

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2023.01.005

水稻粒型染色体片段代换系 Z8 的 QTL 定位与次级代换系选育

毛祖元, 陈倩, 邸新晏, 陈梅,
王晓菲, 赵芳明, 凌英华

西南大学 水稻研究所/转基因植物与安全控制重庆市重点实验室, 重庆 400715

摘要: 粒型是水稻重要的农艺性状, 由多个基因调控, 属于典型的数量性状, 与产量密切相关。染色体片段代换系 (Chromosomal Segment Substitution Line, CSSL) 是研究数量性状的良好材料, 能够将复杂的数量性状转化成单个的遗传因子, 从而有效分离主效数量性状基因座 (Quantitative trait locus, QTL) 或关键基因, 并准确估算其遗传效应。以粳稻日本晴 (Nipponbare) 为受体, 优良恢复系 R225 为供体构建的 CSSL 群体中鉴定到 1 个水稻长宽粒代换系 Z8, 其携带 14 个来自供体亲本 R225 的染色体片段, 平均代换长度 8.41 Mb。与受体亲本日本晴相比, Z8 的粒长、粒宽、长宽比、株高、一次枝梗数、二次枝梗数、千粒质量、着粒密度和每穗总粒数等性状均增加 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$), 有效穗数、穗长和结实率均降低 ($p < 0.01$), 而每穗实粒数和单株产量的差异无统计学意义。扫描电镜检测表明, Z8 籽粒外颖壳表皮细胞长度、宽度分别增加了 $33.14 \mu\text{m}$ 和 $5.20 \mu\text{m}$ ($p < 0.01$), 而单位面积细胞数目则减少了 3.4 个 ($p < 0.01$), 表明 Z8 籽粒变宽、变长可能是由于籽粒外颖壳细胞纵向和横向增大所致。利用日本晴/Z8 构建的次级 F2 分离群体对粒长、粒宽等 10 个农艺性状进行 QTL 定位, 共鉴定到 33 个 QTLs, 其中粒长、粒宽和长宽比各 6 个, 千粒质量 4 个, 株高和穗长各 3 个, 每穗实粒数 2 个, 一次枝梗数、二次枝梗数与结实率各 1 个, 贡献率在 $2.04\% \sim 88.67\%$ 之间。结合 QTL 定位与分子标记辅助选择 (MAS), 从 F3 家系中鉴定到 2 个含目标性状 QTL 的双片段代换系, 4 个三片段代换系, 3 个四片段代换系, 14 个五片段及以上代换系。目标性状的 QTL 定位以及次级代换片段的成功选育, 为进一步研究目标性状的遗传机理提供了良好的理论参考和材料支撑。

关键词: 水稻; 粒型; 染色体片段代换系; QTL 定位;

次级代换系

中图分类号: S511

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2023)01-0045-10

QTL Mapping of Important Agronomic Traits and Breeding of Secondary Substitution Lines of CSSL-Z8 in Rice

MAO Zuyuan, CHEN Qian, DI Xinyan, CHEN Mei,
WANG Xiaofei, ZHAO Fangming, LING Yinghua

收稿日期: 2022-09-22

基金项目: 重庆英才计划“包干制”项目(cstc2022ycjh-bgzxm0134); 西南大学大学生创新创业训练计划项目(S202210635248)。

作者简介: 毛祖元, 硕士研究生, 主要从事水稻遗传育种的研究。

通信作者: 凌英华, 副研究员。

Rice Research Institute, Southwest University/Chongqing Key Laboratory of Transgenic Plants and Safety Control,
Chongqing 400715, China

Abstract: Grain type is an important agronomic trait of rice, which is regulated by multiple genes, exhibiting typical quantitative traits features and closely related to the yield performance of rice varieties. Chromosomal segment substitution line (CSSL) is ideal material for the dissection of quantitative traits, through which the inheritance of complex quantitative traits could be disintegrated into patterns with single QTL or major gene under purified genetic background. In the present study, an elite chromosomal segment substitution line of Z8 (CSSL-Z8) in rice with increased grain length and width was screened out from the CSSL library constructed by the cross of Nipponbare (receptor) and restorer line R225 (donor). Results of molecular characterization showed that CSSL-Z8 contained 14 introduced chromosomal segments from R225, with an average length of 8.41 Mb. Compared with Nipponbare, CSSL-Z8 possessed statistically increased grain length, grain width, ratio of grain length/width, plant height, number of primary and secondary branches, 1000-grain weight, seed density, and total grains per panicle ($p < 0.05$ or $p < 0.01$). The effective panicle number, panicle length, and seed setting rate of CSSL-Z8 decreased significantly ($p < 0.01$). There no statistical differences were observed for the number of grains per panicle and yield per plant between Nipponbare and CSSL-Z8. The results of scanning electron microscopy showed that the cell length and width of outer glume of CSSL-Z8 increased by 33.14 μm and 5.20 μm ($p < 0.01$), respectively, while the cell number of outer glume of CSSL-Z8 decreased by 3.4 ($p < 0.01$), indicating that the increased grain length and width of CSSL-Z8 might be caused by the longitudinal and lateral enlargement of outer glume cells. QTLs for 10 agronomic traits, including grain length and width, were identified through the F₂ population constructed by Nipponbare/CSSL-Z8. A total of 33 QTLs were identified, i. e., six for each of grain length, width, and ratio of grain length/width, four for 1000-grain weight, three for both of plant height and panicle length, two for grains per panicle; and one for each of the number of primary branches, the number of secondary branches, and seed setting rate. The contribution (%) of these QTLs to the corresponding traits ranged from 2.04% to 88.67%. Based on the results of QTL mapping, two double-, four triple-, three quadruple-, and 14 quintuple-fragment substitution lines containing target QTLs for interest traits were screened from F₃ family-lines through marker assisted selection (MAS). In conclusion, the QTL mapping and breeding of secondary CSSLs containing target QTLs provide potential genetic material supporting and theoretical references for the further research on the genetic mechanism of target traits in rice.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); grain type; chromosomal segment substitution line; QTL mapping; secondary substitution line

