DOI: 10.3724/SP.J.1006.2020.92022

研究简报

增加穗粒数的水稻染色体代换系 Z747 鉴定及相关性状 QTL 定位

王大川 汪 会 马福盈 杜 婕 张佳宇 徐光益 何光华 李云峰
凌英华 赵芳明*

西南大学水稻研究所 / 西南大学农业科学研究院, 重庆 400715

摘 要: 增加穗粒数对水稻高产品种培育至关重要。其遗传基础复杂, 由多基因控制。水稻染色体片段代换系可以将多基因控制的复杂性状分解, 因而是理想的遗传研究材料。本研究通过高代回交和自交结合分子标记辅助选择方法, 鉴定了一个以日本晴为受体、西恢 18 为供体亲本的、含有 15 个代换片段的增加穗粒数的水稻染色体片段代换系 Z747, 平均代换长度为 4.49 Mb。与受体日本晴相比, Z747 的每穗总粒数、一次枝梗数、二次枝梗数、穗长和粒长显著增加, 粒宽显著变窄、结实率显著降低, 但结实率仍为 81%。进一步以日本晴和 Z747 杂交构建的次级 F₂ 群体鉴定出 46 个相关性状的 QTL, 分布于水稻 1 号、2 号、3 号、5 号、6 号、9 号、11 号和 12 号染色体上。其中 *qGPP12*、*qPH-3-1*、*qPH-3-2* 等 12 个 QTL 可能与已克隆的基因等位, *qSPP9* 等 34 个可能是新鉴定的 QTL。Z747 的每穗总粒数由 2 个具有增加粒数效应的 QTL (*qSPP3* 和 *qSPP5*) 和 1 个具有减少粒数效应的 QTL (*qSPP9*) 控制。研究结果对主效 QTL 的精细定位和克隆、以及有利基因的单片段代换系培育有重要意义。

关键词: 水稻; 染色体片段代换系; 粒数; QTL 定位

Identification of rice chromosome segment substitution Line Z747 with increased grain number and QTL mapping for related traits

WANG Da-Chuan, WANG Hui, MA Fu-Ying, DU Jie, ZHANG Jia-Yu, XU Guang-Yi, HE Guang-Hua, LI Yun-Feng, LING Ying-Hua, and ZHAO Fang-Ming*

Rice Research Institute, Southwest University / Academy of Agricultural Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Increasing grain number per panicle is important for rice breeding for high yield. Its inheritance is very complex and controlled by many genes. Chromosome segment substitution lines can dissect complex traits controlled by many genes, and thus are ideal genetic research materials. Here, an excellent rice chromosome segment substitution line Z747 with increased grain number was identified from recipient Nipponbare and donor Xihui 18 through advanced backcrossing and inbreeding combined SSR marker-assisted selection. Z747 carried fifteen substitution segments with 4.49 Mb of average length. Compared with Nipponbare, Z747 had significantly increased spikelet number per panicle, number of primary branches, number of secondary branches, panicle length and grain length, and decreased grain width and seed setting rate. However, the seed setting rate in Z747 was still up to 81%. Furthermore, secondary F₂ population from crosses between Nipponbare and Z747 was used to map QTL for related traits. A total of 46 QTLs distributed on chromosomes 1, 2, 3, 5, 6, 9, 11, and 12 were detected. Among them, 12 QTLs such as *qGPP12*, *qPH-3-1*, and *qPH-3-2* etc. might be alleles of cloned genes, and the remaining 34 QTLs such as *qSPP9* etc. might not be identified in the past. The spikelet number per panicle of Z747 was mainly controlled by two QTLs (*qSPP3* and *qSPP5*) with effects of increasing spikelet number and one (*qSPP9*) with decreasing effects. These results are important for fine mapping and cloning of major QTL, and developing single-segment substitution lines carrying favorable QTLs.

Keywords: rice; chromosome segment substitution lines; grain number; QTL mapping

本研究由国家重点研发计划项目(2017YFD0100202), 重庆市科委主题专项(CSTC, 2016shms-ztxx0017)和西南大学基本业务费专项创新团队项目(XDJK2017A004)资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China (2017YFD0100202), the Project of Chongqing Science & Technology Commission (CSTC, 2016shms-ztxx0017), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (XDJK2017A004).

* 通信作者(Corresponding author): 赵芳明, E-mail: zhaofangming2004@163.com

第一作者联系方式: E-mail: wangdachuan6@163.com

Received (收稿日期): 2019-04-15; Accepted (接受日期): 2019-08-09; Published online (网络出版日期): 2019-09-11.

