

姚林江, 梁文化, 陈涛, 等. 水稻分蘖数遗传位点挖掘与候选基因分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(8): 1457-1465.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.08.001

水稻分蘖数遗传位点挖掘与候选基因分析

姚林江¹, 梁文化², 陈涛², 朱镇², 赵庆勇², 李余生², 姚姝², 赵凌²,
周丽慧², 赵春芳², 路凯², 王才林², 朱克明¹, 张亚东^{1,2}

(1. 江苏大学生命科学学院, 江苏 镇江 212013; 2. 江苏省农业科学院粮食作物研究所/国家耐盐碱水稻技术创新中心华东中心, 江苏 南京 210014)

摘要: 分蘖数是水稻的一个重要农艺性状, 直接影响水稻的产量。因此, 挖掘水稻分蘖数相关基因, 对分蘖数的遗传机制研究和品种改良具有重要意义。本研究利用分蘖数差异明显的粳稻 TD70 与籼稻 Kasalath 构建的 186 份重组自交系(RIL)材料, 结合 2021 年和 2023 年的分蘖数和基因型数据, 利用数量性状基因座(QTL) IciMapping V3.4 软件, 采用完备区间作图法对控制水稻分蘖数的 QTL 进行鉴定。2 年共检测到 17 个分蘖数相关的 QTL, 分别位于 1 号、2 号、4 号、5 号、6 号、7 号、11 号、12 号染色体上, 对数概率比值(*LOD* 值)为 2.66~9.14, 可解释表型变异为 1.48%~8.68%; QTL 定位物理区间分析结果表明, 本研究中有 3 个 QTL 与前人定位到的分蘖数 QTL 区间重合或者邻近, 其中 2 个位点鉴定出分蘖数基因。*qTN2-1* 和 *qTN4* 在 2 年试验中均被检测到, 表现出较强的稳定性, 其中 *qTN2-1* 位于 2 号染色体上 7.12~7.25 Mb 区间内, 2 年的 *LOD* 值分别为 3.96 和 7.14, 贡献率分别为 7.58% 和 6.45%; *qTN4* 位于 4 号染色体上 2.43~2.67 Mb 区间内, 2 年的 *LOD* 值分别为 3.94 和 2.66, 贡献率分别为 6.86% 和 8.42%。对 *qTN2-1* 和 *qTN4* 定位区间进行亲本间序列的变异分析, 发现 6 个基因编码区在亲本间存在错义突变。进一步根据单核苷酸多态性(SNP)的类型将 RIL 群体株系分成 HapA 和 HapB 2 种等位型, 效应分析结果显示, 不同等位型分蘖数差异显著或极显著; 结合表达分析结果发现 2 个分蘖数相关的候选基因, 为进一步解析水稻分蘖数的分子机制提供了理论依据, 并为水稻高产育种提供了新位点。

关键词: 水稻; 分蘖数; Bin 图谱; QTL 定位

中图分类号: S511 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2025)08-1457-09

Identification of genetic loci for rice tiller number and analysis of candidate genes

YAO Linjiang¹, LIANG Wenhua², CHEN Tao², ZHU Zhen², ZHAO Qingyong², LI Yusheng²,
YAO Shu², ZHAO Ling², ZHOU Lihui², ZHAO Chunfang², LU Kai², WANG Cailin², ZHU Keming¹,
ZHANG Yadong^{1,2}

(1. College of Life Science, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/National Salt-tolerant Rice Technology Innovation Center, East China Center, Nanjing 210014, China)

收稿日期: 2024-11-06

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-01-69)

作者简介: 姚林江(1997-), 男, 江苏连云港人, 硕士研究生, 主要从事水稻选育研究。(Tel) 18914725895; (E-mail) 305527458@qq.com

通讯作者: 朱克明, (E-mail) uegzkg@sina.com.cn; 张亚东, (E-mail) zhangyd@jaas.ac.cn

Abstract: Tiller number is a key agronomic trait that directly determines rice yield. Therefore, mining genes related to tiller number is crucial for the genetic mechanism investigation of tiller number and variety improvement. In this study, 186 recombinant inbred lines (RILs) were constructed from japonica rice TD70 and indica rice Kasalath, which had obvious differences in tiller

number. Data of tiller-number and genotype collected in 2021 and 2023 were jointly analysed with the quantitative trait locus (QTL) IciMapping V3.4 software to identify rice tiller related QTLs by inclusive composite interval mapping method. A total of 17 QTLs related to tiller number were detected on Chromosome One, Chromosome Two, Chromosome Four, Chromosome Five, Chromosome Six, Chromosome Seven, Chromosome Eleven and Chromosome Twelve respectively in two years, with logarithm of odds (*LOD*) scores ranged from 2.66 to 9.14, and the phenotypic variation explained from 1.48% to 8.68%. QTL mapping physical interval analysis revealed that three of the QTLs overlapped or were adjacent to previously reported QTL loci related to tiller number, two of which were identified as tiller number genes. *qTN2-1* and *qTN4* were detected in two years and showed high stability. The *qTN2-1* was mapped within 7.12-7.25 Mb on Chromosome Two, the *LOD* values were 3.96 and 7.14, and the contribution rates were 7.58% and 6.45% in 2021 and 2023, respectively. The *qTN4* was mapped within 2.43-2.67 Mb on Chromosome Four, the *LOD* values were 3.94 and 2.66, and the contribution rates were 6.86% and 8.42% in 2021 and 2023, respectively. Variation analysis of sequences between parents within the mapping intervals of *qTN2-1* and *qTN4* showed that, there were missense mutations in the coding regions of six genes between parents. The RILs population strains were further classified into HapA and HapB alleles based on the type of single nucleotide polymorphism (SNP). Results of effect showed that, the tiller number showed significant or extremely significant difference between different alleles. Two candidate genes for tiller number were identified combined with results of expression analysis, which provided theoretical basis for analyzing the molecular mechanism of tiller number in rice and offered novel loci for high-yield rice breeding.

