

水稻粒形相关性状及千粒重 QTL 的稳定性分析

王松凤¹, 李辉¹, 刘喜¹, 陈亮明¹, 刘世家¹, 江玲^{1*}, 万建民^{1,2}

(1. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室/江苏省植物基因工程技术研究中心, 江苏 南京 210095;
2. 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 以 Nipponbare (japonica) /Kasalath (indica) //Nipponbare BC₁F₁₀ 的 98 个家系为材料, 在 3 种环境下对水稻粒形相关性状及千粒重进行数量性状基因位点 (quantitative trait loci, QTL) 的定位分析。利用 QTL mapper 1.6 软件在全基因组水平上检测了粒形相关性状及千粒重 QTL。结果表明, 在 3 种环境下共检测到 4、1、4、5、5 个 QTL, 分别控制粒长、粒厚、粒宽、粒形和千粒重。鉴定了以 Nipponbare 为背景、Kasalath 为置换片段的染色体片段置换系群体在 3 种环境中的表型值, 发现与背景亲本相比, 置换片段包含 *qGL-6* 的株系 NK28、包含 *qGL-12* 的株系 NK32 粒长均明显变长; 置换片段包含 *qGW-1* 和 *qGW-7* 的株系 NK9 和 NK32 粒宽均明显变窄; 置换片段包含 *qLWR-5* 的株系 NK22 和 NK32、包含 *qLWR-12* 的株系 NK32 粒形明显变大; 置换片段包含 *qTGW-1-1* 的株系 NK9 千粒重显著降低。上述结果表明, 这些 QTL 是稳定表达的主效 QTL。

关键词: 水稻; 粒形相关性状; 千粒重; QTL; 稳定性分析

中图分类号: S511.032 文献标识码: A 文章编号: 1000-2030 (2008) 03-0001-07

Stability analysis of QTL for the traits related to grain shape and 1 000-grain weight in rice

WANG Song-feng¹, LI Hui¹, LIU Xi¹, CHEN Liang-ming¹, LIU Shi-jia¹, JIANG Ling^{1*}, WAN Jian-min^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement/Research Center of Jiangsu Plant Gene Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;
2. Crop Science Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Ninety-eight backcross inbred lines derived from Nipponbare (japonica) /Kasalath (indica) //Nipponbare were used to map QTL for grain shape related traits and 1 000-grain weight under the three environments. By QTL mapper 1.6 software, QTL controlling grain shape related traits and 1 000-grain weight were detected on the whole genome. The number of QTL for grain length, grain thickness, grain width, the ratio of grain length to width, and 1 000-grain weight were 4, 1, 4, 5 and 5, respectively. Further stability analysis was conducted using chromosome segment substitution lines (CSSL) with Nipponbare as the genetic background and Kasalath as the donor in three environments. The results showed that significant difference of phenotypic values existed between the recurrent parent, Nipponbare, and the NK28 harboring *qGL-6*, NK32 harboring *qGL-12* alleles. Compared to Nipponbare, the seeds of NK28 and NK32 became longer. The two CSSL both harboring *qGW-1* and *qGW-7* allele, including NK9 and NK32, had markedly decreased in grain width across the three environments. The same case was for the two CSSL harboring *qLWR-5* allele, namely NK22 and NK32, as well as the CSSL NK32 harboring *qLWR-12* allele, and the CSSL NK9 harboring *qTGW-1-1* allele. These effects of the alleles at above loci were significant and stable. The results provided the foundation for further map-based cloning and marker-assisted selection (MAS) breeding.

Key words: *Oryza sativa* L.; traits related to grain shape; 1 000-grain weight; QTL; stability analysis

稻谷粒长、粒宽和粒形是衡量稻米外观品质的重要指标之一, 而稻谷籽粒形状以及千粒重也是水稻产量构成的重要因素。增加水稻籽粒体积和提高籽粒充实度 (或籽粒容重) 可以提高籽粒产量; 但是, 随着籽粒体积增大, 往往会引起籽粒外观及加工品质的下降。因此, 合理的粒形和千粒重是水稻优质高产育种的重要目标之一。

收稿日期: 2007-08-10

基金项目: 国家 863 计划项目 (2006AA10Z1A5); 国家科技攻关计划 (2006BAD13B01, 2006BAD01A01-5); 江苏省水稻种质资源基因库建设项目 (SX (2007) g02); 长江学者和创新团队发展计划