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20190910.1521.014.html>

水稻是世界上最重要的粮食作物之一^[1], 提高水稻产量以保障世界粮食安全刻不容缓。水稻产量主要由穗数、粒数、粒重和结实率构成。每穗粒数由穗长、一次枝梗和二次枝梗数决定^[2], 所以增加每穗粒数是提高水稻产量的途径之一。然而粒数属于数量性状, 由多基因控制。水稻染色体片段代换系可将多位点控制的复杂性状分解, 使 QTL 定位更加准确, 尤其定位出的 QTL 可直接应用于育种实践, 因而是理想的遗传材料。到目前为止, 已经克隆了许多与水稻粒数相关的基因。其中一些涉及细胞分裂素、生长素和茉莉酸等激素信号途径。如 *Gn1a* (*Grain number 1a*)^[3] 表达量降低引起花序分生组织中细胞分裂素的积累, 从而增加水稻粒数。*GNP1* (*Grain Number per Panicle 1*)^[4] 通过增加水稻穗分生组织中的细胞分裂素活性, 提高籽粒数目和产量。*An-1* (*Awn-1*)^[5] 基因表达上调会引起一个重要的细胞分裂素调控基因 *LOG* 的表达下调, 使分生组织的活性降低, 减少每穗粒数。*OsGRF6*^[6] 能与 *OsTAWAWA1* 及 *OsMADS34* 启动子结合, 正调控生长素的生物合成和信号转导, 促进花序发育, 增加穗粒数。*PAY1* (*Plant Architecture and Yield 1*)^[7] 通过影响生长素极性运输和改变内源吲哚-3-乙酸的分布改善水稻株型, 进而增加水稻穗粒数。*NOG1* (*NUMBER OF GRAINS 1*)^[8] 启动子区域 12 bp 的插入使其表达增强, 降低植物体内脂肪酸和茉莉酸水平, 增加水稻穗粒数。也有一些基因通过其他途径调控水稻粒数发育。如 *GSN1* (*Grain Size and Number 1*)^[9] 编码双特异性磷酸酶使 *OsMPK6* 去磷酸化, *GSN1-MAPK* 模块通过整合细胞定域分化和增殖来协调籽粒数和大小之间的平衡关系。*Ghd7* (*Grain number, plant height, and heading data7*)^[10] 基因编码 CCT 结构域蛋白家族成员, 其表达和功能受光周期调控, 在长日照条件下, 该基因的表达增强使稻穗变大和粒数增多。*OsCOL13*^[11] 是一个转录因子, 其表达受节律钟的调控和光的诱导, 引起一次枝梗数、二次枝梗数和每穗粒数增加。此外, 还有一些未被克隆的粒数相关 QTL, 如 *qGN4-1*^[12]、*qSSP7*^[13]、*SPPI*^[14] 等。近年来, 还相继发现多花小穗基因 *fon4*^[15] 和 *LFI*^[16], 使得水稻具有形成多花小穗的潜力, 为水稻粒数的增加提供了一条新的可能途径。然而, 目前克隆的基因仍不能完全解释水稻粒数发育的分子机制, 因此有必要鉴定更多粒数相关基因。本研究鉴定了一个以日本晴为受体亲本、西恢 18 为供体亲本的增加穗粒数的水稻染色体片段代换系 Z747, 本文将全面分析该代换系, 并进行水稻粒数等重要农艺性状的 QTL 定位, 为发现增加每穗粒数的 QTL 奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

增加穗粒数的水稻染色体片段代换系 Z747 是以日本晴为受体亲本、西恢 18 为供体亲本, 经过多代回交和自交并结合全基因组 SSR 分子标记辅助选择选育而成, 西恢 18 是西南大学选育的优良恢复系。QTL 定位材料为日

本晴和 Z747 杂交构建的次级 F₂ 群体。

1.2 试验方法

1.2.1 材料种植 2017 年在西南大学水稻基地, 以日本晴与 Z747 杂交, 收取杂交种并于同年在海南基地种植 F₁, 收取 F₂ 种子。2018 年 3 月 8 日, 在西南大学水稻基地育苗, 4 月 15 日, 以株、行距分别为 16.67 cm 和 26.67 cm 移栽日本晴和 Z747 各 30 株以及 280 个 F₂ 单株于同一试验田, 按常规模式进行田间管理。

1.2.2 Z747 代换系培育与代换片段的鉴定 首先使用均匀分布于水稻全基因组的 429 个 SSR 标记, 进行日本晴和西恢 18 的多态性分析, 选出 263 个多态性标记^[17], 然后用这些多态性标记从 BC₂F₁ 代进行分子标记辅助选择 (molecular marker assisted selection, MAS), 从中选出 20 个单株种成株系自交, 每个株系每代取 10 株继续进行分子标记辅助选择, 在 BC₂F₄ 选择了一个较理想的单株与日本晴回交, 再自交, 同样从每代每个株系取 10 株进行分子标记辅助选择, 直至 F₆ 代选育成 15 代换片段的优良多粒染色体片段代换系 Z747。鉴定染色体代换片段参照崔国庆等^[18] 描述的方法, 参照 Paterson 等^[19] 的方法计算代换片段长度。

1.2.3 表型分析和农艺性状调查 成熟后, 平地面收取日本晴和 Z747 各 10 株以及 280 株 F₂ 群体。考察株高、有效穗数、穗长、一次枝梗数、二次枝梗数、粒长、粒宽、每穗实粒数、每穗总粒数、千粒重和单株产量共 11 个性状。参照崔国庆等^[18] 描述的方法测定穗长、一次枝梗数、二次枝梗数、每穗实粒数和每穗总粒数的整株平均值。结实率以每穗实粒数占每穗总粒数的百分比表示。谷粒长宽比以粒长与粒宽的比值计算。最后, 使用 Microsoft Excel 2010 统计 10 株日本晴和 Z747 及 F₂ 群体各参数如最小值、最大值、平均值、标准差、偏度、峰度, 并进行 *t* 测验。

