汪欲鹏,杜一帆,陈慧珍,等.水稻特大粒材料lg1和lg2粒形基因的功能变异位点分析[J].江西农业大学学报,2025,47(1):1-9.
WANG Y P,DU Y F,CHEN H Z,et al.Analysis of functional variation locus of grain shape related genes in rice big grain germplasm lg1 and lg2[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2025,47(1):1-9.

水稻特大粒材料lg1和lg2粒形基因的功能变异位点分析

汪欲鹏[1],杜一帆[1],陈慧珍[2],王智权[3],李昕雨[1],邓梓阳[1],吴自明[1*]

(1.江西农业大学 农学院/教育部作物生理生态与遗传育种实验室,江西 南昌 330045;2.江西省萍乡市农业科学研究中心,江西 萍乡 337099;3.江西省农业科学院 水稻研究所,江西 南昌 330200)

摘要:【目的】水稻的粒长、粒宽和千粒质量是重要的品质与产量性状,特殊粒形材料的研究可为水稻品种粒形的遗传改良提供重要的基因资源。【方法】以常规粳稻品种日本晴和籼稻品种黄华占为参考,对2个水稻特大粒材料lg1和lg2基因组中9个粒形主效基因(*qGL3*、*GS3*、*qLGY3*、*GS9*、*GW2*、*GW5*、*GW8*、*TGW3*、*TGW6*)的功能变异位点进行了分析。【结果】与日本晴相比,lg1和lg2中粒长基因*GS3*和粒宽基因*GW2*分别在编码区第165位和第382位发生单碱基替换,其中突变分别导致了*GS3*翻译提前终止和*GW2*功能减弱,而*GW8*在5′非翻译区存在10 bp的插入,导致其功能减弱;此外,lg2中*qLGY3*发生了31 bp的缺失,导致其编码区发生了移码,其他粒形基因没有检测到功能发生明显变化的变异。与黄华占相比,在lg1和lg2中除检测到*GW2*和*qLGY3*的功能变异位点外,还在2个材料的*GW5*编码区上游检测到了950 bp的片段缺失。【结论】lg1基因组聚合了*GS3*、*GW2*、*GW5*、*GW8*的功能缺失或减弱的变异位点,lg2基因组中聚合了*GS3*、*GW2*、*GW5*、*GW8*、*qLGY3*的功能缺失或减弱的变异位点,研究结果为粒形基因的遗传互作及特大粒材料lg1和lg2粒形形成的机制解析提供依据。

关键词:水稻;粒形;千粒质量;大粒材料;粒形基因;遗传变异
中图分类号:S511.032　　**文献标志码:**A　　**开放科学(资源服务)标识码(OSID):**
文章编号:1000-2286(2025)01-0001-09

Analysis of functional variation locus of grain shape related genes in rice big grain germplasm lg1 and lg2

WANG Yupeng[1],DU Yifan[1],CHEN Huizhen[2],WANG Zhiquan[3],
LI Xinyu[1],DENG Ziyang[1],WU Ziming[1*]

收稿日期:2024-07-12　　**修回日期:**2024-09-06
基金项目:国家重点研发计划项目(2023YFD2301301)、江西省重点研发计划项目(20232BBF60001)和江西省"稻稻油"农业科技项目(JXNK202302-02)
Project supported by National Key Research and Development Program of China(2023YFD2301301),Key Research and Development Program in Jiangxi Province(20232BBF60001) and Jiangxi Agricultural Technology Project for Rice and Oil(JXNK202302-02)

作者简介:汪欲鹏,讲师,博士,orcid.org/0009-0002-4216-695X,wangyupeng@jxau.edu.cn;*通信作者:吴自明,教授,博士,博士生导师,主要从事作物栽培生理与遗传育种研究,orcid.org/0000-0002-8805-514X,wuzmjxau@163.com。

©《江西农业大学学报》编辑部,开放获取CC BY-NC-ND协议

(1. Jiangxi Agricultural University/Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Ministry of Education, Nanchang 330045, China; 2. Pingxiang Municipal Center of Agricultural Science, Pingxiang, Jiangxi 337099, China; 3. Institute of Rice, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China)

Abstract: [**Objective**] The grain length, grain width, and 1000-grain weight are the important traits determining rice quality and yield. The study of special grain shape materials can provide important genetic resources for the genetic improvement of rice grain shape. [**Method**] In this study, the functional variation sites of nine major genes (*qGL3*, *GS3*, *qLGY3*, *GS9*, *GW2*, *GW5*, *GW8*, *TGW3*, *TGW6*) in the genomes of two rice super-large grain materials lg1 and lg2 were analyzed with the conventional japonica rice variety Nipponbare and indica rice variety Huanghuazhan as reference. [**Result**] The results suggested that compared with Nipponbare, there was a single nucleotide substitution at positions 165 bp and 382 bp in coding regions of *GS3* and *GW2* in lg1 and lg2. The mutations resulted in the premature termination of *GS3* translation and a weakened function of *GW2*. A 10 bp insertion in the 5′ untranslated region of *GW8* were in lg1 and lg2, which weakened its function. Furthermore, a frameshift mutation occurred in the coding region of lg2 due to a 31 bp deletion of *qLGY3*. No significant functional variation was detected in other grain shape genes. In addition to the functional variation sites of *GW2* and *qLGY3* in lg1 and lg2, a 950 bp fragment deletion was detected in the upstream of *GW5* coding region of the two materials. [**Conclusion**] The lg1 genome aggregated the loss-of-function or weakened mutation sites of *GS3*, *GW2*, *GW5*, and *GW8*, and the lg2 genome aggregated the loss-of-function or weakened mutation sites of *GS3*, *GW2*, *GW5*, *GW8*, and *qLGY3*. Our results lay the foundation for the genetic interaction of grain shape related genes and the mechanism analysis of grain shape formation in lg1 and lg2.