作者简介: 王松凤, 硕士研究生。* 通讯作者: 江玲, 教授, 主要从事水稻遗传育种研究, E-mail: rice@njau.edu.cn, Tel and Fax: 025-84396516。

稻谷籽粒形状和千粒重是受多基因控制的数量性状, 利用分子标记定位其数量性状基因位点 (quantitative trait loci, QTL), 明确其效应大小和作用方式, 不仅能深入了解稻谷籽粒形状以及千粒重的遗传机制, 还为 QTL 的克隆和分子标记辅助选择育种提供理论基础。目前, 关于稻谷籽粒形状及千粒重 QTL 定位研究已有不少报道^[1-5], 但由于所用的群体不同, 检测到的 QTL 存在较大的差异。对效应较大的 QTL 也有精细定位和图位克隆的研究^[6-8]: 例如, Fan 等^[7]利用衍生于明恢 63 (大粒) 和川 7 (小粒) 的群体, 精细定位和克隆了位于第 3 染色体上控制粒长、粒重的主效 QTL 和控制粒宽的微效 QTL - GS, 它编码一个可能的跨膜蛋白; Song 等^[8]利用衍生于 WY3 (大粒) 和丰矮占 (小粒) 的群体, 精细定位和克隆了位于第 2 染色体上控制粒宽和粒重的 QTL - GW2, 它编码一个 RING 型的 E3 泛素连接酶。这些研究均表明稻谷籽粒形状以及千粒重的遗传基础复杂, 不同品种所控制的稻谷籽粒形状以及千粒重的基因可能不同。因此, 挖掘新的控制稻谷籽粒形状以及千粒重的基因, 检测这些基因在不同环境下的表达稳定性, 探讨不同群体中可能存在的相同基因, 对指导水稻超高产育种具有重要意义。为此, 本研究利用 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare 回交重组自交系 (backcross inbred line, BIL) 和以 Nipponbare 为背景、Kasalath 为置换片段的染色体片段置换系 (chromosome segment substitution line, CSSL) 群体, 对控制稻谷粒长、粒厚、粒宽、粒形和千粒重的 QTL 进行多年多点的稳定性分析, 挖掘稳定表达的控制粒形及千粒重的主效 QTL, 并与前人研究进行比较分析, 旨在为水稻产量和籽粒外观品质的分子改良提供基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为衍生于 Nipponbare (japonica) /Kasalath (indica) //Nipponbare 的 98 个 BC₁F₁₀ 株系 (BIL), 及相应的包含 54 个株系的以 Nipponbare 为背景、Kasalath 为置换片段的 CSSL 群体, 于 2005 年 5 月中旬在南京播种, 2006 年 5 月中旬同时在南京、连云港播种, 同年 6 月下旬插秧。每个家系单本种植 1 行, 每行 10 株, 同田插植亲本。生长期间管理同一般大田。BIL 和 CSSL 及相应的分子数据均由日本农业生物资源研究所 Yano 博士提供。

1.2 性状调查

为保证所用种子的含水量一致, 种子成熟收获后, 50 °C 烘 3 d, 用于粒形相关性状及千粒重的测定。粒形相关性状的测定方法参照万向元等^[9]的方法进行, 即每家系混收, 随机选取 10 粒种子, 用游标卡尺对稻谷的粒长、粒厚、粒宽进行测定, 取平均值作为性状表型值, 粒长与粒宽的比值作为粒形的表型值。千粒重的测定方法是: 种子干燥后, 随机取 200 粒称重, 重复 3 次, 取平均值乘以 5, 作为该家系的千粒重表型值。

1.3 统计分析方法

利用软件 QTL mapper 1.6^[10], 采用基于混合线性模型的复合区间作图法, 对 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL 群体在 3 种环境下的数据进行联合分析。结合似然比 (likelihood ratio, LR) 和 *t* 测验分析方法, 以 LOD ≥ 3.0 作为阈值来判断 QTL 是否存在, 以 $P \leq 0.001$ 为显著水平分析 QTL 加性效应和上位性互作效应。QTL 命名遵循 McCouch 等^[11]的原则。采用 *t* 测验分析 3 种环境下携有稻谷粒长、粒厚、粒宽、粒形和千粒重加性效应 QTL 的 CSSL 株系相应表型值与背景亲本 Nipponbare 之间的差异显著性, 以验证所携带的 QTL 是否能稳定表达。

