

控制水稻柱头外露率的数量性状基因座初步分析

邓应德^{1,3}, 应杰政², 石媛媛¹, 肖层林¹, 张海清¹

(1.湖南农业大学 农学院, 湖南 长沙 410128; 2.中国水稻研究所, 浙江 杭州 310006; 3.袁隆平农业高科技股份有限公司, 湖南 长沙 410125)

摘要: 为研究柱头外露率的遗传机理, 用柱头外露率低的粳稻品种糯5号与柱头外露率高的籼稻品种优1B构建包含190株的F₂群体。在长沙对各单株进行柱头外露率调查, 并用均匀覆盖水稻整个基因组的92个SSR标记构建连锁遗传图谱, 进行控制柱头外露率的数量性状基因座QTL分析。结果表明, 控制柱头外露率的3个QTL为 $qPES-2$ 、 $qPES-5$ 、 $qSPES-8$, 分别位于第2染色体的RM1285~RM12595、第5染色体的RM17952~RM18114、第8染色体的RM8020~RM7080, QTL的LOD峰值分别为3.54、4.79、3.85, 解释的表型变异分别为10.1%、11.1%、9.0%, 增效基因皆来源于高柱头外露率的亲本优1B。研究并发现控制单边柱头外露率的QTL与总外露率的完全一致, 第5染色体检测到的QTL是1个新的座位。

关键词: 水稻; 柱头外露率; 数量性状基因座

中图分类号: S511.032 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)04-0373-04

Mapping of QTLs for percentage of exerted stigma in rice

DENG Ying-de^{1,3}, YING Jie-zheng², SHI Yuan-yuan¹, XIAO Ceng-lin¹, ZHANG Hai-qing¹

(1.College of Agronomy, HNAU, Changsha 410128, China; 2. China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; 3.Yuan Longping High-Tech Agriculture Co, LTD., Changsha 410125, China)

Abstract: To understand the genetic mechanism of exerted stigma, a mapping population of 190 F₂ plants derived from the cross between a *japonica* variety-Nuo5 and an *indica* variety-You 1 B with higher percentage of exerted stigma (PES) was constructed to map quantitative trait loci (QTL) for PES. Genetic linkage map was constructed using 92 SSR markers throughout the whole genome, and PES was investigated in Changsha. As a result, three QTLs controlling ratio of stigma exertion were $qPES-2$, $qPES-5$ and $qSPES-8$, detected and located respectively at the region of RM1285~RM12595 on chromosome 2, RM17952~RM18114 on chromosome 5 and RM8020~RM7080 on chromosome 8. The QTL of LOD peak was 3.54, 4.79, 3.85 respectively; The phenotypic variation was 10.1%, 11.1%, 9.0%, and all their positive alleles were from You 1 B. Two QTLs might be identified in previous studies, and the QTL on chromosome 5 might be a new one which had never been reported before.

Key words: rice; percentage of exerted stigma; quantitative trait locus

水稻作为自花授粉作物, 花器构造不适于异交。柱头是水稻接受花粉的器官, 其外露率是影响异交结实率的主要因素。柱头活性一般保持3~4 d, 开花闭颖后第2天外露柱头仍有65%以上的受精能力。柱头外露增加了授粉机会, 特别是有利于花时差障碍严重的杂交制种^[1-3]。柱头外露颖花的平均结

实率高, 约为非外露颖花的3~4倍, 柱头外露颖花的结实率占制种异交结实率的70%~80%^[4-5], 因此, 提高柱头外露率对杂交稻制种有着非常重要的意义。

野生稻柱头外露率较高, 栽培稻较低, 栽培稻不同品种间存在广泛的遗传变异^[6-9]。柱头外露率遗

收稿日期: 2010-01-11

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD77B04)