Keywords: rice; grain shape; 1 000-grain weight; big grain germplasm; grain shape genes; genetic variation

【研究意义】水稻是世界主要粮食作物之一，为全球近一半的人口提供粮食来源，其产量的提高对于解决粮食安全问题具有重要意义。水稻产量是复杂的数量性状，主要由单株有效穗数、每穗实粒数和粒重三要素决定，其中粒重主要受水稻籽粒的粒形影响[1]。水稻粒形包括粒长、粒宽和粒厚，不仅影响水稻产量的提升，也影响稻米的外观品质和食味品质[2-3]。因此，解析粒形形成的作用机制，对于水稻生产具有重要的实际意义。【前人研究进展】粒形属于典型的多基因控制的数量性状。据国家水稻数据中心(https://www.ricedata.cn)数据显示，迄今为止，已有包括*qGL3*、*GS3*、*qLGY3*、*GS9*、*GW8*、*GW2*、*GW5*、*TGW3*、*TGW6*等在内的主效基因被定位和克隆，并且部分相关的分子调控机制也得到了解析。如粒长相关的主效基因*qGL3*编码含有2个Kelch功能域的蛋白磷酸酶(OsPPKL1)，第2个Kelch功能域上AVLDT区域的D364E稀有等位变异会导致水稻粒长增加[4-6]；*GS3*编码跨膜蛋白，包含OSR、跨膜区、富含半胱氨酸的同源区域和VWFC模块等4个结构域，其中OSR结构域功能的缺失会导致粒长增加，而TNFR/NGFR和VWFC结构域对OSR的功能具有抑制作用，两者功能的缺失突变会使粒长变短[7-9]；*qLGY3*编码含有MADS域的转录因子OsMADS1，作为G蛋白β、γ二聚体下游的关键效应子调节籽粒粒长变化，其第8个外显子5′端与内含子交界处发生突变而产生的可变剪接蛋白OsMADS1^{lgy3}可使粒长变细，从而提高稻谷的品质和产量[10-11]。粒宽主效基因*GS9*编码具有转录激活活性的保守结构域蛋白，通过调控细胞分裂影响粒形变化，其在第2个外显子与第2个内含子之间存在7 kb插入则会造成其功能缺失导致水稻粒长变长，而过表达*GS9*则使籽粒表现为圆粒[12]；*GW8*编码SBP结构域的转录因子，正调控细胞增殖和籽粒灌浆，其5′非翻译区10 bp的插入会降低其表达量而使籽粒变窄[13-14]；*GW2*编码具有E3泛素连接酶活性的RING型蛋白，在泛素-26S蛋白酶体介导的蛋白降解途径中发挥作用，其编码区上第316位上碱基(A)的缺失会导致翻译过程提前终止，结果使籽粒颖壳变宽，并间接地促进灌浆速度，从而使粒宽增加[15-16]；*GW5*编码钙调素结合蛋白，通过与激酶GSK2互作并抑制其激酶活性，从而正调控油菜素内酯信号，进而影响水稻粒宽和粒重[17-18]。全基因关联分析发现*GW5*上游5 kb左右区域发生的950 bp和1 212 bp缺失，

分别是宽粒籼稻和宽粒粳稻粒形形成的重要原因[19]。粒重主效基因*TGW3*编码糖原合成激酶,与生长素应答因子OsARF4互作并将其磷酸化,负调控粒长和粒重[20-21]。*TGW6*编码IAA-葡萄糖水解酶,可将IAA-葡萄糖水解成游离的IAA和葡萄糖,能通过控制IAA供应影响合体到细胞化阶段的转变,限制细胞数目和籽粒长度,从而影响水稻粒重[22-23]。

【本研究切入点及拟解决的关键问题】本研究以2个水稻特大粒品种lg1和lg2作为试验材料,以常规粳稻品种日本晴和籼稻品种黄华占为对照,通过对9个粒形主效基因(*qGL3*、*GS3*、*qLGY3*、*GS9*、*GW2*、*GW5*、*GW8*、*TGW3*、*TGW6*)的序列进行分析,研究2个特大粒材料在这些主效粒形基因中存在的功能变异位点,从而为粒形基因的遗传互作及lg1和lg2粒形形成的机制解析奠定基础。

1　材料与方法

1.1　材料来源

粳稻常规品种日本晴(Nipponbare,NIP)和籼稻常规稻品种黄华占(Huanghuazhan,HHZ)由本实验室保存,大粒材料lg1和lg2是萍乡市农业科学研究所研究人员在田间发现并稳定遗传的水稻材料。

1.2　粒形相关性状考察

在水稻植株成熟后收取NIP、HHZ、lg1和lg2植株主穗上的饱满谷粒,经50 ℃恒温烘箱烘干。随机选取饱满谷粒20颗,使用游标卡尺(精确到0.01mm)测量谷粒的粒长、粒宽和粒厚。挑选200粒饱满谷粒,使用百分之一的电子天平称量,乘以5换算成千粒质量,重复3次。

1.3　粒形基因的基因组片段扩增

利用CTAB法[24]提取水稻幼苗基因组DNA的提取。具体为取水稻幼嫩叶片3~4 cm在液氮中研磨至粉末状,加入适量CTAB提取液并充分混合均匀,于65 ℃恒温水浴锅中充分裂解30 min;室温冷却后,加入600 μL氯仿,之后置于冷冻离心机中以4 ℃ 12 000 r/min离心10 min,吸取上清液,并加入等量的预冷异丙醇,于-20 ℃冰箱中冷冻2 h;4 ℃ 12 000 r/min离心10 min,弃上清液,用体积分数70%乙醇洗涤2~3次,室温风干。加入适量ddH_2O,轻弹震荡溶解。利用Prime Primer 5.0软件设计基因的扩增引物,以新提取的DNA为模板,利用KOD酶(TOYOBO,KFX-101)对*GW5*上游和*GW8* 5′UTR已报道的变异区域进行PCR扩增,扩增体系及步骤参照说明书进行。本试验所用引物序列见表1。

