

水稻粒宽基因 *GS5* 的功能标记开发和单倍型鉴定

裔传灯* 王德荣 蒋伟 李玮 成晓俊 王颖 周勇 梁国华 顾铭洪

(扬州大学 江苏省作物遗传生理国家重点实验室培育点/粮食作物现代产业技术协同创新中心/教育部植物功能基因组学重点实验室, 江苏 扬州 225009; * 通讯联系人, E-mail: cdyi@yzu.edu.cn)

Development of Functional Markers and Identification of Haplotypes for Rice Grain Width Gene *GS5*

Yi Chuan-deng*, WANG De-rong, JIANG Wei, LI Wei, CHENG Xiao-jun, WANG Ying, ZHOU Yong, LIANG Guo-hua, GU Ming-hong

(*Jiangsu Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology/Co-Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops/Key Laboratory of Plant Functional Genomics of the Ministry of Education, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;*

* Corresponding author, E-mail: cdyi@yzu.edu.cn)

YI Chuandeng, WANG Derong, JIANG Wei, et al. Development of functional markers and identification of haplotypes for rice grain width gene *GS5*. *Chin J Rice Sci*, 2016, 30(5): 487-492.

Abstract: As a major component of rice grain shape, the grain width is an important trait which is correlated with the rice yield and quality. Based on the alignment of gene *GS5* genomic DNA sequence, two functional markers were developed based on two missense polymorphisms (ACC/CTA in the exon2, A/C in the exon9, respectively). Subsequently, the markers were used to identify the genotypes of gene *GS5* in the 294 accessions of a rice mini-core collection and 65 *japonica* varieties released in Jiangsu Province from 2007 to 2013. We found that the allelic variations at the two target loci had significant or extremely significant differences in the grain shape traits (grain length, grain width and ratio of length to width). Based on the two variation sites of gene *GS5*, four haplotypes (combinations) were found in the rice mini-core collection, and had extremely significant effect on grain width, grain thickness and ratio of length to width in the *indica* group, and on grain width and ratio of length to width in the *japonica* group, respectively. While in *japonica* varieties released by Jiangsu, only two haplotypes, Hap1 (represented by 64 varieties) and Hap2 (represented by one variety) were found. The results will lay a foundation for the application of the useful allelic variations or haplotypes of gene *GS5* to the rice yield and quality breeding program.

Key words: rice; grain shape; gene *GS5*; functional markers; haplotype

裔传灯, 王德荣, 蒋伟, 等. 水稻粒宽基因 *GS5* 的功能标记开发和单倍型鉴定. *中国水稻科学*, 2016, 30(5): 487-492.

摘要: 水稻粒宽是影响籽粒粒形的重要因素之一, 也是一个与水稻产量和稻米品质密切相关的重要性状。在基因 *GS5* 序列分析的基础上, 对该基因第 2 外显子的 ACC/CTA 和第 9 外显子 A/C 的两个变异位点分别开发了功能标记, 并将其用于 294 份水稻微核心种质和 2007—2013 年江苏省审定的 65 份粳稻品种的基因型鉴定。研究表明, 这两个变异位点的等位变异在水稻籽粒的粒长、粒宽和长宽比性状上存在显著或极显著的差异; 其在水稻微核心种质中组成的 4 种单倍型在水稻籼亚种的粒宽、粒厚和长宽比性状上存在极显著的差异, 在粳亚种的粒宽和长宽比性状上存在极显著的差异; 而江苏省审定的粳稻品种中仅发现 Hap1 和 Hap2 两种单倍型, 其分别有 64 个和 1 个代表性品种。这些研究结果为水稻产量和稻米品质育种中充分利用 *GS5* 的优异等位基因或单倍型奠定了基础。

关键词: 水稻; 粒形; 基因 *GS5*; 功能标记; 单倍型

中图分类号: Q755; S511.032

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2016)05-0487-06

水稻粒形性状包括粒长、粒宽、粒厚和长宽比^[1]。它对稻米品质有着重要的影响^[2], 尤其是稻米的外观品质(垩白粒率、垩白度)和碾磨加工品质(糙米率、精米率和整精米率), 如 *GW8*^[3] 和 *GW7*^[4]。同时, 通过影响千粒重、水稻粒形性状对水稻单产水平也有着重要的作用^[5]。如 *GW8*^[3]、