粒型是水稻的重要农艺性状,既是产量的重要组成部分,也是外观品质的决定因素之一.其形态是一个复合性状,主要是由粒长、粒宽、长宽比及粒厚决定,受多基因调控^[1]. Gramene 数据库(<https://archive.gramene.org/qtl/>)中收录的水稻籽粒相关性状的 QTLs 已超过 560 个,其中部分基因的遗传机理已经被解析.水稻籽粒大小受复杂遗传网络的调控,涉及 G 蛋白信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、泛素-蛋白酶体通路、植物激素信号通路、转录调控因子等^[2-3].

GS3 是通过 G 蛋白信号通路调控水稻籽粒的 QTL,也是在水稻中发现的第 1 个调控粒长和粒质量的 QTL^[4],由 5 个外显子组成,编码产物为跨膜蛋白.序列分析表明,与小粒品种相比,所有大粒品种的第 2 外显子均发生无义突变,导致 GS3 蛋白 C 端 178 个氨基酸缺失,造成蛋白翻译提前终止,表明 GS3 负调控水稻的粒长和粒质量^[4-5].

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是一系列细胞内级联反应的组成部分,可对多种细胞外刺激做出反

应^[6]. 研究结果显示, MAPK 信号通路参与植物生长发育的许多方面, MAPK 磷酸酶(MAPK phosphatase, MKP)特异性地将激活的 MAPK 中的磷酸基去除, 从而使其失活^[6]. 通过对 *OsMKK10* 功能缺失突变体、过表达株系和 *OsMKK4* 功能获得突变体的研究表明, *OsMKK10*-*OsMKK4*-*OsMPK6* 级联信号通路调控水稻籽粒大小^[7].

GW2 编码一个环形 E3 泛素连接酶, 通过泛素-蛋白酶体通路负向调控细胞分裂, 影响水稻粒宽和粒质量^[8]. *OsARF19* 由生长素和 BR 共同诱导, 通过植物激素调控水稻籽粒大小, *OsARF19* 与 BR 受体基因 *OsBR11* 的启动子结合, 直接影响 *OsBR11* 的表达, 而过表达 *OsARF19* 会导致植物表现出矮秆、窄叶、瘪粒和叶片角度增大^[9]. *GLW7* 编码植物转录因子 *OsSPL13*, 正向调控颖壳细胞的大小, 从而造成籽粒的长度、厚度和质量增加^[10]. *GW8* 是含有 SBP 结构域的转录因子, 调节水稻籽粒宽度, 可直接与 *GW7* 启动子结合, 抑制其表达^[11]. *GS2* 编码 *OsGRF4*, 是一种转录调控因子, 通过促进细胞分裂和细胞扩张来调控颗粒大小^[12].

染色体片段代换系(Chromosomal Segment Substitution Line, CSSL)是研究数量性状的良好材料^[13], 能将复杂的数量性状分解成含有少量供体亲本代换片段而遗传背景又与受体亲本基本一致的简单性状, 从而简化技术难度, 提高实验精度. 在前期研究中, 我们以日本晴(Nipponbare)为受体亲本, 优良恢复系 R225 为供体亲本, 结合多代回交、自交以及分子标记辅助选择(MAS)等方法, 培育出了水稻长宽粒染色体片段代换系 Z8. 本研究利用日本晴/Z8 构建的次级 F2 分离群体, 进行重要农艺性状的 QTL 定位; 同时基于定位结果, 结合 MAS 选育携带代换片段更少、遗传背景更为纯合的次级代换系. 相关研究结果将为水稻粒长、粒宽等重要农艺性状的遗传机理解析奠定理论基础, 并提供必要的材料支撑.

1 材料与方法

1.1 研究材料

水稻染色体片段代换系 Z8, 是以日本晴(Nipponbare)作为受体亲本、优良恢复系 R225 为供体亲本, 经过多代回交、自交并结合 MAS 法在水稻全基因组水平上选育染色体片段代换系, 并运用多态性分子标记从 BC2F1 开始进行筛选, 直到 BC3F6 选育出来了 1 个含有 14 个供体亲本染色体片段的代换系.