1.4　粒形基因的编码区序列扩增

孕穗期选取NIP、HHZ、lg1和lg2的幼穗,在液氮中研磨至粉末,随后利用RNA提取试剂盒(TaKaRa,9769)提取幼穗RNA,并使用反转录试剂盒(TaKaRa,RR047A)制备cDNA。利用prime primer 5.0软件设计基因编码序列(coding sequence,CDS)片段的扩增引物,以新制备的cDNA为模板,利用KOD酶对*qGL3*、*GS3*、*qLGY3*、*GS9*、*GW2*、*TGW3*和*TGW6*的CDS区域进行PCR扩增,扩增体系及步骤参照说明书进行。所用引物序列见表1。

表1　粒形基因扩增引物

Tab.1　Primers for PCR amplification of grain shape genes

引物名称 Primer name	正向引物(5′→3′) Forward primer (5′→3′)	反向引物(5′→3′) Reverse primer (5′→3′)
qGL3	GCAGCTCCGGATCTCGAGG	AGGTAAACATTTAAAGTGAGCAAGG
GS3	TTATCGGAACTTCGGAGTGACAT	CTCTGCTTGCGGTTATCTGTAATT
qLGY3	ACTCTATCGTCTCGTCTCGTCTCTC	GGAATAATAATTTCGTTTGATGCAC
GS9	ATGTGTTTGTCCTACTAATAATGCG	CTAGCTTAGGTAGCAATCAAACTG
GW8	GTATACCACCACCTCCATCTCCA	CTTCTTCTTGCCTTCATTTGAGTTA
GW2	CTACCTAACCTACTTGCTCCACAC	AGCTATAGCTCTCCATTGTTATTGC
GW5	TTGCACTATGTGACTATTGCTTCTG	TTGGGGACTATGTGGGATAGGA
TGW3	ACAGCGAGAATGTTCAAGACCAT	GATGTGAGTGAGGTTGGAGAAGAAG
TGW6	CAAAGCCTGCAGCTGCAGCG	TGAAGTTACAACTTCGGTCTGCC

1.5　粒形基因测序分析

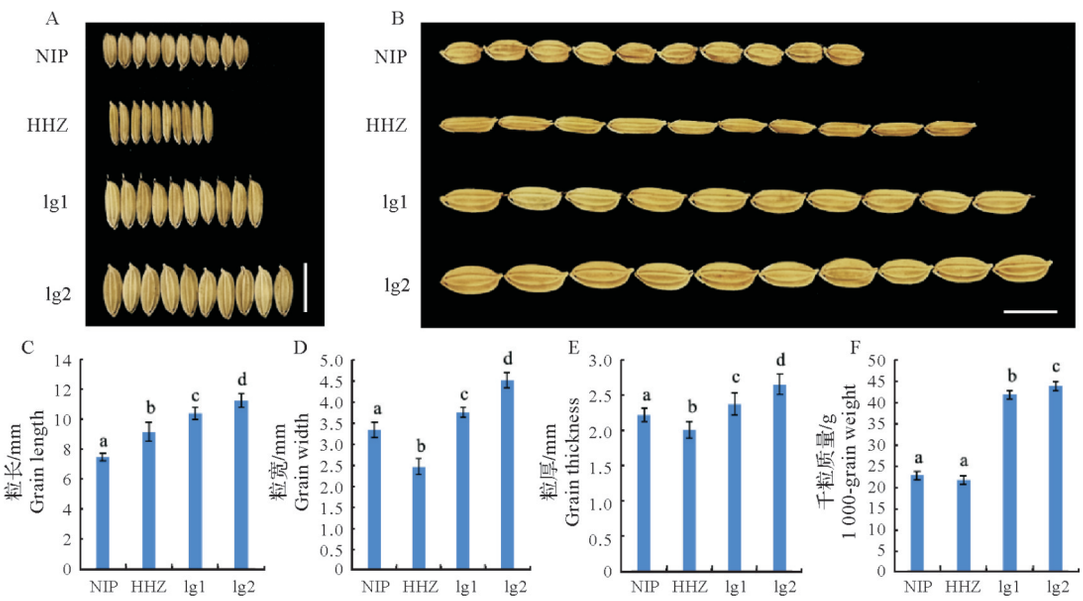
将1.3和1.4中扩增得到的PCR产物经10 g/L琼脂糖凝胶电泳检测后,送由生物公司进行测序,将返

回的测序结果以NCBI网站上(https://www.ncbi.nlm.nih.gov)日本晴各粒形基因的序列为参考,利用Geneious Prime软件进行比对,确定各粒形基因在4个材料中的遗传变异信息。

2 结果与分析

2.1 水稻材料的粒形性状分析

与NIP相比,大粒型品种lg1和lg2籽粒的粒长、粒宽、粒厚和千粒质量均显著增加,增加幅度分别为39%和51%,13%和36%,7%和20%,85%和94%,其中两者千粒质量分别达到了42 g和44 g,表现为特大粒(图1)。与HHZ相比,lg1和lg2的粒长、粒宽、粒厚和千粒质量也显著增加,但粒宽和粒厚增加幅度较大,而粒长增加幅度更小(图1)。



A和B:NIP、HHZ、lg1和lg2的粒形比较;C~F:粒长、粒宽、粒厚和千粒质量的统计分析。柱子上方不同字母表示存在显著差异(P<0.05)。采用ANOVA进行方差分析。

A and B: Comparisons of grain shape traits between NIP, HHZ, lg1 and lg2; C-F: statistical analysis of grain length, grain width, grain thickness and 1000-grian weight. Bars with different letters are significantly different from each other (P<0.05). Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA).

