHTSR5.2*位于第5号染色体26.25–26.39 Mb区间内，该区间有18个注释有功能的基因。其中基因*Os05g0529000*、*Os05g0529400*、*Os05g0529600*、*Os05g0530400*和*Os05g0531000*的编码区在2个亲本间存在非同义突变，进一步分析发现这5个基因不同等位型RILs家系间HTSR均差异不显著。

通过对4个主效QTL中的基因注释、亲本间序列比较、等位型和效应分析，最终确定其中2个主效QTL的候选基因。*qHTSR1.1*位点有3个候选基因，*Os01g0135800*、*Os01g0135900*和*Os01g0136000*，分别编码热激蛋白HSP20和HSP17.5，其中*Os01g0136000*为已克隆的*OsHSP16.9C*基因。*qHTSR5.1*位点有2个候选基因，*Os05g0417100*编码Deg蛋白酶，在高温下维持叶绿体的发育和PSII的功能；*Os05g0417800*编码ulp1蛋白酶家族成员。

3　讨论

3.1　水稻耐热性相关QTL比较

高温胁迫是影响我国乃至全球水稻生产的主要非生物逆境因素之一，因此耐热性一直是水稻遗传和分子生物学研究的重要课题。但由于对遗传群体进行耐热性鉴定需要特定的设施条件，特别是在成熟期进行高温耐性鉴定较为困难。目前已报道的水稻耐热性相关QTL仅有200多个，涉及利用不同的遗传群体，在不同的生育时期鉴定不同的性状。

本研究利用籼粳交RILs群体构建高密度Bin遗传图谱，检测到26个控制苗期耐热性的QTLs，通过遗传和物理图谱对比(http:/www.gramene.org)，发现一些位点与已知耐热性位点存在区间重叠，如*qHTSR1.1*、*qHTSR2.2*、*qHTSR5.2*、*qHTSR9.1*和*qHTSR10*。本研究检测到的*qHTSR5.2*位于第5号染色体26.25–26.39 Mb区间。张涛等(2008)利用中优早8号/丰锦的重组自交系群体在第5号染色体3.08–26.85 Mb区间定位到控制水稻抽穗扬花期耐热性QTLs，其LOD值为4.55。刘进等(2022a)利用龙稻5号/中优早8号的RILs群体，在第5号染色体25.78–26.28 Mb区间检测到控制高温幼苗存活率的位点，覆盖了我们检测到的*qHTSR5.2*。陶磊(2020)利用R498/R3551的RILs

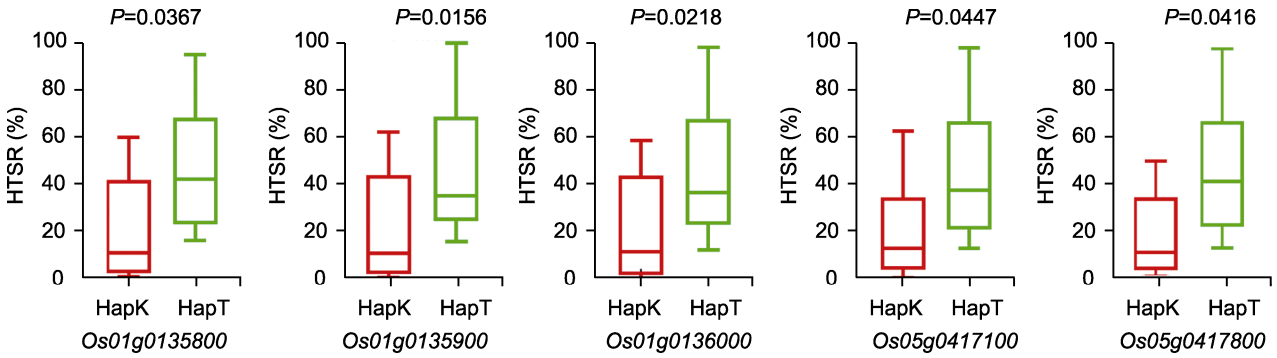


图4 候选基因不同等位型对重组自交系(RILs)群体高温幼苗存活率(HTSR)的影响
HapT: SNP位点核苷酸为TD70型; HapK: SNP位点核苷酸为Kasalath型。HTSR同图1。

Figure 4 Effects of different Haps of candidate genes on the HTSR of recombinant inbred lines (RILs)
HapT: The SNP of the candidate genes are the same as those in TD70; HapK: The SNP of the candidate genes are the same as those in Kasalath. HTSR is the same as shown in Figure 1.

