

研究报告

A Letter

一个水稻长穗大粒特异种质的主效 QTL 检测和定位

郑燕[✉], 黄姗[✉], 李志勇[✉], 沈伟伟[✉], 郑秀娟[✉], 梁义元[✉], 吴为人[✉], 梁康迳[✉]

福建农林大学作物遗传育种与综合利用教育部重点实验室, 福州, 350002

✉ 通讯作者: wuwr@fjau.edu.cn; liangkj_2005@126.com ✉ 作者

分子植物育种, 2011 年, 第 9 卷, 第 13 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0013

收稿日期: 2011 年 02 月 12 日

接受日期: 2011 年 02 月 14 日

发表日期: 2011 年 02 月 22 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式:

郑燕等, 2011, 一个水稻长穗大粒特异种质的主效 QTL 检测和定位, 分子植物育种 Vol.9 No.13 (doi: 10.5376/mpb.cn.2011.09.0013)

摘要 穗长和粒形是水稻的重要农艺性状, 直接影响稻谷的产量和品质。LPBG08 是我们培育的一个长穗大粒特异种质。本研究通过建立 LPBG08 与粳稻品种日本晴杂交的 F₂ 群体, 利用 SSR 标记, 对控制穗长、粒长和粒宽的主效 QTL 进行了检测和定位。结果在第 1 染色体上定位到 1 个粒宽 QTL (*qGB1*), 位于 RM259 和 RM575 之间; 在第 3 染色体上定位到 1 个粒长的 QTL (*qGL3*) 和 2 个穗长的 QTL (*qPL3-1* 和 *qPL3-2*), 分别位于 RM3856 和 RM6329、RM6329 和 SRM3-2 以及 RM15861 和 RM15932 之间。这些 QTL 的加性效应对表型变异的贡献率在 10.5%~18.8% 之间。本研究结果为这些 QTL 的育种利用及其精细定位和克隆提供了科学依据。

关键词 水稻; 穗长; 粒长; 粒宽; QTL

Detection and Mapping of Major QTLs in a Long-panicle-big-grain Special Germplasm of Rice (*Oryza sativa* L.)

Zheng Yan[✉], Huang Shan[✉], Li Zhiyong[✉], Shen Weiwei[✉], Zheng Xiujuan[✉], Liang Yiyuan[✉], Wu Weiren[✉], Liang Kangjing[✉]

Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Crops, Fujian Agriculture & Forestry University, Fuzhou, Fujian, 350002, P.R. China

✉ Corresponding author, wuwr@fjau.edu.cn; liangkj_2005@126.com; ✉ Authors

Abstract Panicle length and grain shape are important agronomic traits in rice, which directly affects grain yield. LPBG08 is a long-panicle-big-grain special rice germplasm bred by us. In this study, we detected and mapped major QTLs underlying panicle length, grain length and grain breadth by constructing an F₂ population of the cross between LPBG08 and a japonica rice cultivar Nipporbare and utilizing SSR markers. As a result, a QTL for grain breadth (*qGB1*) was mapped between RM259 and RM575 on chromosome 1; a QTL for grain length (*qGL3*) and two QTLs for panicle length (*qPL3-1* and *qPL3-2*) were mapped between RM3856 and RM6329, RM6329 and SRM3-2, and RM15861 and RM15932 on chromosome 3, respectively. The additive effects of these QTLs explained 10.5%~18.8% phenotypic variance. These results will facilitate the breeding utilization and fine mapping and cloning of these QTLs.