作者简介: 邓应德(1963—), 男, 湖南常德人, 博士研究生, 研究员, dyd@lpht.com.cn

传较为复杂,在分离群体中表现为连续的表型变异,受多基因控制,是易受影响的数量性状^[10-11]。环境条件、栽培措施和外源激素都能显著改变柱头外露率^[12-15]。但该性状主要受遗传因素控制,外界条件的调控受品种本身的特性决定^[16]。伴随分子标记的发展,已有定位到一些水稻柱头外露率的QTL,除第7染色体外,水稻其他11条染色体都检测到与柱头外露率相关的QTL,但迄今仍无QTL被克隆^[17-24]。

笔者利用覆盖水稻基因组的SSR标记对糯5号/优1B F₂群体的柱头外露率进行QTL分析,探讨该性状的遗传机理与育种应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料

优1B是1个柱头外露率高的籼稻品种,来自湖南杂交水稻中心,三系保持系;糯5号是1个柱头外露率低的四川常规粳稻品种。以这2个材料为亲本,2007年配制杂交组合,2008年5月中旬在长沙种植F₂群体,栽插密度13 cm×23 cm,大田施肥,考查190株的主穗,调查其柱头外露率。柱头单边外露率为柱头单边外露颖花数与总颖花数的百分比,柱头双边外露率为柱头双边外露颖花数与总颖花数的百分比,柱头总外露率等于柱头单边外露率与双边外露率之和。

1.2 标记分析与连锁作图

从每株水稻幼苗取约2 cm长叶片,放入盛有400 μL TPS抽提液(Tris-Cl 100 mmol/L, EDTA 10 mmol/L, KCl 1 mol/L, pH8.0)的1.5 mL薄壁管中捣

碎,75℃水浴20 min,3 500 r/min离心7 min。取150 μL上清,加入等体积异丙醇,3 500 r/min离心10 min,弃上清,取沉淀,加入300 μL 70%乙醇清洗后,将沉淀干燥,加入100 μL ddH₂O溶解。PCR反应体系(10 μL):DNA模板0.2 μL;加入10×PCR缓冲液、MgCl₂ (25 mmol/L)和dNTP(2 mmol/L)各1 μL,50%甘油2 μL,溶解好的引物(20 pmol/L)和Taq DNA聚合酶各0.2 μL,ddH₂O 4.4 μL。PCR产物在2.5%琼脂糖凝胶上电泳。

根据Mapmaker/EXP作图软件的要求,将母本糯5号基因型记为A,父本优1B基因型记为B,杂合的记为H,基因型不清或缺失的记为“-”,在PC机上构建连锁图谱^[25]。

1.3 QTL分析

根据已构建的连锁图谱,用Mapmaker/QTL 1.1软件对柱头外露率进行QTL定位分析^[26]。以LOD值为3.0作为阈值来判断QTL的存在,并计算每个QTL对应的性状的贡献率和加性效应。QTL的命名遵循McCouch等的规则^[27]。

2 结果

2.1 亲本间柱头外露率的差异和在F₂群体中的变异

优1B单边柱头外露率39.15%,双边柱头外露率12.52%,总外露率51.59%;糯5号单边柱头外露率2.91%,双边柱头外露率为0,总柱头外露率2.91%。F₂群体190个单株的柱头外露率表现为连续变异,其中少量单株出现超亲分离现象,整体呈现近似正态分布(图1)。

