

利用重組自交系族群定位稈稻脫粒性與 穗上發芽相關之基因¹

簡禎佑²、郭婷玫³、林孟輝²、林順福⁴

摘 要

在野生稻馴化為栽培種的過程中，脫粒與休眠特性可因人類長期的栽培或選拔而改變。栽培品種趨向於具有較不易脫粒的特性，以減少收穫前的脫粒損失；而具較長休眠期之稻種，將不符農民連續耕種的要求，但過短的休眠性，卻又易造成收穫前穗上發芽，嚴重影響稻米之產量與品質。本試驗目的為探討影響稈稻脫粒性與穗上發芽特性基因在染色體的位置及其遺傳效應，利用 143 個稈稻重組自交系進行數量性狀基因座 (QTL) 定位，分別獲得 2 個及 3 個影響脫粒率與穗上發芽率的 QTL。影響脫粒性表現的 QTL 為 *qSH-1* 與 *qSH-6*，其最大概度對數值 (LOD) 分別為 24.1 與 3.4，其中 *qSH-1* 對脫粒率的外表型變異解釋率 (63.9%) 及累加性效應 (17%) 皆有極大的影響；而影響穗上發芽表現之 QTL 則包括 *qPHS-3a*、*qPHS-3b* 及 *qPHS-10*，其 LOD 值介於 2.6~6.8 之間，各別 QTL 對穗上發芽率的變異解釋程度介於 5.5~20.8% 之間，以 *qPHS-10* 具有較高的 LOD、族群變異解釋率與累加性效應。本研究之結果可應用於水稻育種程序中，作為篩選低脫粒性與低穗上發芽率品系之參考，期能有效提升選拔效率。

關鍵詞：重組自交系、脫粒性、穗上發芽、數量性狀基因座

¹ 行政院農業委員會桃園區農業改良場研究報告第 464 號。

² 桃園區農業改良場助理研究員及作物改良課課長。

³ 茶葉改良場助理研究員。

⁴ 國立台灣大學農藝學系副教授(通訊作者, shunfu@ntu.edu.tw)。

前 言

種子的脫粒性與休眠性為重要農藝性狀之一，野生種原多以種子直接傳播，易脫落的果實或種子將有助於該作物的繁殖；此外，倘種子不具有休眠性，在不適宜的栽培環境或季節掉落，或因動物食用之故，萌發之種子將因惡劣環境而無法繼續存活，因此，野生作物種原常具有種子易脫落與休眠期長之特徵。然而，現在栽培之作物品種，仍因種子易於脫落而減產，而長休眠性則不適合於短期連續耕作制度，因此，在作物育種過程，傾向於選拔低脫粒性與短休眠性的品系，造成目前栽培品種與野生種原的脫粒性與休眠性有所不同 (Gu *et al.*, 2005; Wan *et al.*, 2006; Xiong *et al.*, 1999)。

以稻作生產而言，過短的休眠性易使種子在收穫前即發芽，造成產量與品質下降，尤其東南亞地區稻作栽培常在夏、秋收穫期間遭逢雨季或潮濕氣候，使得休眠性低的品種在未收穫前即已發芽，此現象稱為“穗上發芽”(pre-harvest sprouting)。在臺灣各地區之間，水稻一期作栽培期程約有 1.5 個月的差異，中南部稻田約在 5、6 月間抽穗，旋即進入穀粒充實階段，此時氣候亦逢梅雨季節，常有連日降雨發生；北部地區稻田在 6、7 月間之糊、黃熟期偶遇颱風侵襲，或常伴隨西南氣流而引發連日豪大雨，部分休眠性低的品種，如穀粒充實已近飽滿且胚芽發育漸趨成熟階段，若逢連續降雨或田間水汽過高的潮濕環境，即可能發生穗上發芽的現象。

近年來，因分子生物技術的迅速進展，各種分子標誌技術之應用日益廣泛，尤其在水稻基因體解序之後 (IRGSP, 2004)，更加速基因的定位與其功能之研究。利用分子標誌探尋水稻抽穗期 (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) 及白米食味品質 (He *et al.*, 1999; Wada *et al.*, 2006) 等相關研究不計其數。而亦有多篇有關脫粒性 (Cai and Morishima, 2000; Onishi *et al.*, 2007)、種子休眠 (Jiang *et al.*, 2003; Jing *et al.*, 2008; Wan *et al.*, 1997; Wan *et al.*, 2005) 及抗穗上發芽 (Gao *et al.*, 2008; Hori *et al.*, 2010) 等研究報告。Dong 等人 (2003) 以稈籼稻雜交 (Asominori/IR24) 所建立之重組自交系材料，成功定位 6 個與穗上發芽有關的數量性狀基因座 (quantitative trait loci, QTL)，分別位於第 1 (2 個)、4、5、7、8 條染色體上；Gao 等人 (2008) 選育近同源系以改善雜種水稻商業品種 G46A 的高穗上發芽率，並定位 3 個 QTL 分別位在第 2、5、8 條染色體上；Jing 等學者 (2008) 利用一個休眠性強的野生稻“Ludao”與一稈稻品種