图1 NIP、HHZ、lg1和lg2的粒形性状分析

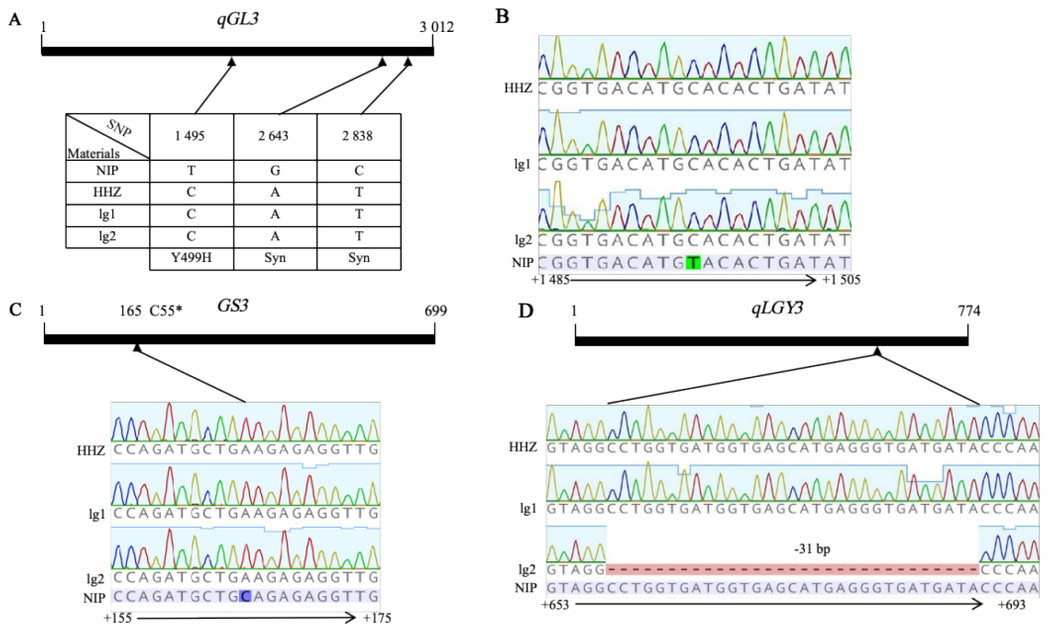
Fig.1 Comparisons of grain shape traits between NIP, HHZ, lg1 and lg2

2.2 粒长主效基因的检测与分析

对HHZ、lg1和lg2基因组中粒长主效基因*qGL3*、*GS3*、*qLGY3*的编码序列进行测序分析。结果表明,与NIP相比,HHZ、lg1和lg2的*qGL3*编码序列(coding sequence,CDS)在1 495位点上发生碱基由T→C的点突变(图2A和图B),导致其编码的第499位氨基酸由酪氨酸变为组氨酸,但该位点的突变对水稻粒形的变化影响不显著[4];在HHZ、lg1和lg2基因组中,*GS3*的CDS序列在第165位点处发生了碱基替换,该位点碱基由C→A导致其原本编码半胱氨酸的密码子变成终止密码子TGA,致使该基因翻译过程提前终止(图2C),与研究[8]报道的功能缺失型*gs3*突变方式一致;*qLGY3*测序分析结果发现,lg2中其CDS序列在第658位点处发生31 bp的碱基缺失(图2D),而HHZ和lg1在该位点处没有发生突变,该突变与之前研究[10]的报道一致。

2.3 粒宽主效基因的检测与分析

粒宽主效基因*GW2*、*GW8*、*GS9*和*GW5*测序分析结果表明,与NIP相比,HHZ、lg1和lg2基因组中*GW2*的CDS序列均在第382位碱基处发生一个单碱基替换(G→A)发生错义突变,致使该位点所参与编码的第128位氨基酸由谷氨酸(E)变为赖氨酸(K)(图3A,图B),与研究[25]中报道的*gw2*的等位基因*gw2.1*的错义突变方式一致。在HHZ、lg1和lg2中*GW8*编码区的第320位碱基位存在多碱基缺失(CGG),导致其参与编码的第170位氨基酸丙氨酸(A)缺失,在5′UTR区的-31 bp处存在10个碱基的插入(图3C,图3D),该插入会导致其表达量下降,水稻籽粒变窄[13];另外,还存在多个SNP变异,这些位点与之前研究[13]的报道一致。



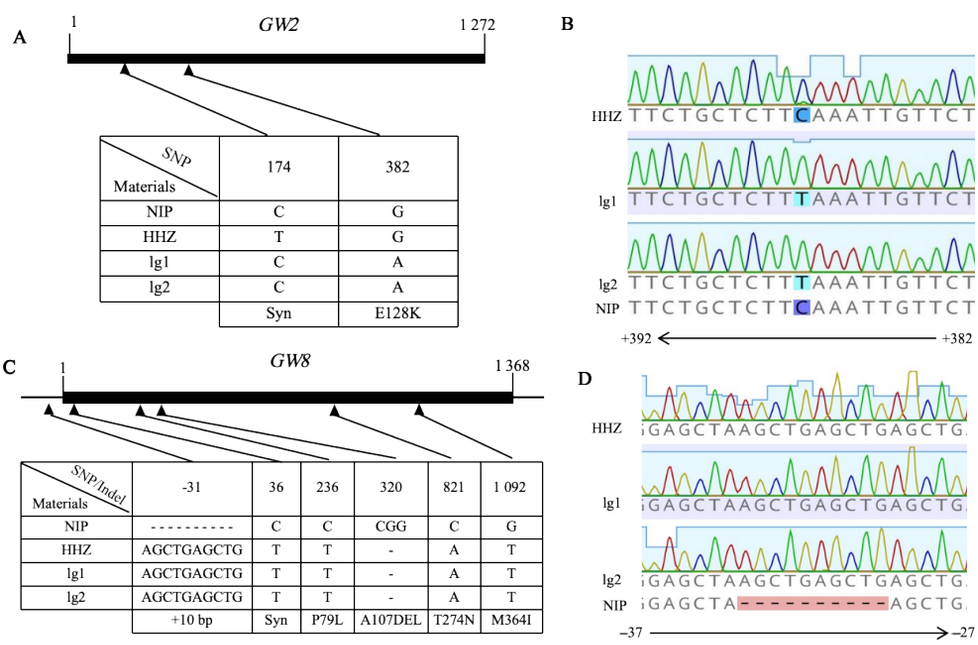
SNP / Materials	1 495	2 643	2 838
NIP	T	G	C
HHZ	C	A	T
lg1	C	A	T
lg2	C	A	T
	Y499H	Syn	Syn

