

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2025.07.002

李巧龙, 向奥妮, 李璐, 等. 水稻 CSSL-Z454 的重要农艺性状 QTL 遗传分解与单、双片段代换系的构建 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2025, 47(7): 17-32.

水稻 CSSL-Z454 的重要农艺性状 QTL 遗传分解与单、双片段代换系的构建

李巧龙, 向奥妮, 李璐, 于兆鹏, 张瀚,
赵卓文, 张秋丽, 凌英华, 杨正林, 赵芳明

西南大学 水稻研究所/农业科学研究院/南方山地农业教育部工程中心, 重庆 400715

摘要: 产量性状属于典型的数量性状, 将其 QTL 定位并遗传分解到单片段代换系(SSSL)中, 不仅能对其关键基因进行图位克隆和功能解析, 还可将有利等位 QTL 和不利 QTL 分开, 便于进一步实现设计育种。以粳型日本晴为遗传背景的携带来自籼型恢复系西恢 18 的含 4 个代换片段的 CSSL-Z454 为研究材料, 通过日本晴/Z454 的 F_2 代群体鉴定出 8 个重要性状 QTL, 包括 1 个株高 QTL($qPH12$)、1 个一次枝梗数 QTL($qNPB6$)、2 个穗长 QTL($qPL6$ 和 $qPL12$)、2 个粒长 QTL($qGL6$ 和 $qGL12$)、1 个长宽比 QTL($qRLW12$)和 1 个千粒质量 QTL($qGWT12$); 进一步利用 MAS 法将这些 QTL 分解到了 4 个单片段代换系(S1-S4)和 5 个双片段代换系(D1-D5)上。此外, 通过 5 个双片段代换系(DSSLs)和对应的 SSSLs 进行了 9 个性状的非等位 QTL 间的互作分析, 结果表明: 有些 QTL 独立遗传, 有些 QTL 间产生了不同的负向上位性效应, 这些遗传信息对筛选合适的 QTL 进行设计育种至关重要。

关键词: 水稻; 农艺性状 QTL; 染色体片段代换系; 加性效应;

上位性效应

中图分类号: S511

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2025)07-0017-16

QTL Genetic Decomposition of Important Agronomic Traits of Rice CSSL-Z454 and the Construction of Single and Dual-substitution Fragment Substitution Lines

LI Qiaolong, XIANG Aoni, LI Lu, YU Zhaopeng,
ZHANG Han, ZHAO Zhuowen, ZHANG Qiuli,
LING Yinghua, YANG Zhenglin, ZHAO Fangming

收稿日期: 2024-04-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(32072039); 重庆市自然科学基金面上项目(CSTB2023NSCQ-MSX0124)。

作者简介: 李巧龙, 硕士研究生, 主要从事水稻分子育种研究。

通信作者: 赵芳明, 教授, 博士研究生导师。

Rice Research Institute, Southwest University / Academy of Agricultural Science / Engineering Research Center of South Upland Agriculture, Ministry of Education, Chongqing 400715, China

Abstract: Yield traits belong to typical quantitative traits. Quantitative trait locus (QTL) mapping and dissecting them into single segment substitution line (SSSL) can not only map-based clone and functional analysis of key genes, but also separate favorable and unfavorable QTLs, which is convenient for further achieving breeding by design. In this study, a rice CSSL-Z454 which carried four substitution segments from indica Xihui18 in the background of Nipponbare, was used as material. By QTL mapping using a F_2 population of Nipponbare/Z454, 8 QTLs for important traits were identified, including one for plant height ($qPH12$), one for number of primary branches ($qNPB6$), two for panicle length ($qPL6$ and $qPL12$), two for grain length ($qGL6$ and $qGL12$), one for ratio of grain length to width ($qRLW12$) and one for 1000-grain weight ($qGWT12$). Furthermore, these QTLs were dissected into four single-fragment substitution lines (S1-S4) and five dual-segment substitution lines (D1-D5) by marker-assisted selection. In addition, analysis of interaction between non-allelic QTLs for nine traits was carried out with 5 DSSLs and their corresponding SSSLs. The results showed that some QTLs displayed independent inheritance and some QTLs produced different negative epistatic interaction. These information are very important for screening suitable QTLs in breeding by design.

Key words: rice(*Oryza sativa* L.); agronomic traits QTL; chromosome segment substitution line; additive effect; epistasis effect

水稻作为世界 3 大粮食作物之一,对于维持国家粮食安全和世界和平具有重要意义。水稻最主要的作用便是利用其丰富且易消化的淀粉作为主食,为人类提供日常的能量所需。在世界范围内,大米提供了 27% 的膳食能量供应和 20% 的膳食蛋白质摄入。仅在亚洲,就有超过 20 亿人从大米及其衍生产品中获得 60%~70% 的能量摄入。据联合国粮食农业组织(<https://www.fao.org/faostat/zh/#data>)2023 年数据显示,中国作为世界第一人口大国,水稻总产为世界第 11,因此对于养活 14.1 亿人口和保障粮食战略安全的中国,提高产量仍然是水稻育种的重点。

水稻产量的关键决定因素包括植物形态、穗结构和粒型特征等。这些产量特性相辅相成,共同决定总产量。就单株水稻而言,分析水稻植株形态(如分蘖数、株高、分蘖角度、叶形、茎叶角度和穗类型)和籽粒形成(如花/穗发育和种子发育),对水稻产量性状的分子设计和育种都有重要意义。这项工作需要对控制水稻主要产量性状的相关基因的复杂调控网络进行全面分析,挖掘关键产量相关基因或数量性状位点(QTL)。分子标记辅助选择在水稻育种中的应用已有多,促使了染色体片段代换系(chromosome segment substitution lines, CSSL)的构建和许多 QTL 的鉴定^[1]。迄今为止,许多与籽粒长度相关的 QTL 已在水稻中克隆,包括 $GS3$ 、 $qGL3$ 、 $GL4$ 、 $TGW6$ 、 $GL7$ 等。 $GS3$ 是水稻中第一个调节粒长和粒质量的 QTL^[2-3]。 $qGL3/GL3.1$ 编码 PPKL 蛋白磷酸酶家族的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶,可通过去磷酸化底物调节细胞周期蛋白,从而控制水稻籽粒的长度和产量^[4]。 $GL4$ 位于 4 号染色体上,来自长粒的非洲水稻(*Oryza glaberrima* Steud.),能够调节外层和内层胶质的纵向细胞伸长^[5]。 $TGW6$ 编码具有吲哚-3-乙酸(IAA)-葡萄糖水解酶活性的新型蛋白质,日本晴 $tgw6$ 等位基因通过控制籽粒 IAA 供应和限制细胞数量调控水稻的籽粒大小^[6]。 $GL7$ 是控制水稻粒长的主要 QTL,位于 7 号染色体上,编码与拟南芥 $LONGFOLIA$ 同源的蛋白质。上调 $GL7$ 的表达水平,使颖壳细胞纵向伸长,从而增加水稻粒长并改变其外观品质^[7]。 $GS5$ 编码丝氨酸羧肽酶,正向调节籽粒大小^[8], $GS5$ 启动子区域中的两个关键 SNPs 影响

其在幼穗中的表达差异, 进一步决定了籽粒大小的差异^[9]。GLW7 编码 OsSPL13 蛋白, 主要通过增加细胞体积使籽粒变大^[10]。GS9 编码未知保守功能域的蛋白质, 通过改变细胞分裂来调节籽粒形状^[11]。qLGY3 编码转录因子 OsMADS1, 是 G 蛋白 β - γ 二聚体下游的关键效应子能够产生更长的籽粒^[12]。OsLG3 是 ERF 家族转录因子的成员, 能正向调控水稻籽粒长度, 对籽粒品质无影响^[13]。GL12 可能参与了调节粒长和粒质量的 GS2 通路, 通过提高灌浆率和受精后颖壳的细胞长度来提高粒长与粒质量^[14]。综上所述, 通过 QTL 或突变基因的克隆对水稻粒型等重要性状的遗传机制加以解析, 对于水稻的育种和栽培具有极其重要的意义。

然而, 这些机制间还存在诸多知识间隙, 许多假设也还需进一步证明, 许多微效 QTL 还没有鉴定出来, 而微效 QTL 的鉴定需要更精细的次级作图群体才可完成^[15]。这些次级作图群体的构建对后基因组时代的设计育种和微效基因的遗传解析是非常必要的。染色体片段代换系(CSSL)就属于这样的群体。CSSL 通常以生产上优良纯合品种作为受体亲本, 通过高代回交结合全基因组分子标记辅助选择(MAS)获得, 每个 CSSL 携带来自供体的 1 个或少量来自供体亲本的代换片段^[16]。当 CSSL 仅含唯一 1 个供体亲本的代换片段时被称为单片段代换系(single segment substitution lines, SSSL)。利用 SSSL 进行 QTL 定位具有明显的优势, 其准确度和灵敏度较高, 定位结果实用性强, 可直接用于育种实践^[17], 但单片段代换系的构建需多年连续不断的选择才能完成。本研究以含 4 个代换片段 CSSL-Z454 的衍生系进行相关性状的 QTL 定位, 构建单片段代换系(SSSL)与双片段代换系(DSSL)进行 QTL 验证和 QTL 间的上位性互作分析, 旨在为后续新 QTL 的图位克隆及分子机制解析奠定基础, 同时也为水稻分子设计育种提供可靠的遗传信息和遗传资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

