

一个水稻短生育期突变体 $sgp(t)$ 的遗传分析及基因定位

刘华清^{①*}, 顾丽清^{①②*}, 吴明基^①, 陈建民^①, 陈在杰^①, 王锋^{①②†}

① 福建省农业科学院生物技术研究所, 福建省农业遗传工程重点实验室, 福州 350003;

② 福建师范大学生命科学院, 福州 350007

* 同等贡献

† 联系人, E-mail: wf@fjage.org

2008-03-13 收稿, 2008-06-10 接受

国家自然科学基金(批准号: 30771161)和福建省自然科学基金(批准号: B0320002)资助项目

摘要 在优良迟熟恢复系明恢 86 的转基因后代中, 发现了一个非T-DNA插入引起的短生育期突变体(暂命名 $short\ growth\ period$, 简称 $sgp(t)$)。该突变体对光周期反应不敏感, 在不同生态区域与不同播种期, 平均抽穗期(40.9 ± 2.1)~(62.4 ± 5.2) d, 比野生型明恢 86 早 35~50 d。通过对 $sgp(t)$ 突变体与 29 个不同遗传背景的亲本(包括感光和非感光的籼稻、粳稻及爪哇稻品种)杂交后代抽穗期分析, 结果发现, 在福州市夏季种植(4 月 30 日播种), F_1 抽穗均表现较迟熟亲本早, 而较 $sgp(t)$ 略迟, 平均抽穗期(52.0 ± 1.3)~(63.4 ± 2.3) d, 表明 $sgp(t)$ 是一个不完全显性突变体, 能够显著地缩短水稻的生育期。进一步分析 $sgp(t)$ 突变体与野生型明恢 86, 93-11, 闽恢 3301 和博白B等 4 个品种的杂种 F_2 群体抽穗分布发现, 分离群体后代中出现极早熟、较早熟和迟熟 3 种类型, 其极早熟和较早熟植株数之和与迟熟植株数之比符合 3:1, 进一步表明 $sgp(t)$ 由一对不完全显性基因控制。以 F_2 代($sgp(t) \times 93-11$)中的极早熟株和迟熟株为定位群体, 应用微卫星标记将 $sgp(t)$ 基因定位在第 6 染色体的RM3628 和RM439 之间, 随后利用已经公布的水稻基因组序列, 在 $sgp(t)$ 基因附近区域新开发了 6 个标记, 将 $sgp(t)$ 基因进一步定位在NSSR0617~NSSR0683 之间, 遗传距离分别为 0.5 和 0.6 cM, 物理距离约 436 kb。定位结果显示 $sgp(t)$ 不同于目前报道的所有早熟和迟熟基因, 是一个控制水稻生育期的新基因。

关键词
水稻
抽穗期
 $sgp(t)$ 突变体
遗传分析
基因定位

水稻生育期是水稻品种最重要的农艺性状之一, 它决定水稻适宜的种植区域、种植季节及耕作方式。水稻品种的生育期可划分为基本营养生长期、生殖生长期和成熟期等 3 个阶段, 对大多数水稻品种来说, 由于生殖生长期和成熟期的时间长短相对较稳定, 因此, 往往用“抽穗期”(即从播种到抽穗的天数)来反映水稻生育期^[1]。

长期以来, 对水稻抽穗期研究较多, 已经鉴定出 30 多个水稻抽穗期基因, 其中大多数是对光周期敏感基因^[2~4], 而对光周期不敏感, 控制水稻基本营养生长期基因迄今已报道了 12 个, 包括 5 个显性早熟基因^[5~9]和 8 个隐性迟熟基因^[10~17]。

在水稻生产上, 早熟水稻品种能满足许多生态地区与生产季节的需要, 调节水稻生产结构、提高水

稻的复种指数和产量。因此, 挖掘和利用早熟基因对水稻生育期育种具有重要的意义^[1,8]。但已报道的早熟基因大多提早水稻抽穗期在 20 d 以内^[5~9], 只有少数早熟突变体能够较大程度地提早抽穗^[18]。2005 年, 我们在恢复系明恢 86 转基因 T_1 代材料中发现了一个水稻极早熟的短生育期突变体 $sgp(t)$, 对其进行试探性杂交及遗传分析, 发现它可能是一个不完全显性早熟突变体。2006~2007 年选择不同遗传背景的一些水稻品种与 $sgp(t)$ 杂交, 调查杂种后代的抽穗期, 了解 $sgp(t)$ 基因在不同遗传背景下的遗传规律, 并利用 SSR 标记对 $sgp(t)$ 基因进行了分子标记定位。