A:*qGL3*编码区域的变异示意;B~D:*qGL3*第1 495位、*GS3*第165位、*qLGY3*第658位的测序结果。

A:Sketch map of variations in coding region of *qGL3*;B-D:Sequence results of 1 495th, 165th, and 658th in coding region of *qGL3*, and *GS3* and *qLGY3*.

图2　粒长基因*qGL3*、*GS3*和*qLGY3*的检测结果

Fig.2　Detection results of grain length genes *qGL3*, *GS3*, and *qLGY3*



SNP/Indel / Materials	174	382
NIP	C	G
HHZ	T	G
lg1	C	A
lg2	C	A
	Syn	E128K

SNP/Indel / Materials	-31	36	236	320	821	1 092
NIP	----------	C	C	CGG	C	G
HHZ	AGCTGAGCTG	T	T	-	A	T
lg1	AGCTGAGCTG	T	T	-	A	T
lg2	AGCTGAGCTG	T	T	-	A	T
	+10 bp	Syn	P79L	A107DEL	T274N	M364I

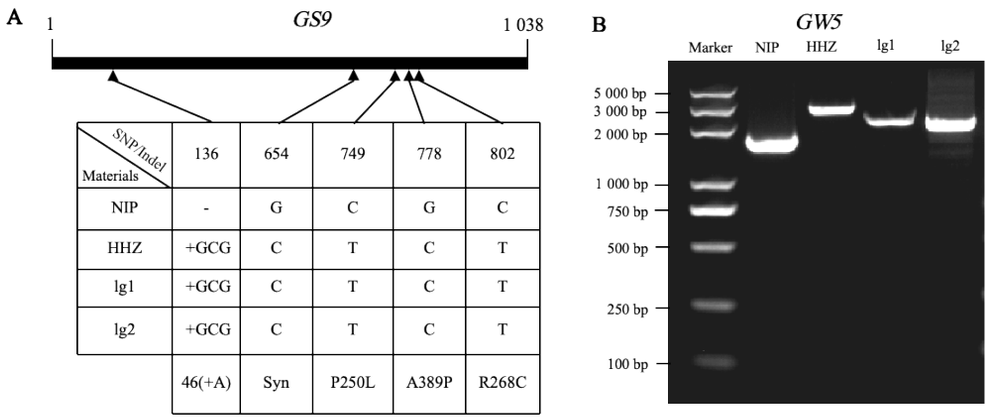
A:*GW2* CDS序列的变异示意;B:*GW2*第382位测序结果;C:*GW8*的变异示意;D:*GS8* 5′非翻译区-31位测序结果。

A:Sketch map of variations in coding region of *GW2*;B:Sequence results of 382th in coding region of *GW2*;C:Sketch map of variations in *GW8*;D:Sequence results of -31th in 5′UTR of *GW8*.

图3　粒宽基因*GW2*和*GW8*的检测结果

Fig.3　Detection results of grain length genes *GW2* and *GW8*

*GS9*均在第136位碱基处(第1个外显子)存在3 bp碱基的插入,同时在其他位置上存在多个非同义的SNP位点(图4A),均与之前的报道的位点一致但这些变异并不导致水稻粒形的改变,因此不是*GS9*的功能变异位点[12]。前人研究[19]表明,*GW5*上游5 kb左右区域发生的950 bp和1 212 bp缺失,是宽粒籼稻和宽粒粳稻粒形形成的关键因素。为检测在HHZ、lg1和lg2是否存在这2种变异,设计引物对该区域进行扩增并对PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳进行扩增,结果发现与存在1 212 bp缺失的NIP基因组相比,HHZ在该区域内没有发生缺失,而lg1和lg2存在950 bp的变异(图4B)。



SNP/Indel / Materials	136	654	749	778	802
NIP	-	G	C	G	C
HHZ	+GCG	C	T	C	T
lg1	+GCG	C	T	C	T
lg2	+GCG	C	T	C	T
	46(+A)	Syn	P250L	A389P	R268C