QTL 定位的群体材料是由日本晴/Z8 杂交构建的 150 株次级 F2 分离群体.

材料于 2019 年种植在西南大学歇马水稻研究所基地, 用日本晴与 Z8 进行杂交, 收获 F1 种子后, 同年冬季种植于海南基地, 收获 F2 种子. 2020 年 3 月, 将日本晴, Z8 和 F2(150 个单株)的种子于西南大学歇马水稻研究基地进行播种; 同年 4 月, 以株距和行距为 16.67 cm 和 26.67 cm 分别移栽. 2021 年 3 月, 将从 F2 分离群体中选育出来的 23 个次级代换片段、日本晴和 Z8 分别种植, 每行 10 株, 每个次级代换片段和供、受体亲本各 20 株. 所有研究材料, 包括亲本及相应的分离群体, 均参照当地水稻种植与栽培措施进行统一管理.

1.2 研究方法

1.2.1 CSSL-Z8 代换片段的鉴定

利用分布在水稻全基因组上的 429 个 SSR 标记, 对日本晴与恢复系 R225 进行多态性标记筛选, 共鉴定出 253 个多态性 SSR. 通过这些多态性 SSR 结合分子标记辅助选择(MAS), 参照王大川等^[14]的方法, 对 BC2F1 进行代换片段选择, 直到 BC3F6 选育出含有供体亲本 14 个代换片段的长宽粒染色体片段代换系 Z8. 连续的供体亲本带型标记区间认为是代换片段, 参照 Paterson 等^[15]的方法估算代换片段长度, 用 Mapchart 2.3 软件标记代换片段在 Z8 染色体上的分布.

1.2.2 农艺性状考察与表型鉴定

进入成熟期后, 齐地收割 10 株日本晴, 10 株 Z8 以及 150 个 F2 单株, 参照韩龙植等^[16]的方法, 对粒长、粒宽、长宽比、株高、有效穗数、穗长、一次枝梗数、二次枝梗数、千粒质量、每穗总粒数、每穗实粒数、结实率、单株产量和着粒密度等 14 个农艺性状进行表型鉴定. 收集所有性状的表型数据, 利用 Microsoft-Excel 2019 进行统计分析并作图.

1.2.3 籽粒细胞形态学分析

取灌浆期幼嫩的水稻籽粒,利用日立 SU350 型扫描电镜在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下观察日本晴和 Z8 颖壳外表皮细胞并拍照,每个材料重复 10 次,测量其细胞长度和宽度并对细胞数目进行统计,计算其平均值、标准差,并通过 t 测验比较 Z8 与日本晴之间的差异.

1.2.4 QTL 定位

通过日本晴/Z8 构建的次级 F2 分离群体开展目标性状的 QTL 定位.参照 McCouch 等^[17]的方法提取亲本和 150 个 F2 单株的 DNA,参考王大川等^[14]的方法鉴定所有材料的基因型.结合目标性状的表型鉴定,通过 SAS(SAS Institute Inc. 2009)软件,利用限制性最大似然(REML)法进行 QTL 定位,以 $p < 0.01$ 为阈值判断染色体片段上是否存在 QTL 位点^[18].

1.2.5 次级代换片段选育

基于 QTL 定位结果,并结合表型与基因型,从 F2 分离群体中筛选出 23 个单株自交,2021 年将自交后代种成株系,并重新编号,其中双片段代换系 2 个,三片段代换系 4 个,四片段代换系 3 个以及五片段及以上的代换系 14 个,受体亲本、供体亲本以及各个株系各种植 20 株,利用分子标记辅助选择(MAS)技术进一步对该株系进行筛选,选育单、双和三片段代换系,为研究目标性状上单基因的加性效应和多基因间的上位性效应提供了研究基础.