1 材料与方法

(i) 材料与杂交。2005 年 2 月我们在三亚(指

海南省三亚市郊, 北纬 18.14°东经 109.31°, 下同)种植的明恢 86 转基因T₁代材料中发现一个极早熟分离株系, 其中早熟个体较迟熟个体多. 推测可能是一个早熟突变体, 暂命名为 $short\ growth\ period\ (sgp(t))$. 随后, 利用早熟突变体 $sgp(t)$ 再生穗分别与不育系 II-32A, 10A进行试探性杂交. 杂种及亲本 2005 年 5 月在福州(福建省福州市郊, 北纬 26.05°东经 119.18°, 下同)连续种植两代, 初步观察发现, $sgp(t)$ 及其杂种 F₁均显示早抽穗, F₂群体抽穗期分离规律分析显示 $sgp(t)$ 可能是一个单基因控制的不完全显性早熟突变体. 为了确定该突变体是否为T-DNA 插入引起的突变, 我们分析了突变体的早熟性与潮霉素抗性基因的连锁关系, 发现突变体早熟性与T-DNA所含的潮霉素抗性基因独立遗传, $sgp(t)$ 突变不是由于T-DNA 插入引起.

为了进一步了解 $sgp(t)$ 的遗传规律, 2005 年秋季在福州及 2006 年春季在三亚, 利用突变体 $sgp(t)$ 和野生型明恢 86 分别与不同遗传背景的水稻品种(表 1)进行了杂交. 2005 年秋季所进行的杂交后计 F₁于 2005 年冬季种植于三亚(12 月 10 日播种), F₂和 2006 年春季杂交的 F₁及相关亲本, 2006 年夏季种植于福州(4 月 30 日播种). 部分 F₁和 F₂材料 2006 年冬季种植于三亚(12 月 10 日播种).

表 1 遗传分析中使用到的亲本

品种类型	品种
籼稻	明恢 86、93-11、明恢 63、明恢 77、明恢 81、特青、培矮 64s、99CO770、闽恢 3301、科恢 752、JN510、密阳 46、3550、晋南晚、CR1 中、珍汕 97B、博白 B、清晴
粳稻	02428、中花 15、白竹粳、云引粳、香粳 9707、武运粳 7 号、武香粳 14 号、日本晴
爪哇	爪哇、长粒爪、Lemont

(ii) $sgp(t)$ 突变体的分期播种试验. 为了了解 $sgp(t)$ 的光温反应特性, 我们对 $sgp(t)$ 、明恢 86 和日本晴 3 个材料进行分期播种观察, 分别于 2005 年 11 月 26 日、12 月 15 日和 2006 年 1 月 2 日在三亚播种 3 期; 2006 年 3 月 25 日起至 8 月 10 日止在福州每 15 d 播种 1 期, 共 10 期. 每期每材料移栽 28~35 株, 调查记载每期各材料的抽穗期.

(iii) 抽穗期调查及统计方法. 各材料抽穗期隔日逐株观察并记载始穗株数, 以主穗抽出 1 cm 以上作为该株始穗的标准. 其中 $sgp(t)$ /明恢 86, $sgp(t)$ /93-11 两个杂种 F₂群体在进行抽穗期调查的同时并对始

穗单株挂牌标明日期. 以播种到始穗的天数为各单株的始穗期, 各亲本材料及杂种 F₁的抽穗期为一个群体中各单株始穗期的加权平均数和其标准差.

(iv) 定位群体构建. 利用 $sgp(t)$ 突变体与 93-11 杂交构建的 F₂代分离群体(4 月 30 日播种), 根据各单株抽穗时间, 选择其中的极早熟个体 476 株和迟熟个体 696 株, 总计 1172 株作为定位群体. 在取样过程中, 为了保证选择到的极早熟个体为显性纯合基因型, 而迟熟个体为隐性纯合基因型, 我们根据群体的抽穗期分布来确定极早熟和迟熟的界线. 极早熟个体只选取抽穗期短于 54 d (6 月 23 日前抽穗)植株; 而迟熟个体只选取抽穗期长于 92 d (7 月 31 日后抽穗)植株.