Key words: rice; tiller number; Bin map; QTL mapping

水稻分蘖数决定有效穗数,直接影响生物量的形成,是产量构成的关键农艺性状之一。因此,对水稻分蘖数进行深入的遗传学研究和候选基因挖掘在水稻育种中的株型改良和产量提高等方面具有重要的实用价值。水稻分蘖数通常被认为是多基因控制的性状,随着生物学家的不断挖掘,目前已经克隆十多个调控水稻分蘖数的基因,这些基因主要通过调控腋芽的起始或生长而影响分蘖数^[1]。

MOC1 (*Monoculm 1*) 是水稻中第 1 个被克隆的控制分蘖数的基因,编码 1 个 GRAS 家族成员,功能缺失的植株表现为极少分蘖或单蘖^[2]。*TAD1* 基因编码 1 个细胞分裂后期启动复合物 (APC/C) 的共激活子,功能缺失会导致分蘖增多,研究发现,*TAD1* 对 *MOC1* 具有调控作用^[3]。*MOC3* 也是调控水稻分蘖芽发生的关键因子,敲除突变体仅能在茎基部形成分蘖芽,无法再延伸,表现为单蘖^[4]。*FON1* 基因对分蘖芽的生长具有特异性调节作用^[5]。*OsTB1/FC1* 是一个 TCP 转录因子,负调控水稻的分蘖数,通过抑制水稻侧芽的伸出而降低分蘖数^[6-7]。*IPAI* 是一个多效基因,不仅能优化分蘖数提升产量,还能增强抗病性^[8]。*HTD1* 基因可以增加水稻分蘖数量和水稻产量,并且在绿色革命品种中得到了广泛的应用,聚合 *SD1* 和 *HTD1* 基因还能进一步提高水稻的产量^[9]。

研究发现 *HTD1* 基因突变导致独脚金内酯信号

传递受阻,最终促进分蘖的形成^[10]。*D1O* 是独脚金内酯生物合成关键酶,其编码的类胡萝卜素裂解双加氧酶 *OsCCD8* 可直接抑制水稻分蘖^[11]。*T20/MIT1/HTD12* 调节独脚金内酯和脱落酸 (ABA) 的生物合成,从而调控分蘖数^[12-14]。*OsSPL14* 基因通过调节生长素转运与分配,进而影响分蘖^[15]。Zhang 等^[16] 通过全基因组关联分析在 1 号染色体上鉴定了一个显著相关的数量性状基因座 (QTL) *qTN2*,通过单倍型分析和表达分析获得 1 个候选基因 *TN1*,该基因编码 1 个与拟南芥 *AS11/IBM2* 蛋白同源、含有 BAH 结构域和 RNA 识别结构域的功能蛋白;与野生型日本晴相比,突变体 *tn1-1* 和 *tn1-4* 的分蘖数分别增加 29.8% 和 31.7%,而 *TN1* 过表达株系的分蘖数显著下降,说明 *TN1* 负调控水稻分蘖数。近期研究发现,*DTN1* 基因编码果糖-1,6-二磷酸醛缩酶,该基因突变后导致水稻光合速率降低,叶片和腋芽中糖含量减少,最终导致分蘖数减少^[17]。这些基因的鉴定为解析水稻分蘖的分子机制提供了科学依据。

目前,尽管研究者克隆了不少控制水稻分蘖数的关键基因,但仍不能全面解释水稻分蘖数的形成机制,并且部分基因的不利表型限制了其在作物品种改良中的应用价值。因此,挖掘影响水稻分蘖的有利基因位点,对水稻品种改良更具有现实意义。近年来,全基因组重测序的广泛应用大大提高了 QTL 鉴定和基因挖掘的效率。本研究拟利用实验室前期基于重

组自交系(RIL)群体重测序构建的高密度 Bin 图谱,结合 2 年的田间数据考察,对水稻分蘖数性状进行数量性状基因座(QTL)鉴定与候选基因分析,为进一步挖掘水稻分蘖数相关基因位点,揭示水稻分蘖数的遗传机制及品种改良提供研究依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与田间试验

TD70 是本实验室前期通过杂交与复交的方式创制的一个粳稻品系, Kasalath 是一个常规籼稻品种,以二者为亲本杂交,通过单粒传法构建 RIL 群体^[18-19]。2021 年和 2023 年于江苏省农业科学院粮食作物研究所试验田种植亲本及 186 个 RIL 群体株系,随机区组设计。每年均于 5 月 15 日播种,6 月 12 日移栽,每个株系种植 4 行,每行 10 株,单本栽插,行株距为 33 cm×15 cm。主要田间管理参照常规栽培管理进行。

1.2 分蘖数调查

2021 年和 2023 年,分别调查 F11 和 F12 世代的表型,在群体株系抽穗后对其进行单株分蘖数调查,每个株系在田间选取 10 株统计单株分蘖数,取平均值代表该株系单株分蘖数。分蘖数调查与统计标准参照《水稻品种试验田间记载及室内考种项目与标准》。

1.3 QTL 的定位与分析

本实验室前期对双亲及 186 个 RIL 群体株系进行全基因组重测序,并进行单核苷酸多态性(SNP)分型,参考 Huang 等^[20]的方法构建高密度 Bin 图谱

(Bin-map),本研究定位使用的 Bin 图谱包含 12 328 个 Bin 标记,标记间平均物理距离为 30.26 kb^[18-19]。利用 QTL IciMapping V3.4 软件,应用完备区间作图法(Inclusive composite interval mapping, ICIM),以对数概率比值(LOD)=2.5 为阈值,以 1.0 cM 为步长,扫描全基因组,对分蘖数相关的 QTL 进行定位^[21]。参照 McCouch 等^[22]的规则命名 QTL。QTL 在染色体上的位置采用 Mapchart V2.32 软件绘制。

1.4 数据统计与分析

使用 Microsoft Excel 2016 处理表型数据并对数数据进行显著性分析,使用 Origin 2021 软件作图。

2 结果和分析

2.1 RIL 群体及其亲本的分蘖数表型特征

2021 年和 2023 年分别对亲本 TD70、Kasalath 及后代 186 个株系的分蘖数进行统计分析。结果(表 1)表明,亲本 TD70 分蘖数分别为 14.60 个和 15.67 个,Kasalath 的分蘖数分别为 24.30 个和 26.00 个,2 年的调查结果均显示 Kasalath 的分蘖数均极显著多于 TD70。2021 年 RIL 群体的分蘖数均值为 16.70 个,分蘖数变异范围为 6.30~31.20 个;2023 年 RIL 群体的分蘖数均值为 17.60 个,分蘖数变异范围为 7.30~30.00 个。2 年分蘖数变异系数分别为 28.30% 和 27.85%,可见群体分蘖数呈现广泛的变异。2 年 RIL 群体分蘖数的频率分布及峰值分析结果(图 1)表明,群体中株系的分蘖数呈连续变异的近正态分布,且 2 年的变化趋势相似,表现出数量性状的遗传特点,符合 QTL 区间作图分析的条件。