主要试验材料为含 4 个代换片段的 CSSL-Z454。Z454 是通过分子标记辅助选择法从日本晴与 6 代换片段 CSSL-Z744 杂交后代 F₄ 代中选育而成的。Z744 是以日本晴为受体亲本、自育籼稻恢复系西恢 18 为供体亲本, 通过全基因组 429 个分子标记辅助选择技术结合高代回交和自交选育而成^[18]。QTL 定位群体是由日本晴与 Z454 杂交构建的由 130 个单株组成的次级 F₂ 代分离群体, 次级片段代换系构建材料为依据 QTL 定位结果从 F₂ 代分离群体中选出的 9 个单株。

1.2 试验方法

1.2.1 田间种植方法

2021 年 6 月, 在西南大学水稻研究所实验基地利用受体亲本日本晴与 Z454 杂交获得杂交种。同年 8 月种植于海南陵水基地, 收获日本晴/Z454 的 F₁ 代种子。2022 年 3 月, 于重庆实验基地播种日本晴、Z454 与日本晴/Z454 的 F₁ 代种子(自交产生 F₂ 代)。同年 4 月中旬以株距 16.5 cm、行距 26.4 cm 为标准, 移栽亲本 30 株、F₂ 代 130 株至同一试验田中。2023 年 3—4 月中旬, 于重庆实验基地种植日本晴、Z454 和从 F₂ 代中选出的 9 个单株(种植为 9 个株系)各 30 株, 种植方式同 2022 年, 参照重庆当地种植方法管理。

1.2.2 重要农艺性状考察

待 7 月中旬籽粒完全成熟后, 选取日本晴、Z454 小区内中间 2 行 3~7 株共 10 个单株, 及 F₂ 代 130 株进行收割。参照 Wang 等^[19]的方法对亲本与 F₂ 代群体的株高、有效穗数、一次枝梗数、二次枝梗数、穗长、粒长、粒宽、长宽比和千粒质量共 9 个性状进行考察, 使用 Excel 2016 进行平均数、标准差计算, 对日本晴和 Z454 各性状等进行 *t* 检验。

1.2.3 QTL 定位

移栽 2 周后,从每个 F_2 代单株及日本晴、Z454 和西恢 18 中取 2 片叶,通过 CTAB 法提取 DNA 作为模板,以 Z454 代换片段中的 10 个多态性 SSR 标记作为 PCR 的引物,依据 Zhao 等^[20]描述的方法进行 PCR 扩增与 10% 聚丙烯凝胶电泳。将受体亲本日本晴的带型读作“-1”,Z454 的带型读作“1”,杂合带型读作“0”;然后对 F_2 代 130 株的基因型,结合对应的表型数据,利用 SAS 9.3 统计软件的混合线性模型(mixed linear model, MLM)法进行 QTL 定位,以阈值 $p < 0.05$ 判断是否存在控制某一性状的 QTL^[20]。

1.2.4 次级单片段代换系和双片段代换系的培育

根据 2022 年的 QTL 定位结果,从 F_2 代中选出含有目标 QTL 的代换标记和 0~1 个杂合标记的 9 个单株,在 2023 年种植为 9 个株系自交,每一个株系取 20 个单株的叶片提取 DNA,并利用 MAS 对目标代换片段标记和杂合标记进行筛选,根据标记带型选出纯合单片段代换系(S1-S4)和双片段代换系(D1-D5)。

对于 2022 年无杂合标记的单、双片段代换系和日本晴,在植株成熟后,选取各小区内中间 2 行 3~7 株共 10 个单株进行收割;对于该年含 1 个杂合标记的单、双片段代换系,2023 年收取所有该标记纯合且与日本晴一致的株系。采用同样的方法测定 9 个 F_2 代鉴定出 QTL 的农艺性状。

1.2.5 基于单片段代换系的 QTL 验证和加性效应分析

对任意 1 个 $SSSL_i$,提出假设 H_0 : 其代换片段不存在控制某一性状的 QTL。对每个 $SSSL$ 和受体亲本日本晴的某一性状在 SPSS 25.0 中进行 ONE-WAY ANOVA 和 Duncan 多重比较,当 $p < 0.05$ 时,表明假设不成立,即 $SSSL_i$ 的代换片段存在控制某一性状的 QTL。在特定环境条件下,日本晴的遗传模型为:

$$P_0 = \mu_0 + \epsilon \quad (1)$$

单片段代换系的遗传模型为:

$$P_i = \mu_0 + a_i + \epsilon \quad (2)$$

式中: P_i 和 P_0 分别表示 $SSSL_i$ 和日本晴的表型值; μ_0 为日本晴某一性状的表型值; a_i 为 QTL 的加性效应; ϵ 为残差。

该 QTL 的加性效应(a_i)为:

$$a_i = \frac{P_i - P_0}{2} \quad (3)$$

即认为表型差值的一半被估算为由遗传引起,所有计算均在 Excel 2016 中进行。

1.2.6 基于双片段代换系的上位性效应分析

对任意 1 个 $DSSL_{ij}$ 提出假设 H_0 : 位于“ i ”和“ j ”2 个代换片段的 QTL 之间不存在上位性效应,即属于独立遗传,可表示为“ $2+0=1+1$ ”。使用 SPSS 25.0 的 TWO-WAY ANOVA 和 Duncan 多重比较对日本晴、 $SSSL_i$ 、 $SSSL_j$ 和 $DSSL_{ij}$ 的每一性状值进行双因素方差分析。当 $p < 0.05$ 时,则假设不成立。当 Q_i 的主体间效应分析 $p < 0.05$ 时,表示 i 代换片段具有控制某一性状的 QTL,当 Q_j 的主体间效应分析 $p < 0.05$ 时,表示 j 代换片段具有控制某一性状的 QTL,当 $Q_i \times Q_j$ 的主体间效应分析 $p > 0.05$ 时,接受 H_0 ,表明这两个 QTL 属于独立遗传;当 $p < 0.05$ 时,则拒绝 H_0 ,表明位于“ i ”和“ j ”代换片段的 Q_i 和 Q_j 间存在上位性效应,即“ $2+0 \neq 1+1$ ”。因此,

$SSSL_i$ 的遗传模型为:

$$P_i = \mu_0 + a_i + \epsilon \quad (4)$$

$SSSL_j$ 的遗传模型为:

$$P_j = \mu_0 + a_j + \epsilon \quad (5)$$

DSSL_{ij} 的遗传模型为:

$$P_{ij} = \mu_0 + a_i + a_j + I_{ij} + \epsilon \tag{6}$$

式中: P_i 为 SSSL_i 的表型值; P_j 为 SSSL_j 的表型值; a_i 和 a_j 分别为代换片段 i 和 j 的 QTL 加性效应; I_{ij} 为代换片段 i 和 j 之间的上位性效应。上位性效应(I)为:

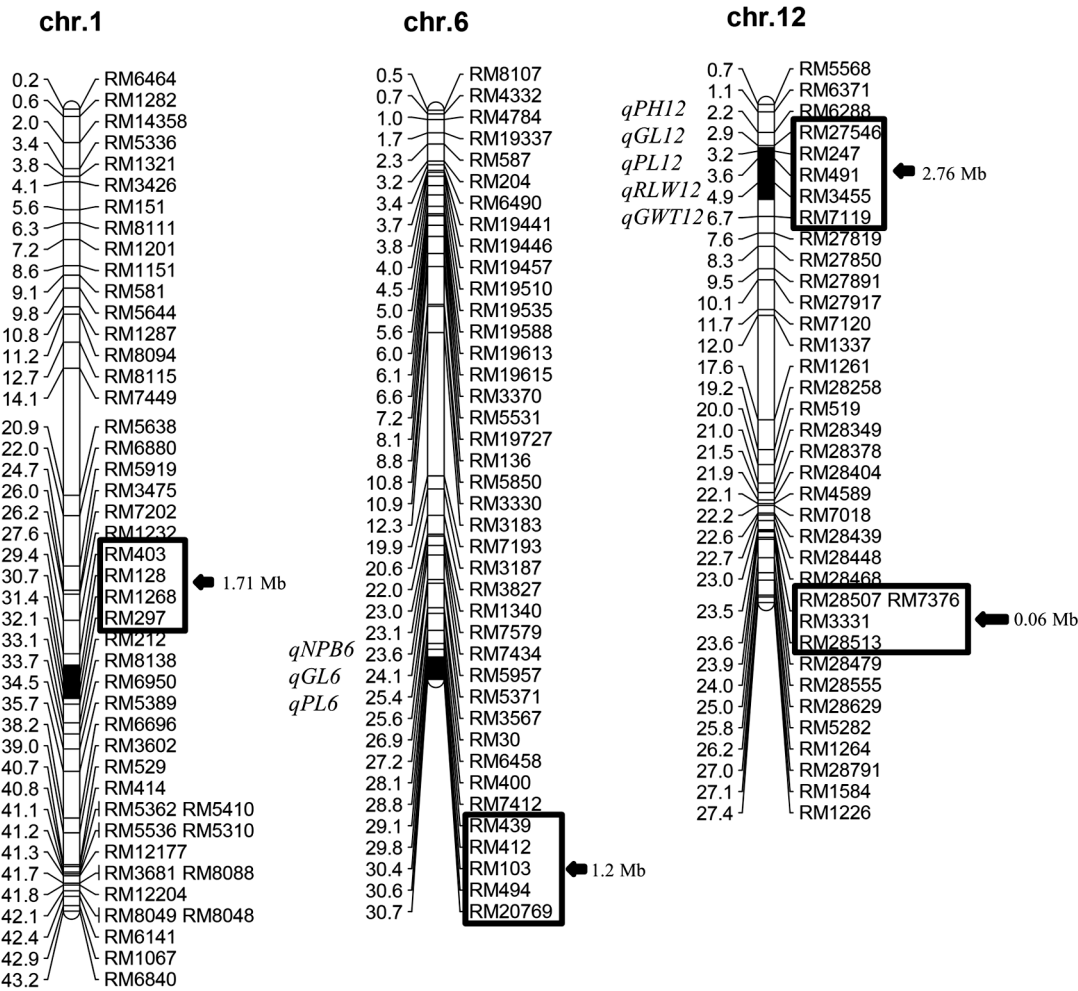
$$I = \frac{(P_0 + P_{ij}) - (P_i + P_j)}{2} \tag{7}$$

