

刘颖,叶生鑫,彭强,等. 水稻穗长和有效穗数的 QTL 定位分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):86-89.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.022

# 水稻穗长和有效穗数的 QTL 定位分析

刘颖<sup>1</sup>, 叶生鑫<sup>1</sup>, 彭强<sup>2</sup>, 张大双<sup>2</sup>, 吴健强<sup>2</sup>, 王际凤<sup>2</sup>, 黄培英<sup>2</sup>, 朱速松<sup>2</sup>

(1. 贵州师范大学, 贵州贵阳 550001; 2. 贵州省水稻研究所, 贵州贵阳 550006)

**摘要:**水稻的穗长和有效穗数与产量有着密切的关系。本试验以籼稻品系中的 V20B 为母本, 爪哇稻品系中的 CPSLO17 为父本杂交, 经单粒传法构建重组自交系(RIL)为作图群体, 对水稻穗长和有效穗数 2 个穗部性状进行 QTL 定位及分析。利用 SLAF 标签构建的高密度遗传图谱, 结合定位软件 MapQTL5 进行区间作图, 阈值设为 3.9, 在 3 条染色体上共检测到 7 个 QTL, 其中 5 个控制穗长 QTL(*qPL1-1*、*qPL1-2*、*qPL6-1*、*qPL6-2*、*qPL6-3*)分别位于第 1、第 6 号染色体上, QTL 的贡献率分别为 6.41%、22.22%、6.15%、12.24%、13.01%, 增效位点主要来自于 CPSLO17, 且 *qPL1-1* 为一个新的 QTL; 2 个控制有效穗数 QTLs(*qPN1*、*qPN4*)分别位于第 1、第 4 号染色体上, QTL 的贡献率分别为 13.15%、8.18%, 且增效位点来自于亲本 V20B。这些位点的标记为进一步克隆穗长和有效穗数 QTL 及分子标记辅助选择奠定理论基础。

**关键词:**水稻; QTL; 穗长; 有效穗数; 产量

**中图分类号:**S511.03 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)04-0086-04

提高水稻产量始终是水稻育种追求的目标<sup>[1]</sup>, 水稻产量的构成包括千粒质量、单株有效穗数、每穗实粒数、结实率 4 个部分, 其中有效穗数的变化对产量高低有着举足轻重的影响。水稻产量的构成与水稻各种穗部性状有着密切的关系<sup>[2]</sup>, 穗长是水稻穗部性状的一个重要组成部分, 在实践育种中, 虽然穗长这一性状被广泛研究, 但在阐明其与产量构成关系上却没有引起足够的重视<sup>[3]</sup>。因此, 定位分析控制水稻穗长和有效穗数的 QTL 及分析二者关系更能直接有效地为分子标记辅助选择培育高产品种提供依据。目前, 大量研究表明, 水稻穗长<sup>[4]</sup>和有效穗数<sup>[5]</sup> 2 个穗部相关性状为多基因

控制的数量性状。近年来, 关于穗长和有效穗数的 QTL 定位分析已有许多报道。潘英华等利用日本晴/B0801 的 F<sub>2</sub> 群体定位了 4 个穗长 QTLs<sup>[6]</sup>, 分别位于第 1、第 2、第 5、第 9 号染色体上, 其中 *qPL9-1* 为主效 QTL。袁爱平等利用中 156/谷梅 2 号的 RIL 群体, 在不同的环境下, 对有效穗数进行非条件和条件 QTL 定位分析, 定位 3 个有效穗数 QTLs, 分别位于第 2、第 7 号染色体上<sup>[7]</sup>。徐建龙等利用 Lemont/特青的 RIL 群体, 检测出 4 个影响有效穗数的 QTLs, 分别位于第 3、第 4、第 11、第 12 号染色体上<sup>[8]</sup>。

