

以稈稻重組自交系族群定位劍葉形態之 數量性狀基因座¹

簡禎佑²、楊志維²、林順福³

摘 要

本試驗為瞭解稈稻劍葉的控制基因位置與其遺傳效應，以 144 個稈稻（越光/臺農 67 號）重組自交系為材料調查劍葉長、寬及面積，另於生育適期評估抽穗期、株高及分蘗數等性狀。結合 115 個 SSR 分子標誌的分析結果，共可定位測得 10 個數量性狀基因座（QTL）。影響劍葉長表現之 *qFLL-3* 及 *qFLL-10*，其概度對數值（LOD）為 3.4 及 4.7，對試驗族群的外表型變異解釋量（PVE）各為 8.6%及 15.6%，以 *qFLL-10* 的效應較大；控制劍葉寬表現的 2 個 QTL（*qFLW-3* 及 *qFLW-8*），LOD 值為 5.3 及 3.4，對劍葉寬度的變異解釋率為 24.5%及 11.1%，以 *qFLW-3* 的表現效應較為顯著；而與劍葉面積表現相關者僅可測得 1 個 QTL（*qFLA-10*），LOD 及 PVE 各為 5.9 及 18.3%。其他關於抽穗期及株高表現，經分析後可測得 3 個（*qHD-6*、*qHD-8* 及 *qHD-10*）及 2 個 QTL（*qPH-3* 及 *qPH-10*）。此外，本試驗又調查各行系的稻穀產量，分析其與劍葉性狀的相關性，結果顯示劍葉寬及劍葉面積與產量呈顯著正相關。因此，如欲提高光合作用供源，改善劍葉長、寬及面積等性狀，可以第 3 條染色體上 *qFLW-3* 附近的 RM6736，與位於第 10 條染色體上 *qFLL-10* 及 *qFLA-10* 附近的 RM5304~RM6704 區間，作為輔助選拔使用。

關鍵詞：重組自交系、數量性狀基因座、劍葉性狀

¹ 行政院農業委員會桃園區農業改良場研究報告第 474 號。

² 桃園區農業改良場副研究員及副研究員。

³ 國立臺灣大學農藝學系副教授(通訊作者, shunfu@ntu.edu.tw)。

前 言

許多研究指出稻穀產量受到供源與積儲分配的影響 (Cui *et al.*, 2003)，同化物源自於水稻葉片行使光合作用而得，尤以最上位 3 葉提供穀粒主要的碳水化合物來源，其中劍葉更提供 40~60% 的同化物 (Foyer, 1987; Gladun and Karpov, 1993a, 1993b; Hirota *et al.*, 1990; Kholupenco *et al.*, 1996; Tomoshiro *et al.*, 1983)。因此，優良的劍葉形態，預期可提高光合作用效率及增加地上部生質量，更進而增加稻穀產量 (Ashraf *et al.*, 1994)。然而，葉片的形態 (長短、寬窄等) 為連續性的數量性狀分布，除受到品種自身的遺傳表現外，也極易受到環境影響，因此，欲瞭解其遺傳控制實不易達成，而利用數量性狀基因座定位似為一可行的方法。例如：Li 等 (1998) 以秈梗稻品種雜交 (Lemont/ Teqing) 之 $F_{2:4}$ 族群為材料，調查水稻上位 2 葉形態及產量構成要素等性狀，發現在第 3、7、9 條及第 3、4、8 條染色體特定位置處，為控制葉片長度及寬度的遺傳因子，且由路徑分析法得知，劍葉面積大小可解釋單穗粒重 50% 的變異量。

藉由分子標誌可初步測得基因位置，如進一步以更大量族群，或改以其他鄰近分子標誌分析，可更確認基因詳細位置或將其選殖定序。在 Jiang 等人 (2010) 的試驗，先以 (SN265/LTH) 組合之 F_2 族群定位得到 3 個與劍葉長度表現相關的 QTL ($qFLL3$ 、 $qFLL6$ 與 $qFLL9$)，其中以 $qFLL9$ 對該族群劍葉長度變異解釋量最高 (PVE=42.9%)，因此，該試驗又進一步取 889 個單株在 $qFLL9$ 附近進行細定位，最後可精確得知該數量基因位於第 9 條染色體上分子標誌 RM24423~RM24434 的區間，再依據水稻序列資料庫進一步分析，已可將該控制劍葉長度的主效基因縮小至 198 kb 片段，可再由其中的 17 個候選基因確認；另 Chen 等 (2012) 以 (D50/HB277) 之 F_7 RILs 分析，得到 5 個可控制劍葉寬度表現的 QTL，其中 $qFLW4$ 可解釋 20% 的族群變異量，續而進行細定位至 RM17483~RM17486 區間 (約 74.8 kb)，推測位於其中的 *NAL1* 為該 $qFLW4$ 基因。

本試驗為瞭解在梗稻背景下，劍葉長、劍葉寬與劍葉面積的遺傳表現行為，以及劍葉性狀與稻穀產量的相關性，以 (越光/臺農 67 號) 所得之重組自交系為材料，於桃園市新屋區本場試驗圃進行調查，其餘性狀如抽穗期、株高及分蘖數等亦一併分析。

