

## 研究报告

## Research Report

# 分子标记及 RAD 测序辅助选择改造两系不育系水稻粒型

侯军亮<sup>1,2,4,5,6\*</sup> 席杏媛<sup>3\*</sup> 李世明<sup>1,2,4,5\*</sup> 李泽桦<sup>1,2,5,6</sup> 李刚<sup>1,2,5,6</sup> 伏琦<sup>1,2,5,6</sup> 李云飞<sup>1,2,4,6</sup> 鄢阳天<sup>1,2,5,6</sup> 杨麒生<sup>1,2,5,6</sup> 喻涵<sup>1,2,5,6</sup> 夏秋菊<sup>1,2,4,5</sup> 刘宝龙<sup>3</sup> 李勇<sup>1,2,4,5</sup> 张耕耘<sup>1,2,4,5,6</sup> 赵山岑<sup>1,2,4,5,6\*\*</sup> 倪雪梅<sup>1,2,4,5\*\*</sup>

1 深圳华大生命科学研究院, 深圳, 518083; 2 深圳市华大农业应用研究院, 深圳, 518083; 3 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁, 810000; 4 农业基因组学国家重点实验室, 深圳, 518083; 5 农业部农业基因组学重点实验室, 深圳, 518083; 6 深圳作物分子设计聚合育种工程实验室, 深圳, 518116

\* 同等贡献作者

\*\* 通信作者, zhaoshancen@genomics.cn; nixuemei@genomics.cn

**摘要** 长粒型稻米具有垩白度低, 直链淀粉含量高, 蒸煮后坚韧蓬松的优点。为了改良水稻粒型, 本研究以‘R15’为长粒型基因供体材料, ‘Y58S’光温敏两系不育系作为轮回亲本进行改良, 开发出了与控制粒型的 *qGL7* 紧密连锁的分子标记 R072774。利用该分子标记在每一代选出含有长粒型基因的株系进行建库测序, 利用 RAD 重测序数据进行基因组选择, 选择含有长粒型基因且基因组背景最接近轮回亲本‘Y58S’的个体。从 F<sub>2</sub> 代开始进行回交, 经过 4 代回交和 1 代自交, F<sub>2</sub> 代及回交后代与‘Y58S’遗传背景平均相似率为 F<sub>2</sub> (37.07%) < BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> (53.03%) < BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (97.89%)。最终得到的新品系系‘深华香 15S’总共有 356 920 821 bp 的片段与轮回亲本‘Y58S’一致, 占基因组的 95.62%。7 号染色体 22 482 655~29 697 621 bp 区间被‘R15S’替换, 使得新品系携带有长粒型基因。与亲本‘Y58S’相比, ‘深华香 15S’籽粒长度增加 29%, 长宽比增加了 51.7%, 成功培育出长粒型水稻不育系。本研究为快速选择、培育长粒型水稻提供了理论和实践参考。

**关键词** 分子标记辅助选择, RAD 测序, *qGL7*, 光温敏两系不育系

## Molecular Markers and RAD Sequencing Assistant Selection for Improvement of Grain Size in Two-line Sterile Rice

Hou Junliang<sup>1,2,4,5,6\*</sup> Xi Xingyuan<sup>3\*</sup> Li Shiming<sup>1,2,4,5\*</sup> Li Zehua<sup>1,2,5,6</sup> Li Gang<sup>1,2,5,6</sup> Fu Qi<sup>1,2,5,6</sup> Li Yunfei<sup>1,2,4,6</sup> Yan Yangtian<sup>1,2,5,6</sup> Yang Qisheng<sup>1,2,5,6</sup> Yu Han<sup>1,2,5,6</sup> Xia Qiuju<sup>1,2,4,5</sup> Liu Baolong<sup>3</sup> Li Yong<sup>1,2,4,5</sup> Zhang Gengyun<sup>1,2,4,5,6</sup> Zhao Shancen<sup>1,2,4,5,6\*\*</sup> Ni Xuemei<sup>1,2,4,5\*\*</sup>

1 BGI-Shenzhen, Shenzhen, 518083; 2 BGI Institute of Applied Agriculture, Shenzhen, 518083; 3 Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, 810000; 4 State Key Laboratory of Agricultural Genomics, Shenzhen, 518083; 5 Key Laboratory of Genomics, Ministry of Agriculture, Shenzhen, 518083; 6 Shenzhen Engineering Laboratory of Crop Molecular Design Breeding, Shenzhen, 518116

\* These authors contributed equally to this work

\*\* Corresponding authors, zhaoshancen@genomics.cn; nixuemei@genomics.cn

DOI: 10.13271/j.mpb.017.002552

**Abstract** Long grain rice has the advantages of low degree of chalkiness, high content of amylose and firm and fluffy after cooking. In order to improve the rice grain shape, in this study, 'R15' was used as long-grained gene donor material and 'Y58S', photo-thermo-sensitive two-line sterile line, was used as a recurrent parent to develop a