收稿日期: 2016-03-07; 修改稿收到日期: 2016-04-12。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31571624, 31071382); 国家重点基础研究发展计划资助项目(2010CB125904, 2013CBA01405); 江苏省高校自然科学研究重大项目(15KJA210004); 江苏省重点研发计划资助项目(BE2015341); 江苏高校优势学科建设工程资助项目。

GS3^[6]、*qGL3*^[7]、*qSW5/GW5*^[8,9]、*GS5*^[10] 和 *TGW6*^[11]。因此,水稻粒形性状遗传调控机理的研究对水稻产量育种和稻米品质育种都有着重要的指导意义。

GS5 是决定水稻粒形的重要基因之一。Li 等^[10] 研究发现 *GS5* 是编码类丝氨酸羧基酶的蛋白质,其对粒宽、籽粒灌浆速率和粒重有着正调控作用。相对于水稻品种 H94 的 *gs5* 而言,水稻品种珍汕 97 的 *GS5* 正向调节细胞周期上游的基因促进有丝分裂和增加细胞数量,从而增加粒宽,加快籽粒灌浆,结果导致粒重和单株产量得以提高;同时转基因证实来自水稻品种珍汕 97 的 *GS5* 启动子表达水平比较高,并与籽粒增大有着高度的相关性。Xu 等^[12] 进一步研究表明转录起始点上游 -1109 bp 和 -1032 bp 的两处单碱基变异对启动子的差异表达有重要的影响。目前,该基因其他的变异位点对水稻粒形性状有何效应还不清楚。为了全面认识 *GS5* 不同等位变异的效应,本研究对该基因未知功能的错义突变开发了相应的功能标记,结合水稻微核心种质和近年来江苏审定的粳稻的基因型检测,分析了这些变异位点和组合(单倍型)对水稻粒形性状的影响,以期水稻产量和稻米品质育种提供理论依据和快捷的选择手段。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试水稻材料包括来自国内外不同稻作区的水稻微核心种质 294 份^[13] 以及 2007—2013 年江苏省审定的粳稻品种 65 份^[14],它们分别引自中国农业大学和江苏省农业科学院。鉴于上述研究材料感光性存在明显的差异,为了确保正常抽穗,将所有供试水稻品种于 2014 年 11 月种植在海南陵水(短日照条件),2015 年 1 月移栽大田,田间管理同常规水稻品种。待水稻籽粒蜡熟后收种,充分晒干后进行水稻籽粒相关性状的测量。

1.2 水稻籽粒粒形相关性状的测定

水稻种子收获风干后,挑选饱满成熟种子,用游标卡尺(精确到 0.01 mm)测量粒长、粒宽和粒厚,5 次重复,计算平均值。用电子天平测定 1000 粒成熟烘干种子的质量,3 次重复,计算千粒重的平均值。

1.3 基因 *GS5* 序列变异的分析和功能标记的设计

根据水稻粒形基因 *GS5* 的研究结果^[10],从 NCBI 网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载

基因到 *GS5* 的相关 DNA 序列,即来源于籼稻品种珍汕 97 的 cDNA 序列(JN256056)和基因组 DNA 序列(JN256058),来源于籼稻品种 H94 的 cDNA 序列(JN256055)和基因组 DNA 序列(JN256057)。以上述序列作为种子序列,在 NCBI 网站水稻基因组数据库中检索到 1 条高度同源的基因组 DNA 序列(NC_008398.2);在水稻基因组注释计划(Rice Genome Annotation Project)网站 cDNA 数据库中检索到 2 条高度同源的 cDNA 序列(AK106800 和 CT833291)。借助 BioEdit 软件对上述序列进行比对分析。

利用 Primer Premier 5.0 软件,本研究对 *GS5* 第 2 和第 9 外显子的两个错义突变分别设计了酶切扩增多态性序列(cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS)标记和衍生酶切扩增多态性序列(derived cleaved amplified polymorphic sequence, dCAPS)标记。引物的合成和序列的测定在上海生工生物工程股份有限公司完成。