“Akihikari”所建立之 BC₁F₁ 族群，測得 4 個與種子休眠性相關的基因座，分別位於第 1、2、6 (2 個) 條染色體上，解析各別基因座對外表型變異解釋率在 4.5~7.8% 之間；Lin 等人 (2007) 則利用具有脫粒特性的多年生野生稻種原 (YJCWR)，解析一條控制該特性的 *SHAI* 基因序列，並知其位於第 4 條染色體上。由以上研究成果可知，不論利用野生稻種原，或籼、稈稻栽培品種作為雜交親本，均可以分子標誌技術對這些遺傳材料進行數量基因定位，或更進而選殖 (map-based cloning) 基因，對水稻的基因功能研究或優良品系選拔，提供極大的幫助。

稈稻品種「臺農 67 號」，曾為我國 70~80 年代栽培面積最廣的品種，在歷年的特性檢定資料中，具有高脫粒性與中度穗上發芽率的特性，而日本品種「越光」則具有低脫粒性與低穗上發芽率的特性，因此，本試驗乃以此兩個品種為親本雜交所建立 F_{6.7} 之重組自交系族群為材料，期能藉此尋覓稈稻品種中影響脫粒性與穗上發芽的基因位置及探討基因作用。

材料與方法

一、試驗材料建立與特性調查

本試驗材料以兩個稈稻優良品種作為親本，母本為日本良質米品種「越光」(Koshihikari)，父本為臺灣穩定豐產品種「臺農 67 號」(TNG67)，2008 年雜交，自 F₃ 至 F₅ 皆以 F₂ 衍生行系編號收穫，再於 2012 年一期作各別 F_{2.6} 行系中逢機選取一株掛牌，剪取新鮮葉片以抽取 DNA，至收穫適期割取該株稻穗即為 F_{6.7} 種子。此族群經世代自交繁殖，各別單株基因型呈現高度同結合態，此後代品系稱「重組自交系」(recombinant inbred lines, RILs)，因重組自交系已很少再發生基因型分離情況，可供多年期及多環境之性狀評估。

本試驗於 2012 年二期作在本場試驗田進行，共植 143 個 F_{6.7} RILs，各行系種植 3 行，每行 20 株，行株距 30 × 15 cm，依序排列以單本插植，並種植兩親本 (越光與臺農 67 號) 為對照。生育期間肥料三要素用量 N-P₂O₅-K₂O = 120-72-90 kg ha⁻¹，其餘灌溉排水及病蟲害管理依一般栽培方式進行。

因越光與臺農 67 號成熟期差異極大，後裔行間亦各有不同，故於各別收穫適期割取行系內 5 株單株，每株 2 穗，其中 1 穗作為穀粒脫粒性檢定使用，另 1 穗則作為穗上發芽率調查使用。脫粒性檢定係參考國內水稻育種程序中規範之脫粒性檢定方

式，取長 × 寬為 100 × 30 cm 的木板，並將一端提高 8 cm，再將稻穗置於斜板由上至下計量約 2/3 處並黏貼固定，另以一重 1.5 kg，長 30 cm 之實心圓筒鐵棒，由最上方放下滾動 3 次，鐵棒碾壓稻穗使部分穀粒脫落，最終計算脫落穀粒占所有粒數百分比，並以每株 1 穗共 5 穗平均作為各 RIL 之脫粒率。穗上發芽率調查則將所剪取的同 1 行系 5 株的 5 穗稻穗置於透明塑膠盒內，以乾淨清水淹漫蓋過所有穀粒，放入 30°C 恆溫生長箱，並以光照進行日/夜各 12 小時（7 時至 19 時）處理，試驗期間每日更換乾淨清水，浸泡 6 日後計算各稻穗發芽與未發芽穀粒數，以 5 穗平均發芽穀粒率估算各 RIL 之穗上發芽率。