高密度遗传连锁图谱在基因和基因组的精细定位和图位克隆的应用中发挥着重要作用。SLAF-seq 技术是基于 SNP 的简化基因组深度测序技术, 该技术相比 RAPD、RFLP、SSR 等传统的定位方法具有通量高、准确性高、成本低、周期短、有效 reads 长、适用性广等突出优势<sup>[9]</sup>。目前, 该技术在国内外已成功用于大豆<sup>[10]</sup>、芝麻<sup>[11]</sup>、黄瓜<sup>[12]</sup>等众多领域的遗传图谱构建和 QTL 定位, 且在国内也有用于水稻耐冷和粒质量等性状的研究, 宋佳谕等利用此技术进行水稻苗期耐冷关联分析<sup>[13]</sup>; Xu 等利用此技术对水稻粒质量进行 QTL 定位<sup>[14]</sup>。但

收稿日期:2015-11-25

基金项目:贵州省重大专项(编号:LH20126005、LH20106023); 贵州省农业科学院专项(编号:2010004); 国家科技计划(编号:2014AA10A604-11)。

作者简介:刘颖(1990—), 女, 贵州贵阳人, 硕士研究生, 研究方向为分子遗传学。E-mail:442852744@qq.com。

通信作者:朱速松, 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事水稻分子育种研究。E-mail:susongzhu@139.com。

[2] Naya F J. Tissue-specific regulation of the insulin gene by a novel basic helix-loop-helix transcription factor [J]. *Genes Dev*, 1995, 9(8):1009-1019

[3] Suzuki A, Nakauchi H, Taniguchi H. Prospective isolation of multipotent pancreatic progenitors using flow-cytometric cell sorting [J]. *Diabetes*, 2004, 53(8):2143-2152.

[4] Zhou J, Wang X, Pineyro M A, et al. Glucagon-like peptide 1 and exendin-4 convert pancreatic AR42J cells into glucagon- and insulin-producing cells [J]. *Diabetes*, 1999, 48(12):2358-2366.

[5] Cho J H, Tsai M J. The role of BETA2/NeuroD1 in the development of the nervous system [J]. *Mol Neurobiol*, 2004, 30(1):35-47.

[6] 高川, 韩维涛, 宋云扬, 等. 一种改进的快速 PCR 定点突变技术[J]. *生物技术通报*, 2006(3):99-103.

[7] Means A L, Ray K C, Singh A B, et al. Overexpression of heparin-binding EGF-like growth factor in mouse pancreas results in fibrosis and epithelial metaplasia [J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(4):1020-1036.

[8] Hirabayashi J, Kasai K. The family of metazoan metal-independent  $\beta$ -galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution [J]. *Glycobiology*, 1993, 3(4):297-304.

[9] Vacelet J. Etude en microscopie électronique de l'association entre bactéries et spongiaires du genre *Verongia* (Dictyoceratida) [J]. *Microsc Biol Cell*, 1975, 23(3):271-288.

[10] Kumar M, Jordan N, Melton D, et al. Signals from lateral plate mesoderm instruct endoderm toward a pancreatic fate [J]. *Dev Biol*, 2003, 259(1):109-122.

将此方法应用于水稻穗长和有效穗数研究上的却少有报道,因此,本研究较先采用 SLAF-seq 技术,以 V20B 和 CPSLO17 为双亲,利用覆盖 12 条染色体标记平均距离为 0.29 cM 的由 8 602 个高质量 SLAF 标签构建的高密度遗传连锁图谱,结合表型数据对 V20B/CPSLO17 构建的重组自交系群体 (recombinant inbred lines, RILs) 的穗长和有效穗数 2 个性状进行遗传分析,以期水稻穗长和有效穗数性状相关基因的精细定位、克隆及分子育种提供相关信息。

