

基于高密度遗传图谱的水稻分蘖角度 QTL 定位与分析

王召君^{1,2} 何雨宣¹ 刘浚蓉² 徐群² 章孟臣² 王珊² 孙燕飞² 魏兴华² 杨密龙²
郭晓红¹ 冯跃^{1,2,*}

(¹黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163319; ²中国水稻研究所 国家水稻改良中心/水稻生物育种全国重点实验室, 杭州 311401; *通信作者, email: fy_555500@163.com)

QTL Mapping and Analysis of Tiller Angle Based on High Density Genetic Map in Rice

WANG Zhaojun^{1,2}, HE Yuxuan¹, LIU Junrong², XU Qun², ZHANG Mengchen², WANG Shan², SUN Yanfei²,
WEI Xinghua², YANG Yaolong², GUO Xiaohong¹, FENG Yue^{1,2,*}

(¹Agricultural College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; ²China National Center for Rice Improvement/State Key Laboratory of Rice Biology and Breeding, China National Rice Research Institute, Hangzhou 311401, China; *Corresponding author, email: fy_555500@163.com)

Abstract: 【Objective】Tiller angle is an important component of rice plant type, which directly affects rice planting density and ultimately influences rice yield. Exploring and studying new QTLs/genes that regulate rice tiller angle and applying them to plant type improvement is one of the effective ways to improve rice yield. 【Method】The recombinant inbred lines (RILs) derived from the crossing and selfing of the Indian *japonica* rice variety M494 and *indica* rice variety Zhong 9B were used as experimental materials. They were planted at Fuyang and Lingshui experimental bases of China National Rice Research Institute in Zhejiang and Hainan Province from 2021 to 2023. QTL mapping and analysis of rice tiller angle were conducted based on the high-density Bin map constructed by resequencing method. 【Result】A total of nine QTLs were detected in three years, distributed on chromosomes 1, 3, 9, 11 and 12. The phenotypic variation explained by each QTL ranged from 2.54% to 57.00%, and the additive effects were all derived from the large tiller angle parent M494. Among them, the major QTL *qTA9-1* for tiller angle was located in the range of 20.71–20.80 Mb on chromosome 9, with a physical map interval of 86.36 kb region. Moreover, it was repeatedly detected in 2021 and 2022, and the highest contribution rate could reach 57.00%. This region overlapped with the cloned tiller angle gene *TAC1*. The RT-PCR results showed that the expression level of *TAC1* in the large tiller angle genotype line M109 was significantly higher than that in the small tiller angle genotype line M67. Further sequencing analysis revealed that compared with the *qta9-1* genotype line M67, the *qTA9-1* genotype line M109 had a C to T mutation at the 3' splice site of intron 4 of the reported *TAC1*, which is the *TAC1* functional SNP, and we speculate that *qTA9-1* is *TAC1*. In 2021 and 2022, a novel QTL controlling tiller angle was repeatedly detected in the 15.20–16.00 Mb interval of chromosome 3, which exhibited epistatic interaction with the major tiller angle QTL *qTA9-1*. A minor QTL locus regulating tillering angle was repeatedly detected in the 21.10–22.02 Mb interval of chromosome 12. 【Conclusion】Nine QTLs for tiller angle were detected using the RIL population constructed by crossing M494 with Zhong 9B combining with the high-density genetic map, including the cloned gene *TAC1*, and a novel QTL for tiller angle was detected on chromosome 3. The above results provide a theoretical basis and genetic resources for further fine mapping of rice tiller angle genes and genetic improvement of plant type of rice varieties.

Key words: rice; tiller angle; high-density genetic map; QTL mapping analysis

摘 要: 【目的】分蘖角度是水稻株型的重要组成部分, 直接影响水稻的种植密度并最终影响水稻产量。挖掘和研究新的调控水稻分蘖角度 QTL/基因并应用于株型改良, 是提高水稻产量的有效方式之一。【方法】本研究利用印度粳稻品种 M494 和籼稻品种中 9B 杂交并自交衍生的重组自交系(Recombinant inbred lines, RILs)群体为试

收稿日期: 2024-11-10; 修改稿收到日期: 2025-01-09。

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LTGN23C130001); 中国农业科学院基本科研业务费专项 (CPSIBRF-CNRR-202401); 中国农业科学院科技创新工程资助项目 (CAAS-ASTIP-2013-CNRR)。

验材料,于2021至2023年在中国水稻研究所浙江省富阳与海南省陵水试验基地种植,基于重测序法构建的高密度 Bin 图谱进行水稻分蘖角度 QTL 定位与分析。【结果】3 年共检测到 9 个 QTL,分布于 1、3、9、11 和 12 号染色体上,单个 QTL 可解释的表型贡献率介于 2.54%~57.00%,加性效应均来源于大分蘖角度亲本 M494。其中主效分蘖角度 QTL *qTA9-1* 定位在 9 号染色体的 20.71–20.80 Mb 区间,物理图谱区间为 86.36 kb,且在 2021 与 2022 年重复被检测到,贡献率最高可达 57.00%,该区间覆盖已克隆分蘖角度基因 *TAC1*。RT-PCR 结果表明 *TAC1* 在大分蘖角度株系 M109 中的表达量显著高于小分蘖角度株系 M67。进一步测序分析发现,与 *qta9-1* 基因型株系 M67 相比,*qTA9-1* 基因型株系 M109 中 *TAC1* 在第 4 内含子的 3' 剪接位点发生了 C 到 T 的突变,为已报道的 *TAC1* 功能性 SNP 位点,推测 *qTA9-1* 即为 *TAC1*。2021 和 2022 年在 3 号染色体 15.20–16.00 Mb 区间重复检测到 1 个新的控制分蘖角度的 QTL,其与主效分蘖角度 QTL *qTA9-1* 存在上位性互作;在 12 号染色体 21.10–22.02 Mb 区间重复检测到 1 个调控水稻分蘖角度的微效 QTL 位点。【结论】本研究利用 M494 和 Z9B 杂交构建的 RIL 群体,结合高密度遗传图谱,共检测到 9 个分蘖角度相关 QTL,包括已克隆基因 *TAC1*,在 3 号染色体检测到 1 个新的分蘖角度 QTL。上述结果为进一步开展水稻分蘖角度基因的精细定位和水稻品种株型的遗传改良提供了理论基础和基因资源。