表 1 亲本与重组自交系群体的分蘖数

Table 1 Tiller number of two parents and recombinant inbred lines population

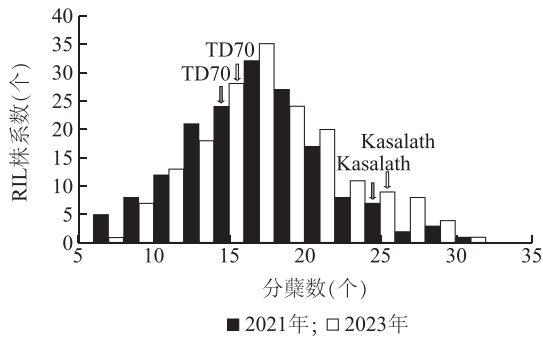
年份	亲本分蘖数(个)		重组自交系分蘖数相关数据				
	TD70	Kasalath	平均值(个)	变异范围(个)	变异系数(%)	峰度	偏度
2021	14.60±2.31	24.30±1.73**	16.70	6.30~31.20	28.30	-0.85	0.13
2023	15.67±1.53	26.00±4.58**	17.60	7.30~30.00	27.85	-0.28	0.35

**表示 2 个亲本分蘖数差异极显著($P<0.01$)。

2.2 分蘖数 QTL 检测

对 RIL 群体进行分蘖数 QTL 检测,2 年共检测到 17 个 QTL,分布在 1 号、2 号、4 号、5 号、6 号、7 号、11 号和 12 号染色体上(图 2)。其中,2021 年检测到 10 个 QTL, LOD 为 2.68~5.26,贡献率为 1.48%~7.58%。其中, $qTN2-1$ 贡献率最高,为 7.58%, LOD 为 3.96,12 号染色体上检测到

的 QTL 最多,为 4 个,在 1 号、2 号、4 号和 6 号染色体上分别检测到 1 个 QTL。2023 年检测到 9 个 QTL,分别位于 1 号、2 号、4 号、7 号、11 号和 12 号染色体上, LOD 值为 2.66~9.14,贡献率为 2.99%~8.68%。其中 $qTN7-2$ 贡献率最高,为 8.68%, LOD 为 3.76,在 2 号、7 号和 11 号染色体上各检测到 2 个 QTL(表 2)。



图中箭头表示重组自交系的 2 个亲本 (TD70 和 Kasalath) 的分蘖数。

图 1 重测序重组自交系 (RIL) 群体分蘖数分布

Fig.1 Distribution of tiller number among resequenced recombinant inbred lines (RIL) population

2021 年和 2023 年均检测到的 QTL 有 2 个, 分别为 $qTN2-1$ 和 $qTN4$ 。 $qTN2-1$ 定位于 2 号染色体上 7.12~7.25 Mb 的物理区间内, 该位点在 2021 年 LOD 值为 3.96, 可解释 7.58% 的表型变异, 来自 TD70 的等位基因有利于增加分蘖数; 2023 年 LOD 值为 7.14, 可解释 6.45% 的表型变异。2 年的结果显示, $qTN2-1$ 具有较强的稳定性。 $qTN4$ 定位于第 4 染色体上 2.43~2.67 Mb 的物理区间内, 2 年的 LOD 值分别为 3.94 和 2.66, 贡献率分别为 6.86% 和 8.42%, 来自 Kasalath 的等位基因对分蘖数的增加具有正向效应 (表 2)。

