

利用粳稻雜交族群進行不同氮肥環境下抽穗期、株高、產量及其構成要素之數量性狀基因座之定位分析¹

簡禎佑²、郭婷玫³、楊志維²、林順福³

摘 要

農作物性狀的表現受到遺傳控制與外在栽培環境共同作用，株高、抽穗期及產量等重要農藝性狀易受到栽培期間之肥力條件等環境因子影響。本試驗為瞭解不同氮肥用量條件下，影響水稻抽穗期、株高、產量與相關構成要素之數量性狀基因座 (QTL) 是否不同，乃利用粳稻品種之雜交組合 (越光/台農 67 號) 所建立之 F₂ 衍生系族群，於 2012 年一期作種植在二種氮肥條件下，調查抽穗期、株高、產量及其構成要素，並且進行 QTL 定位。以概度對數值 (LOD) 設為 2.0 的條件下，可在 120 kg ha⁻¹ (N1) 之氮素環境測得 22 個與上述性狀表現相關之 QTL，而在氮素環境為 200 kg ha⁻¹ (N2) 時則測得 29 個 QTL。本試驗所有定位得到之 QTL 中，有 6 個均在不同氮肥環境測得，其中 qPH-2 位於第 2 條染色體 41 cM 附近、qPH-7 位於第 7 條染色體 80 cM 附近、qSN-9 位於第 9 條染色體 79 cM 附近，與 qHD-10、qPH-10 及 qSN-10 位於第 10 條染色體 63 cM 附近。qHD-10 在二種氮肥處理下對抽穗期變異解釋率為 13.1~29.0%，影響抽穗時間 3.34~5.47 天；qPH-2、qPH-7 及 qPH-10 影響株高變異可達 10.2~22.4%，各別影響株高 1.43~4.89 cm；而 qSN-9 與 qSN-10 則對每穗粒數之變異相關性為 9.6~15.6%，各別影響每穗粒數 4.15~9.14 粒。此 6 個 QTL 不易受栽培環境之氮肥差異所影響，因此可作為選拔適合不同氮肥環境品系之選拔指標。

關鍵詞：產量構成要素、數量性狀基因座、基因定位、環境效應

¹ 行政院農業委員會桃園區農業改良場研究報告第 449 號。

² 桃園區農業改良場助理研究員及助理研究員。

³ 國立台灣大學農藝學系研究生及副教授(通訊作者，shunfu@ntu.edu.tw)。

前 言

水稻為全球最重要的糧食作物之一，依據聯合國糧食及農業組織（Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO）2011 年資料顯示，世界各地總計有 1.64 億公頃的面積種植不同類型的稻作，其中亞洲栽培面積佔全世界的 88.5%，且稻米亦為亞洲龐大人口主要的熱量來源（28.7%，FAO，2009），由此可知稻米生產對亞洲地區國家的重要性。全球目前栽培稻種主要為亞洲型的 *Oryza sativa* L. 與非洲型的 *O. glaberrima*，*O. sativa* 以栽培地區生育特性與植物學形態可分為二個亞種：*Indica*（印度型）與 *Japonica*（日本型）（Garris *et al.*, 2005; Subudhi *et al.*, 2006）。印度型稻又名熱帶型稻或秈稻，種植地區主要為南亞、東南亞、中國長江以南、西亞及部分非洲國家；日本型稻又名溫帶型稻或粳稻，栽培面積約佔所有稻作面積的 10%，其中主要栽培地區為中國東北、日本、南北韓及尼泊爾等地（IRRI, 2012）。

台灣地處亞熱帶氣候，原為印度型稻之適栽區，先民於日本殖民之前多栽植原生或秈稻型品種，日本帝國殖民國間引進日本粳稻品種於台灣種植（鄧，1999），台灣光復後，歷經國內各試驗單位改良場所之稻作人員不斷改良，使台灣粳稻逐漸可適應亞熱帶氣候環境栽植，且育成品種產量日益提升，民國 70 年代以後的育種方向更朝著優質、高產的目標進行（羅，2012）。依據 2011 年農業委員會農糧署臺灣糧食統計要覽資料，台灣目前約有 88.7% 的栽培面積栽植粳稻品種，由此可知粳稻品種廣受消費大眾的口感喜好，其對於國內糧食供應亦有莫大的貢獻。

一般水稻育種在國內試驗改良場所，仍循傳統雜交育種方式進行，唯自 1990 年代起，隨著生物技術的迅速進展，分子標誌利用於水稻品種鑑別、種子純度鑑定、遺傳分析的應用方興未艾，許多過去易受環境影響的性狀，因其為多基因控制且各別基因因為微效作用而不易分析，在水稻基因體解序（IRGSP, 2004）之後，更多分子標誌資訊可供利用，上述之數量性狀基因座（QTL）所在的染色體上位置與基因對外表性狀的貢獻效力等研究陸續被揭露，在各種不同種原或不同的遺傳材料群體間探尋水稻抽穗期（Doi *et al.*, 2004; Takahashi *et al.*, 2001; Takeuchi *et al.*, 2006）、病蟲害抗性（Chen *et al.*, 2008; Jena *et al.*, 2006; Jeung *et al.*, 2007）、環境逆境抗性（Babu *et al.*, 2003; Kanbar and Shashidhar, 2011）、白米食味品質（He *et al.*, 1999; Wada *et al.*, 2006）等性狀表現的基因被定位（QTL mapping）得知相對位置，尚可進一步據圖選殖（map-based cloning）確切基因片段（Ashikari and Matsuoka, 2006; Ding *et al.*, 2011; Fan

et al., 2006; Jiang *et al.*, 2010; Yano *et al.*, 2000), 在後基因體時代更加速個別基因功能的瞭解與研究。此外, 回歸運用於育種程序上, 利用鄰近連鎖之分子標誌輔助選拔優良特性亦有許多成功案例 (Jena and Mackill, 2008)。