关键词: 水稻;分蘖角度;高密度遗传图谱;QTL 定位分析

水稻是世界上最主要的粮食作物,半数以上的人口以稻米为主食。随着人口的增加与耕地面积的减少,提高水稻产量对保障世界粮食安全显得尤为重要。水稻株型改良是提高水稻产量潜力的有效手段之一,分蘖角度是影响水稻理想株型的关键要素。分蘖角度过大,植株分散,空间占用大,单位面积内种植密度低,进而导致产量下降;分蘖角度过小,植株紧凑影响通风性和透光性,容易引发病害且光能利用率降低,水稻个体间存在恶性竞争^[1]。因此,解析水稻分蘖角度的遗传基础,挖掘分蘖角度相关 QTL/基因,对培育具有理想株型的水稻品种以提高单位土地面积内水稻产量具有重要意义^[2,3]。

水稻分蘖角度受环境、激素及遗传因素的影响,是由多基因控制的数量性状^[4]。研究人员构建不同的水稻遗传群体并定位了多个与水稻分蘖角度有关的 QTL。余传元等^[5]利用重组自交系(RIL)和染色体片段置换系(CSSL)群体检测到 5 个控制分蘖角度的主效 QTL,主效基因 *qTA-9* 位于 9 号染色体上 RFLP 标记 XNpb108 与 C506 之间。刘文芳等^[6]采用粳稻品种中花 11 和长雄蕊野生稻杂交建立 F₂ 作图群体,构建覆盖水稻基因组的 InDel 分子标记连锁图谱,分别在 1、3、7 号染色体上检测到 3 个分蘖角度相关 QTL(*qTA-1-1*、*qTA-3-1*、*qTA-7-1*)。刘化龙等^[7]以空育 131 和东农 422 为亲本构建的 RIL 群体为试验材料,在 2、6、7、8、12 号染色体上共检测到 6 个分蘖角度 QTL。He 等^[8]利用粳稻 D50 和籼稻 HB277 杂交衍生的 RIL 群体,检测到 2 个主效 QTL,其中在 9 号染色体上检测到的 *qTAC9* 与 *TAC1* 位置相近。董少玲等^[9]以籼稻品种 Kasalath 和粳稻品系 TD70 为亲本构建 RIL 群体为材料,共检测到 3 个调控分蘖角度的 QTL(*qTA8*、

qTA9、*qTA11*),其中 *qTA9* 包含控制水稻分蘖角度的基因 *TAC1*。Zhao 等^[10]利用 222 个 SSR 标记构建的水稻加倍单倍体群体的高密度遗传图谱,2 年共检测到 8 个控制分蘖角度和分蘖冠宽的 QTL,其中 4 个 QTL(*qTA9*、*qCW9*、*qTA9-1* 和 *qCW9-1*) 在 9 号染色体标记区间 RM6235–RM24288 重叠,预测 *OsSAURq9* 为候选基因。朱裕敬等^[11]以来自水稻 3K 资源的 333 份核心种质为研究材料,在抽穗期测量分蘖角度,结合基因型进行全基因组关联分析(GWAS),在 2、5、6、9、12 号染色体上共检测到 6 个分蘖角度 QTL(*qTA2*、*qTA5*、*qTA6.1*、*qTA6.2*、*qTA9*、*qTA12*)。Yu 等^[12]利用松散株型的籼稻品种 IR24 和紧凑株型的粳稻品种 IL55 为材料,将 *TAC1* 精细定位于 9 号染色体的 35 kb 区间内,序列分析发现在第 4 内含子的 3' 拼接点处基因组序列由“AGGA”到“GGGA”的突变引起 *TAC1* 的表达水平降低,该变异导致籼稻和粳稻之间分蘖角度存在差异。Dong 等^[13]在两种环境下利用 529 份水稻材料进行了 GWAS 分析,共检测到 9 个调控水稻分蘖角度的 QTL,其中 *qTA3*、*qTA1b/DWARF2 (D2)* 和 *qTA9c/TAC1* 三个主要 QTL 在粳稻驯化过程中都受到人工选择。Zhang 等^[14]以野生稻基因渗入系为材料克隆了分蘖角度主效 QTL (*TIG1*),籼稻品种 *TIG1* 启动子变异导致了水稻驯化过程中由倾斜生长向直立生长转变。Liu 等^[15]利用小粒野生稻渗入系克隆了水稻分蘖角度基因 *BTA8*,*BTA8* 为 *TIG1* 新的等位基因,同时发现 *BTA8* 基因在籼稻和粳稻间存在不同的功能单倍型。

研究人员发现影响重力响应、生长素不对称分布和不对称生长的有关基因在调节水稻分蘖角度方面具有重要作用。例如,*LPA1* 通过调节淀粉体的沉降速率来影响胚芽鞘向地性中的重力感知和

信号转导及分蘖角度^[16]。*OsAGPL1* 编码腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶大亚基, *OsAGPL1* 功能缺失抑制水稻茎中的淀粉合成, 导致茎重力敏感性降低和分蘖角度增大^[17]。*LAZY2* 通过影响水稻叶鞘中的淀粉合成来参与调节水稻地上部分的重力响应和分蘖角度形成^[18]。*LAZY1*^[19,20]、*OsHOX1*^[21]、*OsHOX28*^[21]、*OsBRXL4*^[22]通过调节生长素的不对称分布和极性运输来调控水稻地上部的向重力性和分蘖角度。过表达 *OsPIN2* 可抑制 *LAZY1* 在地上部的表达从而调控分蘖角度^[23]。*TAC4* 通过调控内源性生长素的含量和分布来控制水稻分蘖角度^[24]。

水稻分蘖角度受诸多因素影响, 筛选特异种质资源, 挖掘分蘖角度 QTL, 鉴定和克隆调控分蘖角度基因, 并解析其分子调控机制, 是选育合适分蘖角度品种的基础和前提, 对提高水稻产量具有重要作用。本研究以印度粳稻品种 M494 与籼稻品种中 9B(Z9B)杂交并自交衍生的 RIL 群体为材料, 采用重测序技术构建高密度 Bin 遗传图谱, 挖掘调控水稻分蘖角度相关 QTL 位点及其连锁的 SNP 分子标记, 以期为培育理想株型水稻品种提供有用的基因资源, 为水稻分蘖角度 QTL 精细定位和分子标记辅助选择育种提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

用大分蘖角度印度粳稻品种 M494 与小分蘖角度中国籼稻品种中 9B(Z9B)进行杂交, 从 F₂ 代时采用单粒传法(Single seed descent, SSD)构建包含 146 个株系的 RIL 群体。

