

梁文化, 孙旭超, 陈 涛, 等. 水稻 *GLW7* 基因功能标记的开发和基因效应分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(2): 257-264.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.02.001

水稻 *GLW7* 基因功能标记的开发和基因效应分析

梁文化, 孙旭超, 陈 涛, 岳红亮, 田 铮, 赵 凌, 赵庆勇, 赵春芳, 朱 镇,
张亚东, 王才林

(江苏省农业科学院粮食作物研究所/江苏省优质水稻工程技术研究中心/国家水稻改良中心南京分中心, 江苏 南京 210014)

摘要: 根据水稻粒长和粒质量调控基因 *GLW7* 已知功能位点的核苷酸差异设计分子标记, 并对国内外搜集的 315 份籼、粳稻品种资源进行基因型检测, 分析其不同基因型的分布。同时, 通过粒型性状的测定, 分析该基因的遗传效应, 评估其育种利用价值。结果表明, 设计的功能标记能准确、有效地区分出 201 bp 和 190 bp 2 种带型, 即大粒 (Large grain haplotype, LGH) 和小粒 (Small grain haplotype, SGH) 2 种等位变异。从籼、粳亚种间的基因型分布来看, 籼亚种中 LGH 和 SGH 的比例分别为 95.65% 和 4.35%, 而粳亚种中 LGH 和 SGH 比例分别为 25.50% 和 74.50%, 2 种等位变异的分布在籼粳亚种间存在明显差异。粒型的测定结果表明, 含不同等位变异的品种在粒长、粒厚、长宽比和千粒质量上存在显著或极显著差异, 而粒宽则没有明显差异。进一步通过籼、粳分类分析发现, 亚种间 2 种等位变异对粒型的效应并不完全一致, 但都具有提高籽粒质量的作用。

关键词: 水稻; 粒型; *GLW7* 基因; 功能分子标记

中图分类号: S511.032

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2020)02-0257-08

Development of functional markers of *GLW7* and gene effect analysis in rice

LIANG Wen-hua, SUN Xu-chao, CHEN Tao, YUE Hong-liang, TIAN Zheng, ZHAO Ling,
ZHAO Qing-yong, ZHAO Chun-fang, ZHU Zhen, ZHANG Ya-dong, WANG Cai-lin

(Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu High Quality Rice R&D Center / Nanjing Branch of China National Center for Rice Improvement, Nanjing 210014, China)

Abstract: In this study, molecular markers were designed according to the nucleotide differences of functional loci of *GLW7* gene regulating rice grain length and grain weight. Genotypes of 315 *indica* and *japonica* varieties collected at home and abroad were detected, and the distribution of different genotypes was analyzed. Simultaneously, the genetic effects of

收稿日期: 2019-07-30

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31771761); 国家自然科学基金项目 (31901485); 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX (17)3009]; 江苏省农业科学院院基金项目 (003116111653); 江苏省农业科学院粮食作物研究所基金项目 (LZS17-6); 江苏省农业生物学重点实验室开放课题 (4911707Z201705); 江苏省重点研发计划项目 (BE2018357); 国家现代农业产业技术体系项目 (CARS-01-62)

作者简介: 梁文化 (1984-), 男, 山东临沂人, 博士, 助理研究员, 研究方向为水稻遗传育种。(E-mail) liangwenhua0228@126.com

通讯作者: 张亚东, (Tel) 02584390314; (E-mail) zhangyd@jaas.ac.cn;
王才林, (Tel) 02584390317; (E-mail) clwang@jaas.ac.cn

the gene were analyzed, and its breeding value was evaluated by the determination of grain shape traits. The results showed that the designed functional markers could accurately and effectively distinguish 201 bp and 190 bp bands, which was corresponding to large grain haplotype (LGH) and small grain haplotype (SGH), respectively. According to the genotype distribution between *indica* and *japonica* subspecies, the proportion of LGH and SGH in *indica* subspecies was 95.65% and 4.35%, while that was 25.50% and 74.50% in *japonica* subspecies, respectively. It was indicated that there was a significant difference in genotype distribution between two rice subspecies. The re-

sults of the grain size measurement showed that there were significant or extremely significant differences in grain length, grain thickness, length-width ratio and thousand grain weight among varieties with different allele variations, but there was no significant difference in grain width. Further analysis showed that the genetic effects of two allelic variations on grain shape were not identical between *indica* and *japonica* varieties, but the two allelic variations could increase grain weight.

Key words: rice; grain shape; *GLW7* gene; functional molecular marker

水稻粒型包括粒长、粒宽和粒厚 3 个基本要素,是影响产量和品质的重要农艺性状^[1-2],因此粒型基因的发掘和利用备受重视。目前水稻中已经定位了 400 多个与粒型相关的 QTL,克隆的粒型基因已经超过 60 个,其中控制粒长的主要基因有 *GS3*、*GL3.1/qGL3*、*GLW7*、*OsLG3*、*TGW3*、*OsMADS1* 和 *GS9* 等^[3-12],控制粒宽的基因有 *GW2*、*GW5/qSW5*、*GS5*、*GW7* 和 *GW8* 等^[13-18],控制粒厚的基因有 *WTGI*^[19-20]。从对粒型的效应看,*GS3*、*qGL3*、*GW2*、*qSW5/GW5*、*GS9* 等基因对粒型具有负调控效应,而 *GS5*、*GW8*、*GW7*、*GLW7*、*OsLG3*、*OsMADS1* 等基因则对粒型具有正调控作用。大量的研究结果证实,通过调节籽粒性状可以增加千粒质量,从而提高水稻产量。