(v) 水稻DNA的提取. 采用CTAB法^[19]提取各单株叶片总DNA. 并参照Michelmores等人^[20]提出的BSA法, 根据F₂分离群体植株表型, 随机等量取 10 株极早熟植株的DNA和 10 株迟熟植株的DNA分别构建早熟DNA池和迟熟DNA池.

(vi) 微卫星(SSR)分析. 本研究用于基因定位的分子标记一部分来自于公布的RM序列SSR标记^[21], 另一部分根据已公布的水稻品种 93-11 和日本晴(Nipponbare)全基因组序列重新开发的SSR标记(命名为NSSR06××, 其中 06 表示第 6 号染色体, ××表示开发标记的序列号).

PCR扩增参照Panaud等人^[22]的方法略作修改. 25 μL PCR反应体系包括 10×缓冲液 2.5 μL, dNTPs (2.5 μmol/mL) 2 μL, 引物(5 μmol/mL)各 1 μL, TaqE (2.5 U/μL) 0.4 μL, DNA (30 ng/μL) 2 μL, 无菌水 16.1 μL. 在MJ PCR仪上进行PCR扩增. 反应条件为: 94℃预变性 5 min; 94℃, 30 s, 56℃, 30 s, 72℃, 1 min, 35 个循环; 72℃延伸 8 min. 反应产物用 8%的非变性聚丙烯酰胺进行电泳检测. 银染参照许绍斌等人^[23]的方法进行.

(vii) 基因定位. 将 $sgp(t)$ 的SSR扩增带型记为“1”, 93-11 的带型记为“2”, 杂合体带型记为“3”. 用MAPMAKER/EXP3.0 软件进行连锁分析^[24], 并结合SSR标记在染色体上的位置^[21], 对 $sgp(t)$ 基因进行定位. 在利用标记分析定位群体过程中, 对于极少数单株, $SGP(t)$ 基因两边标记(特别是距离较近的两边标记)同时表现交换株(即杂合基因型)带型“3”. 这种单株可能是混入的 $SGP(t)$ 杂合基因型植株, 在精细定位时, 我们将其淘汰.

2 结果与分析

2.1 *sgp(t)*突变体的表型及抽穗期对光周期的反应

与其来源品种明恢 86 相比, 纯合突变体 *sgp(t)* 植株矮化, 极早熟, 株叶形态和粒型与明恢 86 近似(图 1), 结实率平均为 86.2%, 也与明恢 86 (86.6%) 的近似. 突变体 *sgp(t)* 在福建省福州市 3 月 25 日~8 月 10 日播种, 抽穗期(40.9 ± 2.1)~(62.4 ± 5.2) d, 全生育期 80~100 d, 主茎叶片数 9~11 叶. 明恢 86 同期播种, 抽穗期在 81.2 ± 2.2 ~ 106.1 ± 1.8 d, 全生育期 110~135 d, 主茎叶片数 17~19 叶.

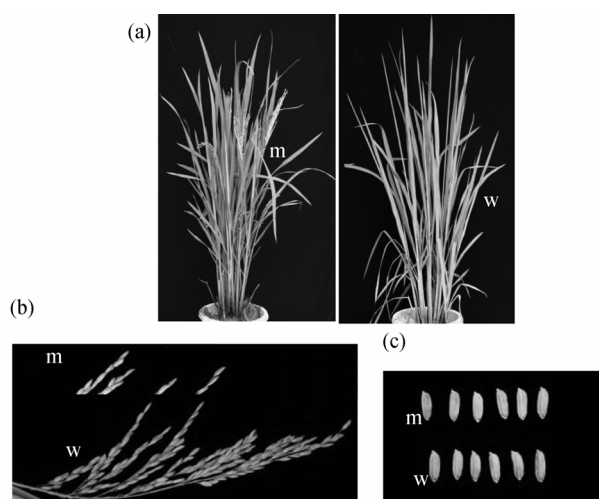


图 1 突变体 *sgp(t)* 和野生型明恢 86 表型

(a) 突变体 *sgp(t)* 开花后株叶态及同期播种的野生型明恢 86 的株叶态; (b) *sgp(t)* 和野生型明恢 86 的穗型; (c) *sgp(t)* 和野生型明恢 86 的粒型. m, *sgp(t)*; w, 野生型明恢 86

在三亚市和福州市自然条件下, 将 *sgp(t)*、明恢 86 和日本晴分别进行分期播种, 结果显示, 纯合 *sgp(t)* 突变体较野生型明恢 86 的抽穗期提前 35~50 d. 在一年中, 明恢 86 和 *sgp(t)* 的抽穗期随光周期变化较小, 在三亚短日低温(11 月至次年 3 月)的抽穗期比福州长日低温下(3 月~4 月)的抽穗期长或近似. 而日本晴在三亚短日低温的抽穗期与福州长日低温抽穗期短, 且在福州随着日照的缩短, 抽穗期明显提前(图 2), 这与日本晴对光周期敏感, 抽穗期属感光类型一致. *sgp(t)* 光周期特性与明恢 86 相似, 对光周期反应较弱或不敏感, 为非感光或基本营养类型^[25](图 2).