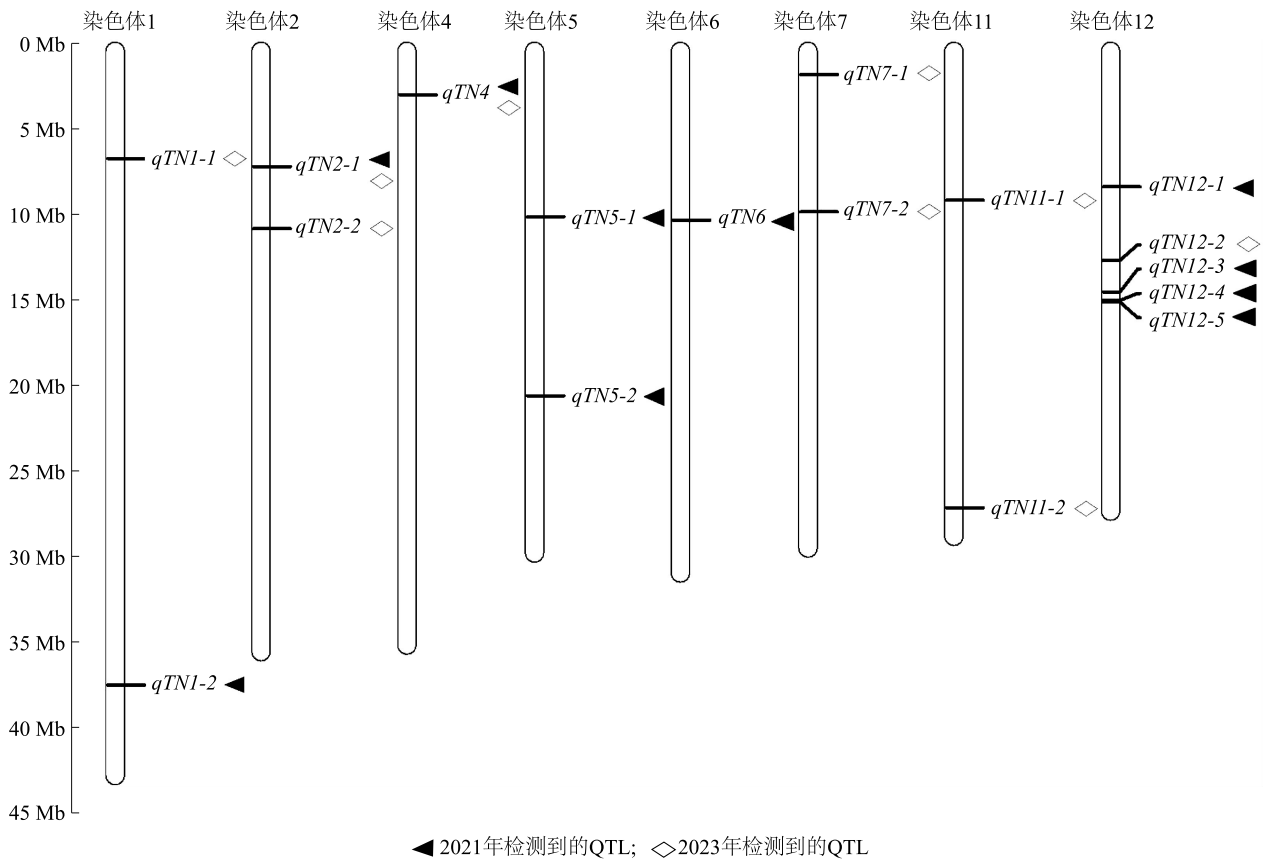


图 2 分蘖数数量性状基因座 (QTL) 的染色体分布

Fig.2 Distribution of quantitative trait locus (QTL) contributing to tillering number on chromosomes

2.3 候选基因的筛选

利用水稻基因组注释项目数据库 (<http://rice.uga.edu/>) 和国家水稻数据中心网站 (<https://www.ricedata.cn/gene/>) 对 2 年重复检测到的 QTL $qTN2-1$ 和 $qTN4$ 区间内的基因进行筛选和功能注释。结果

(表 3) 显示, $qTN2-1$ 位于第 2 染色体上 7.12~7.25 Mb 区域内, 该区间内注释到 11 个基因。根据双重测序进行 SNP 变异分析。结果 (图 3) 显示, 只有 $LOC_Os02g13410$ 、 $LOC_Os02g13420$ 、 $LOC_Os02g13450$ 和 $LOC_Os02g13520$ 在亲本间存在非同

表 2 利用重组自交系 (RIL) 群体鉴定控制分蘖数的数量性状基因座 (QTL)

Table 2 Identification of quantitative trait locus (QTL) affecting tiller number by using recombinant inbred lines (RIL) population

年份	QTL	染色体	标记区间	置信区间 (Mb)	LOD	贡献率 (%)	加性效应
2021	<i>qTN1-2</i>	1	<i>RBN1206~RBN1207</i>	37.91~38.01	3.78	1.48	-1.28
	<i>qTN2-1</i> *	2	<i>RBN1554~RBN1555</i>	7.12~7.25	3.96	7.58	1.24
	<i>qTN4</i> *	4	<i>RBN3418~RBN3419</i>	2.43~2.67	3.94	6.86	-5.63
	<i>qTN5-1</i>	5	<i>RBN4813~RBN4814</i>	9.90~9.92	5.07	2.31	1.53
	<i>qTN5-2</i>	5	<i>RBN5167~RBN5168</i>	0.63~20.77	2.96	4.40	-3.92
	<i>qTN6</i>	6	<i>RBN5797~RBN5798</i>	10.14~10.16	3.59	3.93	-5.65
	<i>qTN12-1</i>	12	<i>RBN11569~RBN11570</i>	8.08~8.13	2.98	4.41	-3.86
	<i>qTN12-3</i>	12	<i>RBN11882~RBN11883</i>	14.35~14.37	2.68	3.80	-4.93
	<i>qTN12-4</i>	12	<i>RBN11914~RBN11915</i>	14.91~14.94	3.50	3.58	-5.70
	<i>qTN12-5</i>	12	<i>RBN11917~RBN11918</i>	14.96~14.99	5.26	4.25	-4.99
2023	<i>qTN1-1</i>	1	<i>RBN0219~RBN0220</i>	6.41~6.43	4.08	4.65	-0.69
	<i>qTN2-1</i> *	2	<i>RBN1554~RBN1555</i>	7.12~7.25	7.14	6.45	0.71
	<i>qTN2-2</i>	2	<i>RBN1677~RBN1678</i>	10.57~10.61	5.36	4.73	0.70
	<i>qTN4</i> *	4	<i>RBN3418~RBN3419</i>	2.43~2.67	2.66	8.42	-2.39
	<i>qTN7-1</i>	7	<i>RBN6588~RBN6589</i>	1.44~1.50	9.14	8.39	0.81
	<i>qTN7-2</i>	7	<i>RBN6898~RBN6899</i>	9.56~9.60	3.76	8.68	-2.44
	<i>qTN11-1</i>	11	<i>RBN10499~RBN10500</i>	8.89~8.92	5.70	6.23	0.70
	<i>qTN11-2</i>	11	<i>RBN11209~RBN11210</i>	27.34~27.36	3.47	3.07	0.75
	<i>qTN12-2</i>	12	<i>RBN11792~RBN11793</i>	12.54~12.58	3.06	2.99	0.58

加性效应值为正值,表明增效等位基因来源于 TD70;加性效应值为负值,表明增效等位基因来源于 Kasalath。* 表示在 2 年间重复检测到的 QTL。LOD:对数概率比值。

表 3 重复检测到数量性状基因座 (QTL) 区间内基因的注释

Table 3 Gene annotations within the quantitative trait locus (QTL) interval detected repeatedly

数量性状基因座	染色体	物理区间 (Mb)	基因	基因功能注释
<i>qTN2-1</i>	2	7.12~7.25	<i>LOC_Os02g13360</i>	卤代酸脱卤酶 (HAD) 超家族水解酶
			<i>LOC_Os02g13370</i>	氧化应激 OXS3-LIKE 3 蛋白
			<i>LOC_Os02g13380</i>	早期结瘤素蛋白
			<i>LOC_Os02g13400</i>	表达蛋白
			<i>LOC_Os02g13410</i>	富含亮氨酸的重复序列蛋白
			<i>LOC_Os02g13420</i>	富含亮氨酸重复序列受体蛋白激酶
			<i>LOC_Os02g13430</i>	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶相关结构域蛋白
			<i>LOC_Os02g13450</i>	MEGL7-母源印记基因
			<i>LOC_Os02g13460</i>	受体类似蛋白激酶 2 前体
			<i>LOC_Os02g13510</i>	受体类似蛋白激酶 5 前体
<i>qTN4</i>	4	2.43~2.67	<i>LOC_Os04g05030</i>	富含丝氨酸的相对分子量为 25 000 的抗原蛋白
			<i>LOC_Os04g05050</i>	果胶裂解酶前体
			<i>LOC_Os04g05060</i>	细胞色素 P450 94A1
			<i>LOC_Os04g05070</i>	表达蛋白
			<i>LOC_Os04g05080</i>	酵母乙酸异戊酯水解酶和 V 型三磷酸腺苷 (V-ATP) 酶 F 亚基
			<i>LOC_Os04g05090</i>	表达蛋白
			<i>LOC_Os04g05360</i>	表达蛋白