GLW7 基因编码植物特异性转录因子 *OsSPL13*,具有 *SPL* 家族特有的保守结构,能调节多个重要的生物学进程^[8]。*GLW7* 基因正调控粒长、粒厚和粒质量,而对粒宽没有明显的影响。在 *OsSPL13* 位点 5'-UTR 区域的一个 6 bp 的串联重复序列 CACTTC 重复次数的变化是影响该基因转录与表达的关键。Si 等^[8]通过对 47 个热带粳稻品种 *OsSPL13* 位点的测序分析,发现该位点可分为 2 种不同的变异类型,即 6 个 bp 的 CACTTC 序列重复 1 次和 2 次两种类型,而对部分籼稻品种进行分析只检测到该序列重复 1 次的等位型。进一步研究发现大粒水稻的 *OsSPL13* 位点 6 bp 序列重复 1 次,而小粒水稻品种该序列重复 2 次,根据两种基因型对应的籽粒形态特征,分别用大粒型(LGH)和小粒型(SGH)表示。通过对基因碱基序列的进化分析和 1 040 个水稻品种 7 号染色体遗传差异的研究,推测热带粳稻中大粒等位型是籼稻品种渐渗而来的。通过对野生型和突变体的种子外稃长轴方向上细胞数目和大小分析,发现 *GLW7* 是通过增加细胞体积而使籽粒变大的。进一步研究证实 *GLW7* 能够与 *DEP1* 基因互作,同时对穗长、一次枝梗数目和二次枝梗数目产生显著影响^[8]。因此,*GLW7* 基因可以显著改善籽粒大小和穗粒结构,在水稻育种中具有重要的利用价值。

分子标记辅助选择是作物育种中利用优异基因的有效手段^[21],通过开发粒型基因分子标记能够准确、高效地鉴定调控作物籽粒大小的有利等位变异^[22-25]。为加快 *GLW7* 基因有利等位变异在水稻育种中的利用,本研究根据 *GLW7* 基因已知功能位点的核苷酸差异设计分子标记,并对国内外搜集的 315 份籼、粳稻品种资源进行基因型检测,分析其不同基因型的分布,同时,通过粒型性状的测定,分析该基因的遗传效应,评估其在育种中的利用价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为江苏省种质资源保护与利用平台保存的 315 份国内外籼、粳稻品种,其中籼稻 115 份,粳稻 200 份(表 1)。上述材料于 2017 年种植于江苏省农业科学院试验田,5 月 10 日播种,6 月 10 日移栽,每个品种种植 4 行,每行 10 株,株距为 13.5 cm,行距为 16.5 cm,常规栽培和管理。

1.2 水稻成熟种子粒型相关性状数据的测定

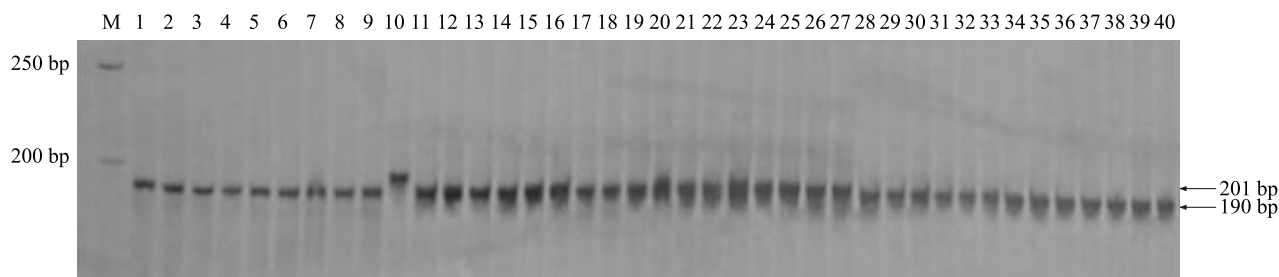
成熟后,每个品种按单株收取 5 个植株的种子。每个单株随机挑选 10 粒饱满种子使用游标卡尺(精度 0.01 mm)测量粒长、粒宽和粒厚,用电子天平(精度 0.001 g)测定单株 1 000 粒风干种子的质量(千粒质量)。每个性状以 5 株的平均值为最终的表型值。

1.3 *GLW7* 基因功能标记开发和引物合成

根据 Si 等^[8]的报道,从 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载到小粒品种 Dongjing(DJ)和大粒品种 GP7 *GLW7* 的基因组序列 LT159866.1 和 LT159955.1。通过多序列比对分析,选取变异位点上、下游 200 bp 的核苷酸序列,利用 Primer Premier 5.0 软件对 *GLW7* 基因 5'端非翻译区(Untranslated region,UTR)中-146~-135 bp 区域 CCATTC 串联重复的变异位点设计引物,并由北京擎科新业生物技术有限公司合成。