1.4 DNA 提取

收集供试材料分蘖盛期新鲜幼嫩的叶片,采用 SDS 法提取水稻基因组 DNA。

1.5 PCR 扩增、酶切和电泳

PCR 反应体系含 50 ng/ μ L 基因组 DNA 2.0 μ L, 2 μ mol/L 引物 F 和 R 各 2.5 μ L, 10 \times 缓冲液 2.0 μ L, 25 mmol/L MgCl₂ 2.0 μ L, 2.5 mmol/L dNTP 1.6 μ L, 5 U/ μ L Taq DNA 聚合酶(TaKaRa Code: R001C) 0.2 μ L, 灭菌双蒸补足至 20 μ L。PCR 在德国艾本德 Mastercycler pro 梯度 PCR 仪上进行,反应条件如下:94 $^{\circ}$ C 下预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 下 30 s; 55~60 $^{\circ}$ C 下 30 s; 72 $^{\circ}$ C 下 1 min, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 下再延伸 10 min。反应产物在 3.0% 琼脂糖凝胶上进行水平电泳分离。

利用开发的 PCR 引物扩增 *GS5* 的目标片段,进一步用于酶切反应。酶切反应体系为 10 μ L, 分别包含 PCR 产物 5 μ L, 10 \times 缓冲液 1 μ L, DNA 限制性内切酶(10 U/ μ L) 0.25 μ L, ddH₂O 3.75 μ L。混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 恒温水浴锅酶切 3~4 h, 酶切产物在 3.0% 琼脂糖凝胶上进行电泳, EB 染色, 经紫外凝胶成像系统成像。

1.6 数据分析

本研究中所有数据的分析和处理利用 Excel 和 SPSS 软件进行。

表 1 基于 GS5 第 2 和第 9 外显子 DNA 序列变异设计的 PCR 引物

Table 1. PCR primers based on the GS5 DNA sequence variations of exon 2 and exon 9.

标记名称 Marker	变异位点所在区域 ^a Region of sequence variation ^a	基因型 Genotype	引物序列 Primer sequence	标记类型 Marker type
GS5-1	Exon 2(817 bp)	ACC/CTA	F:GCAAGACAAGGAGCAGCACTA R:AGAAGCCGACCCCAACAG	CAPS- <i>Dde</i> I
GS5-2	Exon 9(3796 bp)	A/C	F:CAGTTCTCGGTACTGCGTCGA R:CACAAACCTCCCAGCAACC	dCAPS- <i>Sal</i> I

^a以 GS5 的基因组序列 JN256058 作为参照。

^aGenomic DNA sequence(JN256058) of gene GS5 as a reference.

表 2 GS5 不同变异位点的籽粒粒形性状及其 t 测验

Table 2. Grain-related traits and their t-tests of different alleles in gene GS5.

性状 Trait	GS5-1				GS5-2			
	基因型 Genotype	样本数 Sample number	平均数± 标准误 Mean±SE	t 值 t value	基因型 Genotype	样本数 Sample number	平均数± 标准误 Mean±SE	t 值 t value
粒长 Grain length/mm	ACC	170	8.03±0.08	2.98**	A	210	8.09±0.07	2.33*
	CTA	124	8.34±0.07		C	83	8.33±0.08	
粒宽 Grain width/mm	ACC	170	3.05±0.03	2.21*	A	210	3.04±0.03	2.01*
	CTA	124	2.97±0.02		C	83	2.96±0.03	
粒厚 Grain thickness/mm	ACC	170	2.13±0.01	1.03	A	210	2.13±0.01	1.68
	CTA	124	2.11±0.01		C	83	2.10±0.01	
长宽比 Ratio of length to width	ACC	170	2.70±0.05	2.29*	A	210	2.72±0.04	2.04*
	CTA	124	2.84±0.04		C	83	2.85±0.05	
千粒重 1000-grain weight/g	ACC	170	24.71±0.31	0.26	A	210	24.74±0.28	0.04
	CTA	124	24.82±0.30		C	83	24.75±0.33	

* 和 ** 分别表示在 0.05 水平和 0.01 水平上差异显著。

* and ** mean significant difference at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