基金项目: 本研究由深圳市科技计划项目(CXZZ20150330171810060)、深圳作物分子设计聚合育种工程实验室提升项目(深发改(2015)946号)、国家高技术研究“863”发展计划(2014AA10A602-4)和国家科技支撑计划(2015BAD02B01-7)共同资助

引用格式: Hou J.L., Xi X.Y., Li S.M., Li Z.H., Li G., Fu Q., Li Y.F., Yan Y.T., Yang Q.S., Yu H., Xia Q.J., Liu B.L., Li Y., Zhang G. Y., Zhao S.C., and Ni X.M., 2019, Molecular markers and RAD sequencing assistant selection for improvement of grain size in two-line sterile rice, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 17(8): 2552-2558 (侯军亮, 席杏媛, 李世明, 李泽桦, 李刚, 伏琦, 李云飞, 鄢阳天, 杨麒生, 喻涵, 夏秋菊, 刘宝龙, 李勇, 张耕耘, 赵山岑, 倪雪梅, 2019, 分子标记及 RAD 测序辅助选择改造两系不育系水稻粒型, *分子植物育种*, 17(8): 2552-2558)

molecular marker R072774 closely linked to *qGL7* controlling grain shape. Using this molecular marker, the individuals containing the long-grained gene were selected in each generation for the establishment of the genomic library, and the genome selection was performed using RAD resequencing data. The individuals containing the long-grained gene and the genome background closest to the recurrent parent 'Y58S' were selected. Backcrossing from the F<sub>2</sub> generation, after 4 generations of backcross and 1 generation of self-crossing, the average genetic background similarity of F<sub>2</sub> generation and backcross generations compared with 'Y58S' was F<sub>2</sub> (37.07%)<BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> (53.03%)<BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> (97.89%). The resulting new line 'Shenhuaxiang 15S' had a total of 356 920 821 bp fragments consistent with the recurrent parent 'Y58S', accounting for 95.62% of the genome. The interval between 22 482 655 bp to 29 697 621 bp of chromosome 7 was replaced by R15S, making the new line with long-grained genes. Compared with the parent 'Y58S', 'Shenhuaxiang 15S' grain length increased by 29%, and the length-width ratio increased by 51.7%. Thus, we successfully cultivated a long-grain rice sterile line. This study could provide a theoretical and practical reference for the rapid selection and cultivation of long-grain rice.

**Keywords** MAS, RAD-seq, *qGL7*, Photo-thermo-sensitive two-line sterile line

水稻(*Oryza sativa* L.)是亚洲重要的谷类作物和主食之一。亚洲栽培稻是由近缘的印度野生稻(*Oryza nivara*)和普通野生稻(*O. rufipogon*)人工驯化而成。它包括两个主要亚种,即籼稻(*O. sativa* ssp. *indica*)和粳稻(*O. sativa* ssp. *japonica*) (Kovach et al., 2007; Sang and Ge, 2007)。典型的粳稻品种,称为温带粳稻,生长在温度较低的地区,通常比籼稻品种具有较强的耐冷性。相反,一些移栽到南洋西南的粳稻品种成为热带生态型水稻,称为爪哇或热带粳稻。籼稻和粳稻之间的差异是由不同的环境温度所施加的自然选择压驱使的(Kovach et al., 2007; Sang and Ge, 2007)。根据其粒形,水稻主要分为长、中、短三类,其中籽粒长度(GL)与籽粒宽度(GW)的比值分别为:大于 3、2.1~2.9,小于 2 (Bai et al., 2010)。中国南方、美国北部、南部和欧洲的人们通常偏爱细长的稻米,而中国北方、日本、朝鲜和韩国的人们则喜欢短而圆的稻米 (Unnevehr et al., 1992; Wan et al., 2006)。垩白度和垩白粒率与整精米率、胶稠度和长宽比呈负相关,与直链淀粉含量呈正相关,适当增加籼稻的长宽比有利于降低垩白(周丽洁等, 2015),从而提高稻米品质,改善稻米口感。在大多数情况下,长粒稻米直链淀粉含量较高,蒸煮后,往往是坚韧蓬松(不粘);中长粒稻米直链淀粉含量低,蒸煮后往往质地柔软、潮湿、粘稠。短粒米的蒸煮品质和直链淀粉含量与中粒稻米相似 (Bai et al., 2010)。

籽粒形状由籽粒长度(GL)、籽粒宽度(GW)和长宽比(LWR)决定。所有的粒型都是由多基因决定且受环境影响。到目前为止,水稻中共定位到了多个分别控制粒长、粒宽和长宽比的 QTLs,位于水稻全部 12 条染色体上(邱先进等, 2014)。1 个控制籽粒长度