即其表型差值的一半被估算为由遗传引起。

2 结果与分析

2.1 CSSL-Z454 代换片段的鉴定

在前期选育得到含有 4 个代换片段 Z454 的基础上, 本研究以代换片段上所有 10 个多态性 SSR 标记及代换片段外的 18 个 SSR 标记, 用 10 株 Z454 植株对其代换片段和遗传背景纯度进行检测。结果表明, 在所有植株中均含有 4 个一致的代换片段, 且未检测到西恢 18 片段的其他残留片段。Z454 的 4 个代换片段分别位于水稻的 1、6 和 12 号染色体上, 总代换长度为 5.73 Mb, 其中最长的代换片段长度为 2.76 Mb, 最短的为 0.06 Mb, 平均为 1.43 Mb(图 1)。



在每条染色体的左侧都标记了物理距离(Mb)和已定位的 QTLs。标记和代换长度(黑色箭头方向)显示在每条染色体的右侧。PH 为株高, PL 为穗长, NPB 为一次枝梗数, GL 为粒长, RLW 为长宽比, GWT 为千粒质量。

图 1 Z454 中的代换片段和检测到的 QTL

2.2 Z454 和日本晴的表型分析

鉴于 Z454 与日本晴仅存在 4 个代换片段的差异,因此它们的株型整体相似(图 2a)。与日本晴相比,Z454 的株高(94.14 cm)显著高于日本晴(84.32 cm),提高了 11.65%(图 2a、2e)。Z454 单株有效穗数(8.78)显著少于日本晴(14.11),减少了 37.78%(图 2a、2f)。Z454 的穗长(27.44 cm)比日本晴(20.38 cm)显著增加了 34.64%(图 2b、2g)。Z454 的粒长(8.01 mm)和粒宽(3.59 mm)比日本晴(7.28 mm、3.34 mm)分别增加了 10.03%和 7.48%,均达 0.01 的统计水平(图 2c、2d、2j、2k)。Z454 与日本晴的一次枝梗数、二次枝梗数、长宽比和千粒质量差异均无统计学意义(图 2h、2i、2l、2m)。

2.3 Z454 的代换片段上携带的水稻重要农艺性状 QTL

以日本晴和 Z454 杂交构建的次级 F₂ 代作为 QTL 定位群体,共鉴定出 8 个水稻重要农艺性状的 QTL,分布在第 6 和第 12 号染色体上,解释了表型变异的 4.39%~32.68%(表 1)。这些 QTL 为 1 个控制株高的 *qPH12*、1 个控制一次枝梗数的 *qNPB6*、2 个控制穗长的 *qPL6* 和 *qPL12*、2 个控制粒长的 *qGL6* 和 *qGL12*、1 个控制长宽比的 *qRLW12* 和 1 个控制千粒质量的 *qGWT12*。*qNPB6*、*qPL6*、*qGL6* 均与第 6 号染色体的 RM494 紧密连锁,来自西恢 18 的等位基因的加性效应分别增加了 0.40 个一次枝梗数、0.82 cm 的穗长和 0.08 mm 的粒长,分别解释了 14.11%、11.89%和 12.37%的表型变异。*qPH12*、*qPL12*、*qGL12*、*qRLW12* 和 *qGWT12* 均与第 12 号染色体的 RM247 紧密连锁,来自西恢 18 的等位基因加性效应分别增加了 0.76 cm 的株高、0.95 cm 的穗长、0.13 mm 的粒长、0.03 的长宽比和 0.06 g 的千粒质量,分别解释了 4.39%、15.48%、32.68%、6.03%和 5.65%的表型变异。

表 1 日本晴/Z454 次级 F₂ 代群体鉴定的相关性状的 QTL

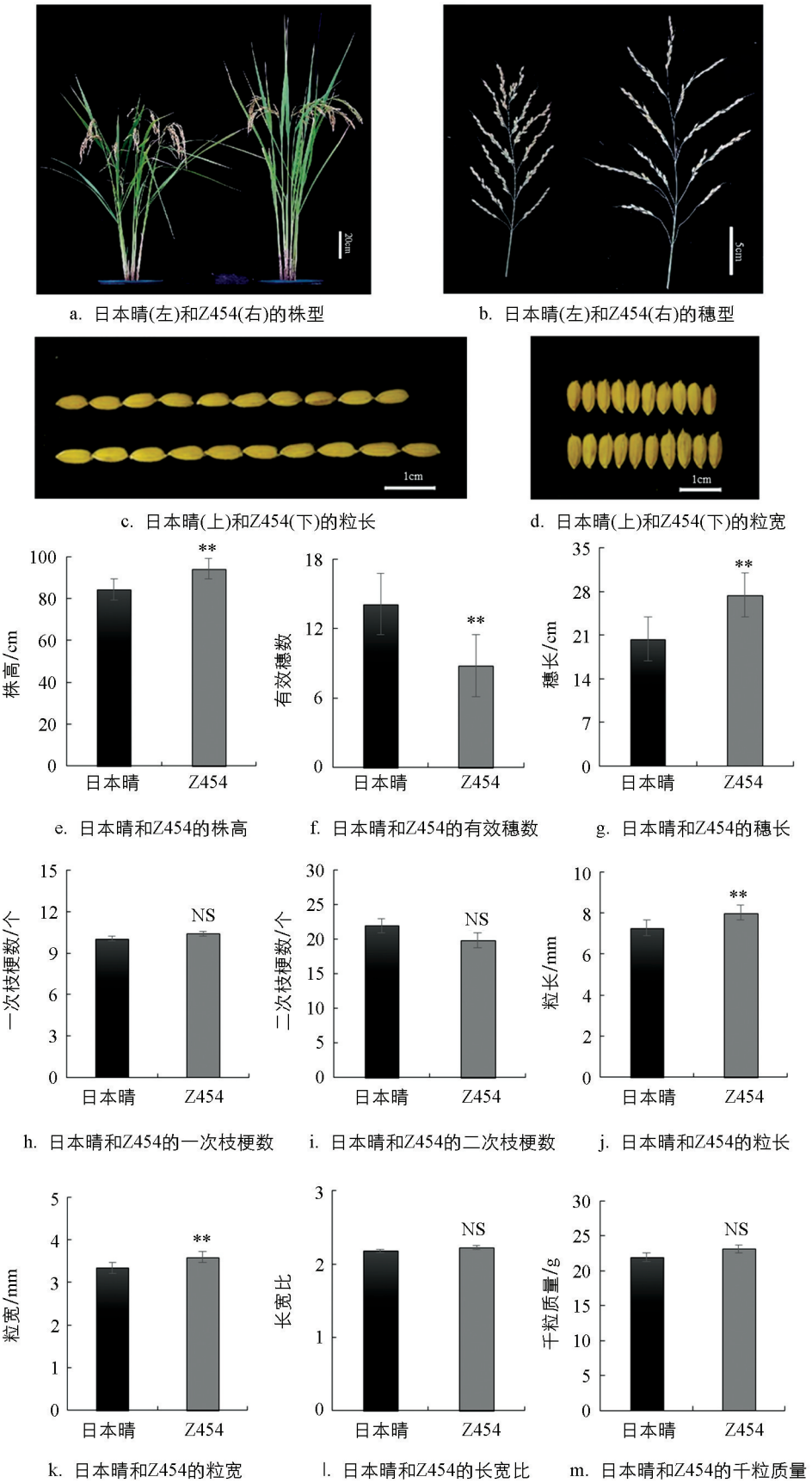
性状	QTL	染色体	连锁标记	加性效应	贡献率/%	<i>p</i> 值
株高/cm	<i>qPH12</i>	12	RM247	0.76	4.39	0.042 5
一次枝梗数/个	<i>qNPB6</i>	6	RM494	0.40	14.11	0.001 9
穗长/cm	<i>qPL6</i>	6	RM494	0.82	11.89	0.005 4
	<i>qPL12</i>	12	RM247	0.95	15.48	0.001 4
粒长/mm	<i>qGL6</i>	6	RM494	0.08	12.37	0.005 5
	<i>qGL12</i>	12	RM247	0.13	32.68	<0.001 0
长宽比	<i>qRLW12</i>	12	RM247	0.03	6.03	0.032 8
千粒质量/g	<i>qGWT12</i>	12	RM247	0.06	5.65	0.027 3

2.4 次级单、双片段代换系的选育

根据 F₂ 代的 QTL 定位结果,通过 MAS 在 F₃ 代中共构建了 4 个单片段代换系(SSSL, S1-S4)和 5 个双片段代换系(DSSL, D1-D5)。S1 在第 12 号染色体上携带 1 个代换片段(RM27546-RM247-RM7119)。S2 在第 6 号染色体上携带 1 个代换片段(RM439-RM494-RM20769)。S3 在第 1 号染色体上携带 1 个代换片段(RM403-RM128-RM1268-RM297)。S4 在第 12 号染色体上携带 1 个代换片段(RM28507-RM7376-RM3331-RM28513)。双片段代换系 D1 包含 S2 和 S4 的代换片段,D2 包含 S2 和 S3 的代换片段,D3 包含 S1 和 S3 的代换片段,D4 包含 S3 和 S4 的代换片段,D5 包含 S1 和 S2 的代换片段(图 3)。