群体在第5号染色体26.698–27.69 Mb区间检测到控制开花期高温耐性的位点，位于本研究定位到的*qHTSR5.2*附近。李林浩(2023)对已发表的水稻耐热性相关QTL进行元分析，也认为第5号染色体24.26–27.34 Mb区间内存在1个QTL元，覆盖了本研究的*qHTSR5.2* (表2)。

本研究在第1号染色体上定位到的*qHTSR1.1*位于约1.9 Mb，与朱昌兰等(2005)定位到的灌浆期耐热性主效位点*qHR1*、奎丽梅等(2008)定位到的抽穗期开花期耐热性位点*qHT1*以及Kilasi等(2018)定位到的高温苗期根长位点位于同一区间；位于约39.82 Mb的*qHTSR1.2*与利用Bala/Azucena RILs、龙稻5号/中优早8号RILs分别定位到的开花期耐热性位点*qtl_1.1*及苗期耐热性位点*qHTG1.2*位于同一区间(Jagadish et al., 2010; 刘进等, 2022a)。位于第4号染色体的位点*qHTSR4.1*则与Jagadish等(2010)、Xiao等(2011)及盘毅等(2011)定位到的开花期耐热性QTL位于同一区间(表2)。

此外，本研究发现的*qHTSR2.2*与魏昭然(2020)利用255份籼稻核心材料通过全基因组关联分析定位到的苗期高温耐性位点*qSR_ind2-3*，*qHTSR9.1*与朱昌兰等(2006)鉴定的直链淀粉含量高温耐性位点*qHTAC9-1*所在的染色体区间相近；*qHTSR10*与利用Bala/Azucena RILs、233份核心材料和Sasanishiki/Habataki CSSLs分别检测到的开花期耐热性、灌浆期耐热性及高温下小穗育性位点在同一区间(Jagadish et al., 2010; Zhu et al., 2017; 杨飞, 2020)。

这些QTL在不同群体中利用不同的耐热性指标被鉴定出来，说明其在调控水稻耐热性方面具有较强的效应，可能有较大的应用前景，尚需进一步研究。

3.2 苗期耐热性候选基因的筛选

植物HSP种类众多，根据分子量大小分为HSP100 (100 kDa以上)、HSP90 (83–90 kDa)、HSP70 (66–78 kDa)、HSP60 (60 kDa)和小热激蛋白sHSPs (15–42 kDa) 5大家族(栗振义等, 2016)。大部分*HSP*在受到高温胁迫时会大量表达，参与胁迫应答，使植株表现出更强的耐热性，及耐盐和干旱等能力。不同家族的HSP具有不同的生物学功能。多数HSP100蛋白具有ATP酶结构，为发挥分子伴侣作用提供能量。HSP90底物多为信号转导蛋白，如类固醇激素受体或者信号激酶(Murthy and Ravishankar, 2016)。HSP70的保守性最强，主要在植物的叶绿体、线粒体和内质网等细胞器中行使功能，部分参与辅助多肽折叠及蛋白转运，引导错误折叠蛋白降解(Bauer et al., 2018)。HSP60是热休克依赖型热激蛋白，主要通过参与合成蛋白的折叠与转运进程发挥作用，促进新蛋白的正确形成(Jacob et al., 2017)。sHSPs分子量低，具有分子伴侣活性，可与蛋白形成稳定的复合体，进而更易接近ATP依赖性HSPs，最终使蛋白质正确折叠与构建，以便后续加工(Zhang et al., 2015)。

sHSPs是植物中含量最丰富且分布最广泛的热

表2 本研究定位的QTL和已知耐热性相关位点的位置比较

Table 2 Overlap of known QTLs contributing to heat resistance with the QTLs detected in this study