Keywords Rice (*Oryza sativa* L.); Panicle length; Grain length; Grain breadth; QTL

研究背景

水稻(*Oryza sativa* L.)是重要的粮食作物之一。籽粒大小、形状和穗长是水稻的重要农艺性状, 它们直接影响稻谷的产量和品质(石春海等, 1994; 李国鹏等, 1997; Rao et al., 1997)。利用分子标记技术, 前人对控制水稻粒形(粒长, 粒宽, 粒厚, 长宽比)、粒重和穗长的数量性状基因座(QTL)进行了大量的定位研究, 定位了许多QTL(林鸿宣等, 1996; Wu et

al., 1996; Xiao et al., 1996; Huang et al., 1997; Redona and Mackill, 1998; Tan et al., 2000; 刑永忠等, 2001; 方萍等, 2002; 林荔辉等, 2003; Hittalmani et al., 2003; Rabiei et al., 2004; 马丽莲等, 2006; Fan et al., 2006; Wang et al., 2006; 叶少平等, 2007; Song et al., 2007; Ahmadi et al., 2008)。这些研究成果为水稻分子标记辅助育种提供了理论依据。

在QTL定位研究中, 通常总希望能够尽可能将

所有的QTL都定位出来。但在育种实践中, 要同时对许多QTL进行选择是十分困难的, 缺乏可操作性。好在已有的研究表明, 每个数量性状通常都存在几个主效QTL, 它们往往能够解释大部分的遗传变异。因此, 从育种角度出发, 检测和定位主效QTL更有实际意义。而从理论上讲, 主效QTL不仅更容易研究, 而且可能更有助于对目标性状分子遗传机理的理解。目前已有2个控制粒长的主效QTL (*LK-4*和*gl-3*)和2个控制粒重的主效QTL (*gw3.1*和*gw3.8*)被精细定位(Zhou et al., 2006; Wang et al., 2006; Li et al., 2004; Xie et al., 2006); 有2个控制粒长和粒重的主效QTL (*GS3*和*GW2*)被克隆, 它们分别编码一种跨膜蛋白和RING-type E3泛素连接酶(Fan et al., 2006; Song et al., 2007)。

在遗传研究中, 特殊的种质往往具有重要的价值。选择极端类型的材料作为杂交亲本, 更有利于发现主效QTL。我们自1995年起引进国际水稻所新株型水稻品系, 通过杂交、复交和辐射等育种手段, 获得一批长穗大粒特异种质。这些种质对研究水稻穗粒形态性状的遗传基础无疑是十分有用的。本研究对一个长穗大粒特异种质LPBG08中控制穗长、粒长和粒宽的主效QTL进行检测和定位, 以期水稻穗粒性状的分子标记辅助育种和分子遗传研究奠定基础。

1结果与分析

亲本LPBG08的穗长接近46 cm, 粒长达15.0 mm, 粒宽达4.1 mm, 是一个典型的长穗大粒的品系, 与另一个亲本日本晴之间存在很大的差异(图1)。F₂中3个性状皆出现广泛的分离, 并存在超亲遗传的现象, 但都表现为连续变异, 接近正态分布(图1)。说明尽管两亲本间差异很大, 3个性状仍表现为典型的数量遗传。

用1 039对SSR引物对两亲本进行检测, 共筛选到265对多态引物, 比例为25.5%。用多态引物对各对DNA池进行检测, 结果位于1号染色体上的RM572在宽粒池与窄粒池之间表现多态; 位于3号染色体上的RM448在长穗池与短穗池之间及长粒池与短粒池之间均表现多态。故推测在这2个标记附近分别存在控制粒宽和穗长及粒长的QTL。于是基于所构建的局域连锁图, 共定位了4个QTL(图2,