國內粳稻品種「台農 67 號」為民國 67 年農業試驗所育成, 具強稈、產量高、適應性廣的特性, 廣受農民的喜愛, 曾為民國 70~80 年代台灣栽培面積最廣之品種 (羅, 2012); 而日本品種「越光」(Koshihikari) 為 1979 年所育成, 具有極佳的食味品質, 米粒外觀亦晶白透亮, 鮮少白堊質, 因此目前仍為日本廣為栽培之品種 (Kojima *et al.*, 2004), 且持續用以作為試驗雜交之親本; 越光引入台灣種植, 因光敏感特性致使提早抽穗, 且產量不佳、病蟲害抗性弱等缺點, 難以獲得本地農友青睞。本試驗即利用日本良質品種「越光」與台灣豐產品種「台農 67 號」雜交, 以所建立之 F₂ 後裔行系個別群體在二種氮肥環境下栽培, 進行抽穗期、株高、產量及其構成要素之基因座定位, 期能瞭解可穩定表現控制以上性狀之基因位置與其作用。

材料與方法

一、試驗材料與性狀調查

本試驗以越光與台農 67 號 (TNG67) 雜交所得 F₂ 後裔行, 經世代推進繁殖, F₂ 衍生系各別依編號分開收穫, 於本場 (桃園縣新屋鄉) 100 年二期作收穫 F_{2.6} 世代種子。101 年一期作續於本場試驗田進行栽植試驗, 102 個 F_{2.6} 後裔行分兩批於 3 月 22 日種植, 各後裔行系種植 3 行, 每行 20 株, 行株距 30 × 15 cm, 依序排列單本植, 越光與台農 67 號植於最後作為對照。生育期間之施肥總量折算三要素 (N-P₂O₅-K₂O) 用量: 第一批 (N1) 為 120-72-90 (kg ha⁻¹), 第二批 (N2) 為 200-72-90 (kg ha⁻¹), 灌排水及病蟲害管理依一般水稻栽培方式進行。

各行系田間調查: 1. 抽穗期 (HD): 以各行系內整體抽穗程度達 50% 時, 記錄為抽穗日期, 與插秧日相距天數為抽穗期; 2. 株高 (PH) 各行系黃熟時期調查 10 株, 平均後代表該後裔行之值; 3. 穀粒產量 (GY): 各系收穫適期割取 30 株, 烘乾後秤量重量, 再行推算為每公頃產量 (kg ha⁻¹); 4. 產量構成要素, 包括穗數 (PN)、每穗粒數 (SN)、稔實率 (SF) 及千粒重 (TGW), 各行系於收穫適期割取 5 株, 烘乾後秤量重量、含水率及計數稔實與不稔實粒數, 再換算各性狀資料。

二、親本與 F₂ 基因型分析及連鎖圖譜建立

各別剪取兩親本與 102 個 F₂ 單株之葉片，以改良式 CTAB 法 (Doyle and Doyle, 1990) 萃取 DNA，並參考 Orjuela 等 (2010) 及 McCouch 等 (2002) 所發表之簡單重複序列 (simple sequence repeats, SSR) 設計引子，進行 PCR (polymerase chain reaction) 擴增，篩選兩親間具有多型性的分子標誌，進一步分析各 F₂ 單株的基因型 (genotype)。

本試驗族群共以 112 組 SSR 進行分析，將各別基因型資料依軟體 MAPMAKER 3.0 (Lincoln *et al.*, 1993) 格式匯入後，先以指令 'group 3 40' 設定 LOD=3.0 為門檻值及最大遺傳距離為 40 cM 的條件，進行各分子標誌分群；再以指令 'compare' 確認各連鎖群內分子標誌的排列順序，最後 'map' 指令計算各分子標誌間的距離，可得對應於水稻 12 條染色體的連鎖群 (郭, 2012)。

三、各行系基因型與各數量性狀基因座定位

本試驗 102 個 F_{2:6} 後裔行在二種氮肥環境下各性狀外表型 (phenotype) 資料，與各別 F₂ 基因型 (genotype)，依據 Windows QTL Cartographer 軟體 (Wang *et al.*, 2012) 格式匯入後進行分析，定位方法以綜合區間定位法 (composite interval mapping, CIM) 進行，設定概度對數值 (likelihood ratio of odds, LOD) 為 2.0，將可能影響各性狀之 QTL 在水稻 12 條染色體逐步運算，倘 LOD 值大於 2.0 者，可視為在該區定位得到 QTL，並由區間內取最大概度對數值視為各 QTL 在染色體上之位置，最後再以 MapChart 軟體 (Voorrips, 2002) 參考前述定位所得資料進行連鎖群繪圖與標定。

結果與討論

一、梗稻雜交後裔族群二種氮肥環境下之抽穗期、株高、產量及其構成要素表現

本試驗調查越光與台農 67 號雜交後裔 102 個 F_{2:6} 衍生系在二種氮肥環境下之表現如表 1 所示。母本越光在 120 kg ha⁻¹ (N1) 環境下抽穗期 (HD) 81 天，在 200 kg ha⁻¹ (N2) 環境下抽穗期 84 天，而父本台農 67 號在二種氮素環境下分別為 104 天 (N1) 及 108 天 (N2)；102 個後裔行在 N1 與 N2 環境，抽穗期介於 66~100 天及 75~109 天 (如圖 1a)，平均 82.3 天及 88.1 天；兩親及後裔行族群皆因栽培氮肥量增加而延

遲抽穗，各增加 3 天、4 天及 5.8 天。兩親株高 (PH) 在 N1 與 N2 條件下，越光 87.1 及 92.8 cm，台農 67 號 107.8 及 103.3 cm，可知越光因氮肥增加而增高，台農 67 號卻因氮肥增加而降低，而後裔族群分布如圖 1b 所示，平均 104.3 (N1) 及 106.1 (N2) cm，二處理間顯著相差 1.8 cm，整體族群隨氮肥提高而增高的趨勢 (表 1)。

越光的穀粒產量 (GY)，在 N1 條件下收穫 ($3,622 \text{ kg ha}^{-1}$) 比 N2 條件下收穫 ($3,513 \text{ kg ha}^{-1}$) 為高；台農 67 號產量，亦為 N1 ($5,573 \text{ kg ha}^{-1}$) 高於 N2 者 ($5,153 \text{ kg ha}^{-1}$)；102 個 $F_{2:6}$ 衍生系族群在 N1 條件平均收量為 $6,389 \text{ kg ha}^{-1}$ ，也同樣高於 N2 條件下之族群平均值 ($5,898 \text{ kg ha}^{-1}$)，且兩者具有極為顯著差距 (491 kg ha^{-1}) (表 1)。