1.3 QTL 定位

用 CTAB 法提取亲本和 280 个 F₂ 单株的 DNA, 参照崔国庆等^[18] 描述的方法进行 PCR 扩增和非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。将日本晴带型、Z747 带型、双亲带型、缺失带型分别用“-1”、“1”、“0”和“.”来表示基因型赋值。结合 280 个 F₂ 单株对应的表型值, 在 SAS 统计软件上, 使用加州大学河滨分校徐世忠教授编写的 HPMIXED 程序的限制性最大似然(REML)法^[20] 进行 QTL 定位, 以 $P < 0.01$ 为阈值决定 QTL 是否存在。

2 结果与分析

2.1 Z747 的代换片段鉴定

用 Z747 代换片段上的所有多态性 SSR 标记及代换片段外的 24 个 SSR 标记对 10 株 Z747 进行进一步代换片段鉴定和遗传背景纯度检测发现 10 个 Z747 单株的代换片段一致, 且没有检出除代换片段外的西恢 18 其他残留片段, 说明 Z747 基因型已经稳定。Z747 共含有来自西恢 18 的 15 个染色体代换片段, 分布于水稻 1 号、2 号、3 号、5 号、6 号、9 号、11 号和 12 号染色体上。其中 1 号、2 号、3 号、

图 1 Z747 的代换片段及携带的 QTL

Fig. 1 Substitution segments and detected QTL of Z747

每条染色体左侧为物理距离(Mb)、定位的 QTL; 右侧为标记名称、代换区间(框内标记)和代换长度(黑箭头指向)。PH: 株高; PL: 穗长; NPB: 一次枝梗数; NSB: 二次枝梗数; GPP: 每穗实粒数; SPP: 每穗总粒数; SSR: 结实率; GL: 粒长; GW: 粒宽; RLW: 谷粒长宽比; GWT: 千粒重。部分有上标[20]~[30]的 QTL 表示可能与已克隆的基因等位。[20]: *OsRLCK102*; [21]: *HTD2*; [22]: *pbr2*; [23]: *JMJ703*; [24]: *NDI*; [25]: *DFO1*; [26]: *OsMCA1*; [27]: *OsFRDL1*; [28]: *PTB1*; [29]: *DCM1*; [30]: *OsVPE3*.

Physical distances (Mb) and mapped QTL are marked at the left of each chromosome; Markers, substitution interval squared by frame, and substitution length (black arrow direction) are displayed at the right of each chromosome. PH: plant height; PL: panicle length; NPB: number of primary branches; NSB: number of secondary branches; GPP: grain number per panicle; SPP: spikelet number per panicle; SSR: seed setting rate; GL: grain length; GW: grain width; RLW: rate of length to width; GWT: 1000-grains weight. Partial QTL noted superscript [20]~[30] indicate that these QTLs are possible alleles with the cloned genes. [20]: *OsRLCK102*; [21]: *HTD2*; [22]: *pbr2*; [23]: *JMJ703*; [24]: *NDI*; [25]: *DFO1*; [26]: *OsMCA1*; [27]: *OsFRDL1*; [28]: *PTB1*; [29]: *DCM1*; [30]: *OsVPE3*.

6 号、9 号、11 号和 12 号染色体上均含有 2 个代换片段, 第 5 染色体上有 1 个代换片段。代换区间见图 1。总代换片段长度为 67.42 Mb, 最长代换片段长度为 8.33 Mb, 最短代换片段长度为 0.75 Mb, 平均代换片段长度为 4.49 Mb。

2.2 Z747 的农艺性状分析

2018 年在重庆, 代换系 Z747 的生育期为 86 d, 比受体日本晴的生育期(95 d)早 9 d。与日本晴相比, Z747 的每穗总粒数、穗长、一次枝梗数和二次枝梗数显著增加(图 2 和表 1), 分别增加了 56.3%、18.3%、64.9%和 183.2%, 说明 Z747 每穗总粒数的增加主要由穗长、一次枝梗和二次枝梗数的共同增加所致, 尤其是二次枝梗数增加了将近 2 倍。此外, Z747 的粒长也增加 10.6%, 差异极显著; 粒宽

显著变窄、结实率显著降低, 分别减少了 5.0%和 11.0%, 但其结实率仍达 81.0%。Z747 的株高、有效穗数、每穗实粒数、千粒重和单株产量与日本晴无显著差异(表 1)。

图 2 日本晴和 Z747 的表型
Fig. 2 Phenotype of Nipponbare and Z747

表 1 日本晴和 Z747 及 F₂ 群体各性状统计参数

Table 1 Statistical parameters of different traits in Nipponbare, Z747, and the F₂ population