材料與方法

一、試驗材料建立與特性調查

本試驗材料以兩個粳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質結合態，此後代品系可稱為「重組自交系」(recombinant inbred lines, RILs)。

本試驗於 2012 年二期作在本場試驗田進行，共植 144 個 F_{6:7} RILs，各行系種植 3 行，每行 20 株，行株距 30 × 15 cm，依序排列以單本植進行，並種植兩親本（越光與臺農 67 號）作為對照。各行系調查劍葉長、劍葉寬、劍葉面積、抽穗期、株高及分蘗數等，各性狀之調查標準如下，劍葉長 (FLL) 與劍葉寬 (FLW)：稻株於糊黃熟期選取 5 株、每株 3 片健康劍葉葉片，測量後平均；劍葉面積 (FLA)：參考 Yue 等 (2006) 與 Li 等 (1998) 的估算方式，以劍葉長與劍葉寬相乘而得；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，與插秧日相距日數為抽穗期；株高 (PH) 與分蘗數 (NT)：於各行系糊黃熟期調查 10 株，平均後即代表之。

二、各行系基因型分析及植株形態性狀數量基因座定位

將田間剪取之 144 個 F₆ 單株與兩親本的葉片抽取 DNA 後，以 115 個 SSR 分子標誌(marker)(郭等, 2014; GRAMENE, 2015; McCouch *et al.*, 2002; Orjuela *et al.*, 2010)，進行基因型分析，與越光相同之同質結合基因型者設為 A，與臺農 67 號相同之同質結合基因型者設為 B，異質結合基因型者定為 H，再以 MAPMAKER 3.0 軟體(Lincoln *et al.* 1993) 進行連鎖群分群，設定概度對數值 (Likelihood ratio of odds, LOD) 為 3.0 及最大遺傳距離 40 cM (centi-Morgan) 的條件，可得到群聚各別連鎖群的分子標誌，再行排列以得到與水稻 12 條染色體相對應的連鎖群及分子標誌間距。

復將 144 個重組自交系的劍葉長、劍葉寬、劍葉面積、抽穗期、株高及分蘗數等性狀資料，依 Windows QTL Cartographer 軟體 (WinQTLCart, Wang *et al.*, 2012) 格式匯入，以多重區間定位法 (composite interval mapping, CIM) 進行分析，各性狀資料以“permutation”指令進行重排檢驗 1000 次，可得到各性狀之概度對數門檻值，各染色

體上偵測各別性狀高於此 LOD 者，即視為該區間可測得控制性狀的 QTL，且以區間內 LOD 最大值定為 QTL 位置。此外，尚可由分析結果得知各別 QTL 對外表型的變異解釋量 (phenotypic variance explained, PVE) 與累加性效應 (additive effect, Add.) 等相關資訊。最後再以 QTL 繪圖軟體 MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) 標繪各別 QTL 區間於染色體位置。

結 果

一、稈稻重組自交系植株形態性狀之表現情形

本試驗於兩親本與各行系之生育適期調查劍葉長、劍葉寬、劍葉面積、抽穗期、株高及分蘗數等性狀，分布情形如表 1 及圖 1 所示。比較兩親本的劍葉長與劍葉寬，皆以臺農 67 號 (32.4 cm/15.55 mm) 大於越光 (28.2 cm/10.99 mm)，所有 144 個重組自交系的劍葉長介於 22.2~40.2 cm，平均 32.5 cm，劍葉寬則在 11.98~17.91 mm 之間，平均 14.79 mm；推估所得劍葉面積亦以臺農 67 號 45.4 cm² 大於越光 32.1 cm²，整體 RILs 劍葉面積在 26.9~66.9 cm² 的範圍，平均值 48.4 cm²。

表 1. 稈稻重組自交系族群劍葉長、劍葉寬、劍葉面積、抽穗期、株高及分蘗數之表現

Table 1. Flag leaf length, flag leaf width, flag leaf area, heading date, plant height, and tiller numbers in 144 *japonica* type rice RILs and their parents.

Trait ^z	Parental mean		F _{6:7} recombinant inbred lines			
	Koshihikari	TNG67	Skewness	Kurtosis	Range	Mean
FLL	28.2	32.4	-0.4086	-0.4891	22.2~40.2	32.5 ± 4.1
FLW	10.99	15.55	-0.0152	-0.1052	11.98~17.91	14.79 ± 1.17
FLA	32.1	45.4	-0.2966	-0.4625	26.9~66.9	48.4 ± 8.2
HD	48.0	88.0	-0.1835	-0.5915	47.0~90.0	69.1 ± 9.7
PH	87.2	99.8	-0.7034	0.6605	72.6~113.5	98.2 ± 8.0
TN	15.4	11.1	1.0062	1.5256	9.8~27.4	15.1 ± 3.2

^z FLL: flag leaf length (cm); FLW: flag leaf width (mm); FLA: flag leaf area (cm²); HD: heading date (days); PH: plant height (cm); TN: tiller numbers.