2 结果与分析

2.1 亲本 Kasalath 与 Nipponbare 及其 BIL 的粒形相关性状及千粒重

3 种环境下, 两亲本在粒长、粒厚、粒宽、粒形及千粒重等性状上均存在差异 (表 1)。在 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL 群体中, 粒形相关性状及千粒重均呈连续分布, 同时存在双向超亲现象, 而且在不同的环境中均呈现类似的分布。表明粒长、粒厚、粒宽、粒形及千粒重均为多基因控制的数量性状。

表1 亲本及回交重组自交系 (BIL) 群体粒形相关性状及千粒重

Table 1 Grain shape related traits and 1 000-grain weight of rice in the parental lines and the backcross inbred line (BIL) populations

性状 Traits	环境 En	亲本 Parents		回交重组自交系群体 BIL populations					
		Nipponbare	Kasalath	平均 Mean	范围 Range	变异系 数/% CV	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness	标准差 SD
粒长/mm GL	E1	7.38	7.69*	7.56	6.74~8.72	5.59	0.26	0.54	0.42
	E2	7.58	7.98**	7.65	6.36~9.00	5.56	1.35	0.31	0.42
	E3	7.13	7.88**	7.52	6.23~8.95	6.31	0.85	0.39	0.47
粒厚/mm GT	E1	2.07	1.77**	1.91	1.68~2.15	5.00	-0.15	0.22	0.10
	E2	2.06	1.80**	1.93	1.65~2.24	5.83	0.48	0.00	0.11
	E3	1.77	2.11**	1.94	1.64~2.20	6.16	-0.09	-0.18	0.12
粒宽/mm GW	E1	3.17	2.42**	2.74	2.30~3.21	7.29	-0.31	0.11	0.20
	E2	3.15	2.49**	2.93	2.57~3.30	6.73	-0.97	0.03	0.20
	E3	3.05	2.55**	2.95	2.49~3.42	7.31	-0.62	0.11	0.22
长宽比 LWR	E1	2.33	3.17**	2.76	2.22~3.26	8.69	-0.63	0.07	0.24
	E2	2.40	3.21**	2.62	2.22~3.07	8.31	-0.93	0.27	0.22
	E3	2.32	2.94**	2.60	2.08~3.24	9.57	-0.09	0.39	0.22
千粒重/g TGW	E1	25.01	16.70**	20.52	15.16~28.04	12.88	0.05	0.53	2.64
	E2	23.69	15.41**	19.67	14.64~25.63	12.65	-0.13	0.25	2.49
	E3	22.94	15.24**	18.22	13.78~26.81	15.76	0.56	0.75	2.68

注：1) E1：南京 Nanjing (2005)；E2：南京 Nanjing (2006)；E3：连云港 Lianyungang (2006)

2) En: Environment; GL: Grain length; GT: Grain thickness; GW: Grain width; LWR: Grain length-grain width ratio; TGW: 1 000-grain weight. CV and SD denote the coefficient of variation, and standard derivation, respectively. The same as follows.

2.2 粒形相关性状及千粒重的相关性分析

粒长、粒厚、粒宽、粒形以及千粒重在3种环境间表现出极显著正相关(表2)，其在不同环境间的相关系数分别为0.79~0.83、0.61~0.67、0.82~0.83、0.78~0.84和0.74~0.79，其中粒厚的相关系数最小，表明粒厚最易受环境影响，而粒长、粒宽、粒形及千粒重的遗传相对稳定。

此外，性状之间存在不同程度的相关性(表2)，粒长、粒形、粒厚、粒宽与千粒重之间以及粒长与粒形之间均存在极显著的正相关；粒宽与粒形之间存在极显著的负相关；而粒长与粒厚、粒宽之间均不存在相关性，表明粒形(长宽比)取决于粒长和粒宽，而粒长、粒厚和粒宽与千粒重密切相关。

表2 3种环境下 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL 群体粒形及千粒重的相关系数

Table 2 Correlation coefficients of grain shape related traits and 1 000-grain weight of rice in the Nipponbare/Kasalath//Nipponbare populations across three environments