二、建立 RIL 族群之連鎖群圖及影響脫粒和穗上發芽之基因定位

由 143 個掛牌之 F₆ 單株與兩親本葉片抽取 DNA，以 115 個 SSR 及 InDel 引子（參考郭等，2014；McCouch *et al.*, 2002；Orjuela *et al.*, 2010；Gramene, 2013）進行 RIL 之分子標誌基因型分析。將 143 個重組自交系之各別分子標誌基因型判別，與越光相同之同結合基因型設定為 A，與臺農 67 號相同之同結合基因型設定為 B，而異結合基因型設定為 H（在此視為缺值），以 MAPMAKER 3.0 軟體（Lincoln *et al.* 1993）進行連鎖群之分群，設定概度對數值（Likelihood ratio of odds, LOD）為 3.0 及最大遺傳距離為 40 cM（centi-Morgan）之條件，可將各連鎖群的分子標誌依序排列，並且顯示相鄰兩分子標誌之遺傳距離（cM），以獲得與水稻 12 條染色體相對應的連鎖群。

復將 143 個重組自交系調查之穀粒脫粒率與穗上發芽率資料，依 Windows QTL Cartographer 軟體（WinQTLCart, Wang *et al.*, 2012）格式匯入，以綜合區間定位法（Composite Interval Mapping, CIM）進行分析，設定 LOD 門檻值為 2.5，即各性狀在各染色體片段區間 LOD 大於 2.5 以上者，視為可定位得到一 QTL，而其中 LOD 最大值處認定為該 QTL 的位置，另可得知各別 QTL 對外表型變異解釋率（phenotypic variance explained, PVE）及累加性效應（additive effect）等相關資訊。

結果與討論

一、粳稻重組自交系之脫粒性及穗上發芽率表現

本試驗以粳稻雜交組合（越光/臺農 67 號）所建立之 143 個重組自交系族群，調查各行系穀粒脫粒率與穗上發芽率資料，其族群分佈與親本之性狀表現如圖 1 所示。

親本越光 (K) 具有極佳的脫粒率 0.0%，低於臺農 67 號 (T) 的 33.5% (圖 1a)，各行系脫粒率分佈則介於 0.0~87.5% 間，整體平均 (M) 16.6%，所有行系中有 80 個後裔行的脫粒性低於 10%，顯示族群脫粒率分佈明顯偏斜，且此族群中有超過半數以上行系極不易脫粒。

另由圖 1b 可清楚瞭解整體族群的穗上發芽率分佈，最低 1.5%，最高 93.9%，族群平均 50.5%；兩親本之中以越光(14.6%) 的穗上發芽率明顯低於臺農 67 號(74.4%)，各行系分佈較為常態。

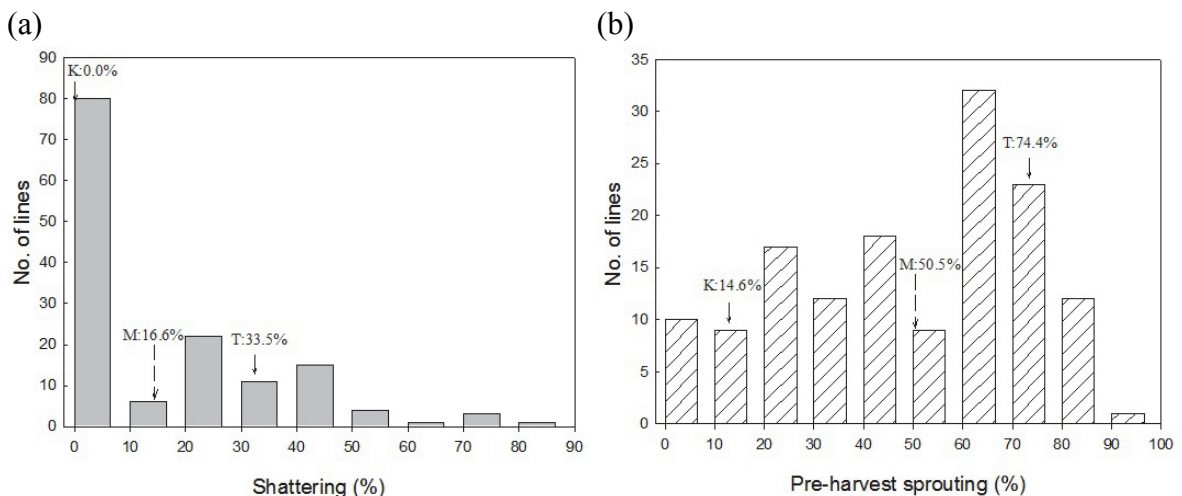


圖 1. 143 個稈稻重組自交系(a)脫粒率及(b)穗上發芽率之分佈。

Fig. 1. Phenotypic distributions of (a) shattering, and (b) pre-harvest sprouting for 143 recombinant inbred lines of japonica rice.