另調查兩親本及各行系的抽穗時間，與插秧時間的相距日數作為抽穗期，越光抽穗期 48 日，臺農 67 號 88 日，可知越光的抽穗時間較臺農 67 號早 40 日，而所有 RILs 抽穗期自 47 日起至 90 日止，整體族群平均 69.1 日；兩親本的株高各為 87.2 及 99.8 cm，而族群內株高最高行系 113.5 cm，最矮 72.6 cm，平均 98.2 cm；各別單株平均分蘗數，以越光（15.4 穗）高於臺農 67 號（11.1 穗），後裔族群則介於 9.8~27.4 穗，平均 15.1 穗。

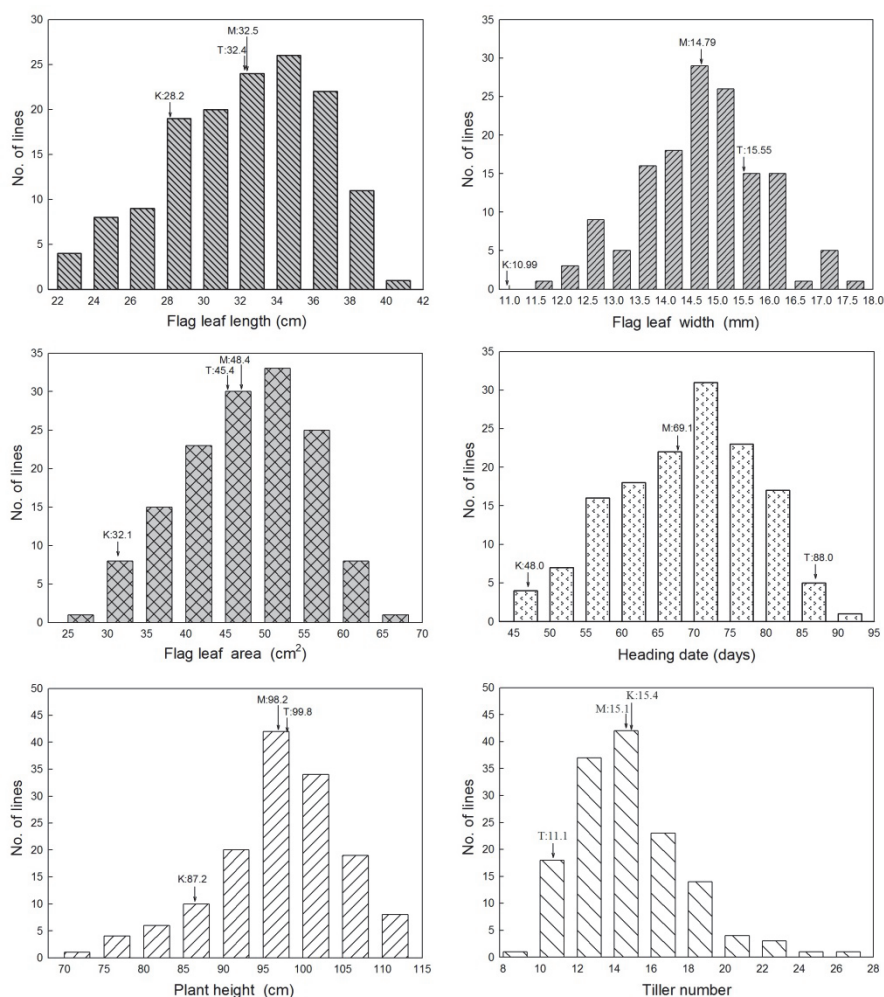


圖 1. 梗稻重組自交系族群劍葉長、劍葉寬、劍葉面積、抽穗期、株高及分蘗數之分布情形

Fig. 1. Phenotypic distributions of flag leaf length, flag leaf width, flag leaf area, heading date, plant height, and tiller numbers for 144 RILs of japonica type rice

^z K:越光 (Koshihikari) ; T:臺農 67 號 (TNG67) ; M:族群平均值 (RILs mean)

二、稈稻重組自交系連鎖群建立與植株形態性狀數量基因座定位

本試驗以 115 個 SSR 分子標誌進行分析，經軟體“MAPMAKER 3.0”分群後可得到與水稻 12 條染色體相對應的連鎖群，總計長度為 1,955.7 cM，其中以對應第 2 條染色體的連鎖群最長（239.0 cM），對應第 10 條染色體的連鎖群最短（123.6 cM），分子標誌間的平均距離為 17.0 cM。

上述各行系所調查的性狀資料，結合 115 個 SSR 分子標誌之基因型分析結果，進行數量性狀基因座定位（QTL mapping），LOD 可作為衡量染色體上各位點出現 QTL 的機率，各性狀經重新排列 1000 次後，可得到 95%信心水準下的 LOD 門檻值（如表 2），當 WinQTLCart 軟體分析染色體中各片段區間，倘大於此門檻值時，可視為定位得到影響該性狀表現的數量性狀基因區域，其中又以 LOD 最大值發生處定為各 QTL 的位置。由分析結果可知，本試驗共可得到 10 個 QTL（表 2），其相對位置如圖 2 所示。