2.5 基于单片段代换系(S1-S4)的 9 个性状 QTL 鉴定与加性效应分析

在单片段代换系 S1-S4 中,共鉴定到了 13 个重要农艺性状的 QTL(图 4),包括 4 个粒长 QTL(*qGL12-1*、*qGL6*、*qGL1*、*qGL12-2*),4 个长宽比 QTL(*qRLW12-1*、*qRLW6*、*qRLW1*、*qRLW12-2*),2 个千粒质量 QTL(*qGWT12-1*、*qGWT1*),1 个株高 QTL(*qPH1*),2 个穗长 QTL(*qPL12-1*、*qPL1*),其中 5 个 QTL (*qGL12-1*、*qPL12-1*、*qRLW12-1*、*qGWT12-1* 和 *qGL6*)同时也能在 F₂ 代群体中检测到,表明其遗传受环



* 表示 $p < 0.05$, ** 表示 $p < 0.01$, 差异有统计学意义; NS 表示 $p > 0.05$, 差异无统计学意义。

图 2 日本晴与 Z454 的株型和粒型分析

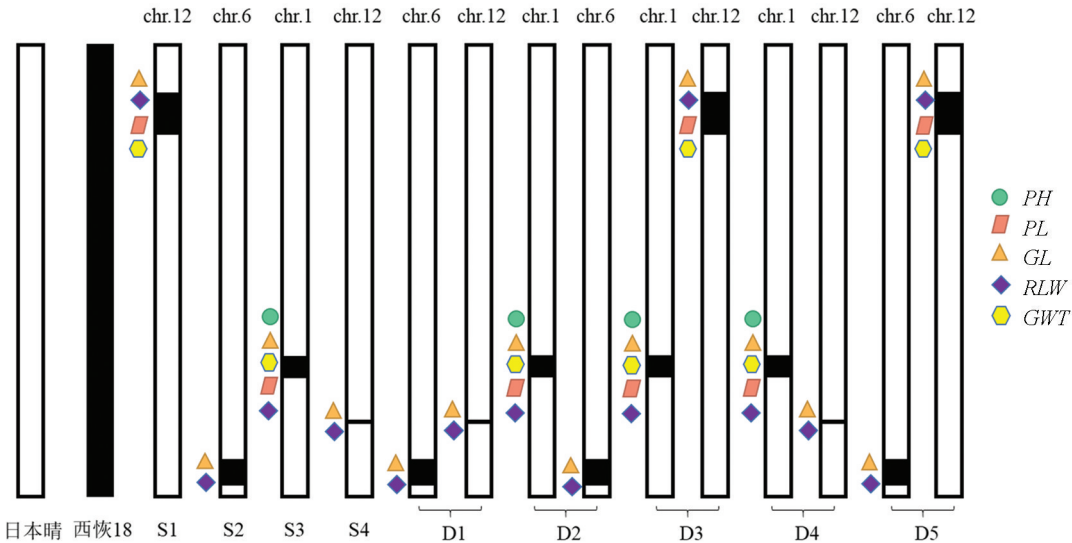


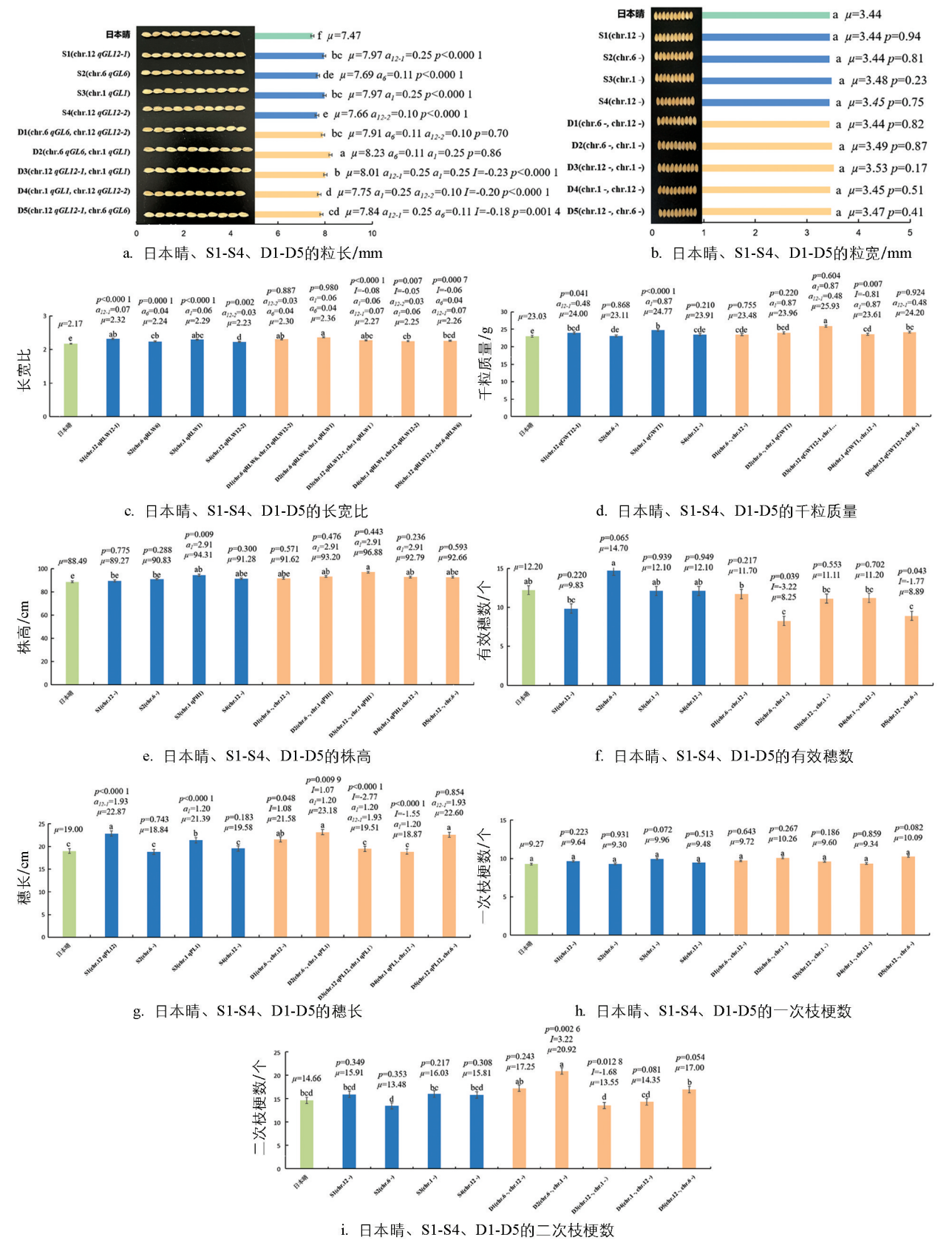
图 3 S1-S4 和 D1-D5 中代换片段和 QTL 位置示意图

境影响较小，年际间遗传稳定。 $qPH12$ 、 $qNPB6$ 、 $qPL6$ 未能被相应的单片段代换系验证，暗示它们可能与环境的互作效应较大。此外，8 个 QTL($qRLW6$ 、 $qPH1$ 、 $qGL1$ 、 $qGWT1$ 、 $qPL1$ 、 $qRLW1$ 、 $qGL12-2$ 、 $qRLW12-2$)仅在单片段代换系中被检测到，表明 SSSL 具有比 F_2 代更高的 QTL 检测效率。

含有 $qGL12-1$ ($a = 0.25$ mm) 的 S1、 $qGL6$ ($a = 0.11$ mm) 的 S2、 $qGL1$ ($a = 0.25$ mm) 的 S3 和 $qGL12-2$ ($a = 0.10$ mm) 的 S4 的粒长 (7.97 mm、7.69 mm、7.97 mm 和 7.66 mm) 均比日本晴的粒长 (7.47 mm) 显著增加 (图 4a)。不含粒宽 QTL 的 S1、S2、S3 和 S4 的粒宽 (3.44 mm、3.44 mm、3.48 mm、3.45 mm) 与日本晴 (3.44 mm) 差异无统计学意义 (图 4b)。分别携带 $qRLW12-1$ ($a = 0.073$)、 $qRLW6$ ($a = 0.035$)、 $qRLW1$ ($a = 0.061$) 和 $qRLW12-2$ ($a = 0.029$) 的 S1、S2、S3 和 S4 的长宽比 (2.32、2.24、2.29、2.23) 均比日本晴 (2.17) 显著增加 (图 4c)。分别含有 $qGWT12-1$ ($a = 0.48$ g) 和 $qGWT1$ ($a = 0.87$ g) 的 S1 和 S3 的千粒质量 (24.00 g 和 24.77 g) 均比日本晴 (23.03 g) 显著增加，而不含该性状 QTL 的 S2 和 S4 的千粒质量 (23.11 g、23.91 g) 与日本晴差异无统计学意义 (图 4d)。携带 $qPH1$ ($a = 2.91$ cm) 的 S3 的株高 (94.31 cm) 比日本晴的株高 (88.49 cm) 显著增加，而不含该性状 QTL 的 S1、S2 和 S4 的株高 (89.27 cm、90.83 cm、91.28 cm) 与日本晴差异无统计学意义 (图 4e)。不含有效穗数 QTL 的 S1、S2、S3 和 S4 的有效穗数 (9.83 个、14.7 个、12.1 个、12.1 个) 与日本晴 (12.2 个) 差异无统计学意义 (图 4f)。分别含有 $qPL12-1$ ($a = 1.93$ cm) 和 $qPL1$ ($a = 1.20$ cm) 的 S1 和 S3 的穗长 (22.87 cm、21.39 cm) 均比日本晴的穗长 (19.00 cm) 显著增加，而不含该性状 QTL 的 S2 和 S4 的穗长 (18.84 cm、19.58 cm) 与日本晴差异无统计学意义 (图 4g)。无携带一次枝梗数 QTL 和二次枝梗数 QTL 的 S1-S4 与日本晴差异无统计学意义 (图 4h、4i)。

