

离子束诱变体水稻 *JD-1* 的 表型及基因组变异分析

敬银钦^{1,2}, 高方远², 刘利平², 苏相文², 任明鑫², 陆贤军²,
吕建群², 金文杰³, 胡运高¹, 任野胜², 任光俊²

(¹ 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621000; ² 四川省农业科学院作物研究所, 成都 610000;

³ 中国科学院近代物理研究所, 兰州 730000)

摘要: 辐射诱变是作物种质创新的有效途径之一。本研究利用碳离子束诱变津稻 565, 获得穗下垂及穗部其他性状发生变异的突变体, 命名为 *JD-1*。对突变体及野生型的主要农艺性状进行调研, 结果表明 *JD-1* 的主穗颈穗弯曲度、着粒数和着粒密度都较津稻 565 极显著增加, 增幅分别为 305.90%、66.86% 和 47.79%; 其主穗穗长、实粒数和二次枝梗数显著性增加, 增幅分别为 12.11%、63.06% 和 74.19%, 而千粒重显著降低 11.54%。基因组序列比对表明, 在突变体 *JD-1* 和野生型津稻 565 之间有 18639 个单核苷酸多态性位点 (SNP, single nucleotide polymorphism), 转换/颠换比值为 2.34; 有 3428 个小片段插入缺失 (InDel, insertion-deletion)。这些突变表现为成簇分布, 主要发生在第 5 和第 11 染色体上, 占比分别为 25.19% 和 22.98%。在基因结构变异中, 基因间区的变异数占比较高, 为 45.22%; 剪切位点的变异数占比较低, 为 0.08%。变异基因 GO 注释表明, 参与细胞生理过程的变异基因数较多。变异基因中与株高、千粒重、穗长、二次枝梗数相关的已克隆基因有 16 个; 根据变异位点设计了 16 个已克隆基因的分子标记, 有 12 个 SNP 标记和 9 个 InDel 标记在 9 个基因上鉴定出多态性。该研究创制出新的水稻种质资源并发掘出与产量性状相关基因的等位变异。

关键词: 水稻; 碳离子束; 全基因组重测序; 等位变异; 分子标记

Phenotype and Genome Variation Analysis of Ion-beam Induced Mutant Rice *JD-1*

JING Yin-qin^{1,2}, GAO Fang-yuan², LIU Li-ping², SU Xiang-wen², REN Ming-xin², LU Xian-jun²,
LYU Jian-qun², JIN Wen-jie³, HU Yun-gao¹, REN Juan-sheng², REN Guang-jun²

(¹ School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Sichuan Mianyang 621000;

² Crop Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Science, Chengdu 610000;

³ Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

Abstract: Mutation induced by irradiation is one of the efficient ways to innovate crop germplasm resources. In this study, a drooping-panicled mutant rice with other variations in the panicle, named *JD-1*, was derived from Jindao 565 by carbon ion beam irradiation. Compared with the agronomic traits of the wild type Jindao 565, *JD-1* had a highly significant ($P < 0.01$) increase in neck-panicle curvature, number and density

收稿日期: 2021-02-19 修回日期: 2021-03-22 网络出版日期: 2021-05-13

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210219001>

第一作者研究方向为水稻分子遗传育种, E-mail: jingyq123@sina.com

通信作者: 任野胜, 研究方向为生物信息学与分子育种, E-mail: rjsheng@163.com

任光俊, 研究方向为水稻分子遗传育种, E-mail: guangjun61@sina.com

基金项目: 国家重点研发计划“七大农作物育种”重点专项 (2017YFD0100200); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-01-08); 四川省水稻育种攻关 (2016NYZ0028-3); 四川省创新能力提升工程项目 (2016ZYPZ-011)

Foundation projects: National Key R&D Plan of “Seven Major Crop Breeding” Key Project (2017YFD0100200), Earmarked Fund for Modern Agro-industry Technology Research System (CARS-01-08), Research on Rice Breeding in Sichuan Province (2016NYZ0028-3), Sichuan Province Innovation Ability Improvement Project (2016ZYPZ-011)

of main panicle grains by 305.90%, 66.86% and 47.79%, respectively. In addition, panicle length, number of main panicle filled grains and number of main panicle secondary branches increased significantly ($P < 0.05$) by 12.11%, 63.06% and 74.19%, respectively, but the 1000-grain weight significantly decreased by 11.54%. The whole genome sequence alignment revealed the existence of 18639 single nucleotide polymorphisms (SNPs) with a conversion/transversion ratio of 2.34, and of 3428 insertion-deletions (InDels), between Jindao 565 and *JD-1*, which were distributed in clusters and mainly located on chromosomes 5 and 11, accounting for 25.19% and 22.98%, respectively. Through the structural analysis of mutated genes, the mutations occurred in intergenetic regions had the maximum proportion of 45.22%, while those detected in splicing hold the minimum proportion of 0.08%. GO functional analysis of the mutated genes revealed that most of them were involved in cell physiological process. The sixteen genes related to plant height, 1000-grain weight, panicle length and secondary branches were identified from the cloned genes which were mutated in *JD-1*. The molecular markers for these genes were further designed based on the mutation sites, and the twelve SNP markers and the nine InDel markers were proved to be polymorphic in nine genes between Jindao 565 and *JD-1*. This study created a new rice germplasm and explored the allelic variation related to yield trait in rice.

Key words: rice; carbon ion beam; whole-genome resequencing; allelic variation; molecular marker

创制新的优异种质资源是提升作物育种水平的遗传基础^[1-2],通过太空船搭载、离子束辐射诱变等方法获得作物新种质的重要方式之一。它们具有突变率高、突变范围广等特点,在较短时间内能获得大量不同类型的突变材料^[3]。此外通过诱变技术育成的品种有 3346 个,其中水稻有 860 个 (<http://mvd.iaea.org>)。20 世纪 80 年代在我国南方稻区大面积推广的原丰早^[4]和浙辐 802^[5]是由 γ 射线诱变而来,1997 年安徽审定的中粳新品种皖稻 42 是由离子束诱变台梗 67 选育而成^[6]。

随着基因组测序技术和生物信息学的飞速发展,对突变体变异机理的研究起到了极大的促进作用。全基因组重测序在植物诱变育种领域应用最为广泛^[7],极大地降低某些未知功能的重要基因序列的鉴定障碍,使诱变基因资源得到充分的挖掘和利用。利用重测序方法对航天诱变的烟草突变体进行测序分析,得到 271655 个 SNP 和 23450 个 InDel,共造成 10534 个基因发生变异,其中调控开花时间的 *MADS-box* 基因和调控侧生器官发育与叶缘形状的 *KNOX1* 基因发生变异,从而造成表型发生改变^[8]。对谷子晋汾 52 及其突变体进行重测序,发现在第 8 染色体上的 SNP/InDel 变异数最多,推测其与野生型之间的抗感差异可能是由 NBS 类型基因发生变异造成的,为进一步分析基因关键差异位点,克隆和验证抗病基因的功能提供理论依据^[9]。Li 等^[10]对水稻易落粒品种 Moretsu 和 γ 射线辐射得到的难落粒突变体品种 Minamiyutaka 进行重测

序,并通过基因编辑验证,发现落粒性的改变是由控制落粒性的基因 *OsSH1* 在第 2 内含子发生 13 bp 缺失导致的。

本研究试图通过对碳离子束辐射诱变选育出穗下垂及穗部其他性状发生变异的突变体 *JD-1* 的表型和基因组研究,分析其基因组变异,发掘与产量性状相关基因的等位变异,并开发相关的分子标记,为水稻遗传改良提供新的种质资源和育种策略。

1 材料与方法

1.1 突变体材料来源

津稻 565 是天津市农业科学院水稻研究所培育的粳稻品种。该品种在成都平原种植,表现为后期转色好、生育期适宜。但由于其为直立穗型,穗基部籽粒在雨水较多或田间湿度较大的情况下易发生霉变。为了创制适于成都平原种植的粳稻种质,四川省农业科学院作物研究所 2015 年利用中国科学院近代物理研究所兰州重离子研究装置 (HIRFL, Heavy Ion Research Facility in Lanzhou) 提供的碳离子束 ($^{12}\text{C}^{6+}$),按照束流能量 80 MeV/u、辐照剂量率 60 Gy/min、累积辐照剂量 80 Gy,对直立穗品种津稻 565 稻谷进行辐射诱变。当年 4 月在成都大田种植 M_0 ,并混收。2016 年 M_1 种植 10000 株,在其中发现 1 株穗下垂及穗部其他性状发生变异的突变体,命名为 *JD-1*。经多代自交,*JD-1* 性状稳定。