產量構成要素中，兩親及族群平均的穗數 (PN) 在 N1 時各為 14.2、13.4 及 13.1 支，而在 N2 環境下則各為 13.2、17.6 及 16.4 支，可知在生育期間氮肥用量增加，使後裔行系平均穗數隨著提高 3.3 支；每穗粒數 (SN)、稔實率 (SF) 及千粒重 (TGW)，兩親及族群平均值在二種氮素用量下之比較，皆隨著氮肥用量提高而下降，族群平均每穗粒數及千粒重各自 105.9 粒及 24.9 g，降至 87.1 粒及 23.4 g，且達極顯著差異水準，而平均稔實率以 N1 時 (88.4%) 稍高於 N2 者 (87.5%)，但差距未達統計上之顯著差異。本試驗由產量構成要素進一步解析，可知族群內各行系氮肥量增加但產量反降的原因，乃每穗粒數、稔實率及千粒重皆減少所造成。

另由圖 1 可清楚瞭解 102 個 $F_{2:6}$ 衍生系及兩親本 (越光, K；台農 67 號, T) 在二種氮肥環境下，各性狀之表現分布情形。所有後裔行系除稔實率外 (圖 1f)，其餘性狀表現尚符常態分布 (圖 1)。

表 1. 秈稻雜交後裔及兩親本在二種氮素用量下，抽穗期、株高、產量及其構成要素之表現差異。

Table 1. Trait differences of *japonica* rice cross progeny for heading date, plant height, grain yield and its components under two nitrogen levels.

Trait [*]	Nitrogen treatment	Koshihikari	TNG67	Range	Mean	St. Dev.	N2-N1 [§]
抽穗期 HD	N1	81.0	104.0	66.0~100.0	82.3	7.2	5.8***
	N2	84.0	108.0	75.0~109.0	88.1	6.7	
株高 PH	N1	87.1	107.8	87.9~129.1	104.3	8.3	1.8**
	N2	92.8	103.3	84.9~125.8	106.1	7.7	
產量 GY	N1	3622.2	5572.8	2775.8~9897.1	6389.2	1225.7	-491.4***
	N2	3513.4	5152.9	3009.1~10711.1	5897.8	1425.1	
穗數 PN	N1	14.2	13.4	6.0~19.4	13.1	2.5	3.3***
	N2	13.2	17.6	10.8~25.2	16.4	3.0	
每穗粒數 SN	N1	70.9	118.8	60.0~150.2	105.9	15.9	-18.8***
	N2	54.4	84.8	58.7~130.4	87.1	12.7	
稔實率 SF	N1	90.9	92.7	66.4~94.7	88.4	5.7	-0.9
	N2	83.9	82.4	70.5~94.6	87.5	4.6	
千粒重 TGW	N1	24.2	24.3	19.1~30.1	24.9	1.8	-1.5***
	N2	23.8	22.5	16.5~27.3	23.4	1.8	

^{*} HD, heading date (days); PH, plant height (cm); GY, grain weight (kg ha⁻¹); PN, panicle number per plant; SN, spikelet number per panicle; SF, spikelet fertility (%); TGW, 1000-grain weight (g).

[§] Nitrogen treatment: N1: 120 kg ha⁻¹, N2: 200 kg ha⁻¹; *, **, *** represent the significance levels of T-test for N2-N1 at P < 0.05, 0.01, and 0.001, respectively.

