

利用栽培稻和普通野生稻 BC_2F_2 群体 对分蘖数 QTLs 的动态分析

程桂平, 冯九焕, 刘向东, 刘桂富, 李金泉

(广东省植物分子育种重点实验室, 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642)

摘要:以广陆矮4号 *Oryza sativa* ssp. *indica* 为母本, 普通野生稻 *O. rufipogon* Griff. 为父本杂交和回交构建了1个含122个单株的 BC_2F_2 群体, 通过对不同发育时期的分蘖数及其增量的 QTL 定位分析, 确定了与水稻分蘖数有关的 QTL 数量及其表达时期. 结果表明, 共有9个 QTLs 与水稻分蘖数有关, 它们分布在第1、2、5、8、9和11号染色体的相应标记区间内. 各个 QTL 对分蘖数均表现出加性和显性作用, 且多数位点的显性作用强于加性作用. QTL 的表达具有明显的阶段性, 5个 QTLs 主要集中在一定时段内表达. 研究结果不仅提供了水稻分蘖数 QTLs 在某个时期的“静态”信息, 而且提供了它们在整个发育期的“动态”信息, 为有效发掘利用普通野生稻资源中蕴藏的有利分蘖数基因提供了依据.

关键词:栽培稻; 普通野生稻; 分蘖数; QTL; 动态分析

中图分类号: S511.032; Q943

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2008)04-0001-05

Dynamic Analysis on Tiller Number QTLs in a BC_2F_2 Population Between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*

CHENG Gui-ping, FENG Jiu-huan, LIU Xiang-dong, LIU Gui-fu, LI Jin-quan

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Molecular Breeding, College of Agriculture,
South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: A BC_2F_2 population with 122 lines was developed from a cross and backcross between Guanglu' ai No. 4 (*Oryza sativa* ssp. *indica*) and *O. rufipogon*. The QTLs linked to rice tiller numbers and their expressing stages were obtained by QTL mapping in different developmental stages and their increment. The results showed that nine QTLs were detected and distributed among the corresponding marker intervals on chromosome 1, 2, 5, 8, 9 and 11. Each QTL had additive and dominant effect on tiller numbers, and the dominant effects showed stronger than the additive effects on the majority of QTLs. The QTLs expressed in various stage and five of the QTLs mainly expressed in some specific periods. The results provide not only the “static” information about the QTLs for rice tiller numbers in certain period, but also their “dynamics” information throughout the whole developmental stages, which provide good basis for mining and utilizing the favorable genes for tiller number in *O. rufipogon* germplasm resources.

Key words: *Oryza sativa*; *O. rufipogon*; tiller number; QTL; dynamic analysis

收稿日期: 2007-11-19

作者简介: 程桂平(1979—), 女, 硕士, 现为中国科学院华南植物园博士研究生; 通讯作者: 李金泉(1974—), 男, 博士,
E-mail: lijinquan@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金—广东省联合基金重点项目(U0631003); 广东省自然科学基金(05300831); 广东省农业厅和财政厅攻关项目(粤农函[2003]360号); 农业部生理生态与遗传育种重点实验室开放课题(200601); 江苏省植物功能基因组重点实验室开放课题(KJS03097)