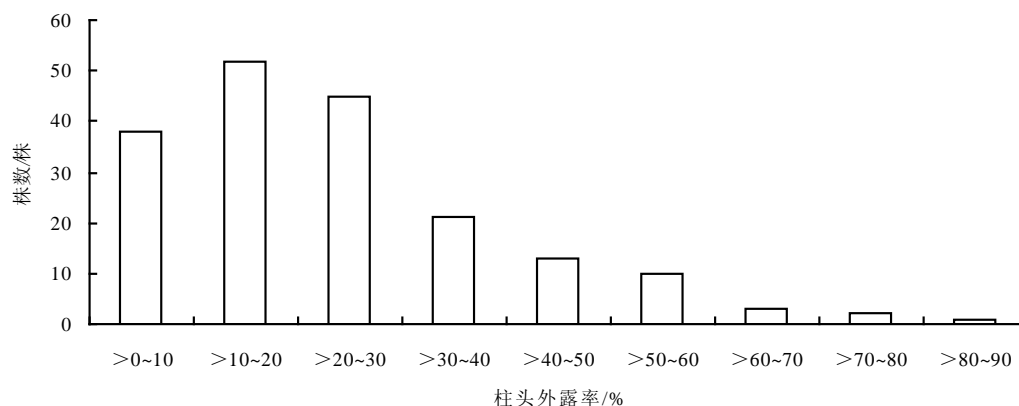


图1 F₂群体柱头外露率分布

Fig.1 Distribution of percentage of exerted stigma in F₂ population

2.2 控制柱头外露率的 QTL 分析

利用筛选到的 92 个在两亲本间存在多态性的微卫星标记，构建了均匀覆盖水稻 12 条染色体、全长 1 562.2 cM 的遗传图谱，标记之间的平均距离为 17.0 cM .通过 QTL 分析(表 1)，共检测到 3 个控制柱头外露率的 QTL ,为 *qPES-2*、*qPES-5*、*qSPES-8*，分别位于第 2 染色体的 RM1285~RM12595 区间 第

5 染色体的 RM17952~RM18114 区间、第 8 染色体的 RM8020~RM7080 区间(图 2) .这些 QTL 的 *LOD* 峰值分别为 3.54、4.79、3.85，解释的表型变异分别为 10.1%、11.1%、9.0%，加性效应基因位点皆来源于优 I B .控制单边柱头外露率的 QTL 与柱头外露率完全一致，未检测到控制双边柱头外露率的 QTL .

表 1 控制柱头外露率的 QTL 定位结果
Table 1 QTLs for percentage of exerted stigma

性 状	位 点	染色体	标记区间	<i>LOD</i> 峰值	贡献率/%	显性效应	加性效应
单边外露率	<i>qSPES-2</i>	2	RM1285~RM12595	3.39	9.3	- 2.64	4.73
单边外露率	<i>qSPES-5</i>	5	RM17952~RM18114	5.34	12.8	0.07	6.39
单边外露率	<i>qSPES-8</i>	8	RM8020~RM7080	4.00	9.3	- 3.02	4.27
总外露率	<i>qPES-2</i>	2	RM1285~RM12595	3.54	10.1	- 4.79	6.23
总外露率	<i>qPES-5</i>	5	RM17952~RM18114	4.79	11.1	- 0.05	7.88
总外露率	<i>qPES-8</i>	8	RM8020~RM7080	3.85	9.0	- 4.91	5.20