A:*GS9* CDS序列的变异示意;B:*GW5*琼脂糖凝胶电泳检测结果。

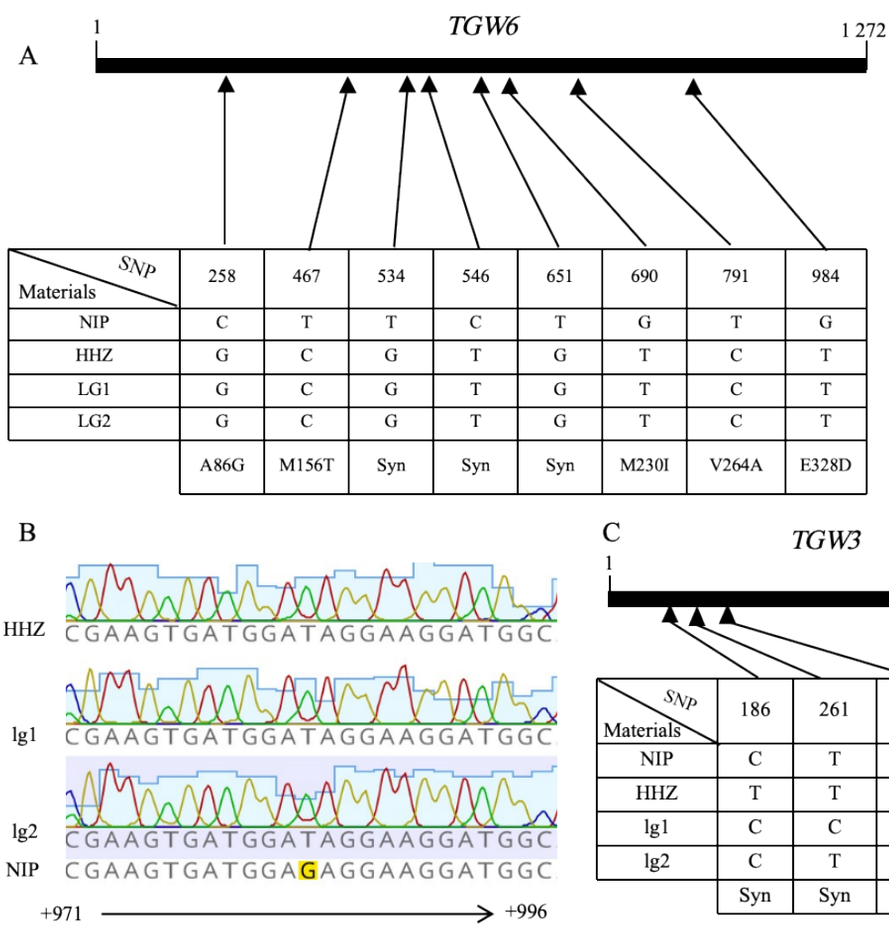
A:Sketch map of variations in coding region of *GS9*;B:Agarose gel test of *GW5*.

图4 粒宽基因*GS9*和*GW5*的检测结果

Fig.4 Detection results of grain length genes *GS9* and *GW5*

2.4 千粒质量主效基因的检测与分析

与NIP序列相比,千粒质量主效基因*TGW6*在HHZ、lg1和lg2存在8个SNP的变异,3个为同义突变,5个为非同义突变,其中4个为之前报道过的变异,而第984位碱基的变异为首次发现[16](图5A,图5B)。此外,*TGW3*编码区上中也发现多个SNP变异位点(图5C),但均为同义突变。



SNP / Materials	258	467	534	546	651	690	791	984
NIP	C	T	T	C	T	G	T	G
HHZ	G	C	G	T	G	T	C	T
LG1	G	C	G	T	G	T	C	T
LG2	G	C	G	T	G	T	C	T
	A86G	M156T	Syn	Syn	Syn	M230I	V264A	E328D

SNP / Materials	186	261	342	1 062
NIP	C	T	T	A
HHZ	T	T	A	G
lg1	C	C	A	G
lg2	C	T	A	A
	Syn	Syn	Syn	Syn

A:*TGW6* CDS序列的变异示意;B:*TGW6*第984位测序结果;C:*TGW3* CDS序列的变异示意。

A:Sketch map of variations in coding region of *TGW6*;B:Sequence results of 984th in coding region of *TGW6*;C:Sketch map of variations in *TGW3*.

图5 千粒质量基因*TGW6*和*TGW3*的检测结果

Fig.5 Detection results of grain length genes *TGW6* and *TGW3*

2.5　粒形基因的基因型分析

以正常功能的基因型为参考,结合文献报道,以基因功能是否发生缺失或减弱为依据,对NIP、HHZ、lg1、lg2材料中各基因的基因型进行比较分析(基因功能正常名称大写,基因功能减弱名称小写)。结果表明,*GS3*的功能在HHZ,lg1和lg2均发生了变化;此外,在lg1中,*GW2*和*GW5*的功能也发生了变化,而在lg2中,*qLGY3*、*GW2*和*GW5*的功能均发生了变化(表2)。其中千粒质量基因*TGW6*存在的5个非同义突变是否引起功能的改变目前还不清楚,因此无法对其基因型进行准确定义。

表2　NIP、HHZ、lg1和lg2相关粒形基因的基因型

Tab.2　Genotype of grain shape related genes in NIP, HHZ, lg1 and lg2

材料 Materials	基因 Genes							
NIP	*qGL3*	*GS3*	*qLGY3*	*GS9*	*GW8*	*GW2*	*gw5*^{a}	*TGW3*
HHZ	*qGL3*	*gs3*	*qLGY3*	*GS9*	*gw8*	*GW2*	*GW5*	*TGW3*
lg1	*qGL3*	*gs3*	*qLGY3*	*GS9*	*gw8*	*gw2*	*gw5*^{b}	*TGW3*
lg2	*qGL3*	*gs3*	*qlgy3*	*GS9*	*gw8*	*gw2*	*gw5*^{b}	*TGW3*

基因名称大写表示功能正常,小写表示基因功能缺失或减弱;*gw5*^{a}和*gw5*^{b}分别表示缺失1212 bp和950 bp的基因型。

Gene names in uppercase indicate normal function, while gene names in lowercase indicate missing or weakened function; *gw5*^{a} and *gw5*^{b} indicate the gene type with 1 212 bp deletion and 950 bp deletion, respectively.