2 结果与分析

2.1 Z8 的表型鉴定与籽粒颖壳的细胞学分析

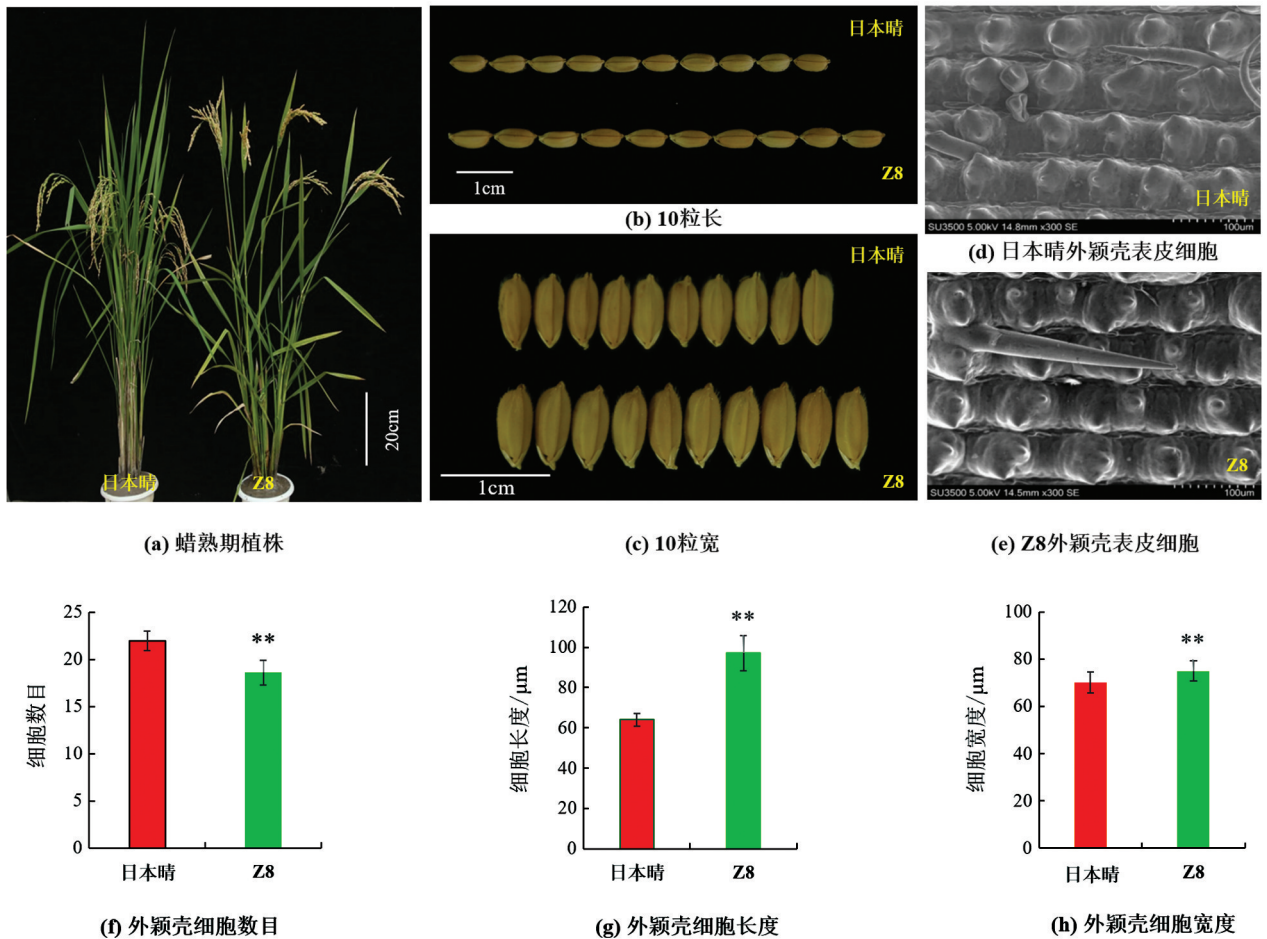
表型鉴定结果显示(表 1),与日本晴相比,Z8 的粒长、粒宽、长宽比、株高、一次枝梗数、二次枝梗数、千粒质量、着粒密度和每穗总粒数等 9 个农艺性状,分别增加了 1.18 mm, 0.17mm, 0.23, 8.78 cm, 2.92, 8.13, 3.09 g, 32.48 和 36.95, 均显著或极显著高于受体日本晴(图 1a-c). Z8 的有效穗数、穗长和结实率比日本晴分别减少了 2.80, 3.41 cm 和 21.32% ($p < 0.01$), 差异有统计学意义; 而每穗实粒数和单株产量差异无统计学意义.

由于 Z8 的籽粒长度和宽度较日本晴都有所增加,为了解其粒型变化的原因,利用日立 SU350 型扫描电镜在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下观察日本晴和 Z8 孕穗期外颖壳表皮细胞.结果表明,Z8 外颖壳表皮细胞长度、宽度较日本晴分别增加了 33.14 μm 和 5.20 μm ($p < 0.01$), 而细胞数目则减少了 3.4 个 ($p < 0.01$), 差异有统计学意义(图 1d-h), 表明 Z8 籽粒长度和宽度的增加是由于籽粒外颖壳细胞横向和纵向膨胀导致的.

表 1 日本晴与 Z8 重要农艺性状($\bar{x} \pm s$)

性状	日本晴	Z8
株高/cm	90.75 \pm 5.99	99.53 \pm 3.25**
有效穗数	9.50 \pm 2.50	6.70 \pm 1.64**
穗长/cm	19.84 \pm 1.35	16.43 \pm 0.68**
一次枝梗数	9.44 \pm 0.93	12.36 \pm 0.55**
二次枝梗数	15.09 \pm 3.28	23.22 \pm 3.35**
粒长/mm	6.98 \pm 0.08	8.16 \pm 0.09**
粒宽/mm	3.30 \pm 0.06	3.47 \pm 0.03**
长宽比	2.12 \pm 0.04	2.35 \pm 0.02**
每穗实粒数	87.39 \pm 10.93	86.61 \pm 11.59
每穗总粒数	98.67 \pm 12.57	135.62 \pm 44.96*
结实率/%	88.60 \pm 2.59	67.28 \pm 13.97**
千粒质量/g	23.62 \pm 1.04	26.71 \pm 1.08**
着粒密度	49.75 \pm 5.55	82.23 \pm 25.63**
单株产量/g	17.97 \pm 7.46	15.99 \pm 3.99

注: * 表示 $p < 0.05$, ** 表示 $p < 0.01$, 差异有统计学意义.