利用重测序技术构建 M494/Z9B 的 RIL 群体遗传连锁图谱。该图谱由 1182 个 Bin 标记组成, 总遗传图距为 1447.84 cM, 最大标记距离为 31.94 cM, 平均每条染色体上包含 98.5 个标记, 标记间平均遗传距离为 1.22 cM, 标记间平均物理距离为 306.2 kb(图 1)^[25]。

1.2 田间试验及表型测定

双亲和 RIL 群体分别于 2021—2023 年种植在中国水稻研究所海南省陵水试验基地(以下简称陵

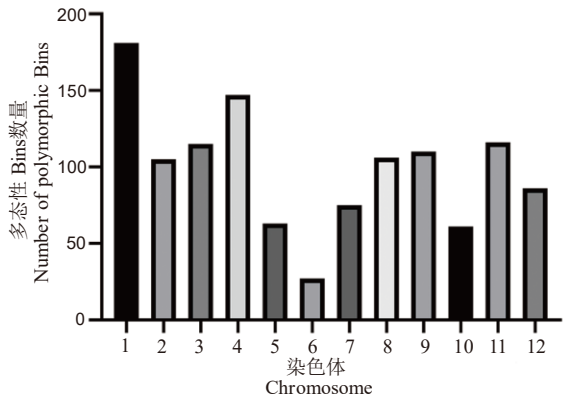


图 1 多态性 Bin 标记在水稻染色体上的分布

Fig. 1. Distribution of polymorphic Bin markers on rice chromosomes

水)和浙江省富阳试验基地(以下简称富阳)。采用湿润育秧, 秧龄 25 d 左右, 行距 25 cm, 株距 20 cm, 每行 6 穴, 种植 6 行, 每穴 1 苗, 常规田间管理。

在水稻生长发育过程中, 分蘖角度会呈现动态变化^[26]。本研究中的分蘖角度均在群体分蘖盛期(播种后 50 d 左右), 参照沈圣泉等^[27]使用十字架测量工具测量分蘖角度, 在每个株系除边行外的其余植株中选取 5 株进行测量, 取平均值作为其表型值。采用 Microsoft Excel 2021 进行数据统计分析。

1.3 QTL 分析

基于 RIL 群体的表型数据及高密度遗传图谱, 采用 IciMapping 4.2 中 BIP (Bi-parental Populations) 模块对水稻分蘖角度进行 QTL 分析^[28]。采用完备区间作图法(ICIM), 设置 LOD 阈值为 2.50, 当所得的 LOD 值大于 LOD 阈值时, 认为该区域存在 1 个 QTL, 同时计算每个 QTL 的贡献率和加性效应。QTL 命名遵循 McCouch 制定的原则^[29]。

1.4 RT-PCR 分析

样品采用植物总 RNA 快速通用提取试剂盒提取 RNA, 取 1 μL RNA 样品测定浓度。取 1.0 μg 总 RNA, 使用三代逆转录去基因组 DNA 一管化预混液反转录试剂合成 cDNA, 置于-20℃下保存以供 RT-PCR 使用。利用 Primer 3.0 设计 RT-PCR 引物, RT-PCR 引物见表 1。实时荧光定量 PCR 使用 ABI7500 定量 PCR 仪按照 PowerUp™ SYBR™

表 1 本研究中用到的引物序列

Table 1. Primer sequence used in the study

基因名 Gene name	正向引物(5'→3') Forward primer (5'→3')	反向引物 (5'→3') Reverse primer (5'→3')
<i>TAC1</i>	GTGCAAGTGTGACTGAGCAA	AGCGTGCCAATTGCAAGTAT
<i>Actin</i>	TGCTATGTACGTCGCCATCCAG	AATGAGTAACCACGCTCCGTCA

表 2 亲本和 RIL 群体 2021—2023 年分蘖角度表型值
Table 2. Phenotypic values of tiller angle of parents and RIL population in 2021, 2022 and 2023

年份 Year	RIL 群体 RIL population					亲本 Parent	
	平均值 Mean	变幅 Range	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	标准差 Standard	M494	Z9B
2021	11.4	7.5~22.5	0.77	-0.17	3.97	16.2	7.0
2022	11.5	5.8~22.0	0.74	-0.27	3.67		
2023	12.6	5.5~27.2	1.07	2.07	3.79		

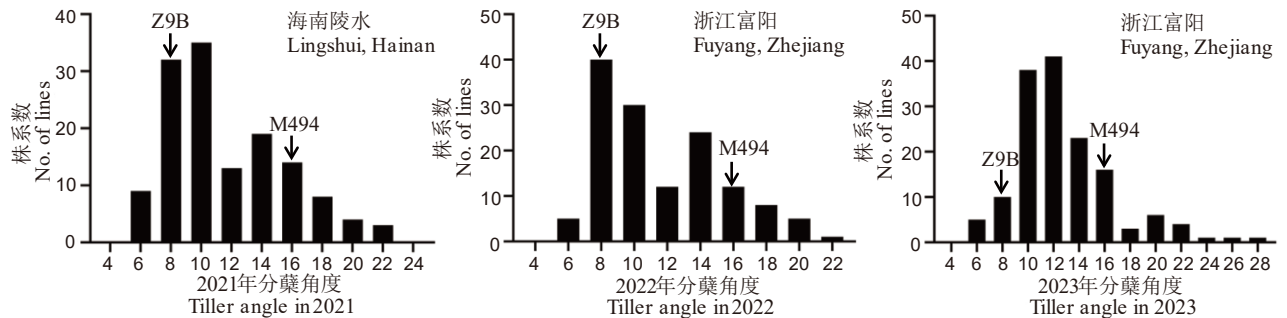


图 2 RIL 群体 2021—2023 年分蘖角度表型频率分布
Fig. 2. Frequency distribution map of tiller angle in RIL population in 2021, 2022 and 2023

Green 预混液说明书进行。反应体系共 10 μ L, 包含 1 μ L 的 cDNA, 5 μ L PowerUp™ SYBR™ Green 预混液, 正反向引物各 0.2 μ L, 双蒸水 3.6 μ L; 反应条件为 50℃ 下 2 min; 95℃ 下 5 min; 95℃ 下 5 s, 60℃ 下 30 s, 40 个循环; 融解曲线: 60℃ 到 95℃, 每 0.5℃ 收集一次荧光信号。每个 cDNA 样本设置 3 个技术重复。