水稻分蘖力是一个重要的农艺性状,分蘖力的强弱直接关系到有效穗数的数量和质量,从而影响到水稻的产量;同时它又具有明显的发育特征,在不同的发育时期表现出一定的变化特征,因而又是发育生物学研究中较理想的模式性状之一^[1-2]。了解控制水稻分蘖力的 QTL 及动态变化,对禾谷类作物分蘖力的改良和高产育种具有重要的指导意义。水稻分蘖力属于典型的数量性状,其遗传力往往较低,易受光照、灌溉、肥料、温度等环境条件的影响^[3]。研究表明,水稻分蘖数受到 1 个多基因系统的控制^[2],至今已定位了许多水稻分蘖数 QTLs,一些 QTLs 在不同的发育阶段和不同的生态环境下的表达特点亦被分析^[4-6]。普通野生稻作为栽培稻的近缘种,是改良栽培稻、拓宽其遗传基础的重要种质库^[7]。如何从普通野生稻中发掘有利基因并转移到栽培稻中是重要的研究课题。本研究利用栽培稻和普通野生稻所构建的 BC₂F₂ 群体,对多个时期测定的分蘖数资料进行 QTL 定位分析,一方面了解各个时期控制水稻分蘖数 QTL 的数量和效应,提供 QTL 在某个时期的“静态”信息;另一方面了解这些 QTL 在各个时间段内的净表达,提供 QTL 在整个发育期的“动态”信息,为有效发掘利用普通野生稻资源中蕴藏的有利分蘖数基因提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以广陆矮 4 号为母本和普通野生稻为父本杂交得到 F₁;再以广陆矮 4 号为轮回亲本与 F₁ 单株连续回交 2 次,获得 BC₂F₁ 株系;在 BC₂F₁ 株系中挑选 1 个单株,自交获得 122 个 BC₂F₂ 单株,作为 QTL 作图群体。

1.2 田间试验和性状考察

将作图群体连同 2 个亲本于 2004 年旱季种于华南农业大学教学实验农场。2 月 23 日浸种,2 月 27 日播种,3 月 25 日移栽。单株插植,株行距 13.3 cm×20.0 cm,每行 10 株。常规的田间管理。移栽后 30 d 开始考察单株分蘖数,每隔 7 d 考察 1 次,共进行了 10 次,各个考察时期依次记为 t1~t10。

1.3 SSR 分析

对 BC₂F₂ 单株作分子标记分析。DNA 的提取参照 Zheng 等^[8] 的简易 SDS 抽提法稍加修改。PCR 反应体系按照 Panaud 等^[9] 的方法稍加修改进行。从 478 对 SSR 标记中共检测到有 241 对在双亲间具有

多态性。以 McCouch 等^[10] 构建的水稻 SSR 标记连锁图谱为框架,用软件 Mapmaker 3.0^[11] 对这些标记进行连锁作图。241 个标记覆盖了整个水稻基因组,平均间距为 6.33 cM。

1.4 统计分析

对作图群体各个时期考察的分蘖数表型数据用数量性状分析软件 QGA station^[12] 估算出各个时期的基因型值,并进一步算出相邻时间段内的净增量;用 QTL 作图软件 Map Manager QTXb20^[13] 分别对各个时期的基因型值和各个时间段内的净增量值作 QTL 定位分析,取 $P \leq 0.05$ 作为判断分蘖数 QTL 存在的阈值。显然,由各个时期基因型值定位的 QTL 反映的是该时期前 QTL 的累积效应;而由各个时间段内净增量值定位的 QTL 反映的是该时间段内 QTL 的净效应^[5]。

2 结果与分析

2.1 分蘖数的动态变化

各个时期测定的亲本和作图群体的分蘖数如表 1 所示。分蘖数表现出明显的发育特征,即随着移栽后时间的推移,分蘖数迅速增加,在某个时期达到最高分蘖数,并持续一段时间变化不大,然后分蘖数开始下降,并最终稳定在有效分蘖数水平。分蘖数这种发育上的动态变化,预示着控制分蘖数的 QTL 可能存在着时序性上的表达规律。 t 测验表明 2 个亲本在移栽后 14 和 21 d 达到显著差异。在 BC₂F₂ 作图群体中,各个时期分蘖数均存在着超亲分离现象,并表现出连续正态分布的特点,因而适于做 QTL 分析。

2.2 基于各期分蘖数定位的 QTLs

在试验的 10 个检测时期内,共检测到 6 个控制水稻分蘖数的 QTLs (表 2 和图 1)。它们分布在第 1、2、5、8 和 9 号染色体上相应的标记区间内。这些 QTLs 分别在不同时期被检测到,QTL *tn9* 在 4 个时期被检出,QTL *tn2-1* 仅在 t8 期被检出,而其他 QTLs 被检出的时期数介于两者之间。5 个时期(t1~t4 和 t8)检出的 QTLs 较多,各检出了 2 个;2 个时期(t6 和 t7)没有检测到有关的 QTLs;其余时期则各检出了 1 个 QTL (表 2)。一些 QTLs 在某个时期不能被检出,可能是其累积的效应太小或前后期出现方向相反的表达。各个时期检出 QTL 数的差异表明了 QTL 表达的动态性。