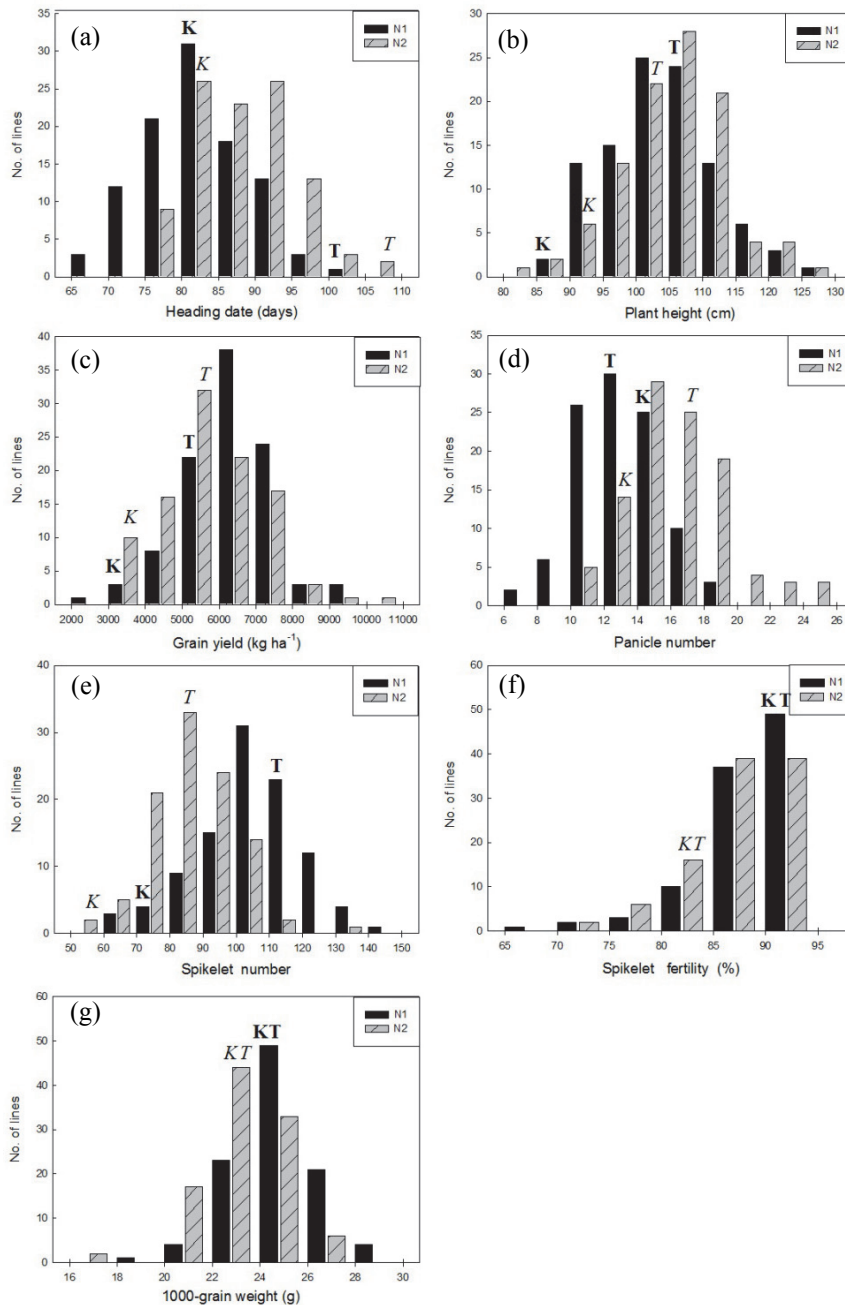


圖 1. 粳稻雜交後裔及兩親本在二種氮素用量下，不同性狀之分布情形。

Fig 1. Phenotypic distributions of seven traits in 102 *japonica* rice cross progeny between Koshihikari and TNG67 under two nitrogen levels. (a) heading date; (b) plant height; (c) grain weight; (d) panicle number per plant; (e) spikelet number per panicle; (f) spikelet fertility; (g) 1000-grain weight .

* K: Koshihikari; T: TNG67; bold-type fonts means parents under N1 treatment (120 kg ha⁻¹); italic-type fonts means parents under N2 treatment (200 kg ha⁻¹)

二、連鎖圖譜建立

以越光與臺農 67 號兩水稻品種為親本雜交產生之 102 個 F₂ 衍生後代做為基因定位之族群，以 MAPMAKER 建立之遺傳圖譜共分析了 112 組多型性分子標誌（其中有 2 組分子標誌與其它分子標誌位於相同位置），此 112 組分子標誌共分為 15 個連鎖群，可分別對應於水稻 12 條染色體上（圖 2）。連鎖圖譜總長為 1781.2 cM，相鄰分子標誌平均距離為 16.2 cM，其中有 3 個遺傳距離大於 40 cM，分別為第 2 條染色體上，CH0226 與 RM5651 之區間；第 6 條染色體上 RM276 與 CH0648 之區間，以及第 8 條染色體上 RM7057 與 CH0868 之區間。

三、稈稻雜交後裔族群二種氮肥環境下抽穗期、株高、產量及其構成要素基因座定位

本試驗為比較稈稻雜交後裔族群在二種氮肥條件下之 QTL 表現，乃將 LOD 閾值降低設為 2.0，以期能充分偵測得到 QTL。利用雜交組合（越光/台農 67 號）所得之 102 個 F_{2:6} 衍生系，在 120 kg ha⁻¹ (N1) 及 200 kg ha⁻¹ (N2) 氮素環境下調查抽穗期、株高、產量及構成要素等性狀，進行數量性狀基因座定位 (QTL mapping)，結果整理如表 2。在 N1 環境下可定位得到 22 個與上述性狀表現相關之 QTL，在 N2 環境下則定位得到 29 個；其中 N1 環境下可得 2 個與抽穗期表現相關的 QTL，分別位於第 3 條及第 10 條染色體上 141.0 及 63.0 cM 處，分別位於 SSR 分子標誌 RM6832~RM5626 及 RM5404~RM6704 之間，對外表型變異的解釋率 (phenotypic variance explained, PVE) 分別為 9.6% 及 29.9%，以 qHD-10 的 LOD 值 8.1 較大，累加性效應 (additive effect) 各為 -1.34 及 -5.47；N2 環境下則可定位得到 6 個與抽穗期表現相關的 QTL，分別位於第 2、3 (2 個)、10、11 與 12 條染色體上，LOD 值介於 2.1~3.9，累加性效應均為負值 (-2.35~-3.51)，對抽穗期變異解釋率在 8.5~13.6% 之間，以 qHD-2、qHD-10 與 qHD-3b 三者的解釋量較大。

各行系分別調查 10 株株高再予平均，N1 及 N2 環境各可得到 4 個與之表現相關的 QTL，但所得位置略有不同，分別位於第 2、7、9、10 條 (N1) 及第 2、7、10、11 條 (N2) 染色體上，相關位置可對照圖 2 之連鎖群圖以瞭解之，而由表 2 結果可知各別 QTL 對株高變異解釋率在 11.3~17.3% (N1) 及 8.6~22.4% (N2) 的範圍，兩環境皆以 qPH-10 相關值較大 (17.3% 及 22.4%)。對產量性狀進行定位結果，各可得

5 個 (N1) 及 3 個 (N2) QTL，但所在位置皆不相同，分別位於第 1、7、8、9、10 條 (N1) 及第 5、6、12 條 (N2) 染色體上；N1 環境下，各別基因對產量變異貢獻最大者為 qGY-10 (18.4%)，qGY-7 次之 (14.2%)，其餘則在 8.3% 以上，各別對偶基因作用，qGY-1 及 qGY-9 使產量降低，而 qGY-7 及 qGY-8 則使產量增加；在 N2 環境下，3 個 QTL 對產量變異的解釋率則在 8.7~9.7% 間，且 3 者皆使產量降低。