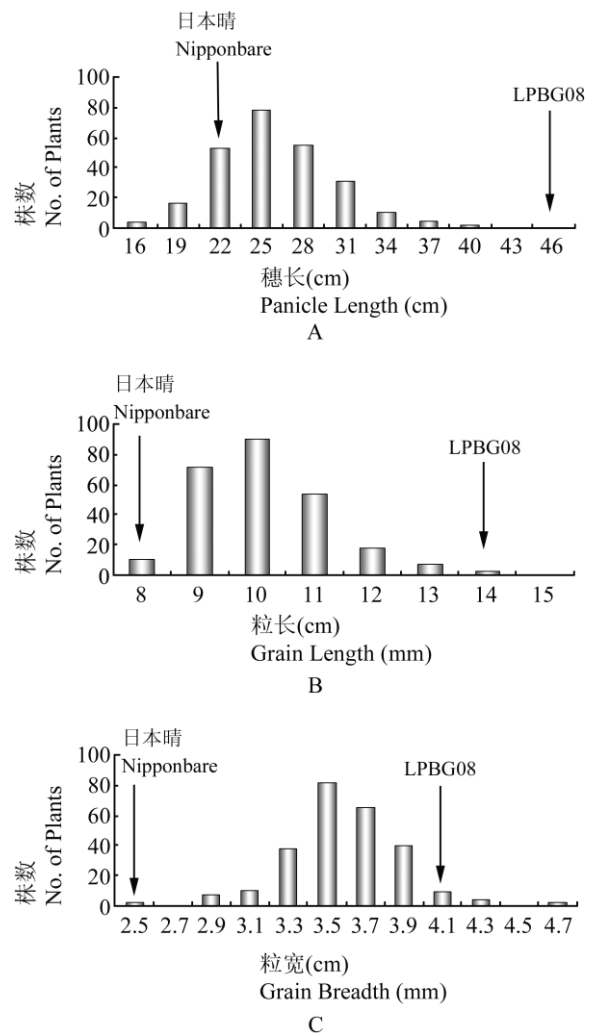


图1 F₂群体中穗长、粒长和粒宽的频率分布
注: 箭头所指为亲本的均值; A: 穗长; B: 粒长; C: 粒宽
Figure 1 Frequency distributions of panicle length, grain length and grain breadth in the F₂ population
Note: Arrows indicate the mean values of the parents; A: Panicle length; B: Grain length; C: Grain breadth

表1), 其中在1号染色体上定位到1个控制粒宽的主效QTL (*qGB1*), 在3号染色体上分别定位到1个控制粒长QTL (*qGL3*)和2个控制穗长的QTL (*qPL3-1*和*qPL3-2*)。所有QTL的增效基因都来自于LPBG08, 且加性效应对表型变异的贡献率都超过10%, 其中*qGL3*和*qPL3-1*的贡献率较大。但*qGL3*和*qPL3-1*的显性效应都不明显, 说明这2个QTL主要表现为加性作用模式。*qGB1*和*qPL3-2*则表现出明显的显性效应, 其中*qGB1*表现为完全显性(显性度为1.13), 显性方向为增效; 而*qPL3-2*表现为超显性(显性度为

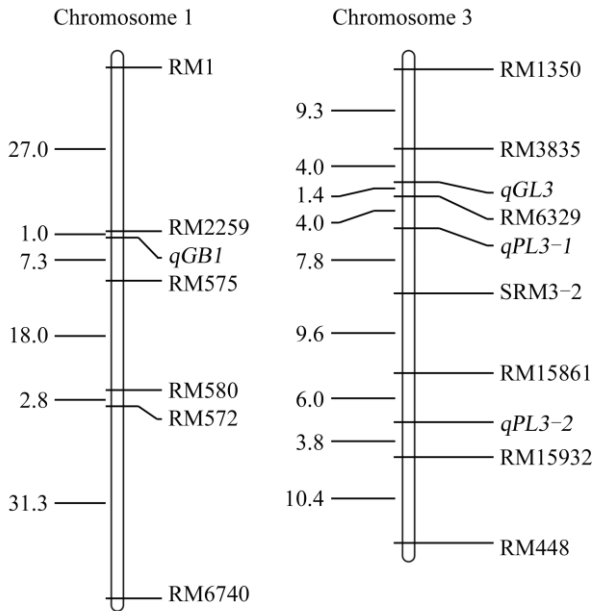


图2 水稻1号和3号染色体局域连锁图及QTL定位结果
Figure 2 Local linkage map and QTL mapping results on chromosomes 1 and 3 of rice