性状 Trait	平均值±标准差(亲本) Mean±SD (parents)		F ₂ 群体 F ₂ population			
	日本晴 Nipponbare	Z747	平均值±标准差 Mean±SD	范围 Range	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
株高 Plant height (cm)	88.1±3.4	91.8±6.9	91.9±8.2	68.0–130.8	0.39	0.31
穗长 Panicle length (cm)	19.7±1.2	23.3±1.3**	19.3±1.6	14.8–27.3	−0.18	0.57
有效穗数 Panicle number	19.3±5.1	15.5±6.4	15.6±5.5	3.0–36.0	0.40	−0.03
一次枝梗数 Number of primary branch	7.4±0.5	12.2±1.3**	8.5±1.1	6.9–13.4	−0.15	0.27
二次枝梗数 Number of secondary branch	14.3±1.7	40.5±1.2**	15.1±4.3	7.4–45.6	0.03	0.71
每穗总粒数 Spikelet number per panicle	110.7±16.4	173.0±49.6**	94.3±19.9	21.9–221.7	−0.19	0.39
每穗实粒数 Grain number per panicle	101.4±16.5	139.8±41.2	79.4±15.6	10.1–142.5	−0.23	0.65
结实率 Seed setting rate (%)	91.0±2.0	81.0±0.7**	85.1±12.9	10.9–96.3	−2.17	10.44
粒长 Grain length (mm)	7.17±0.24	7.93±0.04**	7.45±0.47	6.61–10.05	0.36	1.81
粒宽 Grain width (mm)	3.40±0.08	3.23±0.05*	3.34±0.13	2.38–3.52	−0.38	0.26
千粒重 1000-grain weight (g)	24.6±1.6	25.5±0.7	25.5±1.8	21.0–32.3	0.28	1.27
单株产量 Yield per plant (g)	38.6±9.8	40.9±5.3	31.7±12.4	2.4–72.5	0.45	0.20

*和**分别表示日本晴和 Z740 性状间存在显著($P < 0.05$)或极显著($P < 0.01$)差异。

* and ** indicate significant difference between traits of Nipponbare and Z740 at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

2.3 Z747 代换片段携带的粒数等重要农艺性状 QTL 定位

Z747 携带 46 个水稻重要农艺性状 QTL, 分布于其 12 个代换片段上, 贡献率在 1.19%–63.73%之间。包括 5 个株高 QTL、2 个穗长 QTL、4 个一次枝梗数 QTL、6 个二次枝梗数 QTL、3 个每穗总粒数的 QTL、4 个每穗实粒数 QTL、9 个结实率 QTL、3 个粒长 QTL、2 个粒宽 QTL、6 个谷粒长宽比 QTL、2 个千粒重 QTL。其中有 13 个是贡献率大于 10%的主效 QTL, 包括株高 $qPH-3-3$ 和 $qPH5$ 、总粒数 $qSPP9$ 、实粒数 $qGPP-9-1$ 、二次枝梗数 $qNSB-9-1$ 、结实率 $qSSR1$ 、 $qSSR5$ 和 $qSSR-9-1$ 、粒长 $qGL3$ 、谷粒长宽比 $qRLW-3-2$ 、 $qRLW5$ 和 $qRLW6$ 及千粒重 $qGWT3$ (表 2 和图 1)。

3 个每穗总粒数 QTL ($qSPP3$ 、 $qSPP5$ 、 $qSPP9$)的贡献率分别为 9.66%、7.90%和 14.15%, 暗示 Z747 的每穗总粒数由 1 个减少总粒数的主效 QTL 和 2 个增加总粒数的微效 QTL 共同控制。4 个实粒数 QTL ($qGPP2$ 、 $qGPP-9-1$ 、 $qGPP-9-2$ 、 $qGPP12$)的贡献率分别为 4.53%、19.83%、3.66%和 8.21%。表明 Z747 的每穗实粒数由 1 个减少实粒数的主效 QTL 和 3 个微效 QTL (2 个增加和 1 个减少粒数)共同控制(表 2 和图 1)。

共有 30 个具有增加对应性状效应值的 QTL。有 12 个 QTL 如 $qPH-3-1$ 、 $qPH-3-2$ 、 $qGWT2$ 等可能与已克隆基因如 $OsRLCK102$ 、 $HTD2$ 、 $OsVPE3$ 等^[20–30]等位(表 2 和图 1)。

