

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2010.01310

利用 4 个姊妹近等基因系群体定位水稻粒重和粒形 QTL

姚国新^{1,2} 李金杰¹ 张强^{1,3} 胡广隆¹ 陈超¹ 汤波¹ 张洪亮¹
李自超^{1,*}

¹ 中国农业大学农业部作物基因组与遗传改良重点实验室 / 北京市作物遗传改良重点实验室, 北京 100193; ² 孝感学院生命科学技术学院, 湖北孝感 432100; ³ 吉林省农业科学院水稻研究所, 吉林公主岭 136100

摘要: 粒重是决定水稻产量的三要素之一。利用世界上粒重最大的品种之一 SLG-1(供体亲本)与小粒品种日本晴(Nipponbare, 轮回亲本)杂交, 在各回交世代选择粒重较大单株与日本晴回交, 构建水稻粒重和粒形的姊妹近等基因系(SNILs)。对获得的 73 株 BC₄F₁ 单株进行粒重频率分布统计, 选择粒重频率分布在 4 个峰值处的代表性单株, 自交获得 4 个 BC₄F₂ SNILs 群体。利用 BSA 法(分离群体分组混合分析法), 从均匀分布在水稻染色体上的 1 513 对 SSR 标记中筛选出与粒重和粒形相关的多态性标记 19 对, 以 LOD \geq 2.5 作为选择阈值, 对粒重、粒长、粒宽和粒厚进行 QTL 扫描, 共检测到 6 个区域的 12 个 QTL, 贡献率从 7.22% 到 53.38%。这些 QTL 所在区域包含已克隆的粒长 *GS3* 和粒宽 *GW2*, 也包含没有精细定位的第 2 染色体的 RM6318~RM1367、第 3 染色体的 RM5477~RM6417 和第 6 染色体的 RM3370~RM1161 等 3 个区域控制粒重和粒形的 5 个 QTL。其中第 3 染色体上 RM5477~RM6417 区间存在粒形贡献率较大的新的 QTL。构建含有这些粒重 QTL 的姊妹近等基因系, 为进一步精细定位或克隆新的粒重或粒形 QTL 奠定了基础。

关键词: 水稻; 姊妹近等基因系; 粒重; 粒形; QTL

Mapping QTLs for Grain Weight and Shape Using Four Sister Near Isogenic Lines in Rice (*Oryza sativa* L.)

YAO Guo-Xin^{1,2}, LI Jin-Jie¹, ZHANG Qiang^{1,3}, HU Guang-Long¹, CHEN Chao¹, TANG Bo¹, ZHANG Hong-Liang¹, and LI Zi-Chao^{1,*}

¹ Key Laboratory of Crop Genomics and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture / Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, China Agricultural University, Beijing 100193, China; ² School of Life Science and Technology, Xiaogan University, Xiaogan 432100, China; ³ Rice Research Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China

Abstract: Grain weight (GW) is one of the major determinants of cereal yield. To map quantitative trait loci (QTLs) for GW and grain shape in rice (*Oryza sativa* L.), a small GW variety Nipponbare was crossed with SLG-1, which was one of the largest GW varieties in the world. In the progenies, large GW plants were selected to backcross with Nipponbare for several rounds. In the BC₄F₁ population with 73 plants, the distribution of GW appeared in four peaks. A single plant at each peak was selected to develop a sister near-isogenic line (SNIL) population. Based on bulked segregant analysis, 19 polymorphic markers related to GW and grain shape were screened out from the total 1513 SSR makers distributing on 12 chromosomes. Using the 19 SSR markers, QTLs for GW, grain length (GL), seed width (SW), and grain thickness (GT) were identified in the four SNIL populations independently. A total of 12 QTLs were located in six regions on chromosomes 2, 3, 6, and 8, including genes *GS3* and *GW2* that have been clone already. These QTLs explained phenotypic variation ranging from 7.22% to 53.38%. Five QTLs between RM6318 and RM1367 on chromosome 2, between RM5477 and RM6417 on chromosome 3, and between RM3370 and RM1161 on chromosome 6 have not been fine-mapped yet. Among them, *qGL3-1* is a novel locus with GL contribution as high as 11.41–21.27%. These results and the SNILs constructed in this study provide a basis for the fine mapping and gene cloning of novel locus associated with rice GW and grain shape.

Keywords: Rice (*Oryza sativa* L.); Sister near-isogenic lines; Grain weight; Grain shape; QTL

本研究由国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2010CB129504), 国家科技支撑计划项目(2009BADA2B01, 2006BAD13B01)和国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA10Z158, 2006AA100101)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 李自超, E-mail: lizichao@cau.edu.cn; Tel: 010-62731414

第一作者联系方式: E-mail: ygx771201@126.com

Received(收稿日期): 2010-01-08; Accepted(接受日期): 2010-04-20.