二、稈稻重組自交系之脫粒性基因定位

調查所有重組自交系之穀粒脫粒率與穗上發芽率性狀之外表型資料 (phenotypic data)，進行 QTL mapping，其概度對數值 (LOD) 分佈如圖 2 所示，在 LOD 大於 2.5 以上者，可得到 2 個區間與穀粒脫粒性相關，以及 3 個區間與穗上發芽率有關者，其各別在染色體上的位置、累加性效應及對外表型變異之解釋程度如表 1 所示。影響脫粒性表現者 ($qSH-1$ 、 $qSH-6$) 分別位於第 1 條染色體 119.7 cM 與第 6 條染色體 29.0 cM 位置處，介於 SSR 分子標誌 CH0165~CH0133 與 RM6734~RM276 之間，LOD 值各為 24.1 與 3.4，而 $qSH-1$ 對脫粒性變異的解釋率高達 63.9%，而 $qSH-6$ 則僅 7.1%，以 $qSH-1$ 單一對偶基因影響脫粒率達 17% 較 $qSH-6$ (6%) 大，且兩者的累加性作用 (additive

effect) 相反，意即同樣源自越光的對偶基因 *qSH-1* 可使脫粒率減低，而 *qSH-6* 相反地則使脫粒率增高。

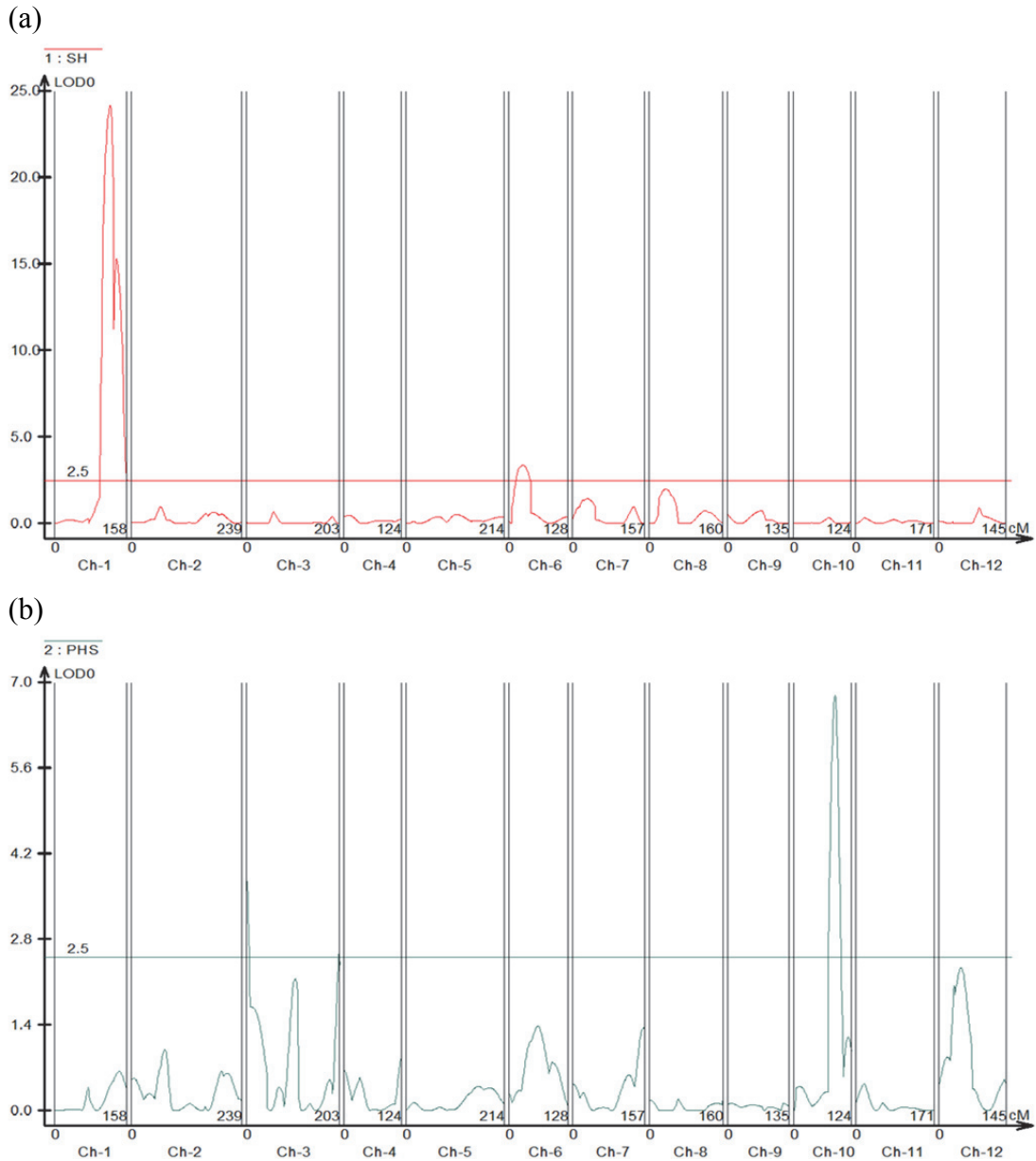


圖 2. 稉稻重組自交系(a)脫粒率及(b)穗上發芽率之 QTL 在水稻 12 條染色體的概度對數值分佈。

Fig. 2. Distribution of LOD values on 12 rice chromosomes for detecting QTL associated with shattering and pre-harvest sprouting of the RIL population.

