

马孟莉, 江 玲, 刘艳红, 等. 利用籼粳交 BIL 群体定位水稻谷粒长宽比 QTL[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(2): 236-240.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.02.002

利用籼粳交 BIL 群体定位水稻谷粒长宽比 QTL

马孟莉¹, 江 玲², 刘艳红¹, 雷 恩¹, 李春燕¹, 卢丙越¹

(1. 红河学院生命科学与技术学院/云南省高校农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室, 云南 蒙自 661100; 2. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘要: 本研究以 122 个南粳 35/N22//南粳 35 构建的回交重组自交系(BIL)群体为材料,通过两年重复试验,利用 WinQTLcart2.5 和 QTLNetwork2.0 软件对控制水稻谷粒长宽比的数量性状基因位点(QTL)进行定位分析。利用 WinQTLcart2.5 共检测到 5 个控制谷粒长宽比的 QTLs,分别位于第 1、4、5、7 和 12 染色体上,单个 QTL 对表型的贡献率为 8.80% ~ 18.83%。利用 QTLNetwork2.0 共检测到 4 个 QTLs,贡献率为 7.36% ~ 16.05%,除 *qLWR-1* 未被检测到外,其余 QTLs 与 WinQTLcart2.5 检测结果吻合,除 *qLWR-4* 外,谷粒长宽比增效基因均来自长粒型水稻品种 N22;此外还检测到 3 对上位性 QTLs,贡献率为 1.12% ~ 4.97%。

关键词: 水稻; 谷粒长宽比; QTL 定位

中图分类号: S511.01

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2015)02-0236-05

Quantitative trait locus (QTL) mapping of grain length-width ratio by using *indica-japonica* backcross inbred line(BIL) population in rice

MA Meng-li¹, JIANG Ling², LIU Yan-hong¹, LEI En¹, LI Chun-yan¹, LU Bing-yue¹

(1. College of Life Science and Technology, Honghe University/ Key Laboratory of Crop High Quality and Efficient Cultivation and Security Control of College in Yunnan Province, Mengzi 661100, China; 2. State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The quantitative trait locus (QTL) controlling grain length-width ratio were mapped by using a backcross inbred lines (BIL) population derived from a cross between a *japonica* parent Nanjing35 and an *indica* parent N22. Five putative QTLs were identified on chromosomes 1, 4, 5, 7, 12 using WinQTLcart2.5 software in two years, and the percentage of phenotypic variance explained ranged from 8.80% to 18.83%. Four putative QTLs were mapped on chromosomes 4, 5, 7, 12 using QTLNetwork2.0 software, explaining 7.36% to 16.05% phenotypic variation. Except for *qLWR-1*, the location and effect were the same to those using WinQTLcart2.5. Alleles of these QTLs were from long-grained variety N22 except for *qLWR-4*. Three pairs of epistatic QTLs were also detected, explaining 1.12% to 4.97% phenotypic variation. No significant interaction was detected between QTLs and environments.

Key words: rice; grain length-width ratio; quantitative trait locus (QTL) mapping

收稿日期: 2014-09-23

基金项目: 云南省应用基础研究计划项目 (2013FZ124); 云南省教育厅科学研究基金项目 (2013Y066); 红河学院中青年学术骨干培养计划项目 (2014GG0101); 红河学院博士科研启动专项项目 (14bs17)

作者简介: 马孟莉 (1985-), 女, 云南曲靖人, 硕士, 助教, 研究方向为精确农业。(Tel)13769430165; (E-mail) mamlsky@126.com

通讯作者: 卢丙越, (E-mail) lby202@126.com

水稻是世界上最主要的粮食作物之一,全球有超过 50% 的人口以稻米为主食,特别是亚洲地区^[1-2]。水稻是中国第一大粮食作物,长期以来高产一直作为中国水稻育种的主要目标,而忽视了稻米品质改良,在人民生活水平日益提高的今天,劣质稻

谷严重限制了其在国内和国际市场的竞争力。20 世纪 80 年代中期后,中国开始重视稻米品质问题的研究,目前已在稻米品质形成机理和优质水稻品种选育方面取得了丰硕成果^[3]。