表1 穗长、粒长和粒重的QTL定位结果

Table 1 Results of QTL mapping for panicle length, grain length and grain breadth

QTL	染色体 Chromosome	位置 Position	F 值 F value	加性效应 Additive effect	R ² (%)	显性效应 Dominance effect	R ² (%)
<i>qGB1</i>	1	RM259—RM575	7.0	0.13	10.5	0.15	7.37
<i>qGL3</i>	3	RM3856—RM6329	14.5	0.78	18.8	0.13	0.28
<i>qPL3-1</i>	3	RM6329—SRM3-2	13.8	1.90	17.4	0.35	0.78
<i>qPL3-2</i>	3	RM15861—RM15932	14.3	0.92	13.4	-2.11	4.56

有关水稻粒形、穗长的QTL定位研究已有不少报道。在水稻第3染色体上已精细定位了2个和克隆了1个控制粒长的主效QTL, 即*gl-3* (Wan et al., 2006)、*LK-4* (Zhou et al., 2006)和*GS3* (Fan et al., 2006)。从位置上看, 这3个QTL与本研究定位到的*qGL3*皆不等位, 因此, *qGL3*有可能是一个新的QTL。在1号染色体上, 标记C161和R753之间及RG810和RG331之间曾初步定位到2个控制粒宽的QTL (Tan et al., 2000; Huang et al., 1997), 但其位置皆与本研究定位到的*qGB1*不同。所以, *qGB1*也可能是一个新的QTL。目前已定位了40多个控制水稻穗长的QTL (Wu et al., 1996; Xiao et al., 1996; 林鸿宣等, 1996; 刑永忠等, 2001; 方萍等, 2002; 叶少平等, 2007; Hittalmani et al., 2003; Ahamadi et al., 2008), 与本研究定位到的2个穗长QTL都不相同, 且还未见水稻穗长QTL精细定位和克隆的报道。因

2.29), 显性方向为减效。

2讨论

混合分离分析(bulked segregant analysis, BSA)是一种可以在尚未构建遗传连锁图谱的情况下快速定位目标基因的有效方法, 已得到广泛的应用。虽然BSA法最初是针对质量性状的基因定位而提出的(Michelmore et al., 1991), 但实践证明, 它也能用于QTL定位(Tang et al., 2000)。不过, BSA法的灵敏度较低, 因此一般只能检测到效应较大的主效QTL。根据这个特点, 在本研究中, 我们将BSA法应用于水稻穗长、粒长和粒宽主效QTL的定位, 证明了其可行性。如前所述, 主效QTL对育种而言更具有应用价值。因此, 从育种需要出发, 利用BSA法并结合局域遗传图谱的构建, 快速检测和定位主效QTL, 不失为一项十分有价值的基础工作和一个非常有效的研究方法。

此, *qPL3-1*和*qPL3-2*应该也是新的QTL。特别值得关注的是, 这2个QTL相互连锁, 距离较近(图2), 二者的加性效应对表型变异的贡献率之和达30.84% (表1)。因此, 这2个QTL在育种上具有很好的应用潜力, 而且在理论上也是值得深入研究的。另外, *qGL3*和*qPL3-1*定位在相邻的标记区间上, 二者之间距离很近, 仅为5.4 cM (图2), 在误差范围内。因此, 二者有可能是同一个QTL, 它对粒长和穗长表现出多效性。而且, 它对粒长和穗长的效应都很大, 并且都表现为加性效应的模式, 基本没有显性效应(表1)。因此看来, 这个QTL在育种上应有较大的利用价值。

3材料与方法

3.1水稻材料、田间种植和性状调查

供试水稻材料包括LPBG08 (偏籼型长穗大粒

品系)、日本晴(粳稻品种)以及“日本晴×LPBG08”的F₂群体(共248株)。水稻材料种植于福建农林大学作物科学学院莆田杂交水稻育种基地。生长期管理同一般大田, 无病虫害发生。成熟时先测量各株主穗长, 然后按单株收获种子, 测量各株的粒长和粒宽。粒长(粒宽)的测量方法为: 随机取10粒饱满谷粒, 首尾相接(肩并肩)排列, 测量总长度(宽度)并除以10, 重复一次, 求两次的平均值。