表 2 Z747 携带的水稻重要农艺性状 QTL

Table 2 QTL for rice agronomically important traits detected in Z747

性状 Trait	QTL	染色体 Chr.	连锁标记 Linked marker	加性效应 Additive effect	贡献率 Var. (%)	P 值 P-value	可能的等位基因 Possible alleles
株高	<i>qPH-3-1</i>	3	RM5474	-7.79	9.45	0.0004	<i>OsRLCK102</i> ^[20]
Plant height	<i>qPH-3-2</i>	3	RM3417	5.74	5.15	0.0003	<i>HTD2</i> ^[21]
	<i>qPH-3-3</i>	3	RM6266	5.03	10.30	<0.0001	—
	<i>qPH5</i>	5	RM5874	13.67	27.54	0.0003	—
穗长	<i>qPH11</i>	11	RM7120	5.31	4.39	0.0090	—
	<i>qPL3</i>	3	RM6266	0.51	2.70	0.0020	—
	<i>qPL11</i>	11	RM7120	1.28	6.61	0.0012	—
一次枝梗数	<i>qNPB2</i>	2	RM1385	0.59	6.07	0.0002	<i>Pbr2</i> ^[22]
Number of primary branch	<i>qNPB3</i>	3	RM3766	0.83	7.45	0.0012	—
	<i>qNPB9</i>	9	RM24537	1.79	9.96	<0.0001	—
	<i>qNPB12</i>	12	RM247	-1.07	8.14	0.0049	—
二次枝梗数	<i>qNSB2</i>	2	RM6378	2.33	1.65	0.0004	—
Number of secondary branch	<i>qNSB3</i>	3	RM3766	3.86	7.83	0.0005	—
	<i>qNSB5</i>	5	RM18067	3.59	5.92	0.0036	<i>JMJ703</i> ^[23]
	<i>qNSB6</i>	6	RM494	-2.46	7.10	0.0004	—
	<i>qNSB-9-1</i>	9	RM7048	-7.39	20.71	0.0007	—
	<i>qNSB-9-2</i>	9	RM24537	6.29	6.05	0.0001	—
实粒数	<i>qGPP2</i>	2	RM1385	8.89	4.53	0.0014	—
Grain number per panicle	<i>qGPP-9-1</i>	9	RM7048	-28.08	19.83	0.0008	—
	<i>qGPP-9-2</i>	9	RM24537	18.49	3.66	0.0038	—
	<i>qGPP12</i>	12	RM3331	-18.64	8.21	<0.0001	<i>NDI</i> ^[24]
总粒数	<i>qSPP3</i>	3	RM3766	20.73	9.66	0.0002	—
Spikelet number per panicle	<i>qSPP5</i>	5	RM18067	20.07	7.90	0.0015	—
	<i>qSPP9</i>	9	RM7048	-29.51	14.15	0.0044	—
结实率	<i>qSSR1</i>	1	RM259	-24.38	11.97	0.0001	<i>DFO1</i> ^[25]
Seed setting rate	<i>qSSR2</i>	2	RM1385	4.65	1.19	0.0069	—
	<i>qSSR-3-1</i>	3	RM5474	18.66	9.82	<0.0001	<i>OsMCA1</i> ^[26]
	<i>qSSR-3-2</i>	3	RM3766	-10.38	3.58	0.0014	<i>OsFRDL1</i> ^[27]
	<i>qSSR5</i>	5	RM5874	42.72	46.67	<0.0001	<i>PTBI</i> ^[28]
	<i>qSSR6</i>	6	RM5371	-17.59	6.48	0.0013	<i>DCMI</i> ^[29]
	<i>qSSR-9-1</i>	9	RM7048	-20.74	10.33	0.0004	—
	<i>qSSR-9-2</i>	9	RM24537	23.28	5.24	<0.0001	—
	<i>qSSR12</i>	12	RM3331	-14.58	4.80	<0.0001	—
粒长	<i>qGL3</i>	3	RM6266	0.40	63.73	<0.0001	—
Grain length	<i>qGL5</i>	5	RM18067	0.24	9.29	0.0007	—
	<i>qGL12</i>	12	RM3331	0.16	3.21	0.0047	—
粒宽	<i>qGW2</i>	2	RM1385	-0.07	5.59	0.0080	<i>OsVPE3</i> ^[30]
Grain width	<i>qGW5</i>	5	RM18148	-0.08	6.05	0.0029	—
	<i>qRLW2</i>	2	RM1385	0.08	5.35	0.0004	—
长宽比	<i>qRLW-3-1</i>	3	RM3766	0.10	5.42	0.0047	—
	<i>qRLW-3-2</i>	3	RM6266	0.13	19.74	<0.0001	—
	<i>qRLW5</i>	5	RM18148	0.13	10.17	0.0002	—
	<i>qRLW6</i>	6	RM494	-0.09	10.31	<0.0001	—
	<i>qRLW12</i>	12	RM3331	0.15	7.70	<0.0001	—
千粒重	<i>qGWT2</i>	2	RM1385	-0.80	4.01	0.0048	<i>OsVPE3</i> ^[30]
1000-kernel weight	<i>qGWT3</i>	3	RM6266	1.82	28.67	<0.0001	—

3 讨论

水稻染色体片段代换系, 与受体亲本相比, 仅存在少量代换片段的差异, 因而可消除遗传背景的干扰, 使 QTL 定位更加准确, 尤其是定位结果可直接应用于育种实践。在水稻功能基因组学研究中越来越广泛的应用^[31]。利用染色体片段代换系, 可挖掘出更多的有利变异基因, 为水稻分子聚合育种提供丰富的基因资源^[32]。本研究鉴定出一个以日本晴为受体亲本, 西恢 18 为供体亲本的 15 代换片段的增加每穗粒数的水稻染色体片段代换系 Z747。Z747 含有多个育种有利性状, 不仅穗粒数多, 而且粒也重。其粒数的增加主要是由于穗长、一次枝梗数和二次枝梗数共同增加所致。因而 Z747 的鉴定对日本晴系列的分子设计育种有重要应用价值。