1 材料与方法

1.1 材料

以分蘖强、穗长短、配合力强籼稻 V20B 为母本,以分蘖弱、穗长长、广亲和性爪哇稻 CPSLO17 为父本进行杂交,通过单粒传法连续自交后得到重组自交系群体。

1.2 田间种植与试验方法

1.2.1 田间种植 2015 年于贵州省水稻研究所内种植双亲和 RILs 群体,每株种 4 行,每行 10 株,种植行距为宽窄行 (宽行 30 cm、窄行 20 cm)、株距 20 cm,单本种植,常规栽培管理。

1.2.2 性状考察 成熟后,亲本分别随机取 5 株,每株取 3 穗,测量穗长,取平均值;随机选取 5 株考察有效穗数;随机取 150 个 RIL 群体考察穗长和单株有效穗数。穗长是指主穗颈节到穗顶的长度 (不包括芒);单株有效穗数是指单株内实粒

数在 5 粒以上稻穗的数目。

1.3 QTL 分析

本试验群体 SLAF 标签的分子数据由北京百迈克生物科技有限公司提供,该分子数据是利用 SLAF-seq (specific-locus amplified fragment sequencing) 技术和 HighMap 软件联合开发所得。该遗传图谱共包含 8 602 个高质量 SLAF 标签,较均匀地分布在水稻的 12 条染色体上;覆盖水稻全基因组 2 508.65 cM,平均每隔 0.292 cM 分布有 1 个分子标记。采用软件 IciMapping4.0 的 ICIM-ADD 方法进行 QTL 定位分析,扫描步长设定为 0.1 cM,LOD 值设定为 3.0,计算每个 QTL 对水稻穗长和有效穗数的贡献率及加性效应,参照 McCouch 等提出的方法<sup>[15]</sup>对所检测到的 QTL 进行命名,其中加性效应值为正指增效等位基因来自于亲本 V20B,负值则来源于亲本 CPSLO17。

2 结果与分析

2.1 双亲与 RIL 群体穗长和有效穗数的表型数据

父本 V20B 穗长为 17.5 cm,有效穗数为 16.8 个;母本 CPSLO17 穗长为 21.2 cm,有效穗数为 10.4 个 (表 1)。2 个性状的偏度和峰度均小于 1,表明穗长和有效穗数 2 个性状在群体上均呈正态分布,都为多基因控制的数量性状。穗长和有效穗数频度分布见图 1、图 2。

表 1 V20B/CPSLO17 重组自交系群体的性状变化

性状	亲本		平均数	RIL 群体				
	V20B	CPSLO17		最大值	最小值	标准差	偏度	峰度
穗长 (cm)	17.50	21.20	21.43	27.21	15.94	2.62	-0.01	-0.67
有效穗数 (穗/株)	16.8	10.4	10.55	19.4	6.00	2.34	0.61	0.62