1.2 主要农艺性状调查

2018 年,在四川省农业科学院新都基地,种植突变体 *JD-1* 和野生型津稻 565, 5 行区, 3 次重复。在成熟期,选第三行中间 5 株进行农艺性状调查,包括株高、主穗颈穗弯曲度、主穗穗长、主穗着粒数、主穗实粒数、主穗一次枝梗数、主穗二次枝梗数、千粒重、粒长、粒宽、粒厚、主茎倒一叶长、主茎倒一叶宽。根据主穗着粒数和主穗实粒数计算结实率;根据主穗穗长和主穗着粒数计算着粒密度。颈穗弯曲度的测量方法参照徐正进等^[11]的方法。利用 SPSS 计算表型性状的平均值和标准差,并分析突变体 *JD-1* 较津稻 565 的变异幅度。

1.3 重测序及数据分析

在分蘖盛期,取野生型津稻 565 和突变体 *JD-1* 叶片,CTAB 法提取基因组 DNA,经 DNA 质量检测合格后,送往广州基迪奥生物科技有限公司进行基因组重测序,基因组测序在 Illumina HiSeq™ 2500 测序仪上完成。以日本晴基因组 MSU7.0 为参考,利用软件 BWA (0.7.15),采用 mem 算法将过滤后的津稻 565 和突变体 *JD-1* 的 reads 分别比对到参考基因组上,用 bedtools (v2.25.0) 软件分别进行测序深度统计。采用 GATK (3.4-46) 软件分别进行基因组变异位点的检测;利用 bcftools 中的 merge 命令合并变异位点 VCF 文件,用 ANNOVAR 软件进行 SNP/InDel 变异位点功能注释;利用 agriGOv2 (<http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/index.php>) 网站进行变异基因 GO 分析,筛选出 $P \leq 0.05$ 的变异基因明显富集的 GO 条目;统计了每 200 kb 的 SNP/InDel 变异位点数目,并从 funRiceGenes (<https://funricegenes.github.io/>) 网站获取已克隆的水稻功能基因,检测了突变体 *JD-1* 基因组尺度上已克隆基因变异情况,并利用 RIdeogram^[12]对 SNP/InDel 的密度分布和已克隆产量性状相关基因进行可视化作图。

1.4 引物设计

根据检测到的已克隆产量性状相关基因的 SNP/InDel 变异位点,从 Rice Genome Annotation Project (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) 下载基因序列,根据重测序突变位点利用 Primer Premier6 软件和 RiceVarMap2 (<http://ricevarmap.ncpgr.cn/v2/>) 进行引物的设计,并进行了 PCR 扩增验证(表 1)。将得到验证的已克隆产量性状相关基因,利用 Illustrator for Biological Sequences (<http://ibs.biocuckoo.org/>) 绘制基因结构图。

2 结果与分析

2.1 突变体 *JD-1* 和野生型的主要农艺性状比较

对供试材料进行了农艺性状调查,结果表明突变体 *JD-1* 与野生型津稻 565 相比,*JD-1* 的主穗颈穗弯曲度、主穗着粒数和主穗着粒密度较野生型津稻 565 极显著增加,增幅分别为 305.90%、66.86% 和 47.79%;穗长增加 12.11%,主穗实粒数增加 63.06%,二次枝梗数增加 74.19%,差异达显著水平;而千粒重比野生型显著降低 11.54%。*JD-1* 的株高、一次枝梗数与津稻 565 相比略有增加,主穗结实率、粒长、粒宽、粒厚较津稻 565 略有下降,倒一叶长、倒一叶宽略有减小,但均没有达到显著差异(图 1、表 2)。

2.2 全基因组重测序

重测序结果分析表明,津稻 565 和 *JD-1* 的过滤后读长数分别为 105844306 和 89622224(表 3),过滤后高质量碱基数分别为 15756586812 bp 和 13285184651 bp,测序碱基质量值大于 Q30 的碱基数占过滤后高质量碱基数的 91% 以上。津稻 565 和 *JD-1* 基因组 GC 含量分别为 43.76% 和 44.88%,津稻 565 中重测序产生的 reads 数有 92.27% 比对到日本晴参考基因组上,覆盖率为 89.36%,测序深度为 42 ×; *JD-1* 中有 90.92% 比对到日本晴参考基因组上,覆盖率为 78.36%,测序深度为 35 ×。

2.3 突变体 *JD-1* 基因组变异位点注释

比较突变体 *JD-1* 和野生型津稻 565 的基因组序列,在 *JD-1* 中发现 18639 个 SNP 变异位点和 3428 个 InDel 变异位点,SNP 变异位点的转换/颠换比值为 2.34。不同染色体上的变异位点数统计表明,在第 5 染色体发生的变异位点数最多,占总变异位点数的 25.19%;第 11 染色体次之,占比 22.98%;变异位点明显成簇分布,集中在第 2 染色体的 3.20~3.40 Mb、第 5 染色体的 13.60~20.00 Mb 和第 11 染色体的短臂端 4.80~9.00 Mb 及其长臂端 20.60~24.00 Mb,变异密度最高达 419 位点/200 kb(图 2A、图 3)。基因结构变异类型分析结果表明,在基因间隙区域的变异位点数的比重较高,为 45.22%,在剪切位点的变异位点数占比较低,为 0.08%。在外显子上的变异位点数占 9.50%,其中在第 6 染色体上的外显子变异较多,其次是第 9 染色体;在内含子上的变异位点数占 13.08%,其中在第 2 染色体上的内含子变异较多,其次是第 11 染色体

表 1 目标基因突变位点的 PCR 引物
Table 1 PCR primers designed according to mutational sites of the target genes

标记 Marker	前引物 1 Forward primer 1	前引物 2 Forward primer 2	后引物 Reverse primer	目标基因 Target gene	退火温度 (°C) Annealing temperature	片段长度 (bp) Length	类型 Type
OsGA3ox2-1	CGTTTCAGGTTATAAGACATC	CGTTTCAGGTTATAAGACGAT	GTGCTCGACAAATTAGGAC	OsGA3ox2	58	258	SNP
OsGA3ox2-2	TCCTAATTTGTCGAGCTCA	TCCTAATTTGTCGAGCGCG	GACAACGCATCCAGAAGG	OsGA3ox2	58	483	SNP
FLR2-1	CTGTTTATCAGAAATCTGGATGTT	CTGTTTATCAGAAATCTGGAGGTC	GCCACCGAAGAGCTTTTC	FLR2	56	158	SNP
TYDC-1	GCGAACAGAGGCTCTGC	GCGAACAGAGGCTCTCT	CTCATCCTGCCTGGCGTG	TYDC	58	218	SNP
TYDC-2	CTACTTTTGAGCCACGGCA	CTACTTTTGAGCCACGGCC	CCATGTGGAAATCAAAATGCC	TYDC	56	239	SNP
OsOFP19-1	CGACTCAATTATATGGGTCTCG	CGACTCAATTATATGGGTCTCA	TCCAGGTAGGCATAGCAT	OsOFP19	58	331	SNP
OsOFP19-2	AGACCCCATGAGATCATAGA	AGACCCCATGAGATCATACGG	TGCATTGGTTGTGTCTGG	OsOFP19	58	149	SNP
OsMY1-1	CGTGACAGGGAGATGCTTTTG		TGTACTTGTACTCCAGCCCC	OsMY1	58	147	InDel
OsMY1-2	GGCTGGAGTACAAAGTACA		GTCACGATGAAAATGAAACC	OsMY1	56	80	InDel
OsGSK3-1	AGACGAAGACGAAGAGACGG		GTGAAAAGGTGACGCGGAGAA	OsGSK3	58	102	InDel
OsAGSW1-1	ACGGGAATCTTAGTGTACAGT		TGATTTGACTGACGGTTACTGT	OsAGSW1	58	87	InDel
OsAGSW1-2	CGCACATCAAAATCCTCC		GGGCGCTTGTTCACATTT	OsAGSW1	58	77	InDel
OsPPDKB-1	TCACAGGAAACCTAGAGT		ATCGAAATAACATGTTACTGAGAG	OsPPDKB	58	189	InDel
OsPPDKB-2	CTGTGATCCTAACTATCTTCC	CTGTGATCCTAACTATCTTCT	CAGGTGAACCGTAAAGGA	OsPPDKB	58	145	SNP
OsPPDKB-3	CGTTGTATTTTAGATGGAACGT	CGTTGTATTTTAGATGGAACGC	CATCTAGAACAAAAACACCAGA	OsPPDKB	58	327	SNP
OsPPDKB-4	GTACTCTTAATTTTCTAAATGTTG		CTAGAAAATTTTCATATTAGTCTG	OsPPDKB	58	140	InDel
OsPPDKB-5	ACGCTCTCTTTTAAGGCTCTT	ACGCTCTCTTTTAAGGCTCTC	CAACAGAGATGACATGCAC	OsPPDKB	57	222	SNP
OsPPDKB-6	AAGATAGAGAGATTGACCTGATT	AAGATAGAGAGATTGACCTGATC	CGTGGTTTATGGGGGGAA	OsPPDKB	57	354	SNP
OsPPDKB-7	GGACCAAAATCCTATGGAGGG		CTTGTGTCCCTGTTGGCAAA	OsPPDKB	56	69	InDel
OsNPF4-1-1	GTAAGCATGCATACATGAAA		TCAAATGGCGTGATATATTC	OsNPF4.1	58	64	InDel
OsNPF4-1-2	AAAAACAAGTCACAAACAAGATAA	TAAAAACAAGTCACAAAGAGAG	ACAGTAGCACCTTCACCT	OsNPF4.1	54	267	SNP