2 结果与分析

2.1 基因序列分析和分子标记设计

DNA 序列分析表明 GS5 共有 10 个外显子和 9 个内含子。序列比对发现该基因的基因组 DNA 有 37 处序列变异,其中 25 个变异发生在启动子区,已有研究证实启动子区域的序列变异对该基因的转录水平有着重要的影响^[10, 12]。除此之外,9 个变异发生在内含子区域,3 个变异发生在外显子区域。内含子在基因转录为成熟 RNA 时会被剪切掉,但是这些外显子区的变异对籽粒性状有何作用还不清楚。以宽粒珍汕 97 的 GS5 基因组序列 JN256058 作为参照,第 1 外显子 28 bp 处、第 2 外显子 817 bp 处和第 9 外显子 3796 bp 处分别有 6 bp(GCGGCG)的插入、三碱基(ACC/CTA)变异和单碱基(A/C)变异。这 3 处变异都引起氨基酸序列的变化,其中

前两个变异高度相关。因此,本研究对基因 GS5 的第 2 和第 9 外显子的两个错义突变位点分别开发了 CAPS 标记 GS5-1 和 dCAPS 标记 GS5-2(表 1)。

对于 GS5 第 2 外显子 817 bp 处的 ACC/CTA 变异而言,利用标记 GS5-1 在水稻品种中扩增出长度为 225 bp 的 PCR 产物(图 1-A 的泳道 1 和 2),经过限制性内切酶 *Dde* I 酶切后,能够被切成 196 bp 条带的水稻品种为珍汕 97,其基因型为 CTA(图 1-A 的泳道 4);PCR 产物仍为 225 bp 的水稻品种为日本晴,其基因型为 ACC(图 1-A 的泳道 3)。

对于 GS5 第 9 外显子 3796 bp 处的 A/C 单碱基变异而言,我们利用标记 GS5-2 在水稻品种中扩增出长度为 188 bp 的 PCR 产物(图 1-B 的泳道 1 和 2),经过限制性内切酶 *Sal* I 酶切后,能够被切成 169 bp 条带的水稻品种为珍汕 97,其基因型为 C(图 1-B 的泳道 4);PCR 产物仍为 188 bp 的水稻品

表3 GS5 不同单倍型籽粒粒形性状的方差分析

Table 3. Analysis of variances (ANOVA) of different haplotypes in gene GS5.

籽粒性状与变异来源 Grain trait and source of variation	籼亚种 <i>indica</i>			粳亚种 <i>japonica</i>		
	自由度 <i>df</i>	平方和 Mean square	F 值 F value	自由度 <i>df</i>	平方和 Mean square	F 值 F value
粒长 Grain length						
单倍型间 Among haplotypes	3	0.929	1.272	3	2.482	3.493*
单倍型内 Within haplotypes	154	0.730		132	0.711	
粒宽 Grain width						
单倍型间 Among haplotypes	3	0.568	6.131**	3	0.377	3.940**
单倍型内 Within haplotypes	154	0.093		132	0.096	
粒厚 Grain thickness						
单倍型间 Among haplotypes	3	0.129	7.354**	3	0.038	1.305
单倍型内 Within haplotypes	154	0.018		132	0.029	
长宽比 Ratio of length to width						
单倍型间 Among haplotypes	3	1.424	5.145**	3	0.973	5.141**
单倍型内 Within haplotypes	154	0.277		132	0.189	
千粒重 1000-grain weight						
单倍型间 Among haplotypes	3	31.593	2.470	3	4.165	0.279
单倍型内 Within haplotypes	154	12.788		132	14.953	

* 和 ** 分别表示在 0.05 水平和 0.01 水平上差异显著。

* and ** mean significant difference at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

表4 GS5 不同单倍型对水稻粒形性状的差异显著性分析

Table 4. Analysis of the difference of grain-related traits based on different haplotypes in gene GS5.