粒型(粒长、粒宽、长宽比)是稻米外观品质的主要衡量指标。近年来,随着 DNA 分子标记技术的不断发展,国内外研究者利用不同的群体定位到多个控制稻谷粒型的 QTL,部分已被成功克隆,如控制粒长的 *GS3* 和 *qGL3*,控制粒宽的 *GW2*、*GW5* 和 *GW8*,控制籽粒大小的 *GS5*^[4-5]等,至今未见对水稻长宽比 QTL 克隆的报道。目前已定位到多个控制籽粒长宽比的 QTLs,广泛分布于水稻 12 条染色体上。利用不同的杂交组合挖掘控制稻谷长宽比的主效 QTLs,可为控制该性状的基因克隆及育种利用奠定基础,本研究以短粒粳稻品种南粳 35 和长粒籼稻 N22 构建的 BIL 群体为材料,于不同年份对水稻谷粒长宽比 QTL 进行定位,旨在挖掘表达稳定的 QTL,为进一步水稻遗传研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

南粳 35/N22//南粳 35 构建的 BIL 群体(BC_1F_7) 122 个家系及亲本 N22 和南粳 35。

1.2 方法

1.2.1 材料的种植和性状调查 试验材料分别于 2009 年、2010 年正季种植于南京农业大学土桥实验农场,每个 BIL 家系种植 2 行,每行 10 株,亲本南粳 35 和 N22 各种植 5 行,每行 10 株,田间管理同大田生产。成熟期收获亲本和 BIL 各家系的种子,自然干燥后每个家系随机选取 10 粒种子,3 次重复,用游标卡

尺测量粒长和粒宽,计算每粒种子的长宽比,以 3 次重复的平均值代表该家系的谷粒长宽比指标。

1.2.2 QTL 作图 连锁图谱的绘制有 Lu 等^[6]完成。采用 WinQTLcart2.5 软件(statgen.ncsu.edu/qtlcart/WinQTLcart.htm)中的复合区间作图法(CIM)进行标记与性状间的关联分析,在全基因组范围内检测谷粒长宽比位点,及每个 QTL 可解释表型变异的百分率。将 Logarithm of odds(*LOD*)值 2.5 定为阈值,若标记区间 *LOD* 大于 2.5,则以该区间 *LOD* 值最高处所对应的位点为该性状的 1 个 QTL。同时利用基于混合线性模型的 QTLNetwork2.0 软件进行 QTL 分析^[7],以 $P=0.005$ 为统计检测阈值,即当标记的 P 值小于统计检测阈值时,认为该标记处存在 1 个与性状有关的 QTL,最后将检测到的所有 QTL 以及它们之间的上位性互作以及环境的互作整合到 1 个全 QTL 模型中,用基于 Gibbs 抽样的 Bayesian 方法估计各 QTL 的遗传效应。

2 结果与分析

2.1 亲本南粳 35 与 N22 及 BIL 群体的谷粒长宽比

亲本 N22 和南粳 35 的平均谷粒长宽比分别为 2.88 和 2.11, t 检测结果显示亲本谷粒长宽比之间的差异达到极显著水平($P<0.01$)。2009 年, BIL 群体的谷粒长宽比为 1.72 ~ 3.26, 平均为 2.31; 2010 年为 1.75 ~ 3.32, 平均为 2.49, 2010 年较 2009 年略高, 表明环境条件对谷粒长宽比有一定影响; 谷粒长宽比在两年均呈双向超亲分离, 表现为近正态分布(图 1), 表明谷粒长宽比是由多基因控制的数量性状, 符合 QTL 作图的要求。

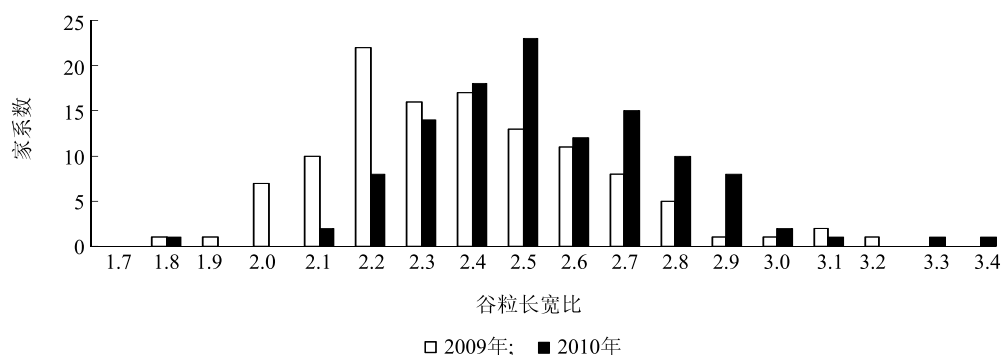


图 1 2009 和 2010 年南粳 35/N22//南粳 35 BIL 群体谷粒长宽比分布频率

Fig. 1 Frequency distribution of grain length-width ratio in Nanjing35/N22//Nanjing35 BIL population in 2009 and 2010