2 结果与分析

2.1 亲本、RIL 群体分蘖角度性状表现

对亲本 M494、Z9B 及 RIL 群体进行了分蘖角度测量。由表 2 可见, 大分蘖角度亲本的分蘖角度为 M494(16.2°), 小分蘖角度亲本的为 Z9B(7.0°)。双亲间分蘖角度差异明显, 有助于 QTL 分析。由表 2 和图 2 可知, 2021 年 RIL 群体分蘖角度的变异范围为 7.5°~22.5°, 2022 年为 5.8°~22.0°, 2023 年为 5.5°~27.2°。其中, RIL 群体 2023 年的分蘖角度平均值比前两年略大。群体 3 年的分蘖角度变异范围均超过亲本, 表现为连续性变异, 基本呈现正态分布, 满足 QTL 区间作图的条件。

2.2 RIL 群体分蘖角度性状的 QTL 定位

采用分子遗传连锁图谱及 IciMapping 4.2 软件对 2021—2023 年 RIL 群体的分蘖角度进行完备区间作图法(ICIM)分析, 共检测到 9 个 QTL 位点, 分布在 1、3、9、11 和 12 号染色体上(图 3)。

2021 年共检测到 3 个控制分蘖角度的 QTL, 分别位于 3、9 和 12 号染色体上, 命名为 *qTA3-1*、*qTA9-1* 和 *qTA12-1*, 其中位于 9 号染色体上的 *qTA9-1* 的 LOD 值最大, 为 24.70, 可解释的表型贡献率最高为 49.27%, 物理位置在 20.71–20.80 Mb 区间, 区间大小为 86.36 kb, 其增效等位基因来自亲本 M494。另外 2 个 QTL *qTA3-1*(LOD 值为 3.69) 和 *qTA12-1*(LOD 值为 3.36) 分别位于 3 号染色体上的 15.70–16.00 Mb 区间和 12 号染色体上的 21.80–22.02 Mb 区间, 区间大小为 299.52 kb 和 222.59 kb, 增效等位基因均来自亲本 M494。2022 年共检测到 4 个控制分蘖角度的 QTL(*qTA3-2*、*qTA9-1*、*qTA11-1*、*qTA12-2*), 增效等位基因均来自亲本 M494。其中 *qTA9-1* 被重复检测到, 为主效 QTL, LOD 值为 34.60, 可解释 57.00% 的表型变异。另外 3 个 QTL *qTA3-2*(LOD 值为 2.77)、*qTA11-1* (LOD 值为 4.99) 和 *qTA12-2*(LOD 值为 3.47) 分别位于 3 号染色体上的 15.20–15.40 Mb 区间、11 号染色体上的 9.90–12.60 Mb 区间和 12 号染色体上的 21.10–21.20 Mb 区间, 区间大小分别为 201.72 kb、2702.55 kb 和 98.76 kb。2023 年共检测到 3 个与分蘖角度有关的 QTL, 分别位于 1、3、9 号染色体上, 命名为 *qTA1-1*、*qTA3-3*、*qTA9-2*, 增效等位基因均来自亲本 M494。表型贡献率最大的 *qTA9-2*, LOD 值为 9.95, 可解释的表型贡献率为 19.07%, 定位在 20.10–20.40 Mb, 区间大小为 298.66 kb。另外 2 个

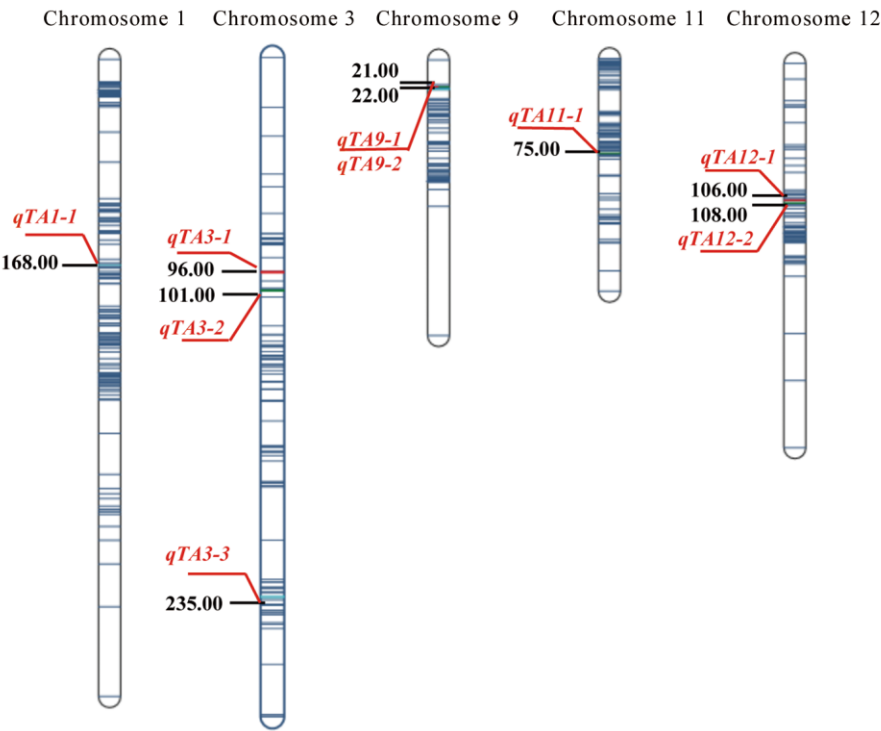


图3 水稻分蘖角度 QTL 定位
Fig. 3. QTL mapping of tiller angle in rice

QTL *qTA1-1*(LOD 值为 4.56)和 *qTA3-3*(LOD 值为 2.86)分别位于 1 号染色体上的 42.10–42.87 Mb 区间和 3 号染色体上的 26.60–27.70 Mb 区间,区间大小为 772.47 kb 和 908.32 kb(表 3)。

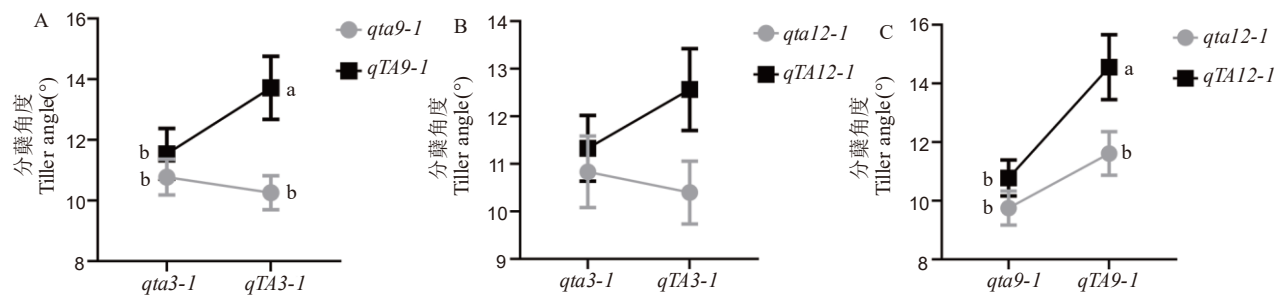
2.3 RIL 群体分蘖角度 QTL 上位性效应分析

利用 2021 年 RIL 群体表型数据及 QTL 峰值标记进行互作分析。首先,以峰值标记的基因型代表 QTL 基因型,对群体的分蘖角度表型数据,分别按照 *qTA3-1* (Bin03-96)、*qTA9-1*(Bin09-21)和 *qTA12-1* (Bin12- 107)进行不同基因型组合的对比,并采用 Duncan 多重检验。结果表明,3 个基因型组合中 2 个基因型组合表型存在差异。