前引物 1 中最后一个碱基与野生型水稻 565 的 SNP 基因型一致; 前引物 2 中最后一个碱基与突变体 *JD-1* 的 SNP 基因型一致
The last base of forward primer 1 is identical to the SNP genotype of wild-type Jindao 565, the last base of forward primer 2 is identical to the SNP genotype of mutant *JD-1*



图 1 津稻 565 和突变体 *JD-1* 株型比较
Fig.1 Comparison of plants between Jindao 565 and mutant *JD-1*

表 2 津稻 565 和突变体 *JD-1* 的主要农艺性状
Table 2 Main agronomic traits of Jindao 565 and *JD-1*

性状 Trait	材料 Material		
	津稻 565 (CK) Jindao 565	<i>JD-1</i>	<i>JD-1</i> ± CK
	M ± SD	M ± SD	(%)
株高 (cm) Plant height	101.78 ± 2.69	106.64 ± 11.16	4.78
主穗颈穗弯曲度 (°) Neck-panicle curvature of the main panicle	29.48 ± 10.33	119.66 ± 5.84**	305.90
主穗穗长 (cm) Main panicle length	17.83 ± 0.67	19.99 ± 1.79*	12.11
主穗着粒数 Number of main panicle grains	169.00 ± 20.26	282.00 ± 59.49**	66.86
主穗着粒密度 Density of main panicle grains	9.50 ± 1.00	14.04 ± 2.26**	47.79
主穗实粒数 Number of main panicle filled grains	157.00 ± 17.70	256.00 ± 62.83*	63.06
主穗结实率 (%) Seed setting of main panicle	90.06 ± 0.02	87.29 ± 0.08	-3.08
主穗一次枝梗数 Number of main panicle primary branches	14.00 ± 1.48	16.00 ± 1.87	14.29
主穗二次枝梗数 Number of main panicle secondary branches	31.00 ± 10.22	54.00 ± 15.39*	74.19
千粒重 (g) 1000-grain weight	26.09 ± 2.10	23.08 ± 1.60*	-11.54
粒长 (mm) Grain length	7.52 ± 0.16	7.30 ± 0.29	-2.93
粒宽 (mm) Grain width	3.21 ± 0.17	3.10 ± 0.11	-3.43
粒厚 (mm) Grain thickness	2.25 ± 0.06	2.17 ± 0.06	-3.56
主茎倒一叶长 (cm) Flag leaf length	25.82 ± 2.40	24.90 ± 8.67	-3.56
主茎倒一叶宽 (cm) Flag leaf width	2.06 ± 0.11	2.04 ± 0.36	-0.97

* 和 ** 分别指达到 0.05 和 0.01 的显著性水平
* and ** indicate significant difference at $P<0.05$ and $P<0.01$, respectively

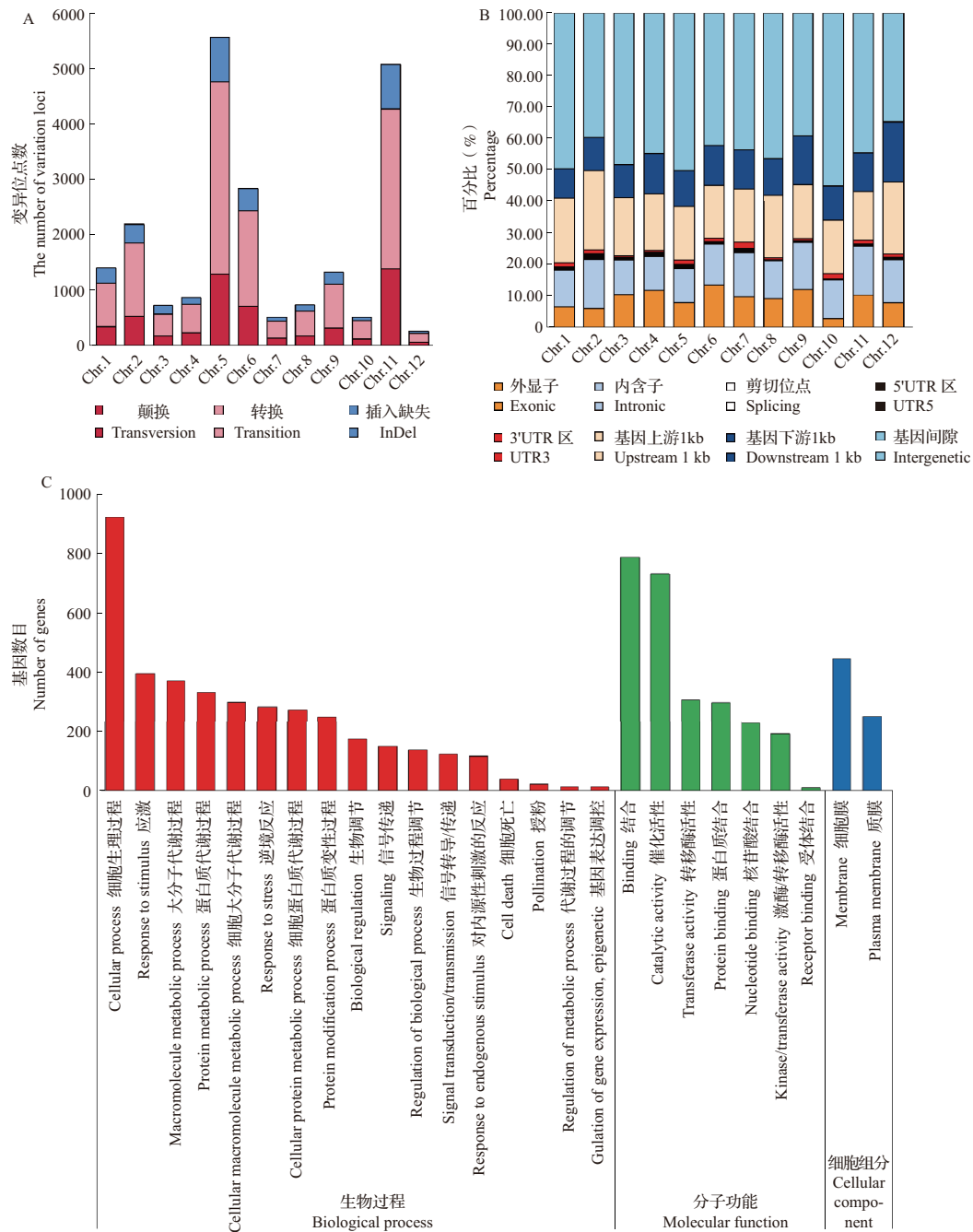
(图 2B)。在基因上游 1 kb、5'UTR 区、外显子、内含子和 3'UTR 区上发生变异的基因有 3341 个,其中已知克隆基因有 228 个,占比为 6.82%。