鉴于 Z747 还存在 15 个来自西恢 18 的染色体代换片段, 我们利用以受体日本晴与 Z747 杂交所产生的次级 F₂ 群体进行了水稻粒数等 12 个重要农艺性状的 QTL 定位。结果鉴定出 46 个 QTL, 分布于 Z747 的 12 个代换片段上。与前人报道的基因相比较, 我们检出的 *qNPB2* 与一次枝梗数 QTL-*pbr2*^[22]可能是同一 QTL。二次枝梗数 *qNSB5* 与编码 H3K4 特异性去甲基酶的 *JMJ703*^[23]可能等位。每穗实粒数 *qGPP12* 与编码纤维素合酶的 *NDI(OsCDI)*^[24]可能等位。结实率 QTL-*qSSR1*、*qSSR-3-1*、*qSSR-3-2*、*qSSR5* 和 *qSSR6* 分别与编码类 EMF1 蛋白的 *DFO1(CCP1)*^[25]、编码质膜蛋白的 *OsMCA1(PAP)*^[26]、编码柠檬酸盐转运蛋白的 *OsFRDL1*^[27]、编码 RING 类 E3 泛素连接酶的 *PTBI*^[28] 和编码锌指蛋白的 *DCM1*^[29]是等位基因。株高 *qPH-3-1* 及 *qPH-3-2* 分别与 BR 信号的 *OsRLCK102*^[20]和编码 α/β 折叠水解酶超家族蛋白的 *HTD2*^[21]可能等位。千粒重 *qGWT2* 和粒宽 *qGW2*, 连锁于同一标记, 可能是一因多效 QTL, 与参与细胞程序化死亡的 *OsVPE3*^[30]可能等位。

此外, 一些已克隆的基因虽然在我们所定位的 7 个 QTL 的代换片段上, 但连锁标记的物理距离与基因相距较远, 二者可能并不等位。如粒数 *qSPP3* 与 *PLS2*^[33]、每穗总粒数 *qSPP5* 与 QTL-*snp5.1*^[34]、株高 *qPH5* 与 *OsSIZ1*^[35]、粒宽 *qGW5* 及谷粒长宽比 *qRLW5* 与编码钙调素结合蛋白的 *GW5*^[36]、每穗实粒数 *qGPP-9-2* 和直立密穗基因 *DEP1*^[37]、粒长 *qGL3* 与编码蛋白磷酸酶的粒长基因 *qGL3.1*^[38]。此外, 我们还鉴定出了 *qSPP9*、*qNSB2*、*qGL12*、*qPL3* 等 27 个未被报道的 QTL。通过这些 QTL 的比较, 对于可能是与已克隆基因等位的 12 个 QTL, 我们需进一步对日本晴和 Z747 进行测序和功能互补验证, 便于进一步培育其单片段代换系。鉴于上述基因多数是利用突变体鉴定出来的, 含有多个育种不利性状, 不利于直接利用, 而这些基因的等位代换系则含有多个育种有利性状, 因而可直接应用于分子设计育种。对于尚未报道的 QTL, 尤其具有主效效应者, 可进一步精细定位和克隆, 为解析这些重要农艺性状形成的分子机制奠定基础。

References

- [1] Kotla A, Agarwal S, Yadavalli V R, Vishnu P V, Dhavala V N C, Neelamraju S. Quantitative trait loci and candidate genes for yield and related traits in Madhukar $\times$ Swarna RIL population of rice. *J Crop Sci Biotechnol*, 2013, 16: 35–44.
- [2] 郭泽西, 马海燕, 马亚飞, 袁雪. 水稻穗粒数遗传基础研究进展. *天津农业科学*, 2017, 23(7): 94–98.
Guo Z X, Ma H Y, Ma Y F, Yuan X. Basal research progresses on the genetics of grains number per panicle in rice. *J Tianjin Agric Sci*, 2017, 23(7): 94–98 (in Chinese with English abstract).
- [3] Ashikari M, Sakakibara H, Lin S, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles E R, Qian Q, Kitano H, Matsuoka M. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science*, 2005, 309: 741–745.
- [4] Wu Y, Wang Y, Mi X F, Shan J X, Li X M, Xu J L, Lin H X. The QTL *GNP1* encodes GA20ox1, which increases grain number and yield by increasing cytokinin activity in rice panicle meristems. *PLoS Genet*, 2016, 12: e1006386.
- [5] Luo J H, Liu H, Zhou T Y, Gu B G, Huang X H, Shang-Guan Y Y, Zhu J J, Li Y, Zhao Y, Wang Y C, Zhao Q, Wang A H, Wang Z Q, Sang T, Wang Z X, Han B. *An-1* encodes a basic helix-loop-helix protein that regulates awn development, grain size, and grain number in rice. *Plant Cell*, 2013, 25: 3360–3376.
- [6] Gao F, Wang K, Liu Y, Chen Y P, Chen P, Shi Z Y, Luo J, Jiang D Q, Fan F F, Zhu Y G, Li S Q. Blocking miR396 increases rice yield by shaping inflorescence architecture. *Nat Plants*, 2015, 2: 15196.
- [7] Zhao L, Tan L B, Zhu Z F, Xiao L T, Xie D X, Sun C Q. *PAY1* improves plant architecture and enhances grain yield in rice. *Plant J*, 2015, 83: 528–536.
- [8] Huo X, Wu S, Zhu Z F, Liu F X, Fu Y C, Cai H W, Sun X Y, Gu P, Xie D X, Tan L B, Sun C Q. *NOG1* increases grain production in rice. *Nat Commun*, 2017, 8: 1497.
- [9] Guo T, Chen K, Dong N Q, Shi C L, Ye W W, Gao J P, Shan J X, Lin H X. *GRAIN SIZE AND NUMBER 1* negatively regulates the OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6 cascade to coordinate the trade-off between grain number per panicle and grain size in rice. *Plant Cell*, 2018, 30: 871–888.
- [10] Xue W Y, Xing Y Z, Weng X Y, Zhao Y, Tang W J, Wang L, Zhou H J, Yu S B, Xu C G, Li X H, Zhang Q F. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet*, 2008, 40: 761–767.
- [11] Sheng P K, Wu F Q, Tan J J, Zhang H, Ma W W, Chen L P, Wang J C, Wang J, Zhu S S, Guo X P, Wang J L, Zhang X, Cheng Z J, Bao Y Q, Wu C Y, Liu X M, Wan J M. A CONSTANS-like transcriptional activator, *OsCOL13*, functions as a negative regulator of flowering downstream of *OsphyB* and upstream of *Ehd1* in rice. *Plant Mol Biol*, 2016, 92: 209–222.
- [12] Deshmukh R, Singh A, Jain N, Anand S, Gacche R, Singh A, Gaikwad K, Sharma T, Mohapatra T, Singh N. Identification of candidate genes for grain number in rice (*Oryza sativa* L.). *Funct Integr Genomics*, 2010, 10: 339–347.
- [13] Xing Y Z, Tang W J, Xue W Y, Xu C G, Zhang Q F. Fine mapping of a major quantitative trait loci, *qSSP7*, controlling the number of spikelets per panicle as a single Mendelian factor in rice.