表 1. 稈稻重組自交系族群脫粒性與穗上發芽率基因座定位、累加性效應及其對外表型變異解釋率

Table 1. The QTL positions, additive effects, and phenotypic variance explained (%) for shattering and pre-harvest sprouting in japonica-rice RILs.

Trait	QTL	Chr.	Position (cM)	Marker interval	LOD	Add.	PVE (%)
Shattering	<i>qSH-1</i>	1	119.7	CH0165 ~CH0133	24.1	-0.17	63.9
	<i>qSH-6</i>	6	29.0	RM6734 ~RM276	3.4	0.06	7.1
Pre-harvest sprouting	<i>qPHS-3a</i>	3	0.0	RM4108	3.8	-0.07	8.5
	<i>qPHS-3b</i>	3	200.0	RM2593 ~RM143	2.6	0.06	5.5
	<i>qPHS-10</i>	10	88.0	RM5304 ~RM6704	6.8	-0.11	20.8

Thomson 等人 (2003) 利用野生稻 (*Oryza rufipogon*) 作為供給親，與一栽培稻 (*O. sativa*) 的熱帶型稈稻品種 Jefferson 作為輪迴親，建立回交族群並且進行數量基因定位，結果可得到 6 個與脫粒性表現相關的 QTL，其中 *sh1.1* 位於第 1 條染色體 RM210~RG331 區間，與本研究所得 *qSH-1* 位置相近。而 Konishi *et al.* (2006) 以兩個栽培品種 Nipponbare (日本晴) 與 Kasalath 雜交所建立之近同源系材料，測得 5 個 QTL 與穀粒脫粒性表現有關，分別位於第 1、2、5、11、12 條染色體上，其中位在第 1 條染色體上的 *qSH1* 可解釋族群 68.6% 的外表型變異，且其 LOD 值高達 45.5，試驗並進一步利用大量植株將該 QTL 精細定位並完成選殖；另該試驗又進而分析 *qSH1* 內的核苷酸序列，發現基因內 5' 端的調控區僅因單一核苷酸序列變異 (SNP) 而造成穀粒脫粒的差異。本研究所得對試驗族群脫粒性影響極大之主效基因座 (*qSH-1*)，與上述研究結果位置相近，又知越光與日本晴同為日本育成之稈稻品種，故此 *qSH-1* 對偶基因 (allele) 極可能為上述已選殖定序之 *qSH1*，後續可參考上述報告已公開之序列資訊設計引子，以確定是否為同一基因座。

三、稈稻重組自交系之穗上發芽基因定位

影響穗上發芽的數量基因定位結果如表 1 所示，分別位於水稻第 3 條與第 10 條染色體上，其中第 3 條染色體上具有 2 個 QTL (*qPHS-3a* 及 *qPHS-3b*)，各位在 0.0 及 200.0 cM 附近，分別落在 SSR 分子標誌 RM4108 與 RM2593~RM143 的區間，而第 10 條染色體上 88.0 cM 處的 *qPHS-10*，介於分子標誌 RM5304~RM6704 之間；所有 3

個 QTL 的 LOD 值均在 2.6 以上，以 *qPHS-10* (6.8) 最大，*qPHS-3b* (2.6) 最小；各別 QTL 對穗上發芽變異的解釋率在 5.5%~20.8% 之間，亦以 *qPHS-10* 影響效力最大；累加性效應在此意指後裔行系內具該對偶基因者可對穗上發芽率表現之增減程度，由表 1 可知，除 *qPHS-3b* 為正值外，其餘為負值，即 *qPHS-3b* 與其他兩者作用方向相反，具此對偶基因之行系可使穗上發芽率增加 6%，而具其餘 2 個對偶基因之一的系行，則各別使穀粒減低 7~11% 的穗上發芽率。

Hori 等人 (2010) 以稈稻品種 (日本晴/越光) 之回交自交系 (BILs)，進行穗上發芽之 QTL 定位，結果發現 2 個重要的 QTL，分別位在第 3 條染色體短臂 RM4108~RM5849 區間，與第 12 條染色體短臂上 RM3455~RM6905 間，分別對外表型變異解釋率達 45.0% 與 10.8%，具日本晴對偶基因者各可提增 21.3% 與 9.9% 的穗上發芽率。而本試驗所得 *qPHS-3a* 即定位在 RM4108 附近位置，推測此對偶基因可能與 Hori 等人的結果為同一基因座。而至於另一數量基因 *qPHS-3b* 的位置，與 Cai and Morishima (2000)、Guo *et al.* (2004)、Lin *et al.* (1998) 及 Wan *et al.* (1997) 之結果同在第 3 條染色體上且為相近位置，是否為前人研究所發現者，尚須進一步確認。