随着世界人口的不断增长, 人类对谷物的需求将进一步加大, 据预测到 2025 年, 世界人口将由现在的 64 亿激增到 89 亿^[1], 而粮食产量必须比现在增产 50% 以上, 才能满足迅速增长的人口需求^[2]。水稻是最重要的粮食作物之一, 全球约有 60% 的人口以大米为主食, 因此增加水稻产量对世界, 尤其对我国粮食安全至关重要。

粒重、穗数和每穗粒数是决定水稻产量的三大要素, 粒重由粒长、粒宽和粒厚决定, 它们都是多基因控制的数量性状。近 20 年来, 利用 RFLP、RAPD、AFLP、SSR 等分子标记定位了许多控制粒重和粒形的 QTL 或基因, 截至 2009 年, 根据网站 Gramene (<http://www.gramene.org/>) 公布的数据整理, 已有 268 个控制粒重的 QTL 被定位, 在水稻全部的 12 条染色体上均有分布。目前仅克隆了 *GS3*、*GW2* 和 *qSW5* 三个基因。Fan 等^[3]将控制粒长的 *GS3* 定位在第 3 染色体着丝粒附近并予以克隆, 该等位基因在 Fan 等检测的所有长粒品种中均存在, 是控制水稻粒长的关键基因; 粒宽 *GW2* 被 Song 等^[4]定位于第 2 号染色体上, 该基因具有泛素连接酶 E3 的功能; Shomura 等^[5]将控制另一个粒宽的 *qSW5* 定位在第 5 号染色体上, 其等位基因编码区有 1.2 kb 的缺失, 该基因与水稻的起源演化有重要关系。被精细定位的 QTL 有 *GW8.1* 和 *GW9.1*。Xie 等^[6-7]利用 *Hwaseongbyeol* 和 *Oryza rufipogon* (IRGC 105491) 构建回交群体, 将两个粒重 QTL 分别精细定位在第 8 染色体的 306.4 kb 区域和第 9 染色体的 37.4 kb 区域。

其他多数已报道的 QTL 有待进一步验证和精细定位, 这些 QTL 对粒重和粒形的效应值通常较小, 进一步研究需要群体具有稳定一致的遗传背景, 构建粒重 NILs (近等基因系) 可能是解决这一问题的有效方法。此外, 以往的粒重和粒形 QTL 定位群体多是 F_2 或单个 RIL (重组自交系), 构建群体的亲本以珍粳 97、明恢 63、密阳 46、特青、武育粳 2 号和 IR64 等几个为主, 涵盖大粒种质资源不够全面。由于不同粒重的亲本含有控制粒重的不同 QTL 或基因, 定位群体不一样, QTL 的数目也不一样, 例如在第 2 染色体上 20~40 cM 处, 报道的 QTL 很少, 但 Song 等^[4]利用 WY3 作为亲本, 在这个区域成功克隆了控制粒宽的 *GW2*。因此, 继续开展新亲本的粒重和粒形定位研究, 发掘新的粒重和粒形 QTL 或基因是有必要的。本研究利用目前世界上粒重最大的品种之一, SLG-1^[8] (千粒重 58.8 g), 与小粒品种日本晴 (千

粒重 22.3 g) 杂交, 在各世代选择粒重较大的单株与轮回亲本回交, 构建 4 个含有不同 QTL 的 BC_4F_2 粒重单一性状的姊妹近等基因系 (sister near-isogenic lines, SNILs) 群体, 定位粒重及粒形 QTL, 验证不同 QTL 间的互作效应, 为进一步克隆和分析粒形 QTL 功能奠定基础。把单个亲本控制同一性状的不同 QTL 通过不断回交分离到若干个构建的 NILs 中, 这些 NILs 除了含有供体亲本的 QTL 位点外, 其他均为轮回亲本背景, 各系间其他性状基本相同, 我们把这些近等基因系称为这一性状的 SNILs。SNILs 能迅速分离 QTL 位点, 充分利用亲本资源, 方便研究各 QTL 间的互作关系, 在研究复杂数量性状的基因发掘和功能研究具有重要价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供体大粒亲本 SLG-1 是国外引进种质 (图 1), 粒长 13.21 mm, 粒宽 3.44 mm, 粒厚 2.72 mm, 千粒重 58.8 g。轮回亲本日本晴 (Nipponbare), 粒长 6.83 mm, 粒宽 3.04 mm, 粒厚 2.24 mm, 千粒重 22.3 g。回交过程中, 不同世代分别挑选粒重大于日本晴的若干单株作为回交亲本, 与日本晴回交至 BC_3F_1 和 BC_4F_1 , 将各杂交和回交世代分别种植于中国农业大学北京上庄实验站 (39°N, 116°E) 和海南三亚南滨实验站 (18°N, 109°E), 株行距 13.3 cm×23.3 cm, 按常规方法种植与管理。



图 1 双亲表型

Fig.1 Phenotype of parents

左边为大粒亲本 SLG-1, 右边为小粒亲本日本晴, 标尺大小为 10 mm。
Left: large grain parent SLG-1, right: small grain parent Nipponbare.
Scale bare is 10 mm

1.2 表型鉴定与测量

群体植株成熟后, 分单株收种。每个单株准确记数 500 粒饱满种子并称重, 进行 2 次重复, 取平均

值并乘以2, 作为该单株的千粒重; 选择5粒饱满的种子, 用游标卡尺测量粒长、粒宽和粒厚, 平均值作为粒形的表型值。

1.3 SSR 标记、构建 BSA 池和标记筛选

DNA 提取主要参考 Murray 和 Thompson^[9]方法, 并略有改动。参照 McCouch 等^[10-13]公布的序列, 1 513 对 SSR 标记均匀分布于水稻整个染色体组(平均标记间距 1.1 cM)。参照 Fan 等^[3]和 Song 等^[4]提交在网站 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上的序列信息自行设计 GW2P、GS3P 和 Indel 标记 GS09, 由上海生工生物工程技术服务有限公司合成所有标记。