分析 *qTA3-1* 和 *qTA9-1* 的互作发现, *qTA3-1* 与 *qTA9-1* 同时存在时的分蘖角度与 *qTA3-1* 和 *qTA9-1* 单独存在时差异显著,说明 *qTA3-1* 与 *qTA9-1* 之间表现出加性效应(图 4-A)。*qTA9-1* 和 *qTA12-1* 的互作表现出类似趋势,两者间存在明显的加性效应(图 4-C)。*qTA3-1* 与 *qTA12-1* 同时存在时的分蘖角度与 *qTA3-1* 和 *qTA12-1* 分别独自存在时差异不显著,未表现出加性效应(图 4-B)。利用 ICIM 软件中的 EPI 模型检测上位性效应位点,并验证了 *qTA3-1* 和 *qTA9-1* 之间的互作。共检测到 34 对上位性互作位点(图 5),分布于 12 条染色体上,LOD 值为 2.50~6.61,上位性效应为-1.53~1.64,贡献率为 1.21%~

表3 水稻分蘖角度的 QTL 分析
Table 3. QTL analysis of tiller angle in rice

年份 Year	染色体 Chromosome	位点 Locus	峰值标记 Peak marker	LOD 值 LOD value	表型贡献率 Variation explained(%)	加性效应 Additive effect	物理位置 Position (Mb)	定位区间 Location interval (kb)
2021	3	<i>qTA3-1</i>	Bin03-96	3.69	5.08	0.93	15.70–16.00	299.52
2021/2022	9	<i>qTA9-1</i>	Bin09-21	24.70/34.60	49.27/57.00	2.90/2.92	20.71–20.80	86.36
2021	12	<i>qTA12-1</i>	Bin12-107	3.36	4.57	0.88	21.80–22.02	222.59
2022	3	<i>qTA3-2</i>	Bin03-101	2.77	2.54	0.61	15.20–15.40	201.72
2022	11	<i>qTA11-1</i>	Bin11-75	4.99	4.92	0.86	9.90–12.60	2702.55
2022	12	<i>qTA12-2</i>	Bin12-108	3.47	3.21	0.69	21.10–21.20	98.76
2023	1	<i>qTA1-1</i>	Bin01-168	4.56	8.34	1.23	42.10–42.87	772.47
2023	3	<i>qTA3-3</i>	Bin03-235	2.86	4.96	0.93	26.60–27.70	908.32
2023	9	<i>qTA9-2</i>	Bin09-22	9.95	19.07	1.83	20.10–20.40	298.66



TA 表示大角度的等位基因型，ta 表示小角度的等位基因型。不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
TA represents the large tiller angle allele, ta represents the small tiller angle allele. Different lowercase letters indicate significant differences($P<0.05$).