义突变。*LOC_Os02g13410* 全长 2.76 kb, 编码富含亮氨酸的重复序列蛋白质, 该基因在 TD70 和 Kasalath 的编码区存在 8 处 SNP 变异, 其中包括编码序列 (CDS) + 157 bp (G/C)、CDS+261 bp (C/T)、CDS+1 954 bp (A/C) 等 6 处错义突变、1 处插入变异及 1 处剪接区域变异和内含子变异, 编码的氨基酸发生了相应变化 [谷氨酰胺 (Gln)/组氨酸 (His)、丙氨酸 (Ala)/苏氨酸 (Thr)、亮氨酸 (Leu)/缬氨酸 (Val)] (图 3A)。*LOC_Os02g13420* 全长 3.07 kb, 编码富含亮氨酸重复序列的受体蛋白激酶。亲本间编码区存在 CDS+477 bp (A/G)、CDS+485 bp (G/T)、CDS+1 343 bp (A/G) 等 8 处错义突变, 对应位置的氨基酸产生了替换 [异亮氨酸 (Ile)/缬氨酸 (Val)、精氨酸 (Arg)/丝氨酸 (Ser)、异亮氨酸 (Ile)/甲硫氨酸 (Met) 等], 此外还有 2 处移码突变和 1 处可能影响内含子剪切的变异 (图 3B)。*LOC_Os02g13450* 全长 1.92 kb, 注释为 MEGL7-母源印记基因, 亲本间编码区在 CDS+1 806 bp (C/A) 存在 1 处错义突变, 编码的氨基酸是脯氨酸变和谷氨酰胺的差异 (图 3C)。*LOC_Os02g13520* 全长 3.66 kb, 功能注释为 *OsIAA7*-生长素响应基因, 亲本间序列存在 5 处 SNP 变异, 包括 1 处 5'UTR 突变和 4 处错义突变, 其中, CDS+562 bp (A/C)、CDS+2 537 bp (G/T) 编码的氨基酸分别表现为天冬氨酸/丙氨酸和精氨酸/亮氨酸的变化 (图 3D)。

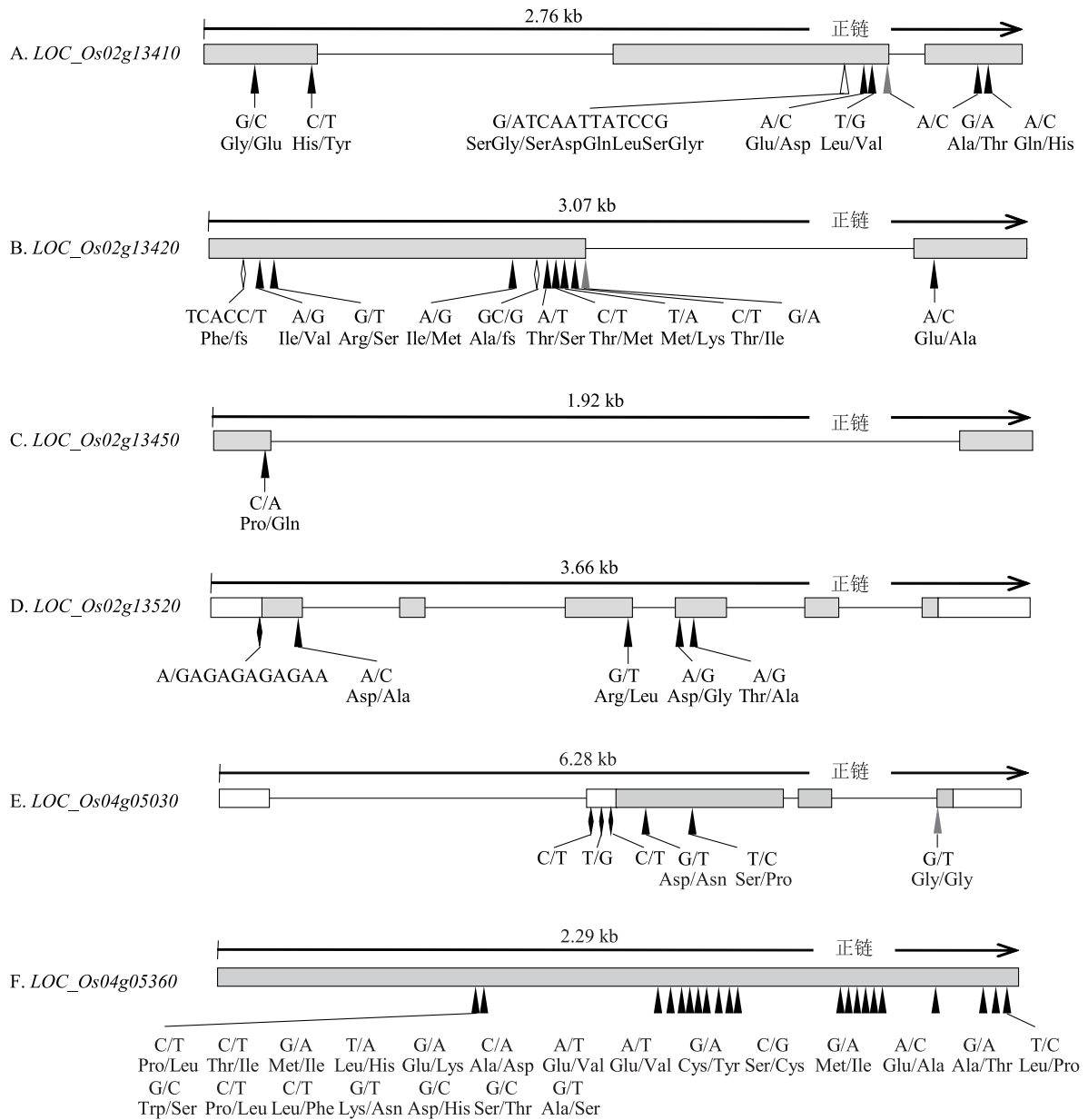
qTN4 位于第 4 染色体上 2.43~2.67 Mb 区域内, 功能注释结果显示, 该区间内有 7 个可能的候选基因。重测序分析发现, 只有 *LOC_Os04g05030* 和 *LOC_Os04g05360* 2 个基因在双亲间存在变异。*LOC_Os04g05030* 全长 6.28 kb, 编码富含丝氨酸的相对分子量为 25 000 的抗原蛋白质, 亲本间编码区在 4 188 bp 和 4 548 bp 2 个位点存在 2 处错义突变, 导致天冬氨酸/天冬酰胺、丝氨酸/脯氨酸的变化, 此外还有 3 处 5'UTR 突变和 1 处剪接区域变异和内含子变异 (图 3E)。*LOC_Os04g05360* 全长 2.29 kb, 编码未知的表达蛋白, 亲本间编码区变异较大, 有 21 处错义突变, 其中 1 处为 CDS+865 bp (C/T), 导致氨基酸由脯氨酸变为亮氨酸 (图 3G)。