3　讨　论

在之前的研究中,笔者[26-27]利用lg1与扬稻6号(9311)构建的F_2遗传分离群体进行粒形相关的QTL定位,发现在*GS3*、*GW2*、*GW5*附近区域均在不同条件下检测到粒形相关的QTL。另外,最近研究发现,在*gw2.1*编码序列上的一个单核苷酸替换导致GW2.1蛋白中谷氨酸变为赖氨酸(E128 K),该突变会使GW2功能减弱,从而水稻籽粒变宽[25]。在本研究中,笔者也在lg1中发现了*GW2*同样的变异位点,同时还检测到了*GS3*功能缺失和*GW5*、*GW8*功能减弱的变异,而检测的其他主效粒形基因没有发生功能改变的变异。因此,这4个基因的功能缺失或减弱很可能是lg1特大粒粒形形成的关键原因。Gao等[28]通过创制*qLGY3*和*GS3*的单突变体和双突变体,发现两者在遗传上调控粒长具有累加效应。本研究中,特大粒材料lg2基因组中同时发生了*GS3*和*qLGY3*功能缺失的变异,而在*GW2*、*GW5*和*GW8*中存在与lg1相同的变异,因此*qLGY3*和*GS3*的累加效应可能是lg2粒长增加的关键因素,而*GW2*、*GW5*和*GW8*的变异可能是lg2粒宽增加的原因之一。另外,在lg1、lg2的基因组中也发现*qGL3*在1 495位点上的突变也导致氨基酸的改变,但该突变对粒长变化的没有显著贡献[4];同样*GS9*和*GW8*编码区上的多个发生突变的SNP位点对粒形调控也无显著影响[12-13]。

与黄华占相比,lg1的粒长和粒宽显著增加,两者基因组中*GS3*均在第165位点发生碱基替换。Fan等[7]发现该碱基替换会导致其翻译提前终止而使籽粒变长,同时其他粒长主效基因并未发生影响粒长改变的变异,因此lg1粒长相较于黄华占的变化可能由其他未检测的粒长主效基因变异所影响,而粒宽主效基因*GW2*发生的错义突变和*GW5*上游发生的950 bp缺失可能是lg1粒宽变大的关键原因;同样,lg2的粒长和粒宽相较于黄华占也有所增加,而在lg2的基因组中,除*GS3*发生的变异会影响粒长的变化,粒长主效基因*qLGY3*在第638位点上发生的31 bp碱基删除而造成移码突变也可能是粒长变化的原因之一。因此,与黄华占相比,lg2粒长的变化可能由*qLGY3*的变异影响,粒宽的变化与*GW2*和*GW5*功能减弱有关。此外,lg2的粒长和粒宽均显著大于lg1,而*GS3*、*GW2*、*GW5*、*GW8*在两者基因组中均有相同的变异,但*qLGY3*编码区上的移码突变只存在于lg2中,推测该变异可能是lg2的粒形相较于lg1进一步增大的重要原因。

主效粒形基因的有益突变对水稻粒形改良有重要意义[29]。如水稻品种Basmati385包含了*GS3*和*GW8*的功能缺失突变(*gs3*和*gw8*),将这2种变异导入基于宽粒形品种HJX74背景构建的近等基因系(NIL-*GS3*/*GW8*)中,后代NIL-*gs3*/*gw8*表现出与Basmati385类似的长粒形表型[13];染色体片段置换系N138包含*GS9*无功能等位基因*gs9*,将该等位基因导入品种2661、WYJ27和WYJ8中均可显著增加粒长,

同时改善这些品种垩白度[12]；重组自交系RIL186携带具有功能的基因*qLGY3*，将该基因导入WYJ7-dep1-1中可显著增加它的粒长，同时改良稻米品质；以籼稻品种RD23为背景构建包含*GS3*和*qLGY3*功能的近等基因系（RD23-*LGY3*-*gs3*），后代RD23-*LGY3*-*gs3*和RD23-*lgy3*-*gs3* 2个品种之间植株形态没有较大差异，但是粒长和千粒质量显著增加，除此之外稻米品质也得到了改良[10]。在本研究中，大粒形材料lg1和lg2聚集了多个粒形主效基因（*GW2*、*GW5*、*GW8*、*qLGY3*、*GS3*）的功能变异位点，在未来可以对这些检测到的变异位点开发相关分子标记，将多个粒形基因的有益变异通过lg1或lg2一同导入单个品种中，从而极大地提高水稻品种粒形改良的效率；此外，lg1和lg2也可作为合适的背景材料，研究这些粒形主效基因的互作机制。比如，在遗传互作上，可借助分子标记进行杂交选育，在同一背景下，确定不同基因组合对粒形变异的表型效应，从而确定各基因之间的遗传互作关系；在生化机制解析方面，下一步可通过酵母双杂交、双分子荧光互补成像等技术，对各粒形主效基因之间的互作关系进行探索，在此基础上，进一步研究它们之间的互作机制。

4 结 论

在特大粒材料lg1和lg2基因组中，*GS3*在编码区第165 bp位点发生了单碱基替换而导致其翻译提前终止，*GW2*在第382位点处存在碱基替换导致的错义突变，*GW8*在5′UTR区的-31 bp处存在10个碱基的插入，以及*GW5*上游发生了950 bp片段缺失，同时lg2中*qLGY3*编码区存在31 bp的缺失，这些变异均为粒形基因的功能变异位点。此外，在2个特大粒材料中*qGL3*、*GS9*和*TGW3*均在不同位点发生了变异但并没有引起基因功能的改变，故不是功能变异位点，而*TGW6*编码区上的非同义突变是否会导致其功能发生改变还需要进一步的遗传验证。

参考文献 References：

[1] REN D, DING C, QIAN Q. Molecular bases of rice grain size and quality for optimized productivity[J]. Science bulletin, 2023, 68(3): 314-350.

[2] 张卫星，马晨怡，袁玉伟，等. 我国水稻三大优势产区稻米品质现状及区域差异[J]. 中国稻米，2021，27(5)：12-18.
ZHANG W X, MA C Y, YUAN Y W, et al. Current situation and regional difference of rice grain quality in three rice-production superiority areas of China[J]. China rice, 2021, 27(5): 12-18.

[3] 杨莹莹，李若思，王一平，等. 非洲栽培稻基因渗入系粒形和剑叶形态性状的QTL定位[J]. 核农学报，2022，36(3)：509-516.
YANG Y Y, LI R S, WANG Y P, et al. QTL mapping of grain shape and flag leaf morphology traits of an african cultivated rice (*Oryza glaberrima*) introgression line[J]. Journal of nuclear agricultural sciences, 2022, 36(3): 509-516.