图4 3个分蘖角度 QTL 间的互作分析

Fig. 4. Interaction analysis among three QTLs for tiller angle

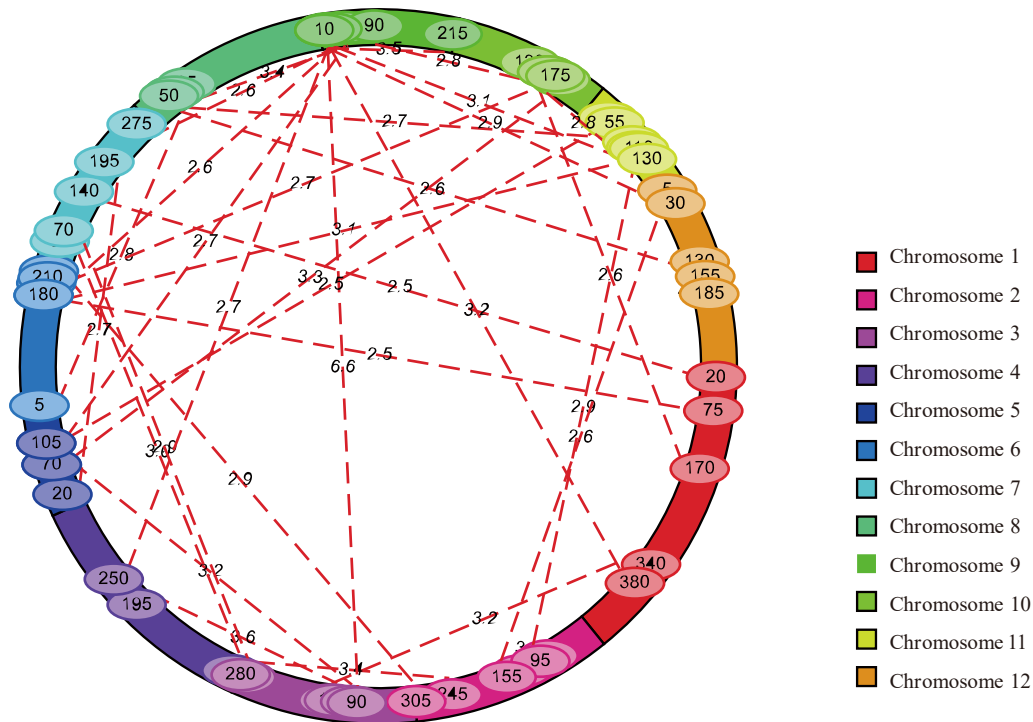


图5 水稻分蘖角度 QTL 间的上位性效应分析

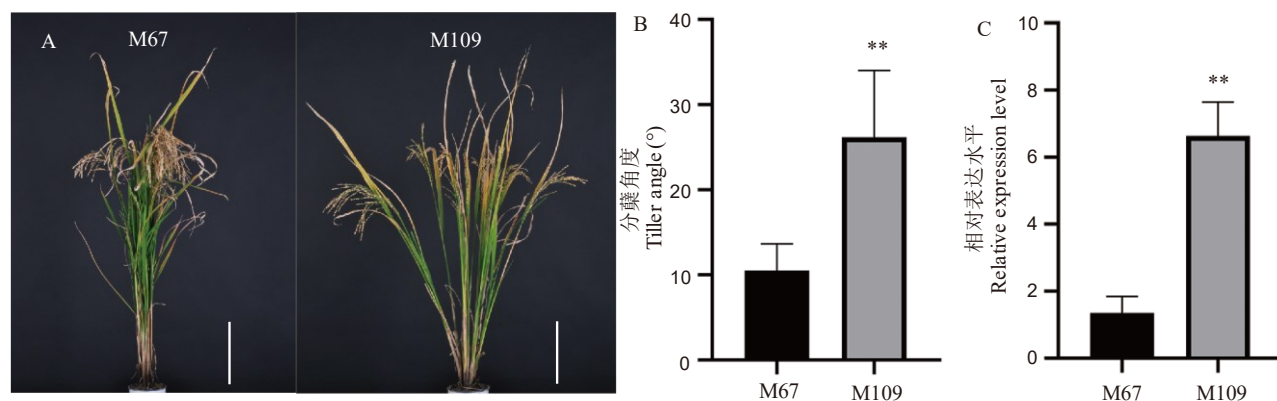
Fig. 5. Epistatic effect analysis among QTLs for tiller angle in rice

5.74%。其中，3 号和 9 号染色体之间存在上位性互作，LOD 值为 6.61，贡献率为 5.74%，上位性效应为 1.42。上位性效应检测结果验证了 *qTA3-1* 与 *qTA9-1* 之间的互作关系。

2.4 分蘖角度主效位点 *qTA9-1* 候选基因 RT-PCR 分析及序列比对

TAC1 是第一个被克隆的水稻分蘖角度主效 QTL^[12]。本研究定位到的主效分蘖角度 QTL *qTA9-1* 区间覆盖 *TAC1*，通过 qRT-PCR 比较了分蘖角度主效基因 *TAC1* 在株系 M109 与 M67 中的表达量水平。结果显示，*qTA9-1* 基因型株系 M109 中 *TAC1* 基因的表达量显著高于 *qta9-1* 基因型株系 M67(图 6)。 *TAC1* 上调表达导致分蘖角度增大，而

下调表达导致分蘖角度减小^[12]；M109 和 M67 的分蘖角度表型与 *TAC1* 表达量一致。为确定 *qTA9-1* 是否为分蘖角度主效基因 *TAC1* 的等位变异，选取 RIL 群体中 *qTA9-1* 分别为大角度和小角度基因型的株系 M109 与 M67 进行 DNA 测序，将 PCR 产物测序结果与 *TAC1* 参考序列进行对比。结果显示，小分蘖角度株系 M67 已克隆基因 *TAC1* 编码区序列与日本晴参考基因组相同，大分蘖角度株系 M109 在编码区发生 1 处碱基突变，为同义突变未改变编码的氨基酸；进一步分析发现 M109 与 M67 相比在 *TAC1* 的第 4 内含子的 3'剪接位点发生了 C 到 T 的突变，为已报道的 *TAC1* 功能性 SNP 位点，推测 *qTA9-1* 即为 *TAC1*(图 7)。



A: M67 和 M109 分蘖角度比较(比例尺: 20 cm); B: M67 和 M109 的分蘖角度; C: *TAC1* 表达量比较。 ** $P < 0.01$ 。

A, Comparison of tiller angle phenotype between M67 and M109 (Scale bar, 20 cm); B, Tiller angle of M67 and M109; C, Comparison of *TAC1* expression. ** $P < 0.01$.

图 6 主效 QTL *qTA9-1* 两种等位基因型株系分蘖角度表型和 *TAC1* 表达量比较

Fig. 6. Comparison of tiller angle and *TAC1* expression between two allelic lines of the major QTL *qTA9-1*

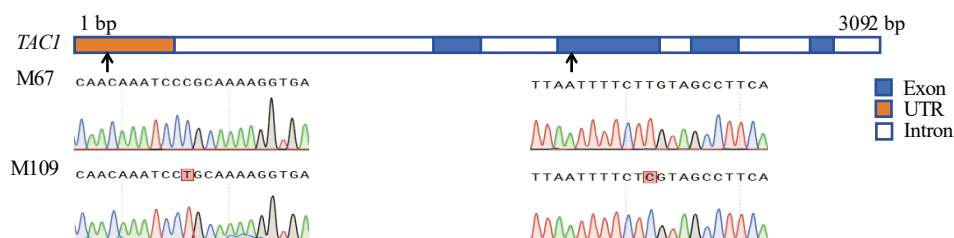


图 7 主效 QTL *qTA9-1* 候选基因 *TAC1* 的序列对比

Fig. 7. Comparison between candidate gene sequences of *TAC1* and major QTL *qTA9-1*

3 讨论

分蘖角度是水稻株型的重要组成部分,影响种植密度、光合速率、抗病性与抗倒伏,对提高水稻产量具有重要作用。分蘖角度的调控机制非常复杂,既受到环境、激素的影响,还受到多基因的控制^[30],因此探究水稻分蘖角度的遗传基础对于提高水稻产量具有重要意义。本研究利用分蘖角度差异明显的印度粳稻品种 M494 和中国籼稻品种中 9B 构建的 RIL 群体作为供试材料,连续 3 年对分蘖角度进行 QTL 定位与分析,在 1、3、9、11、12 号染色体上共检测到 9 个控制分蘖角度的 QTL 位点,本研究检测到的部分 QTL 与前人研究结果一致。

目前已有许多分蘖角度相关 QTL/基因被报道, Yu 等^[12]利用图位克隆法,挖掘出一个调控水稻分蘖角度的主效 QTL *TAC1*。与前人研究结果相比,本研究检测到的位于 9 号染色体 20.71–20.80 Mb 区间的 *qTA9-1* 表型贡献率最大为 57.00%;同时 2023 年在 9 号染色体上定位到的 *qTA9-2*,其物理位置为 19.50–19.91 Mb 区间,表型贡献率为 19.07%,与 *qTA9-1* 位置邻近,这两个 QTL 可能是相同位点;