在 3341 个变异基因中,有 1658 个基因被 GO 注释在生物过程、分子功能和细胞组分中,划分了 26 个亚类(图 2C)。其中有 1056 个基因注释为生物过程基因,包含细胞生理过程、应激、大分子代谢过程、蛋白质代谢过程、细胞大分子代谢过程、逆境反应、细胞蛋白质代谢过程、蛋白质变性过程等 17 个亚类,参与细胞生理过程的基因数占比最高,为 86.93%,注释为代谢过程调节和基因表达调控的基因数占比较低,为 1.42%;有 1166 个基因注释为分子功能基因,包含结合、催化活性、转移酶活性、蛋白质结合、核苷酸结合、激酶 / 转移酶活性和受体结合等 7 个亚类,其中结合亚类中的基因数最多,占比达 67.38%,受体结合中的基因数最少,占比仅 0.94%;有 445 个基因注释为细胞组分基因,包含细胞膜和质膜 2 个亚类,445 个基因参与细胞膜组分构建,有 253 个基因为参与质膜组分基因,

表 3 *JD-1* 和津稻 565 基因组重测序测序数据

Table 3 Analysis on genome resequencing data of *JD-1* and Jindao 565

材料	过滤后读长数	过滤后碱基数 (bp)	≥ Q30 的碱基数 (bp)	GC 含量 (%)	比对率 (%)	覆盖率 (%)	测序深度 (×)
Material	No. of clean reads	HQ clean data	Number of base quality ≥ Q30	GC content	Mapped rate	Coverage ratio	Average depth
津稻 565	105844306	15756586812	14480717742	43.76	92.27	89.36	42
Jindao 565							
<i>JD-1</i>	89622224	13285184651	12165196653	44.88	90.92	78.36	35



A: 12 条染色体上的变异位点数; B: 12 条染色体基因结构变异统计; C: 变异基因 GO_term 注释图

A: The number of variation loci on 12 chromosomes, B: Statistical analysis of gene structure variation of 12 chromosomes, C: GO_term annotation of variant genes

图 2 *JD-1* 基因组变异注释

Fig.2 Variation annotation of *JD-1* genome

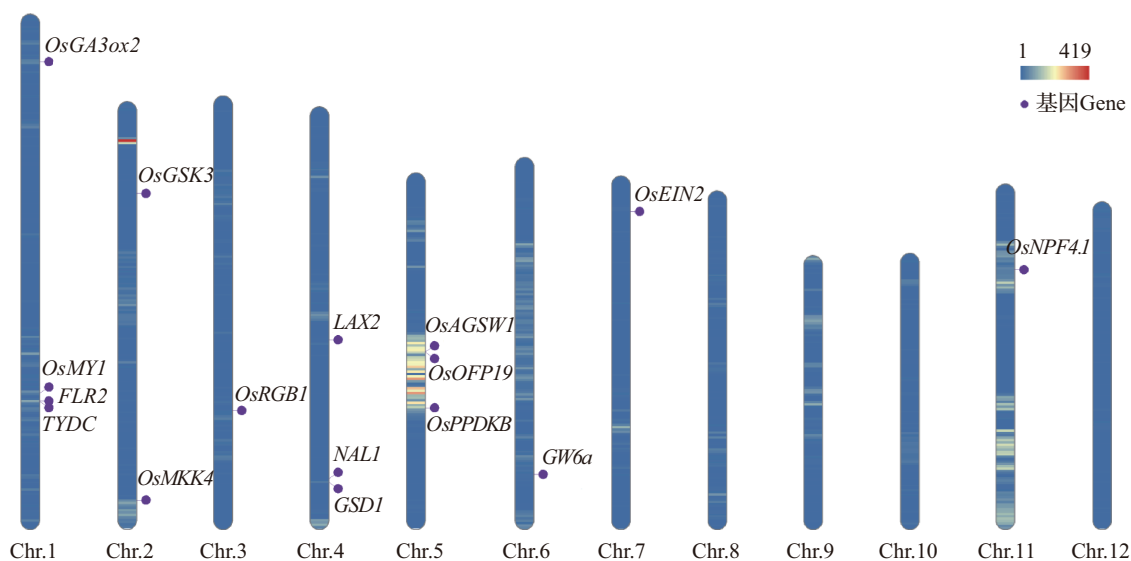


图3 *JD-1* 的 SNP/InDel 染色体密度分布和 16 个已克隆产量性状相关基因位点

Fig.3 Density distribution of mutational SNP/InDel in *JD-1* genome and sixteen cloned genes related to yield traits

占比 56.85%。同时发现部分基因具有参与两种或两种以上的生物功能,有 890 个基因同时被注释为生物过程基因和分子功能基因,有 310 个基因参与生物过程和细胞组分构建,有 357 个基因具有分子功能活性和细胞组分构建的功能,同时被注释为生物过程基因、分子功能基因和细胞组分基因的有 274 个。

2.4 主要农艺性状基因等位变异及分子验证

在 228 个已克隆的变异基因中,鉴别出 16 个与株高、千粒重、穗长和二次枝梗数相关的基因,其中与株高相关的基因 7 个,分别为 *OsGA3ox2*^[13-14]、*FLR2*^[15]、*TYDC*^[16]、*OsMKN4*^[17]、*OsRGL1*^[18]、*NAL1*^[19]和 *OsOFP19*^[20],其中 *OsMKN4* 还参与调控穗着粒数^[16,21],*FLR2*和 *OsOFP19* 参与调控穗长^[20,22];与千粒重相关的基因 7 个,分别为 *OsMY1*^[23]、*OsGSK3*^[24]、*GSD1*^[25]、*OsAGSW1*^[26]、*OsPPDKB*^[27-28]、*GW6a*^[29]和 *OsEIN2*^[30]; *OsNPF4.1*^[31-32]与穗长相关,*LAX2*与二次枝梗数相关^[33]。未发现与穗弯曲相关的已克隆基因发生突变。这 16 个基因共有 57 个变异位点(详见 <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210219001>,附表 1),其中 SNP 变异 40 个,InDel 变异 17 个,每个基因变异平均数为 4 个,在基因 *OsNPF4.1* 上的变异数多达 10 个,在 *FLR2*、*OsGSK3*、*OsRGL1*、*LAX2*、*NAL1*、*GW6a*、*OsEIN2* 基因上的变异数最少,仅为 1 个。在基因上游 1 kb 区域内发生变异的基因包括 *OsGA3ox2*、*FLR2*、

OsMKN4、*OsOFP19*、*GW6a*、*OsEIN2*和 *LAX2*,在 5'UTR 区发生变异的基因为 *NAL1*,在内含子上发生变异的基因有 *OsRGL1*、*OsGSK3*、*GSD1*、*OsPPDKB*和 *OsNPF4.1*,在基因上游 1 kb 区域内和外显子均发生变异的基因包括 *TYDC*和 *OsMY1*,在基因上游 1 kb 区域内、5'UTR 和内含子均发生变异的基因为 *OsAGSW1*。在第 2 染色体突变热点区域附近有基因 *OsGSK3*,在第 5 染色体突变热点区域有基因 *OsOFP19*、*OsAGSW1*和 *OsPPDKB*,在第 11 染色体短臂端突变热点区域附近有基因 *OsNPF4.1*(图 3)。

根据 16 个基因上的 57 个变异位点设计对应的引物,有 9 个基因在津稻 565 和 *JD-1* 间筛选出有多态性的标记 21 个(表 4),其中 SNP 标记 12 个,InDel 标记 9 个。与株高相关基因 *OsGA3ox2*、*FLR2*、*TYDC*、*OsOFP19*,包含 7 个 SNP 标记,其中 *OsGA3ox2*、*FLR2*和 *OsOFP19* 的标记位于基因上游 1 kb 区域内,*TYDC* 的标记位于基因上游 1 kb 区域内和外显子上;与千粒重相关的基因 *OsMY1*、*OsGSK3*、*OsAGSW1*和 *OsPPDKB*,包含 4 个 SNP 标记和 8 个 InDel 标记,其中 *OsMY1* 的标记位于基因上游 1 kb 区域内,*OsGSK3*和 *OsPPDKB* 的标记位于内含子上,*OsAGSW1* 的标记位于基因上游 1 kb 区域内和 5'UTR 区;与穗长相关的 *OsNPF4.1* 包含 1 个 SNP 标记和 1 个 InDel 标记,均位于内含子上。其余 7 个基因未检测到多态性。

表 4 9 个已克隆产量性状相关基因的结构及其变异位点分子标记

Table 4 The structure of nine cloned genes related to yield traits and the molecular markers of their mutation sites