各个 QTL 对分蘖数的影响是不同的(表 2)。QTL *tn5-2* 在 t10 期的加性效应值最大,来源于母本

表1 各个时期亲本和 BC₂F₂ 群体的分蘖数Tab.1 The tiller number of the parents and BC₂F₂ population

时期 period	广陆矮4号 ¹⁾ Guanglu' ai No. 4	普通野生稻 ¹⁾ <i>O. rufipogon</i>	$t^{2)}$	BC ₂ F ₂ 群体 BC ₂ F ₂ population				
				最小值 min.	最大值 max.	$\bar{x} \pm SD$	峰度 kurt	偏斜度 skew
t1	1.87 ± 0.38	1.93 ± 0.38	-0.250	1	5	2.65 ± 1.19	-1.10	0.06
t2	4.20 ± 0.00	2.07 ± 0.68	4.438 *	1	10	4.97 ± 1.66	0.49	0.43
t3	7.93 ± 1.37	2.80 ± 0.86	6.677 *	3	20	10.83 ± 3.38	-0.20	-0.01
t4	11.20 ± 0.71	5.53 ± 2.46	3.876	4	27	13.59 ± 4.10	0.26	-0.06
t5	11.67 ± 0.66	7.60 ± 2.85	2.623	4	27	14.99 ± 4.39	0.37	0.10
t6	11.07 ± 0.34	8.87 ± 3.12	1.093	4	28	14.98 ± 4.30	0.49	-0.04
t7	11.33 ± 1.36	8.53 ± 3.34	1.993	4	28	14.16 ± 4.25	0.61	0.24
t8	10.27 ± 1.39	8.87 ± 2.82	1.121	4	24	12.92 ± 3.92	0.21	0.26
t9	8.80 ± 0.43	8.73 ± 2.64	0.043	3	20	11.11 ± 3.40	-0.06	0.19
t10	8.07 ± 0.50	8.40 ± 2.44	-0.204	3	19	9.76 ± 3.15	-0.10	0.24

1)表中数据为平均值 ± 标准误;2) $t_{0.05} = 4.303, t_{0.01} = 9.925$

广陆矮4号的等位基因将使分蘖数比中亲值降低1.07;QTL $tn5-1$ 在 $t5$ 期的显性效应最大,杂合体将使分蘖数比中亲值增加2.04. 试验共检测到6个正的加性效应,表明在这些位点上母本的等位基因将使分蘖数比中亲值增加;4个负的显性效应表明,在这些位点上的杂合体将使分蘖数比中亲值降低.QTL $tn5-2$ 的加性效应总是大于显性效应,而其余5个QTLs 总是显性效应大于加性效应,表明多数QTL的显性作用对分蘖数的影响较大.

此外,试验亦发现同一QTL在不同时期所表现的效应有较大的差异(表2). 例如,QTL $tn1-1$ 在 $t2$ 和 $t3$ 期的加性效应分别为0.47和0.54,显性效应分别为0.56和1.45. 然而不同时期QTL的效应方向通常是一致的. 例如,QTL $tn1-1$ 在 $t2$ 和 $t3$ 期均为正效应. 不同时期QTL效应的差异亦表明了QTL表达的动态性.

可以看出,不同QTLs对水稻分蘖数的形成作用有所不同. $tn1-1$ 、 $tn8$ 和 $tn9$ 主要在分蘖早期对水稻

的分蘖数增加起决定性作用, $tn5-1$ 在分蘖中后期对水稻分蘖数的调节起作用,而 $tn2-1$ 和 $tn5-2$ 主要在分蘖后期($t9$ 和 $t10$)对有效穗数的形成起作用.