环境 En	性状 Traits	E1					E2					E3					
		GL	GT	GW	LWR	TGW	GL	GT	GW	LWR	TGW	GL	GT	GW	LWR	TGW	
E1	GL	1.00															
	GT	0.19	1.00														
	GW	0.13	0.58**	1.00													
	LWR	0.51**	-0.38**	-0.78**	1.00												
	TGW	0.49**	0.80**	0.69**	-0.30*	1.00											
E2	GL	0.79**	0.31**	0.15	0.37**	0.56**	1.00										
	GT	0.10	0.67**	0.22	-0.13	0.56**	0.27*	1.00									
	GW	0.11	0.46**	0.82**	-0.64**	0.61**	0.15	0.27*	1.00								
	LWR	0.45**	-0.17	-0.57**	0.79**	-0.12	0.57**	-0.04	-0.72**	1.00							
	TGW	0.44**	0.63**	0.37**	-0.05	0.79**	0.62**	0.76**	0.40**	0.09	1.00						
E3	GL	0.83**	0.31*	0.11	0.42**	0.56**	0.88**	0.19	0.07	0.56**	0.56**	1.00					
	GT	0.11	0.63**	0.26*	-0.16	0.58**	0.27*	0.61**	0.22	0.01	0.59**	0.31*	1.00				
	GW	0.08	0.53**	0.82**	-0.66**	0.65**	0.16	0.27*	0.83**	-0.57**	0.40**	0.17	0.33**	1.00			
	LWR	0.43**	-0.23	-0.57**	0.78**	-0.15	0.42**	-0.12	-0.64**	0.84**	0.02	0.51**	-0.02	-0.68**	1.00		
	TGW	0.44**	0.62**	0.41**	-0.08	0.74**	0.56**	0.50**	0.38**	0.08	0.74**	0.57**	0.70**	0.44**	0.03	1.00	

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.3 控制粒形相关性状及千粒重的 QTL 定位

在3种环境中 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL 群体共检测到17个控制粒长、粒厚、粒宽、粒形及千粒重的加性 QTL (表3)。4个控制粒长性状的 QTL 分别位于第2、6、7和12染色体上，其中位

于第 2 染色体 C560 附近的 $qGL-2$ 贡献率最大, 为 24.19%, LOD 值为 23.97, 未发现与环境的互作。1 个控制粒厚性状的 QTL, 位于第 12 染色体上, 对表型变异的贡献率为 5.17%。3 个控制粒宽性状的 QTL 分别位于第 5、7 和 12 染色体上, 其中位于第 5 染色体上 R1838 附近的 $qGW-5$ 的贡献率最高, 为 17.67%, LOD 值为 17.38。5 个控制粒形性状的 QTL, 分别位于第 1、2 (2 个)、5 和 12 染色体上, 其中位于第 5 染色体 R1838 附近的 $qLWR-5$ 的贡献率最高, 为 10.85%, LOD 值为 19.39。4 个控制千粒重的 QTL 分别位于第 1 (2 个)、2 和 6 染色体上, 对表型变异的贡献率为 4.63% ~ 9.16%, LOD 值为 6.87 ~ 8.79。

表 3 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL 群体中检测到的控制粒形及千粒重的加性 QTL 及其与环境互作效应

Table 3 Additive QTL and gene \times environment interactions affecting grain shape related traits and 1 000-grain weight of rice detected in Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL populations

性状 Traits	位点 Loci	染色体 Chromosome	标记区间 Marker interval	LOD 值 LOD value	加性效应 Additive effects	$h_A^2/\%$	$h_{AE}^2/\%$
GL	$qGL-2$	2	G275 - C560	23.97	0.17	24.19	—
	$qGL-6$	6	G122 - R674	13.12	-0.11	10.39	3.84
	$qGL-7$	7	R1789 - C596	6.85	0.07	3.92	3.68
	$qGL-12$	12	R617 - R3375	5.43	-0.09	6.91	2.49
GT	$qGT-12$	12	R2708 - G2140	3.56	-0.04	5.17	10.75
GW	$qGW-5$	5	R1838 - C249	17.38	0.09	17.67	—
	$qGW-7$	7	R1357 - R1245	4.40	-0.04	3.75	2.90
	$qGW-12$	12	G1406 - C1069	5.82	0.05	6.03	—
LWR	$qLWR-1$	1	C1370 - C122	12.53	-0.07	7.43	8.33
	$qLWR-2-1$	2	G132 - C777	3.81	-0.02	0.83	3.17
	$qLWR-2-2$	2	C365 - C132	4.68	-0.04	2.41	1.26
	$qLWR-5$	5	R1838 - C249	19.39	-0.09	10.85	6.30
	$qLWR-12$	12	R3375 - R2672	7.79	-0.06	5.16	1.32
TGW	$qTGW-1-1$	1	C742 - R2414	7.01	-0.70	4.63	1.96
	$qTGW-1-2$	1	C970 - C161	6.87	-0.98	9.16	6.09
	$qTGW-2$	2	C1408 - R418	7.41	0.73	5.11	—
	$qTGW-6$	6	R2549 - C358	8.79	-0.86	6.97	—