基因结构图 Gene structure	多态性标记 Polymorphic markers	分子功能 Molecular function	控制性状 Controlled traits
	引物 OsGA3ox2-2 	矮秆基因 ^[13] , 赤霉素 3 β 羟化酶 ^[14]	株高
	引物 FLR2-1 	<i>FERONIA</i> 类受体 ^[15] , 类受体激酶 ^[22]	株高, 穗长
	引物 TYDC-2 	酪氨酸脱羧酶基因 ^[16]	株高
	引物 OsOFP19-1 	卵形家族蛋白 ^[20]	株高, 穗长
	引物 OsMY1-2 	<i>NPR1</i> 类似基因 ^[23]	千粒重
	引物 OsGSK3-1 	<i>GSK3/SHAGGY</i> 类蛋白激酶 ^[24]	千粒重
	引物 OsAGSW1-1 	<i>ABC1</i> 激酶 ^[26]	千粒重
	引物 OsPPDKB-1 	白心粉质胚乳 ^[34] , 丙酮酸磷酸双激酶基因 ^[28]	千粒重
	引物 OsNPF4.1-1 	短穗基因 ^[31] , 小肽转运蛋白 ^[32]	穗长

M: DL2000 标记; I: 前引物 1; II: 前引物 2; 1: 野生型津稻 565; 2: 突变体 *JD-1*
M: DL2000 marker, I: Forward primer 1, II: Forward primer 2, 1: Wild type Jindao 565, 2: Mutant *JD-1*

3 讨论

人工诱变是创制新种质的重要途径之一。前人利用辐射诱变、航天诱变、化学诱变等方式,从突变体后代中选出优良突变单株,用于基础研究和品种培育。其中辐射诱变以其变异频率高、变异范围广、育种年限短等特点^[35],被广泛应用于种质创制、农作物新品种培育^[36]。许学^[37]、许学等^[38]通过离子束和 γ 射线诱变 9311 和日本晴,创制出株型、叶型、穗型明显改良和抗性增强的多种类型的突变体。黄艺宁等^[39]以 ^{60}Co - γ 射线辐射 9311 得到果皮颜色变红和变黑的突变材料,且穗长、千粒重也有显著性差异。张德建等^[40]从 ^{60}Co - γ 辐射 9311 突变体库中筛选出株高、株型、分蘖数、分蘖角、穗型、育性、叶色、叶形、生育期、穗长、着粒密度、千粒重、穗弯曲度(突变为直立穗)等主要农艺性状发生变异的突变体,其中育性、株高、结实率、分蘖数突变频率较高;与其野生型相比,突变体 *CM128* 千粒重增加 36.05%,着粒密度降低 64.78%。目前已报道的穗弯曲性状研究(*ep2*^[41]、*dep2*^[42]、*dep3*^[43]、*qPE9-1*^[44]),发现其穗长比直立穗型材料长,千粒重较直立穗型增加,且达到显著性差异。本研究利用碳离子束诱变直立穗型品种津稻 565 得到弯曲穗型材料 *JD-1*,其主穗穗长较直立穗型津稻 565 增加 12.11%,主穗着粒密度增加 47.49%,但千粒重降低 11.54%,这为研究穗弯曲性状与穗长、着粒密度、粒重的协同调控机制提供了新种质。

离子束诱变会引起 DNA 双链断裂,致使染色体行为和结构产生较大的差异,进而引起性状突变^[45-46]。随着测序技术的不断发展,采用全基因组重测序技术研究突变体的变异类型和变异位点,为功能基因的研究提供技术支撑^[47]。有研究对 γ 射线诱变的日本晴突变体进行全基因组重测序,与日本晴参考序列比对显示 SNP 位点比 InDel 位点多 3~5 倍,且 SNP/InDel 变异在基因间区分布最多;用碳离子束诱变发现,SNP 位点比 InDel 位点多 3 倍左右,较集中分布在第 1 染色体上^[48-49]。多数研究认为碳离子束诱变粳稻品种造成的转换/颠换比值与其他离子束、 γ 射线、快中子的数值接近,但与 EMS 诱变的突变体比值相反^[50-54];但也有人认为与 γ 射线相比,离子束辐射产生的突变频率更高,突变范围更广^[55-56]。利用重测序方法对碳离子束和 γ 射线诱变粳稻品种 R173 得到的突变体分析发现,

碳离子束诱变产生的变异位点少于 γ 射线,但转换/颠换比值高于 γ 射线,且在基因上游发生的变异位点较多,UTR 区和剪切位点处发生的变异位点较少^[57],变异热点区位于第 10 染色体。本研究中突变体与野生型间共检测到 22067 个 SNP/InDel 变异位点,SNP 位点数是 InDel 位点数的 5.44 倍,变异热点区域主要位于第 2 染色体短臂端、第 5 染色体中部和第 11 染色体的长臂端及其短臂端,表现为成簇分布,且在第 2 染色体短臂端 3.20~3.40 Mb 区域变异位点数分布频率最高。

本研究中突变体 *JD-1* 的主穗颈穗弯曲度、主穗着粒数、主穗穗长、主穗实粒数、主穗二次枝梗数和千粒重与野生型存在极显著或显著差异,检测到 16 个与其部分表型变异相关的已克隆基因,共有 57 个变异位点。通过特异引物设计和 PCR 验证,至少有 21 个变异位点在 9 个功能基因上是真实存在的。突变体 *JD-1* 中与株高相关的基因 *OsGA3ox2*、*FLR2* 和 *OsOFP19* 仅在基因上游 1 kb 区域内发生 SNP 变异,是否能影响表型,尚待进一步研究。*TYDC* 在水稻的生长发育过程中起重要作用^[16],突变体 *JD-1* 中该基因在基因上游 1 kb 区域和外显子上均发生 SNP 变异,有可能引起 *JD-1* 株高变异。Liang 等^[23]RNAi 干涉 *OsMYI*,发现千粒重极显著降低,本研究中 *OsMYI* 在基因上游 1 kb 区域内发生缺失变异,有可能引起 *JD-1* 千粒重显著性降低。*OsGSK3* 在第 2 外显子发生变异导致千粒重极显著增加^[24],突变体 *JD-1* 在该基因的第 1 内含子发生缺失变异是否会引起千粒重变异尚待进一步研究。Li 等^[58]发现 *OsAGSW1* 过表达会造成千粒重极显著增加,因此 *OsAGSW1* 在基因上游 1 kb 区域和 5'UTR 区发生缺失变异可能导致 *JD-1* 的千粒重显著性降低。Kang 等^[34]发现 *OsPPDKB* 在第 5 内含子、第 10 外显子发生插入变异能导致千粒重显著或极显著降低,突变体 *JD-1* 在该基因第 2 内含子发生变异是否会引起千粒重变异尚待进一步验证。Li 等^[31]用 γ 诱变或 T 质粒插入造成 *OsNPF4.1* 基因突变均引起穗长变化,本研究中突变体 *JD-1* 的穗长显著性增加,推测为该基因变异引起的。没有发现已克隆的颈穗弯曲相关基因发生变异,因此可能是未知基因引起 *JD-1* 的穗下垂性状,但尚需深入研究。

致谢: 感谢山东省农业科学院水稻研究所徐建弟博士提供津稻 565!