单倍型 Haplotype	GS5-1	GS5-2	样品数 Number	粒长 Grain length /mm	粒宽 Grain width /mm	粒厚 Grain thickness/mm	长宽比 Ratio of length to width	千粒重 1000-grain weight/g
籼亚种 <i>indica</i>								
Hap1	ACC	A	57	8.61±0.14	2.74±0.04 b	2.00±0.02 b	3.20±0.08 a	23.07±0.52
Hap2	ACC	C	8	8.13±0.23	3.01±0.11 a	2.10±0.03 ab	2.75±0.18 b	23.60±0.41
Hap3	CTA	A	34	8.36±0.13	2.99±0.05 a	2.13±0.02 a	2.84±0.08 b	24.76±0.67
Hap4	CTA	C	59	8.38±0.10	2.93±0.04 a	2.09±0.01 a	2.89±0.06 b	24.65±0.41
粳亚种 <i>japonica</i>								
Hap1	ACC	A	102	7.70±0.08 b	3.23±0.03 a	2.20±0.02	2.41±0.04 b	25.68±0.40
Hap2	ACC	C	3	8.28±0.51 a	3.03±0.27 b	2.15±0.08	2.77±0.28 a	25.51±2.22
Hap3	CTA	A	18	8.19±0.22 a	3.01±0.04 b	2.12±0.03	2.73±0.09 a	24.80±0.85
Hap4	CTA	C	13	8.28±0.18 a	3.03±0.09 b	2.14±0.03	2.77±0.14 a	25.76±0.76

表中籽粒相关性状的的数据为平均数±标准误。数据后跟相同小写字母表示差异未达显著水平(最小显著差数法)。

All data about grain-related traits were given as mean±SE. Values followed by common lowercase letters are not significantly different by least significant difference(LSD) test.

种为日本晴,其基因型为 A(图 1-B 的泳道 3)。

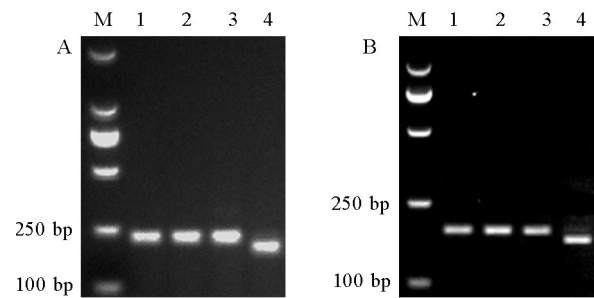
2.2 GS5 不同变异位点对水稻粒形性状的影响

为了解析 GS5 第 2 和第 9 外显子的两个变异位点对水稻籽粒相关性状的影响,我们利用标记 GS5-1 和 GS5-2 分别对水稻微核心种质的基因型进行了测定,并对每个位点的不同变异类型进行了 *t* 测验。从表 2 中可以看出,GS5 的第 2 和第 9 外显子的两个变异位点对水稻籽粒的粒长、粒宽和长宽

比的影响达到了显著或极显著的水平;但这两个变异位点对水稻千粒重的影响没有达到显著水平,这表明 GS5 的第 2 和第 9 外显子的两个变异位点对水稻籽粒的粒形性状均有重要影响。

2.3 基因 GS5 的单倍型类型及其效应分析

为了进一步明确 GS5 这两个变异位点的不同组合(单倍型)对水稻籽粒相关性状的效应,我们依据这两个变异位点在水稻微核心种质中的不同组合



A—引物 GS5-1 的扩增产物和 *Dde* I 酶切电泳。B—引物 GS5-2 的扩增产物和 *Sal* I 酶切电泳。M, DL2000 DNA 标记(TaKaRa); 泳道 1 和 3 为水稻品种日本晴; 泳道 2 和 4 为珍汕 97。

A, PCR amplification products and their corresponding *Dde* I-digested ones of primer GS5-1; B, PCR amplification products and their corresponding *Sal* I-digested ones of primer GS5-2. M, DL2000 DNA Marker(TaKaRa). Lanes 1 and 3, Nipponbare; Lanes 2 and 4, Zhenshan 97.

图 1 水稻基因 *GS5* 特异引物 GS5-1(A) 和 GS5-2(B) 的 PCR 扩增和酶切鉴定

Fig. 1. PCR identification and enzyme-digested characterization of specific primers GS5-1(A) and GS5-2(B) for gene *GS5* in rice.