- Theor Appl Genet*, 2008, 116: 789–796.
- [14] Liu T M, Mao D H, Zhang S P, Xu C G, Xing Y Z. Fine mapping *SPP1*, a QTL controlling the number of spikelets per panicle, to a BAC clone in rice (*Oryza sativa*). *Theor Appl Genet*, 2009, 118: 1509–1517.
 - [15] Ren D Y, Xu Q K, Qiu Z N, Cui Y J, Zhou T T, Zeng D L, Guo L B, Qian Q. *FON4* prevents the multi-floret spikelet in rice. *Plant Biotechnol J*, 2019, 17: 1007–1009.
 - [16] Zhang T, Li Y F, Ma L, Sang X C, Ling Y H, Wang Y T, Yu P, Zhuang H, Huang J Y, Wang N, Zhao F M, Zhang C W, Yang Z L, Fang L K, He G H. *LATERAL FLORET 1* induced the three-florets spikelet in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 9984–9989.
 - [17] 赵芳明, 郭超, 魏霞, 杨正林, 凌英华, 桑贤春, 王楠, 张长伟, 李云峰, 何光华. 日本晴与 5 个优良恢复系的多态性标记筛选及遗传差异分析. 西南大学学报(自然科学版), 2016, 38(11): 1–7. Zhao F M, Guo C, Wei X, Yang Z L, Ling Y H, Sang X C, Wang N, Zhang C W, Li Y F, He G H. Polymorphic SSR markers screening and genetic difference analysis between Nipponbare and five excellent restorer lines. *J Southwest Univ (Nat Sci Edn)*, 2016, 38(11): 1–7 (in Chinese with English abstract).
 - [18] 崔国庆, 王世明, 马福盈, 汪会, 向朝中, 李云峰, 何光华, 张长伟, 杨正林, 凌英华, 赵芳明. 水稻高秆染色体片段代换系 Z1377 的鉴定及重要农艺性状 QTL 定位. 作物学报, 2018, 44: 1477–1484. Cui G Q, Wang S M, Ma F Y, Wang H, Xiang C Z, Li Y F, He G H, Zhang C W, Yang Z L, Ling Y H, Zhao F M. Identification of rice chromosome segment substitution line Z1377 with increased plant height and QTL mapping for agronomic important traits. *Acta Agron Sin*, 2018, 44: 1477–1484 (in Chinese with English abstract).
 - [19] Paterson A H, Damon S, Hewitt J D, Zamir D, Rabinowitch H D, Lincoln S E, Lander E S, Tanksley S D. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations, and environments. *Genetics*, 1991, 127: 181–197.
 - [20] Wang J, Wu G W, Peng C F, Zhou X G, Li W T, He M, Wang J C, Yin J J, Yuan C, Ma W W, Ma B T, Wang Y P, Chen W L, Qin P, Li S G, Chen X W. The receptor-like cytoplasmic kinase OsRLCK102 regulates *XA21*-mediated immunity and plant development in rice. *Plant Mol Biol Rep*, 2016, 34: 628–637.
 - [21] Liu W Z, Wu C, Fu Y P, Hu G C, Si H M, Zhu L, Luan W J, He Z Q, Sun Z X. Identification and characterization of *HTD2*: a novel gene negatively regulating tiller bud outgrowth in rice. *Planta*, 2009, 230: 649–658.
 - [22] Li C B, Zhou A L, Sang T. Genetic analysis of rice domestication syndrome with the wild annual species, *Oryza nivara*. *New Phytol*, 2006, 170: 185–193.
 - [23] Cui X K, Jin P, Cui X, Gu L F, Lu Z K, Xue Y M, Wei L Y, Qi J F, Song X W, Luo M, An G, Cao X F. Control of transposon activity by a histone H3K4 demethylase in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 1953–1958.
 - [24] Luan W J, Liu Y Q, Zhang F X, Song Y L, Wang Z Y, Peng Y K, Sun Z X. *OsCD1* encodes a putative member of the cellulose synthase-like D sub-family and is essential for rice plant architecture and growth. *Plant Biotechnol J*, 2011, 9: 513–524.
 - [25] Yan D W, Zhang X M, Zhang L, Ye S H, Zeng L J, Liu J Y, Li Q, He Z H. *CURVWD CHIMERIC PALEA 1* encoding an EMF1-like protein maintains epigenetic repression of *OsMADS58* in rice palea development. *Plant J*, 2015, 82: 12–24.