参考文献

- [1] Glaszmann J C, Kilian B, Upadhyaya H D, Varshney R K. Accessing genetic diversity for crop improvement. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13 (2): 167-173
- [2] Zhao K, Tung C W, Eizenga G C, Wright M H, Ali M L, Price A H, Norton G J, Islam M R, Reynolds A, Mezey J, McClung A M, Bustamante C D, McCouch S R. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. *Nature Communications*, 2011, 2 (1): 92-100
- [3] 吴坤. 小麦突变体研究和隐性抗白粉病基因 *pm2026* 的精细定位. 南京: 南京农业大学, 2011
Wu K. Studies toward wheat mutants and fine mapping of a recessive powdery mildew resistance gene *pm2026*. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011
- [4] 浙江省农业科学院. 利用原子能辐射引变育成的水稻品种——原丰早. 农业科技通讯, 1984 (10): 12
Zhejiang Academy of Agricultural Science. Rice variety YuanFengZao bred by atomic energy radiation. *Agricultural Science and Technology Communication*, 1984 (10): 12
- [5] 夏英武, 范忠信, 唐天明. 水稻突变品种浙辐 802 的选育与应用. 原子能农业应用, 1986 (3): 21-24
Xia Y W, Fan Z X, Tang T M. Breeding and application of rice mutant Zhefu 802. *Application of Atomic Energy in Agriculture*, 1986 (3): 21-24
- [6] 汪秀峰, 吴敬德, 吴跃进, 张有顺. 皖稻 42 号 (中梗 63) 的选育及栽培技术. 安徽农业科学, 1999, 27 (5): 453-456
Wang X F, Wu J D, Wu Y J, Zhang Y S. Selection and breeding of a new *Japonica* rice Wandao No.42 (Zhongjing 63) and its cultivated techniques. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 1999, 27 (5): 453-456
- [7] 崔涛. 中能碳离子束辐射诱变百脉根叶片黄化突变体基因组重测序分析. 北京: 中国科学院大学, 2018
Cui T. The genome-wide resequencing analysis of a yellow-leaf *Lotus japonicus* mutant induced by intermediate-energy carbon ion beam irradiation. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2018
- [8] 周世奇, 刘东阳, 潘旭浩, 屈建康, 程立锐, 任民, 晁江涛, 张玉, 罗成刚. 烟草航天诱变突变体变异检测及分析. 植物遗传资源学报, 2019, 20 (2): 377-386
Zhou S Q, Liu D Y, Pan X H, Qu J K, Cheng L R, Ren M, Chao J T, Zhang Y, Luo C G. Sequence modification analysis of tobacco mutant derived from space mutagenesis. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20 (2): 377-386
- [9] 韩彦卿, 郑洁, 武彩娟, 王慧娜, 韩渊怀. 基于重测序的晋汾 52 及其突变体抗性差异分析. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2018, 38 (7): 39-44
Han Y Q, Zheng J, Wu C J, Wang H N, Han Y H. Variation analysis of disease resistance of Jinfen 52 and its mutants by genome resequencing. *Journal of Shanxi Agricultural University: Natural Science Edition*, 2018, 38 (7): 39-44
- [10] Li F, Komatsu A, Ohtake M, Eun H, Shimizu A, Kato H. Direct identification of a mutation in *OsSh1* causing non-shattering in a rice (*Oryza sativa* L.) mutant cultivar using whole-genome resequencing. *Scientific Reports*, 2020, 10 (1): 14936
- [11] 徐正进, 董克. 水稻叶片基角、开张角和披垂度的同时测定方法. 沈阳农业大学学报, 1991, 22 (2): 185-187
Xu Z J, Dong K. Simultaneous determination method of rice leaf basic angle, opening angle and drooping angle. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 1991, 22 (2): 185-187
- [12] Hao Z, Lv D, Ge Y, Shi J, Dolf W, Yu G, Chen J. *Rideogram*: drawing SVG graphics to visualize and map genome-wide data on the idiograms. *PeerJ Computer Science*, 2020, 6: e251
- [13] Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sakamoto T, Kayano T, Tanaka H, Ashikari M, Matsuoka M. Modification of rice plant height by suppressing the height-controlling gene, *D18*, in rice. *Breeding Science*, 2002, 52 (3): 215-218
- [14] Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sentoku N, Kitano H, Matsuoka M, Kobayashi M. Cloning and functional analysis of two gibberellin 3β -hydroxylase genes that are differently expressed during the growth of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98 (15): 8909-8914
- [15] Li C Y, Wang L, Cui Y C, He L M, Qi Y Y, Zhang J X, Lin J Z, Liao H D, Lin Q L, Yang T, Yu F, Liu X M. Two *FERONIA-like receptor* (*FLR*) genes are required to maintain architecture, fertility, and seed yield in rice. *Molecular Breeding*, 2016, 36 (11): 151
- [16] Kang S, Kang K, Lee K, Back K. Characterization of rice tryptophan decarboxylases and their direct involvement in serotonin biosynthesis in transgenic rice. *Planta*, 2007, 227 (1): 263-272
- [17] Duan P G, Rao Y C, Zeng D L, Yang Y L, Xu R, Zhang B L, Dong G J, Qian Q, Li Y H. *SMALL GRAIN 1*, which encodes a mitogen-activated protein kinase kinase 4, influences grain size in rice. *The Plant Journal*, 2014, 77 (4): 547-557
- [18] Utsunomiya Y, Samejima C, Takayanagi Y, Izawa Y, Yoshida T, Sawada Y, Fujisawa Y, Kato H, Iwasaki Y. Suppression of the rice heterotrimeric G protein β -subunit gene, *RGB1*, causes dwarfism and browning of internodes and lamina joint regions. *The Plant Journal*, 2011, 67 (5): 907-916
- [19] Jiang D, Fang J J, Lou L M, Zhao J F, Yuan S J, Yin L, Sun W, Peng L X, Guo B T, Li X Y. Characterization of a null allelic mutant of the rice *NALI* gene reveals its role in regulating cell division. *PLoS ONE*, 2015, 10 (2): e118169
- [20] Yang C, Ma Y M, He Y, Tian Z H, Li J X. OsOFP19 modulates plant architecture by integrating the cell division pattern and brassinosteroid signaling. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 2018, 93 (3): 489-501
- [21] Guo T, Chen K, Dong N Q, Shi C L, Ye W W, Gao J P, Shan J X, Lin H X. *GRAIN SIZE AND NUMBER1* negatively regulates the OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6 cascade to coordinate the trade-off between grain number per panicle and grain size in rice. *The Plant Cell*, 2018, 30 (4): 871-888
- [22] Pu C X, Han Y F, Zhu S, Song F Y, Zhao Y, Wang C Y, Zhang Y C, Yang Q, Wang J, Bu S L, Sun L J, Zhang S W, Zhang S Q, Sun D Y, Sun Y. The rice receptor-like kinases DWARF AND RUNTISH SPIKELET1 and 2 repress cell death and affect sugar utilization during reproductive development. *The Plant Cell*, 2017, 29 (1): 70-89
- [23] Liang W H, Wang H H, Li H, Wang J J, Yang D D, Hao Y F, Li J J, Lou C, Lin Q T, Hou C Q. Isolation and characterization of OsMY1, a putative partner of OsRac5 from *Oryza sativa* L..