3.2 水稻DNA的提取和SSR标记分析

剪取亲本及F₂单株的新鲜叶片, 用改进的CTAB法(Murray and Thompson, 1980)提取DNA。从Gramene网站(<http://www.gramene.org>)获得SSR标记引物序列, 一个新开发的标记SRM3-2的序列为: F: 5'-TGATTCCTTATGAGGCGACAA-3', R: 5'-GCCTTTCCACGTCCTTACAA-3', 所有标记由上海生物工程有限公司合成。采用20 μL的PCR反应体系, 含20-50 ng DNA模板, 10 mmol/L Tris-HCl, 50 mmol/L KCl, 0.1% Triton X-100, 1.8 mmol/L MgCl₂, 0.1 mmol/L dNTP, 0.2 μmol/L (R+F)引物, 1 U *Taq*酶。PCR在PTC-100扩增仪上进行, 程序为: 94℃预变性4 min; 94℃ 1 min, 55℃ 1 min, 72℃ 1 min, 30个循环; 最后72℃延伸10 min。PCR产物在6%的聚丙烯酰胺非变性胶上进行分离, 银染显带。

3.3 QTL检测和定位

在F₂群体中选取极端长穗、极端短穗、极端长粒、极端短粒、极端宽粒和极端窄粒的植株各10株, 分别将各类型的10株DNA等量混合, 建立3对(长穗对短穗、长粒对短粒、宽粒对窄粒) DNA池。以两亲本为对照, 用SSR标记检测各对DNA池之间的多态性, 表现多态的SSR标记即可能与相应性状的QTL存在连锁。进一步用筛选到的多态SSR标记及其附近的SSR标记对F₂群体各单株进行基因型分析。利用MapMaker/Exp 3.0软件构建目标区域的遗传连锁图, 用Kosambi函数把重组值转换为遗传距离。利用所构建的遗传连锁图谱, 结合性状表型数据, 应用QTLNetwork 1.0软件(Yang et al, 2008)进行QTL定位分析, 各参数均采用软件的默认设置。QTL的命名遵循McCouch等(1997)建议的命名法。

作者贡献

郑燕、黄姗及李志勇是本研究的实验设计和实验研究

的执行人; 郑燕、黄姗完成数据分析, 论文初稿的写作; 沈伟伟、郑秀娟及梁义元参与实验设计、实验结果分析; 吴为人、梁康迺是项目的构思者及负责人, 指导实验设计、数据分析、论文写作和修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由福建省自然科学基金项目(项目编号: 2009J05051), 教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目(项目编号: 20093515120002), 中国博士后科学基金第47批面上—一等资助项目(项目编号: 20100470039)共同资助。