的主效基因 *GS3* 在不同的遗传背景和环境下被定位出来(Yu et al., 1997; Xing et al., 2002; Li et al., 2004)。Fan 等(2009)识别了 *GS3* 的候选基因,他们发现 *GS3* 第二个外显子有一个无义突变导致籽粒表现为长粒。Mao 等(2010)揭示了 *GS3* 蛋白的结构和功能。Wang 等(2012)构建了控制粒宽的基因 *OsSPL16* (*GW8*) 的近等基因系并对该基因进行了功能研究,开发了针对 *GS3* 和 *OsSPL16* 的等位变异的分子标记。Li 等(2011)利用籼稻杂交后的 DH 群体的定位到了控制粒宽的基因 *GS5*,其能提高水稻产量,后又通过DH27 的回交群体 BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> 对其进行了精确定位,并发现了遗传变异位于该基因的启动子区。Qiu 等(2017)利用两组水稻的近等基因系定位到了两个控制长宽比的 QTL, *qLWR5* 和 *qLWR10*。

'Y58S' 光温敏不育系是用 '安农 S-1'/'常非 22B' 的后代不育株与 '安农 S-1'/'美国 '光壳稻 Lemont' 的后代不育株杂交,在其分离世代选择选择优良不育株,育成遗传稳定的光温敏不育材料。'Y58S' 的不育基因来源于 '安农 S',由 1 个单隐性基因 *ims5* 控制,定位于 2 号染色体 4039-1 和 4039-2 标记之间(Yang et al., 2007)。以 'Y58S' 为材料培育的杂交稻组合,通过省级以上审定、在生产上种植的 Y 两优品种,高达 95 个。'Y58S' 是中国第一大两系不育系,为中国审定品种最多、应用范围最广的两系杂交稻骨干亲本,但 'Y58S' 属于中粒型品种,粒长 6.2 mm,长宽比 2.9。前人利用分子标记定位到了 7 号染色体上 28.224~28.482 Mb 之间的 1 个微效 QTL *qGL7*,它对 GL, GW, 千粒重等均有影响,后代测验表明其被分解成单个孟德尔因子,具有很高的遗传力(Bai et al., 2010)。为改造 'Y58S' 为长粒型品种,本

研究设计特异分子标记,通过分子标记和 RAD 辅助选择将 R15 的长粒 QTL *qGL7* 导入到‘Y58S’,形成新的光敏不育系,为水稻新品种选育提供良好的理论和材料基础。

## 1 结果与分析

### 1.1 分子标记的开发及在亲本中的多态性检测

之前的研究表明控制粒型的 *qGL7* 位于 7 号染色体 28.224~28.482 Mb 之间。在该区间上游 1 Mb 左右,即 27.75 Mb 处(以‘日本晴’序列为参考),‘R15’基因组序列与日本晴存在明显差异(图 1)。对此差异片段设计引物 RO72774-F 和 RO72774-R 在‘R15’、‘Y58S’及其后代中进行扩增。母本‘Y58S’为中粒水稻,扩增出的电泳条带大小为 919 bp,序列与‘日本晴’一致。父本‘R15’粒型表现为长粒,由于染色体片段部分缺失使得电泳条带大小为 618 bp,F<sub>1</sub> 代杂合的个体两种条带都能检测到(图 2)。因此可以利用此标记 RO72774 在每一代目标单株进行选择。通过粒型基因连锁的分子标记 RO72774 快速扫描群体单株。

### 1.2 携带有长粒型基因的两系不育系的选育

F<sub>2</sub> 代群体获得 620 粒种子,分子标记 RO72774 检测后,剔除掉分子标记检测为 dd 基因型(与轮回亲本‘Y58S’一致)及杂合的株系,剩余 156 个株系携带有纯合的长粒型基因(cc) (表 1),对 156 个株系进行 RAD 重测序。以 b+h 类型(即母本‘Y58S’基因组类型及杂合的基因组类型)在所有基因组中所占的比例大小为主要依据进行基因组选择,选择 b+h 类

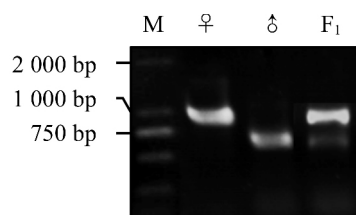


图 2 分子标记在亲本及 F<sub>1</sub> 中的多态性检测

注: M: DL2000 DNA Marker; ♂: 父本‘R15’; ♀: 母本‘Y58S’; F<sub>1</sub>: 父本‘R15’与母本‘Y58S’杂交一代后代; ♀, ♂, F<sub>1</sub>: R072774 Figure 2 Detection of polymorphisms of molecular markers in parents and F<sub>1</sub>

Note: M: DL2000 DNA Marker; ♂: Paternal plant ‘R15’; ♀: Maternal plant ‘Y58S’; F<sub>1</sub>: The first-filial generation of ‘R15’ and ‘Y58S’; ♀, ♂, F<sub>1</sub>: R072774