- Molecular Biology Reports, 2014, 41 (3): 1829-1836
- [24] Gao X Y, Zhang J Q, Zhang X J, Zhou J, Jiang Z S, Huang P, Tang Z B, Bao Y M, Cheng J P, Tang H J, Zhang W H, Zhang H S, Huang J. Rice qGL3/OsPPKL1 functions with the GSK3/SHAGGY-Like kinase OsGSK3 to modulate brassinosteroid signaling. *The Plant Cell*, 2019, 31 (5): 1077-1093
- [25] Gui J S, Liu C, Shen J H, Li L G. *Grain Setting Defect1*, encoding a remorin protein, affects the grain setting in rice through regulating plasmodesmatal conductance. *Plant Physiology*, 2014, 166 (3): 1463-1478
- [26] Gao Q S, Zhang D, Xu L, Xu C. Systematic identification of rice *ABC1* gene family and its response to abiotic stress. *Rice Science*, 2011, 18 (3): 167-177
- [27] Kang H G, Park S, Matsuoka M, An G. White-core endosperm *floury endosperm-4* in rice is generated by knockout mutations in the C₄-type pyruvate orthophosphate dikinase gene (*OsPPDKB*). *The Plant Journal*, 2005, 42 (6): 901-911
- [28] Zhang Y, Verhoeff N I, Chen Z, Chen S, Wang M, Zhu Z, Ouwerkerk P B F. Functions of OsDof25 in regulation of *OsC4PPDK*. *Plant Molecular Biology*, 2015, 89 (3): 229-242
- [29] Song X J, Kuroha T, Ayano M, Furuta T, Nagai K, Komeda N, Segami S H, Miura K, Ogawa D, Kamura T, Suzuki T, Higashiyama T, Yamasaki M, Mori H, Inukai Y, Wu J Z, Kitano H, Sakakibara H E, Jacobsen S, Ashikari M. Rare allele of a previously unidentified histone H4 acetyltransferase enhances grain weight, yield, and plant biomass in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112 (1): 76-81
- [30] Ma B, He S J, Duan K X, Yin C C, Chen H, Yang C, Xiong Q, Song Q X, Lu X, Chen H W, Zhang W K, Lu T G, Chen S Y, Zhang J S. Identification of rice ethylene-response mutants and characterization of *MHZ7/OsEIN2* in distinct ethylene response and yield trait regulation. *Molecular Plant*, 2013, 6 (6): 1830-1848
- [31] Li S B, Qian Q, Fu Z M, Zeng D L, Meng X B, Kyoizuka J, Maekawa M, Zhu X D, Zhang J, Li J Y. *Short panicle1* encodes a putative PTR family transporter and determines rice panicle size. *The Plant Journal*, 2009, 58 (4): 592-605
- [32] L  ran S, Varala K, Boyer J C, Chiurazzi M, Crawford N, Daniel-Vedele F, David L, Dickstein R, Fernandez E, Forde B, Gassmann W, Geiger D, Gojon A, Gong J M, Halkier B A, Harris J M, Hedrich R, Limami A M, Rentsch D, Seo M, Tsay Y F, Zhang M Y, Coruzzi G, Lacombe B. A unified nomenclature of NITRATE TRANSPORTER 1/PEPTIDE TRANSPORTER family members in plants. *Trends in Plant Science*, 2014, 19 (1): 5-9
- [33] Zhang Z Y, Li J J, Tang Z S, Sun X M, Zhang H L, Yu J P, Yao G X, Li G L, Guo H F, Li J L, Wu H M, Huang H G, Xu Y W, Yin Z G, Qi Y H, Huang R F, Yang W C, Li Z C. Gnp4/LAX2, a RAWUL protein, interferes with the OsIAA3-OsARF25 interaction to regulate grain length via the auxin signaling pathway in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69 (20): 4723-4737
- [34] Kang H G, Park S H, Matsuoka M, An G. White-core endosperm *floury endosperm-4* in rice is generated by knockout mutations in the C₄-type pyruvate orthophosphate dikinase gene (*OsPPDKB*). *Plant Journal*, 2010, 42 (6): 901-911
- [35] 李树发, 张颢, 邱显钦, 葛红, 蹇洪英, 王其刚, 晏慧君, 唐开学. 切花月季 ⁶⁰Co γ 辐照诱变育种初报. *核农学报*, 2011, 25 (4): 713-718
- Li S F, Zhang H, Qiu X Q, Ge H, Jian H Y, Wang Q G, Yan H J, Tang K X. Breeding of cut roses by ⁶⁰Co γ -rays irradiation. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2011, 25 (4): 713-718
- [36] Shu Q Y, Forster B P, Nakagawa H. *Plant mutation breeding and biotechnology*. England: CABI, 2012: 301-346
- [37] 许学. 水稻日本晴和“9311”突变体诱变研究. 合肥: 安徽农业大学, 2008
- Xu X. The mutation research for mutant of rice variations Nipponare and “9311”. Hefei: Anhui Agricultural University, 2008
- [38] 许学, 刘斌美, 宋美, 吴跃进. 氮离子束与 γ 射线辐照日本晴和“9311”水稻突变体库的筛选. *核农学报*, 2008, 22 (4): 389-393
- Xu X, Liu B M, Song M, Wu Y J. The screening of mutant library for rice variations Nipponare and “9311” by nitrogen ion beam and γ -rays irradiation. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2008, 22 (4): 389-393
- [39] 黄艺宁, 陈凌华, 程祖铎, 黄昕颖, 许明, 郑金贵. 辐射诱导水稻粒色突变体的农艺性状及营养品质分析. *福建农业学报*, 2020, 35 (4): 392-397
- Huang Y N, Chen L H, Cheng Z X, Huang X Y, Xu M, Zheng J G. Agronomic characteristics and nutritional quality of colored grains from radiation-induced rice mutants. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35 (4): 392-397
- [40] 张德建, 梁发茂, 胡刚, 邢永忠, 李志新. γ 射线辐射“9311”水稻突变体的筛选. *植物遗传资源学报*, 2015, 16 (4): 876-882
- Zhang D J, Liang F M, Hu G, Xing Y Z, Li Z X. Screening of mutant for rice cultivar “9311” by γ -ray irradiation. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16 (4): 876-882
- [41] Zhu K, Tang D, Yan C J, Chi Z C, Yu H X, Chen J M, Liang J S, Gu M H, Cheng Z K. *Erect Panicle2* encodes a novel protein that regulates panicle erectness in *Indica* rice. *Genetics*, 2010, 184 (2): 343-350
- [42] Li F, Liu W B, Tang J Y, Chen J F, Tong H N, Hu B, Li C L, Fang J, Chen M S, Chu C C. Rice DENSE AND ERECT PANICLE 2 is essential for determining panicle outgrowth and elongation. *Cell Research*, 2010, 20 (7): 838-849
- [43] Qiao Y L, Piao R H, Shi J X, Lee S I, Jiang W Z, Kim B, Lee J, Han L Z, Ma W B, Koh H. Fine mapping and candidate gene analysis of *dense and erect panicle 3*, *DEP3*, which confers high grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122 (7): 1439-1449
- [44] Yi X H, Zhang Z J, Zeng S Y, Tian C Y, Peng J C, Li M, Lu Y, Meng Q C, Gu M H, Yan C J. Introgression of *qPE9-1* allele, conferring the panicle erectness, leads to the decrease of grain yield per plant in *japonica* rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Genetics and Genomics*, 2011, 38 (5): 217-223
- [45] 王悦. 重离子束注入大豆种子的诱变效应研究. 长沙: 湖南农业大学, 2008
- Wang Y. The mutagenic effects research of heavy ion beam implantation on soybean seed. Changsha: Hunan Agricultural University, 2008
- [46] 余丽霞, 李文建, 杜艳, 刘瑞媛, 周利斌, 骆善伟, 陈刚, 刘青芳. 碳离子束辐照大豆当代诱变效应及褐皮突变体的初步研究. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2014, 32 (2): 55-61

- Yu L X, Li W J, Du Y, Liu R Y, Zhou L B, Luo S W, Chen G, Liu Q F. Preliminary study on current mutagenic effects and brown seed mutant of soybean induced by carbon ion irradiation. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*, 2014, 32 (2): 55-61
- [47] Hirano T, Kazama Y, Ishii K, Ohbu S, Shirakawa Y, Abe T. Comprehensive identification of mutations induced by heavy-ion beam irradiation in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 2015, 82 (1): 93-104
- [48] 李珊. 核辐射诱发水稻基因组变异的特征及定向选择技术研究. 杭州: 浙江大学, 2016
- Li S. Characterization and target-select identification of genome variations induced by nuclear radiations in rice. Hangzhou: Zhejiang University, 2016
- [49] Li S, Zheng Y C, Cui H R, Fu H W, Shu Q Y, Huang J Z. Frequency and type of inheritable mutations induced by γ rays in rice as revealed by whole genome sequencing. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 2016, 17 (12): 905-915
- [50] Luo S W, Zhou L B, Li W J, Yan D, Yu L X, Hui F, Mu J H, Chen Y Z. Mutagenic effects of carbon ion beam irradiations on dry *Lotus japonicus* seeds. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research*, 2016, 383 (15): 123-128
- [51] Ichida H, Morita R, Shirakawa Y, Hayashi Y, Abe T. Targeted exome sequencing of unselected heavy-ion beam-irradiated populations reveals less-biased mutation characteristics in the rice genome. *Plant Journal*, 2019, 98 (2): 301-314
- [52] Li F, Shimizu A, Nishio T, Tsutsumi N, Kato H. Comparison and characterization of mutations induced by gamma-ray and carbon-ion irradiation in rice (*Oryza sativa* L.) using whole-genome resequencing. *Genes, Genomes, Genetics*, 2019, 9 (11): 3743-3751
- [53] Henry M I, Nagalakshmi U, Lieberman C M, Ngo J K, Krasileva V K, Vasquez-Gross H, Akhunova A, Akhunov E, Dubcovsky J, Tai H T, Comai L. Efficient genome-wide detection and cataloging of EMS-induced mutations using exome capture and next-generation sequencing. *The Plant Cell*, 2014, 26 (4): 1382-1397
- [54] Oono Y, Ichida H, Morita R, Nozawa S, Satoh K, Shimizu A, Abe T, Kato H, Hase Y. Genome sequencing of ion-beam-induced mutants facilitates detection of candidate genes responsible for phenotypes of mutants in rice. *Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2020, 821: 111691
- [55] Yamaguchi H. Characteristics of ion beams as mutagens for mutation breeding in rice and chrysanthemums. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 2013, 47 (4): 339-346
- [56] 赵林姝, 刘录祥. 农作物辐射诱变育种研究进展. *激光生物学报*, 2017, 26 (6): 481-489
- Zhao L S, Liu L X. Research progresses in irradiation-induced mutation breeding in crops. *Acta Laser Biology Sinica*, 2017, 26 (6): 481-489
- [57] Guo T, Yang G L, Luo W L, Zhang J, Yan X C, Du Y, Zhou L B, Li W J, Wang H, Chen Z Q. Genome-wide comparisons of mutations induced by carbon-ion beam and gamma-rays irradiation in rice via resequencing multiple mutants. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1514
- [58] Li T, Jiang J M, Zhang S C, Shu H R, Wang Y Q, Lai J B, Du J J, Yang C W. *OsAGSW1*, an ABC1-like kinase gene, is involved in the regulation of grain size and weight in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66 (19): 5691-5701