1.4 DNA 提取、PCR 扩增和电泳检测

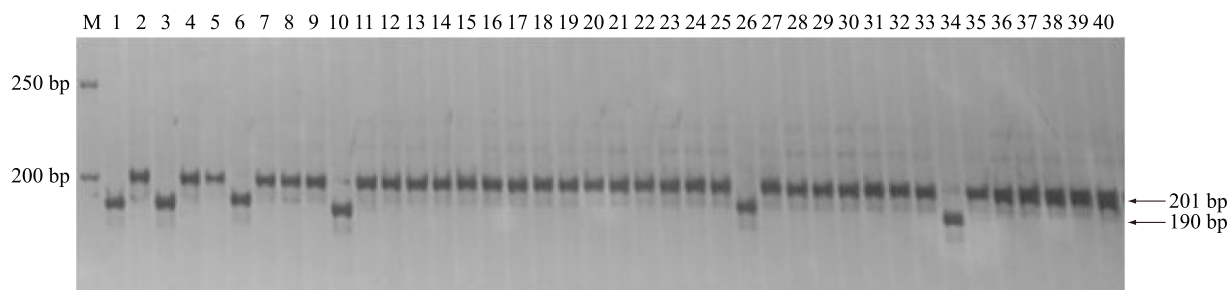
在水稻分蘖盛期,取新鲜幼嫩的叶片,采用



M: Marker (50 bp ladder); 1: 成都矮 8 号; 2: 川新糯; 3: 川米 2 号; 4: 遵籼 3 号; 5: 二九南 1 号; 6: 沙蛮 1 号; 7: 南特号; 8: 南京 14; 9: 南京 15; 10: 密阳 67; 11: 扬稻 2 号; 12: 南农籼 2 号; 13: 皖稻 77; 14: 乌嘴川; 15: 广场矮; 16: 广选 3 号; 17: 珍珠矮 11; 18: 桂农占; 19: 珍珠矮; 20: 广场 13; 21: 顺德塘禾; 22: 四会三朝齐; 23: 圭辐 3 号; 24: 满仓 515; 25: 矮白秋; 26: 珠六矮; 27: 陆财号; 28: 七桂占; 29: 矮仔占; 30: 通红矮; 31: 珍珠占; 32: 广白矮; 33: 闷加丁 2; 34: 低脚乌尖; 35: 台东陆稻 328; 36: 密阳 30; 37: 水原 251; 38: 水原 264; 39: 水原 288; 40: IR26。

图 2 功能标记对部分籼稻品种 *GLW7* 基因型的检测

Fig.2 Detection of *GLW7* genotypes in some *indica* rice varieties by functional markers



M: Marker (50 bp ladder); 1: 镇稻 12 号; 2: 徐稻 4 号; 3: 淮稻 5 号; 4: 徐稻 5 号; 5: 徐 80179; 6: 南梗 52; 7: 南梗 2728; 8: 武运梗 29 号; 9: 武运梗 30 号; 10: 圣稻 20; 11: 武运 0175; 12: 武梗 15 号; 13: 扬辐梗 7 号; 14: 扬梗 806; 15: 盐稻 9 号; 16: 盐稻 10 号; 17: 盐稻 11 号; 18: 盐稻 3873; 19: 盐梗 10 号; 20: 扬育梗 3 号; 21: 盐糯 12; 22: 常农梗 5 号; 23: 常农梗 7 号; 24: 华梗 3 号; 25: 华梗 5 号; 26: 武运梗 7 号; 27: 华梗 6 号; 28: 宁梗 4 号; 29: 中稻 1 号; 30: 泗稻 785; 31: 泗稻 11 号; 32: 苏香梗 1 号; 33: 苏梗 8 号; 34: 武育梗 3 号; 35: 武陵梗 1 号; 36: 华瑞稻 1 号; 37: 龙梗 18 号; 38: 龙梗 21 号; 39: 龙梗 24 号; 40: 郑稻 18 号。

图 3 功能标记对部分粳稻品种 *GLW7* 基因型的检测

Fig.3 Detection of *GLW7* genotypes in some *japonica* rice varieties by functional markers

2.3 *GLW7* 基因功能标记对不同水稻品种的基因型鉴定

为明确 *GLW7* 基因在籼、粳稻品种中的基因型分布以及对粒型的效应。利用功能标记 *GLW7*-F/*GLW7*-R 继续对所有的 115 份籼稻和 200 份粳稻资源进行基因型检测。结果显示大粒基因型和小粒基因型的品种数分别为 161 份和 154 份; 115 份籼稻品种中大粒基因型 110 份 (95.65%), 而 200 份粳稻品种中大粒基因型仅为 51 份 (25.50%)。由此可见 *GLW7* 基因等位变异在籼稻和粳稻中的分布存在明显差异 (表 1)。

为分析 *GLW7* 基因不同等位变异对粒型的影响, 我们在 2017 年对 315 份水稻品种资源进行粒型相关性状的测定。结果显示, 含 *GLW7* 大粒等位变异的品种在粒长、粒厚、长宽比和千粒质量上极显著高于小粒等位变异的品种, 而粒宽却极显著低于小