產量構成要素以每個後裔行系內取 5 株平均，稱量計數後作為各後裔行的值。穗數 (PN) 性狀定位結果，在 N1 環境下僅可得在第 3 條染色體 167.1 cM 處之 qPN-3b，變異解釋率為 14.0%；在 N2 環境下則定位得到 5 個 QTL，分別位於第 3、5、7、10 (2 個) 條染色體上，變異解釋率則在 8.8~14.7% 間，以 qPN-3a 貢獻度最大，qPN-7 次之。每穗粒數在 N1 處理可得 5 個 QTL (qSN-3、qSN-8、qSN-9、qSN-10 及 qSN-12)，PVE 介於 7.9~18.9 之間；在 N2 則有 3 個 QTL (qSN-9、qSN-10 及 qSN-11)，PVE 介於 9.6~14.1 間。稔實率及千粒重在二種氮肥條件下結果顯示，各可得 3 個 (N1) 及 5 個 (N2) 與稔實率相關之 QTL，和 2 個 (N1) 及 3 個 (N2) 與千粒重相關之 QTL，但此二性狀在二種氮肥環境下相較皆未得相同之 QTL。在 N1 環境下，對稔實率變異解釋較大者為 qSF-8 (26.7%)，對千粒重表現變異解釋較大者則為 qTGW-1 (17.5%)；而在 N2 環境，稔實率之 PVE 值以 qSF-3 較大 (16.3%)，千粒重則以 qTGW-6a (16.7%) 較大。以上四個產量構成要素中，可在兩環境皆穩定表現者，僅 qSN-9 及 qSN-10，其他性狀則未定位得到可同時在二環境穩定表現的基因座。

針對上述七項性狀表現相關之 QTL 定位結果，利用 MapChart 軟體標繪水稻 12 條染色體內各 SSR 相對位置，與各別 QTL 在 $\text{LOD} \geq 2.0$ 時所座落分子標誌區間位置 (如圖 2)，在氮肥 120 kg ha^{-1} (N1) 條件下定位所得各別 QTL 以實線表示，而 200 kg ha^{-1} (N2) 者則以虛線表示。圖 2 中可清楚比較同一性狀在二種環境下所得之 QTL 是否同時呈現，其中僅在第 2 條染色體 41cM 附近，第 7 條染色體 80 cM 附近，及第 9 條染色體 79 cM 附近，可同時在二種環境下定位得到 qPH-2、qPH-7 及 qSN-9，而在第 10 條染色體 63 cM 附近更可同時定位得到 qHD-10、qPH-10 及 qSN-10。以上 6 個 QTL 在二種環境下之累加性效應方向皆為一致，但影響性狀表現程度 (累加性效應) 及各別對變異解釋量在不同環境下稍有差異；影響抽穗期長短的 qHD-10，在 120 kg ha^{-1} 環境下使抽穗期提早 5.47 天且可解釋族群 29.0% 的變異量，但在 200 kg ha^{-1} 環境下卻僅提早 3.34 天解釋 13.1% 的變異量；具 qPH-2 及 qPH-7 對偶基因之後裔行可促使株高各別增加 1.78 及 4.15 cm (N1) 與 1.43 及 3.12 cm (N2)，具 qPH-10 對偶基

因者則使株高矮化 4.78 及 4.89 cm，三者對株高之影響程度以 qPH-10 最大，qPH-7 次之，qPH-2 最小，各別 PVE 值則為 11.8 及 11.1% (qPH-2)、11.4 及 10.2% (qPH-7)，以及 17.3 及 22.4% (qPH-10)；具 qSN-9 及 qSN-10 對偶基因者則使每穗粒數減少 7.56 及 9.14 粒 (N1) 與 4.15 及 5.77 粒 (N2)，對族群變異的解釋率為 12.9 及 15.6% (N1) 與 9.6 及 13.5% (N2)。本試驗在株高或抽穗期所得可共同表現的 QTL，與 Li 等人 (2001) 結果相同，其在所有測得與株高或抽穗期表現有關的 37 個 QTL 中，可在多個環境共同影響表現者，多數的 QTL 累加性效應方向一致，僅大小受到環境而異。

數量性狀的表現為連續性的分布，可知有多個基因參與其中，各別基因多為微效性作用且對性狀的貢獻效力不同，也容易受到栽培地點、季節、各項環境條件等因素影響。例如在 Zhang 等學者 (2008) 的研究中，以 Asominori/IR24 所建立的重組自交系 (recombinant inbred line, RIL) 各植於中國及日本二個試驗地，調查株高、葉片長寬等植株型態，結果顯示控制所有 7 個性狀可定位得到 29 個 QTL，但僅其中 4 個 QTL 在二個試驗地皆可測得；Fang and Wu (2001) 量測 IR64/Azucena 之雙單倍體族群的株高表現，分別在高氮肥濃度與低氮肥濃度條件下可偵測到 2 個與 8 個 QTL，其中僅 1 個 QTL，可穩定在二種氮肥環境下表現；而 Srividya 等人 (2010) 以一印度野生地方種原 INRC10192 與 IR24 所建立之 RIL，測定在二種氮肥條件及二個試驗地點共四種栽培環境下之產量等重要農藝性狀表現，所有 46 個測得的 QTL 中，可在二個以上環境下穩定表現的有 18 個，其他則僅在單一氮肥條件或單一試驗地點定位得到。本試驗所得與上述結果相似，6 個相應於抽穗期、株高及每穗粒數的 QTL，表現不易受到栽培環境之氮肥差異所影響，該 QTL 也多較同性狀其他定位所得之變異解釋程度為高，意即其對此族群的貢獻度較大，而且在不同氮肥環境下來自同一親本對偶基因的累加性效應方向相同，可穩定在不同氮肥條件下作為選拔指標；而其他所得之 QTL 或對應於產量、穗數、稔實率及千粒重等性狀，易受栽培環境之氮肥投入多寡所影響，表現較無一致結果，但不同環境所顯現的 QTL 亦可作為特異性氮肥條件下篩選高產品種的參考依據。

表 2. 粳稻雜交後裔在二種氮素用量下，定位所得抽穗期、株高、產量及構成要素之數量性狀基因座 (QTL) 位置。
Table 2. QTLs for heading date, plant height, grain yield and its components in 102 japonica rice cross progeny between Koshihikari and TNG67 under two nitrogen levels.