2.6 基于双片段代换系 (D1-D5) 的 9 个性状非等位 QTL 间的上位性效应分析

粒长 $qGL6$ ($a = 0.11$ mm) 与 $qGL12-2$ ($a = 0.10$ mm) 在双片段代换系 D1 中独立遗传，则 D1 的粒长遗传效应为 0.21 mm。此时，D1 的粒长 (7.91 mm) 比含 $qGL12-2$ 的 S4 和含 $qGL6$ 的 S2 (7.66 mm、7.69 mm) 显著增长 (图 4a)。 $qGL6$ ($a = 0.11$ mm) 与 $qGL1$ ($a = 0.25$ mm) 在 D2 中也属独立遗传，因此 D2 的粒长遗传效应为 0.36 mm。在表型上，D2 的粒长 (8.23 mm) 均显著高于分别含有 $qGL6$ 和 $qGL1$ 的 S2 和 S3 (7.69 mm、7.97 mm) (图 4a)。 $qGL12-1$ ($a = 0.25$ mm) 与 $qGL1$ ($a = 0.25$ mm) 聚合



柱子上方小写字母不同表示 $p < 0.05$, 差异有统计学意义; μ 为各株型性状的平均值, a_i 为 QTL 的加性效应, I 为 QTL 间的上位性效应。单片段代换系的 $p < 0.05$ 表示 SSSL 的代换片段上存在 QTL。双片段代换系的 $p < 0.05$ 表示 DSSL_{ij} 的 2 个代换片段 QTL 间存在上位性互作。

图 4 日本晴、S1-S4、D1-D5 重要农艺性状 QTL 的加性和上位性效应

后产生了一0.23 mm 的上位性效应,使 D3 的粒长在遗传上增加了 0.27 mm,与二者的加性效应相当,因此 D3 的粒长(8.01 mm)显著大于日本晴(7.47 mm),而与分别含有 *qGL12-1* 和 *qGL1* 的 S1 和 S3(7.97 mm、7.97 mm)差异无统计学意义(图 4a)。*qGL12-2* ($a=0.10$ mm)与 *qGL1* ($a=0.25$ mm)聚合后产生了一0.20 mm 的上位性效应,据 DSSL 遗传模型, D4 的粒长遗传效应为 0.15 mm,因此 D4 的粒长(7.75 mm)正好介于含有 *qGL12-2* 的 S4(7.66 mm)和含有 *qGL1* 的 S3(7.97 mm)之间,比前者显著增长,而比后者显著缩短(图 4a)。*qGL12-1* ($a=0.25$ mm)与 *qGL6* ($a=0.11$ mm)聚合后产生了一0.18 mm 的上位性效应,使 D5 的粒长在遗传上增加了 0.18 mm,因此 D5 的粒长(7.84 mm)也分别介于含有 *qGL12-1* 和 *qGL6* 的 S1(7.97 cm)和 S2(7.69 mm)之间,但三者间差异无统计学意义(图 4a)。

长宽比 *qRLW6* ($a=0.04$)与 *qRLW12-2* ($a=0.03$)在 D1 中独立遗传,则 D1 的籽粒长宽比遗传效应为 0.07,在表型上, D1 的长宽比(2.30)显著大于日本晴(2.17)和含有 *qRLW12-2* 的 S4(2.23),而比含有 *qRLW6* 的 S2(2.24)虽有增加,但差异无统计学意义(图 4c)。*qRLW6* ($a=0.04$)与 *qRLW1* ($a=0.06$)在 D2 中也属独立遗传,则 D2 的长宽比遗传效应为 0.10;此时, D2 的长宽比(2.36)显著大于日本晴(2.17)和含有 *qRLW6* 的 S2(2.24),而与含有 *qRLW1* 的 S3(2.29)差异无统计学意义(图 4c)。*qRLW12-1* ($a=0.07$)与 *qRLW1* ($a=0.06$)聚合后产生了一0.08 的上位性效应,使 D3 的长宽比在遗传上增加了 0.05,因此 D3 的长宽比(2.27)小于含有 *qRLW12-1* 和 *qRLW1* 的 S1(2.32)及 S3(2.29),且差异无统计学意义(图 4c)。*qRLW12-2* ($a=0.03$)与 *qRLW1* ($a=0.06$)聚合后产生了一0.05 的上位性效应,使 D4 的长宽比在遗传上增加了 0.04,导致 D4 的长宽比(2.25)虽比日本晴(2.17)显著增加,但与含有 *qRLW12-2* 的 S4(2.23)和含有 *qRLW1* 的 S3(2.29)差异无统计学意义,表型值介于二者之间(图 4c)。*qRLW12-1* ($a=0.07$)与 *qRLW6* ($a=0.04$)聚合后产生了一0.06 的上位性效应,使 D5 的长宽比在遗传上增加了 0.05,导致 D5 的长宽比(2.26)显著大于日本晴(2.17),而与含有 *qRLW12-1* 的 S1(2.32)和含有 *qRLW6* 的 S2(2.24)差异无统计学意义(图 4c)。

千粒质量 *qGWT1* ($a=0.87$ g)与无该性状 QTL 的第 6 号染色体代换片段独立遗传,则 D2 的千粒质量遗传效应为 *qGWT1* 的加性效应;相应地, D2 的千粒质量(23.96 g)与含有 *qGWT1* 的 S3(24.77 g)差异无统计学意义,而显著大于日本晴(23.03 g)(图 4d)。*qGWT12-1* ($a=0.48$ g)与 *qGWT1* ($a=0.87$ g)在 D3 中独立遗传,因此 D3 的千粒质量遗传效应为 1.35 g;相应地, D3 的千粒质量(25.93 g)显著大于日本晴(23.03 g)、含有 *qGWT1* 的 S3(24.77 g)和含有 *qGWT12-1* 的 S1(24.00 g)(图 4d)。无千粒质量 QTL 的第 12 号染色体代换片段与 *qGWT1* ($a=0.87$ g)聚合后产生了一0.81 g 的上位性效应,则 D4 的千粒质量遗传效应为 0.06 g;在表型上, D4 的千粒质量(23.61 g)显著大于日本晴(23.03 g),显著小于含有 *qGWT1* 的 S3(24.77 g),表明该代换片段影响了 *qGWT1* 的加性效应(图 4d)。*qGWT12-1* ($a=0.48$ g)与无该性状 QTL 的第 6 号染色体代换片段在 D5 中独立遗传,则 D5 的千粒质量遗传效应为 0.48 g,因此 D5 的千粒质量(24.20 g)与含有 *qGWT12-1* 的 S1(24.00 g)差异无统计学意义,而显著大于日本晴(23.03 g)(图 4d)。D1 的 2 个代换片段均无该性状的 QTL,也无互作产生,在表型上, D1 的千粒质量(23.48 g)与 S2、S4 和日本晴的千粒质量(23.11 g、23.91 g、23.03 g)差异无统计学意义(图 4d)。

无株高 QTL 的第 6 号染色体代换片段、第 12 号染色体的 2 个代换片段在 D2、D3 和 D4 中均不影响株高 *qPH1* ($a=2.91$ cm)的表达,因此 D2、D3、D4 的株高遗传效应均由 *qPH1* 的加性效应决定;相应地,三者的株高(93.20 cm、96.88 cm、92.79 cm)与含有 *qPH1* 的 S3(94.31 cm)差异无统计学意义,且都显著大于日本晴的株高(88.49 cm)(图 4e)。在 D1 和 D5 中的 2 个代换片段均无株高 QTL,也无互作的发生, D1 和 D5 的株高(91.62 cm、92.66 cm)都与日本晴(88.49 cm)差异无统计学意义(图 4e)。

无有效穗数 QTL 的第 1 号染色体代换片段与无该性状 QTL 的第 6 号染色体代换片段聚合产生了一3.22 个上位性效应,因此 D2 的遗传效应为每株减少了 3.22 个有效穗;相应地, D2 的有效穗数

(8.25 个)显著少于日本晴、S3 和 S2 的有效穗数(12.20 个、12.10 个和 14.70 个)。无有效穗数 QTL 的第 12 号染色体 RM28507-RM7376-RM3331-RM28513 代换片段与无该性状 QTL 的第 6 号染色体代换片段聚合产生了一 1.77 个有效穗的上位性效应, 因此 D5 的遗传效应为一 1.77 个; 在表型上, D5 的有效穗数(8.89 个)显著小于日本晴、S1 和 S2 的有效穗数(12.20 个、9.83 个和 14.70 个)(图 4f)。D1、D3 和 D4 的 2 个代换片段均无有效穗数 QTL, 也无互作的产生, 因此三者的有效穗数(11.70 个、11.11 个、11.20 个)均与日本晴的有效穗数(12.20 个)差异无统计学意义(图 4)。