2.2 *sgp(t)* 在不同遗传背景下均表现不完全显性作用

早熟突变体 *sgp(t)* 与其来源品种明恢 86 杂交, 正反交 F_1 杂种抽穗期相似, 在福州种植抽穗期分别为

(62.0 ± 3.5) 和 (61.8 ± 4.1) d, 比 *sgp(t)* 纯合体抽穗期 ((51.2 ± 1.0) d) 长 10 d 左右, 而比明恢 86 的抽穗期 ((86.6 ± 1.4) d) 缩短约 25 d(表 2), 暗示了 *sgp(t)* 可能是一个不完全显性早熟突变体.

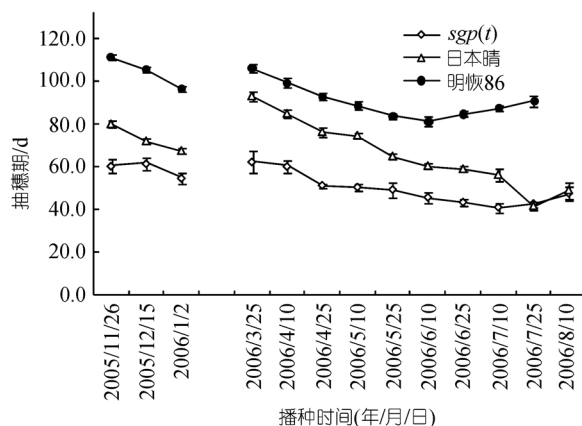


图 2 *sgp(t)* 不同播种时间的抽穗期

由于水稻感光基因间及其与非感光基因间往往存在基因互作^[26~30], 因此, 水稻抽穗期的遗传比较复杂, 同一亲本在不同的杂交组合中, 其抽穗期的遗传行为可能不同^[31]. 为了了解早熟基因 *sgp(t)* 在水稻不同遗传背景下的表现, 我们分析了 *sgp(t)* 与不同类型水稻品种杂交后代的抽穗期表现.

博白 B, 白竹粳, 明恢 63, 特青, 培矮 64 s, 99CO770, 闽恢 3301, 02428, 长粒爪和 Lemont 等 10 个品种与明恢 86 具有相似的光周期反应特性, 在三亚短日照低温条件下(12 月 10 日播种, 下同)的抽穗期明显长于在福州长日照高温下(4 月 30 日播种, 下同)的抽穗期(表 2), 属于不感光或弱感光品种. 但它们与明恢 86 杂交的 F_1 光周期反应却有所不同, 博白 B 和白竹粳与明恢 86 的杂交 F_1 在长日照高温条件下抽穗期表现超亲迟熟, 而其他品种与明恢 86 的 F_1 在长日照高温条件下抽穗期不表现超亲(表 2), 表明博白 B、白竹粳分别与明恢 86 间可能存在互补感光基因, 使它们的 F_1 抽穗期除受非感光基因的作用外, 还受互补感光基因的作用, 而其他组合 F_1 的抽穗期仍主要受非感光基因的控制.

突变体 *sgp(t)* 与这些水稻品种杂交, F_1 抽穗期明显表现早于迟熟亲本, 而且, 除与博白 B 的杂种抽穗期表现趋中外, 其他杂种抽穗期均偏向早熟亲本 *sgp(t)* 的抽穗期. 不同组合 F_1 平均抽穗期仅为 (54.8 ± 1.1)~(61.0 ± 2.0) d(表 2), 表明 *sgp(t)* 对这些非感光品