参照 Zhang 等^[14]的方法构建 BSA 池的方法, 在分离的各个群体中选择粒重、粒长、粒宽和粒厚的极大值与极小值各 5 株, 构建粒重和粒形筛选连锁标记的高低池。分别对 12 条染色体上均匀分布的 1 513 对 SSR 标记筛选, 如果出现高低池带型不一样且能与亲本带型相一致的标记, 该标记很可能与粒重或粒形 QTL 相关。PCR 扩增程序、凝胶电泳和银染均参照 Panaud 等^[15]的方法。

1.4 QTL 定位和分析

BSA 池中筛选出的多态性标记在 4 个 BC₄F₂ 群体的 DNA 中扩增、染色和读带。标记带型与大粒亲本 SLG-1 一致, 记为 A, 与日本晴一致, 记为 B, 杂合记为 H, 按要求录入 4 个 BC₄F₂ 群体的标记带型, 利用 Mapmaker3.0^[16]进行标记连锁作图, 以 Group 命令分组, Kosambi 方法计算遗传距离。采用 QTL Mapper V2.0^[17]扫描 QTL, 以 LOD 值 2.5 作为 QTL

存在的阈值, 同时计算加性和显性效应。采用 McCouch 等^[18]方法命名 QTL, 采用 Liu 等^[19]绘图方法在 Microsoft Excel 2007 中完成连锁遗传图。

2 结果与分析

2.1 BC₃F₁ 和 BC₄F₁ 粒重频率分布

通过杂交和选择单株回交, 分别获得 30 株 BC₃F₁ 和 73 株 BC₄F₁, 考种后, 两个世代粒重的频率分布如图 2 所示。BC₃F₁ 单株的粒重峰值主要集中在 27 g 和 31 g, 而 BC₄F₁ 单株粒重峰值主要集中在 28、30、33 和 38 g。可能是回交过程中 QTL 被分离到不同株系中, 回交代数越高, 株系中含有的 QTL 数目越少, 所以 BC₄F₁ 粒重的峰值分布更加分散一些。

选择 BC₄F₁ 粒重频率分布峰值处的 4 个单株 HT034 (28.3 g)、HT045 (30.1 g)、HT013 (33.3 g) 和 HT071 (38.1 g), 于海南三亚南滨农场分别种植成 200 株左右的群体 YD010、YD011、YD012 和 YD013, 考察 4 个 BC₄F₂ 群体各单株成熟后的千粒重、粒长、粒宽和粒厚, 作为 QTL 定位的表型数据(表 1)。

2.2 BSA 标记筛选和 QTL 定位

从 1 513 对 SSR 标记中筛选到亲本间有多态性的标记 123 对, 占 8.13%。参照 McCouch 等^[10]连锁群, 将多态性标记作图排列(图 3)。BSA 构建高低池入选单株的表型列于表 1。在 BSA 高低池中有差异且与粒重和粒形相关的标记共筛选到 19 对, 分别位于第 2、第 3、第 6 和第 8 染色体上。对 4 个 BC₄F₂ 群体分别进行粒重和粒形 QTL 定位, 共检测出 6 个

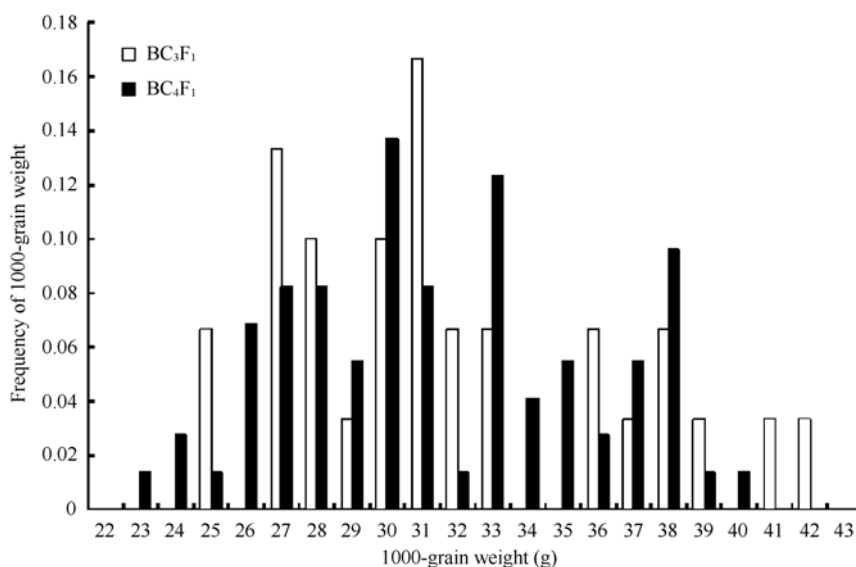


图2 BC₃F₁ 和 BC₄F₁ 群体粒重频率分布
Fig. 2 Frequency distribution of grain weight measured in BC₃F₁ and BC₄F₁