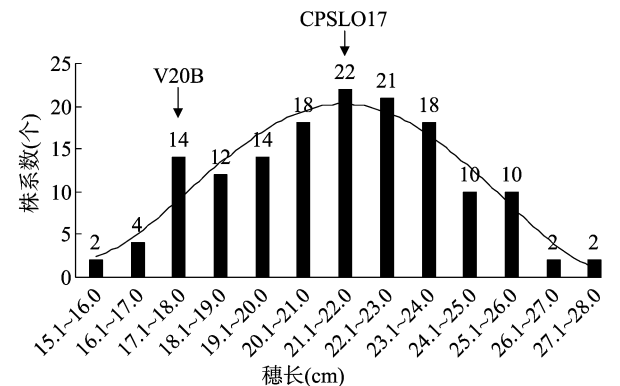


图1 RIL 群体的穗长分布

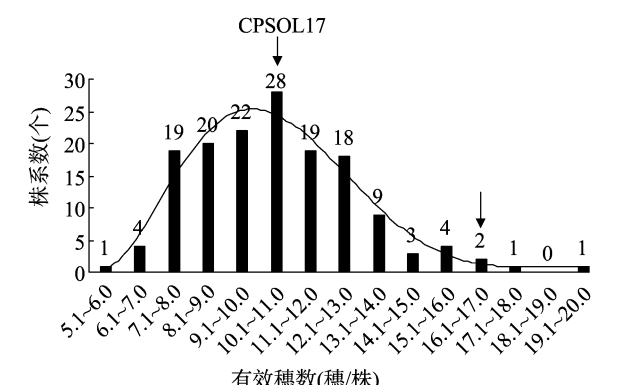


图2 RIL 群体的有效穗数分布

2.2 穗长和有效穗数性状的 QTL 分析

共检测到影响穗长和有效穗数 2 个性状的 7 个 QTL (表 2、图 3), 分布于第 1、第 4、第 6 号 3 条染色体上。

检测到 5 个穗长 QTLs, 分别位于第 1、第 6 号染色体上, 其中 *qPL1-1* 被定位于遗传距离为 0.676 cM 的 Marker614194 - Marker644674 之间, LOD 值为 3.37, 对表型变异的解释率为 6.41%; *qPL1-2* 被定位于遗传距离为 0.400 cM 的 Marker741439 - Maeker628192 之间, LOD 值为 10.4, 对表型变异的解释率为 22.22%; *qPL6-2* 被定位于遗传距离为 0.600 cM 的 Marker1276321 - Marker1234489 之间, LOD 值为 6.13, 对表型变异的解释率为 12.24%; *qPL6-3* 被定位于遗传距离为 0.400 cM 的 Marker1234489 - Marker1320428 之间, LOD 值为 6.57, 对表型变异的解释率为 13.01%, 以上 4 个 QTLs 的增性等位基因均来自亲本 CPSLO17; *qPL6-1* 被定位于遗传距离为 0.669 cM 的 Marker1335574 - Marker1231102 之间, LOD 值为 3.23, 对表型变异的解释率为 6.15%, 其增性等位基因来自亲本 V20B (表 2)。

检测到 2 个有效穗数的 QTLs, 其中 *qPN1* 被定位于遗传距离为 0.200 cM 的 Marker727245 - Marker733801 之间, LOD 值为 4.93, 对表型变异的解释率为 13.15%; *qPN4* 被定位于遗传距离为 0.326 cM 的 Marker470548 - Marker358668 之间, LOD 值为 3.23, 对表型变异的解释率为 8.18%, 二者的增性等位基因均来自亲本 V20B (表 2)。

表 2 水稻穗长及有效穗数 QTL 定位及其遗传效应

性状	位点	染色体	标记区间	阈值	贡献率 (%)	加性效应	等位基因来源
穗长	<i>qPL1-1</i>	1	Marker614194 – Marker644674	3.37	6.41	-0.66	CPSLO17
	<i>qPL1-2</i>	1	Marker741439 – Marker628192	10.40	22.22	-1.24	CPSLO17
	<i>qPL6-1</i>	6	Marker1335574 – Marker1231102	3.23	6.15	0.65	V20B
	<i>qPL6-2</i>	6	Marker1276321 – Marker1234489	6.13	12.24	-1.01	CPSLO17
	<i>qPL6-3</i>	6	Marker1234489 – Marker1320428	6.57	13.01	-1.05	CPSLO17
有效穗数	<i>qPN1</i>	1	Marker727245 – Marker733801	4.93	13.15	0.86	V20B
	<i>qPN4</i>	4	Marker470548 – Marker358668	3.23	8.18	0.67	V20B