表 2 $sgp(t)$, 明恢 86 与不同遗传背景水稻品种杂交杂种 F_1 代的抽穗期^{a)}

亲本	亲本的抽穗期/d		杂种 F_1 的抽穗期(福建福州, 4/30 播种)/d	
	福建福州 4/30 播种	海南三亚 12/10 播种	与明恢 86 杂交杂种 F_1	与突变体 $sgp(t)$ 杂交杂种 F_1
$sgp(t)$	51.2±1.0	60.3±3.1	62.0±3.5 (61.8±4.1) ^{b)}	
明恢 86	86.6±1.4	109.7±1.5		62.0±3.5 (61.8±4.1) ^{b)}
明恢 63	88.9±1.4	112.9±1.3	88.6±1.4	59.6±1.9
特青	87.1±1.7	103.7±1.4	83.0±1.4	60.6±3.2
培矮 64s	87.1±1.2	103.9±1.3	85.0±1.0	57.3±2.1
99CO770	108.9±1.5	112.1±1.4	91.4±1.4	61.0±2.0
闽恢 3301	91.1±1.0	120.0±1.1	91.1±1.0	60.6±2.2
02428	85.1±1.0	100.4±1.6	84.0±0.9	55.0±1.2
长粒爪	96.4±1.3	111.2±1.1	85.0±1.2	57.5±3.0
lemont	102.9±1.2	107±1.3	84.0±0.8	59.4±1.9
博白 B	67.8±3.3	91.6±4.5	123.8±1.5	60.9±4.0
白竹粳	97.6±1.5	95.1±1.3	98.9±1.5	54.8±1.1
云引粳	108.2±1.5	101.3±2.2	84.5±1.0	61.8±4.2
晋南晚	104.2±1.3	102.8±2.5	92.8±1.0	54.0±0.0
清晴	95.9±1.5	92.6±1.7	84.0±1.6	58.0±5.3
爪哇	124.4±1.8	105.1±1.2	91.3±1.0	61.7±1.5
香粳 9707	93.1±1.3	87.6±5.1	106.3±2.5	56.0±4.0
武运粳 7 号	95.1±1.1	85.3±6.5	107.4±1.3	52.0±1.3
武香粳 14	90.9±1.0	85.6±6.2	104.0±0.3	54.6±3.1
科恢 752	93.7±1.5	108.3 ±2.8	— ^{c)}	62.7±3.0
93-11	96.9±1.5	109.4±2.2	—	61.3±2.3
明恢 77	80.8±1.6	93.5±2.8	—	61.6±4.6
明恢 81	100.3±2.8	112.4±3.5	—	60.0±3.7
珍汕 97B	69.9±1.4	91.7±3.3	—	59.8±2.4
中花 15	92.4±1.1	95.4±1.0	—	57.8±1.3
日本晴	74.3±1.4	60.8±2.4	—	55.4±2.9
3550	100.9±2.0	—	95.7±1.5	63.4±2.3
CR1 中	95.4±1.2	—	86.3±0.8	60.7±3.1
JN510	81.8±1.6	—	—	56.7±1.2
密阳 46	82.3±1.5	—	—	57.4±2.4

a) 各亲本或组合的抽穗期值为平均抽穗期±标准差; b) 正交 F_1 代(明恢 86/ $sgp(t)$)抽穗期, 括号中的值为反交 F_1 代($sgp(t)$ /明恢 86)抽穗期; c) “—”表示此项没有调查

种的抽穗期不仅具有显性效应, 而且能够抑制它们(如博白 B 和白竹粳)与明恢 86 间存在的互补感光基因的作用。

感光品种云引粳、晋南晚、清晴、爪哇、香粳 9707、武运粳 7 号和武香粳 14 等品种在三亚短日低温条件下的抽穗期较在福州长日照高温条件下的短, 其中云引粳、晋南晚、清晴和爪哇 4 个品种分别与明恢 86 杂交, F_1 在长日照高温条件下不表现超亲迟熟(表 2), 表明这些感光品种可能存在隐性感光基因或明恢 86 存在这些感光品种感光基因的抑制基因。而香粳 9707、武运粳 7 号和武香粳 14 分别与明恢 86 杂交, F_1 在长日照高温条件下的抽穗期表现显著的超亲迟熟(表 2), 表明他们存在显性感光基因或与明恢 86 间存在互补感光基因。这些感光品种与 $sgp(t)$ 的 F_1

抽穗期仍表现中亲偏早熟亲本(不同品种平均抽穗期为(52.0±1.3) ~ (61.8±4.2) d), 进一步表明 $sgp(t)$ 对这些感光基因的显性或抑制效应仍然存在, 能够抑制这些品种的显性感光基因或感光互补基因。