注: h_A^2 : 加性效应贡献率 Variation explained by additive effect; h_{AE}^2 : 加性 QTL 与环境互作效应贡献率 Variation explained by additive-environment interaction effect

分析还发现, 上述 17 个控制粒形相关性状及千粒重加性的 QTL 中, 有 12 个加性 QTL 与环境发生显著互作, 可解释的变异为 1.26% ~ 10.75% (表 3)。第 5 染色体 R1838 附近的 QTL 既控制粒宽又控制粒形, 其增加粒宽的等位基因来源于亲本 Nipponbare, 使粒形变长的等位基因来源于亲本 Kasalath。第 12 染色体 R3375 附近的 QTL 既控制粒长又控制粒形, 其增效的等位基因均来源于亲本 Kasalath。第 2 染色体 C560 附近的 QTL 控制粒长, 加性效应贡献率达 24.19%, 该 QTL 还与千粒重有关, 其增效的等位基因均来源于亲本 Nipponbare。第 6 染色体 R2549 附近的 QTL 既控制粒长又控制千粒重, 其增效的等位基因均来源于亲本 Kasalath。

2.4 利用 CSSL 群体验证粒长、粒宽、粒形以及千粒重稳定表达的 QTL

利用以 Nipponbare 为背景、Kasalath 为置换片段的染色体片段置换系, 对增效等位基因来源于 Kasalath 的 QTL 进行验证。将携带目标 QTL 的置换系与背景亲本各性状的表型值进行 t 测验分析 (图 1), 若在 3 种环境中置换系与背景亲本间均存在显著差异, 则证实相应 QTL 能稳定表达。在 3 种环境中, 与背景亲本相比, 携带 $qGL-6$ 的置换系 NK28 和携带 $qGL-12$ 的 NK32 粒长均明显变长, 分别增加 7% ~ 11% 和 16% ~ 18%; 携带 $qGW-7$ 的置换系 NK28 和 NK32 粒宽均变窄, 分别减少 7% ~ 14% 和 5% ~ 12%; 携带 $qLWR-5$ 的置换系 NK22 和 NK32、携带 $qLWR-12$ 的置换系 NK32 粒形均明显变大, 三者分别增加 16% ~ 29%、28% ~ 34% 和 28% ~ 34%; 携带 $qTGW-1-1$ 的置换系 NK9 千粒重明显下降, 下降幅度达 15% ~ 19%, 表明这些 QTL 均能够稳定表达。

然而, 另外 2 个粒长 QTL ($qGL-2$ 和 $qGL-7$)、2 个粒宽 QTL ($qGW-5$ 和 $qGW-12$) 和 1 个千粒重 QTL ($qTGW-2$), 因没有对应的置换系, 故无法进行验证。此外, 携带 $qGT-12$ 、 $qLWR-1$ 、 $qLWR-2-1$ 、 $qLWR-2-2$ 、 $qTGW-1-2$ 和 $qTGW-6$ 的置换系在不同环境中表达不稳定, 暗示这些 QTL 的表达受环境影响较大。