四、利用定位所得脫粒性與穗上發芽基因位置鄰近之分子標誌將稈稻重組自交系分群

生物各種型態表徵乃至於代謝、生育、分化等無一不受到遺傳因子的控制，唯其中僅少數為質量性狀，多數則為呈現連續性分佈的數量性狀，且受到多個微效基因控制。本試驗以越光與臺農 67 號所建立之 143 個重組自交系，針對脫粒性與穗上發芽特性各別定位得到 2 個與 3 個數量性狀基因座，以鄰近連鎖的分子標誌作為選拔低脫粒性及低穗上發芽品系之依據。

本試驗所得各別 QTL 鄰近兩側的分子標誌 (flanking markers) 判讀基因型，可得以下染色體片段型式：“K-K/K-K”表 QTL 兩側皆為越光型的 marker allele，“T-T/T-T”表 QTL 兩側皆為臺農 67 號型式的 marker allele，以上兩者認定分子標誌區間上的 QTL 為越光型或臺農 67 號型 (其中亦有發生雙重互換的可能，但機率太小，在此忽略不計)。各別 RILs 的脫粒率與穗上發芽率依據“K-K/K-K”及“T-T/T-T”兩種染色體片段型式分群，可得如圖 3 之結果。

以 *qSH-1* 鄰近兩側的分子標誌 (CH0165 與 CH0133) 分群，K-K/K-K 與 T-T/T-T 群的脫粒率平均各為 2.2 與 32.8% (圖 3a)，若依 *qSH-6* 兩側分子標誌 (RM6734 與

RM276) 分群，則得二群脫粒率為 27.4 與 11.9%。以上結果得知：來自越光型的 *qSH-1* 對偶基因脫粒率較臺農 67 號型為低，但相反地，源自越光型的 *qSH-6* 對偶基因卻使其脫粒率較臺農 67 號型高，兩者作用方向相反，但 *qSH-1* 的效用較大（兩親本間脫粒率表現差距較大），此正說明表 2 中的累加性效應大小與方向。

控制穗上發芽率的對偶基因 *qPHS-3a* 位在分子標誌 RM4108 上，故以此將整體 RIL 行系分為 K-K/K-K 與 T-T/T-T 兩群，其穗上發芽率各為 43.1 與 57.3%（圖 3b），而以對偶基因 *qPHS-3b*（RM2593 與 RM143）所分兩群的平均穗上發芽率為 54.2 與 41.2%，以 *qPHS-10*（RM5304 與 RM6704）分群，則得穗上發芽率各別為 32.3 與 58.0%。以上三個對偶基因中，源自越光的 *qPHS-3a* 與 *qPHS-10* 使其穗上發芽率較臺農 67 號為低，但源自越光的 *qPHS-3b* 卻使穗上發芽率高於臺農 67 號者，與上述二對偶基因作用方向相反；又三者之中，可由圖 3b 觀察得知 *qPHS-10* 的作用效應較大。