欢迎订阅 2022 年《麦类作物学报》

《麦类作物学报》是由西北农林科技大学、中国作物学会、国家小麦工程技术研究中心联合主办(教育部主管)的专业性学术期刊,也是全国唯一的一份麦类作物专刊。主要刊载麦类作物(小麦、大麦、燕麦、黑麦等)遗传育种、生理生化、栽培管理、食品加工、产品贸易等方面有创见性的学术论文、领先水平的科研成果、学术报告、有新意的文献综述以及学术动态等。读者对象为国内外农业科技人员、农业院校师生及高级农业技术推广和管理人员。

《麦类作物学报》为“中文核心期刊”、“中国科技核心期刊”、“中国科技精品期刊”,现已被英国《国际农业与生物技术文摘》数据库(CABI)、美国《化学文摘》数据库(CA)、美国《剑桥科学文摘》数据库(CSA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)数据库、日本《科学技术》数据库(JST)、波兰《哥白尼索引》数据库(IC)、《中国科学引文数据库》(核心库)等国内外多家权威性检索系统收录。影响因子排名曾连续3年居全国农业期刊前10位。

《麦类作物学报》为月刊,每月中旬出版,定价30.00元/册,全年360元,国内刊号:CN61-1359/S,国际刊号:1009-1041。全国各地邮局均可订阅,邮发代号:52-66。漏订者可直接汇款至编辑部补订。国外总发行:北京 中国国际图书贸易总公司,代号:1479B。

地址:陕西杨凌 邠城路3号《麦类作物学报》编辑部

邮编:712100

电话:(029)87082642(兼传真)

联系人:华千勇

网址: <http://mlzwx.alljournals.ac.cn/>

附表 1 16 个基因的变异位点

Supplemental Table 1 57 mutation sites of 16 genes

染色体	变异起始位点	变异终止位点	津稻 565		变异类型	基因结构变异	基因登录号	基因符号	调控性状
Chr	Start	End	Jindao565	<i>JD-1</i>	Variation_type	Structure_type	Gene locus	Gene	Controlled traits
Chr1	4005679	4005679	C	T	SNP	upstream	LOC_0s01g08220	<i>OsGA3ox2</i>	株高
Chr1	4005717	4005717	T	C	SNP	upstream	LOC_0s01g08220	<i>OsGA3ox2</i>	株高
Chr1	4005868	4005868	T	A	SNP	upstream	LOC_0s01g08220	<i>OsGA3ox2</i>	株高
Chr1	4005869	4005869	C	T	SNP	upstream	LOC_0s01g08220	<i>OsGA3ox2</i>	株高
Chr1	4005889	4005889	T	A	SNP	upstream	LOC_0s01g08220	<i>OsGA3ox2</i>	株高
Chr1	4005917	4005917	A	G	SNP	upstream	LOC_0s01g08220	<i>OsGA3ox2</i>	株高
Chr1	31815542	31815542	G	A	SNP	exonic	LOC_0s01g55280	<i>OsMY1</i>	千粒重
Chr1	31817225	31817237	GGGGGGGGGGGG	—	Deletion	upstream	LOC_0s01g55280	<i>OsMY1</i>	千粒重
Chr1	31817245	31817245	G	A	SNP	upstream	LOC_0s01g55280	<i>OsMY1</i>	千粒重
Chr1	31817353	31817358	GGGGGG	—	Deletion	upstream	LOC_0s01g55280	<i>OsMY1</i>	千粒重
Chr1	32461329	32461329	T	C	SNP	upstream	LOC_0s01g56330	<i>FLR2</i>	株高
Chr1	32502328	32502328	C	T	SNP	exonic	LOC_0s01g56380	<i>TYDC</i>	株高
Chr1	32502556	32502556	A	G	SNP	exonic	LOC_0s01g56380	<i>TYDC</i>	株高
Chr1	32502598	32502598	C	A	SNP	exonic	LOC_0s01g56380	<i>TYDC</i>	株高
Chr1	32503237	32503237	T	C	SNP	upstream	LOC_0s01g56380	<i>TYDC</i>	株高
Chr1	32503542	32503542	A	G	SNP	upstream	LOC_0s01g56380	<i>TYDC</i>	株高
Chr1	32503783	32503783	T	G	SNP	upstream	LOC_0s01g56380	<i>TYDC</i>	株高
Chr2	7723374	7723374	CC	—	Insertion	intronic	LOC_0s02g14130	<i>OsGSK3</i>	千粒重
Chr2	33444327	33444327	T	C	SNP	upstream	LOC_0s02g54600	<i>OsMKK4</i>	株高,穗着粒数
Chr2	33444346	33444346	A	G	SNP	upstream	LOC_0s02g54600	<i>OsMKK4</i>	株高,穗着粒数
Chr2	33444353	33444353	T	C	SNP	upstream	LOC_0s02g54600	<i>OsMKK4</i>	株高,穗着粒数
Chr3	26403214	26403215	—	GG	Deletion	intronic	LOC_0s03g46650	<i>OsRGB1</i>	株高
Chr4	19563713	19563713	T	C	SNP	upstream	LOC_0s04g32510	<i>LAX2</i>	二次枝梗数
Chr4	31203828	31203828	C	T	SNP	UTR5	LOC_0s04g52479	<i>NAL1</i>	株高
Chr4	31525157	31525157	—	GGAGGGTAATATATG	Insertion	intronic	LOC_0s04g52920	<i>GSD1</i>	千粒重
Chr4	31525197	31525197	—	A	Insertion	intronic	LOC_0s04g52920	<i>GSD1</i>	千粒重
Chr5	15040320	15040320	—	GG	Insertion	upstream	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重
Chr5	15040439	15040439	A	G	SNP	upstream	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重
Chr5	15040462	15040462	A	G	SNP	upstream	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重
Chr5	15040478	15040478	G	A	SNP	upstream	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重
Chr5	15040495	15040495	T	—	Deletion	upstream	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重
Chr5	15040530	15040530	T	C	SNP	upstream	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重
Chr5	15040644	15040647	TTTT	—	Deletion	upstream	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重
Chr5	15040818	15040818	C	—	Deletion	UTR5	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重
Chr5	15042606	15042606	A	G	SNP	intronic	LOC_0s05g25840	<i>OsAGSW1</i>	千粒重

Chr5	15070937	15070937	C	T	SNP	upstream	LOC_0s05g25910	<i>OsOFP19</i>	株高，穗长
Chr5	15071381	15071381	G	A	SNP	upstream	LOC_0s05g25910	<i>OsOFP19</i>	株高，穗长
Chr5	19730814	19730814	TGCATGTAATT	-	Insertion	intronic	LOC_0s05g33570	<i>OsPPDKB</i>	千粒重
Chr5	19731595	19731595	T	C	SNP	intronic	LOC_0s05g33570	<i>OsPPDKB</i>	千粒重
Chr5	19731723	19731723	C	T	SNP	intronic	LOC_0s05g33570	<i>OsPPDKB</i>	千粒重
Chr5	19731769	19731769	C	T	SNP	intronic	LOC_0s05g33570	<i>OsPPDKB</i>	千粒重
Chr5	19732390	19732390	T	-	Insertion	intronic	LOC_0s05g33570	<i>OsPPDKB</i>	千粒重
Chr5	19732460	19732460	C	T	SNP	intronic	LOC_0s05g33570	<i>OsPPDKB</i>	千粒重
Chr5	19732637	19732637	C	T	SNP	intronic	LOC_0s05g33570	<i>OsPPDKB</i>	千粒重
Chr5	19736114	19736114	-	G	Deletion	intronic	LOC_0s05g33570	<i>OsPPDKB</i>	千粒重
Chr6	26594071	26594071	A	-	Insertion	upstream	LOC_0s06g44100	<i>GW6a</i>	千粒重
Chr7	2984067	2984067	A	-	Insertion	upstream	LOC_0s07g06130	<i>OsEIN2</i>	千粒重
Chr11	7194646	7194648	CTT	-	Deletion	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7194715	7194715	A	G	SNP	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7194728	7194728	C	T	SNP	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7194734	7194735	-	TG	Deletion	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7196051	7196051	C	G	SNP	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7196062	7196062	A	T	SNP	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7196071	7196071	A	G	SNP	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7196093	7196093	A	T	SNP	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7196305	7196305	G	A	SNP	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
Chr11	7196314	7196314	T	G	SNP	intronic	LOC_0s11g12740	<i>OsNPF4.1</i>	穗长