置换片段对应的 RFLP 位点 RFLP loci in the substituted segments					表型值 Phenotypic values			
<i>qGL-6</i> 位点					粒长 Grain length			
<i>qGL-6</i> locus	R2654	C214	R674	R2549	R2071	E1	E2	E3
Nipponbare						7.38	7.58	7.13
NK32						7.91**	8.11***	7.92***
Kasalath						7.69	7.98	7.88
<i>qGL-12</i> 位点					粒长 Grain length			
<i>qGL-12</i> locus	R2672	R3375	R617	C445	C2140	E1	E2	E3
Nipponbare						7.38	7.58	7.13
NK32						8.69***	8.82***	8.42***
Kasalath						7.69	7.98	7.88
<i>qGW-1</i> 位点					粒宽 Grain width			
<i>qGW-1</i> locus	C399	C1211	R210	R2329S	C178	E1	E2	E3
Nipponbare						3.17	3.15	3.05
NK32						2.72***	2.92***	2.73***
NK32						2.77***	2.86***	2.87***
Kasalath						2.42	2.49	2.55
<i>qGW-7</i> 位点					粒宽 Grain width			
<i>qGW-7</i> locus	R1440	C451	R1557	R1245	C847	E1	E2	E3
Nipponbare						3.17	3.15	3.05
NK9						2.72***	2.92***	2.73***
NK32						2.77***	2.86***	2.87***
Kasalath						2.42	2.49	2.55
<i>qLWR-5</i> 位点					粒形 Grain shape			
<i>qLWR-5</i> locus	R830	R3166	R1838	C1004	R566	E1	E2	E3
Nipponbare						2.33	2.40	2.32
NK9						3.02***	2.86***	2.70***
NK32						3.13**	3.08***	3.00***
Kasalath						3.17	3.21	2.94
<i>qLWR-12</i> 位点					粒形 Grain shape			
<i>qLWR-12</i> locus	C1336	R2672	R3375	R617	C443	E1	E2	E3
Nipponbare						2.33	2.40	2.32
NK32						3.13***	3.08***	3.00***
Kasalath						3.17	3.21	2.94
<i>qTGW-1-1</i> 位点					千粒重 1 000-grain weight			
<i>qTGW-1-1</i> locus	C86	R2018	C742	G5005	C112	E1	E2	E3
Nipponbare						25.03	23.69	22.94
NK9						20.33***	20.03***	18.51***
Kasalath						16.70	15.41	15.24

图 1 粒形相关性状及千粒重的 QTL 对应置换系和 Kasalath 与背景亲本 Nipponbare 在 3 种环境中的表型差异

Fig.1 Differences of phenotypic values between background parent Nipponbare and Kasalath, target CSSL carrying some of 4 QTL alleles controlled grain shape related traits and 1 000-grain weight across three environments

** 和 *** 分别表示 Nipponbare 的稻谷粒长、粒宽、长宽比及千粒重与目标置换系和 Kasalath 之间的差异达 1% 和 0.1% 显著水平。

** and *** mean the level of 1% and 0.1% of significant differences between GL, GW and TGW of Nipponbare and Kasalath, target CSSL carrying QTL alleles, respectively.

2.5 粒形相关性状及千粒重上位性 QTL 及其与环境的互作效应

在 3 种环境中，利用 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare 群体，共检测到 12 对粒形相关性状的上位性 QTL，在 10 条水稻染色体上均有分布，LOD 值为 7.64 ~ 21.23，贡献率为 0.55% ~ 9.24%（表 4）。进一步分析发现，这些上位性 QTL 具备如下特点：① 贡献率普遍较小，平均为 2.57%；② 上位性 QTL 的 LOD 值普遍较高，平均为 11.12；③ 所检测到的上位性 QTL 均涉及 2 条染色体。提示：上位性 QTL 是粒形相关性状及千粒重数量性状的一个重要遗传因素。

表 4 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL 群体中控制粒形及千粒重的上位性 QTL 及其与环境互作效应

Table 4 Epistatic effects and its environmental interactions for grain shape related traits and 1 000-grain weight of rice in Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL populations

性状 Traits	染色体 Chromosome	标记区间 Marker interval	染色体 Chromosome	标记区间 Marker interval	LOD 值 LOD value	加性效应 Additive effects	$h_{AAij}^2/\%$	$h_{AAEij}^2/\%$
GL	1	C1370 - C122	9	R2272 - R2638	9.04	-0.08	2.66	—
	3	R1618 - C595	12	R2708 - G2140	11.01	-0.12	6.62	—
	3	C746 - C136	12	R617 - R3375	8.00	-0.05	0.93	—
	4	R93 - C891	7	R1789 - C596	9.64	0.05	1.28	—
	5	R1838 - C249	7	R1789 - C596	9.15	-0.08	2.66	—
GW	1	R2635 - R1928	8	C390 - R1943	8.25	0.08	9.24	—
LWR	1	R117 - C742	12	R3375 - R2672	8.53	0.04	1.14	1.29
	1	C86 - C813	5	R1436 - R2289	7.64	-0.05	1.24	—
	1	C813 - R2417	4	C335 - C513	12.53	0.07	2.76	—
	2	C1221 - G275	5	R3166 - R1838	18.27	-0.04	0.75	—
	2	R3393 - C747	5	R1838 - C249	21.23	-0.03	0.55	—
	2	G132 - C777	6	R2549 - C358	10.18	-0.04	1.08	1.60

注: h_{AAij}^2 : 上位性效应贡献率 Variation explained by epistatic effect; h_{AAEij}^2 : 上位性 QTL 与环境互作效应贡献率 Variation explained by epistasis-environment interaction effect