[4] ZHANG X, WANG J, HUANG J, et al. Rare allele of *OsPPKL1* associated with grain length causes extra-large grain and a significant yield increase in rice[J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2012, 109(52): 21534-21539.

[5] XIA D, ZHOU H, LIU R, et al. *GL3.3*, a novel QTL encoding a GSK3/SHAGGY-like kinase, epistatically interacts with *GS3* to produce extra-long grains in rice[J]. Molecular plant, 2018, 11(5): 754-756.

[6] LIU D, ZHAO H, XIAO Y, et al. A cryptic inhibitor of cytokinin phosphorelay controls rice grain size[J]. Molecular plant, 2022, 15(2): 293-307.

[7] FAN C, XING Y, MAO H, et al. *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein[J]. Theoretical and applied genetics, 2006, 112(6): 1164-1171.

[8] TAKANO-KAI N, JIANG H, KUBO T, et al. Evolutionary history of *GS3*, a gene conferring grain length in rice[J]. Genetics, 2009, 182(4): 1323-1334.

[9] SUN S, WANG L, MAO H, et al. A G-protein pathway determines grain size in rice[J]. Nature communications, 2018, 9(1): 851.

[10] LIU Q, HAN R, WU K, et al. G-protein βγ subunits determine grain size through interaction with MADS-domain transcription factors in rice[J]. Nature communications, 2018, 9(1): 852.

[11] 龚柯，薛炮，温小霞，等. 水稻特大粒种质BG1和优质恢复系华占的粒形基因研究及相关功能标记开发[J]. 中国水稻

科学,2021,35(6):543-553.
GONG K,XUE P,WEN X X,et al.Distribution of grain shape related genes in rice big grain germplasm BG1 and elite restorer line Huazhan and development of relevant functional markers[J].Chinese journal of rice science,2021,35(6):543-553.

[12] ZHAO D S,LI Q F,ZHANG C Q,et al.*GS9* acts as a transcriptional activator to regulate rice grain shape and appearance quality[J].Nature communications,2018,9(1):1240.

[13] WANG S,WU K,YUAN Q,et al.Control of grain size,shape and quality by *OsSPL16* in rice[J].Nature genetics,2012,44(8):950-954.

[14] ZHU X,GOU Y,HENG Y,et al.Targeted manipulation of grain shape genes effectively improves outcrossing rate and hybrid seed production in rice[J].Plant biotechnology journal,2023,21(2):381-390.

[15] SONG X J,HUANG W,SHI M,et al.A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase[J].Nature genetics,2007,39(5):623-630

[16] HAO J,WANG D,WU Y,et al.The GW2-WG1-OsbZIP47 pathway controls grain size and weight in rice[J].Molecular plant,2021,14(8):1266-1280.

[17] WENG J,GU S,WAN X,et al.Isolation and initial characterization of *GW5*,a major QTL associated with rice grain width and weight[J].Cell research,2008,18(12):1199-1209.

[18] LIU J F,CHEN J,ZHENG X M,et al.*GW5* acts in the brassinosteroid signalling pathway to regulate grain width and weight in rice[J].Nature plants,2017,3:17043.

[19] DUAN P,XU J,ZENG D,et al.Natural variation in the promoter of *GSE5* contributes to grain size diversity in rice[J].Molecular plant,2017,10(5):685-694.

[20] HU Z,LU S J,WANG M J,et al.A novel QTL *qTGW3* encodes the GSK3/SHAGGY-Like Kinase OsGSK5/OsSK41 that interacts with OsARF4 to negatively regulate grain size and weight in rice[J].Molecular plant,2018,11(5):736-749.

[21] YING J,MA M,BAI C,et al.*TGW3*,a major QTL that negatively modulates grain length and weight in rice[J].Molecular plant,2018,11(5):750-753.

[22] ISHIMARU K,HIROTSU N,MADOKA Y,et al.Loss of function of the IAA-glucose hydrolase gene *TGW6* enhances rice grain weight and increases yield[J].Nature genetics,2013 45(6):707-711.

[23] ZHANG X F,YANG C Y,LIN H X,et al.Rice *SPL12* coevolved with *GW5* to determine grain shape[J].Science bulletin,2021,66(23):2353-2357.

[24] WANG H,ZHAO X,TAN L,et al.Crop DNA extraction with lab-made magnetic nanoparticles[J].PLoS one,2024,19(1):e0296847.

[25] HUANG J,CHEN Z,LIN J,et al.*GW2.1*,a new allele of *GW2*,improves grain weight and grain yield in rice[J].Plant science,2022,325:111495.

[26] 汪欲鹏,欧阳鸿飞,王智权,等.水稻大粒型材料 lg1 的生理特性与遗传分析[J].江西农业大学学报,2016,38(2):223-231.
WANG Y P,OUYANG H F,WANG Z Q,et al.Physiological characteristics and genetic analysis of large grain rice material lg1[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2016,38(2):223-231

[27] 汪欲鹏,王根发,武志峰,等.大粒型水稻材料粒形性状的QTL定位[J].核农学报,2016,30(12):2295-2303.
WANG Y P,WANG G F,WU Z F,et al.Identification of QTLs for rice grain shape traits for a large grain material[J].Journal of nuclear agricultural sciences,2016,30(12):2295-2303.

[28] GAO X,ZHANG X,LAN H,et al.The additive effects of *GS3* and *qGL3* on rice grain length regulation revealed by genetic and transcriptome comparisons[J].BMC plant biology,2015,15(1):156.

[29] CHEN K,LYSKOWSKI A,JAREMKO L,et al.Genetic and molecular factors determining grain weight in rice[J].Frontier in plant science,2021,12:605799.