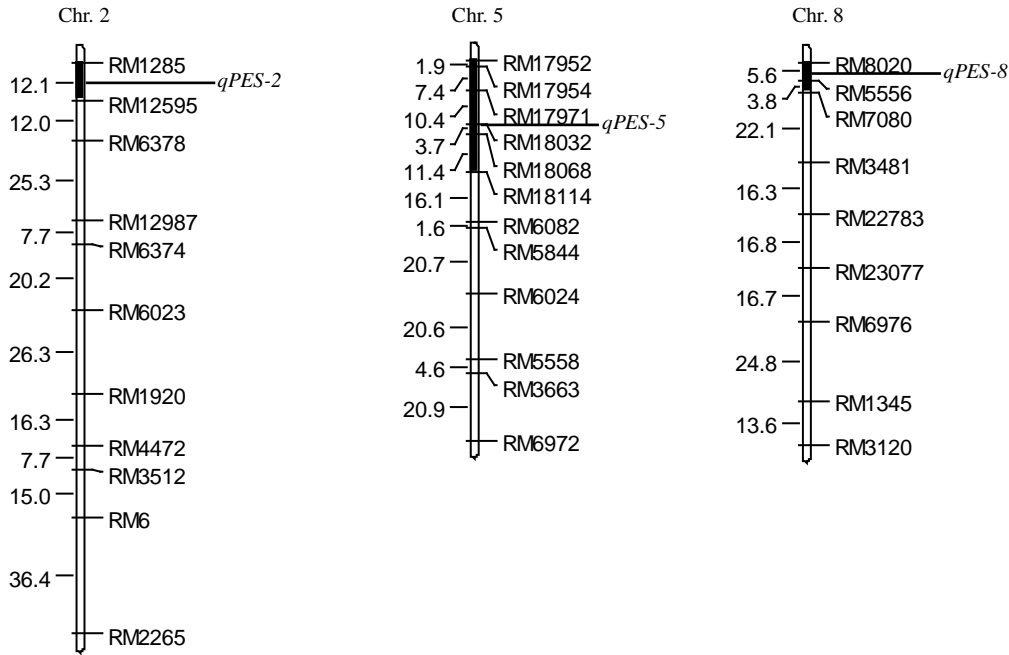


图 2 控制柱头外露率 QTL 的遗传图谱

Fig.2 Genetic linkage map showing QTLs for percentage of exerted stigma

3 讨 论

笔者在第 2 染色体上检测到的QTL *qPES-2* 与李 文宏等^[19]利用籼稻窄叶青 8 号/粳稻京系 17 构建的 DH群体检测到的*qPES-2* 和沈圣泉等^[23]利用协青早 B/密阳 46 构建的RIL群体检测到的*qSE2-1* 位于同一区域 .尽管没有在第 2 染色体上检测到其他控制柱头 外露率的QTL ,但Yu等^[22]利用珍秈 97 B/IRAT 109 与

沈圣泉等^[23]均在第 2 染色体的其他位置检测到控制 柱头外露率的QTL，且两者位置相近，表明第 2 染 色体上存在多个与柱头外露率相关的QTL .在第 5 染色体上检测到的*qPES-5* 与李晨等^[18]利用桂朝 2 号 /东乡野生稻构建的BC₁群体、Uga等^[21]利用 Peikuh/W1944 构建的RIL群体、Yu等^[22]和沈圣泉 等^[23]在第 5 染色体上检测到的QTL都不在同一位置，

表明在第5染色体上检测到的这个QTL是1个新的座位。Yamamoto等^[20]利用Asominori/IR24构建的RIL群体在第8染色体上检测到控制柱头外露率的QTL,与本研究的 $qPES-8$ 位于同一区域。

研究结果还表明,水稻除第7染色体外,其他11条染色体上都存在控制柱头外露率的QTL,但都没有发现主效基因。本研究检测到的控制柱头外露率的3个QTL分别分布于第2、5、8染色体上,每个QTL可解释的表型变异率都较低(<15%),表明该性状是由多基因控制的数量性状,再加上柱头外露率易受外界环境条件影响,至今仍未有主效QTL被克隆。已有结果表明,野生稻与栽培稻相比,有着较高的柱头外露率^[6],如能利用野生稻材料构建定位群体,发掘主效QTL进行精细定位与克隆,阐明柱头外露率的遗传与作用机理或许比较有效。

参考文献:

- [1] 李振宇,陈广红,王志兴,等.近常异交水稻不育系目标性状研究[J].垦殖与稻作,2004(3):7-10.
- [2] 田大成,张素英,秦春林.提高柱头外露率是杂交稻制种稳产高产的关键措施[J].四川农业科技,1990(2):16-18.
- [3] 龙俐华,舒琨.提高杂交稻异交率的研究[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2000,26(3):167-170.
- [4] 李庆荣.柱头外露率的环境变异及其在异交结实中的作用[J].种子科技,1995(2):32-33.
- [5] 田大成,黄三奎,段永国,等.水稻不育系花时和受粉时间与异交结实率的关系[J].杂交水稻,2004,19(3):50-54.
- [6] Ying C S, Zhang S Q. Studies on the character of stigma exertion among some of *Oryza* species[J]. Chinese J R Sci, 1989, 3(2): 62-66.
- [7] 徐永健,李云波,程长标,等.杂交水稻种子柱头夹持率初步研究[J].杂交水稻,2002,17(5):33-34.
- [8] 吴爽,李成荃,王守海,等.几种优良品种花器性状的遗传及相关分析[J].安徽农业科学,2003,31(2):171-172,174.
- [9] 沈圣泉,严菊强,张能义,等.籼粳交组合若干花器性状的遗传分析[J].浙江农业学报,1994,6(4):222-225.
- [10] Virmani S S, Athwal D S. Genetic variability in floral characters in influencing outcrossing in *Oryza sativa* L.[J]. Crop Sci, 1973, 13: 66-67.
- [11] Virmani S S, Athwal D S. Inheritance of floral characters influencing outcrossing in rice[J]. Crop Sci, 1974, 14: 350-353.
- [12] 姜心禄,严庆海,郑家国,等.三种营养激素复配剂对杂交水稻不育系柱头外露率的影响[J].植物生理学通讯,2008,44(4):630-634.
- [13] 刘平.进一步提高水稻不育系柱头外露率的途径[J].杂交水稻,1998,13(3):33-34.
- [14] 林建荣,吴明国,宋昕蔚.三系粳稻不育系开花习性与异交结实率的关系[J].杂交水稻,2006,21(5):69-72.
- [15] 洪乃桥,李旭.提高杂交水稻制种母本柱头外露率的技术措施[J].贵州农业科学,2008,36(4):59-60.
- [16] 王彦荣,华泽田,张忠旭,等.高柱头外露率粳稻不育系的选育与应用[J].杂交水稻,2008,23(3):4-8.
- [17] Xiong L Z, Liu K D, Dai X K, et al. Identification of genetic factors controlling domestication-related traits of rice using an F_2 population of a cross between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*[J]. Theor Appl Genet, 1999, 98: 243-251.
- [18] 李晨,孙传清,穆平,等.栽培稻与普通野生稻两个重要分类性状花药长度和柱头外露率的QTL分析[J].遗传学报,2001,28(8):746-751.
- [19] 李文宏,董国军,胡新民,等.水稻柱头外露率的QTL分析[J].遗传学报,2003,30(7):637-640.
- [20] Yamamoto T, Takemori N, Sue N, et al. QTL analysis of stigma exertion in rice[J]. Rice Genet Newsl, 2003, 20: 33-34.
- [21] Uga Y, Fukuta Y, Cai H W, et al. Mapping QTLs influencing rice floral morphology using recombinant inbred lines derived from a cross between *Oryza sativa* L. and *Oryza rufipogon* Griff[J]. Theor Appl Genet, 2003, 107: 218-226.
- [22] Yu X Q, Mei H W, Luo L J, et al. Dissection of additive, epistatic effect and $Q \times E$ interaction of quantitative trait loci influencing stigma exertion under water stress in rice[J]. Acta Genetica Sinica, 2006, 33(6): 542-550.
- [23] 沈圣泉,庄杰云,包劲松,等.水稻柱头外露率QTLs定位及其互作分析[J].生物数学学报,2006,21(4):610-614.
- [24] 乔保健,黄柳柳,江建华,等.水稻4个异交相关性状的QTL定位研究[J].南京农业大学学报,2007,30(2):1-5.
- [25] Lander E S, Green P, Abrahamson J, et al. Mapmaker: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experiment and natural populations[J]. Genomics, 1987(1): 174-181.
- [26] Lander E S, Botstein D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps[J]. Genetics, 1989, 121: 185-199.
- [27] McCouch S R, Cho Y G, Yam M, et al. Report on QTL nomenclature[J]. Rice Genet Newsl, 1997, 14: 11-13.
- [28] Miyata M, Yamamoto T K, Nitta N. Marker-assisted selection and evaluation of the QTL for stigma exertion under japonica rice genetic background[J]. Theor Appl Genet, 2007, 114: 539-548.

责任编辑:罗慧敏
英文编辑:胡东平