2.2 谷粒长宽比 QTL 定位

利用 WinQTLcart2.5 软件在全基因组范围共检测到 5 个控制谷粒长宽比的 QTLs。其中 2009 年在第 4、5、7 和 12 染色体上共检测到 4 个 QTLs, 单个 QTL 的 *LOD* 值为 2.73 ~ 12.10, 贡献率为 8.80% ~ 18.83%, 除 *qLWR-4* 增加谷粒长宽比的基因来自南粳 35 外, 其余 QTLs 的增效基因均来自长粒型籼稻

品种 N22(表 1); 2010 年在第 1、5、7 和 12 染色体上共检测到 4 个 QTLs, 其 *LOD* 值为 3.19 ~ 8.61, 贡献率分别为 10.76% ~ 14.62%, 增加谷粒长宽比的基因均来自 N22(表 1)。其中 *qLWR-5*、*qLWR-7* 和 *qLWR-12* 在 2 年均被检测到, 遗传表达稳定, *qLWR-5* 的 *LOD* 和贡献率在 2 年均最大, 为控制谷粒长宽比的主效 QTL。

表 1 WinQTLcart2.5 软件检测的谷粒长宽比 QTLs

Table 1 QTLs identified for grain length-width ratio by using WinQTLcart2.5 software

年份	基因座	染色体	标记区间	<i>LOD</i> 值	加性效应 ¹⁾	贡献率(%)
2009	<i>qLWR-4</i>	4	<i>RM551 ~ RM518</i>	2.73	-0.08	8.80
	<i>qLWR-5</i>	5	<i>RM593 ~ RM598</i>	12.10	0.17	18.83
	<i>qLWR-7</i>	7	<i>RM11 ~ RM182</i>	4.00	0.10	11.19
	<i>qLWR-12</i>	12	<i>RM367 ~ RM101</i>	3.63	0.09	10.82
2010	<i>qLWR-1</i>	1	<i>RM488 ~ RM128</i>	3.19	0.11	10.76
	<i>qLWR-5</i>	5	<i>RM413 ~ RM598</i>	8.61	0.15	14.62
	<i>qLWR-7</i>	7	<i>RM11 ~ RM505</i>	4.50	0.12	11.99
	<i>qLWR-12</i>	12	<i>RM247 ~ RM101</i>	4.71	0.11	13.24

¹⁾ 正值代表增效基因来自 N22, 负值代表增效基因来自南粳 35。

利用 QTLNetwork2.0 软件 2 年共检测到 4 个控制长宽比的 QTLs, 分别位于第 4、5、7 和 12 染色体上(表 2), 除 *qLWR-1* 没被检测到外, 其余 QTLs 与 WinQTLcart2.5 软件检测的结果相吻合; 此外在第 1 染色体 *RM488 ~ RM1297* 区间和第 3 染色体

RM545 ~ RM5480 区间、第 2 染色体 *RM1234 ~ RM324* 区间与第 12 染色体 *RM19 ~ RM6296* 区间及 *RM367 ~ RM491* 区间检测到 3 对效应值较小的上位性 QTLs(图 2), 贡献率为 4.97%、1.88% 和 1.12%, 没有检测到 QTL 与环境互作对谷粒长宽比的影响。

表 2 QTLNetwork2.0 软件检测的谷粒长宽比 QTLs

Table 2 QTLs identified for grain length-width ratio by using QTLNetwork2.0 software

年份	基因座	染色体	标记区间	<i>P</i> 值	加性效应 ¹⁾	贡献率(%)
2009	<i>qLWR-4</i>	4	<i>RM551 ~ RM518</i>	0.000 3	-0.06	7.36
	<i>qLWR-5</i>	5	<i>RM413 ~ RM593</i>	0.001 2	0.14	16.05
	<i>qLWR-7</i>	7	<i>RM346 ~ RM182</i>	<0.000 1	0.08	12.53
	<i>qLWR-12</i>	12	<i>RM491 ~ RM101</i>	<0.000 1	0.10	9.10
2010	<i>qLWR-5</i>	5	<i>RM413 ~ RM593</i>	0.000 5	0.12	10.58
	<i>qLWR-7</i>	7	<i>RM346 ~ RM182</i>	0.000 1	0.09	8.48
	<i>qLWR-12</i>	12	<i>RM491 ~ RM101</i>	<0.000 1	0.15	12.65