型占比高的株系进行后续杂交。其中, b+h 类型在 F<sub>2</sub> 代染色体组中平均为 37.07%, 即 F<sub>2</sub> 代株系基因组重测序遗传背景与‘Y58S’的相似率为 37.07% (表 2)。

BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 代群体获得 66 粒种子, 分子标记 RO72774 检测后, 66 个株系携带有杂合的粒型基因(h), 对该个 66 株系进行重测序。b+h 类型在 BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 代染色体组中平均为 53.03%。BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 代群体获得 45 粒种子, 分子标记 RO72774 检测后, 22 个株系携带有长粒型基因, 对该 22 株苗进行重测序。b+h 类型在 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 代染色体组中平均为 97.89% (表 2)。这些结果表明, 随着回交世代的增加重测序揭示与‘Y58S’遗传背景的相似率提高, 且回交 2 次后, 其后代基因组背景接近‘Y58S’。因此, 回交 3/4 代基因组未进行测序。BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> 代获得 84 株苗, 45 个株系携带有长粒型基因。对 BC<sub>4</sub>F<sub>2</sub> 代 215 个株系进行 RAD 测序, 其基因组重测序遗传背景与‘Y58S’的相似率(b+h 占比)平均为 95.75%, 最大值为 100.00%, 最小值为 92.32% (表 2),

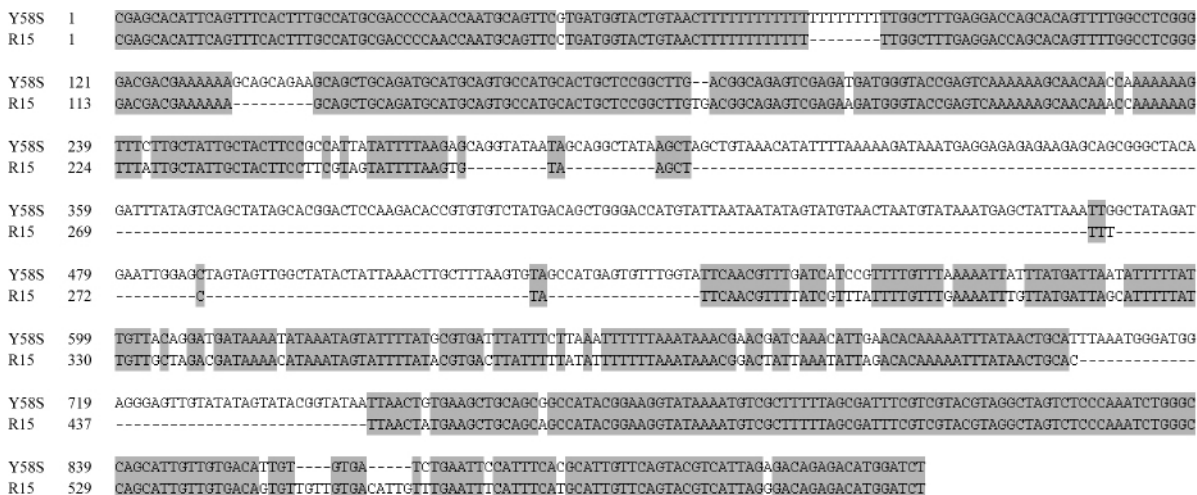


图 1 ‘R15’与‘Y58S’分子标记 RO72774 序列比对

Figure 1 Sequence alignment of molecular marker RO72774 in ‘R15’ and ‘Y58S’



表 1 后代所获株系及携带有长粒型基因的株系统计  
Table 1 The statistics of offspring strains and the strains carrying long-grain gene

代数 Generations	所获个体数 The number of individuals	携带有长粒型基因的个体数 The number of individuals carrying long-grained gene
F <sub>2</sub>	620	156
F <sub>1</sub> BC <sub>1</sub>	66	66
F <sub>1</sub> BC <sub>2</sub>	45	22
F <sub>1</sub> BC <sub>3</sub>	-	-
F <sub>1</sub> BC <sub>4</sub>	84	45
BC <sub>4</sub> F <sub>2</sub>	-	215

表 2 后代株系基因组重测序遗传背景与‘Y58S’的相似率(b+h 占比)  
Table 2 The genetic background similarity of F<sub>2</sub> generation and backcross generations compared with ‘Y58S’ (b+h%)

代数 Generations	平均相似率(%) Average similarity (%)	最小值(%) Minimum (%)	最大值(%) Maximum (%)
F <sub>2</sub>	37.07	0.026 4	69.14
F <sub>1</sub> BC <sub>1</sub>	53.03	15.570 0	80.34
F <sub>1</sub> BC <sub>2</sub>	97.89	88.070 0	100.00
BC <sub>4</sub> F <sub>2</sub>	95.75	92.320 0	100.00