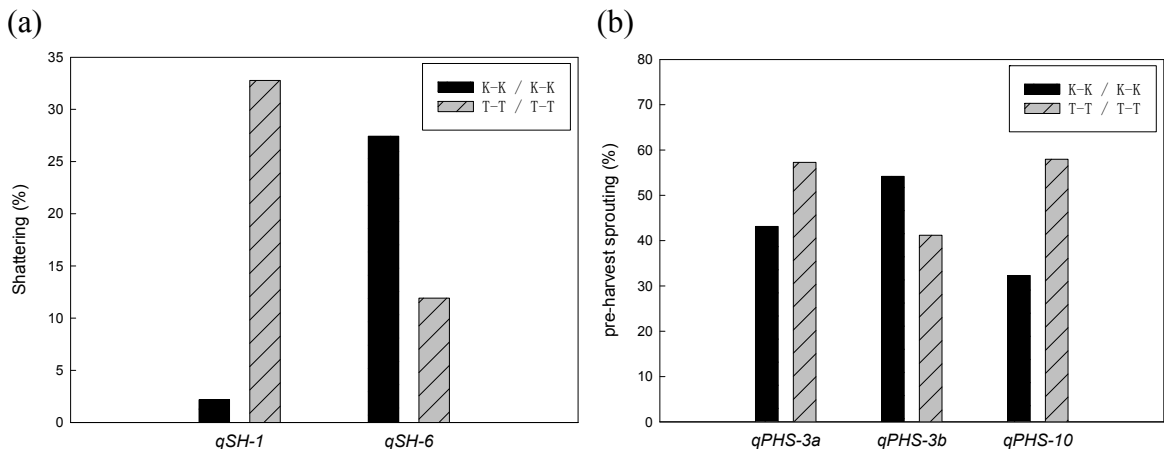


圖 3. 定位所得對偶基因兩側之分子標誌進行稈稻重組自交系分群(a)脫粒率,與(b)穗上發芽率。

Fig. 3. RIL population clustering by flanking markers of mapped QTLs. (a) shattering rate, and (b) pre-harvest sprouting rate.

綜合前人研究成果顯示，利用分子標誌可有效針對作物的目標性狀進行更深入的遺傳分析，唯影響標的性狀之兩雜交親本的對偶基因（allele）需具有極明顯差異，方可使後裔行系充分地表現分離情形；而控制數量性狀的基因常是多基因且為微效作用，容易受到栽培環境干擾。本試驗所用之重組自交系經多世代自交，各行系遺傳質已達高度同結合狀態，因此，對其衍生系下單株取樣變異不大，可進行多環境、多重

複的試驗比較。

本試驗利用粳稻重組自交系，解析水稻穀粒脫粒性與穗上發芽率之基因座位置，與其對該性狀之作用效力，得到與國外研究極為近似的結果。利用國內一般育種程序所進行之脫粒性與穗上發芽性檢定方法，已可有效準確評估後裔行系的上述兩項性狀檢定，將可提供國內研究試驗單位參考。另由定位所知 QTL 位置，以其鄰近的分子標誌進行追蹤或選拔，期可減少外表型表現受環境因素之干擾，有效提升水稻育種效率。

誌 謝

試驗期間場內同仁協助田間管理，陳美杏、陳雯惠、吳麗香、黃菊妹小姐協助調查及考種，特此一併誌謝。

參考文獻

- 郭婷玫、林順福、簡禎佑、丁文彥、林家玉、陳榮坤、廖大經。2014。利用分子標誌輔助選拔水稻低白堊質品系。作物環境與生物資訊 11:230-242。
- Babu, R.C., B.D. Nguyen, V. Chamarek, 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.
- Cai, H.W. and H. Morishima. 2000. Genomic regions affecting seed shattering and seed dormancy in rice. *Theor. Appl. Genet.* 100:840-846.
- 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.
- 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 *Hd1*. *Genes Dev.* 18: 926-936.

- Dong, Y., E. Tsuzuki, H. Kamiunten, H. Terao, D.Z. Lin, M. Matsuo, and Y.F. Zheng. 2003. Identification of quantitative trait loci associated with pre-harvest sprouting resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Res.* 81:133-139.
- Gao, F.Y., G. J. Ren, X.J. Lu, S.X. Sun, H.J. Li, Y.M. Gao, H. Luo, W.G. Yan, and Y.Z. Zhang. 2008. QTL analysis for resistance to preharvest sprouting in rice (*Oryza sativa*). *Plant Breeding* 127:268-273.
- Gu, X.Y., S.F. Kianian, G.A. Hareland, B.L. Hoffer, and M.E. Foley. 2005. Genetic analysis of adaptive syndromes interrelated with seed dormancy in weedy rice (*Oryza sativa*). *Theor. Appl. Genet.* 110:1108-1118.
- Guo, L.B., L.H. Zhu, Y.B. Xu, D.L. Zeng, P. Wu, and Q. Qian. 2004. QTL mapping of seed dormancy in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 140:155-162.
- Gramene. 2013. (<http://gramene.org/qlt/>)
- Hori, K., K. Sugimoto, Y. Nonoue, N. Ono, K. Matsubara, U. Yamanouchi, A. Abe, Y. Takeuchi, and M. Yano. 2010. Detection of quantitative trait loci controlling pre-harvest sprouting resistance by using backcrossed populations of *japonica* rice cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 120:1547-1557.
- 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>.
- 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.
- Jiang, L., Y.J. Cao, C.M. Wang, H.Q. Zhai, J.M. Wan, and Y. Atsushi. 2003. Detection and analysis of QTL for seed dormancy in rice (*Oryza sativa* L.) using RIL and CSSL population. *Acta. Genet. Sin.* 30:453-458.
- Jing, W., L. Jiang, W.W. Zhang, H.Q. Zhai, and J.M. Wan. 2008. Mapping QTL for seed dormancy in weedy rice. *Acta. Agron. Sin.* 34:737-742.