qTN2-1 和 *qTN4* 位点连续 2 年被检测到, 对其定位区间进行基因功能注释和序列变异分析, 共发现 6 个功能基因的编码区在亲本间存在错义突变。根据这些基因 SNP 的类型对 RIL 群体进行等位型分类, SNP 位点核苷酸为亲本 TD70 型的命名为 HapA, 为

亲本 Kasalath 型的命名为 HapB。结果发现, *qTN2-1* 位点的 4 个候选基因可能是因为物理距离比较接近, 存在遗传连锁, 等位型完全一致。然后, 以 *LOC_Os02g13410* 基因的 CDS+210 bp (C/T) 变异为代表来区分群体不同株系的等位型。同时, 为更准确估算该位点的效应, 通过 SNP 等位型筛选剔除含有多个位点的株系, 确保筛选后的 RIL 株系只含有 *qTN2-1* 单一位点。最终, HapA 和 HapB 分别获得 6 个和 9 个株系, HapA 株系 2 年分蘖数平均值分别为 14.98 个、14.45 个, HapB 株系 2 年分蘖数平均值分别为 12.30 个和 11.61 个, 该位点 HapA 株系比 HapB 株系增加 2.00~3.00 个分蘖。统计分析结果显示, HapA 和 HapB 株系的分蘖数在 2021 年、2023 年分别存在显著、极显著差异, 说明该位点对分蘖数具有较大的影响 (表 4)。采用同样的方法分析 *qTN4* 位点的候选基因, 该位点的 2 个候选基因位于 2.43~2.67 Mb, 物理区间较小, 区间内未发现重组事件, 以 *LOC_Os04g05030* 基因 CDS+4 188 bp (G/T) 的 SNP 分析该位点等位型的效应, 结果显示, HapA 和 HapB 分别有 8 个和 13 个株系, 表型考察结果显示, 该位点能够增加 4~5 个分蘖。统计分析结果显示, 不同等位型株系的分蘖数呈现极显著差异, 暗示该位点与分蘖数关系密切 (表 4)。水稻数据中心对候选基因的表达分析结果显示, *LOC_Os02g13450* 仅在雌蕊花序等花器官中特异表达, *LOC_Os02g13520* 和 *LOC_Os04g05030* 基因在多个组织器官中表达, 尤其在根和茎中表达水平较高, 其他候选基因在各个组织器官中几乎不表达。前人研究表明, 生长素及其相关基因对水稻蘖芽的发育有重要的调控作用, 还可以诱导分蘖相关基因从而调控分蘖^[23-24]。本研究中 *LOC_Os02g13520* 基因编码 1 个生长素响应基因 *OsIAA7*, 推测其为 *qTN2-1* 位点最有可能的候选基因。*LOC_Os04g05030* 编码富含丝氨酸的相对分子量为 25 000 的抗原蛋白, 综合分析结果显示, 该基因最有可能为 *qTN4* 区间的候选基因。2 个候选基因对分蘖数的影响和作用机制需要进一步通过相关的分子遗传试验验证。

3 讨论

传统的 QTL 定位主要基于重复序列标记 (SSR)、限制性片段长度多态性 (RFLP) 等分子标记, 其定位精度为 1~10 Mb, 分子标记数目少、分布不均易造成部分重组位点的遗漏^[25-26], 影响 QTL 作



黑色框:外显子;灰色部分:编码序列;黑色箭头:错义突变;白色箭头:插入变异;白色菱形箭头:移码变异;灰色箭头:剪接区域变异和内含子变异;黑色菱形箭头:5'非翻译区(UTR)突变。图A中,Gly/Glu:甘氨酸/谷氨酸;His/Tyr:组氨酸/酪氨酸;SerGly/SerAspGlnLeuSerGly:丝氨酸甘氨酸/丝氨酸天冬氨酸谷氨酰胺亮氨酸丝氨酸甘氨酸;Glu/Asp:谷氨酸/天冬氨酸;Leu/Val:亮氨酸/缬氨酸;Ala/Thr:丙氨酸/苏氨酸;Gln/His:谷氨酰胺/组氨酸。图B中,Phe/fs:苯丙氨酸/移码突变;Ile/Val:异亮氨酸/缬氨酸;Arg/Ser:精氨酸/丝氨酸;Ile/Met:异亮氨酸/甲硫氨酸;Ala/fs:丙氨酸/移码突变;Thr/Ser:苏氨酸/丝氨酸;Thr/Met:苏氨酸/甲硫氨酸;Met/Lys:甲硫氨酸/赖氨酸;Thr/Ile:苏氨酸/异亮氨酸;Glu/Ala:谷氨酸/丙氨酸。图C中,Pro/Gln:脯氨酸/谷氨酰胺。图D中,Asp/Ala:天冬氨酸/丙氨酸;Arg/Leu:精氨酸/亮氨酸;Asp/Gly:天冬氨酸/甘氨酸;Thr/Ala:苏氨酸/丙氨酸。图E中,Asp/Asn:天冬氨酸/天冬酰胺;Ser/Pro:丝氨酸/脯氨酸;Gly/Gly:甘氨酸/甘氨酸。图F中,Pro/Leu:脯氨酸/亮氨酸;Thr/Ile:苏氨酸/异亮氨酸;Met/Ile:甲硫氨酸/异亮氨酸;Leu/His:亮氨酸/组氨酸;Glu/Lys:谷氨酸/赖氨酸;Ala/Asp:丙氨酸/天冬氨酸;Glu/Val:谷氨酸/缬氨酸;Glu/Val:谷氨酸/缬氨酸;Cys/Tyr:半胱氨酸/酪氨酸;Ser/Cys:丝氨酸/半胱氨酸;Met/Ile:甲硫氨酸/异亮氨酸;Glu/Ala:谷氨酸/丙氨酸;Ala/Thr:丙氨酸/苏氨酸;Leu/Pro:亮氨酸/脯氨酸;Trp/Ser:色氨酸/丝氨酸;Pro/Leu:脯氨酸/亮氨酸;Leu/Phe:亮氨酸/苯丙氨酸;Lys/Asn:赖氨酸/天冬酰胺;Asp/His:天冬氨酸/组氨酸;Ser/Thr:丝氨酸/苏氨酸;Ala/Ser:丙氨酸/丝氨酸。