粒等位变异的品种 (表 2)。

由于基因 *GLW7* 大粒型等位变异在籼、粳稻中的分布存在明显差异, 为进一步明确 *GLW7* 基因不同等位变异在水稻亚种中的效应, 在籼、粳分类的基础上根据对基因型的检测结果进行分析。结果显示, 在籼稻中, 含 *GLW7* 大粒等位变异的品种粒长、长宽比、千粒质量极显著高于小粒等位变异品种, 其粒长平均增加 11.79%, 千粒质量平均增加 7.96%, 但二者的粒宽和粒厚却没有显著差异 (表 3)。而在粳稻品种中, 两种基因型品种的粒长和千粒质量存在极显著差异, 在粒厚上存在显著差异, 但粒宽却没有显著差异, 含 *GLW7* 大粒等位变异的粳稻品种粒长和千粒质量分别比小粒等位变异的粳稻品种增加 2.23% 和 4.32% (表 4)。这也证实了 *GLW7* 基因的大粒型等位变异确实对增加粒长、提高千粒质量具有重要的作用。

表 1 代表性水稻品种中 *GLW7* 基因的基因型Table 1 Typical rice varieties and their genotype in *GLW7* gene

| 材料名称 | S | G | 材料名称 | S | G | 材料名称 | S | G | 材料名称 | S | G |
|---------|---|---|---------------|---|---|----------|---|---|----------|---|---|
| 乌嘴川 | i | 2 | 沙蜜 1 号 | i | 2 | 淮稻 7 号 | j | 1 | 镇稻 19 | j | 2 |
| 皖稻 77 | i | 2 | 低脚乌尖 | i | 2 | 淮粳 1006 | j | 2 | 大粮 203 | j | 1 |
| 矮白秋 | i | 2 | 台东陆稻 328 | i | 2 | 淮香粳 15 号 | j | 1 | 临稻 11 号 | j | 1 |
| 福引 3301 | i | 2 | 花珍稻 | i | 1 | 淮优粳 2 号 | j | 2 | 临稻 15 | j | 1 |
| 圭辐 3 号 | i | 2 | 密阳 30 | i | 2 | 金陵香糯 | j | 1 | 临稻 17 | j | 1 |
| 航 1 号 | i | 1 | 密阳 67 | i | 1 | 连粳 11110 | j | 1 | 圣稻 14 | j | 2 |
| 陆财号 | i | 2 | 水原 251 | i | 2 | 连粳 11 号 | j | 1 | 圣稻 15 | j | 1 |
| 满仓 515 | i | 2 | 水原 264 | i | 2 | 连粳 12 号 | j | 1 | 圣稻 16 | j | 1 |
| 明恢 63 | i | 2 | 水原 268 | i | 1 | 连粳 4 号 | j | 2 | 圣稻 18 | j | 2 |
| 明恢 70 | i | 2 | 水原 288 | i | 2 | 连粳 7 号 | j | 1 | 圣稻 19 | j | 2 |
| 明恢 86 | i | 1 | 41223 | i | 2 | 连粳 9 号 | j | 1 | 圣稻 20 | j | 2 |
| 珠六矮 | i | 2 | 41580 | i | 2 | 南粳 2728 | j | 1 | 嘉 58 | j | 1 |
| 广场矮 | i | 2 | 41583 | i | 2 | 南粳 33 | j | 2 | 嘉花 1 号 | j | 1 |
| 广恢 128 | i | 2 | 41594 | i | 2 | 南粳 35 | j | 2 | 苏秀 10 号 | j | 1 |
| 广恢 998 | i | 2 | BJ1 | i | 2 | 南粳 44 | j | 1 | 苏秀 867 | j | 1 |
| 广选 3 号 | i | 2 | Dhala Shaitta | i | 2 | 南粳 45 | j | 1 | 秀水 09 | j | 1 |
| 桂农占 | i | 2 | GX2072 | i | 2 | 南粳 46 | j | 1 | 浙粳 22 | j | 1 |
| 顺德塘禾 | i | 2 | GX2075 | i | 2 | 南粳 49 | j | 1 | 浙粳 59 | j | 1 |
| 四会三朝齐 | i | 2 | GX2084 | i | 2 | 南粳 50 | j | 1 | 浙粳 88 | j | 1 |
| 珍珠矮 | i | 2 | GX2270 | i | 2 | 南粳 5055 | j | 2 | 浙粳 98 | j | 1 |
| 珍珠矮 11 | i | 2 | GX2288 | i | 2 | 南粳 51 | j | 2 | 京稻 2 号 | j | 1 |
| 9311 | i | 2 | GX2291 | i | 2 | 南粳 52 | j | 2 | 京越 1 号 | j | 1 |
| R818 | i | 2 | GX2330 | i | 2 | 南粳 9108 | j | 1 | 中丹 2 号 | j | 1 |
| 广抗占 | i | 2 | GX2331 | i | 2 | 宁稻 1 号 | j | 2 | 中稻 1 号 | j | 1 |
| 南京 14 | i | 2 | GX2360 | i | 2 | 宁粳 1 号 | j | 2 | 中花 11 号 | j | 1 |
| 南京 15 | i | 2 | GX2381 | i | 2 | 宁粳 2 号 | j | 2 | 津川 1 号 | j | 1 |
| 南农粳 2 号 | i | 2 | GX2403 | i | 2 | 宁粳 3 号 | j | 2 | 津稻 1244 | j | 1 |
| 宁恢 108 | i | 2 | IR1544 | i | 2 | 宁粳 4 号 | j | 1 | 津稻 263 | j | 1 |
| 宁恢 288 | i | 2 | IR26 | i | 2 | 宁粳 4 号 | j | 1 | 津星 4 号 | j | 1 |
| 宁香 1B | i | 2 | IR30 | i | 2 | 宁粳 5 号 | j | 2 | 津原 45 | j | 1 |
| 兴恢 523 | i | 2 | IR36 | i | 2 | 泗稻 11 号 | j | 1 | 花粳 2 号 | j | 1 |
| 盐恢 559 | i | 2 | IR8 | i | 2 | 泗稻 12 号 | j | 2 | 水晶 3 号 | j | 1 |
| 扬稻 2 号 | i | 2 | SHADA BORO | i | 2 | 泗稻 785 | j | 1 | 新稻 18 号 | j | 1 |
| 镇恢 084 | i | 2 | X023 | i | 2 | 苏粳 8 号 | j | 1 | 新稻 90261 | j | 1 |
| 镇恢 42 | i | 2 | X027 | i | 2 | 苏香粳 1 号 | j | 1 | 郑稻 18 号 | j | 1 |
| 镇粳 96 | i | 2 | 圭 630 | i | 2 | 武粳 13 号 | j | 2 | 楚粳 27 | j | 1 |
| CDR22 | i | 2 | 龙稻 3 号 | j | 1 | 武粳 15 号 | j | 1 | 楚粳 28 | j | 1 |
| 成都矮 8 号 | i | 2 | 龙稻 7 号 | j | 1 | 武陵粳 1 号 | j | 1 | 楚粳 29 | j | 1 |
| 成恢 177 | i | 2 | 龙粳 18 号 | j | 1 | 武香粳 14 号 | j | 2 | 楚粳 31 | j | 1 |
| 成恢 3203 | i | 2 | 龙粳 21 号 | j | 1 | 武育粳 20 号 | j | 2 | 合系 2 号 | j | 1 |