重排檢驗可得劍葉長、劍葉寬、劍葉面積、抽穗期、株高及分蘖數的 LOD 門檻值各為 3.05、2.89、3.50、3.18、3.57 及 2.93。分析結果顯示，大於劍葉長度 LOD 門檻值可測得 2 個 QTL，為位於第 3 條染色體 202.0 cM 的 *qFLL-3* 及位於第 10 條染色體 79.0 cM 的 *qFLL-10*，與此 2 個 QTL 最鄰近的分子標誌為 RM1038 及 RM5304，二者 LOD 峰值為 3.4 及 4.7，對此試驗族群的劍葉長度變異解釋量各為 8.6%及 15.6%，其中以 *qFLL-10* 影響力較大，而 2 個 QTL 的累加性效應則各為 1.27 與 -1.70，可知 *qFLL-3* 源自越光的對偶基因可使劍葉增長 1.27 cm，而 *qFLL-10* 源自越光的對偶基因則使劍葉減短 1.70 cm。與劍葉寬度表現相關的 QTL 有 *qFLW-3* 及 *qFLW-8*，分別位於第 3 條及第 8 條染色體上 167.5 及 39.9 cM 位置處，LOD 峰值為 5.3 及 3.4，各別對劍葉寬度變異解釋量為 24.5%及 11.1%，另由累加性效應可知 *qFLW-3* 源自越光的對偶基因使劍葉縮窄 0.59 mm，而 *qFLW-8* 源自越光者則使劍葉增寬 0.40 mm，以前者的影響力較大。估算本族群各行系劍葉面積大於 LOD 門檻值僅得到 1 個 QTL，即位於第 10 條染色體 RM6704 附近 90.4 cM 處的 *qFLA-10*，LOD 峰值為 5.9，此對偶基因對試驗族群的劍葉面積可達 18.3%的變異解釋量，且具有 *qFLA-10* 來自越光對偶基因的品系將使其劍葉面積減少 4.22 cm²。因此，如欲提高本試驗材料光合作用供源，改善劍葉長、寬及面積等性狀，可以第 3 條染色體上 *qFLW-3* 附近的 RM6736，與位於第 10 條染色體上 *qFLL-10* 及 *qFLA-10* 附近的 RM5304~RM6704 區間，作為後續輔助選拔使用。

影響抽穗期表現者，經定位分析可得到 3 個 QTL，分別是位於第 6 條染色體上分子標誌 RM6395~P17G10-24 區間內 121.6 cM 的 *qHD-6*，第 8 條染色體上 RM7057~RM22687 區間內 50.6 cM 的 *qHD-8*，及第 10 條染色體 RM5304~RM6704 區間內 86.0cM 的 *qHD-10*，三者 LOD 峰值介於 3.3~18.6，對整體族群抽穗期的變異解釋量在 7.3~51.3% 之間，這 3 個源自越光的對偶基因皆使抽穗期提早 2.66~7.30 日，其中以 *qHD-10* 的影響力最顯著。關於株高表現則可測到 2 個 QTL (*qPH-3* 及 *qPH-10*)，分別位於第 3 條染色體 196.2 cM 與第 10 條染色體 87.0 cM 處，與其最鄰近的分子標誌為 RM143 與 RM6704，二者 LOD 與 PVE 值各為 4.6/12.8% 及 9.6/31.7%，可知 *qPH-10* 影響效應較大，但二者作用方向相反，*qPH-3* 源自越光的對偶基因使株高增加 2.88 cm，而 *qPH-10* 源自越光者則使株高減少 5.17 cm。分蘖數的 LOD 門檻值為 2.93，經定位分析未能得到高於此門檻值的 QTL。

表 2. 稈稻重組自交系劍葉長、劍葉寬、劍葉面積、抽穗期及株高之數量性狀基因座定位、累加性效應及對其外表型變異解釋率。

Table 2. The QTL positions, additive effects and phenotypic variance explained (%) for flag leaf length, flag leaf width, flag leaf area, heading date, and plant height in 144 RILs of *japonica* type rice.

Trait ^z	QTL	Chr. ^y	Position (cM)	Marker interval	LOD	Add.	PVE (%)
FLL (LOD _{0.95} =3.05)	<i>qFLL-3</i>	3	202.0	RM1038	3.4	1.27	8.6
	<i>qFLL-10</i>	10	79.0	RM5304~RM6704	4.7	-1.70	15.6
FLW (LOD _{0.95} =2.89)	<i>qFLW-3</i>	3	167.5	RM6736~RM2593	5.3	-0.59	24.5
	<i>qFLW-8</i>	8	39.9	SLS182~RM7057	3.4	0.40	11.1
FLA (LOD _{0.95} =3.50)	<i>qFLA-10</i>	10	90.4	RM6704	5.9	-4.22	18.3
HD (LOD _{0.95} =3.18)	<i>qHD-6</i>	6	121.6	RM6395~P17G10-24	3.7	-2.94	9.0
	<i>qHD-8</i>	8	50.6	RM7057~RM22687	3.3	-2.66	7.3
	<i>qHD-10</i>	10	86.0	RM5304~RM6704	18.6	-7.30	51.3
PH (LOD _{0.95} =3.57)	<i>qPH-3</i>	3	196.2	RM2593~RM143	4.6	2.88	12.8
	<i>qPH-10</i>	10	87.0	RM5304~RM6704	9.6	-5.17	31.7

^z Trait symbols refer to table 1;

^y 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.