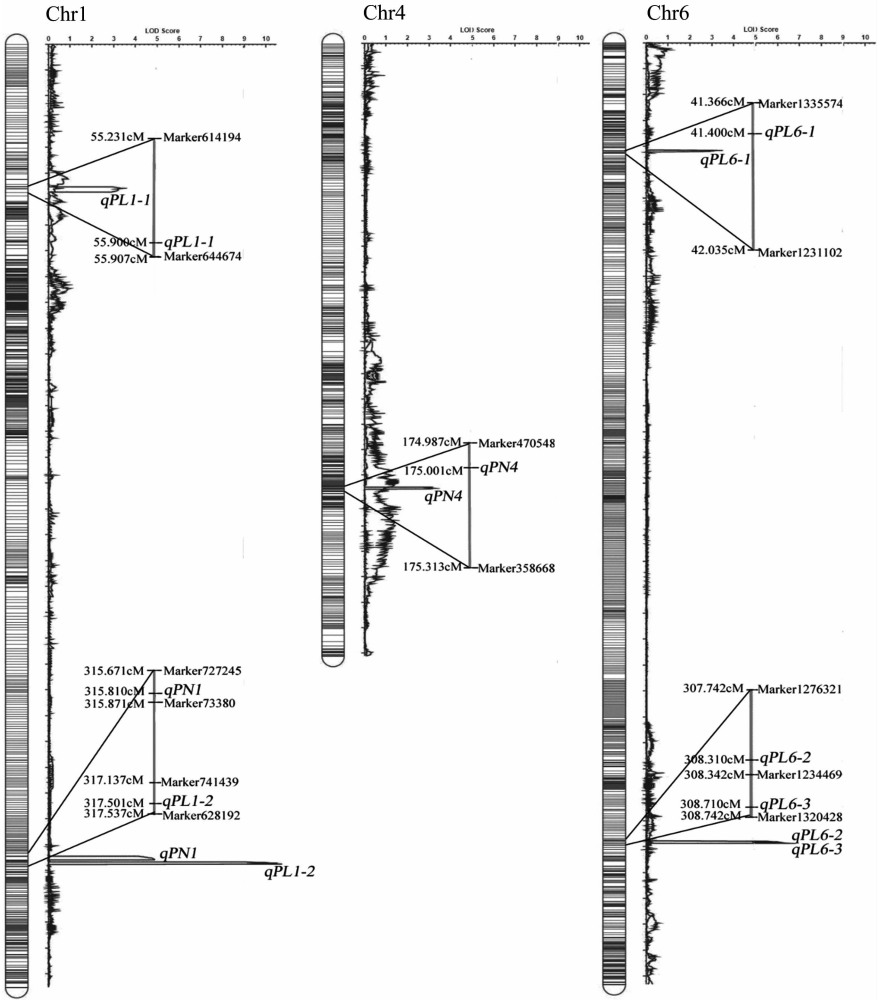


图3 水稻穗长和有效穗数性状 QTL 在染色体上的分布

3 结论与讨论

水稻品种可以分为大穗型、中间型和多穗型,不论是大穗型还是多穗型品种都有获得高产的实例<sup>[16]</sup>,在育种实践中更希望能获得兼具穗长长和有效穗数多的水稻品种。但大多数穗长相关的 QTL 与有效穗数的 QTL 定位在不同的染色体上,如果能通过标记辅助实现穗长与有效穗数的重组,使二者聚合在同一染色体上,则有可能培育出兼具穗长长和有效穗数多的水稻品种。本研究以 V20B/CPSLO17 RIL 为作图群体,对水稻穗长及有效穗数进行定位分析,结果发现在第 1、第 6 号染色体上共检测到 5 个控制水稻穗长的 QTLs,在第 1

号、第 4 号染色体上各检测到 1 个控制水稻有效穗数的 QTL,其中第 1 号染色体上检测到同时存在控制穗长和有效穗数的 QTL 且在相近区域。

将 Gramene 网站(www.gramene.org,截至 2015 年 11 月)上已公布的 272 个穗长 QTLs 和 43 个有效穗数 QTLs 与本试验结果进行对比,结果发现本试验定位出的控制穗长性状 5 个 QTLs 中,位于 Marker614194 – Marker644674 间的 *qPL1-1* (2 个 Marker 间遗传距离为 0.676 cM),没有发现与之相同的 QTL,推测其是一个新的 QTL。其余 4 个 QTLs (*qPL1-2*、*qPL6-1*、*qPL6-2*、*qPL6-3*)定位出的区间均包含于前人定位的区间内,可能是相同的位点。位于