说明其各个株系基因组背景已同‘Y58S’十分接近。

### 1.3 改良新品系‘深华香 15S’

经过4次回交,1次自交后,从BC<sub>4</sub>F<sub>2</sub>代215株中选出具有长粒型基因且基因组背景最接近轮回亲本‘Y58S’的纯合新品系。新品系总共有356 920 821 bp的片段同轮回亲本‘Y58S’一致,占基因组的95.62%。新品系部分染色体片段被‘R15’替换,其中2号染色体21 072 852~22 277 252 bp区间被‘R15’染色体替换,5号染色体17 882 692~20 175 542 bp区间同‘R15’基因组序列一致,8号染色体15 969 876~21 582 354 bp区段内被‘R15’染色体替换(图3)。7号染色体22 482 655~29 697 621 bp区间被‘R15’替换,由于控制粒型的基因位于该区内,因此获得的新品系具有长粒型基因。新品系被命名为‘深华香 15S’。该品系粒长平均为8 mm,长宽比4.4;其母本Y58S粒长为6.2 mm,长宽比为2.9(图4),与母本相比长度增加29%,长宽比增加了51.7%。

## 2 讨论

本研究开发了控制水稻粒型的基因*qGL7*新的分子标记R072774。长粒型水稻‘R15’在该分子标记

中部分染色体缺失使得电泳条带低于750 bp,而对照‘Y58S’电泳条带大小为919 bp,F<sub>1</sub>代出现两种类型的电泳条带。利用该分子标记在每代中进行检测,选择与‘R15’或杂合带型一致的株系进行后续实验,最终得到的‘深华香 15S’与母本相比长度增加29%,长宽比增加了51.7%。说明与*qGL7*紧密连锁的该分子标记R072774可用于检测水稻粒型,且由于该标记显隐性都可检测到,育种过程中其分离世代的基因型就不需要依赖下一代的检测结果进行推断,从而大大减少了工作量,该分子标记可以在辅助育种中得到很好的应用。

传统分子标记辅助育种常利用农艺性状接近轮回亲本的杂合单株作父本继续回交(殷得所等,2011),或者使用分子标记进行全基因组背景选择(江良荣和方宣钧,2004;李浩杰等,2004)。RAD(Reduced-representation sequencing)测序,作为一种简化基因组测序技术,能够显著降低基因组的复杂度,快速、经济地对样本进行测序。在本研究中重测序技术在回交2代就已经得到了遗传背景接近‘Y58S’的后代,而传统利用分子标记进行背景选择一般要回交3代(江良荣和方宣钧,2004;李浩杰等,2004;殷得所等,2011)。利用重测序技术加快了粒型选育,且避免了利用分子标记进行背景选择工作量大的缺点。本研究利用分子标记对后代进行检测后,经过RAD测序分析,选取少量入选单株进行后续杂交实验,由于品种选育不再依赖于农艺性状,使得不需要在田间进行农艺性状的考种,工作量少,结果更加准确可靠,这对品种选育工作是一个很好的启发。

## 3 材料与方法

### 3.1 实验材料

以含有*qGL7c*基因的‘R15’为供体亲本,含有*qGL7d*的‘Y58S’为轮回亲本对‘Y58S’进行粒型改良。

母本:籼稻光温敏不育系‘Y58S’,该品种属籼型两用核不育繁,播始历期76~97 d。花粉败育彻底,以典败为主,不育起点温度低于23℃。米质检测:糙米率79.3%,精米率70.9%,整精米率66.8%,粒长6.2 mm,长宽比2.9,为中粒水稻。垩白粒率5%,垩白度0.8%,透明度2级,碱消值7.0,胶稠度66 mm,直链淀粉含量13.7%,蛋白质含量11.0%。一般667 m<sup>2</sup>繁殖产量300 kg。