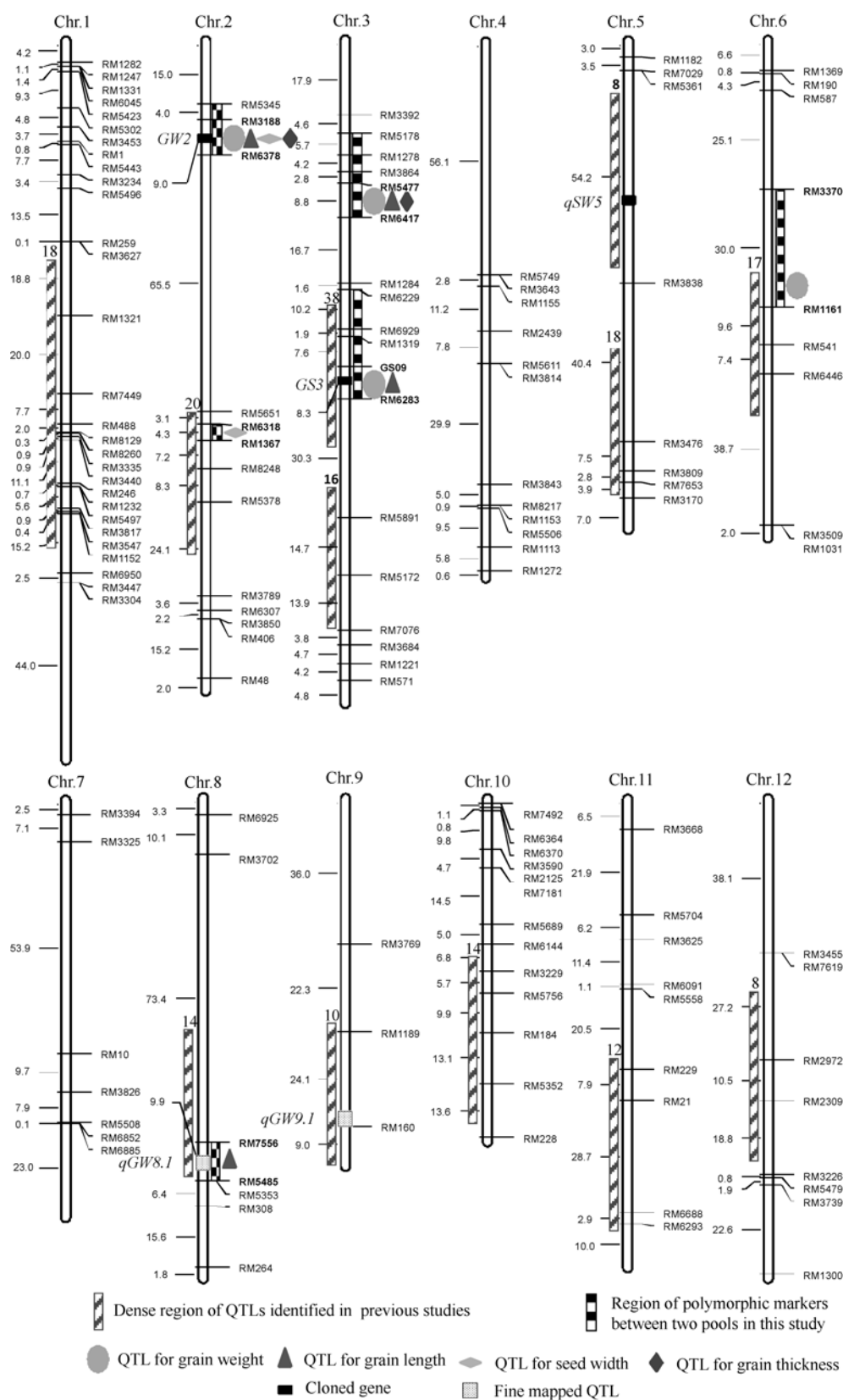


图3 粒形基因和粒重 QTL 在连锁遗传图上分布

Fig. 3 Distribution of QTLs for grain shape genes and grain weight on genetic linkage map

QTLs 分布区域上方的数字表示已定位的 QTL 数目。

Number above the bars indicate the amounts of QTL located.

表 1 4 个 BC₄F₂ 群体及 BSA 池的粒重和粒形单株表型
Table 1 Phenotype of grain weight and grain shape of four BC₄F₂ populations and BSA pools