续表 1 Continued 1

| 材料名称 | S | G | 材料名称 | S | G | 材料名称 | S | G | 材料名称 | S | G |
|----------|---|---|---------|---|---|----------|---|---|---------|---|---|
| 成恢 727 | i | 2 | 龙粳 24 号 | j | 1 | 武育粳 3 号 | j | 2 | 合系 4 号 | j | 1 |
| 川米 2 号 | i | 2 | 龙粳 25 号 | j | 1 | 武运 0175 | j | 1 | 毕粳 37 号 | j | 1 |
| 川香 29B | i | 2 | 龙粳 26 号 | j | 1 | 武运粳 19 号 | j | 2 | 毕粳 43 号 | j | 1 |
| 川新糯 | i | 2 | 龙粳 27 号 | j | 1 | 武运粳 21 号 | j | 2 | 毕粳 44 号 | j | 1 |
| 多系 1 号 | i | 2 | 龙粳 28 号 | j | 1 | 武运粳 23 号 | j | 2 | 宁粳 6 号 | j | 1 |
| 辐恢 718 | i | 2 | 龙粳 29 号 | j | 1 | 武运粳 27 号 | j | 2 | 宁粳 24 号 | j | 2 |
| 辐恢 838 | i | 2 | 松粳 12 | j | 1 | 武运粳 29 号 | j | 1 | 宁粳 40 号 | j | 1 |
| 乐恢 188 | i | 2 | 松粳 9 号 | j | 1 | 武运粳 30 号 | j | 1 | 新稻 11 号 | j | 1 |
| 泸恢 17 | i | 2 | 辽粳 10 号 | j | 1 | 武运粳 7 号 | j | 2 | 新稻 27 号 | j | 1 |
| 绵恢 2009 | i | 2 | 辽粳 294 | j | 1 | 香粳 8313 | j | 2 | 新稻 28 号 | j | 1 |
| 绵恢 501 | i | 2 | 辽星 15 | j | 1 | 徐 80179 | j | 1 | 垦育 16 号 | j | 1 |
| 绵恢 725 | i | 2 | 辽星 2 号 | j | 1 | 徐稻 3 号 | j | 1 | 晋稻 4 号 | j | 1 |
| 内多恢 1 号 | i | 2 | 辽星 9 号 | j | 1 | 徐稻 4 号 | j | 1 | 西粳 2 号 | j | 1 |
| 内恢 2539 | i | 2 | 沈农 265 | j | 1 | 徐稻 5 号 | j | 1 | 科辐粳 7 号 | j | 1 |
| 内恢 99-14 | i | 2 | 沈农 9816 | j | 1 | 徐稻 7 号 | j | 1 | 一品 | j | 2 |
| 内中 152 | i | 2 | 沈农 9903 | j | 1 | 盐稻 10 号 | j | 1 | 珍富 | j | 1 |
| 蜀恢 158 | i | 2 | 铁粳 7 号 | j | 1 | 盐稻 11 号 | j | 1 | 奥羽 331 | j | 1 |
| 蜀恢 498 | i | 2 | 盐丰 47 | j | 1 | 盐稻 12 号 | j | 2 | 滨旭 | j | 1 |
| 蜀恢 527 | i | 2 | 盐粳 31 | j | 1 | 盐稻 3873 | j | 1 | 福光 | j | 1 |
| 万恢 88 | i | 2 | 盐粳 456 | j | 1 | 盐稻 9 号 | j | 1 | 关东 192 | j | 1 |
| 宜恢 1577 | i | 2 | 盐粳 48 号 | j | 1 | 盐丰稻 2 号 | j | 1 | 关东 194 | j | 1 |
| 宜恢 4245 | i | 2 | 吉粳 83 号 | j | 1 | 盐粳 10 号 | j | 1 | 黄金晴 | j | 1 |
| 遵粳 3 号 | i | 2 | 松辽 1 号 | j | 1 | 盐粳 9 号 | j | 2 | 空育 131 | j | 1 |
| 冈加丁 2 | i | 2 | 通院 9 号 | j | 1 | 盐糯 12 | j | 1 | 明之星 | j | 2 |
| 通红矮 | i | 2 | 常农粳 1 号 | j | 2 | 扬辐粳 7 号 | j | 1 | 农林 24 | j | 1 |
| 珍桂占 | i | 2 | 常农粳 3 号 | j | 1 | 扬粳 4227 | j | 2 | 农林 8 号 | j | 1 |
| 广白矮 | i | 2 | 常农粳 4 号 | j | 2 | 扬粳 805 | j | 2 | 秋光 | j | 1 |
| 二九南 1 号 | i | 2 | 常农粳 5 号 | j | 1 | 扬粳 806 | j | 1 | 秋力 | j | 1 |
| 华 451 | i | 2 | 常农粳 7 号 | j | 1 | 扬粳 9538 | j | 2 | 日本晴 | j | 1 |
| 先恢 207 | i | 2 | 华粳 3 号 | j | 1 | 扬育粳 2 号 | j | 2 | 日本优 | j | 2 |
| 华占 | i | 2 | 华粳 4 号 | j | 2 | 扬育粳 3 号 | j | 1 | 山彦 | j | 1 |
| 中恢 8006 | i | 2 | 华粳 5 号 | j | 1 | 镇稻 11 号 | j | 1 | 上育 397 | j | 1 |
| 金 23B | i | 2 | 华粳 6 号 | j | 1 | 镇稻 12 号 | j | 2 | 石狩 | j | 1 |
| 南特号 | i | 2 | 华瑞稻 1 号 | j | 1 | 镇稻 13 号 | j | 1 | 藤坂 5 号 | j | 1 |
| 矮仔占 | i | 2 | 淮稻 11 号 | j | 2 | 镇稻 14 号 | j | 2 | 下北 | j | 1 |
| 广场 13 | i | 2 | 淮稻 12 号 | j | 2 | 镇稻 15 号 | j | 2 | 野地黄金 | j | 1 |
| 金恢 2 号 | i | 2 | 淮稻 13 号 | j | 1 | 镇稻 16 号 | j | 2 | 越富 | j | 1 |
| 七桂占 | i | 2 | 淮稻 14 号 | j | 2 | 镇稻 17 号 | j | 1 | 越光 | j | 1 |
| 红恢 589 | i | 2 | 淮稻 5 号 | j | 2 | 镇稻 18 号 | j | 2 | | | |