将突变体 $sgp(t)$ 与另外 11 个品种(对这些品种的感光特性我们没有进行详细实验)杂交, F_1 的抽穗期也均显示早于迟熟亲本, 而偏向早熟亲本 $sgp(t)$ 的特征(表 2)。从上述分析可以看出, $sgp(t)$ 与不同类型水稻品种杂交, F_1 的平均抽穗期都比迟熟亲本抽穗期短, 绝大多数偏向 $sgp(t)$ 的抽穗期, 表明 $sgp(t)$ 的不完全显性早熟特性受遗传背景的影响较小。当然, 不同亲本组合 F_1 抽穗期也略有不同, 最短的组合, 如武运粳 7 号与 $sgp(t)$ 的 F_1 平均抽穗期只有(52.0±1.3) d; 而最长的如 3550 与 $sgp(t)$ 的 F_1 杂种平均抽穗期却达(63.4±

2.3) d. 这表明不同杂交组合间抽穗期也存在不同程度的差异, 这种差异一种可能是其他基因对 $sgp(t)$ 基因存在一定的修饰作用, 另一种可能是 $sgp(t)$ 不同复等位基因的互作影响, 或者上述两种影响都存在.

2.3 早熟突变体 $sgp(t)$ 由一个不完全显性基因控制

突变体 $sgp(t)$ 分别与明恢 86, 93-11 和闽恢 3301 杂交, 它们的 F_2 群体的抽穗期总体上均显示三峰分布, 但极早熟组与较早熟组相差较少, 存在相互交叉, 不易分组(图 3(a)~(c)). 将极早熟组和较早熟组合并, 合并后植株数与迟熟组植株数之比 χ^2 检验符合 3:1 (表 3), 表明突变体 $sgp(t)$ 的早熟性是由一个不完全显性基因控制.

但 $sgp(t)$ 与博白B杂交, F_2 群体抽穗期分离虽然也呈三峰分布, 极早熟和中间类型植株数之和与迟熟植株数之比符合 3:1 (表 3), 但部分迟熟个体表现超亲迟熟, 且中间类型介于两亲本间并偏向迟熟亲

本(图 3(d)), 博白 B 对突变体 $sgp(t)$ 表现弱的不完全显性. 这是否表明博白 B 存在一对不同于其他品种的 $sgp(t)$ 的复等位基因, 该等位基因对 $sgp(t)$ 显示弱的不完全显性, 但受突变体 $sgp(t)$ 中其他迟熟基因的修饰, 从而产生超亲迟熟? 尚有待进一步研究.

2.4 $sgp(t)$ 的分子标记定位

选取 406 个均匀分布在水稻 12 条染色体的SSR 标记, 对 $sgp(t)$ 突变体和 93-11 进行多态性分析, 其中 88 个SSR标记在两亲本间有多态性, 用这 88 个标记分析以BSA法建成的极早熟DNA池和迟熟DNA池多态性, 结果发现第 6 号染色体上的SSR标记RM3628 在两池间表现出多态性. 进一步利用该标记和它附近的两亲本间表现多态的标记, 对 F_2 ($sgp(t)$ 突变体/93-11)群体中 200 株极早熟突变个体进行分析, 应用MAPMAKER3.0 将 $SGP(t)$ 基因初步定位在RM3628 和 RM439 两标记之间.