QTL	This study		Known QTLs or genes			
	Chr.	Position (Mb)	Population	Traits	Position (Mb)	Reference
qHTSR1.1	1	1.90–1.95	Nipponbare/Kasalath back-cross inbred lines (BILs)	HT during grain filling	0.64–3.44	朱昌兰等, 2005
			Teqin/Yuanjiang Common Wild Rice BILs	HT at flowering stage	0.38–2.18	奎丽梅等, 2008
			N22/IR64 recombinant inbred lines (RILs)	Shoot length under heat stress	1.86–2.31	Kilasi et al., 2018
qHTSR1.2	1	39.82–39.86	Longdao 5/Zhongyouzao 8RILs	HTSR	37.6–39.08	刘进等, 2022a
			Bala/Azucena RILs	HT at flowering stage	38.35–40.66	Jagadish et al., 2010
qHTSR2.2	2	24.58–24.72	255 core materials	HTSR	24.66	魏昭然, 2020
qHTSR4.1	4	15.71–15.92	996/4628 RILs	HT at flowering stage	15.74–18.82	Xiao et al., 2011; 盘毅等, 2011
			Bala/Azucena RILs	HT at flowering stage	14.19–16.86	Jagadish et al., 2010
qHTSR 5.2	5	26.25–26.39	Zhongyouzao 8/Fengjin RILs	HT at flowering stage	3.08–26.85	张涛等, 2008
			Longdao 5/Zhongyouzao 8 RILs	HTSR	25.78–26.28	刘进等, 2022a; 李林浩, 2023
			R498/R3551 RILs	HT at flowering stage	26.69–27.69	陶磊, 2020
qHTSR9.1	9	9.42–9.46	Nipponbare/Kasalath bils	Thermo-tolerance of amylose content	5.27–21.85	朱昌兰等, 2006
qHTSR10	10	22.57–22.63	Bala/Azucena RILs	HT at flowering stage	20.84–23.45	Jagadish et al., 2010
			233 core materials	HT during grain filling	22.62	杨飞, 2020
			Sasanishiki/Habataki CSSLs	Pollen fertility under high temperature	19.89–23.01	Zhu et al., 2017

HT: 耐热性。HTSR同图1。HT: Heat tolerance. HTSR is the same as shown in Figure 1.

激蛋白, 具有保守的ACD结构域和可变的两端序列区域, 与耐热性密切相关, 近年来备受关注。最早发现植物*sHSPs*受到高温胁迫诱导表达(俞佳虹等, 2017)。随着研究的不断深入, 发现干旱、低温和病原菌等生物和非生物胁迫均能诱导*sHSPs*的表达量升高几十至几百倍, 且表达强度与胁迫强度和持续时间相关, 在受到胁迫后一段时间表达量很稳定, 可能对胁迫后修复起重要作用(Siddique et al., 2008)。刘进等(2022b)以周南稻/赣早籼58号的RILs为研究材料, 构建高密度Bin遗传图谱, 筛选出8个苗期耐热性调控的可能目标基因, 其中包括3个调控胁迫耐性的转录因子以及1个HSP40型的*sHSPs*基因*Os02g08-04500*, 编码含有DNAJ结构域蛋白。Sarkar等(2009)发现19个*sHSPs*基因在高温胁迫下明显上调表达。超表达*HSP17.7*基因可以提高水稻的耐热性和抗旱性(Murakami et al., 2004)。42°C高温特异性诱导*HSP26*大量表达, 推测*HSP26*能保护叶绿体避免氧化胁迫对其造成破坏(Lee et al., 2000)。郭虹霞等(2019)克隆了2个水稻*sHSPs*基因*Os16.9A*和*Os16.9B*, 它们的启动子均含有CAAT-box、TATA-box、GATA-box及与热激等胁迫应答有关的顺式作用元件; *Os16.9A*的启动子还包含响应冷和干旱应答的顺式作用元件。

本研究通过对4个苗期耐热主效QTL位点中的基因注释、亲本间序列比较、等位型和效应分析, 确定了5个候选基因。其中, *Os01g0135800*、*Os01g01-35900*和*Os01g0136000*分别编码热激蛋白HSP20和HSP17.5, 属于sHSP家族。通过ENSEMBL数据库(http://plants.ensembl.org)查询, 发现*Os01g01358-00*、*Os01g0135900*和*Os01g0136000*均具有蛋白质复合物聚合和蛋白质折叠功能, 能响应高温、盐、过氧化氢和活性氧胁迫。*Os01g0136000*是已克隆的*OsHSP16.9C*基因, 编码HSP17.5热激蛋白。*OsHS-P16.9C*具有极强的组织特异性, 在穗中表达水平最高, 节中次之, 在根、茎、幼叶和老叶中表达水平较