父本‘R15’:该品种属常规中熟晚粳,在广东省

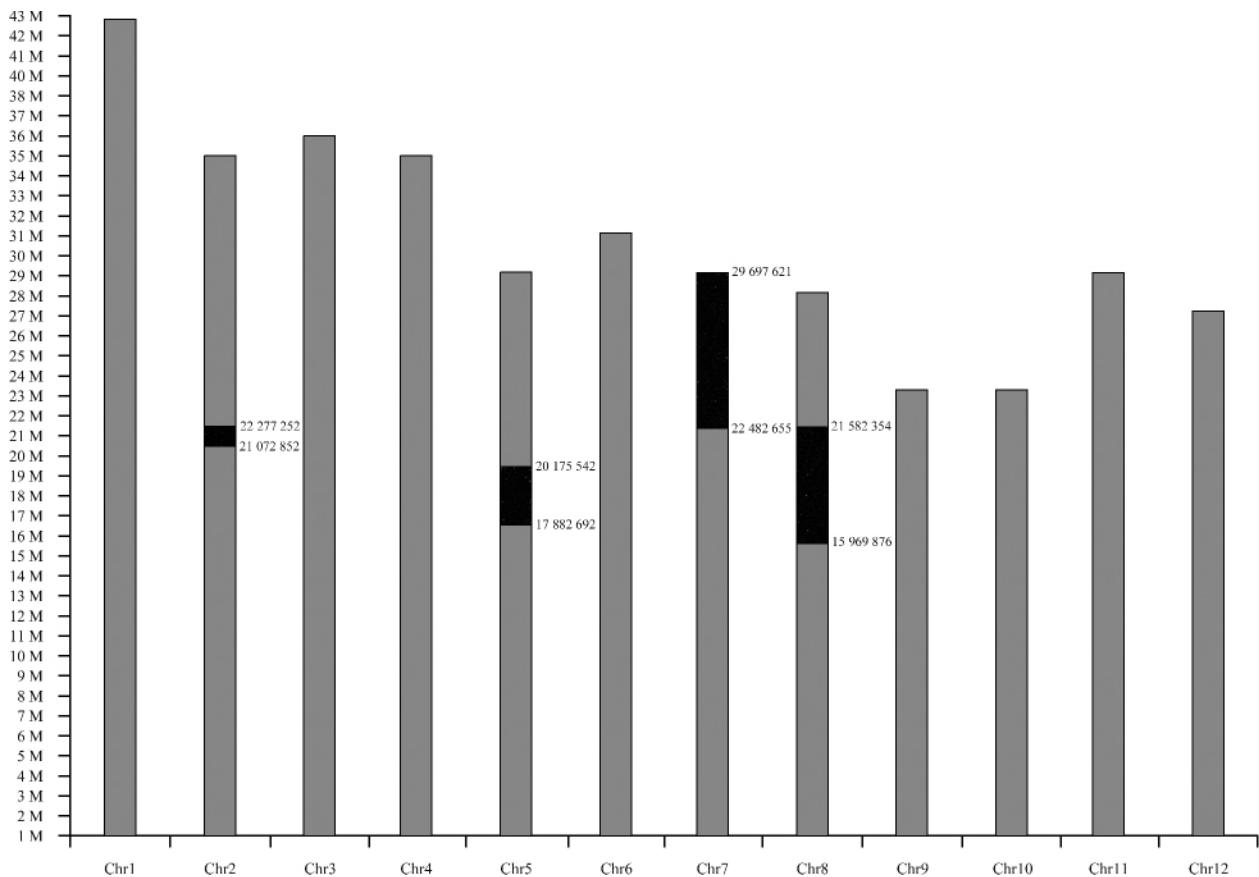


图3 ‘深华香 15S’ 染色体比对

注: 灰色区段: ‘深华香 15S’ 基因组与其轮回亲本 ‘Y58S’ 一致; 黑色区段: 基因组与 ‘R15’ 一致

Figure 3 Chromosome comparison of 'Shenhuaxiang 15S'

Note: The gray intervals: Genomes of 'Shenhuaxiang 15S' are the same with its recurrent parent 'Y58S'; The black intervals: genomes are the same with 'R15'



图4 粒型对比

注: A: ‘深华香 15S’; B: ‘Y58S’

Figure 4 Comparison of grain size

Note: A: 'Shenhuaxiang 15S'; B: 'Y58S'

作晚稻栽培, 全生育期 120 d。米质: 糙米率 80.0%, 精米率 60.7%, 整精米率 50.8%, 粒长 7.8 mm, 长宽比 3.3, 为长粒稻米。白粒率 10%, 垩白度 2%, 透明度 1 级, 碱消值 6 级, 胶稠度 50 mm, 直链淀粉含量 23.0%。

### 3.2 SV 分子标记的开发

DNA 的提取采用 CTAB 法(张凤娟等, 2004)。提

取叶片总的 DNA 用于分子标记开发、检测及简化基因组测序 RAD (Reduced-representation sequencing)。亲本及其后代的测序由华大基因完成, 利用 Illumina Hi-seq 4000 进行测序。之前研究利用分子标记定位到了 7 号染色体上的一个微效 QTL *qGL7*, 以 ‘日本晴’ 为参考序列, 利用 NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 将 ‘日本晴’ 和 ‘R15’ 进行同源比对。本研究开发了其新的分子标记 R072774。利用 Primer 5 设计引物。R072774 引物序列如下: R072774-F: CG AGCACATTCAGTTTCACT; R072774-R: AGATCC ATGTCTCTGTCTCT。

分子标记检测 PCR 反应体系为: 10×*Taq* Buffer 2 μL, dNTPs 1.6 μL, R072774-F 0.2 μL, R072774-R 0.2 μL, DNA 模板 100 ng, *Taq* 酶 0.2 μL, ddH<sub>2</sub>O 加至 20 μL。PCR 步骤如下: 95°C 5 min, 95°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 1 min 35 个循环, 72°C 5 min。在两亲本及其后代中进行扩增。