将 *GS5* 分成了 4 个单倍型(表 4)。鉴于籼粳亚种间的籽粒性状差异明显,我们进一步利用 *GS5* 的 4 个单倍型对水稻微核心种质按籼粳亚种分别进行了方差分析(表 3)和多重比较(表 4)。

在水稻籼亚种中,从表 3 中可以看出,*GS5* 的不同单倍型在粒宽、粒厚和籽粒长宽比这 3 个粒形性状都存在极显著的差异。表 4 的多重比较进一步表明 *GS5* 的不同单倍型对上述 3 个粒形性状也有着不同程度的影响,其中,以单倍型 Hap1 的粒宽最小,粒厚最小,长宽比最大。

在水稻粳亚种中,从表 3 中可以看出,*GS5* 的不同单倍型在粒厚和籽粒长宽比这 2 个粒形性状上都存在极显著的差异,在粒长性状上也存在显著的差异。表 4 的多重比较进一步表明 *GS5* 的不同单倍型对上述 3 个粒形性状也有着不同程度的影响,其中,以单倍型 Hap1 的粒长最小、粒宽最大,长宽比最小。这些结果表明水稻籼粳亚种间调控粒形性状的遗传基础有所差异。

2.4 近年来江苏育成品种的 *GS5* 单倍型分析

为了更好地将上述研究结果应用到江苏省的水稻育种实践中,我们对 2007—2013 年江苏省审定的 65 份粳稻品种 *GS5* 的两个目标变异位点进行了基因型测定,结果发现近年来江苏省审定的粳稻品种

中,只有 1 个水稻品种(镇稻 13)利用 *GS5* 的 Hap2 单倍型,而其余 64 个水稻品种为同一单倍型(Hap1)。这表明江苏省近年来育成水稻品种利用粒形基因 *GS5* 的等位变异较少。

3 讨论

在过去的十年间,随着水稻基因组的快速发展,许多粒形相关的 QTL 被定位和克隆。与粒宽有关的基因为 *GW8*^[3]、*GW7*^[4]、*qSW5/GW5*^[8, 9]、*GS5*^[10]、*GW2*^[15]、*GS6*^[16]; 与粒长有关的基因为 *GS3*^[6]、*qGL3/qGL3.1*^[7, 17, 18]; 与籽粒充实有关的基因为 *GS5*^[10]、*GIF1*^[19]。这些基因通过调节水稻籽粒的大小和形状(即粒形),提高千粒重,进而提高了水稻的产量水平。除 *GS5* 和 *GW8* 为正调控因子外,其余基因对水稻粒形都起负调控作用。Li 等^[10] 研究发现,将窄粒品种 H94 的 *GS5* 的 cDNA 片段接到 35S 启动子或来源于宽粒品种珍汕 97 基因 *GS5* 的启动子下,构建的转基因水稻表现为粒宽增加和粒重提高,这表明启动子转录效率的高低是影响 *GS5* 调控粒宽和粒重的主要因素。本研究中利用水稻微核心种质,我们也发现 *GS5* 的第 2 和第 9 外显子两个错义突变对水稻粒长、粒宽和长宽比性状上存在显著或极显著的差异。在 *GS5* 的单倍型分析时,籼亚种的不同单倍型在粒宽、粒厚和长宽比性状上存在极显著的差异;粳亚种的不同单倍型在粒宽和长宽比性状上存在极显著的差异,在粒长性状上存在显著的差异;不论籼亚种和粳亚种,不同单倍型对粒重的影响没有达到显著水平,这可能是由于水稻的千粒重受多个基因位点调控,且与粒形性状有着不同的调控机制,导致在遗传背景复杂的水稻微核心种质中,难以准确检测 *GS5* 对水稻千粒重的效应。

虽然许多与水稻产量相关的重要功能粒形基因已被克隆,但是当前水稻育种工作中还很少涉及到这些基因,其原因主要是这些基因缺乏成本低廉且简便实用的基因功能标记,这些基因有多少等位变异类型及其效应如何等等。利用近等基因系和转基因的方法,Li 等^[10] 证实了 *GS5* 的启动子变异是该基因对水稻粒形起作用的主要原因。Xu 等^[12] 进一步通过截短启动子的方法证实启动子区的 -1109 bp 和 -1032 bp 的两处单碱基变异对 *GS5* 的表达水平有重要的影响。本研究发现 *GS5* 的第 2 和第 9 外显子的两个错义突变对水稻粒形性状也有着明显