低。45°C热处理后幼苗和幼穗中的*OsHSP16.9C*表达量均急剧上升，并分别在0.5和1小时达到峰值，随后逐步降低(Zhang et al., 2016)。*Os01g0135800*和*Os01g0135900*的具体生物学功能有待进一步探索。

*qHTSR5.1*位点有2个候选基因，*Os05g0417100*是水稻*TCM5*基因，编码Deg蛋白酶，高温下维持叶绿体发育和PSII的功能。*TCM5*在茎和叶等绿色组织中高表达，并在高温下3叶期幼苗中高表达(Zheng et al., 2016)。预测*Os05g0417800*编码ulp1蛋白酶家族成员，但具体生物学功能尚未见报道。

作者贡献声明

赵凌：构思并撰写论文初稿；管菊：配制培养基、高温处理；梁文化：遗传群体田间种植；张勇：协助高温处理；路凯：协助统计耐热性表型数据；赵春芳：遗传群体分子图谱构建；李余生：遗传群体田间种植；张亚东：遗传群体构建、构思和修改文章。

参考文献

曹志斌，李瑶，曾博虹，毛凌华，蔡耀辉，吴晓峰，袁林峰 (2020). 非洲栽培稻垩白粒率耐热性QTL的定位. 中国水稻科学 **34**, 135–142.

郭虹霞，王创云，赵丽，王陆军，张丽光，邓妍 (2019). 水稻中2个小分子热激蛋白基因启动子的序列分析及功能鉴定. 西北农业学报 **28**, 1079–1086.

郝立生，马宁，何丽烨 (2022). 2022年长江中下游夏季异常干旱高温事件之环流异常特征. 干旱气象 **40**, 721–732.

胡时开，钱前 (2016). RNA解旋酶调控rRNA内稳态：水稻耐热新机制、分子育种新资源. 植物学报 **51**, 283–286.

阚义，林鸿宣 (2022). 水稻高温感知及响应机制的研究进展. 自然杂志 **44**, 411–421.

奎丽梅，谭禄宾，涂建，卢义宣，孙传清 (2008). 云南元江野生稻抽穗开花期耐热QTL定位. 农业生物技术学报 **16**, 461–464.

李林浩 (2023). 基于Meta-QTL和RNA-seq的整合分析挖掘水稻持续耐高温候选基因. 硕士论文. 荆州：长江大学. pp. 26–30.

栗振义，龙瑞才，张铁军，杨青川，康俊梅 (2016). 植物热激蛋白研究进展. 生物技术通报 **32**(2), 7–13.

刘进，崔迪，余丽琴，张立娜，周慧颖，马小定，胡佳晓，韩冰，韩龙植，黎毛毛 (2022a). 水稻苗期耐热种质资源筛选及QTL定位. 中国水稻科学 **36**, 259–268.

刘进，胡佳晓，马小定，陈武，勒思，Sumin J，崔迪，周慧颖，张立娜，Dongjin S，黎毛毛，韩龙植，余丽琴 (2022b). 水稻RIL群体高密度遗传图谱的构建及苗期耐热性QTL定位. 中国农业科学 **55**, 4327–4341.

盘毅，陈立云，肖应辉 (2008). 水稻耐热遗传育种及热激蛋白的研究综述. 作物研究 **22**(S1), 363–367.

盘毅，罗丽华，邓化冰，张桂莲，唐文邦，陈立云，肖应辉 (2011). 水稻开花期高温胁迫下的花粉育性QTL定位. 中国水稻科学 **25**, 99–102.

沈泓，姚栋萍，吴俊，罗秋红，吴志鹏，雷东阳，邓启云，柏斌 (2022). 灌浆期不同时段高温对稻米淀粉理化特性的影响. 中国水稻科学 **36**, 377–387.