无穗长 QTL 的第 6 号染色体代换片段与第 12 号染色体代换片段在 D1 中聚合产生了 1.08 cm 的上位性效应, 因此 D1 的遗传效应为 1.08 cm; D1 的穗长(21.58 cm)显著长于日本晴、S2 和 S4 的穗长(19.00 cm、18.84 cm 和 19.58 cm)(图 4g)。无穗长 QTL 的第 6 号染色体代换片段与 *qPL1* ($a = 1.20$ cm)聚合产生了 1.07 cm 的上位性效应, 因此 D2 的遗传效应为 2.27 cm; D2 的穗长(23.18 cm)显著长于日本晴(19.00 cm)、含有第 6 号染色体代换片段的 S2(18.84 cm)和含有 *qPL1* 的 S3(21.39 cm)(图 4g)。*qPL1*2-1($a = 1.93$ cm)与 *qPL1* ($a = 1.20$ cm)聚合后产生了一 2.77 cm 的上位性效应, 因此 D3 的穗长遗传效应为 0.36 cm; 在表型上, D3 的穗长(19.51 cm)与日本晴(19.00 cm)差异无统计学意义, 而显著短于含有 *qPL1*2-1 的 S1(22.87 cm)和含有 *qPL1* 的 S3(21.39 cm)(图 4g)。无穗长 QTL 的第 12 号染色体代换片段与 *qPL1* ($a = 1.20$ cm)在 D4 中聚合产生了一 1.55 cm 的上位性效应, 使 D4 的穗长在遗传上减少了 0.35 cm; 相应地, D4 的穗长(18.87 cm)与日本晴(19.00 cm)和含有第 12 号染色体 RM28507-RM7376-RM3331-RM28513 代换片段的 S4(19.58 cm)差异无统计学意义, 而显著短于含有 *qPL1* 的 S3(21.39 cm)(图 4g)。*qPL1*2-1($a = 1.93$ cm)与无穗长 QTL 的第 6 号染色体代换片段独立遗传, 因此 D5 的遗传效应由 *qPL1*2-1 的加性效应决定; 在表型上, D5 的穗长(22.60 cm)显著长于日本晴(19.00 cm)和含有第 6 号染色体代换片段的 S2(18.84 cm), 而与含有 *qPL1*2-1 的 S1(22.87 cm)差异无统计学意义(图 4g)。

无二次枝梗数 QTL 的第 1 染色体代换片段与第 6 号染色体代换片段聚合产生了 3.22 个二次枝梗数的上位性效应, 则 D2 的遗传效应为每穗增加了 3.22 个; 相应地, D2 的二次枝梗数(20.92 个)显著大于日本晴、S3 和 S2(14.66 个、16.03 个和 13.48 个)(图 4i)。无二次枝梗数 QTL 的第 12 号染色体代换片段与第 1 染色体代换片段在 D3 中聚合产生了一 1.68 个二次枝梗数的上位性效应, 因此 D3 的遗传效应为每穗减少了 1.68 个二次枝梗数; 在表型上, D3 的二次枝梗数(13.55 个)显著小于含有第 1 染色体代换片段的 S3(16.03 个), 而比日本晴(14.66 个)和含有第 12 号染色体代换片段的 S1(15.91 个)虽有所减少, 但差异无统计学意义(图 4i)。D1、D4 和 D5 的 2 个代换片段无该性状的 QTL, 也无互作产生, 三者的二次枝梗数(17.25 个、14.35 个和 17.00 个)与日本晴(14.66 个)差异无统计学意义(图 4i)。

此外, 对于粒宽与一次枝梗数 2 个性状, 双片段代换系 D1、D2、D3、D4 和 D5 的任何 2 个代换片段均无该性状的 QTL, 也无互作发生, 这些双片段代换系与日本晴的粒宽和一次枝梗数差异均无统计学意义(图 4b、4h)。

3 讨论与结论

3.1 讨论

3.1.1 SSSL 是水稻分子设计育种和相关基因图位克隆的重要材料

随着科学技术的发展, 育种方法逐渐由传统的选择育种、杂交育种、标记辅助选择育种到如今的分子设计育种^[21]。分子设计育种相较于前 3 种方法, 不仅需要明确各基因的遗传效应, 更需要清晰多个基因之间的互作情况, 在此基础上才能够通过计算机的选择实现直接定向育种^[22]。水稻的产量属于由多个微小基因控制的复杂数量性状, 需要通过 CSSL 等作图群体将数量性状分解为单个孟德尔

因子^[16]。单片段代换系(SSSL)的构建不仅可使 QTL 定位更加准确,同时也为分子设计育种奠定了良好的基础。如 Zhang^[21]通过 HJX74-SSSL 文库的构建,实现了多个优良等位基因的快速、精准聚合,实现了多个水稻新品种的培育。然而,单片段代换系的构建过程复杂,需多年多代才能完成,在本研究中,我们首先鉴定了 1 个以日本晴作为受体亲本、西恢 18 作为供体亲本的 4 个代换片段 CSSL-Z454,然后通过日本晴/Z454 的 F₂ 代经重要性状的 QTL 和分子标记辅助选择,最后构建了含重要性状 QTL 的 4 个单片段代换系(S1-S4)和 5 个双片段代换系(D1-D5)。这些 SSSL 不仅验证了 F₂ 代鉴定的 5 个 QTL(*qGL12-1*、*qPL12-1*、*qRLW12-1*、*qGWT12-1* 和 *qGL6*),还检测到 8 个新的 QTL(*qRLW6*、*qPH1*、*qGL1*、*qGWT1*、*qPL1*、*qRLW1*、*qGL12-2*、*qRLW12-2*),表明单片段代换系由于遗传背景与受体亲本的高度一致性,极大地提高了 QTL 鉴定的精准性和检测效率。此前的许多研究已证实 SSSL 具有更高的 QTL 检测效率^[23-24]。携带 *qGL12-1*、*qGWT12-1*、*qPL12-1* 的单片段代换系 S1 粒长(7.97 mm)、千粒质量(24.00 g)和穗长(22.87 cm)比受体日本晴显著增加,而其余性状差异不大;含有 *qGL1*、*qGWT1*、*qPH1*、*qPL1* 的 S3 粒长(7.97 mm)、千粒质量(24.77 g)、株高(94.31 cm)和穗长(21.39 cm)均比日本晴显著增加,而与其他性状间差异不大;含 *qGL6* 的 S2 和含 *qGL12-2* 的 S4 的粒长(7.69 cm 和 7.66 mm)比日本晴显著增加,而与其他性状间差异无统计学意义。综上所述,单片段代换系 S1-S4 均具有不同育种的有利性状 QTL,这保证了以 SSSL 进行目标性状改良的高效性和准确性,因此 SSSL 为平台的高产分子设计育种提供了可靠的遗传基因和育种资源。

3.1.2 *qGL12-2*、*qRLW12-2* 可能是本研究新发现的 QTL

通过日本晴/Z454 的 F₂ 代和进一步分解构建的 SSSL,我们共鉴定到 13 个重要性状 QTL。通过与前人在相应区间内报道的基因相比,*DYW3* 和 *OsGATA6* 位于 *qGL1*、*qGLW*、*qGTW1*、*qPH1* 和 *qPL1* 的代换片段内,这些 QTL 均与分子标记 RM128(30.7 Mb)紧密连锁,*DYW3* (30.77 Mb)与该标记相距 0.07 Mb,*OsGATA6* (31.17 Mb)与该标记相距 1.1 Mb。*DYW3* 能够与 *FLO22* 互作,可能协同参与线粒体编辑。*DYW3* 功能的缺失会对水稻植株生长和胚乳发育造成影响,使株高降低、千粒质量下降^[25]。据功能分析,*DYW3* 可作为本研究鉴定的 *qGTW1* 和 *qPH1* 的候选基因。*OsGATA6* 能够负调控水稻抽穗期,正调控穗发育,并影响籽粒大小。在过表达 *OsGATA6* 的植株中出现抽穗延迟,一、二次枝梗数增加,每穗粒数增加,但籽粒整体变小,粒长、粒宽和千粒质量均下降的表型。*OsGATA6* 主要通过影响细胞分裂来调节籽粒大小^[26]。据功能分析,*OsGATA6* 可作为本研究鉴定 *qGL1*、*qGLW*、*qGTW1*、*qPL1* 的候选基因。*qGL6* 和 *qRLW6* 与分子标记 RM494(30.60 Mb)连锁,在此区间内发现 1 个与粒型相关的基因 *OsPRA2*。*OsPRA2* (30.33 Mb)与该标记相距 0.27 Mb,该基因的过表达会使水稻株系出现株高下降、叶倾角变小、种子整体变小和节间伸长模式异常的表型,同时对外源油菜素内酯敏感性降低,一些 BR 合成基因的表达出现上调。通过 RNAi 抑制 *OsPRA2* 表达会导致植株表现出相反的表型^[27],*OsPRA2* 可作为鉴定 *qGL6* 和 *qRLW6* 的候选基因。*qGL12-1*、*qRLW12-1*、*qGWT12-1* 和 *qPL12-1* 与分子标记 RM247 (3.19 Mb)紧密连锁,在此区间发现 1 个与粒型相关的基因 *OsYUC11*。*OsYUC11* (4.51 Mb)与该标记相距 1.32 Mb,该基因的激活与表达能够促进生长素生物合成,生长素水平的提高刺激了胚乳细胞中蔗糖代谢和淀粉合成相关基因的表达,进而增加了淀粉积累以及籽粒大小^[28]。*OsYUC11* 可作为鉴定 *qGL12-1*、*qRLW12-1*、*qGWT12-1* 和 *qPL12-1* 的候选基因,穗长的变化可能是该基因存在一因多效的现象。*qGL12-2*、*qRLW12-2* 被定位于 RM28507(23.5 Mb)-RM7376-RM3331-RM28513(23.6 Mb)区间范围内,该区间包含 *LOC_Os12g38290*、*LOC_Os12g38300*、*LOC_Os12g38310*、*LOC_Os12g38320*、*LOC_Os12g38330*、*LOC_Os12g3834*、*LOC_Os12g38350*、*LOC_Os12g38360*、*LOC_Os12g38370*、*LOC_Os12g38380*、*LOC_Os12g38400* 等 11 个基因,其中,*LOC_Os12g38400* 与水稻抗逆性密切相关^[29],其余基因无研究报道,说明 *qGL12-2*、*qRLW12-2* 可能是本研究新鉴定的 QTL,后续将对范围内的基因进行进一