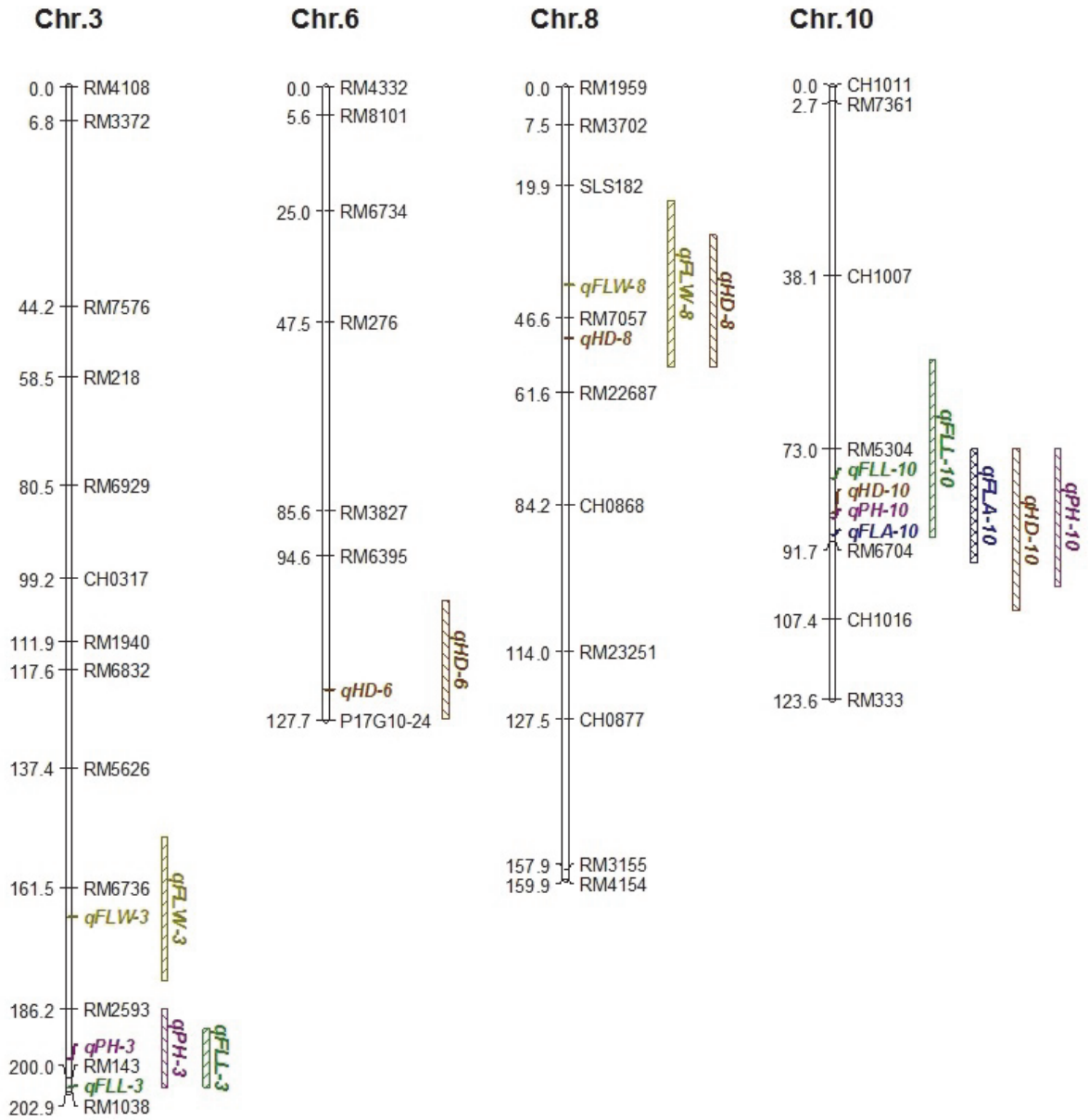


圖 2. 稈稻重組自交系植株形態性狀基因定位

Fig. 2. Chromosomal locations of QTLs associated with morphological traits were detected by 144 RILs of *japonica* type rice.

三、劍葉形態及其他性狀與稻穀產量相關性

另為進一步瞭解劍葉長、劍葉寬及劍葉面積與稻穀產量的相關性，各行系於收穫適期割取 30 株稻株，並推算每公頃產量，各性狀之相關性如表 3 所示。劍葉相關性狀中，劍葉長、劍葉寬及與劍葉面積三者之間呈現顯著正相關 ($r=0.367$ 、 0.902 及 0.729)，然將此三性狀與稻穀產量相比較，僅劍葉寬及劍葉面積與之達到顯著正相關 ($r=0.179$ 及 0.172)，劍葉長與產量僅呈現正相關但未達顯著水準。因此，欲提高本族群稻穀產量，可由增加劍葉面積出發，在育種階段選拔劍葉較寬的行系作為依據。其他抽穗期、株高及分蘗數等三性狀與產量的相關性則皆未達顯著水準；抽穗期與劍葉長、劍葉寬、劍葉面積、株高及分蘗數皆呈現顯著正相關，意謂越晚抽穗的行系劍葉較長或較寬、劍葉面積較大、株高較高及分蘗數較多。

表 3. 稻穀產量、劍葉性狀、抽穗期、株高及分蘗數之間的相關性。

Table3. Correlation coefficients between grain yield, flag leaf characteristics, heading date, plant height, and tiller numbers.