宋有金，吴超，李子煜，唐设，李刚华，王绍华，丁艳锋 (2021). 水稻产量对生殖生长阶段不同时期高温的响应差异. 中国水稻科学 **35**, 177–186.

陶磊 (2020). 水稻开花期耐高温QTL分析及精细定位. 硕士论文. 成都：四川农业大学. pp. 25–27.

王建康 (2009). 数量性状基因的完备区间作图方法. 作物学报 **35**, 239–245.

魏昭然 (2020). 水稻苗期高温关键候选位点鉴定. 硕士论文. 泰安：山东农业大学. pp. 21–23.

杨飞 (2020). 水稻灌浆期耐热性及主要农艺性状的全基因组关联分析. 硕士论文. 武汉：华中农业大学. pp. 27–29.

杨军，章毅之，贺浩华，李迎春，陈小荣，边建民，金国花，李翔翔，黄淑娥 (2020). 水稻高温热害的研究现状与进展. 应用生态学报 **31**, 2817–2830.

杨梯丰，刘斌 (2009). 水稻耐热性QTL鉴定的研究进展. 广东农业科学 (6), 16–20.

俞佳虹，冯坤，程远，叶青静，阮美颖，王荣青，李志邈，周国治，姚祝平，魏家香，杨悦俭，万红建 (2017). 植物小热激蛋白的研究进展. 分子植物育种 **15**, 3016–3023.

张涛，杨莉，蒋开锋，黄敏，孙群，陈温福，郑家奎 (2008). 水稻抽穗扬花期耐热性的QTL分析. 分子植物育种 **6**, 867–873.

张亚东，梁文化，赫磊，赵春芳，朱镇，陈涛，赵庆勇，赵凌，姚姝，周丽慧，路凯，王才林 (2021). 水稻RIL群体高密度遗传图谱构建及粒型QTL定位. 中国农业科学 **54**, 5163–5176.

赵凌，张勇，魏晓东，梁文化，赵春芳，周丽慧，姚姝，王才林，张亚东 (2022). 利用高密度Bin图谱定位水稻抽穗期剑叶叶绿素含量QTL. 中国农业科学 **55**, 825–836.

朱昌兰, 江玲, 张文伟, 王春明, 翟虎渠, 万建民 (2006). 稻米直链淀粉含量和胶稠度对高温耐性的QTL分析. 中国水稻科学 **20**, 248–252.

朱昌兰, 肖应辉, 王春明, 江玲, 翟虎渠, 万建民 (2005). 水稻灌浆期耐热害的数量性状基因位点分析. 中国水稻科学 **19**, 117–121.

Bauer D, Meinhold S, Jakob RP, Stigler J, Merkel U, Maier T, Rief M, Žoldák G (2018). A folding nucleus and minimal ATP binding domain of HSP70 identified by single-molecule force spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci USA* **115**, 4666–4671.

Cao ZB, Li Y, Tang HW, Zeng BH, Tang XY, Long QZ, Wu XF, Cai YH, Yuan LF, Wan JL (2020). Fine mapping of the *qHTB1-1* QTL, which confers heat tolerance at the booting stage, using an *Oryza rufipogon* Griff. introgression line. *Theor Appl Genet* **133**, 1161–1175.

Chen L, Wang Q, Tang MY, Zhang XL, Pan YH, Yang XH, Gao GQ, Lv RH, Tao W, Jiang LG, Liang TF (2021). QTL mapping and identification of candidate genes for heat tolerance at the flowering stage in rice. *Front Genet* **11**, 621871.

Chen XG, Chen S (2018). China feels the heat: negative impacts of high temperatures on China's rice sector. *Aust J Agric Resour Econ* **62**, 576–588.

Haq ul S, Khan A, Ali M, Khattak AM, Gai WX, Zhang HX, Wei AM, Gong ZH (2019). Heat shock proteins: dynamic biomolecules to counter plant biotic and abiotic stresses. *Int J Mol Sci* **20**, 5321.

IPCC (2021). Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 199–200.

Jacob P, Hirt H, Bendahmane A (2017). The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. *Plant Biotechnol J* **15**, 405–414.