Trait	N1 : 120 kg ha ⁻¹						N2 : 200 kg ha ⁻¹					
	QTL	Chr.	Marker interval	Position (cM)	LOD	PVE (%)	QTL	Chr.	Marker interval	Position (cM)	LOD	PVE (%)
HD	qHD-3a	3	RM6832~RM5626	141.0	2.1	-1.34	qHD-2	2	CH0226~RM5651	129.8	3.2	-2.75
	qHD-10*	10	RM5304~RM6704	63.0	8.1	-5.47	qHD-3b	3	RM6736~RM2593	189.5	2.2	-3.51
							qHD-3c	3	RM2593~RM1038	214.8	2.1	-3.19
							qHD-10*	10	RM5304~RM6704	63.0	3.9	-3.34
							qHD-11	11	RM332~RM3625	29.9	2.1	-2.72
PH	qPH-2*	2	RM3865~RM12729	41.3	2.2	1.78	qHD-12	12	CH1203~CH1205	15.0	2.2	-2.35
	qPH-7*	7	RM6403~RM1364	82.7	2.5	4.15	qPH-2*	2	RM3865~RM12729	40.3	2.2	1.43
	qPH-9	9	RM6839~CH0920	51.8	2.7	-0.64	qPH-7*	7	RM6403~RM1364	79.7	2.8	3.12
	qPH-10*	10	RM5304~RM6704	69.0	4.1	-4.78	qPH-10*	10	RM5304~RM6704	64.0	5.8	-4.89
	qGY-1	1	RM6740~RM2318	19.8	2.6	-4.78	qPH-11	11	OS37D03-20~RM332	21.0	2.3	-1.37
GY	qGY-7	7	RM8010~RM2878	16.6	3.2	3.55	qGY-5	5	RM2357~RM5907	167.7	2.8	-2.59
	qGY-8	8	CH0868~RM23251	92.2	2.2	5.28	qGY-6	6	CH0648~CH0607	89.0	2.2	-6.21
	qGY-9	9	CH0916~RM5786	82.6	2.8	-4.91	qGY-12	12	RM6306~RM2197	121.8	2.5	-5.56
	qGY-10	10	RM5304~RM6704	63.0	5.7	0.0						
	qPN-3b	3	RM5626~RM6736	167.1	2.0	1.04						
SN	qSN-3	3	RM6736~RM2593	182.5	4.5	-10.57	qPN-3a	3	CH0317~RM1940	115.0	3.0	-0.58
	qSN-8	8	RM3155~RM4154	152.3	4.0	0.41	qPN-5	5	RM1248~RM2010	8.0	2.1	-0.02
	qSN-9*	9	RM257~CH0916	76.9	3.9	-7.56	qPN-7	7	RM418~RM6403	74.0	2.3	-1.43
	qSN-10*	10	CH1007~RM5304	57.5	3.9	-9.14	qPN-10a	10	CH1011~RM7361	0.0	2.6	-0.59
	qSN-12	12	CH1203~CH1205	18.0	2.5	-6.14	qPN-10b	10	RM5304~RM6704	74.0	2.1	-0.40
SF	qSF-7	7	RM2878~RM418	42.2	2.4	1.20	qSN-9*	9	CH0916~RM5786	81.6	2.4	-4.15
	qSF-8	8	RM7057~CH0868	67.6	3.1	3.41	qSN-10*	10	RM5304~RM6704	63.0	3.5	-5.77
	qSF-11a	11	CH1111~RM187	139.8	2.3	-2.13	qSN-11	11	RM1355~CH1111	116.6	2.2	6.31
TGW	qTGW-1	1	CH0165~CH0133	111.9	2.5	0.26	qSF-2	2	RM5916~RM207	197.2	2.4	0.32
	qTGW-7	7	RM2878~RM418	47.2	2.0	0.32	qSF-3	3	RM7576~RM218	40.2	2.4	-4.62
							qSF-10	10	CH1007~RM5304	44.5	2.1	-1.00
						qSF-11b	11	CH1117~CH1128	165.8	2.3	-1.94	
						qSF-12	12	RM6306~RM2197	122.8	3.0	-0.87	
						qTGW-5	5	RM1248~RM2010	1.0	2.3	-0.16	
						qTGW-6a	6	RM276~CH0648	70.8	2.9	-1.03	
						qTGW-6b	6	CH0629~P 17G10-24	136.6	2.2	0.80	

※ Chr., refers to Chromosome. LOD, refers to Maximum likely hood ratio of odds. Add., refers to additive effect. PVE, refers to phenotypic variance explained by each QTL.
* Stable QTLs expressed across N1 and N2 environments.