参考文献

- Ahamadi J., Fotokian M.H., and Fabriki-Orang S., 2008, Detection of QTLs influencing panicle length, panicle grain number and panicle grain sterility in rice (*Oryza sativa* L.), *J. Crop. Sci. Biotech.*, 11(3): 163-170
- Fan C., Xing Y., Mao H., Lu T., Han B., Xu C., Li X., and Zhang Q., 2006, *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encode a putative transmembrane protein, *Theor. Appl. Genet.*, 112: 1164-1171
- Fang P., Ji T.W., Tao Q.N., and Wu P., 2002, Detecting QTLs for rice panicle length under two nitrogen levels, *Zhongguo Nongye Kexue (Chinese J. Rice Sci.)*, 16(2): 176-178 (方萍, 季天委, 陶勤南, 吴平, 2002, 两种供氮水平下水稻穗长QTLs的检测, *中国水稻科学*, 16(2): 176-178)
- Hittalmani S., Huang N., Courtois B., Venuprasad R., Shashidhar H.E., Zhuang J.Y., Zheng K.L., Liu G.F., Wang G.C., Sidhu J.S., Srivantaneeyakul S., Singh V.P., Bagali P.G., Prasanna H.C., McLaren G., and Khush G.S., 2003, Identification of QTL for growth- and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia, *Theor. Appl. Genet.*, 107: 679-690
- Huang N., Parco A., Mew T., Magpantay G., McCouch S., Guiderdoni E., Xu J., Subudhi P., Angeles E.R., and Khush, 1997, RFLP mapping of isozymes, RAPD and QTLs for grain shape, brown planthopper resistance in a doubled haploid rice population, *Molecular Breeding*, 3: 105-113
- Li G.P., Guo J.F., Tang N., and He A.R., 2007, Study on correlation of quality characters and between quality characters and agronomic characters of hybrid rice, *Anhui Nongye Kexue (Journal of Anhui Agri. Sci.)*, 35(35): 11439-11440 (李国鹏, 郭建夫, 汤能, 何蔼如, 2007, 杂

交水稻品质性状间及品质性状与农艺性状间相关性研究, 安徽农业科学, 35(35): 11439-11440)