### 3.3 携带有长粒型基因的两系不育系的选育

标记纯合的‘R15’的粒型基因基因型为 c, 纯合的‘Y58s’的粒型基因基因型为 d, 杂合子代的粒型基因基因型为 h。使用侧配流程: 在每一代目标单株选择时, 先通过粒型基因连锁的 SV 标记快速扫描群体单株, 选出含有长粒型基因的个体,  $F_2$  选择基因型为纯合的 cc 的株系进行后续实验,  $BC_1F_1$ 、 $BC_2F_1$  选出杂合的株系进行后续杂交,  $F_2$ 、 $BC_1F_1$ 、 $BC_2F_1$  选出的株系利用 RAD (Reduced-representation sequencing) 测序技术进行基因组背景选择(图 5)。RAD 测序结果以 a/b/h 进行表示。其中, a 表示‘R15’的基因组类型, b 表示‘Y58S’的基因组类型, h 表示杂合的基因组类型。以 b+h 类型即母本‘Y58S’基因组类型在所有基因组中所占的比例大小为主要依据进行基因组选择, 选择 b+h 类型占比高的株系进行后续杂交。 $BC_4F_1$  经过一次自交后, 经分子标记检测及 RAD 测序, 选择含有基因型为纯合的 cc 的后代且基因组背景最接近轮回亲本‘Y58S’的纯合株系, 即为改良完成的株系。

### 作者贡献

侯军亮和李世明是本研究的实验设计者和实验研究和的执行人, 完成数据分析, 论文初稿的写作; 李泽桦、李刚、伏琦、李云飞、鄢阳天、杨麒生、喻涵和夏秋菊参与实验设计, 试验结果分析; 张耕耘、李勇和赵山岑负责项目的规划和启动; 刘宝龙和倪雪梅是项目的负责人, 指导实验设计, 数据分析; 席杏媛完成数据分析, 论文写作和修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

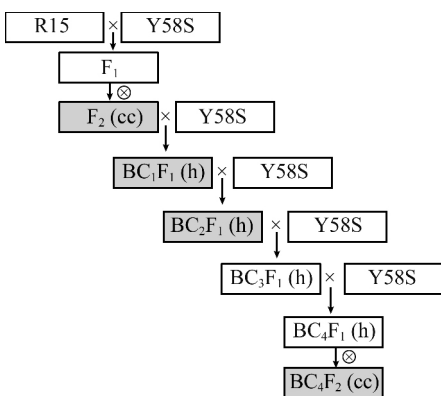


图 5 SV 分子标记及 RAD 测序辅助选择‘Y58S’粒型的改良流程

注: 标注的灰色子代: RAD 测序的代数

Figure 5 Improvement procedure for grain size of the ‘Y58S’ by SV molecular marker and RAD-seq assistant selection

Note: Labeled gray progeny: Algebra of RAD sequencing

### 致谢

本研究由深圳市科技计划项目(CXZZ2015033-0171810060)、深圳作物分子设计聚合育种工程实验室提升项目(深发改(2015) 946 号)、国家高技术研究“863”发展计划(2014AA10A602-4)和国家科技支撑计划(2015BAD02B01-7)共同资助。

### 参考文献

- Bai X.F., Luo L.J., Yan W.H., Kovi M.R., Zhan W., and Xing Y. Z., 2010, Genetic dissection of rice grain shape using a recombinant inbred line population derived from two contrasting parents and fine mapping a pleiotropic quantitative trait locus *qGL7*, *BMC Genet.*, 11: 16
- Fan C.C., Yu S.B., Wang C.R., and Xing Y.H., 2009, A causal C-A mutation in the second exon of *GS3* highly associated with rice grain length and validated as a functional marker, *Theor. Appl. Genet.*, 118(3): 465-472
- Jiang L.R., and Fang X.J., 2004, Improvement of the appearance traits of elite rice Zhenshan 97B by molecular introgression of targeted about 800 kb Interval from Indica rice jiafuzhan genome, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 2(3): 453-454 (江良荣, 方宣钧, 2004, 分子标记辅助渗入佳辐占基因组约 800 kb 区间定向改良珍汕 97B 外观品质, *分子植物育种*, 2(3): 453-454)
- Kovach M.J., Sweeney M.T., and McCouch S.R., 2007, New insights into the history of rice domestication, *Trends Genet.*, 23(11): 578-587
- Li H.J., Li P., and Gao F.Y., Lu X.J., and Ren G.J., 2004, Improvement of amylose content of G46B by SSR marker-assisted selection, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 30(11): 1159-1163 (李浩杰, 李平, 高方远, 陆贤军, 任光俊, 2004, SSR 标记辅助选择改良冈 46B 直链淀粉含量的研究, *作物学报*, 30(11): 1159-1163)
- Li J., Thomson M., and McCouch S.R., 2004, Fine mapping of a grain-weight quantitative trait locus in the pericentromeric region of rice chromosome 3, *Genetics*, 168(4): 2187-2195
- Li Y.B., Fan C.C., Xing Y.Z., Jiang Y.H., Luo L.J., Sun L., Shao D., Xu C.J., Li X.H., Xiao J.H., He Y.Q., and Zhang Q., 2011, Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice, *Nat. Genet.*, 43(12): 1266-1269
- Mao H.L., Sun S.Y., Yao J.L., Wang C.R., Yu S.B., Xu C.G., Li X.H., and Zhang Q.F., 2010, Linking differential domain functions of the *GS3* protein to natural variation of grain size in rice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(45): 19579-19584
- Qiu X.J., Du B., Hu H., Ou X.X., Lü W.K., Lang L.W., Xing D.