步 DNA 测序。

3.1.3 多个非等位 QTL 间的互作上位性效应对分子设计育种意义重大

水稻产量性状属于典型的数量性状, 在由许多微效基因控制的同时, 多个 QTL 之间还存在着互作。Balakrishnan 等^[30]认为, 对于复杂性状, QTL 间的上位性效应是性状表现的重要遗传成分。存在互作的 QTL 数量往往大于或等于加性 QTL 的数量, 同时其大小也有灵活的变化范围。对自然遗传变异而言, 上位性效应是重要的组成部分^[31], 在最近的研究中, Cyplik 等^[32]进一步提出 QTL-QTL-QTL 三重相互作用对数量性状表达有显著的影响, 同一性状不同 QTL 在不同材料中的遗传也表现出极大的多样性^[23, 33-35]。在本研究中, 以日本晴/Z454 的 F₂ 代和进一步分解构建的 SSSL 与 DSSL 进行了多个 QTL 组合的上位性检验, 结果表明, 同一 QTL 与不同 QTL 聚合会有不同的遗传模式, 如粒长 *qGL6* 和 *qGL12-2* 与 *qGL1* 在 D1 和 D2 中均独立遗传, 相应产生的遗传效应(0.21 mm 和 0.36 mm)均明显大于各自单个 QTL 的加性效应, 因此 D1(7.91 mm)显著长于含 *qGL12-2* 的 S4 和含 *qGL6* 的 S2(7.66 cm 和 7.69 mm), D2 的粒长(8.23 mm)显著长于含有 *qGL1* 的 S3(7.97 mm)和含有 *qGL6* 的 S2(7.69 cm), 表明要想得到更长的籽粒, 可选择 *qGL6* 与 *qGL12-2* 或 *qGL1* 聚合。而 *qGL6* 与 *qGL12-1* 聚合后产生了一0.18 mm 的上位性效应, 致使 D5 的粒长遗传效应 0.18 mm 与二者的加性效应相当, 因此 D5 的粒长(7.84 mm)与含有 *qGL12-1* 和 *qGL6* 的 S1 和 S2 粒长(7.97 cm 和 7.69 mm)差异无统计学意义, 表明 *qGL6* 与 *qGL12-1* 聚合对改进粒长性状无实际意义。*qGL12-2* 与 *qGL1* 聚合后产生了一0.20 mm 的上位性效应, 致使 D4 的遗传效应 0.15 mm 介于单个 QTL 的加性效应之间, 因此 D4 的粒长(7.75 mm)显著长于含有 *qGL12-2* 的 S4(7.66 mm), 而显著短于含有 *qGL1* 的 S3(7.97 mm), 因此, 要想得到中间粒长, 可选择这两个 QTL 聚合。*qGL12-1* 与 *qGL1* 聚合也产生了一0.23 mm 的上位性效应, 致使 D3 的遗传效应 0.27 mm 与二者的加性效应相当, 因此, D3 的粒长(8.01 mm)与分别含有 *qGL12-1* 和 *qGL1* 的 S1 及 S3(7.97 cm 和 7.97 mm)差异无统计学意义, 选择这两个 QTL 聚合在改进粒长上无实际意义。由此可见, 明确每个 QTL 的加性效应及与不同 QTL 间的遗传模式, 对分子设计育种选择合适的 QTL 有重要的应用价值。

既然每个 SSSL 还含有不同性状的 QTL, 而且这些性状间还存在不同程度的相关或无关^[36-38], 因此要想达到最佳目标性状的效果, 需综合分析 DSSL 所含不同性状 QTL 间的遗传模式。鉴于 D1 的粒长 *qGL6* 和 *qGL12-2* 独立遗传, 二者聚合产生 0.21 mm 的粒长遗传效应, 使得 D1 的粒长(7.91 mm)显著增加, 达到改良粒长的效果; D1 的穗长(21.58 cm)比受体日本晴和相应的单片段代换系 S2 和 S4 穗长显著增加; 而 D1 的粒宽(3.44 mm)、千粒质量(23.48 g)、株高(91.62 cm)、有效穗数(11.70 个)、一、二次枝梗数(9.72 个和 17.25 个)与相应的单片段代换系 S2 和 S4 及受体日本晴差异无统计学意义, 因此利用 D1 或 S2 和 S4 杂交作为育种材料能够实现其余性状不变的情况下迅速改进粒长和穗长的育种目标。D2 的粒长 *qGL6* 和 *qGL1* 聚合产生的遗传效应为 0.36 mm, 明显大于 *qGL6* 和 *qGL1* 的加性效应(0.11 cm 和 0.25 mm), D2 的粒长(8.23 mm)显著长于日本晴和相应的单片段代换系 S2 和 S3; D2 的穗长(23.18 cm)和二次枝梗数(20.92 个)也均显著大于日本晴、S2 和 S3; 然而 D2 的 2 个代换片段间产生了一3.22 个有效穗数的上位性效应, 致使 D2 的有效穗数(8.25 个)显著少于日本晴、S2 和 S3, 因此以 D2 或 S2 与 S3 杂交为育种材料可在除有效穗减少外实现长粒、长穗的育种目标。D3 的粒长 *qGL12-1* 和 *qGL1* 聚合产生 0.27 mm 的遗传效应, 与二者的加性效应(0.25 mm 和 0.25 mm)相当, 其粒长(8.01 mm)与相应的单片段代换系 S1 和 S3 差异无统计学意义; D3 的千粒质量 *qGWT12-1* 和 *qGWT1* 聚合产生 1.35 g 的遗传效应, 使 D3 的千粒质量(25.93 g)比相应单片段代换系 S1 和 S3 显著增加; D3 的穗长 *qPL12-1* 和 *qPL1* 聚合产生的遗传效应为 0.36 cm, 导致 D3 的穗长(19.51 cm)与日本晴差异无统计学意义, 而显著小于 S1 和 S3; D3 的株高(96.88 cm)与含 *qPH1* 的 S3 差异无统计

学意义,但比日本晴的株高(88.49 cm)显著增加;D3 的粒宽、有效穗数、一、二次枝梗数与日本晴差异无统计学意义,因此以 D3 或 S1 与 S3 杂交为育种材料可在多数性状不变下迅速改良粒长、粒质量、穗长和株高等性状。D4 的粒长 $qGL1$ 和 $qGL12-2$ 聚合产生的遗传效应为 0.15 mm,介于 $qGL1$ 和 $qGL12-2$ 的加性效应之间,导致 D4 的粒长(7.75 mm)显著大于日本晴,短于 S3(7.97 mm)而长于 S4(7.66 mm);D4 的株高(92.79 cm)也与含 $qPH1$ 的 S3 差异无统计学意义,但显著高于日本晴。D4 的其余性状与日本晴和 S3 和 S4 间差异无统计学意义,因此以 D4 为育种材料或选择 S3 和 S4 杂交与 S3 的粒长和株高 QTL 遗传效应相当,没实际意义,在设计育种中,选择 S3 进行改良株高和粒长即可。D5 的粒长 $qGL12-1$ 和 $qGL6$ 聚合产生 0.18 mm 的遗传效应,介于 $qGL12-1$ 和 $qGL6$ 的加性效应(0.25 cm 和 0.11 mm)之间,导致 D5 的粒长(7.84 mm)与 S1 和 S2 差异无统计学意义;D5 的穗长(22.60 cm)和千粒质量(24.20 g)与含有 $qPL12-1$ 和 $qGWT12-1$ 的 S1 差异无统计学意义;此外, D5 的株高、一、二次枝梗数、粒宽等与日本晴和 S1 及 S2 差异无统计学意义,因此,以 D5 或 S1 和 S2 杂交为育种材料与 S1 无明显差异,在设计育种中,选择 S1 改良粒长、穗长和粒质量即可。由此可见,与传统育种相比,以 SSSL 为平台,可实现在非目标性状不变的情况下,目标 QTL 的精准聚合,并可较准确地预测改良性状的表型,实现快速、高效地设计育种。

3.2 结论

为构建一套覆盖水稻全基因组的粳型亲籼水稻单片段代换系文库,本研究以一个日本晴为遗传背景来自籼型恢复系西恢 18 的 4 个代换片段的 CSSL-Z454 为研究材料,通过 QTL 定位,进一步构建了 4 个单片段代换系和 5 个双片段代换系,共鉴定出 13 个水稻重要性状的 QTL,包括 4 个粒长 QTL($qGL12-1$ 、 $qGL6$ 、 $qGL1$ 、 $qGL12-2$), 4 个长宽比 QTL($qRLW12-1$ 、 $qRLW6$ 、 $qRLW1$ 、 $qRLW12-2$), 2 个千粒质量 QTL($qGWT12-1$ 、 $qGWT1$), 1 个株高 QTL($qPH1$), 2 个穗长 QTL($qPL12-1$ 、 $qPL1$), 其中, $qGL12-2$ 、 $qRLW12-2$ 可能是本研究新发现的 QTL。单片段代换系 S1-S4 均具有不同育种的有利性状 QTL,如 S1 含增加 0.25 mm 的粒长 $qGL12-1$ 、增加千粒质量 0.48 g 的 $qGWT12-1$ 和增加穗长 1.93 cm 的 $qPL12-1$ 等,而其余性状与受体差异无统计学意义,这保证了以 SSSL 进行目标性状改良的高效性和准确性。此外,经 9 个水稻重要性状 QTL 的加性和上位性效应分析表明,同一 QTL 与不同 QTL 互作会产生不同的遗传模式,如粒长 $qGL6$ 与 $qGL12-2$ 及与 $qGL1$ 在 D1 和 D2 中均独立遗传,而 $qGL6$ 与 $qGL12-1$ 在 D5 中聚合产生了一 0.18 mm 的上位性效应; $qGL12-2$ 与 $qGL1$ 在 D4 中聚合产生了一 0.20 mm 的上位性效应; $qGL12-1$ 与 $qGL1$ 在 D3 中聚合也产生了一 0.23 mm 的上位性效应,因此以 SSSL 及相应 DSSL 鉴定每个 QTL 及 QTL 间的遗传模式对设计育种非常必要。经过综合性分析,本研究发现用 D1 或 S2 和 S4 杂交作为育种材料能够实现其余性状不变的情况下迅速改进粒长和穗长的育种目标;以 D2 或 S2 与 S3 杂交为育种材料可在除有效穗减少外实现长粒、长穗的育种目标;以 D3 或 S1 与 S3 杂交为育种材料可在多数性状不变的情况下改良粒长、粒质量、穗长和株高性状;D4 和 D5 作为育种材料的效果与 S3 和 S1 相当,因此可直接用 S3 和 S1 改良粒长性状。本研究为 SSSL 平台的水稻设计育种选择合适 QTL 和 SSSL 或 DSSL 提供了可靠的理论依据和育种资源。