通过测序分析发现,与 *qta9-1* 基因型株系 M67 相比, *qTA9-1* 基因型株系 M109 中已克隆分蘖角度基因 *TAC1* 的第 4 内含子的 3'剪接位点发生了 C 到 T 的突变,导致分蘖角度由小变大。本研究在 3 号染色体 15.70–16.00 Mb 和 15.20–15.40 Mb 区间检测到控制分蘖角度的 QTL *qTA3-1* 和 *qTA3-2*,可解释的表型贡献率为 5.08%和 2.54%,与以往报道的定位在 3 号染色体上的分蘖角度 QTL 相距较远^[6],可能为新的分蘖角度调控位点。本研究在 11 号染色体 9.9–12.60 Mb 区间定位到的分蘖角度 QTL *qTA11-1*,表型贡献率为 4.92%,与董少玲等^[9]在 RM286–RM332 区间定位到的 *qTA11*,物理位置间隔较远,可能为新的调控分蘖角度 QTL。本研究在 12 号染色体 21.80–22.02 Mb 和 21.10–21.20 Mb 区间检测到控制分蘖角度的 QTL *qTA12-1* 和 *qTA12-2*,表型贡献率为 4.57%和 3.21%,与刘化龙等^[7]在 12 号染色体定位到的分蘖角度 QTL *qTA12* 位置相距较远,与朱裕敬等^[11]在 12 号染色体 20.09 Mb 附近定位到的 *qTA12* 位置相邻。

本研究连续 3 年在 9 号染色体邻近区间检测到控制分蘖角度的主效 QTL。2021 和 2022 年在 3 号染色体上检测到 2 个分蘖角度 QTL *qTA3-1* 和

qTA3-2, 二者物理位置接近, 峰值标记分别在 Bin03-96 和 Bin03-101 彼此相邻, 增效等位基因均来自亲本 M494, 推测可能是同一个 QTL。本研究于 2021 和 2022 年检测到位于 12 号染色体上的 *qTA12-1* 和 *qTA12-2* 物理位置接近, 区间大小分别为 222.59 kb 和 98.76 kb, 峰值标记在 Bin12-107 处相互重叠, 增效等位基因来自亲本 M494, 推测可能为同一 QTL 位点。不同实验中利用不同群体定位到的分蘖角度 QTL 重复率很低^[31], 可能因为群体的遗传背景复杂, 影响定位的准确性; 也可能因为分蘖角度性状易受到环境因素的影响, 从而造成偏差。本研究在不同环境中定位到的分蘖角度 QTL 有较好的重演性, 为进一步开展水稻分蘖角度 QTL 的精细定位、基因挖掘和水稻株型遗传改良提供了理论参考和材料基础。

4 结论

本研究利用 M494 和 Z9B 杂交衍生的 RIL 群体, 对水稻分蘖角度进行 QTL 定位与分析。3 年共检测到 9 个控制水稻分蘖角度的 QTL, 分布于 1、3、9、11 和 12 号染色体上, LOD 值介于 2.77~34.60 之间, 可解释的表型贡献率介于 2.54%~57.00% 之间。在 2021 和 2022 年, 检测到主效 QTL *qTA9-1*, 表型贡献率分别为 49.27% 和 57.00%, LOD 值分别为 24.70 和 34.60; 在 2023 年检测到分蘖角度 QTL *qTA9-2*, 表型贡献率为 19.07%, LOD 值为 9.95。*qTA9-2* 与 *qTA9-1* 物理位置接近, 增效等位基因均来源于亲本 M494, 二者可能均为已报道的 *TAC1* 基因。本研究在 12 号染色体上定位到 2 个调控水稻分蘖角度的微效 QTL(*qTA12-1* 和 *qTA12-2*), 表型贡献率分别为 4.57% 和 3.21%, LOD 值分别为 3.36 和 3.47, 增效等位基因均来源于亲本 M494。此外, 本研究还检测到 1 个未被鉴定过的调控分蘖角度 QTL 位点, 包含 *qTA3-1* 和 *qTA3-2*, 分别位于 3 号染色体的 15.70~16.00 Mb 和 15.20~15.40 Mb 区间。本研究在不同年份检测到的分蘖角度 QTL 具有较好的重演性, 可用于进一步开展水稻分蘖角度基因的精细定位和克隆, 为水稻株型的遗传改良提供基因资源。

参考文献:

- [1] 朱亮, 薛蓬勃, 李国强, 黄婧, 金健. 全基因组结合位点分析揭示 *LAZY1* 控制水稻分蘖角度的下游调控网络[J]. 基因组学与应用生物学, 2022, 41(7): 1539-1549.
- [2] 蔡跃, 肖宁, 陈梓春, 吴云雨, 余玲, 刘建菊, 时薇, 潘存红, 李育红, 周长海, 季红娟, 黄年生, 张小祥, 李爱宏. 调控水稻分蘖角的分子机制研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2023, 24(2): 332-339.
- [3] 王文广, 王永红. 作物株型与产量研究进展与展望[J]. 中国科学: 生命科学, 2021, 51(10): 1366-1375.
- [4] 王卫衡, 吕启明, 辛业芸. 水稻分蘖角度的研究进展[J]. 杂交水稻, 2019, 34(3): 1-7.
- [5] 余传元, 刘裕强, 江玲, 王春明, 翟虎渠, 万建民. 水稻分蘖角度的 QTL 定位和主效基因的遗传分析[J]. 遗传学报, 2005, 32(9): 948-954.
- [6] 刘文芳, 孙加雷, 王凯, 范智权, 胡东辉, 杨江义, 蔡中全. 长雄蕊野生稻分蘖角度 QTL 定位及遗传分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(4): 1597-1603.
- [7] 刘化龙, 杨洛淼, 徐善斌, 刘华东, 邹德堂. 多环境下水稻株型相关性状 QTL 解析[J]. 东北农业大学学报, 2020, 51(4): 1-9.
- [8] He J, Shao G, Wei X, Huang F, Sheng Z, Tang S, Hu P. Fine mapping and candidate gene analysis of *qTAC8*, a