** 表示 $p < 0.01$, 差异有统计学意义。

图 1 日本晴和 Z8 的表型及外颖壳表皮细胞扫描电镜

2.2 Z8 代换片段的鉴定

分子鉴定结果显示, Z8 共携带了 14 个来自供体亲本 R225 的片段, 分别位于第 1~3, 5~9, 11, 12 等 10 条染色体上, 其中第 2, 7~9 等 4 条染色体上携带 2 个代换片段(图 2)。估算结果表明, 14 个代换片段总长度为 117.68 Mb, 其中最短代换片段长度为 1.55 Mb, 最长代换片段长度为 23.35 Mb, 平均长度为 8.41 Mb(图 2)。

2.3 日本晴/Z8 构建 F2 次级分离群体表型与频率分布

利用携带 14 个供体亲本代换片段的代换系 Z8 与受体亲本日本晴构建的次级 F2 分离群体, 其农艺性状除株高、有效穗数、单株产量、每穗实粒数和千粒质量的均值较亲本有所增加或降低外, 其余均介于亲本之间(表 1, 表 2)。

由于峰度和偏度是衡量正态分布的两个重要参数, 当符合正态分布时, 峰度值和偏度值分别为 3 和 0, 因此利用日本晴/Z8 构建的次级 F2 分离群体, 对其频率分布进行分析。结果发现, 粒型、株高等 14 个重要农艺性状的偏度值(显示偏离标准正态分布的情况, 正值为正偏态, 负值为负偏态)均不为 0, 峰度值均不为 3(表 2), 表明这些农艺性状均呈现一定的正偏态或者负偏态分布, 受多基因控制且基因之间可能存在互作。

2.4 基于 Z8 的重要农艺性状 QTL 定位

利用日本晴/Z8 构建的次级 F₂ 作为定位群体, 对在日本晴与 Z8 之间差异有统计学意义的 12 个性状进行 QTL 定位. 结果显示, 在 10 个性状上一共鉴定到 33 个 QTL, 其中粒长、粒宽和长宽比各 6 个; 一次枝梗数、二次枝梗数和结实率各 1 个; 每穗实粒数 2 个; 株高和穗长各 3 个; 千粒质量 4 个(表 3, 图 2). 所有 QTL 对目标性状的表型贡献率在 2.04%~88.67% 之间, 其中有 8 个 QTL 对目标性状的表型贡献率超过 10%(表 3).

表 3 Z8 代换系携带的与水稻粒型相关性状 QTL

性状	QTL	染色体	连锁标记	估计效应值	表型贡献率/%	<i>p</i> 值
粒长/mm	<i>qGL1</i>	1	RM3426	-0.04	3.53	0.036 5
	<i>qGL2-1</i>	2	RM1038	0.06	7.83	0.002 1
	<i>qGL2-2</i>	2	RM6843	0.05	4.44	0.018 2
	<i>qGL7-1</i>	7	RM3826	0.08	14.40	0.000 2
	<i>qGL9</i>	9	RM1189	-0.04	3.46	0.040 3
	<i>qGL11</i>	11	RM457	-0.06	8.53	0.002 0
粒宽/mm	<i>qGW2-4</i>	2	RM1385	-0.03	8.32	0.003 5
	<i>qGW6</i>	6	RM3183	-0.03	6.81	0.041 4
	<i>qGW7-1</i>	7	RM3826	0.02	4.70	0.026 2
	<i>qGW8-2</i>	8	RM223	0.02	3.41	0.079 3
	<i>qGW8-3</i>	8	RM6845	0.01	3.43	0.047 2
	<i>qGW9</i>	9	RM1189	-0.02	4.80	0.015 2
长宽比	<i>qRLW1</i>	1	RM3426	-0.02	7.87	0.002 0
	<i>qRLW2-1</i>	2	RM1038	0.02	5.81	0.007 8
	<i>qRLW2-2</i>	2	RM6843	0.02	4.50	0.017 8
	<i>qRLW2-4</i>	2	RM1385	0.02	7.68	0.005 6
	<i>qRLW6</i>	6	RM3183	0.03	10.58	0.013 9
	<i>qRLW11</i>	11	RM457	-0.02	3.47	0.046 7
株高/cm	<i>qPH2-3</i>	2	RM5804	-2.72	7.33	0.012 5
	<i>qPH7-2</i>	7	RM172	4.87	22.43	<0.000 1
	<i>qPH9</i>	9	RM1189	-9.43	88.67	<0.000 1
穗长/cm	<i>qPL2-1</i>	2	RM1038	-0.37	3.98	0.039 6
	<i>qPL8-1</i>	8	RM310	0.61	10.68	0.010 4
	<i>qPL9</i>	9	RM1189	-2.09	63.07	<0.000 1
一次枝梗数	<i>qNPB1</i>	1	RM3426	0.25	4.43	0.003 7
二次枝梗数	<i>qSPB1</i>	1	RM3426	1.90	11.96	<0.000 1
每穗粒数	<i>qSPP1</i>	1	RM3426	6.37	6.97	0.000 8
	<i>qSPP8-1</i>	8	RM310	4.17	2.76	0.030 9
结实率/%	<i>qSSR2-2</i>	2	RM6843	-0.02	2.04	0.047 0
千粒质量/g	<i>qKGW1</i>	1	RM3426	-0.38	3.35	0.039 8
	<i>qKGW7-1</i>	7	RM3826	0.48	4.90	0.023 5
	<i>qKGW8-3</i>	8	RM6845	0.46	5.02	0.016 8
	<i>qKGW9</i>	9	RM1189	-1.05	25.09	<0.000 1