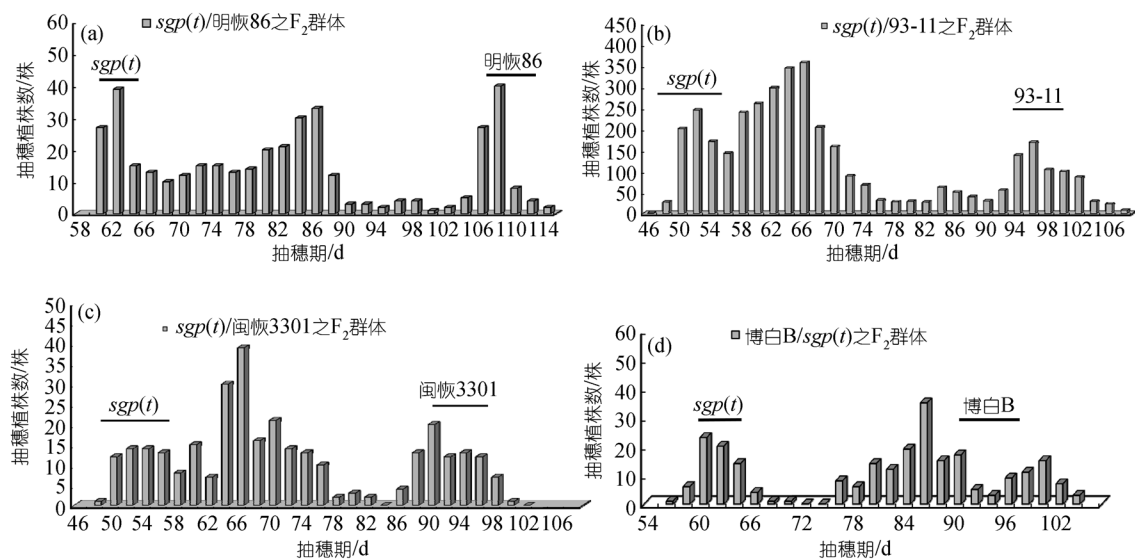


图 3 $sgp(t)$ 分别与明恢 86, 93-11, 闽恢 3301 及博白B杂交杂种 F_2 群体抽穗期分布 (a)和(d)为 2006 年 12 月海南种植数据; (b)和(c)为 2006 年 4 月福州种植数据

表 3 杂种 F_1 及 F_2 代抽穗期的表型

组合	F_1 表型	F_2 极早熟、较早熟与迟熟植株数				$\chi^2(3:1)^b$
		极早熟 ^{a)}	较早熟 ^{a)}	迟熟	总数	
$sgp(t)$ /明恢 86	较早熟	(94)	(204)	96	394	0.08
$sgp(t)$ /93-11	较早熟	(789)	(2082)	951	3822	0.03
$sgp(t)$ /闽恢 3301	较早熟	(62)	(172)	82	316	0.15
博白 B/ $sgp(t)$	较早熟	70	126	53	249	1.83

a) 括号中的数字表示部分单株类型的划分存在模糊; b) 此栏中的数值为 F_2 群体中极早熟组和较早熟组株数之和与迟熟组株数之比 χ^2 分析结果, $\chi^2_{0.05} = 3.84$

随后,根据 $SGP(t)$ 基因在RM3628和RM439之间,利用已经公布的水稻日本晴和93-11基因组序列,用简单重复序列搜索软件(SSRIT)^[32]在基因目标区段发展了43个新的SSR标记,发现6个新的SSR标记在 $sgp(t)$ 和93-11之间有多态性(表4)。其中利用NSSR0604继续分析上述200株极早熟突变个体,进一步将 $SGP(t)$ 基因定位在标记NSSR0604和RM439之间(图4(a))。在此基础上,我们利用另外5个标记分析了 F_2 ($sgp(t)$ 突变体/93-11)群体的极早熟单株和迟熟单株(共计1172株),将 $SGP(t)$ 基因进一步精细定位在NSSR0617和NSSR0683之间,两标记与 $SGP(t)$ 的遗传距离分别为0.5和0.6 cM。根据第6号染色体的物理图谱看,这两个标记间还有3个BAC/PAC,物理距离约436 kb(图4(b))。

3 讨论

在目前已报道的水稻早熟突变体资源中,绝大

多数早熟突变体相对于原品种只能缩短生育期在20 d以内^[5-9],能够使原品种生育期缩短30~50 d的早熟突变体很少见报道。原丰早是迄今唯一报道相对原品种抽穗期缩短最大的早熟突变体,是利用 IR_8 辐射诱变获得的早熟突变体材料选育的一个水稻早熟品种,比原品种 IR_8 早45 d,曾为长江中下游等省市水稻主栽品种之一。遗传分析表明原丰早的早熟性主要受两对不完全显性基因控制^[18]。

本研究发现的水稻短生育期突变体 $sgp(t)$ 相对原品种明恢86的生育期,能够提早35~50 d。将 $sgp(t)$ 在不同的生态区域不同的时间种植,发现 $sgp(t)$ 早熟特性对光周期反应不敏感,是一个非感光早熟突变体。遗传分析显示它受一对不完全显性核基因控制。 $sgp(t)$ 基因在不同的遗传背景下对水稻抽穗期均显示较大的遗传效应,表明该基因可能是控制水稻抽穗期的一个关键基因。