- major quantitative trait locus controlling tiller angle in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0178177.
- [9] 董少玲, 张颖慧, 张亚东, 陈涛, 赵庆勇, 朱镇, 周丽慧, 姚姝, 赵凌, 王才林. 水稻重组自交系分子遗传图谱构建及分蘖角的QTL检测[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(2): 236-242.
- Dong S L, Zhang Y H, Zhang Y D, Chen T, Zhao Q Y, Zhu Z, Zhou L H, Yao S, Zhao L, Wang C L. Construction of molecular genetic linkage map based on a rice RIL population and detection of QTL for tiller angle[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 28(2): 236-242. (in Chinese with English abstract)
- [10] Zhao D D, Jang Y H, Farooq M, Park J R, Kim E G, Du X X, Jan R, Kim K H, Lee S I, Lee G S, Kim K M. Identification of a major QTL and validation of related genes for tiller angle in rice based on QTL analysis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(9): 5192.
- [11] 朱裕敬, 桂金鑫, 龚成云, 罗新阳, 石居斌, 张海清, 贺记外. 全基因组关联分析定位水稻分蘖角度QTL[J]. 中国水稻科学, 2024, 38(3): 266-276.
- Zhu Y J, Gui J X, Gong C Y, Luo X Y, Shi J B, Zhang H Q, He J W. QTL mapping for tiller angle in rice by genome-wide association analysis[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2024, 38(3): 266-276. (in Chinese with English abstract)
- [12] Yu B, Lin Z, Li H, Li X, Li J, Wang Y, Zhang X, Zhu Z, Zhai W, Wang X, Xie D, Sun C. *TAC1*, a major quantitative trait locus controlling tiller angle in rice[J]. *The Plant Journal*, 2007, 52(5): 891-898.
- [13] Dong H, Zhao H, Xie W, Han Z, Li G, Yao W, Bai X, Hu Y, Guo Z, Lu K, Yang L, Xing Y. A novel tiller angle gene, *TAC3* together with *TAC1* and *D2* largely determine the natural variation of tiller angle in rice cultivars[J]. *PLoS Genetics*, 2016, 12(11): e1006412.
- [14] Zhang W, Tan L, Sun H, Zhao X, Liu F, Cai H, Fu Y, Sun X, Gu P, Zhu Z, Sun C. Natural variations at *TIG1* encoding a TCP transcription factor contribute to plant architecture domestication in rice[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(8): 1075-1089.
- [15] Liu J, Wang X, Wang J, Ye J, Zhang M, Xu Q, Yang Y, Wei X, Jia B, Feng Y. Identification of the *BTA8* gene reveals the contribution of natural variation to tiller angle in rice[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2024, 23(8): 2868-2871.
- [16] Wu X, Tang D, Li M, Wang K, Cheng Z. Loose Plant Architecture1, an INDETERMINATE DOMAIN protein involved in shoot gravitropism, regulates plant architecture in rice[J]. *Plant Physiology*, 2013, 161(1): 317-329.
- [17] Okamura M, Hirose T, Hashida Y, Yamagishi T, Ohsugi R, Aoki N. Starch reduction in rice stems due to a lack of *OsAGPL1* or *OsAPL3* decreases grain yield under low irradiance during ripening and modifies plant architecture[J]. *Functional Plant Biology*, 2013, 40(11): 1137-1146.
- [18] Huang L, Wang W, Zhang N, Cai Y, Liang Y, Meng X, Yuan Y, Li J, Wu D, Wang Y. *LAZY2* controls rice tiller angle through regulating starch biosynthesis in gravity-sensing cells[J]. *The New Phytologist*, 2021, 231(3): 1073-1087.
- [19] Li P, Wang Y, Qian Q, Fu Z, Wang M, Zeng D, Li B, Wang X, Li J. *LAZY1* controls rice shoot gravitropism through regulating polar auxin transport[J]. *Cell Research*, 2007, 17(5): 402-410.
- [20] Yoshihara T, Iino M. Identification of the gravitropism-related rice gene *LAZY1* and elucidation of *LAZY1*-dependent and -independent gravity signaling pathways[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2007, 48(5): 678-688.
- [21] Hu Y, Li S, Fan X, Song S, Zhou X, Weng X, Xiao J, Li X, Xiong L, You A, Xing Y. *OsHOX1* and *OsHOX28* redundantly shape rice tiller angle by reducing *HSA2D* expression and auxin content[J]. *Plant Physiology*, 2020, 184(3): 1424-1437.
- [22] Li Z, Liang Y, Yuan Y D, Wang L, Wang Y H. *OsBRXL4* regulates shoot gravitropism and rice tiller angle through affecting *LAZY1* nuclear localization[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(8): 1143-1156.
- [23] Chen Y, Fan X, Song W, Zhang Y, Xu G. Over-expression of *OsPIN2* leads to increased tiller numbers, angle and shorter plant height through suppression of *OsLAZY1*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 10(2): 139-149.
- [24] Li H, Sun H, Jiang J, Sun X, Tan L, Sun C. *TAC4* controls tiller angle by regulating the endogenous auxin content and distribution in rice[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(1): 64-73.
- [25] 王兴宇, 王静, 徐群, 章孟臣, 王珊, 孙燕飞, 魏兴华, 杨窑龙, 郭晓红, 冯跃. 利用高密度遗传图谱定位两种不同环境的水稻剑叶形态性状QTL差异[J]. 中国稻米, 2024, 30(6): 29-34.
- Wang X Y, Wang J, Xu Q, Zhang M C, Wang S, Sun Y F, Wei X H, Yang Y L, Guo X H, Feng Y. The difference of QTL for morphological traits of rice flag leaf by high-density genetic map in two different environments[J]. *China Rice*, 2024, 30(6): 29-34. (in Chinese with English abstract)

- [26] 欧阳由男. 水稻分蘖角度动态变化的生态生理机理研究和数量遗传分析[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
Ouyang Y N. Physiological and genetic mechanisms for change of tiller angle during growth in rice (*Oryza sativa* L.)[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008. (in Chinese with English abstract)
- [27] 沈圣泉, 庄杰云, 包劲松, 郑康乐, 夏英武, 舒庆尧. 水稻分蘖最大角度的QTL分析[J]. 农业生物技术学报, 2005, 13(1): 16-20.
Shen S Q, Zhuang J Y, Bao J S, Zheng K L, Xia Y W, Shu Q Y. Analysis of QTLs with additive, epistasis and G $\times$ E interaction effects of the tillering angle trait in rice[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2005, 13(1): 16-20. (in Chinese)
- [28] Meng L, Li H, Zhang L, Wang J. QTL IciMapping: Integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations[J]. *The Crop Journal*, 2015, 3(3): 269-283.
- [29] McCouch S R, CGSNL. Gene nomenclature system for rice[J]. *Rice*, 2008, 1(1): 72-84.
- [30] He Y, Li L, Jiang D. Understanding the regulatory mechanisms of rice tiller angle, then and now[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2021, 39(3): 640-647.
- [31] 钱前, 何平, 滕胜, 曾大力, 朱立煌. 水稻分蘖角度的QTLs分析[J]. 遗传学报, 2001, 28(1): 29-32.
Qian Q, He P, Teng S, Zeng D L, Zhu L H. QTLs analysis of tiller angle in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(1): 29-32. (in Chinese with English abstract)