¹⁾ 正值代表增效基因来自 N22, 负值代表增效基因来自南粳 35。

3 讨论

水稻谷粒长宽比可以用来表示谷粒的形状, 是衡量稻谷外观品质的重要指标。已有研究结果表明长宽比是多基因控制的数量性状, 后代表现连续变

异, 易受环境条件影响^[8]。亲本的选择、作图群体的性质和特点、作图软件是影响 QTL 定位精确性主要因素。鉴于前人对谷粒长宽比定位亲本选择的不同及作图软件的单一性, 本研究以籼、粳亚种进行杂交构建的 BIL 群体为材料, 采用两款主流 QTL 检测

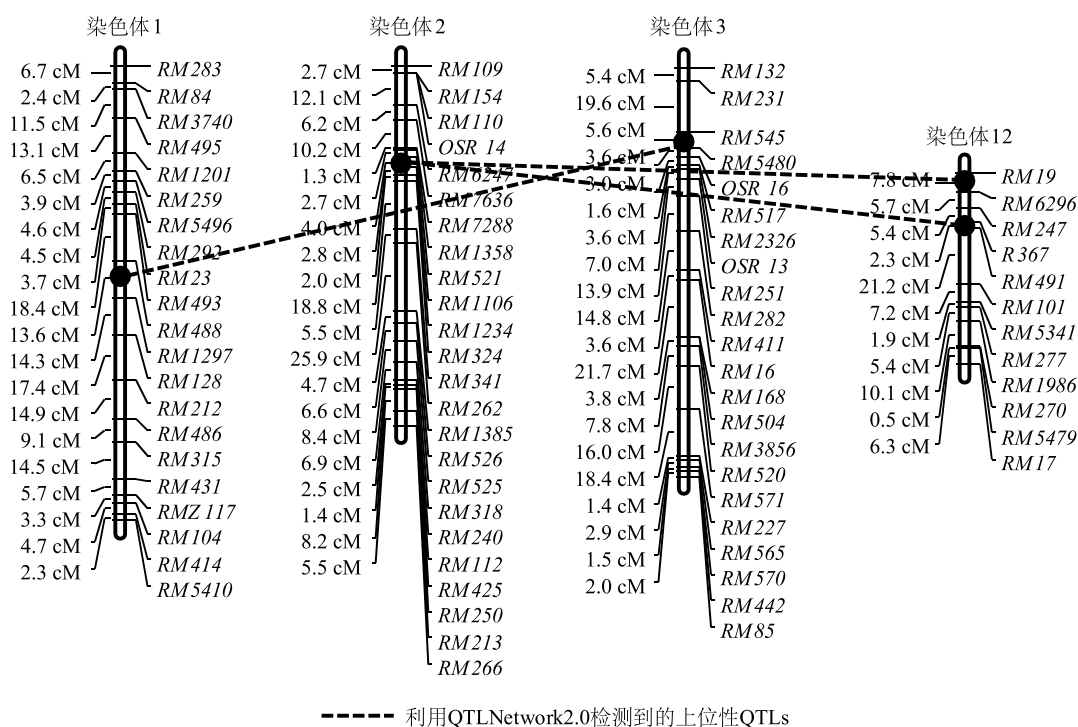


图2 检测到的上位性 QTLs 在连锁群上的分布

Fig. 2 The location of epistatic QTLs on linkage groups

软件对控制谷粒长宽的 QTL 进行定位有如下优点: (1) 亲本间遗传差异大, 有利于挖掘较多的基因位点; (2) BIL 群体遗传背景近于纯合, 可用于性状的重复检测; (3) 采用两款不同的软件进行 QTL 检测, 定位结果可相互比较、验证。本研究共检测到 5 个控制谷粒长宽比的 QTLs, *qLWR-1* 和 *qLWR-4* 只在单年检测到, 易受环境条件影响; *qLWR-5*、*qLWR-7* 和 *qLWR-12* 在 2 年、2 款软件下均被检测到, 具有较高的遗传稳定性。

将本研究的结果与前人的结果进行比较, 发现 *qLWR-1* 与 Aluko 等^[9] 定位的 *lwr1* 位置相同, *lwr1* 可以解释 4.0% 的表型变异, 而在本研究中 *qLWR-1* 对长宽比的贡献率达到 10.76%, 此外 Jiang 等^[10]、张光恒等^[11]、张强等^[12] 也在第 1 染色体上检测到控制谷粒长宽比的 QTL, 但与本研究定位的位点差异较大; 本研究中 *qLWR-4* 定位在第 4 染色体短臂末端标记 RM551 和 RM518 之间, 比较分析发现该位点与前人定位的结果均不同, 可能为 1 个新的 QTL; 第 5 染色体在相似区间 2 年间均检测到 1 个主效位点 *qLWR-5*, 该区间已定位到多个控制水稻粒型的