- Y., Xu J.L., Zheng T.Q., Xu J.Y., Li Z.X., Zhang Y.B., and Wang X.Y., 2017, Scanning QTLs for grain shape using two sets of introgression lines in rice, *Int. J. Agric. Biol.*, 19: 509-516
- Qiu X.J., Yuan Z.H., He W.J., Liu H., Xu J.L., and Xing D.Y., 2014, Genetic research of grain size traits in rice, *Jiangxi Nongye Daxue Xuebao (Acta Agricultural Universitatis Jiangxiensis)*, 36(4): 705-709 (邱先进, 袁志华, 何文静, 刘环, 徐建龙, 邢丹英, 2014, 水稻粒型性状遗传研究进展, *江西农业大学学报*, 36(4): 705-709)
- Sang T., and Ge S., 2007, Genetics and phylogenetics of rice domestication, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 17: 533-538
- Unnevehr L.J., Duff B., Juliano and B.O., eds., 1992, Consumer demand for rice grain quality: introduction and major findings, *The Philippines/International Development Research Centre, Ottawa, Canada*, pp.5-19
- Wan X.Y., Wan J.M., Jiang L., Wang J.K., Zhai H.Q., Weng J.F., Wang H.L., Lei C.L., Wang J.L., Zhang X., Cheng Z.J., and Guo X.P., 2006, QTL analysis for rice grain length and fine mapping of an identified QTL with stable and major effects, *Theor. Appl. Genet.*, 112(7): 1258-1270
- Wang S.K., Wu K., Yuan Q.B., Liu X.Y., Liu Z.B., Lin X.Y., Zeng R.Z., Zhu H.T., Dong G.J., Qian Q., Zhang G.Q., and Fu X.D., 2012, Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice, *Nat. Genet.*, 44(8): 950-954
- Xing Z., Tan F., Hua P., Sun L., Xu G., and Zhang Q.Q., 2002, Characterization of the main effects, epistatic effects and their environmental interactions of QTLs on the genetic basis of yield traits in rice, *Theor. Appl. Genet.*, 105(1-2): 248-257
- Yang Q., Liang C., Zhuang W., Li J., Deng H., Deng Q., and Wang B., 2007, Characterization and identification of the candidate gene of rice thermo-sensitive genic male sterile gene *tms5* by mapping, *Planta*, 225(2): 321-330
- Yin D.S., Xia M.Y., Li J.B., Wan B.L., Zha Z.P., Du X.S., and Qi H.X., 2011, Development of the STS linkage marker for rice blast resistance gene *Pi9* and its application in molecular marker assisted breeding, *Zhongguo Shuidao Kexue (Chinese Journal of Rice Science)*, 25(1): 25-30 (殷得所, 夏明元, 李进波, 万丙良, 查中萍, 杜雪树, 戚华雄, 2011, 抗稻瘟病基因 *Pi9* 的 STS 连锁标记开发及在分子标记辅助育种中的应用, *中国水稻科学*, 25(1): 25-30)
- Yu S.B., Li J.X., Xu C.G., Tan Y.F., Gao Y.J., Li X.H., Zhang Q., and Saghai Maroof M.A., 1997, Importance of epistasis as the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94(17): 9226-9231
- Zhang F.J., Zhang M.L., and Zhu S.F., 2004, An improved rapid method of plant total DNA extraction, *Zhiwu Jianyi (Plant Quarantine)*, 18(6): 330-332 (张凤娟, 张满良, 朱水芳, 2004, 一种改进的水稻总 DNA 的快速提取方法, *植物检疫*, 18(6): 330-332)
- Zhou L.J., Sheng W.T., Wu J., Deng Q.Y., and Zhao X.Q., 2015, Analysis of grain quality for state-registered indica hybrid rice varieties in China, *Zajiao Shuidao (Hybrid Rice)*, 30(3): 76-80 (周丽洁, 盛文涛, 吴俊, 邓启云, 赵向前, 2015, 国审杂交籼稻组合的稻米品质分析, *杂交水稻*, 30(3): 76-80)