Trait ^z	GY ^y	FLL	FLW	FLA	HD	PH
FLL	0.128					
FLW	0.179*	0.367*				
FLA	0.172*	0.902*	0.729*			
HD	-0.139	0.499*	0.216*	0.465*		
PH	0.062	0.678*	0.253*	0.608*	0.675*	
TN	-0.141	-0.055	-0.087	-0.073	0.260*	-0.005

^z Trait symbols refer to table 1;

^y GY, refers to grain yield;

* represent the significance levels of correlation coefficients at $p < 0.05$.

討 論

重組自交系為兩親本雜交後，於分離後裔保留適當族群大小，連續自交使單一對偶基因逐漸呈現較高比例的同質結合同型，此同質結合同型可為顯性或隱性的基因型，對單一個體或行系而言，此為許多對偶基因的高比率同質基因型組合，因此，繁衍至高世

代時已較少異質結合基因型造成分離；對整體族群而言，在族群具相當代表性且未被環境或人為選汰下，亦可由對偶基因間的頻度表現，呈現基因間的互作或競爭關係。因此，利用同批高度同結合型的重組自交系或雙單倍體族群，可重複在不同季節、地點進行族群定位比較，或分析基因與環境間的交互作用。例如：Kobayashi 等 (2003) 以秈稈稻雜交組合 (Milyang 23 x Akihikari) 所建立的重組自交系族群，在日本與菲律賓兩地進行劍葉長、寬的性狀調查及 QTL 定位，結果可得共 9 個染色體片段區間，在兩地多年期間皆能穩定控制劍葉長、寬表現的對偶基因，尤以位於第 4 條染色體 RFLP marker-*XNpb235* 附近，偵測可對劍葉長與劍葉寬表現有較大影響者；而中國學者 Yan 等人 (1999) 利用 (IR64 x Azucena) 雙單倍體族群的研究，結果亦得到在第 4 條染色體 RG163~RZ590 區間，有影響劍葉長及劍葉寬表現的遺傳控制因子，可在杭州及海南兩地穩定表現。

另由 Yue 等人 (2006) 調查 180 個秈稈雜交 (Zhenshan 97/IRAT109) 之重組自交系劍葉形態與產量的關係，在 2003 及 2004 年皆可測得位於第 4 條染色體 RM255~RM349 區間內，有 3 個各別控制劍葉長、劍葉寬及劍葉面積的 QTL，而此三性狀與產量也呈現顯著正相關 ($r=0.26\sim 0.43$)。本試驗結果僅得知劍葉寬度及劍葉面積與稻穀產量有顯著正相關，且相關係數低於上述試驗結果，而本試驗所定位得到控制劍葉形態表現的 QTL 位置與上述所得亦不相同。因此可知，以不同試驗族群為分析對象，所測得控制各別性狀的基因未必相同，其原因在於不同試驗材料對於同一性狀，本身即由不同的對偶基因控制，即便如 Farooq 等 (2010) 以 IR64 為輪迴親背景，與不同品系雜交所建立的數個漸滲雜交族群，分析劍葉長寬與第 2 葉長寬性狀的相關 QTL，結果在不同供給親來源測得控制同一性狀的位置也不同；而縱使兩親本在特定染色體區間皆具有可控制某一性狀的對偶基因，但在定位分析 (QTL mapping) 所採用的基因型乃親本間具差異部分 (多型性, polymorphism)，因此，該相同對偶基因鄰近的分子標誌也可能因不具多型性而無法被測得。所以欲利用已知對偶基因位置，並藉之利用鄰近分子標誌輔助選拔所需性狀，僅可就前人研究所用的種原、或由其衍生之族系、或由譜系推測極為相近遺傳背景的材料，經確認後方可擴大應用。

關於水稻抽穗期的研究，Lin 等 (2003) 分析 Nipponbare 與 Kasalath 的回交族群，定位得到 *Hd4* 及 *Hd5* 共 2 個 QTL，然經比對 Gramene 國際資料庫 (GRAMENE, 2015) 資訊，本研究所測得之 *qHD-8* 與 *Hd5* 雖同在第 8 條染色體上，但位置不同，可知非為同一控制基因；而同一研究團隊在稍早也發現 *Hd-3* 座落於第 6 條染色體上