粒长(GL)检测到 6 个 QTL, 其中 $qGL7-1$ 的表型贡献率为 14.40%, 能够增加粒长 0.08 mm, 表现为主效 QTL. 另 5 个则均表现为微效 QTL(表型贡献率小于 10%), 其中 $qGL2-1$ 和 $qGL2-2$ 分别增加粒长 0.06 mm 与 0.05 mm; $qGL1$, $qGL9$ 和 $qGL11$ 分别减短粒长 0.04 mm, 0.04 mm 和 0.06 mm, 表型贡献率分别是 7.83%, 4.44%, 3.53%, 3.46% 和 8.53%.

粒宽(GW)检测到 6 个 QTL, 均表现为微效, 其中 $qGW7-1$, $qGW8-2$, $qGW8-3$ 分别增加粒宽 0.02 mm, 0.02 mm 和 0.01 mm; $qGW2-4$, $qGW6$ 和 $qGW9$ 分别减小粒宽 0.03 mm, 0.03 mm 和 0.02 mm, 表型贡献率分别为 4.70%, 3.41%, 3.43%, 8.32%, 6.81% 和 4.80%.

长宽比(RLW)同样检测到 6 个 QTL, 其中 $qRLW6$ 的表型贡献率为 10.58%, 能够增加长宽比 0.03, 表现为主效 QTL. 另 5 个则均表现为微效 QTL, 其中 $qRLW2-1$, $qRLW2-2$ 和 $qRLW2-4$ 能够增加籽粒长宽比 0.02; $qRLW1$ 和 $qRLW11$ 则相反, 均会导致水稻籽粒长宽比降低 0.02. 这 5 个微效 QTL 对长宽比的表型贡献率分别为 5.81%, 4.50%, 7.68%, 7.87% 和 3.47%.

2.5 基于 Z8 的次级代换片段选育

基于 QTL 定位结果, 结合 MAS 选育了含目标性状 QTL 的双片段代换系 2 个(D1-D2), 三片段代换系 4 个(T1-T4), 四片段代换系 3 个(FS1-FS3), 五片段代换系 5 个(FSL1-FSL5), 六片段代换系 3 个(SS1-SS3), 七片段代换系 3 个(SSL1-SSL3), 九片段代换系 2 个(NS1-NS2)以及十二片段代换系 1 个(TSL1). 虽然 Z8 的代换片段较多, 没有筛选出单片段代换系, 不能进行 QTL 的上位性效应和加性效应研究, 但次级代换片段的筛选进一步纯化了材料的遗传背景, 为进一步研究数量性状遗传机理提供了丰富理想的材料.

3 讨论

本研究鉴定了一个以日本晴为受体亲本, 恢复系 R225 为供体亲本的长宽粒代换系 Z8, 其携带 14 个供体亲本代换片段, 平均长度为 8.41 Mb. 虽然 Z8 的单株产量无明显变化, 但株高、一次枝梗数、二次枝梗数、粒长、粒宽、长宽比和千粒质量较日本晴分别增加了 8.78 cm, 2.92, 8.13, 1.18 mm, 0.17 mm, 0.23 和 3.09 g($p < 0.01$), 差异有统计学意义. 因此, 长宽粒 CSSL-Z8 作为研究材料对于水稻育种具有重要意义.

根据 QTL 定位结果分析, 在 Z8 染色体代换片段上所检测到粒长 QTLs 中, $qGL1$ 可能与 $GW5L$ 为等位基因, 通过抑制 GSK2 的磷酸化活性来正向调节油菜素类固醇(BR)表达, 从而负向调节籽粒的大小^[19]; $qGL2-1$ 可能与编码丝裂原活化蛋白激酶 OsMKK4 的 $SMG1$ ^[20] 为等位基因; $qGL2-2$, $qGL7-1$, $qGL9$ 和 $qGL11$ 与前人报道的 $OsmiR156i$ ^[21], $miR1432$ ^[22], $DEP1$ ^[23] 和 $OsGRF8$ ^[24] 等基因分别位于同一区间内. 鉴定出的粒宽 QTLs 中, $qGW2-4$ 可能与转录激活因子 $AFG1$ 等位, 通过调节与细胞伸长和增殖相关的几个基因的表达水平进而负向调节籽粒大小^[25]; $qGW6$ 可能与 $OsNF-YB9$ 为等位基因, 主要在发育的胚乳中表达, 该基因功能缺失会导致籽粒长、窄、细^[26]; $qGW7-1$ 与芸苔素内酯信号传导的下游信号分子 $OsBZR1$ ^[27] 等位; $qGW8-3$ 和 $qGW9$ 可能与已报道的 SLG ^[28]/ $WTG1$ ^[29] 和 $OsSPL18$ ^[30]/ $TAF2$ ^[31] 等基因位于同一区间内.