群体 Popula- tion	株数 Number of plants	F ₁ 粒重 GW of F ₁ (g)	表型 Phenotype	高池表型 Phenotype of high pool					平均 Average	低池表型 Phenotype of low pool					平均 Average
				1	2	3	4	5		1	2	3	4	5	
YD010	198	28.3	GW(g)	38.92	39.20	39.64	39.72	39.46	39.39	21.80	21.42	21.54	22.92	23.14	22.16
			GL(mm)	9.22	9.20	9.24	9.42	9.54	9.32	7.82	7.90	7.80	7.84	8.02	7.88
			SW(mm)	4.14	4.16	4.10	4.12	4.20	4.14	3.02	3.00	3.02	3.04	3.14	3.04
			GT(mm)	2.72	2.74	2.76	2.70	2.82	2.75	2.12	2.12	2.24	2.28	2.26	2.20
YD011	207	30.1	GW(g)	41.80	42.62	43.34	41.96	43.44	42.63	25.62	22.46	22.50	25.54	25.68	23.96
			GL(mm)	9.34	9.28	9.28	9.38	9.26	9.31	7.52	7.94	7.90	7.90	7.92	7.84
			SW(mm)	4.00	4.00	4.00	4.06	4.02	4.02	3.22	3.20	3.12	3.28	3.32	3.23
			GT(mm)	2.68	2.68	2.74	2.70	2.76	2.71	2.22	2.14	2.24	2.18	2.14	2.18
YD012	189	33.3	GW(g)	50.74	49.42	50.60	50.82	49.66	50.25	25.82	23.34	25.90	27.56	27.72	26.07
			GL(mm)	11.52	11.54	11.70	11.72	11.64	11.62	8.02	8.12	8.24	8.26	8.24	8.18
			SW(mm)	4.04	4.02	4.02	4.16	4.14	4.08	3.42	3.12	3.30	3.32	3.40	3.31
			GT(mm)	2.86	2.84	2.84	2.86	2.92	2.86	2.20	2.24	2.26	2.30	2.32	2.26
YD013	196	38.1	GW(g)	53.92	52.80	54.36	54.12	53.42	53.72	24.00	24.04	23.42	25.36	24.88	24.34
			GL(mm)	11.62	11.72	12.00	11.14	11.96	11.69	8.02	8.12	8.34	8.26	8.30	8.21
			SW(mm)	4.02	4.14	4.06	4.12	4.20	4.11	3.08	3.30	3.36	3.24	3.26	3.25
			GT(mm)	2.82	2.78	2.76	2.76	2.78	2.78	2.00	2.24	2.26	2.24	2.14	2.18

GW: 粒重(千粒重); GL: 粒长; SW: 粒宽; GT: 粒厚。

GW: grain weight (1000-grain weigh); GL: grain length; SW: seed width; GT: grain thickness.

区域的 12 个 QTL (表 2), 包含了目前还没有被前人精细定位的 3 个区域内的 5 个 QTL 及已克隆的粒宽基因 *GW2* 和粒长基因 *GS3*, 没有检测到第 5 和 9 染色体上的粒重和粒形 QTL。

在第 2 染色体的 RM3188~RM6378 区域内, 检测到控制粒重(*qGW2-1*)、粒长(*qGL2-1*)、粒宽(*qSW2-1*)和粒厚 *qGT2-1* 的 4 个 QTL; 在 RM6318~RM1367 区域内检测到控制粒宽基因座 *qSW2-2*。第 3 染色体的 RM5477~RM6417 区域内检测到控制粒重(*qGW3-1*)、粒长(*qGL3-1*)和粒厚(*qGT3-1*)的 3 个 QTL; GS09~RM6283 区域内, 检测到控制粒重(*qGW3-2*)和粒长(*qGL3-2*)的 2 个 QTL。第 6 染色体 RM3370~RM1161 区域内检测到粒重基因座(*qGW6-1*), 第 8 染色体的 RM7556~RM5484 区间内, 检测到控制粒长基因座(*qGL8-1*), 在 YD010 群体中, 对粒长的贡献率为 7.22%, 来源于小粒亲本的 QTL 有增加粒长的效应。在检测到的 QTL 中, 第 3 染色体 RM5477~RM6417 区域存在对粒重和粒形影响较大的 QTL, 在检测到的两个群体中均表现出 30%以上的高贡献率, 此外, RM5477~RM6417 区域也在两个群体中检测到对 GL 贡献率均高于 10%的 QTL。

2.3 *GW2* 和 *GS3* 的等位基因在近等基因系中突变位点的分析

GW2^[4]和 *GS3*^[3]两个基因在其编码区均发生了终止密码子突变, 造成基因功能丢失, 根据 Song 等^[4]和 Fan 等^[3]在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上提交的基因序列, 在 *GW2* 和 *GS3* 等位基因突变位点附近位置上设计引物(表 3), 对亲本 SLG-1 和含有 *qGW2-1* 和 *qGW3-2* 的近等基因系基因组扩增并测序, 与 NCBI 网站上的日本晴序列比对, 结果与报道的序列变异一致。在 SLG-1 和 *qGW2-1* 的近等基因系中, 对应 *GW2* 的第 4 个外显子(ORF 的 316 bp 处)内有一个 A 缺失, 造成转录的提前终止; 对应 *GS3* 的第 2 个外显子末端(ORF 的 170 bp 处)TGC 突变为终止密码子 TGA, 也造成了转录的提前终止。这两个位点很可能与已经克隆的基因相同或等位。

3 讨论

3.1 与已定位的粒重和粒形 QTL 比较

截至 2009 年, 根据 Gramene 网站(<http://www.gramene.org/>)数据, 已定位粒重 QTL 268 个, 经过整理, 将 QTL 在染色体上分布集中的区域绘于图 3 中。这些区域集中了 72.02% (193 个)的 QTL, 其中第 3