S: 亚种属性, i 为籼稻, j 为粳稻; G: *GLW7* 基因的不同等位型, 1 为 201 bp 带型, 2 为 190 bp 带型。

表 2 供试水稻品种粒型性状及 *t* 测验Table 2 Grain shape traits and *t*-test of tested rice varieties

| 性状 | 粒型 | 品种数 | 平均值± 标准差 | 变幅 | <i>t</i> 值 |
|----------|-----|-----|-------------|-------------|------------|
| 粒长 (mm) | SGH | 154 | 7.50±0.40 | 6.17~9.85 | -14.44 ** |
| | LGH | 161 | 8.90±1.16 | 7.10~11.36 | |
| 粒宽 (mm) | SGH | 154 | 3.38±0.16 | 2.70~3.81 | 12.60 ** |
| | LGH | 161 | 2.98±0.37 | 2.04~3.60 | |
| 粒厚 (mm) | SGH | 154 | 2.31±0.09 | 1.92~2.55 | 10.35 ** |
| | LGH | 161 | 2.15±0.17 | 1.71~2.47 | |
| 长宽比 | SGH | 154 | 2.22±0.22 | 1.81~3.51 | -14.18 ** |
| | LGH | 161 | 3.07±0.72 | 2.03~5.31 | |
| 千粒质量 (g) | SGH | 154 | 25.19±1.66 | 20.11~29.93 | -6.64 ** |
| | LGH | 161 | 26.78±2.52 | 21.61~35.31 | |

LGH:大粒;SGH:小粒。**表示差异极显著($P<0.01$)。表 3 供试籼稻品种的粒型性状及 *t* 测验Table 3 Grain shape traits and *t*-test of tested indica varieties

| 性状 | 粒型 | 品种数 | 平均值± 标准差 | 变幅 | <i>t</i> 值 |
|---------|-----|-----|-------------|-------------|------------|
| 粒长 (mm) | SGH | 5 | 8.48±1.32 | 7.15~9.85 | -2.42 * |
| | LGH | 110 | 9.48±0.89 | 8.00~11.36 | |
| 粒宽 (mm) | SGH | 5 | 2.93±0.23 | 2.70~3.19 | 1.28 |
| | LGH | 110 | 2.78±0.26 | 2.04~3.59 | |
| 粒厚 (mm) | SGH | 5 | 2.10±0.11 | 1.92~2.20 | 0.80 |
| | LGH | 110 | 2.06±0.11 | 1.71~2.43 | |
| 长宽比 | SGH | 5 | 2.93±0.63 | 2.24~3.51 | -2.14 * |
| | LGH | 110 | 3.45±0.53 | 2.37~5.31 | |
| 千粒重 (g) | SGH | 5 | 24.42±4.22 | 20.11~29.93 | -2.02 * |
| | LGH | 110 | 27.00±2.73 | 21.71~35.31 | |