此外, 鉴定出的控制长宽比的 6 个 QTL, $qRLW1$, $qRLW2-1$, $qRLW2-2$, $qRLW2-4$, $qRLW6$ 和 $qRLW11$ 是尚未被报道的基因, 但这些 QTLs 分别与前面 $qGL1$, $qGL2-1$, $qGL2-2$, $qGW2-4$, $qGW6$ 和 $qGL11$ 位于相同区间内, 可能这些基因在调控粒长、粒宽的同时还影响了籽粒的长宽比, 表明基因可能存在一因多效的作用. 对于新发掘的, 尤其是主效的 QTLs, 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.

染色体片段代换系(CSSL)是研究复杂数量性状 QTL 的主要材料之一, 除了从供体亲本引入的片段外, 背景与受体亲本几乎相同, 具有消除背景对绘图程序影响的独特特征^[32-33]. 在本研究中, 基于含有 14

个代换片段的长宽粒代换系 Z8 构建的次级 F₂ 的 QTL 定位结果, 选育出了 23 个纯合的次级代换系, 进一步将控制不同性状以及相同性状的不同基因进行分解, 纯化遗传背景, 为进一步研究基因间加性效应和上位性效应提供基础, 同时为精细定位找明了方向。

4 结论

本研究鉴定了 1 个以日本晴为受体、优良恢复系 R225 为供体的水稻长宽粒染色体片段代换系 Z8。Z8 携带 14 个来自 R225 的染色体片段, 平均代换长度 8.41 Mb。通过日本晴/Z8 构建的次级 F₂ 分离群体, 共鉴定出 33 个控制粒长、粒宽等 10 个农艺性状的 QTL, 其中有 8 个 QTL 对目标性状的表型贡献率超过 10%, 表现为主效位点。在 QTL 定位基础上, 结合 MAS 选育了含目标 QTL 的双片段代换系 2 个(D1-D2), 三片段代换系 4 个(T1-T4), 四片段代换系 3 个(FS1-FS3), 五片段代换系 5 个(FSL1-FSL5), 六片段代换系 3 个(SS1-SS3), 七片段代换系 3 个(SSL1-SSL3), 九片段代换系 2 个(NS1-NS2)以及十二片段代换系 1 个(TSL1)。目标性状的 QTL 定位以及次级代换片段系的选育, 为进一步研究目标性状的遗传机理提供了良好的理论参考和材料支撑。

参考文献:

- [1] JIANG H, ZHANG A, LIU X, et al. Grain Size Associated Genes and the Molecular Regulatory Mechanism in Rice [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(6): 3169.
- [2] ZUO J, LI J. Molecular Genetic Dissection of Quantitative Trait Loci Regulating Rice Grain Size [J]. *Annual Review of Genetics*, 2014, 48: 99-118.
- [3] LI N, XU R, LI Y. Molecular Networks of Seed Size Control in Plants [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2019, 70: 435-463.
- [4] FAN CC, XING Y Z, MAO H L, et al. GS3, a Major QTL for Grain Length and Weight and Minor QTL for Grain Width and Thickness in Rice, Encodes a Putative Transmembrane Protein [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112(6): 1164-1171.
- [5] MAO H, SUN S, YAO J, et al. Linking Differential Domain Functions of the GS3 Protein to Natural Variation of Grain Size in Rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2010, 107(45): 19579-19584.
- [6] BENTA F. Plant Mitogen-Activated Protein Kinase Cascades: Negative Regulatory Roles Turn out Positive [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2001, 98(3): 784-786.
- [7] XU R, DUAN P, YU H, et al. Control of Grain Size and Weight by the OsMKKK10-OsMKK4-OsMAPK6 Signaling Pathway in Rice [J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(6): 860-873.
- [8] SONGX J, HUANG W, SHI M, et al. A QTL for Rice Grain Width and Weight Encodes a Previously Unknown RING-Type E3 Ubiquitin Ligase [J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(5): 623-630.
- [9] ZHANG S, WANG S, XU Y, et al. The Auxin Response Factor, *OsARF19*, Controls Rice Leaf Angles through Positively Regulating *OsGH3-5* and *OsBR11* [J]. *Plant Cell Environ*, 2015, 38(4): 638-654.
- [10] SI L, CHEN J, HUANG X, et al. *OsSPL13* Controls Grain Size in Cultivated Rice [J]. *NatGenet*, 2016, 48(4): 447-456.
- [11] WANG S, LI S, LIU Q, et al. The *OsSPL16-GW7* Regulatory Module Determines Grain Shape and Simultaneously Improves Rice Yield and Grain Quality [J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(8): 949-954.
- [12] HU J, WANG Y, FANG Y, et al. A Rare Allele of *GS2* Enhances Grain Size and Grain Yield in Rice [J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(10): 1455-1465.
- [13] ZHANG G. Target Chromosome-Segment Substitution: A Way to Breeding by Design in Rice. *The Crop Journal*, 2021, 9(3): 658-668.
- [14] 王大川, 汪会, 马福盈, 等. 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 [J]. *作物学报*, 2020,

46(1): 140-146.