的效应,为此我们分别开发了基于这些序列变异的PCR标记,为其应用到水稻育种实践提供了便利的选择方法,但是其遗传机理还值得深入研究。

谢辞:中国农业大学李自超教授和张洪亮博士提供了水稻微核心种质;江苏省农业科学研究院王军博士提供了2007—2013年江苏省审定的粳稻品种,在此一并表示感谢。

参考文献:

- [1] Qiu X, Pang Y, Yuan Z, et al. Genome-wide association study of grain appearance and milling quality in a worldwide collection of *indica* rice germplasm. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0145577.
- [2] 徐正进, 陈温福, 马殿荣, 等. 稻谷粒形与稻米主要品质性状的关系. 作物学报, 2004, 30(9): 894-900.
Xu Z J, Chen W F, Ma D R, et al. Correlations between rice grain shapes and main qualitative characteristics. *Acta Agron Sin*, 2004, 30(9): 894-900.
- [3] Wang S, Wu K, Yuan Q, et al. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice. *Nat Genet*, 2012, 44(8): 950-954.
- [4] Wang S, Li S, Liu Q, et al. The *OsSPL16-GW7* regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality. *Nat Genet*, 2015, 47(8): 949-954.
- [5] Zuo J, Li J. Molecular genetic dissection of quantitative trait loci regulating rice grain size. *Annu Rev Genet*, 2014, 48: 99-118.
- [6] Fan C, Xing Y, Mao H, 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. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(6): 1164-1171.
- [7] Zhang X, Wang J, Huang J, et al. Rare allele of *OsPPKL1* associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(52): 21534-21539.
- [8] Shomura A, Izawa T, Ebana K, et al. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication. *Nat Genet*, 2008, 40(8): 1023-1028.
- [9] Weng J, Gu S, Wan X, et al. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. *Cell Res*, 2008, 18(12): 1199-1209.
- [10] Li Y, Fan C, Xing Y, et al. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice. *Nat Genet*, 2011, 43(12): 1266-1269.
- [11] Ishimaru K, Hirotsu N, Madoka Y, et al. Loss of function of the IAA-glucose hydrolase gene *TGW6* enhances rice grain weight and increases yield. *Nat Genet*, 2013, 45(6): 707-711.
- [12] Xu C, Liu Y, Li Y, et al. Differential expression of *GS5* regulates grain size in rice. *J Exp Bot*, 2015, 66(9): 2611-2623.
- [13] Zhang H, Zhang D, Wang M, et al. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* L. in China. *Theor Appl Genet*, 2011, 122(1): 49-61.
- [14] 王军, 杨杰, 徐祥, 等. 水稻千粒重基因 *TGW6* 功能标记的开发与利用. 中国水稻科学, 2014, 28(5): 473-478.
Wang J, Yang J, Xu X, et al. Development and application of a functional marker for grain weight gene *TGW6* in rice. *Chin J Rice Sci*, 2014, 28(5): 473-478.
- [15] Song X, Huang W, Shi M, et al. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nat Genet*, 2007, 39(5): 623-630.
- [16] Sun L, Li X, Fu Y, et al. *GS6*, a member of the GRAS gene family, negatively regulates grain size in rice. *J Integr Plant Biol*, 2013, 55(10): 938-949.
- [17] Qi P, Lin Y S, Song X J, et al. The novel quantitative trait locus *GL3.1* controls rice grain size and yield by regulating *Cyclin-T1;3*. *Cell Res*, 2012, 22(12): 1666-1680.
- [18] Hu Z, He H, Zhang S, et al. A Kelch motif-containing serine/threonine protein phosphatase determines the large grain QTL trait in rice. *J Integr Plant Biol*, 2012, 54(12): 979-990.
- [19] Wang E, Wang J, Zhu X, et al. Control of rice grain-filling and yield by a gene with a potential signature of domestication. *Nat Genet*, 2008, 40(11): 1370-1374.