 - [26] Liu Z W, Cheng Q, Sun Y F, Dai H X, Song G Y, Guo Z B, Qu X F, Jiang D M, Liu C, Wang W, Yang D C. A SNP in *OsMCA1* responding for a plant architecture defect by deactivation of bioactive GA in rice. *Plant Mol Biol*, 2015, 87: 17–30.
 - [27] Yokosho K, Yamaji N, Ma J F. *OsFRDL1* expressed in nodes is required for distribution of iron to grains in rice. *J Exp Bot*, 2016, 67: 5485–5494.
 - [28] Li S C, Li W B, Huang B, Cao X M, Zhou X Y, Ye S M, Li C B, Gao F Y, Zou T, Xie K L, Ren Y, Ai P, Tang Y F, Li X M, Deng Q M, Wang S Q, Zheng A P, Zhu J, Liu H N, Wang L X, Li P. Natural variation in *PTB1* regulates rice seed setting rate by controlling pollen tube growth. *Nat Commun*, 2013, 4: 2793.
 - [29] Zhang C, Shen Y, Tang D, Shi W Q, Zhang D M, Du G J, Zhou Y H, Liang G H, Li Y F, Cheng Z K. The zinc finger protein DCM1 is required for male meiotic cytokinesis by preserving callose in rice. *PLoS Genet*, 2018, 14: e1007769.
 - [30] Lu W Y, Deng M J, Guo F, Wang M Q, Zeng Z H, Han N, Yang Y N, Zhu M Y, Bian H W. Suppression of *OsVPE3* enhances salt tolerance by attenuating vacuole rupture during programmed cell death and affects stomata development in rice. *Rice*, 2016, 9: 65.
 - [31] Zhao F M, Tan Y, Zheng L Y, Zhou K, He G H, Ling Y H, Zhang L H, Xu S Z. Identification of rice chromosome segment substitution line Z322-1-10 and mapping QTL for agronomic traits from the F₃ population. *Cereal Res Commun*, 2016, 44: 370–380.
 - [32] 徐建军, 梁国华. 水稻染色体片段代换系群体的构建及应用研究进展. 安徽农业科学, 2011, 39: 1935–1938. Xu J J, Liang G H. Research progress of construction and application of rice (*Oryza sativa* L.) chromosome segment substitution lines. *J Anhui Agric Sci*, 2011, 39: 1935–1938 (in Chinese with English abstract).
 - [33] Wang M, Zhang T, Peng H, Luo S, Tan J J, Jiang K F, Heng Y Q, Zhang X, Guo X P, Zheng J K, Cheng Z J. Rice *Premature Leaf Senescence 2*, encoding a glycosyltransferase (GT), is involved in leaf senescence. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 560.
 - [34] Marri P R, Sarla N, Reddy L V, Siddiq E A. Identification and mapping of yield and yield related QTLs from an Indian accession of *Oryza rufipogon*. *BMC Genet*, 2005, 6: 1–14.
 - [35] Thangasamy S, Guo C L, Chuang M H, Lai M H, Chen J, Jauh G Y. Rice *SIZ1*, a SUMO E3 ligase, controls spikelet fertility through regulation of anther dehiscence. *New Phytol*, 2011, 189: 869–882.
 - [36] Liu J F, Chen J, Zheng X M, Wu F Q, Lin Q B, Heng Y Q, Tian P, Cheng Z J, Yu X W, Zhou K N, Zhang X, Guo X P, Wang J L, Wang H Y, Wan J M. *GW5* acts in the brassinosteroid signalling pathway to regulate grain width and weight in rice. *Nat Plants*, 2017, 3: 17043.
 - [37] 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.
 - [38] Qi P, Lin Y S, Song X J, Shen J B, Huang W, Shan J X, Zhu M Z, Jiang L W, Gao J P, Lin H X. The novel quantitative trait locus *GL3.1* controls rice grain size and yield by regulating Cyclin-T1;3. *Cell Res*, 2012, 22: 1666–1680.