Marker1335574 - Marker1231102 间的 *qPL6-1* (2 个 Marker 间遗传距离为 0.669 cM), 包含于 Cho 等定位的 *qPL-6-2* (2 个 Marker 间遗传距离为 12.3 cM) 区间之内<sup>[17]</sup>; 位于 Marker1276321 - M1320428 间的 *qPL6-2* (2 个 Marker 间遗传距离为 0.600 cM) 和 *qPL6-3* (2 个 Marker 间遗传距离为 0.400 cM) 包含于 Suh 等定位的 *qPL6* (2 个 Marker 间遗传距离为 35.4 cM) 区间内<sup>[18]</sup>。位于 Marke741439 - Marker628912 间的 *qPLI-2* (2 个 Marker 间遗传距离为 0.400 cM) 具有较高的 LOD 值, 在与前人的对比中发现, Hittalmani 等定位的 *qPL-1* (2 个 Marker 间遗传距离为 35.4 cM)<sup>[19]</sup>、张亚东等定位的 *qPLI* (2 个 Marker 间遗传距离为 18.8 cM)<sup>[20]</sup>、姜恭好等定位的 *qPLI* (两 Marker 间遗传距离为 15.3 cM)<sup>[21]</sup> 均有发现此 QTL, 由此推测 *qPLI-2* 是一个稳定遗传的 QTL。

控制有效穗的 2 个 QTL 中, 位于 Marker727245 - Marker733801 间的 *qPNI* (2 个 Marker 间遗传距离为 0.200 cM) 与 Lanceras 等在 DH 群体中定位的 *qpn1.1* (2 个 Marker 间遗传距离为 16.9 cM)<sup>[22]</sup> 有部分重叠, 且在此区段内发现 1 个与有效穗数有关的基因 *THIS1*<sup>[23]</sup>, *THIS1* 基因可能参与独脚金内酯和生长素等激素信号通路, 在调控水稻分蘖形成过程中发挥重要作用。位于 Marker470548 - Marker358668 间的 *qPN4* (2 个 Marker 间遗传距离为 0.326 cM) 则包含于 Lanceras 在 DH 群体中定位 *qpn4.10* (2 个 Marker 间遗传距离为 69.5 cM) 区间之内<sup>[22]</sup>。

本试验利用 SLAF 标签构建的高密度遗传连锁图谱结合表型数据, 定位到 1 个新的控制水稻穗长的 QTL, 其余 6 个 QTLs 均处于前人定位的区间范围内, 因此推测是相同的 QTL, 但此 6 个 QTLs 的定位区间与前人相比较更加精细。说明使用 SLAF-seq 技术能更加精细地定位出 QTL 的位置, 从而有利于缩小候选基因选择范围和快速准确地进行相关基因克隆。