表 2 粒重和粒形 QTL 定位结果
Table 2 Mapping results of grain weight and grain shape QTLs

标记区间 Marker interval	染色体 Chromosome	QTL	表型 Phenotype	群体 Population	LOD	P 值 P-value	加性效应 Additive effect	显性效应 Dominance effect	R ² (%)
RM3188–RM6378	2	<i>qGW2-1</i>	GW	YD011	5.14	<10 ⁻⁴	1.84	0.16	12.34
		<i>qGL2-1</i>	GL	YD011	5.41	<10 ⁻⁴	0.16	-0.02	11.59
		<i>qSW2-1</i>	SW	YD011	12.27	<10 ⁻⁴	0.13	0.05	25.84
		<i>qGT2-1</i>	GT	YD011	8.57	<10 ⁻⁴	0.07	0.02	18.84
RM6318–RM1367	2	<i>qSW2-2</i>	SW	YD011	2.61	2.4×10 ⁻³	-0.07	0.02	6.81
RM5477–RM6417	3	<i>qGW3-1</i>	GW	YD010	4.33	<10 ⁻⁴	1.78	0.68	9.96
				YD011	3.42	4×10 ⁻⁴	1.50	0.22	7.95
				YD012	5.79	<10 ⁻⁴	3.25	0.77	13.42
		<i>qGL3-1</i>	GL	YD010	9.87	<10 ⁻⁴	0.20	0.07	21.27
				YD011	4.97	<10 ⁻⁴	0.11	0.02	11.41
				YD010	2.50	3.4×10 ⁻³	0.04	-0.01	5.80
GS09–RM6283	3	<i>qGW3-2</i>	GW	YD012	9.13	<10 ⁻⁴	4.23	0.62	20.33
				YD013	13.63	<10 ⁻⁴	5.29	0.43	32.29
		<i>qGL3-2</i>	GL	YD012	20.20	<10 ⁻⁴	0.80	0.18	39.53
				YD013	26.68	<10 ⁻⁴	0.90	0.06	53.38
RM3370–RM1161	6	<i>qGW6-1</i>	GW	YD011	2.64	<10 ⁻⁴	-0.88	1.42	6.17
RM7556–RM5485	8	<i>qGL8-1</i>	GL	YD010	3.28	8×10 ⁻⁴	-0.11	-0.06	7.22

GW: 粒重(千粒重); GL: 粒长; SW: 粒宽; GT: 粒厚。
GW: grain weight (1000-grain weigh); GL: grain length; SW: seed width; GT: grain thickness.

表 3 *GW2* 和 *GS3* 等位基因突变点的扩增引物
Table 3 Amplification primers of mutant allelic gene of *GW2* and *GS3*

引物 Primer	扩增位点 Location	上游序列 Upstream sequence (5'-3')	下游序列 Downstream sequence (5'-3')	长度 Length (bp)
<i>GW2P</i>	<i>qGW2-1</i>	TACTACCCAAGTCTTAACCGATC	TCCGATGAACAGCATTCAGTTTC	739
<i>GS3P</i>	<i>qGW3-2</i>	AGCAAGTTGAACTGATGATCC	TGCTTATAGCTCGAAGACCTG	530

染色体上的 QTL 数目占 20.15% (54 个), 主要集中在已克隆的 *GS3* 附近(38 个), 在第 4 和第 7 染色体上 QTL 数目较少且没有集中出现的区域。这些 QTL 大多是用 F₂、RILs (重组自交系)等群体定位的, 遗传背景比较复杂, 可能存在一些假阳性的 QTL 位点。

本研究中用 4 个 BC₄F₂ 群体共定位了 6 个区域内的 12 个 QTL, 绝大部分位于已定位的粒重 QTL 集中区域。检测到控制粒重的 4 个 QTL 中, *qGW3-2* 与报道的 *GS3* 很可能是等位基因, 贡献率最高达 32.29%, 该 QTL 主要是通过控制粒长来影响粒重, 对粒长的贡献率最高可达 53.38%, 与 Fan 等^[3]报道仅控制粒长的 QTL 相同。另一个控制粒重的 *qGW2-1* 包含已报道的 *GW2*, 该位点也同时控制粒长、粒宽和粒厚 3 个性状, 与 Song 等^[4]报道仅控制粒宽的 QTL 有一定差异, 在 RM6318~RM1367 区域内除了 *GW2* 外, 是否还有控制粒形的新位点存在, 或是

GW2 的新等位基因, 有待进一步验证。来源于 SLG-1 的 *qGL8.1* 对粒长具有负效应, 与 Xie 等^[6]报道的 *qGW8.1* 具有相同的效应, 可能为同一位点。另外, 位于第 2 染色体 RM6318~RM1367 和第 6 染色体 RM3370~RM1161 的 2 个区域控制粒重和粒形的 QTL 均处于前人 QTL 报道集中的区域, 精细位置均未报道。*qGL3-1* 在 YD010 群体中对粒长贡献率达到 21.27%, 是效应较大的粒长 QTL。