3 讨论

水稻高产、优质等性状一般表现为数量遗传特性, 由多基因控制, 受遗传与环境的共同影响。传统育种通常根据表型来选择基因型, 往往造成选择偏差, 选择效率较低。而在分子标记技术基础上发展起来的分子标记辅助选择 (marker-assisted selection, MAS) 技术, 可在一定程度上弥补传统育种手段的不足。但要实现 MAS 育种, 则必须对控制产量、品质等性状的 QTL 进行准确的效应估计, 并获得紧密连锁的分子标记。因此, 在多年、多点、多个遗传背景中发掘能稳定表达的主效 QTL, 对于这些性状的分子改良具有重要意义。

QTL mapper 1.6 软件可以把群体均值、QTL 的各项遗传主效应 (包括加性、显性和上位性效应) 作为固定效应, 而把环境效应、QTL × 环境互作效应、分子标记效应及其与环境互作效应、随机残差等都作为随机效应, 可避免所选标记对 QTL 效应分析的影响, 还能无偏地分析 QTL 与环境互作效应; 进行多环境下联合 QTL 定位分析, 提高了作图的精度和效率^[10]。以粒长为例, 利用 Windows QTL Cartographer 2.0 软件, 采用复合区间作图法, 在全基因组范围内检测该群体中控制种子粒长的 QTL 位点 (表 5)。共检测到 11 个控制粒长性状的 QTL, 分别位于第 2、3、5、6、7 和 12 染色体上, 对表型变异的贡献率为 5.50% ~ 21.2%; 其中位于第 2 染色体 C560 附近的 *qGL-2* 在两年三点都被检测到, 平均贡献率达到 18.6%。利用软件 QTL mapper 1.6^[10], 采用基于混合线性模型的复合区间作图法, 对该群体在 3 种环境下的数据进行联合分析 (表 3), 其中检测到位于第 2 染色体 C560 附近的 *qGL-2* 的贡献率达到 24.19%, 同时未发现与环境互作。比较两种算法的结果, 认为主效稳定表达的 QTL 均可以检测到,

表 5 在不同环境中 Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL 群体所检测的控制粒长的 QTL 及统计特征

Table 5 QTL mapping for grain length using Nipponbare/Kasalath//Nipponbare BIL population in different environments

环境 En	位点 Loci	染色体 Chromosome	标记区间 Marker interval	LOD 值 LOD value	加性效应 Additive effects	贡献率/% Phenotypic variation explained
E1	<i>qGL-2</i>	2	C560 - C1408	4.90	0.19	17.9
	<i>qGL-3</i>	3	R1618 - C595	2.02	-0.14	5.9
	<i>qGL-7-1</i>	7	C1226 - R1440	2.41	-0.14	6.7
	<i>qGL-12-2</i>	12	R3375 - R2672	3.46	-0.17	10.1
	<i>qGL-12-3</i>	12	C732 - G193	3.10	0.15	8.8
E2	<i>qGL-2</i>	2	G275 - C560	6.81	0.23	21.2
	<i>qGL-3</i>	3	R3226 - R1618	3.08	-0.17	9.5
	<i>qGL-5</i>	5	R830 - R3166	2.32	-0.10	5.5
	<i>qGL-6</i>	6	R674 - R2549	2.23	-0.13	5.9
	<i>qGL-11</i>	11	R3202 - R1466	3.05	-0.15	8.2
	<i>qGL-12-1</i>	12	R2708 - G2140	2.90	-0.21	11.5
E3	<i>qGL-2</i>	2	C560 - C1408	4.59	0.21	16.8
	<i>qGL-6</i>	6	R674 - R2549	2.82	-0.18	8.7
	<i>qGL-7-2</i>	7	R1789 - C596	3.07	0.19	11.0

两种算法各有优缺点。采用 QTL mapper 1.6 复合区间作图法, 进行多环境下联合 QTL 定位分析, 能无偏地分析 QTL 与环境互作效应, 提高了分析的精度和效率^[10]。