(Yamamoto *et al.*, 1998)，與本試驗所測得之 *qHD-6* 位置相近，可能為同一基因座之對偶基因，可進一步藉與 *Hd-3* 緊密連鎖的分子標誌證實之。另本試驗分析所得 10 個 QTL 中，以 *qHD-10* 效應最為顯著，可解釋 51.3% 的族群抽穗期變異量，再查詢 Gramene 資料庫及比對相關文獻 (Doi *et al.*, 2004; GRAMENE, 2015)，*qHD-10* 應為 *Ehd1* 基因。*Ehd1* (*Early heading date 1*) 基因在短日照條件下促進提早開花，但在長日照條件下則無影響 (Doi *et al.*, 2004)；然而，在另一個對水稻光週期敏感的基因—*Hdl* (*Heading date 1*)，則使稻株在短日條件下促進開花，但在長日條件卻造成抽穗延後 (Yano *et al.*, 2000)；上述 *Ehd1* 及 *Hdl* 又共同調控下游 *Hd3a* 的合成開花素的作用，造成抽穗期不同的變異 (Kojima *et al.*, 2002; Takahashi *et al.*, 2009)。陳等 (2010) 將臺農 67 號不具功能的 *hdl*、*ehd1*，及可延長營養生長期的 *Hd6* 等三個基因回交導入越光背景，所育成的「臺南 16 號」品種，不論在臺灣的第一期或第二期作栽培，確實皆使抽穗期延後，使之對光週期敏感性消褪，以適應本地環境種植。

由諸多研究中可知，營養生長期較短或抽穗期提早的品種，其地上部生質量或穗的部分性狀亦受影響，造成產量減低的結果，甚至是控制抽穗期的遺傳因子，本身亦具有多效性作用 (Cai *et al.*, 2012; Xue *et al.*, 2008; Yan *et al.*, 2011)。例如在 Cai 等 (2012) 的研究中，*qHY-8* 除了有延長抽穗期的作用外，其他對於株高、穗長及每穗粒數等產量構成要素之性狀均有增進的效果；*Ghd7* (Xue *et al.*, 2008) 及 *Ghd8* (Yan *et al.*, 2011) 亦同時控制產量、株高與抽穗期等性狀表現。而本試驗影響 5 個性狀的 10 個 QTL 中，以位於第 10 條染色體上 RM5304~RM6704 附近的 *qFLL-10*、*qFLA-10*、*qHD-10* 與 *qPH-10*，對劍葉形態及抽穗期與株高表現等性狀有較明顯且多重的控制作用 (圖 2)，是否如上述為單一基因具有多效性作用，或為多個對偶基因群集在染色體上鄰近片段，需仰賴更密集的分子標誌導入解析。

誌 謝

試驗期間承蒙場內同仁協助田間管理及調查考種，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。
- 陳正昇、陳榮坤、金漢煊、林彥蓉。2010。以分子輔助選種導入 *hd1*、*Hd6* 和 *ehd1* 抽穗期基因至水稻越光品種。作物、環境與生物資訊 7:1-20。
- Ashraf, M., M. Akbar, and M. Salim. 1994. Genetic improvement in physiological traits of rice yield. In: Slafer GA (ed) Genetic improvement of field crops. Marcel Dekker Incorporates New York, p.413-455.
- Cai, H.Y., S. Diao, Y.G. He, L.P. Zhang, S.J. Liu, Y.G. Zhu, and Z.H. Zhang. 2012. Genetic and physical mapping of *qHY-8*, a pleiotropic QTL for heading date and yield-related traits in rice. Euphytica 184:109-118.
- Chen, M.L., J. Luo, G.N. Shao, X.J. Wei, S.Q. Tang, Z.H. Sheng, J. Song, and P.S. Hu. 2012. Fine mapping of a major QTL for flag leaf width in rice, *qFLW4*, which might be caused by alternative splicing of *NALI*. Plant Cell Rep. 31:863-872.
- Cui, K.H., S.B. Peng, Y.Z. Xing, S.B. Yu, C.G. Xu, and Q. Zhang. 2003. Molecular dissection of the genetic relationships of source, sink and transport tissue with yield traits in rice. Theor. Appl. Genet. 106:649-658.
- 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.
- Farooq, M., A.G. Tagle, R.E. Santos, L.A. Ebron, D. Fujita, and N. Kobayashi. 2010. Quantitative trait loci mapping for leaf length and leaf width in rice cv. IR64 derived lines. J. Integr. Plant Biol. 52:578-584.
- Foyer, C.H. 1987. The basis for source-sink interaction in leaves. Plant Physiol. Biochem. 25:649-657
- Gladun, I.V. and E.A. Karpov. 1993a. Production and partitioning of assimilates between the panicle and vegetative organs of rice after flowering. Russ. J. Plant Physiol. 40:728-773.