2.3 基于各时间段内分蘖数增量定位的QTLs

共检测到5个QTLs(表3和图1). 其中QTLs $tn1-1$ 和 $tn5-1$ 已在某些时期检出(表2),其余QTLs 仅在某些时间段内被检出(表3). 仅在时间段内检出的QTLs 分布第1、2和5号染色体上的相应区间内(图1). QTL $tn11$ 在2个时间段内被检测到,其余4个QTLs 则仅在1个时间段内被检出(表3). 2个时段 $t3-t4$ 和 $t5-t6$ 分别检出了2个QTLs,而 $t7-t8$ 和 $t9-t10$ 时段内分别检测出1个QTL,其余时段内没有检出相应的QTLs(表3). 5个QTLs 的加性效应变动在0.09~0.74之间,其中3个为正值2个为负值;所有显性效应均为正值,最小为0.17,最大为1.08(表3). 2个位点 $tn2-2$ 和 $tn5-1$ 的加性效应和显性效应具有不同的方向,其余位点加、显性效应方向相同(表3).

表2 BC₂F₂ 群体分蘖数的非条件QTLsTab.2 The unconditional QTLs for tiller number in BC₂F₂ population

QTL	时期 period	加性效应 additive effect	显性效应 dominance effect	QTL	时期 period	加性效应 additive effect	显性效应 dominance effect
$tn1-1$	$t2$	0.47	0.56	$tn5-2$	$t9$	-0.94	-0.64
	$t3$	0.54	1.45		$t10$	-1.07	-0.74
$tn2-1$	$t8$	-0.96	-1.59	$tn8$	$t1$	0.34	-0.42
$tn5-1$	$t4$	-0.24	2	$tn9$	$t1$	-0.05	0.65
	$t5$	-0.32	2.04		$t2$	0.22	0.8
	$t8$	-0.40	1.72		$t3$	0.22	1.71
					$t4$	0.16	1.89