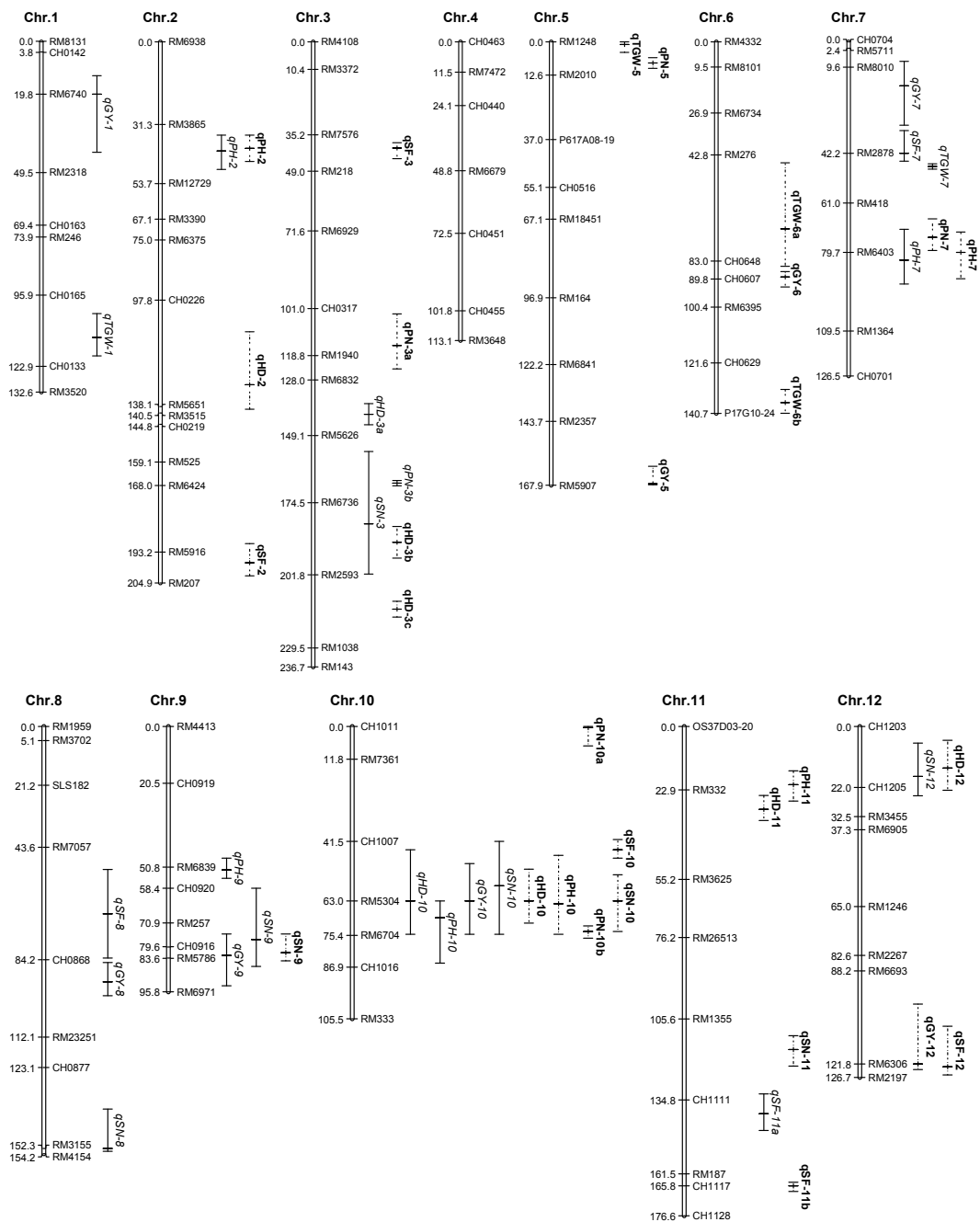


圖 2. 稈稻雜交後裔抽穗期、株高、產量及其構成要素在二種氮肥環境下之基因座位置。

Fig 2. Chromosomal locations of QTLs for heading date (PH), plant height (PH), grain yield (GY) and yield components (PN, SN, SF, TGW) under two nitrogen environments. Solid lines indicated QTL detected under N1, while dotted lines indicated QTL detected under N2.

誌 謝

本試驗材料由台南區農業改良場陳榮坤先生及農業試驗所嘉義分所廖大經先生提供，試驗期間場內同仁協助田間管理與考種作業，特此一併誌謝。

參考文獻

- 鄧耀宗。1999。臺灣稻作發展之演變及背景。p.9-12。刊於：張采泉編輯。臺灣稻作發展史。臺灣省政府農林廳。臺灣。
- 郭婷玫。2012。利用分子標誌輔助選拔低白堊質稻米之優良品系。國立台灣大學農藝研究所碩士論文。p.7-9。
- 羅正宗。2012。70年來臺灣蓬萊稻之育種進展。p.34-48。刊於：陳品川總編輯。稻100穗：「臺灣稻米產業百年回顧與展望」。中華民國稻米協進會。臺灣。
- 臺灣糧食統計要覽。2011年。(http://www.afa.gov.tw/GrainStatistics_index.asp)
- Ashikari, M. and M. Matsuoka. 2006. Identification, isolation and pyramiding of quantitative trait loci for rice breeding. *Trends Plant Sci.* 11:344-350.
- Babu, R. C., B. D. Nguyen, V. Chamarerk, P. Shanmugasundaram, P. Chezian, P. Jeyaprakash, S. K. Ganesh, A. Palchamy, S. Sadasivam, S. Sarkarung, L. J. Wade, and H. T. Nguyen. 2003. Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: association between secondary traits and field performance. *Crop Sci.* 43:1457-1469.
- Chen, S., Z. H. Huang, L. X. Zeng, J. Y. Yang, Q. G. Liu, and X. Y. Zhu. 2008. High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas Oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene *Xa7*. *Mol Breeding* 22:433-441.
- Ding, X. P., X. K. Li, and L. Z. Xiong. 2011. Evaluation of near-isogenic lines for drought resistance QTL and fine mapping of a locus affecting flag leaf width, spikelet number, and root volume in rice. *Theor. Appl. Genet.* 123:815-826.
- Doi, K., T. Izawa, T. Fuse, U. Yamanouchi, T. Kubo, Z. Shimatani, M. Yano, and A. Yoshimura. 2004. *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls *FT*-like gene expression independently of *Hdl*. *Genes Dev.* 18:926-936.
- Fan, C. C., Y. Z. Xing, H. L. Mao, T. T. Lu, B. Han, C. G. Xu, X. H. Li, and Q. F. Zhang. 2006. GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and

- thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theor. Appl. Genet.* 112:1164-1171.
- Fang, P., and P. Wu. 2001. QTL \times N-level interaction for plant height in rice (*Oryza Sativa L.*). *Plant and Soil* 236:237-242.
- FAO. 2011. FAOSTAT. (<http://faostat.fao.org/>)
- Garris, A. J., T. H. Tai, J. Coburn, S. Kresovich, and S. McCouch. 2005. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169:1631-1638.
- He, P., S. G. Li, Q. Qian, Y. Q. Ma, J. Z. Li, W. M. Wang, Y. Chen, and L.H. Zhu. 1999. Genetic analysis of rice grain quality. *Theor. Appl. Genet.* 98:502-508.
- IRGSP. 2004. <http://rgp.dna.affrc.go.jp/IRGSP/index.html>.
- IRRI. 2009. <http://ricestat.irri/>.
- Jena, K. K., J. U. Jeung, J. H. Lee, H. C. Choi, and D. S. Brar. 2006. High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18(t)*, and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa L.*). *Theor. Appl. Genet.* 112:288-297.
- Jeung, J. U., B. R. Kim, Y. C. Cho, S. S. Han, H. P. Moon, Y. T. Lee, and K. K. Jena. 2007. A novel gene, Pi40(t), linked to the DNA markers derived from NBS-LRR motifs confers broad spectrum of blast resistance in rice. *Theor. Appl. Genet.* 115:1163-1177.
- Jena, K. K., and D. J. Mackill. 2008. Molecular markers and their use in marker-assisted selection in rice. *Crop Sci.* 48:1266-1276.
- Jiang, S., X. Zhang, J. Wang, W. Chen, and Z. Xu. 2010. Fine mapping of the quantitative trait locus qFLL9 controlling flag leaf length in rice. *Euphytica* 176:341-347.
- Kanbar, A., and H. E. Shashidhar. 2011. Participatory selection assisted by DNA markers for enhanced drought resistance and productivity in rice (*Oryza sativa L.*). *Euphytica* 178:137-150.
- Kojima, Y., T. Ebitani, Y. Yamamoto, and T. Nagami ne. 2004. Development and utilization of isogenic lines Koshihikari Toyama BL. p.209. In: Kawasaki, S. (eds.) *Rice Blast: Interaction with Rice and Control*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Li, Z. K., S. B. Yu, H. R. Lafitte, N. Huang, B. Courtois, S. Hittalmani, C. H. M. Vijayakumar, G. F. Liu, G. C. Wang, H. E. Shashidhar, J. Y. Zhuang, K. L. Zheng, V. P. Singh, J. S. Sidhu, S. Srivantaneeyakul, and G. S. Khush. 2003. QTL \times environment interactions in rice. I. Heading date and plant height. *Theor. Appl. Genet.* 108:141-153.
- McCouch, S. R., L. Teytelman, T. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S.