LGH:大粒;SGH:小粒。*表示差异显著($P<0.05$)。表 4 供试粳稻品种的粒型性状及 *t* 测验Table 4 Grain shape traits and *t*-test of tested japonica varieties

| 性状 | 粒型 | 品种数 | 平均值± 标准差 | 变幅 | <i>t</i> 值 |
|---------|-----|-----|-------------|-------------|------------|
| 粒长 (mm) | SGH | 149 | 7.47±0.29 | 6.71~8.42 | -2.502 ** |
| | LGH | 51 | 7.64±0.46 | 7.10~9.42 | |
| 粒宽 (mm) | SGH | 149 | 3.40±0.13 | 2.93~3.81 | -0.47 |
| | LGH | 51 | 3.41±0.14 | 3.01~3.60 | |
| 粒厚 (mm) | SGH | 149 | 2.32±0.08 | 2.10~2.55 | -2.081 * |
| | LGH | 51 | 2.35±0.10 | 1.96~2.48 | |
| 长宽比 | SGH | 149 | 2.20±0.14 | 1.81~2.68 | -1.419 |
| | LGH | 51 | 2.25±0.22 | 2.03~3.12 | |
| 千粒重 (g) | SGH | 149 | 25.22±1.54 | 20.59~28.85 | -3.660 ** |
| | LGH | 51 | 26.31±1.92 | 21.61~29.97 | |

LGH:大粒;SGH:小粒。*、** 分别表示差异显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)。

3 讨论

表型选择是传统育种的主要方法,而基因型、环境以及它们之间的互作等因素往往影响了育种家对表型的判断,因而传统育种不仅准确性差,而且周期较长。分子标记辅助选择可以提高育种的效率和准确率,在品种选育中具有重要作用^[27-29]。本研究基于基因 *GLW7* 功能位点的序列差异设计了特异性引物,并对 315 份来自国内外水稻品种进行基因型检测,发现该位点只有 2 种等位变异类型,设计的功能标记 *GLW7-F/GLW7-R* 能够准确、高效地区分不同品种等位变异。对 115 份籼稻和 200 份粳稻的基因型检测结果表明, *GLW7* 基因大粒等位变异在籼稻中占 95.65%,而在粳稻中仅占 25.50%,说明该基因的等位变异在亚种中分布存在明显的差异。粳稻中大粒型的等位基因频率较低,这可能与不同地区对粳稻粒型的选择性有关,也可能与本研究中所用的粳稻材料多为圆粒型,而长粒型粳稻相对偏少有关。

粒型是水稻产量的重要构成因素,籽粒的大小和形状决定了水稻经济产量的潜力,对提高千粒质量有着重要的影响。对 *GLW7* 基因 T-DNA 插入突变研究结果表明,突变体的粒长、粒厚和粒质量均显著降低^[8]。通过对 315 份水稻资源进行粒型性状的测定分析,发现 *GLW7* 基因 2 种等位型的品种在粒长、粒厚及千粒质量上均有极显著的差异。基因型为小粒型和大粒型的品种粒宽平均值分别为 3.38 mm 和 2.98 mm,前者明显大于后者,进一步分析结果表明出现这种现象的根本原因是粳稻和籼稻之间的差异造成的。为深入研究 *GLW7* 基因对粒型的作用效应,将 315 个水稻品种按籼、粳分为 2 组分别进行分析。结果显示,籼稻中具有大粒等位变异的品种粒长和千粒质量显著增加,而粒宽和粒厚没有明显差异;粳稻中 2 种等位变异的品种粒长和千粒质量差异极显著,粒厚差异显著,粒宽差异不显著。这之前报道的结果^[8]一致。综上所述, *GLW7* 基因在籼稻和粳稻中对粒型不同性状的效应并不完全一样,这可能是由籼稻和粳稻中不同遗传背景差异造成的,也可能与粳稻中其他粒型基因的相互作用相关。

利用分子标记辅助选择进行优异基因的聚合是水稻育种的趋势^[30-31]。在粒型方面, *GS3*、*GW8* 和 *GW7* 基因的聚合,能有效改良水稻的粒型,同时产量和品质也得到显著提高^[17-18,32-33]。研究结果证明 *GLW7* 基因与 *GS3* 基因对籽粒的调控是独立的通

路^[8],推测聚合这2个基因可能对粒型改良有明显的作用,因而 *GLW7* 基因在粒型基因聚合育种中具有一定的潜力。本研究开发的功能标记可以有效地区分 *GLW7* 不同的等位变异,为该基因在育种中的利用奠定了基础。

参考文献:

- [1] HUANG R Y, JIANG L G, ZHENG J S, et al. Genetic bases of rice grain shape: so many genes, so little known[J]. Trends in Plant Science, 2013, 18(4): 218-226.
- [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[J]. 作物学报, 2004, 30(9): 894-900.
- [3] 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]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112(6): 1164-1171.
- [4] MAO H L, SUN S Y, YAO J L, et al. Linking differential domain functions of the *GS3* protein to natural variation of grain size in rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(45): 19579-19584.
- [5] SUN S Y, WANG L, MAO H L, et al. A G-protein pathway determines grain size in rice[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 851.
- [6] 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[J]. Cell Research, 2012, 22(12): 1666-1680.
- [7] ZHANG X J, WANG J F, HUANG J, et al. Rare allele of *OsPPKL1* associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(52): 21534-21539.
- [8] SI L Z, CHEN J Y, HUANG X H, et al. *OsSPL13* controls grain size in cultivated rice[J]. Nature Genetics, 2016, 48(4): 447-456.
- [9] YING J Z, MA M, BAI C, et al. *TGW3*, a major QTL that negatively modulates grain length and weight in rice[J]. Molecular Plant, 2018, 11(5): 750-753.
- [10] YU J P, XIONG H Y, ZHU X Y, et al. *OsLG3* contributing to rice grain length and yield was mined by Ho-LAMap[J]. BMC Biology, 2017, 15(1): 28.
- [11] LIU Q, HAN R, WU K, et al. G-protein $\beta\gamma$ subunits determine grain size through interaction with MADS-domain transcription factors in rice[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 852.
- [12] ZHAO D S, LI Q F, ZHANG C Q, et al. *GS9* acts as a transcriptional activator to regulate rice grain shape and appearance quality[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 1240.
- [13] 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.
- [14] SHOMURA A, IZAWA T, EBANA K, et al. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication[J]. Nature Genetics, 2008, 40(8): 1023-1028.
- [15] WENG J F, GU S H, WAN X Y, et al. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight[J]. Cell Research, 2008, 18(12): 1199-1209.
- [16] LI Y B, FAN C C, XING Y Z, et al. Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice[J]. Nature Genetics, 2011, 43(12): 1266-1269.
- [17] WANG S K, LI S, LIU Q, et al. The *OsSPL16-GW7* regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality[J]. Nature Genetics, 2015, 47(8): 949-954.
- [18] WANG S K, WU K, YUAN Q B, et al. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice[J]. Nature Genetics, 2012, 44(8): 950-954.
- [19] HUANG K, WANG D K, DUAN P G, et al. WIDE AND THICK GRAIN 1, which encodes an otubain-like protease with deubiquitination activity, influences grain size and shape in rice[J]. Plant Journal, 2017, 91(5): 849-860.
- [20] WANG S S, WU K, QIAN Q, et al. Non-canonical regulation of SPL transcription factors by a human OTUB1-like deubiquitinase defines a new plant type rice associated with higher grain yield[J]. Cell Research, 2017, 27(9): 1142-1156.
- [21] 程丽, 胡茂龙, 浦惠明, 等. M342 抗除草剂基因 CAPS 标记的开发与应用[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(2): 241-247.
- [22] 丁丹, 张亚东, 赵春芳, 等. 水稻粒长基因 *GS3* 和 *qGL3* 功能标记的设计及应用[J]. 江农业学报, 2014, 30(6): 1191-1197.
- [23] 王军, 杨杰, 许祥, 等. 水稻千粒重基因 *TGW6* 功能标记的开发与利用[J]. 中国水稻科学, 2014, 28(5): 473-478.
- [24] 裔传灯, 王德荣, 蒋伟, 等. 水稻粒形基因 *GW8* 的功能标记开发和单体型鉴定[J]. 作物学报, 2016, 42(9): 1291-1297.
- [25] 丁丹. 水稻5个粒型相关基因的分子标记开发与效应分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [26] 卢扬江, 郑康乐. 提取水稻 DNA 的一种简易方法[J]. 中国水稻科学, 1992, 6(1): 47-48.
- [27] 任海, 吕小红, 杜萌. 多抗水稻分子标记辅助育种方法[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(19): 154-158.
- [28] 孙大元, 周丹华, 张景欣, 等. 广谱抗源 H4 中 2 个主效抗病基因的单基因系构建及评价[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(1): 1-5.
- [29] 陈红萍, 刘开浪, 杨宙, 等. 利用分子标记辅助选择改良水稻稻瘟病抗性[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(2): 29-32.
- [30] 刘冬梅, 娄喜艳, 吴狄, 等. 基于棉花转录组测序的 SSR 分子标记的开发[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(7): 32-35.
- [31] 田大刚, 杨小双, 陈子强, 等. 利用分子标记辅助选择改良闽恢 3301 稻瘟病抗性[J]. 南方农业学报, 2019, 50(8): 1665-1670.
- [32] 李扬, 徐小艳, 严明, 等. 利用 *GS3* 基因功能性分子标记改良水稻粒型的研究[J]. 上海农业学报, 2016, (1): 1-5.
- [33] NAN J Z, FENG X M, WANG C, et al. Improving rice grain length through updating the *GS3* locus of an elite variety Kongyu 131[J]. Rice, 2018, 11(1): 21.

(责任编辑:张震林)