图3 TD70与Kasalath之间候选基因的结构和非同义突变

Fig.3 Gene structure and non-synonymous mutation of candidate genes between TD70 and Kasalath

表 4 候选基因不同等位型效应分析

Table 4 Analysis of allelic effects of candidate genes

候选基因	年份	等位型	株系数 (个)	分蘖数变异范围 (个)	分蘖数平均值 (个)	P 值
<i>LOC_Os02g13410</i>	2021	HapA	6	13.0~18.6	14.98±2.14	
<i>LOC_Os02g13420</i>		HapB	9	10.0~13.8	12.30±1.38	0.010 1 *
<i>LOC_Os02g13450</i>	2023	HapA	6	13.3~15.6	14.45±0.82	
<i>LOC_Os02g13520</i>		HapB	9	9.2~13.5	11.61±1.65	0.000 8 **
<i>LOC_Os04g05030</i>	2021	HapA	8	12.8~15.0	13.93±0.84	
		HapB	13	15.7~21.8	19.28±1.73	0 **
<i>LOC_Os04g05360</i>	2023	HapA	8	11.5~15.5	13.78±1.54	
		HapB	13	15.9~21.5	18.28±1.74	0 **

** 表示差异达极显著水平 ($P < 0.01$) ; * 表示差异达显著水平 ($P < 0.05$)。单核苷酸多态性 (SNP) 位点核苷酸为亲本 TD70 型的命名为 HapA, 为亲本 Kasalath 型的命名为 HapB。

图的准确度。基于测序构建的高密度 Bin 图谱,可以构建速度快、成本低且分子标记密度高,对目标 QTL 定位更加精确的图谱。Huang 等^[20]通过高通量重测序构建了 150 个水稻重组自交系的遗传图谱,重组断点分辨率为 40 kb,将已知的“绿色革命”基因定位在 100 kb 区间内,比传统标记图谱定位更加快速且精确。Yang 等^[27]构建了包含 2 711 个 Bin 标记的高密度图谱,定位到 16 个与早期幼苗活力相关的位点。本研究定位使用的 Bin 图谱包含 12 328 个 Bin 标记,标记间平均物理距离为 30.26 kb^[18-19]。标记密度高因而对 QTL 位点的区分更加精细,如本研究中可以将 12 号染色体上 14.35~14.99 Mb 区间内 *qTN12-3*、*qTN12-4* 和 *qTN12-5* 3 个相邻的 QTL 有效区分。本实验室前期利用该图谱已经成功定位到多个粒型和抽穗期性状的相关 QTL 并进行了验证^[15-16]。可见,利用 Bin 图谱对目标性状 QTL 的定位更加可靠。

本研究利用高密度 Bin 遗传图谱,2 年共检测到 17 个水稻分蘖数相关的 QTL,通过与已报道的研究结果比较,发现 3 个位点与前人报道的位点重合或者包含已克隆调控分蘖数的基因。*qTN1-2* 位于第 1 染色体 37.91~38.01 Mb,该区域附近的 *OsAAP5* 基因可能通过影响细胞分裂素水平来调控分蘖芽的生长^[28]。Marri 等^[29]使用 251 个 BC₂ 测交株系构成的作图群体定位到 *nt5-1* 位点,该位点在 5 号染色体上 7.50~10.78 Mb 物理区间内,LOD 值为 2.53;进一步分析发现,该位点对分蘖数增加具有促进作用,物理位置覆盖了本研究的 *qTN5-1* 位点。Miyamoto 等^[30]使用来源于 IR36 和 Genjah Wangkal 杂交后代的 RIL 群体定位到的分蘖数相关 QTL 位于 19.91~22.90

Mb,LOD 值为 4.45,覆盖了本研究中的 *qTN5-2* 位点。

比较分析 2 年的 QTL 定位结果发现,有 2 个位点 (*qTN2-1* 和 *qTN4*) 在 2 年内均被检测到,说明这 2 个位点遗传较为稳定,且尚未见该区间内关于分蘖数的研究报道。生物信息分析结果显示,这 2 个区间内分别注释到 11 个和 7 个功能基因。进一步分析发现,*qTN2-1* 位点有 4 个基因,*qTN4* 位点有 2 个基因的基因组序列在双亲间存在多处变异,变异类型主要为碱基的替换、插入或缺失。对变异位点进行功能注释发现,这些变异通常会引起基因编码区氨基酸的变化、移码突变或者影响内含子的剪切,从而影响基因的功能。综合分析可见,*qTN2-1* 和 *qTN4* 候选区间内确实存在对水稻分蘖数有影响的重要基因。效应分析结果表明,*qTN2-1* 和 *qTN4* 这 2 个位点对水稻分蘖数有明显的影响,结合国家水稻数据中心数据对候选基因进行功能注释和表达模式等方面的综合分析,结果显示,*qTN2-1* 和 *qTN4* 位点最可能的候选基因是 *LOC_Os02g13520* 和 *LOC_Os04g05030*。目标基因的具体功能与调控分蘖数的分子机制还需要进一步的分子遗传试验验证与解析。

本研究通过高密度 Bin 遗传图谱定位到 2 个 2 年稳定遗传的 QTL 位点 *qTN2-1* 和 *qTN4*,并通过基因功能注释、SNP 变异位点分析与注释、等位型对分蘖数的效应评估等方面的分析,在 2 号和 4 号染色体上鉴定了 2 个最可能的候选基因。本研究结果有利于水稻分蘖数遗传与分子机制的进一步研究,并可能通过分子标记应用于育种工作。