QTL 位点, 其中包括已克隆的控制粒宽基因 *GW5*^[13] 和控制籽粒大小的基因 *GS5*^[14], *qLWR-5* 是否与 *GW5* 或 *GS5* 等位还需做进一步的验证; *qLWR-7* 与严长杰等^[15] 定位的 *qLW-7* 及 Shao 等^[16] 定位的 *GS7*、赵明芳等^[17] 定位的 *qRLW-7* 位置相似, 可能为同一位点; *qLWR-12* 与 Li 等^[18] 定位的 *qRLW12* 位置相似, 而该位置在严长杰等^[15] 定位的 *qLW-12* 上面, 在 Li 等^[19] 定位的 *lwr12.1* 下面。至今未见第 7 和 12 染色体上控制粒型 QTL 克隆的报道, 本研究中 *qLWR-7* 和 *qLWR-12* 表达稳定, 可通过构建高代回交群体加以分离, 挖掘其中潜在的基因。

参考文献:

- [1] 许凤英, 张秀娟, 王晓玲, 等. 液体硅钾肥对水稻冠层结构、光合特性及产量的影响[J]. 江苏农业学报, 2014, 30(1): 67-72.
- [2] 雷武生, 杨宝林, 戴金平. 不同氮肥运筹对水稻品种越光氮素吸收利用及产量的影响[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(10): 54-56.
- [3] 王忠华, 方振华, 干建慧. 稻米外观品质性状遗传与分子定位研究进展[J]. 生命科学, 2009, 21(3): 444-451.
- [4] HUANG R Y, JIANG L R, ZHENG J S, et al. Genetic bases of rice grain shape; so many genes, so little known [J]. Trends Plant

- Sci, 2013, 18(4):218-26.
- [5] ZHANG X J, WANG Z F, HUANG J, et al. Rare allele of *OsPP-KLL* associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(52):21534-21539.
- [6] LU B Y, XIE K, YANG C Y, et al. Efficient QTL detection for heading date in backcross inbred line and F_2 population derived from the same rice cross [J]. African Journal of Agricultural Research, 2011, 6(10): 2372-2378.
- [7] YANG J, ZHU J. Predicting superior genotypes in multiple environments based on QTL effects [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 110: 1268-1274.
- [8] 宫李辉,高振宇,马伯军,等. 水稻粒形遗传的研究进展 [J]. 植物学报, 2011, 46(6):597-605.
- [9] ALUKO G, MARTINEZ C, TOHME J, et al. QTL mapping of grain quality traits from the interspecific cross *Oryza sativa* \times *O. Glaberrima* [J]. Theor Appl Genet, 2004, 109:630-639.
- [10] JIANG G H, HONG X Y, XU C G, et al. Identification of quantitative trait loci for grain appearance and milling quality using a doubled-haploid rice population [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2005, 47 (11): 1391-1403.
- [11] 张光恒,张国平,钱 前,等. 不同环境条件下稻谷粒形数量性状的 QTL 分析 [J]. 中国水稻科学, 2004, 18(1):16-22.
- [12] 张 强,姚国新,胡广隆,等. 利用极端材料定位水稻粒形性状数量基因位点 [J]. 作物学报, 2011, 37(5):784-792.
- [13] 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 Res, 2008, 18: 1199-1209.
- [14] 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.
- [15] 严长杰,梁国华,陈 峰,等. 利用籼粳回交群体分析水稻粒形性状相关 QTLs [J]. 遗传学报, 2003, 30(8):711-716.
- [16] SHAO G N, WEI X J, CHEN M L, et al. Allelic variation for a candidate gene for *GS7*, responsible for grain shape in rice [J]. Theor Appl Genet, 2012, 125:1303-1312.
- [17] 赵明芳,张桂权,曾瑞珍,等. 基于单片段代换系的水稻粒型 QTL 加性及上位性效应分析 [J]. 作物学报, 2011, 37(3): 469-476.
- [18] LI M M, XU L, REN J F, et al. Identification of quantitative trait loci for grain traits in *japonica* rice [J]. Agricultural Sciences in China, 2010, 9(7): 929-936.
- [19] LI J M, XIAO J H, MCCOUCH S R. QTL detection for rice grain quality traits using an interspecific backcross population derived from cultivated Asian (*O. sativa* L.) and African (*O. glaberrima* S.) rice [J]. Genome, 2004, 47: 697-704.

(责任编辑:袁 伟)