参考文献:

- [1] ZHONG Q Q, JIA Q W, YIN W J, et al. Advances in Cloning Functional Genes for Rice Yield Traits and Molecular Design Breeding in China [J]. Frontiers in Plant Science, 2023(14): 1206165.
- [2] FAN C C, 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.
- [3] MAO H L, SUN S Y, YAO J L, 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 of the United States of America*, 2010, 107(45): 19579-19584.
- [4] HU Z J, HE H H, ZHANG S Y, et al. A Kelch Motif-containing Serine/Threonine Protein Phosphatase Determines the Large Grain QTL Trait in Rice [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2012, 54(12): 979-990.
- [5] WU W G, LIU X Y, WANG M H, et al. A Single-nucleotide Polymorphism Causes Smaller Grain Size and Loss of Seed Shattering during African Rice Domestication [J]. *Nature Plants*, 2017(3): 17064.
- [6] ISHIMARU K, HIROTSU N, MADOKA Y, et al. Loss of Function of the IAA-glucose Hydrolase Gene *TGW6* Enhances Rice Grain Weight and Increases Yield [J]. *Nature Genetics*, 2013, 45(6): 707-711.
- [7] WANG Y X, XIONG G S, HU J, et al. Copy Number Variation at the *GL7* Locus Contributes to Grain Size Diversity in Rice [J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(8): 944-948.
- [8] LI Y B, FAN C C, XING Y Z, et al. Natural Variation in *GS5* Plays an Important Role in Regulating Grain Size and Yield in Rice [J]. *Nature Genetics*, 2011, 43(12): 1266-1269.
- [9] XU C J, LIU Y, LI Y B, et al. Differential Expression of *GS5* Regulates Grain Size in Rice [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(9): 2611-2623.
- [10] SI L Z, CHEN J Y, HUANG X H, et al. *OsSPL13* Controls Grain Size in Cultivated Rice [J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(4): 447-456.
- [11] ZHAO D S, LI Q F, ZHANG C Q, et al. *GS9* Acts as a Transcriptional Activator to Regulate Rice Grain Shape and Appearance Quality [J]. *Nature Communications*, 2018(9): 1240.
- [12] LIU Q, HAN R X, WU K, et al. G-protein $\beta\gamma$ Subunits Determine Grain Size through Interaction with MADS-domain Transcription Factors in Rice [J]. *Nature Communications*, 2018(9): 852.
- [13] YU J P, XIONG H Y, ZHU X Y, et al. *OsLG3* Contributing to Rice Grain Length and Yield Was Mined by Ho-LAMap [J]. *BMC Biology*, 2017, 15(1): 28.
- [14] WANG Y Y, YANG Z Y, XING M, et al. A Novel QTL *GL12* from Wild Rice Increases Grain Length and Weight in Cultivated Rice [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(8): 1513-1515.
- [15] PELEMAN J D, WYE C, ZETHOF J, et al. Quantitative Trait Locus (QTL) Isogenic Recombinant Analysis: A Method for High-resolution Mapping of QTL within a Single Population [J]. *Genetics*, 2005, 171(3): 1341-1352.
- [16] RAMOS J M, FURUTA T, UEHARA K, et al. Development of Chromosome Segment Substitution Lines (CSSLS) of *Oryza longistaminata* A. Chev. & RÖHR in the Background of the Elite Japonica Rice Cultivar, Taichung 65 and Their Evaluation for Yield Traits [J]. *Euphytica*, 2016, 210(2): 151-163.
- [17] 赵芳明, 张桂权, 曾瑞珍, 等. 基于单片段代换系的水稻粒型 QTL 加性及上位性效应分析 [J]. *作物学报*, 2011, 37(3): 469-476.
- [18] MA F Y, DU J, WANG D C, et al. Identification of Long-grain Chromosome Segment Substitution Line Z744 and QTL Analysis for Agronomic Traits in Rice [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(5): 1163-1169.
- [19] WANG H, ZHANG J Y, FARKHANDA N, et al. Identification of Rice QTLS for Important Agronomic Traits with Long-Kernel CSSL-Z741 and Three SSSLs [J]. *Rice Science*, 2020, 27(5): 414-422.
- [20] 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 F_3 Population [J]. *Cereal Research Communications*, 2016, 44(3): 370-380.
- [21] ZHANG G Q. Target Chromosome-segment Substitution: A Way to Breeding by Design in Rice [J]. *The Crop Journal*, 2021, 9(3): 658-668.
- [22] PELEMAN J D, VAN DER VOORT J R. Breeding by Design [J]. *Trends in Plant Science*, 2003, 8(7): 330-334.
- [23] DENG K L, ZHANG H, WU J Y, et al. Development of Single-segment Substitution Lines and Fine-mapping of *qSPP4*

- for Spikelets Per Panicle and *qGW9* for Grain Width Based on Rice Dual-segment Substitution Line Z783 [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(24): 17305.
- [24] XU G Y, DENG K L, YU J J, et al. Genetic Effects Analysis of QTLS for Rice Grain Size Based on CSSL-Z403 and Its Dissected Single and Dual-segment Substitution Lines [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(15): 12013.
- [25] YANG H, WANG Y L, TIAN Y L, et al. Rice *FLOURY ENDOSPERM22*, Encoding a Pentatricopeptide Repeat Protein, is Involved in both Mitochondrial RNA Splicing and Editing and is Crucial for Endosperm Development [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2023, 65(3): 755-771.
- [26] ZHANG Y J, ZHANG Y, ZHANG L L, et al. The Transcription Factor *OsGATA6* Regulates Rice Heading Date and Grain Number Per panicle Free [J]. Journal of Experimental Botany, 2022, 73(18): 6133-6149.
- [27] ZHANG G, SONG X G, GUO H Y, et al. A Small G Protein as a Novel Component of the Rice Brassinosteroid Signal Transduction [J]. Molecular Plant, 2016, 9(9): 1260-1271.
- [28] ZHANG D P, ZHANG M Y, LIANG J S. *RGB1* Regulates Grain Development and Starch Accumulation through Its Effect on *OsYUC11*-mediated Auxin Biosynthesis in Rice Endosperm Cells [J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 585174.
- [29] ZHU N, CHENG S F, LIU X Y, et al. The R2R3-type MYB Gene *OsMYB91* Has a Function in Coordinating Plant Growth and Salt Stress Tolerance in Rice [J]. Plant Science, 2015, 236: 146-156.
- [30] BALAKRISHNAN D, SURAPANENI M, YADAVALLI V R, et al. Detecting CSSLS and Yield QTLS with Additive, Epistatic and QTL $\times$ environment Interaction Effects from *Oryza sativa* $\times$ *O. Nivara* IRGC81832 Cross [J]. Scientific Reports, 2020(10): 7766.
- [31] MALMBERG R L, MAURICIO R. QTL-based Evidence for the Role of Epistasis in Evolution [J]. Genetical Research, 2005, 86(2): 89-95.
- [32] CYPLIK A, PIASKOWSKA D, CZEMBOR P, et al. The Use of Weighted Multiple Linear Regression to Estimate QTL $\times$ QTL $\times$ QTL Interaction Effects of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.) Doubled-haploid Lines [J]. Journal of Applied Genetics, 2023, 64(4): 679-693.
- [33] LIANG P X, WANG H, ZHANG Q L, et al. Identification and Pyramiding of QTLS for Rice Grain Size Based on Short-wide Grain CSSL-Z563 and Fine-mapping of *qGL3-2* [J]. Rice, 2021, 14(1): 35.
- [34] 向思茜, 李儒香, 徐光益, 等. 基于水稻长大粒染色体片段代换系 Z66 的粒型 QTL 的鉴定及其聚合分析 [J]. 作物学报, 2023, 49(3): 731-743.
- [35] 李儒香, 周恺, 王大川, 等. 水稻 CSSL-Z481 代换片段携带的穗部性状 QTL 分析及次级代换系培育 [J]. 中国农业科学, 2023, 56(7): 1228-1247.
- [36] 栗现芳, 李晓娟, 刘锦峰, 等. 基于木枣与其抗裂变异系 V2 比较的枣裂果相关基因鉴定 [J]. 中国南方果树, 2024, 53(6): 225-232.
- [37] 蒋平, 胡运高, 高方远, 等. 13 个杂交水稻亲本产量性状基因等位变异 [J]. 应用与环境生物学报, 2024, 30(2): 367-376.
- [38] 王石华. 不同海拔产生的水稻 F_2 群体孕穗期耐冷性遗传相关性分析 [J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(5): 725-731.