Jagadish SVK, Cairns J, Lafitte R, Wheeler TR, Price AH, Craufurd PQ (2010). Genetic analysis of heat tolerance at anthesis in rice. *Crop Sci* **50**, 1633–1641.

Kan Y, Mu XR, Zhang H, Gao J, Han JX, Ye WW, Lin HX (2022). *TT2* controls rice thermotolerance through SCT1-dependent alteration of wax biosynthesis. *Nat Plants* **8**, 53–67.

Kanegae H, Miyoshi K, Hirose T, Tsuchimoto S, Mori M, Nagato Y, Takano M (2005). Expressions of rice sucrose *non-fermenting-1 related protein kinase 1* genes are differently regulated during the caryopsis development. *Plant Physiol Biochem* **43**, 669–679.

Khan S, Anwar S, Ashraf MY, Khaliq B, Sun M, Hussain S, Gao ZQ, Noor H, Alam S (2019). Mechanisms and adaptation strategies to improve heat tolerance in rice. *Plants* **8**, 508.

Kilasi NL, Singh J, Vallejos CE, Ye CR, Jagadish SVK, Kusolwa P, Rathinasabapathi B (2018). Heat stress tolerance in rice (*Oryza sativa* L.): identification of quantitative trait loci and candidate genes for seedling growth under heat stress. *Front Plant Sci* **9**, 1578.

Kim JH, Lim SD, Jang CS (2019). *Oryza sativa* heat-induced RING finger protein 1 (OsHIRP1) positively regulates plant response to heat stress. *Plant Mol Biol* **99**, 545–559.

Lee BH, Won SH, Lee HS, Miyao M, Chung WI, Kim IJ, Jo J (2000). Expression of the chloroplast-localized small heat shock protein by oxidative stress in rice. *Gene* **245**, 283–290.

Li XM, Chao DY, Wu Y, Huang XH, Chen K, Cui LG, Su L, Ye WW, Chen H, Chen HC, Dong NQ, Guo T, Shi M, Feng Q, Zhang P, Han B, Shan JX, Gao JP, Lin HX (2015). Natural alleles of a proteasome α2 subunit gene contribute to thermotolerance and adaptation of African rice. *Nat Genet* **47**, 827–833.

Liu F, Zhang L, Luo YZ, Xu MY, Fan YL, Wang L (2016a). Interactions of *Oryza sativa* OsCONTINUOUS VASCULAR RING-LIKE 1 (OsCOLE1) and OsCOLE1-INTERACTING PROTEIN reveal a novel intracellular auxin transport mechanism. *New Phytol* **212**, 96–107.

Liu JP, Zhang CC, Wei CC, Liu X, Wang MG, Yu FF, Xie Q, Tu JM (2016b). The RING finger ubiquitin E3 ligase OsHTAS enhances heat tolerance by promoting H_2O_2-induced stomatal closure in rice. *Plant Physiol* **170**, 429–443.

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.

Meng L, Li HH, Zhang LY, Wang JK (2015). QTL ICIMAPPING: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. *Crop J* **3**, 269–283.

Mittal D, Chakrabarti S, Sarkar A, Singh A, Grover A (2009). Heat shock factor gene family in rice: genomic organization and transcript expression profiling in response to high temperature, low temperature and oxidative stresses. *Plant Physiol Biochem* **47**, 785–795.

Murakami T, Matsuba S, Funatsuki H, Kawaguchi K, Saruyama H, Tanida M, Sato Y (2004). Over-expression of a small heat shock protein, sHSP17.7, confers both heat tolerance and UV-B resistance to rice plants. *Mol Breed*

13, 165–175.

Murthy VS, Ravishankar KV (2016). Molecular mechanisms of heat shock proteins and thermotolerance in plants. In: Srinivasa Rao NK, Shivashankara KS, Laxman RH, eds. Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops. New Delhi: Springer. pp. 71–83.

Sarkar NK, Kim YK, Grover A (2009). Rice sHsp genes: genomic organization and expression profiling under stress and development. *BMC Genomics* **10**, 393.

Sarkar NK, Kotak S, Agarwal M, Kim YK, Grover A (2020). Silencing of class I small heat shock proteins affects seed-related attributes and thermotolerance in rice seedlings. *Planta* **251**, 26.