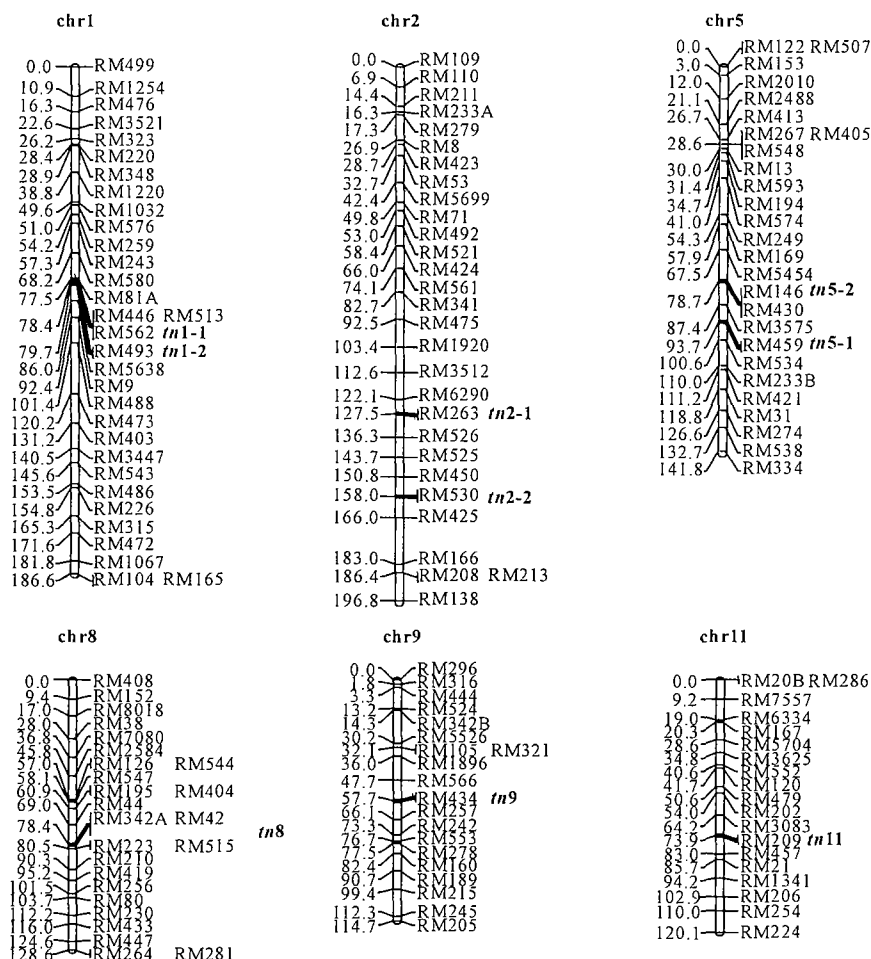


图1 分蘖数 QTLs 在染色体上的分布

Fig. 1 The distribution of QTLs for traits associated with tiller number on chromosome

表3 BC₂F₂ 群体分蘖数的条件 QTLsTab. 3 The conditional QTLs for tiller number in BC₂F₂ population

QTL	时期 ¹⁾ period	加性效应 additive effect	显性效应 dominance effect	QTL	时期 ¹⁾ period	加性效应 additive effect	显性效应 dominance effect
<i>tn1-1</i>	t10 t9	0.22	0.72	<i>tn5-1</i>	t4 t3	-0.19	1.08
<i>tn1-2</i>	t6 t5	0.09	0.56	<i>tn11</i>	t6 t5	0.38	0.17
<i>tn2-2</i>	t4 t3	-0.74	0.34		t8 t7	0.56	0.3

1) $tn|t(n-1)$ 表示 $t(n-1)$ 至 tn 时间段

3 讨论与结论

普通野生稻是水稻育种的宝贵种质资源,含有可用于栽培品种改良的优异基因。目前已有大量研究对普通野生稻中重要基因进行了分子标记定位,并取得了较大的成果。Xiao 等^[14-15]在马来西亚普通野生稻中鉴定了 2 个主效产量 QTL (*yld1.1* 和 *yld2.1*),它们分别具有 18% 和 17% 的增产效应。杨益善等^[16]以含有这 2 个产量 QTL 的测交材料为基因供体育成了籼型晚稻新恢复系 Q611,该恢复系初步测交配组的杂种表现出强大的增产优势。本研究

在第 1、8、9 和 11 染色体上均检测到具正的加性效应的 QTLs,且它们的显性效应均为正值,说明这些 QTLs 具有增加分蘖数的效应。研究结果为进一步利用分子标记辅助选择或基因克隆等手段将这些有利 QTLs 导入到栽培稻中奠定了基础。

水稻分蘖数是与发育相关的复杂性状。任翔等^[17]认为对发育性状不同时期测量值及其增量的 QTL 定位分析,不但可定位出与该性状相关的 QTLs,而且可确定各个 QTL 的作用时间和表达曲线。本研究利用基于各期分蘖数总量和基于各时间段分蘖数增量 2 种方式分别定位控制栽培稻和普通野生稻

BC₂F₂ 群体分蘖数的 QTLs, 结果发现共有 9 个 QTLs 与水稻分蘖数有关, 其中 6 个 QTLs 能在某个(些)发育阶段被检测到, 而其余 3 个 QTLs 则只能通过某个(些)时间段内的净效应被检出, 说明同时结合 2 种分析方法可检测到更多的 QTLs. 本研究还发现利用基于各时间段分蘖数增量方式所定位出的 5 个 QTLs 主要集中在某些时段内表达, 与前人认为 QTL 的表达具有阶段性的观点一致^[4, 18]. 另外, *tn1-1* 和 *tn5-1* 同时在 2 种方法中被检测到, 其中 *tn5-1* 分别在 t4、t5、t8 时期和 t3—t4 时间段被检测出来, 且加性效应均表现为负效应, 表明 *tn5-1* 在 t3—t4 时间段表达, 且对 t4、t5 和 t8 这 3 个时期分蘖数的累积值有贡献. 这与发育数量遗传学认为在控制数量性状的基因效应还未被传统的数量遗传分析方法检测出来以前, 基因已经开始表达的观点相一致^[12]. 与此不同的是, *tn1-1* 在条件 QTL 定位的 t9 和 t10 时间段被检测到, 表现为正效应; 在非条件 QTL 定位的 t2 和 t3 时期亦被检测到, 表现为正效应, 但它们在 t9 或 t10 时期并未被检测到, 这可能是因为 t9 和 t10 时期, *tn1-1* 与其他具有相反遗传效应的条件 QTLs 作用相互抵消所导致. 其原因有待进一步研究阐明.