- Cartinhour, D. Ware, and L. Stein. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Res. 9:199-207.
- Orjuela, J., A. Garavito, M. Bouniol, J. D. Arbelaez, L. Moreno, J. Kimball, G. Wilson, J. F. Rami, J. Tohme, S. R. McCouch, and M. Lorieux. 2010. A universal core genetic map for rice. Theor. Appl. Genet. 120:563-572.
- Subudhi, P. K., T. Sasaki, and G. S. Khush. 2006. Rice. p.1-5. In: Kole, C.(eds.) Genome mapping and molecular breeding in plants: Cereals and Millets. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany.
- Takahashi, Y., A. Shomura, T. Sasaki, and M. Yano. 2001. Hd6 a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the alpha subunit of protein kinase CK2. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:7922-7927.
- Takeuchi, Y., T. Ebitani, T. Yamamoto, H. Sato, H. Ohta, H. Hirabayashi, H. Kato, I. Ando, H. Nemoto, T. Imbe, and M. Yano. 2006. Development of isogenic lines of rice cultivar Koshihikari with early and late heading by marker-assisted selection. Breeding Sci. 56:405-413.
- Voorrips, R. E. 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. J. Heredity 93:77-78.
- Wada, T., Y. Uchimura, T. Ogata, M. Tsubone, and Y. Matsue. 2006. Mapping of QTLs for physicochemical properties in *japonica* rice. Breeding Sci. 56:253-260.
- Wang, S., C. J. Basten, and Z.B. Zeng. 2012. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. (<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>)
- Yano, M., Y. Katayose, M. Ashikari, U. Yamanouchi, L. Monna, T. Fuse, T. Baba, K. Yamamoto, Y. Umehara, Y. Nagamura, and T. Sasaki. 2000. Hd1, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene CONSTANS. Plant Cell 12:2473-2484.
- Srividya, A., L. R. Vemireddy, A. S. Hariprasad, M. Jayaprada, S. Sridhar, P. V. Ramanarao, G. Anuradha, and E. A. Siddiq. 2010. Identification and mapping of landrace derived QTL associated with yield and its components in rice under different nitrogen levels and environments. Int. J. Plant Breed. Genet. 4:210-227.
- Zhang, J. Z., K. Xiao, Y. J. Zhang, Y. J. Dong, J. L. Xu, Z. K. Li, L. J. Luo, and M. Matsuo. 2008. Quantitative trait loci analysis for plant morphological traits in rice (*Oryza sativa* L.) under different environments. Int. J. Plant Breed. Genet. 2:1-8.

QTL mapping for Heading Date, Plant Height, Yield and its Components of *Japonica* Rice under Two Nitrogen Fertilizer Levels¹

Jen-You Jian², Tin-Mei Kuo³, Zhi-Wei Yang², and Shun-Fu Lin³

Abstract

Agronomically important traits, such as plant height and yield, are commonly influenced by sunshine, temperature, fertility conditions, water supply and other environmental conditions. QTL mapping of these traits would be complex by environmental factors. To investigate QTLs controlling heading date, plant height, yield and its components under two different nitrogen fertilizer cultivations, the experiment was conducted in first cropping season in 2012. A total of 102 F₂-derived lines established by a cross between Koshihikari and Tainung 67 were employed and above mentioned traits were investigated under two nitrogen fertilizer condition (120 kg ha⁻¹, N1; 200 kg ha⁻¹, N2). A LOD (likelihood ratio of odds) score of 2.0 was used as the threshold for detecting QTLs in this study. A total of 22 and 29 QTLs were mapped for seven traits under N1 and N2 conditions, respectively. Among these QTLs, six of them were stably performed under two nitrogen treatment conditions. qPH-2 were mapped at 41cM on chromosome 2, qPH-7 were mapped at 80cM on chromosome 7, qPH-9 were mapped at 79 cM on chromosome 9, and qHD-10, qPH-10, and qSN-10 were located at 63cM on chromosome 10. Phenotypic variance explained (PVE) value were 13.1 to 29.0 %. qHD-10 could affect 3.34 to 5.47 days for heading date under two nitrogen environments. PVE of qPH-2, qPH-7, and qPH-10 were 10.2~22.4% for plant height which could influence 1.43~4.89 cm in the population. PVE of qSN-9 and qSN-10 were 9.6~15.6% and could affect 4.15~9.14 spikelets per panicle. A total of six QTLs were common among different nitrogen fertilizer environments, therefore, these QTLs would be useful as selection index in rice breeding process.

Key words: yield components, quantitative trait loci (QTL), gene mapping, environmental effect

¹ Contribution No.449 from Taoyuan DARES, COA.

² Assistant Researcher, and Assistant Researcher. Respectively, Taoyuan DARES, COA.

³ Graduated student, Associate Professor (Corresponding author, shunfu@ntu.edu.tw), respectively, Department of agronomy, NTU.