- 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.
- Konishi, S., T. Izawa, S.Y. Lin, K. Ebana, Y. Fukuta, T. Sasaki, and M. Yano. 2006. An SNP caused loss of seed shattering during rice domestication. *Science* 312:1392-1396.
- Lin, S.Y., T. Sasaki, and M. Yano. 1998. Mapping quantitative trait loci controlling seed dormancy and heading date in rice, *Oryza sativa* L. using backcross inbred lines. *Theor. Appl. Genet.* 96:997-1003.
- Lin, Z.W., M.E. Griffith, X.R. Li, Z.F. Zhu, L.B. Tan, Y.C. Fu, W.X. Zhang, X.K. Wang, D.X. Xie, and C.Q. Sun. 2007. Origin of seed shattering in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta* 226:11-20.
- Lincoln, S.E., M.J. Daly, and E.S. Lander. 1993. Constructing Genetic Linkage Maps with MAPMAKER/EXP Version 3.0: A Tutorial and Reference Manual. 3rd ed. A Whitehead Institute for Biomedical Research Technical Report.
- 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.
- Onishi, K., K. Takagi, M. Kontani, T. Tanaka, and Y. Sano. 2007. Different patterns of genealogical relationships found in the two major QTLs causing reduction of seed shattering during rice domestication. *Genome* 50:757-766.
- 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.
- 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.

- Thomson, M.J., T.H. Tai, A.M. McClung, X.H. Lai, M. E. Hinga, K.B. Lobos, Y. Xu, C.P. Martinez, and S.R. McCouch. 2003. Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theor. Appl. Genet.* 107:479-493.
- 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.
- Wan, J., T. Nakazaki, K. Kawaura, and H. Ikehashi. 1997. Identification of marker loci for seed dormancy in rice (*Oryza sativa* L.). *Crop Sci.* 37:1759-1763.
- Wan, J. M., Y.J. Cao, C.M. Wang, and H. Ikehashi. 2005. Quantitative trait loci associated with seed dormancy in rice. *Crop Sci.* 45:712-716.
- Wan, J.M., L. Jiang, J.Y. Tang, C.M. Wang, M.Y. Hou, W. Jing, and L.X. Zhang. 2006. Genetic dissection of the seed dormancy trait in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci.* 170:786-792.
- 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>).
- Xiong, L.Z., K.D. Liu, X.K. Dai, C.G. Xu, and Q.F. Zhang. 1999. Identification of genetic factors controlling domestication-related traits of rice using an F₂ population of a cross between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*. *Theor. Appl. Genet.* 98:243-251.

Detection of Quantitative Trait Loci Controlling Shattering and Pre-harvest Sprouting by Using Recombinant Inbred Lines of *Japonica* Rice¹

Jen-You Jian², Tin-Mei Kuo³, Meng-Huei Lin² and Shun-Fu Lin⁴

Abstract

The characters of easy shattering and longer seed dormancy have been changed in the process of wild rice domesticated to cultivated rice due to human cultivation and selection. Cultivated varieties tend to have less seed shattering and shorter seed dormancy period. However, difficulty in shattering will increase machinery damage during harvesting, and shorter period of seed dormancy will lead to pre-harvest sprouting in suitable environments and consequently reduce yield and grain quality. This study was conducted to detect the locations of quantitative trait loci (QTL) for shattering and pre-harvest sprouting traits. One hundred and forty-three recombinant inbred lines (RILs) derived from a cross between two *japonica* rice cultivars (Koshihikari / TNG67) were investigated. Two and three QTLs for shattering and pre-harvest sprouting were detected, respectively. Maximum likelihood ratio of odds (LOD) values for *qSH-1* and *qSH-6* affecting grain shattering were 24.1 and 3.4, respectively. The *qSH-1* contributed larger phenotypic variance (63.9%) and additive effect (17%) than *qSH-6*, implying the *qSH-1* had a great influence. For pre-harvest sprouting, LOD values of three detected QTLs (*qPHS-3a*, *qPHS-3b*, and *qPHS-10*) were ranged from 2.6 to 6.8. Phenotypic variation explained by these QTLs was ranged from 5.5 to 20.8%. The *qPHS-10* locus had the largest LOD, PVE and additive effect (11%) affecting pre-harvest sprouting rate. These results of this study could be applied for selecting superior lines with fewer seed shattering and less pre-harvest sprouting.

Key words: recombinant inbred line (RIL), shattering, pre-harvest sprouting, quantitative trait loci (QTL)

¹ Contribution No.464 from Taoyuan DARES, COA.

² Assistant Researcher, and Chief of Crop Improvement Section. respectively, Taoyuan DARES, COA.

³ Assistant Researcher, Tea Research and Extension Station, COA.

⁴ Associate Professor (Corresponding author, shunfu@ntu.edu.tw), Department of agronomy, NTU.