此外, 本研究所定位出的控制分蘖数 QTLs 中, *tn2-2* 和 *tn5-1* 与任翔等^[17] 利用 MH63 与有野生稻亲缘的 B5 重组自交系和动态 QTL 定位方法, 鉴定的位于第 2 染色体 C370—S1559A 区段和第 5 染色体 RM164—C624 区段的 2 个分蘖数 QTL 位置相近; *tn2-2* 与 Yan 等^[4] 在 Azucena/IR64 的 DH 群体中定位的 1 个 QTL 位置相近.

参考文献:

- [1] 梁康迳, 王雪仁, 林文雄, 等. 水稻产量形成的生理生态研究进展 [J]. 中国生态农业学报, 2002(3): 59-61.
- [2] XU Y B, SHEN Z T. Diallel analysis of tiller number at different growth stages in rice [J]. Theor Appl Genet, 1991, 83: 243-249.
- [3] 熊振民, 蔡洪发. 中国水稻 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1992: 40-57.
- [4] YAN J Q, ZHU J, HE C X, et al. Quantitative trait loci analysis for developmental behavior of tiller number in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 1998, 97: 267-274.
- [5] WU P, ZHANG G, HUANG N. Identification of QTL controlling quantitative characters in rice using RFLP markers [J]. Euphytica, 1996, 89: 349-354.
- [6] JIANG Gong-hao, XU Cai-guo, LI Xiang-hua, et al. Characterization of the genetic basis for yield and its component traits of rice revealed by doubled haploid population [J]. Acta Genetica Sinica, 2004, 31(1): 63-72.
- [7] 卢宝荣. 稻种遗传资源多样性的开发利用及保护 [J]. 生物多样性, 1998, 6(1): 63-72.
- [8] ZHENG K L, HUANG N, BENNETT J, et al. PCR-based phylogenetic analysis of wide compatibility varieties in *Oryza sativa* L. [J]. Theor Appl Genet, 1995, 88: 65-69.
- [9] PANAUD O, CHEN X, MCCOUCH S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*O. sativa* L.) [J]. Mol Gen Genet, 1996, 252: 597-607.
- [10] MCCOUCH S R, TEYTELMAN L, XU Yun-bi, et al. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) [J]. DNA Res, 2002, 9: 199-207.
- [11] LINCOLN S, DALY M, LANDER E. Constructing genetic maps with MAPMAKER/EXP 3.0 [M]. 3rd ed. Cambridge: Whitehead Institute, 1992.
- [12] 朱军. 遗传模型分析方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 240-292.
- [13] MANLY K F, CUDMORE J R H, MEER J M. Map manager QTX, cross-platform software for genetic mapping [J]. Mamm Genome, 2001, 12: 930-932.
- [14] XIAO Jin-hua, GRANDILLO S, AHN S N, et al. Genes from wild rice improve yield [J]. Nature, 1996, 384: 223-224.
- [15] XIAO Jin-hua, LI Ji-ming, GRANDILLO S, et al. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative *Oryza rufipogon* [J]. Genetics, 1998, 150: 889-909.
- [16] 杨益善, 邓启云, 陈立云, 等. 野生稻高产 QTL 导入晚稻恢复系的增产效果 [J]. 分子植物育种, 2006, 4(1): 59-64.
- [17] 任翔, 翁清妹, 祝莉莉, 等. 水稻分蘖能力 QTL 的定位 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2003, 49(4): 533-537.
- [18] YAN Ju-qiang, ZHU Jun, HE Ci-xin, et al. Molecular dissection of developmental behavior of plant height in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 1998, 150: 1257-1265.

【责任编辑 周志红】