- Li J., Thomson M., and McCouch S.R., 2004, Fine mapping of a grain-weight quantitative trait locus in the pericentromeric region of rice chromosome 3, *Genetics*, 168: 2187-2195
- Lin H.X., Zhuang J.Y., Qian H.R., Lu J., Min S.K., Xiong Z.M., Huang N., and Zheng K.L., 1996, Mapping QTLs for plant height and its components by molecular markers in rice (*Oryza sativa* L.), *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 22(3): 257-263 (林鸿宣, 庄杰云, 钱惠荣, 陆军, 闵绍楷, 熊振民, 黄宁, 郑康乐, 1996, 水稻株高及其构成因素数量性状基因座位的分子标记定位, 作物学报, 22(3): 257-263)
- Lin L.H., and Wu W.R., 2003, Mapping of QTLs underlying grain shape and grain weight in rice, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 1(3): 337-342 (林荔辉, 吴为人, 2003, 水稻粒型和粒重的QTL定位分析, 分子植物育种, 1(3): 337-342)
- Ma L.L., Guo L.B., and Qian Q., 2006, Germplasm resources and genetic analysis of large grain in rice, *Zhiwuxue Tongbao (Chinese Bulletin of Botany)*, 23(4): 395-401 (马丽莲, 郭龙彪, 钱前, 2006, 水稻大粒种质资源和遗传分析, 植物学通报, 23(4): 395-401)
- McCouch S.R., Cho Y.G., Yano M., Paul E., Blinstrub M., Morishima H. and Kinoshita T., 1997, Report on QTL nomenclature, *Rice Genetics Newsletters*, 14: 11
- Michelmore R.W., Raranand I. and Kessali R.V., 1991, Identification of markers linked to disease resistance gene by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions using segregating populations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 9829-9832
- Murray M.G. and Thompson W.F., 1980, Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, *Nucl. Acids. Res.*, 8: 4321-4325
- Rabiei B., Valizadeh M., Ghareyazie B., Moghaddam M., and Ali A.J., 2004, Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers, *Euphytica*, 137(3): 325-332
- Rao S.A., Khan M.A., McNeilly T., and Khan A.A., 1997, Cause and effect relations for yield component in rice (*Oryza sativa* L.), *J. Genet. Breed*, 51: 1-5
- Redona E.D., and Mackill D.J., 1998, Quantitative traits locus analysis for rice panicle and grain characteristics, *Theor. Appl. Genet.*, 96: 957-963
- Shi C.H., and Zhu J., 1994, Correlations analysis of rice exterior quality traits and other traits in *indica* rice, *Zhejiang Nongye Daxue Xuebao (Journal of Zhejiang Agricultural University)*, 20(6): 606-610. (石春海, 朱军, 1994, 籼稻稻米外观品质与其他品质性状的相关性分析, 浙江农业大学学报, 20(6): 606-610)
- Song X.J., Huang W., Shi M., Zhu M.Z., and Lin H.X., 2007, A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E2 ubiquitin ligase, *Nature Genetics*, 39(5): 623-630
- Tan Y.F., Xing Y.Z., Li J.X., Yu S.B., Xu C.G., and Zhang Q., 2000, Genetic bases of appearance quality of rice grains in Shanyou 63, an elite rice hybrid, *Theor. Appl. Genet.*, 101: 823-829
- Tang D., Wu W., Li W. and Worland A.J., 2000, Mapping of QTLs conferring resistance to bacterial leaf streak in rice, *Theor. Appl. Genet.*, 101: 286-291
- Wang X.Y., Wan J.M., Jiang L., Wang J.K., Zhai H.Q., Weng J.F., Wang H.L., Lei C.L., Wang J.L., Zhang X., Cheng Z.J., and Guo X.P., 2006, QTL analysis for rice grain length and fine mapping of an identified QTL with stable and major effects, *Theor. Appl. Genet.*, 112: 1258-1270
- Wu P., Zhang G., and Huang N., 1996, Identification of QTLs controlling quantitative characters in rice using RFLP markers, *Euphytica*, 89(3): 349-354
- Xiao J., Li J., Yan L., and Tanksley S.D., 1996, Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross, *Theor. Appl. Genet.*, 92: 230-244
- Xie X., Song M.H., Jin F., Ahn S., Suh J.P., Hwang H.G., and McCouch S.R., 2006, Fine mapping of a grain weight quantitative trait locus on rice chromosome 8 using nearisogenic lines from a cross between *Oryza sativa* and *Oryza rufipogon*, *Theor. Appl. Genet.*, 113(5): 885-894
- Xing Y.Z., Xu C.G., Hua J.P., and Tan Y.F., 2001, Analysis of QTL×environment interaction for rice panicle characteristics, *Yichuan Xuebao (Acta Genetica Sinica)*, 28(5): 439-446 (刑永忠, 徐才国, 华金平, 谈移芳, 2001, 水稻穗部性状的QTL与环境互作分析, 遗传学报, 28(5): 439-446)
- Yang J., Hu C.C., Hu H., Yu R.D., Xia Z., Ye X.Z., and Zhu J., 2008, QTLNetwork: mapping and visualizing genetic architecture of complex traits in experimental populations, *Bioinformatics*, 24(5): 721-723
- Ye S.P., Zhang Q.J., Li J.Q., Zhao B., Yin D.S., and Li P., 2007, Mapping of quantitative trait loci for six agronomic traits of rice in Pei'ai 64S/Nipponbare F₂ population, *Zhongguo Nongye Kexue (Chinese J. Rice Sci.)*, 21(1): 39-43 (叶少

平, 张启军, 李杰勤, 赵兵, 殷得所, 李平, 2007, 用培矮64S/日本晴F₂群体对水稻6个农艺性状的QTL定位, 中国水稻科学, 21(1): 39-43)

Zhou L.Q., Wang Y.P., and Li S.G., 2006, Genetic analysis and physical mapping of *Lk-4(t)*, a major gene controlling grain length in rice, with a BC₂F₂ population, Acta Genetica sinica, 33(1): 72-79



5thPublisher是一个致力于科学与文化传播的中文出版平台

在5thPublisher上发表论文, 任何人都可以免费在线取阅您的论文

- ※同行评审, 论文接受严格的高质量的评审
- ※在线发表, 论文一经接受, 即刻在线发表
- ※开放取阅, 任何人都可免费取阅无限使用
- ※快捷搜索, 涵盖谷歌学术搜索与知名数据库
- ※论文版权, 作者拥有版权读者自动授权使用

在线投稿: <http://5th.sophiapublisher.com>