本实验检测到的 QTL 未覆盖第 1、第 5、第 9、第 10 和第 12 染色体上已定位的粒重 QTL 集中区域, 可能是亲本 SLG-1 未包含全部粒重 QTL, 也可能是双亲多态性差异较小(仅为 8.31%)造成部分 QTL 被漏检或者是在前人研究中存在部分虚假的 QTL。但同时 Song 等^[4]和本实验分别在第 2 和第 3 染色体粒重 QTL 很少的区域, 定位到了稳定表现的 QTL (*GW2* 和 *qGW3-1*), 说明前人定位的热点区域之外也

有真实的 QTL 存在。

3.2 ILs(渗入系)或 NILs 是系统发掘复杂数量性状功能基因的有效平台

数量性状是由少数主效基因加多个微效基因或仅由多个微效基因控制,各个基因的效应值相对较小,环境等其他非遗传因素对性状的表型可能造成较大影响,使图位克隆变得困难。

构建特殊群体,使目标性状处于比较一致的遗传背景下,能够减少非遗传因素造成的影响,例如在同一时期抽穗会减少气候对产量性状的影响,使目标性状的表型更准确,方便基因特别是微效基因的图位克隆。自 Aylward 等^[20]和 Frary 等^[21]利用 NILs 通过图位克隆的方法成功克隆出控制番茄果实大小的 *fw2.2* 以来,玉米的 *Tga1*^[22-23]和 *qHO6*^[24],小麦的 *VRN1*^[25]和 *VRN2*^[26],以及在水稻 *Hd1*^[27]、*Hd6*^[28]、*Hd3a*^[29]、*GS3*^[3]、*GW2*^[4]、*qGW5*^[5]、*Gn1*^[30]、*SKC1*^[31]、*S5*^[32]、*EP*^[33]和 *PROG1*^[34-35]等都是利用构建 NILs 成功克隆出来的基因。

然而,这些 QTL 和基因几乎都是在不同的定位群体和遗传背景下获得的,在不同的遗传群体或背景下研究各个基因的相互作用机制相当困难。如果能够建立一套由不同供体亲本和同一轮回亲本构建的包含各种性状或基因的 ILs 或 NILs 群体,以及同一供体亲本选择单一复杂性状与轮回亲本构建包含系列 QTL 的 SNILs 群体,将会加速基因的发掘和功能研究进程。前者可以有效弥补单一亲本 QTL 位点涵盖不够全面以及亲本间多态性低的问题,后者可以有效地将各个 QTL 位点分开,分别研究,相互验证,充分利用供体亲本资源,对水稻的基因发掘、功能研究将是巨大的推进。基于以上设想,我们利用代表近 7 万份中国水稻种质资源 70%遗传多样性的 204 份微核心种质^[36]作为供体亲本,与轮回亲本日本晴构建了包括粒重在内的几乎所有重要农艺性状的近千份 ILs、NILs 和 SNILs。这些材料的遗传背景一致,为大规模发掘复杂数量性状的基因提供平台,通过杂交和分子标记辅助选择,为研究同类性状,特别是粒重、抗旱和耐冷等复杂性状的各个基因间的相互作用机制将有很大推动作用。

4 结论

获得与千粒重和粒形相关的 12 个 QTL,其中位于第 3 号染色体 RM5477~RM6417 区段同时控制粒重、粒长和粒厚,是一个贡献率较高的新发现的粒

形 QTL。

References

- [1] Khush G S. Productivity improvements in rice. *Nutr Rev*, 2003, 61: S114-S116
- [2] Khush G S. Challenges for meeting the global food and nutrient needs in the new millennium. *Proc Nutr Soc*, 2001, 60: 15-26
- [3] Fan C C, Xing Y Z, Mao H L, Lu T T, Han B, Xu C G, Li X H, Zhang Q F. *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: 1164-1171
- [4] Song X J, Huang W, Shi M, Zhu M Z, Lin H X. Rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nat Genet*, 2007, 39: 623-630
- [5] Shomura A, Izawa T, Ebana K, Ebitani T, Kanegae H, Konishi S, Yano M. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication. *Nat Genet*, 2008, 40: 1023-1028
- [6] Xie X B, Song M H, Jin S N, Ahn S N, Suh J P, Hwang H G, McCouch S R. Fine mapping of a grain weight quantitative trait locus on rice chromosome 8 using near-isogenic lines derived from a cross between *Oryza sativa* and *Oryza rufipogon*. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 885-894
- [7] Xie X B, Jin F X, Song M H, Suh J P, Hwang H G, Kim Y G, McCouch S R, Ahn S N. Fine mapping of a yield-enhancing QTL cluster associated with transgressive variation in an *Oryza sativa* × *O. rufipogon* cross. *Theor Appl Genet*, 2008, 116: 613-622
- [8] Ma L-L(马丽莲), Guo L-B(郭龙彪), Qian Q(钱前). Germplasm resources and genetic analysis of large grain in rice. *Chin Bull Bot (植物学通报)*, 2006, 23(4): 395-401 (in Chinese with English abstract)
- [9] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl Acids Res*, 1980, 8: 4321-4326
- [10] McCouch S R, Kochert G, Yu Z H, Wang Z Y, Khush G S, Coffman W R, Tanksley S D. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor Appl Genet*, 1998, 76: 815-829
- [11] Temnykh S, Park W D, Ayres N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho Y G, Ishii T, McCouch S R. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 697-712
- [12] McCouch S R, Teytelman L, Xu Y B, Lobos K B, Clare K, Walton M, Fu B Y, Maghirang R, Li Z K, Xing Y Z, Zhang Q F, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Schneider D, Cartin-hour S, Ware D, Stein L. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res*, 2002, 9(suppl): 257-279
- [13] Chen X, Temnykh S, Xu Y, Cho Y G, McCouch S R. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 553-567
- [14] Zhang Q F, Shen B Z, Dai X K, Mei M H, Maroof M S A, Li B Z.