Shad MA, Wang YX, Zhang H, Zhai SS, Shalmani A, Li YB (2023). Genetic analysis of GEFs and GDIs in rice reveals the roles of *OsGEF5*, *OsGDI1*, and *OsGEF3* in the regulation of grain size and plant height. *Crop J* **11**, 345–360.

Siddique M, Gernhard S, von Koskull-Döring P, Vierling E, Scharf KD (2008). The plant sHSP superfamily: five new members in *Arabidopsis thaliana* with unexpected properties. *Cell Stress Chaperones* **13**, 183–197.

Wang D, Qin BX, Li X, Tang D, Zhang YE, Cheng ZK, Xue YB (2016). Nucleolar DEAD-Box RNA helicase TOGR1 regulates thermos tolerant growth as a Pre-rRNA chaperone in rice. *PLoS Genet* **12**, e1005844.

Xiao YH, Pan Y, Luo LH, Zhang GL, Deng HB, Dai LY, Liu XL, Tang WB, Chen LY, Wang GL (2011). Quantitative trait loci associated with seed set under high temperature stress at the flowering stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* **178**, 331–338.

Yamamoto Y, Kamiya N, Morinaka Y, Matsuoka M, Sazuka T (2007). Auxin biosynthesis by the *YUCCA* genes in rice. *Plant Physiol* **143**, 1362–1371.

Yang J, Ji LX, Zhu BH, Yuan XJ, Jin DM, Xie GS (2018). OsCML16 interacts with a novel CC-NBS-LRR protein OsPi304 in the Ca^{2+}/Mg^{2+} dependent and independent manner in rice. *Biochem Biophys Res Commun* **504**, 346–351.

Zhang KM, Ezemaduka AN, Wang Z, Hu HL, Shi XD, Liu C, Lu XP, Fu XM, Chang ZY, Yin CC (2015). A novel mechanism for small heat shock proteins to function as molecular chaperones. *Sci Rep* **5**, 8811.

Zhang Y, Zou BH, Lu S, Ding Y, Liu H, Hua J (2016). Expression and promoter analysis of the *OsHSP16.9C* gene in rice. *Biochem Biophys Res Commun* **479**, 260–265.

Zheng KL, Zhao J, Lin DZ, Chen JY, Xu JL, Zhou H, Teng S, Dong YJ (2016). The rice *TCM5* gene encoding a novel Deg protease protein is essential for chloroplast development under high temperatures. *Rice* **9**, 13.

Zhu S, Huang RL, Wai HP, Xiong HL, Shen XH, He HH, Yan S (2017). Mapping quantitative trait loci for heat tolerance at the booting stage using chromosomal segment substitution lines in rice. *Physiol Mol Biol Plants* **23**, 817–825.

Mapping of QTLs for Heat Tolerance at the Seedling Stage in Rice Based on a High-density Bin Map

Ling Zhao[1], Ju Guan[1], Wenhua Liang[1], Yong Zhang[2], Kai Lu[1], Chunfang Zhao[1]
Yusheng Li[1], Yadong Zhang[1*]

[1]Jiangsu High Quality Rice Research & Development Center, East China Branch of National Center of Technology Innovation for Saline-Alkali Tolerant Rice, Nanjing Branch of China National Center for Rice Improvement, Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; [2]Biological Breeding Research Laboratory, Wuxi Branch of Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Wuxi 214000, China