通过整合高密度的分子标记连锁图谱^[12-13], 比较前人利用不同的遗传群体对水稻谷粒相关性状及千粒重的 QTL 定位结果, 发现本研究中在第 2 染色体 C560 附近检测到的控制粒长的主效 QTL *qGL-2*, 与邢永忠等^[1]、汪斌等^[2]、Wan 等^[14] 利用不同群体在第 2 染色体上检测到的控制粒长的 QTL 位于相同位置; 在第 5 染色体 C249 附近检测到的控制粒宽的 QTL *qGW-5*, 与林鸿宣等^[3]、林荔辉等^[4]、徐建龙等^[5]、Wan 等^[14] 和 Tan 等^[15] 利用不同群体在第 5 染色体上检测到的控制粒宽的 QTL 处于相同区间。本研究还利用携带目标 QTL 的染色体片段置换系验证了 *qGL-6*、*qGL-12*、*qGW-1*、*qGW-7*、*qLWR-5*、*qLWR-12*、*qTGW-1-1* 的存在, 与背景亲本相比, 在 3 种环境下, 携带相应 QTL 的置换系的相应性状表型均有显著变化。

从本研究定位的 17 个加性 QTL 来看, 位于第 2、6 染色体控制粒长与千粒重的 QTL、位于第 12 染色体控制粒长与粒形的 QTL、位于第 5 染色体控制粒宽与粒形的 QTL 均位于相邻位点, 而控制粒长和粒宽的 QTL 却分布在不同染色体上或相同染色体不同位置上。这在分子水平上解释了粒长与粒形、粒长与千粒重、粒宽与粒形呈极显著正相关, 而粒长与粒宽间相关性小的原因。本试验结果表明, 粒形相关性状与千粒重的 QTL 受主效基因控制的同时, 也受环境影响。表观形态和 QTL 分析的结果一致表明, 粒厚最容易受环境影响, 粒长、粒宽、粒形和千粒重相对稳定, 受环境影响较小, 遗传比较稳定, 因此在育种上可利用这些在不同环境下稳定表达的控制粒长、粒宽、粒形及千粒重的主效 QTL 进行目标育种。

参考文献:

- [1] 邢永忠, 谈移芳, 徐才国, 等. 利用水稻重组自交系群体定位谷粒外观性状的数量性状基因 [J]. 植物学报, 2001, 43(8): 840-845
- [2] 汪斌, 兰涛, 吴为人. 应用微卫星图谱定位稻米性状的 QTL [J]. 福建农业学报, 2003, 18(1): 11-15
- [3] 林鸿宣, 闵绍楷, 熊振民, 等. 应用 RFLP 图谱定位分析籼稻粒形数量性状基因座位 [J]. 中国农业科学, 1995, 28(4): 1-7
- [4] 林荔辉, 吴为人. 水稻粒型和粒重的 QTL 定位分析 [J]. 分子植物育种, 2003, 1(3): 337-342
- [5] 徐建龙, 薛庆中, 罗利军, 等. 水稻粒重及其相关性状的遗传解析 [J]. 中国水稻科学, 2002, 16(1): 6-10
- [6] Wan X Y, Wan J M, Jiang L, et al. QTL analysis for rice grain length and fine mapping of an identified QTL with stable and major effects [J]. Theor Appl Genet, 2006, 112: 1258-1270
- [7] Fan C C, Xing Y Z, Mao H L, et al. GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein [J]. Theor Appl Genet, 2006, 112: 1164-1171
- [8] Song X J, Huang W, Shi M, et al. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase [J]. Nature Genetics, 2007, 39(5): 623-630
- [9] 万向元, 刘世家, 王春明, 等. 利用 CSSLs 群体研究稻米粒型 QTL 的表达稳定性 [J]. 遗传学报, 2004, 31(11): 1275-1283
- [10] Wang D L, Zhu J, Li Z K, et al. Mapping QTL with epistatic effects and QTL × environment interaction by mixed linear model approaches [J]. Theor Appl Genet, 1999, 99: 1255-1264
- [11] McCouch S R, Kochert G, Yu Z H, et al. Molecular mapping of rice chromosomes [J]. Theor Appl Genet, 1988, 76: 815-829
- [12] Causse M A, Fulton T M, Cho Y G, et al. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population [J]. Genetics, 1994, 138: 1251-1274
- [13] Harushima Y, Yano M, Shomura A, et al. A high-density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F₂ population [J]. Genetics, 1998, 148: 479-494
- [14] Wan X Y, Wan J M, Weng J F, et al. Stability of QTLs for rice grain dimension and endosperm chalkiness characteristics across eight environments [J]. Theor Appl Genet, 2005, 110: 1334-1346
- [15] Tan Y F, Xing Y Z, Li J X, et al. Genetic bases of appearance quality of rice grains in Shanyou 63, an elite rice hybrid [J]. Theor Appl Genet, 2000, 101: 823-829