- [15] PATERSON A H, DAMON S, HEWITT J D, et al. Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits in Tomato: Comparison across Species, Generations, and Environments [J]. *Genetics*, 1991, 127(1): 181-197.
- [16] 韩龙植, 魏兴华. 水稻种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [17] MCCOUCH S R, KOCHERT G, YU Z H, et al. Molecular Mapping of Rice Chromosomes [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1988, 76(6): 815-829.
- [18] ZHAO F M, TAN Y, ZHENG L Y, et al. Identification of Rice Chromosome Segment Substitution Line Z322-1-10 and Mapping QTLs for Agronomic Traits from the F₃ Population [J]. *Cereal Research Communications*, 2016, 44(3): 370-380.
- [19] TIAN P, LIU J, MOU C, et al. GW5-Like, a Homolog of GW5, Negatively Regulates Grain Width, Weight and Salt Resistance in Rice [J]. *J Integr Plant Biol*, 2019, 61(11): 1171-1185.
- [20] DUAN P, RAO Y, ZENG D, et al. *SMALL GRAIN 1*, which Encodes a Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 4, Influences Grain Size in Rice [J]. *The Plant Journal*, 2014, 77(4): 547-557.
- [21] MIAO C B, WANG Z, ZHANG L, et al. The Grain Yield Modulator *MiR156* Regulates Seed Dormancy through the Gibberellin Pathway in Rice [J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 3822.
- [22] ZHAO Y F, PENG T, SUN H Z, et al. *MiR1432-OsACOT* (Acyl-CoA Thioesterase) Module Determines Grain Yield via Enhancing Grain Filling Rate in Rice [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(4): 712-723.
- [23] HUANG X, QIAN Q, LIU Z, et al. Natural Variation at the *DEP1* Locus Enhances Grain Yield in Rice [J]. *Nature Genetics*, 2009, 41(4): 494-497.
- [24] YANG X, ZHAO X, DAI Z, et al. *OsmiR396*/Growth Regulating Factor Modulate Rice Grain Size through Direct Regulation of Embryo-Specific miR408 [J]. *Plant Physiology*, 2021, 186(1): 519-533.
- [25] YU X Q, XIASS, XU Q K, et al. *ABNORMAL FLOWER AND GRAIN 1* Encodes *OsmADS6* and Determines Palea Identity and Affects Rice Grain Yield and Quality [J]. *Science China Life Sciences*, 2020, 63(2): 228-238.
- [26] NIU B, ZHANG Z, ZHANG J, et al. The Rice LEC1-Like Transcription Factor *OsnNF-YB9* Interacts with SPK, an Endosperm-Specific Sucrose Synthase Protein Kinase, and Functions in Seed Development [J]. *The Plant Journal*, 2021, 106(5): 1233-1246.
- [27] ZHU X, LIANG W, CUI X, et al. Brassinosteroids Promote Development of Rice Pollen Grains and Seeds by Triggering Expression of Carbon Starved Anther, a MYB Domain Protein [J]. *The Plant Journal*, 2015, 82(4): 570-581.
- [28] FENG Z, WU C, WANG C, et al. SLG Controls Grain Size and Leaf Angle by Modulating Brassinosteroid Homeostasis in Rice [J]. *J Exp Bot*, 2016, 67(14): 4241-4253.
- [29] HUANG K, WANG D, DUAN P, et al. *WIDE AND THICK GRAIN 1*, which Encodes an Otubain-Like Protease with Deubiquitination Activity, Influences Grain Size and Shape in Rice [J]. *The Plant Journal*, 2017, 91(5): 849-860.
- [30] YUAN H, QIN P, HU L, et al. *OsSPL18* Controls Grain Weight and Grain Number in Rice [J]. *J Genet Genomics*, 2019, 46(1): 41-51.
- [31] ZHANG L, WANG R, XING Y, et al. Separable Regulation of *POW1* in Grain Size and Leaf Angle Development in Rice [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(12): 2517-2531.
- [32] LI Z K, FU B Y, GAO Y M, et al. Genome-Wide Introgression Lines and Their Use in Genetic and Molecular Dissection of Complex Phenotypes in Rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Molecular Biology*, 2005, 59(1): 33-52.
- [33] CHEN J, WANG J, CHEN W, et al. Metabolome Analysis of Multi-Connected Biparental Chromosome Segment Substitution Line Populations [J]. *Plant Physiol*, 2018, 178(2): 612-625.