- Using bulked extremes and recessive class to map genes for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 8675–8679
- [15] Panaud O, Chen X, McCouch S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Gen Genet*, 1996, 252: 597–607
- [16] Lander E S, Green P. Mapmaker: an Interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1987, 1: 174–181
- [17] Gao Y M, Zhu J. Mapping QTLs with digenic epistasis under multiple environments and predicting heterosis based on QTL effects. *Theor Appl Genet*, 2007, 115: 325–333
- [18] McCouch S R, Cho Y G, Yato M, Paul E, Blinstrub M. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11–13
- [19] Liu R-H(刘仁虎), Meng J-L(孟金陵). Mapdraw, a Microsoft Excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data. *Hereditas* (遗传), 2003, 25(3): 317–321 (in Chinese with English abstract)
- [20] Alpert K B, Tanksley S D. High-resolution mapping and isolation of a yeast artificial chromosome contig containing *fw2.2*: a major fruit weight quantitative trait locus in tomato. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 15503–15507
- [21] Frary A, Nesbitt T C, Frary A, Grandillo S, Knaap E V D, Cong B, Liu J P, Meller J, Elber R, Alpert K B, Tanksley S D. *fw2.2*, a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science*, 2000, 289: 85–88
- [22] Dorweiler L, Stec A, Kermicle J, Doebley J. *Teosinte glume architecture 1*, a genetic locus controlling a key step in maize evolution. *Science*, 1993, 262: 233–235
- [23] Wang R L, Stec A, Hey J, Lukens L, Doebley J. The limits of selection during maize domestication. *Nature*, 1999, 398: 236–239
- [24] Zheng P Z, Allen W B, Roesler K, Williams M E, Zhang S R, Li J M, Glassman K, Ranch J, Nubel D, Solawetz W, Bhattaramakki D, Llaca V, Deschamps S, Zhong G Y, Tarczynski M C, Shen B. A phenylalanine in DGAT is a key determinant of oil content and composition in maize. *Nat Genet*, 2008, 40: 367–372
- [25] Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, Helguera M, Fahima T, Dubcovsky J. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 6263–6268
- [26] Yan L, Loukoianov A, Blechl A, Tranquilli G, Ramakrishna W, SanMiguel P, Bennetzen J F, Echenique V, Dubcovsky J. The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science*, 2004, 303: 1640–1644
- [27] Yano M, Katayose Y, Ashikari M, Yamanouchi U, Monnac L, Fuseb T, Babac T, Yamamoto K, Umehara Y, Nagamura Y, Sasakia T. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell*, 2000, 12: 2473–2483
- [28] Takahashi Y, Shomura A, Sasaki T, Yano M. *Hd6*, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the α subunit of protein kinase CK2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 7922–7927
- [29] Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, Monna L, Sasaki T, Araki T, Yano M. *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis* *FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43: 1096–1105
- [30] Ashikari M, Sakakibara H, Lin S Y, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles E R, Qian Q, Kitano H, Matsuoka M. Cytochrome oxidase regulates rice grain production. *Science*, 2005, 309: 741–745
- [31] Ren Z H, Gao J P, Li L G, Cai X L, Chao D Y, Zhu M Z, Wang Z Y, Luan S, Lin H X. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat Genet*, 2005, 37: 1141–1146
- [32] Chen J J, Ding J H, Ouyang Y D, Du H Y, Yang J Y, Cheng K, Zhao J, Qiu S Q, Zhang J L, Yao J L, Liu K D, Wang L, Xu C G, Li X H, Xue Y B, Xia M, Ji Q, Lu J F, Xu M L, Zhang Q F. A tri-allelic system of *S5* is a major regulator of the reproductive barrier and compatibility of *indica-japonica* hybrids in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 11436–11441
- [33] Huang X Z, Qian Q, Liu Z B, Sun H Y, He S Y, Luo D, Xia G M, Chu C C, Li J Y, Fu X D. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nat Genet*, 2009, 41: 494–497
- [34] Tan L B, Li X R, Liu F X, Sun X Y, Li C G, Zhu Z F, Fu Y C, Cai H W, Wang X Q, Xie D X, Sun C Q. Control of a key transition from prostrate to erect growth in rice domestication. *Nat Genet*, 2008, 40: 1360–1364
- [35] Jin J, Wei H, Gao J P, Yang J, Yang J, Shi M, Zhu M Z, Luo D, Lin H X. Genetic control of rice plant architecture under domestication. *Nat Genet*, 2008, 40: 1365–1369
- [36] Zhang D-L(张冬玲). Genetic Evolution and on Strategy of Core Collection of Chinese Cultivated Rice (*Oryza sativa* L.). PhD Dissertation of China Agricultural University, 2007 (in Chinese with English abstract)