#### 参考文献:

- [1] 郭小蛟, 张 涛, 蒋开锋, 等. 水稻籼粳交  $F_8$ 、 $F_2$  群体穗长 QTL 比较分析[J]. 中国农业科学, 2013, 46(23): 4849 - 4857.
- [2] 姜树坤, 王嘉宇, 姜 辉, 等. 粳稻穗部结构性状的 QTL 分析[J]. 植物生理学报, 2013(12): 1347 - 1354.
- [3] Zhang L, Wang J J, Wang J M, et al. Quantitative trait locus analysis and fine mapping of the *qPL6* locus for panicle length in rice[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2015, 128(6): 1151 - 1161.
- [4] 郭龙彪, 罗利军, 邢永忠, 等. 水稻重要农艺性状的两年 QTL 剖析[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(3): 211 - 218.
- [5] 陈小荣, 陈志彬, 贺浩华, 等. 水稻单株有效穗数主基因 + 多基因混合遗传分析[J]. 生物数学学报, 2011(3): 555 - 562.
- [6] 潘英华, 余建平, 张 强, 等. 水稻穗粒数相关基因的初步定位[J]. 华北农学报, 2013(3): 19 - 24.
- [7] 袁爱平, 曹立勇, 庄杰云, 等. 水稻株高、抽穗期和有效穗数的 QTL 与环境的互作分析[J]. 遗传学报, 2003, 30(10): 899 - 906.
- [8] 徐建龙, 薛庆中, 罗利军, 等. 水稻单株有效穗数和每穗粒数的 QTL 剖析[J]. 遗传学报, 2001, 28(8): 752 - 759.
- [9] 陈士强, 秦树文, 黄泽峰, 等. 基于 SLAF-seq 技术开发长穗偃麦草染色体特异分子标记[J]. 作物学报, 2013, 39(4): 727 - 734.
- [10] Li B, Tian L, Zhang J Y, et al. Construction of a high-density genetic map based on large-scale markers developed by specific length amplified fragment sequencing (SLAF-seq) and its application to QTL analysis for isoflavone content in glycine max[J]. BMC Genomics, 2014, 15: 1086.
- [11] Wang L H, Yu S, Tong C B, et al. Genome sequencing of the high oil crop sesame provides insight into oil biosynthesis[J]. Genome Biology, 2014, 15(2): 39.
- [12] Wei Q Z, Wang Y Z, Qin X D, et al. An SNP-based saturated genetic map and QTL analysis of fruit-related traits in cucumber using specific-length amplified fragment (SLAF) sequencing[J]. BMC Genomics, 2014, 15: 1158.
- [13] 宋佳谕, 赵明辉, 李金泉, 等. 利用关联分析挖掘水稻耐冷优异基因及耐冷种质材料[C]//中国作物学会. 2014 年中国作物学会学术年会论文集. 北京: 中国作物学会, 2014.
- [14] Xu F F, Sun X, Chen Y L, et al. Rapid identification of major QTLs associated with rice grain weight and their utilization[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0122206.
- [15] Soda N, Kushwaha H R, Soni P, et al. A suite of new genes defining salinity stress tolerance in seedlings of contrasting rice genotypes[J]. Functional & Integrative Genomics, 2013, 13(3): 351 - 365.
- [16] Wang Y, Kuroda E, Hirano M, et al. Analysis of high yielding mechanism of rice varieties belonging to different plant types[J]. J Crop Sci, 1997, 66(2): 293 - 299.
- [17] Cho Y C, Suh J P, Choi I S, et al. QTLs analysis of yield and its related traits in wild rice relative *Oryza rufipogon*[J]. Treat of Crop Res, 2012, 4: 19 - 29.
- [18] Suh J P, Ahn S N, Cho Y C, et al. Mapping of QTLs for yield traits using an advanced backcross population from a cross between *Oryza sativa* and *O. glaberrima*[J]. Breeding, 2005, 37(4): 214 - 220.
- [19] Hittalmani S, Shashidhar H E, Bagali P G, et al. Molecular mapping of quantitative trait loci for plant growth, yield and yield related traits across three diverse locations in a doubled haploid rice population[J]. Euphytica, 2002, 125: 207 - 214.
- [20] 张亚东, 董少玲, 张颖慧, 等. TD70/Kasalath RIL 群体定位水稻穗部主要性状的 QTL[J]. 农业科学与技术: 英文版, 2014, 27(9): 1498 - 1502, 1507.
- [21] 姜恭好, 徐才国, 李香花, 等. 利用双单倍体群体剖析水稻产量及其相关性状的遗传基础[J]. 遗传学报, 2004, 31(1): 63 - 72.
- [22] Lanceras L C, Pantuwan G, Jongdee B, et al. Quantitative trait loci associated with drought tolerance at reproductive stage in rice[J]. Plant Physiology, 2004, 135(1): 384 - 399.
- [23] Liu W, Zhang D C, Tang M F, et al. THIS1 is a putative lipase that regulates tillering, plant height, and spikelet fertility in rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(14): 4389 - 4402.