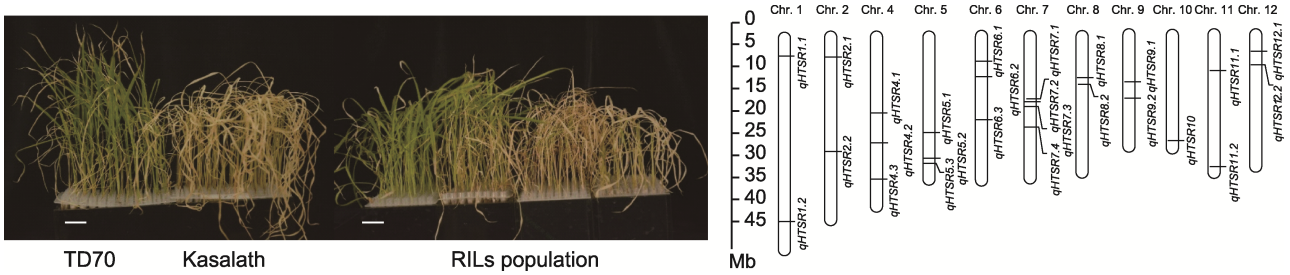
INTRODUCTION: As the main grain crop, rice plays an important role in ensuring food security of China. Rise in global average temperature is detrimental to crop yield and heat stress is currently one of the major abiotic threats on rice production. There are significant variations in heat tolerance among different rice varieties. As a typical quantitative trait, heat tolerance of rice is controlled by multiple genes. Identification of new QTLs and genes related to heat tolerance is very important for the genetic research and the breeding of new heat-tolerant rice varieties.

RATIONALE: In recent years, many heat tolerant QTLs had been identified with different genetic populations and evaluation indicators at different growth stages. Most of those QTLs were mapped in large intervals due to the limited population sizes, simplified experimental designs and inaccurately controlled environments. The heat tolerance level identification in a population is very difficult for mature plants. Therefore, we developed a population of recombinant

inbred lines (RILs) with 186 lines derived from *japonica* rice TD70 and *indica* rice Kasalath, which showed large variations in seedling survival rates under high temperature stress (HTSR). QTLs associated with HTSR were mapped by the high-density linkage Bin-map and candidate genes were identified.

RESULTS: Twenty-six QTLs related to the HTSR were mapped on 11 of the 12 chromosomes, with the exception of 3. The LOD values of single QTL ranged from 2.59–16.15, four of which with LOD values greater than 10. Seven QTLs were located within the same interval or adjacent to known heat tolerance QTLs. The major locus of *qHTSR5.2* was located in the 26.25–26.38 Mb region of Chr. 5 with an LOD value of 12.07, which explained 7.18% of the total phenotypic variation in the HTSR. According to the annotation and sequence analysis of the genes located in the region of four major QTLs, we found that twenty-seven annotated genes with non-synonymous mutations in the coding regions between TD70 and Kasalath. Five of them were identified as potential candidate genes because the RILs sharing each of the distinct haplotypes of their parents for each gene exhibited significant different HTSR resistance level. Among them, three candidate genes encode heat shock proteins HSP20 or HSP17.5.

CONCLUSION: We detected 26 QTLs controlling seedling heat tolerance based on a high-density Bin map in a RIL population. Some of the QTLs were overlapped with known heat tolerance loci, indicating their strong effects on regulating heat tolerance of rice. Five candidate genes were identified through gene annotation, parental sequence comparison, effect analysis of heat tolerance between RILs with different haplotypes. The candidate genes identified in our study could be used for molecular mechanism research on high temperature tolerance of rice in the future.



Mapping of QTL for heat tolerance at seedling stage in rice based on a high-density Bin map. Heat tolerance of parents and RILs population during seedling stage. Location of QTLs contributing to heat tolerance at seedling stage.

Key words heat tolerance, high-density Bin map, QTL mapping, rice, seedling stage

Zhao L, Guan J, Liang WH, Zhang Y, Lu K, Zhao CF, Li YS, Zhang YD (2025). Mapping of QTLs for heat tolerance at the seedling stage in rice based on a high-density Bin map. *Chin Bull Bot* **60**, 342–353.

---

* Author for correspondence. E-mail: zhangyd@jaas.ac.cn

(责任编辑: 孙冬花)

通讯作者简介

张亚东, 男, 汉族, 江苏省靖江人, 研究员, 硕士生导师。2001年6月本科毕业于扬州大学农学院; 2003年6月硕士研究生毕业于扬州大学作物遗传育种专业; 2014年6月博士研究生毕业于南京农业大学作物遗传育种专业。2003.08–至今在江苏省农业科学院粮食作物研究所工作, 从事水稻遗传育种研究。其中2003.08–2006.07任研究实习员, 2006.08–2012.08任助理研究员, 2012.09–2018.09任副研究员, 2018.10–至今任研究员。2014.08–2015.12先后在美国密西西比州立大学、德州农工大学做访问学者, 从事作物科学研究。