- Gladun, I.V. and E.A. Karpov. 1993b. Distribution of assimilates from the flag leaf of rice during the reproductive period of development. *Russ. J. Plant Physiol.* 40:215-219.
- GRAMENE. 2015. (<http://archive.gramene.org/qlt/>)
- Hirota, O., M. Oka, and T. Takeda. 1990. Sink activity estimation by sink size and dry matter increase during the ripening stage of barley (*Hordeum vulgare*) and rice (*Oryza sativa*). *Ann. Bot.* 65:349-354.
- Jiang, S.K., X.J. Zhang, J.Y. Wang, W.F. Chen, and Z.J. Xu. 2010. Fine mapping of the quantitative trait locus *qFLL9* controlling flag leaf length in rice. *Euphytica* 176:341-347.
- Kholupenco, I.P., O.L. Burundukova, V.P. Zhemchugova, N.M. Voronkova, and G.K. Chernoded. 1996. Source-sink relations in Far-Eastern rice cultivars as related to their productivity. *Russ. J. Plant Physiol.* 43:141-148.
- Kobayashi, S., Y. Fukuta, S. Morita, T. Sato, M. Osaki, and G.S. Khush. 2003. Quantitative trait loci affecting flag leaf development in rice (*Oryza sativa* L.). *Breed. Sci.* 53:255-262.
- Kojima, S., Y. Takahashi, Y. Kobayashi, L. Monna, T. Sasaki, T. Araki, and M. Yano. 2002. *Hd3a*, a rice ortholog of the Arabidopsis FT gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol.* 43:1096-1105.
- Li, Z.K., S.R.M. Pinson, J.W. Stansel, and A.H. Paterson. 1998. Genetic dissection of the source-sink relationship affecting fecundity and yield in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Breed.* 4:419-426.
- Lin, H., Z.W. Liang, T. Sasaki, and M. Yano. 2003. Fine mapping and characterization of quantitative trait loci *Hd4* and *Hd5* controlling heading date in rice. *Breed. Sci.* 53:51-59.
- 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.
- 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., K.M. Teshima, S. Yokoi, H. Innan, and K. Shimamoto. 2009. Variations in *Hdl* proteins, *Hd3a* promoters, and *Ehd1* expression levels contribute to diversity of flowering time in cultivated rice. *P.N.A.S.* 106:4555-4560.
- Tomoshiro, T., O. Mitsunori, and A. Waichi. 1983. Comparison of the formation of dry substance by the old and new type of rice cultivars. *Japan J. Crop Sci.* 52:299-305.
- Voorrips, R.E. 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *J. Hered.* 93:77-78.
- 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>)
- Xue, W., Y. Xing, X. Weng, Y. Zhao, W. Tang, L. Wang, H. Zhou, S. Yu, C. Xu, X. Li, and Q. Zhang. 2008. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat. Genet.* 40:761-767.
- Yamamoto, T., Y. Kuboki, S.Y. Lin, T. Sasaki, and M. Yano. 1998. Fine mapping of quantitative trait loci *Hd-1*, *Hd-2* and *Hd-3*, controlling heading date of rice, as single Mendelian factors. *Theor. Appl. Genet.* 97:37-44.
- Yan, J.Q., J. Zhu, C. He, M. Benmoussa, and P. Wu. 1999. Molecular marker-assisted dissection of genotype \times environment interaction for plant type traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Crop Sci.* 39:538-544.
- Yan, W.H., P. Wang, H.X. Chen, H.J. Zhou, Q.P. Li, C.R. Wang, Z.H. Ding, Y.S. Zhang, S.B. Yu, Y.Z. Xing, and Q.F. Zhang. 2011. A major QTL, *Ghd8*, plays pleiotropic roles in regulating grain productivity, plant height, and heading date in rice. *Mol. Plant* 4:319-330.
- Yano, M., Y. Katayose, M. Ashikari, U. Yamanouchi, L. Monna, T. Fuse, T. Baba, K. Yamamoto, Y. Umehara, and Y. Nagamura. 2000. *Hdl*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell* 12:2473-2484.
- Yue, B., W.Y. Xue, L.J. Luo, and Y.Z. Xing. 2006. QTL analysis for flag leaf characteristics and their relationships with yield and yield traits in rice. *Acta Genet. Sin.* 33:824-832.

QTL Mapping for Flag Leaf Characters by *Japonica* Rice Recombinant Inbred Lines¹

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

Abstract

To understand the locations and genetic control effects about flag leaf in rice, 144 recombinant inbred lines derived from *japonica* rice cross (Koshihikari / Tainung 67) were used to measure flag length, flag width and flag area. Heading date, plant height and tiller numbers of each lines were also investigated in proper growth stage. Combined with 115 SSR markers, totally 10 quantitative trait loci (QTL) were mapped. The likelihood ratio of odds (LOD) of two QTL (*qFLL-3* and *qFLL-10*) which affected flag leaf length were 3.4 and 4.7, respectively. The phenotypic variance explained (PVE) were 8.2% and 15.6% corresponding to *qFLL-3* and *qFLA-10*, respectively. *qFLL-10* had the greatest influence. The LOD and PVE among two QTL(*qFLW-3* and *qFLW-8*)which controlled flag leaf width were 5.3 / 3.4 and 24.5% / 11.1%, respectively. *qFLW-3* showed the most significant effect. Only one QTL were detected to associate with flag leaf area, which LOD / PVE value was 5.9 / 18.3% corresponding *qFLA-10*. This trial had also detected three (*qHD-6*, *qHD-8* and *qHD-10*) and two (*qPH-3* and *qPH-10*) QTL which responded for controlling heading date and plant height. In addition, grain yield of each line was also investigated and it showed significantly positive correlation with flag leaf width and flag leaf area. In order to increase photosynthesis source by improving flag leaf length, flag leaf width and flag leaf area, RM6736 nearby *qFLW-3* on chromosomes No. 3 and interval between RM5304 and RM6704 nearby *qFLL-10* and *qFLA-10* on chromosomes No.10, could be further utilized for selection.

Key words: recombinant inbred line (RIL), quantitative trait loci (QTL), flag leaf characters

¹. Contribution No.474 from Taoyuan DARES, COA.

². Associate Researcher, and Associate Researcher, respectively, Taoyuan DARES, COA.

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