参考文献:

- [1] 孙佳丽,彭既明,彭锐. 水稻分蘖基因研究进展[J]. 湖南农

- 业科学,2016(8):110-112,116.
- [2] LI X Y, QIAN Q, FU Z M, et al. Control of tillering in rice[J]. Nature,2003,422(6932):618-621.
- [3] XU C, WANG Y H, YU Y C, et al. Degradation of MONOCULM 1 by APC/C(TAD1) regulates rice tillering[J]. Nature Communications,2012,3:750.
- [4] LU Z F, SHAO G N, XIONG J S, et al. MONOCULM 3, an ortholog of WUSCHEL in rice, is required for tiller bud formation[J]. Journal of Genetics and Genomics,2015,42(2):71-78.
- [5] SHAO G N, LU Z F, XIONG J S, et al. Tiller bud formation regulators *MOC1* and *MOC3* cooperatively promote tiller bud outgrowth by activating *FON1* expression in rice[J]. Molecular Plant,2019,12(8):1090-1102.
- [6] MINAKUCHI K, KAMEOKA H, YASUNO N, et al. FINE CULM1 (FC1) works downstream of strigolactones to inhibit the outgrowth of axillary buds in rice[J]. Plant & Cell Physiology,2010,51(7):1127-1135.
- [7] YAO X, MA H, WANG J, et al. Genome-wide comparative analysis and expression pattern of *TCP* gene families in *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2007,49(6):885-897.
- [8] JIAO Y Q, WANG Y H, XUE D W, et al. Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice[J]. Nature Genetics,2010,42(6):541-544.
- [9] WANG Y X, SHANG L G, YU H, et al. A strigolactone biosynthesis gene contributed to the green revolution in rice[J]. Molecular Plant,2020,13(6):923-932.
- [10] LIU T Z, ZHANG X, ZHANG H, et al. Dwarf and high tillering1 represses rice tillering through mediating the splicing of D14 pre-mRNA[J]. The Plant Cell,2022,34(9):3301-3318.
- [11] ZHANG Y X, VAN DIJK A D J, SCAFFIDI A, et al. Rice cytochrome P450 MAX1 homologs catalyze distinct steps in strigolactone biosynthesis[J]. Nature Chemical Biology,2014,10(12):1028-1033.
- [12] LIU X, HU Q L, YAN J J, et al. ζ -carotene isomerase suppresses tillering in rice through the coordinated biosynthesis of strigolactone and abscisic acid[J]. Molecular Plant,2020,13(12):1784-1801.
- [13] ZHOU H, YANG M, ZHAO L, et al. High-tillering and dwarf 12 modulates photosynthesis and plant architecture by affecting carotenoid biosynthesis in rice[J]. Journal of Experimental Botany,2021,72(4):1212-1224.
- [14] LIU L H, REN M M, PENG P, et al. MIT1, encoding a 15-*Cis*- ζ -carotene isomerase, regulates tiller number and stature in rice[J]. Journal of Genetics and Genomics,2021,48(1):88-91.
- [15] LI Y, HE Y Z, LIU Z X, et al. OsSPL14 acts upstream of OsPIN1b and PILS6b to modulate axillary bud outgrowth by fine-tuning auxin transport in rice[J]. The Plant Journal,2022,111(4):1167-1182.
- [16] ZHANG Q, XIE J Y, ZHU X Y, et al. Natural variation in Tiller Number 1 affects its interaction with TIF1 to regulate tillering in rice[J]. Plant Biotechnology Journal,2023,21(5):1044-1057.
- [17] WEN R, ZHU M D, YU J M, et al. Photosynthesis regulates tillering bud elongation and nitrogen-use efficiency *via* sugar-induced NGR5 in rice[J]. New Phytologist,2024,243(4):1440-1454.
- [18] 张亚东,梁文化,赫磊,等.水稻RIL群体高密度遗传图谱构建及粒型QTL定位[J].中国农业科学,2021,54(24):5163-5176.
- [19] 赵凌,张勇,魏晓东,等.利用高密度Bin图谱定位水稻抽穗期剑叶叶绿素含量QTL[J].中国农业科学,2022,55(5):825-836.
- [20] HUANG X H, FENG Q, QIAN Q, et al. High-throughput genotyping by whole-genome resequencing[J]. Genome Research,2009,19(6):1068-1076.
- [21] MENG L, LI H H, ZHANG L Y, et al. QTL icimapping: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations[J]. The Crop Journal,2015,3(3):269-283.
- [22] MCCOUCH S R, CHO Y G, YANO M, et al. Report on QTL nomenclature[J]. Rice Genetics Newsletter,1997,14:11-13.
- [23] XU M, ZHU L, SHOU H X, et al. A *PINI* family gene, *OsPINI*, involved in auxin-dependent adventitious root emergence and tillering in rice[J]. Plant & Cell Physiology,2005,46(10):1674-1681.
- [24] LU G W, CONEVA V, CASARETTO J A, et al. OsPIN5b modulates rice (*Oryza sativa*) plant architecture and yield by changing auxin homeostasis, transport and distribution[J]. The Plant Journal,2015,83(5):913-925.
- [25] GOLICZ A A, BAYER P E, EDWARDS D. Skim-based genotyping by sequencing[J]. Methods in Molecular Biology,2015,1245:257-270.
- [26] YU H H, XIE W B, LI J, et al. A whole-genome SNP array (RICE6K) for genomic breeding in rice[J]. Plant Biotechnology Journal,2014,12(1):28-37.
- [27] YANG J, GUO Z H, LUO L X, et al. Identification of QTL and candidate genes involved in early seedling growth in rice *via* high-density genetic mapping and RNA-seq[J]. The Crop Journal,2021,9(2):360-371.
- [28] WANG J, WU B W, LU K, et al. The amino acid permease 5 (OsAAP5) regulates tiller number and grain yield in rice[J]. Plant Physiology,2019,180(2):1031-1045.
- [29] MARRI P R, SARLA N, REDDY L V, et al. Identification and mapping of yield and yield related QTLs from an Indian accession of *Oryza rufipogon*[J]. BMC Genetics,2005,6:33.
- [30] MIYAMOTO N, GOTO Y, MATSUI M, et al. Quantitative trait loci for phyllochron and tillering in rice[J]. Theoretical and Applied Genetics,2004,109(4):700-706.

(责任编辑:陈海霞)