利用分子标记,我们将 $sgp(t)$ 基因定位在水稻的

表4 新开发的在两亲本间表现多态性的SSR标记

标记编号	引物序列	所在 BAC/PAC	片段大小/bp
NSSR0604	5'-CCCCAGTTCTCACAGCAT-3' 5'-CTACGGACTTTGGCACGA-3'	AP005453	239
NSSR0614	5'-CTCGTCGCCTCTTGGA-3' 5'-GCCCTCACGCTGCTCTTC-3'	AP003628	201
NSSR0617	5'-CCTGATTGTTGTGGGGATAG-3' 5'-TGCTCATTTGAATTGGGTAT-3'	AP005192	303
NSSR0627	5'-TTACCAACTGAACGTTACAC-3' 5'-GCTGAGTTCCTCGTCTATC-3'	AP004797	393
NSSR0644	5'-TGTC AAGATGTCTATTTCG-3' 5'-TATTTATTGTGTTGGTGGT-3'	AP003728	364
NSSR0683	5'-GGACACCATCGTGGAGGAAG-3' 5'-CGCCGTCGTTGTAGTAAATAG-3'	AP004989	282

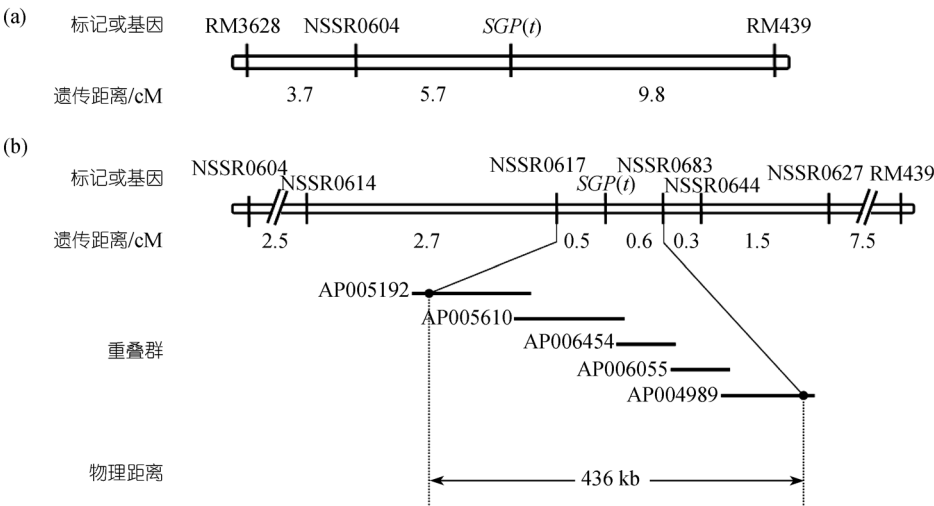


图4 $SGP(t)$ 基因在水稻第6染色体上的分子标记定位

(a) $SGP(t)$ 基因的初步定位(200株极早熟个体); (b) $SGP(t)$ 基因的精细定位(1172株极早熟或迟熟个体)

第6号染色体长臂上。目前已克隆的抽穗期基因中,有两个抽穗期基因*Hd1*和*Hd3*(*Hd3a*和*Hd3b*)位于第6号染色体上,但它们都对光周期敏感,且都定位在第6号染色体的短臂上^[33~35],显然与*sgp(t)*不同。在已报道的5个显性早熟基因中,*Efl*和*Efx*是较早较广泛研究的两个显性早熟基因,已被分别定位在10和2号染色体上^[5,6]。邓晓建等^[9]报道了早粳核不育系6442s-7的2个完全显性早熟基因,其中一个*Ef-cd(t)*也定位于第3染色体上;而D64B中的早熟基因*Ef-3(t)*定位于2号染色体上^[7]。迟熟基因中,*efl*和*efl-h*与*Efl*等位在10号染色体上^[12,13],*ef4*与*Efx*等位位于3号染色体^[15],*ef2*定位在9号染色体上^[14],*ef6*和*lf-3*均定位在7号染色体上^[17,36]。只有*ef5*染色体定位在第6号染色体上,但*ef5*与糯性基因*wx*连锁较紧密,其重组值大约12.9%^[16];而根据Oryzabase数据库(<http://www.shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/genes/mapAction.do?categoryNo=0&chromosomeNo=6>)和GenBank数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)信息资源分析,*wx*基因(AK070431)位于6号染色体8.2cM处的PAC克隆AP002542上,*sgp(t)*定位在第6号染色体109.5cM处,*sgp(t)*与*ef5*的位置不同。*ef3*尚未染色体定位,但与*ef5*的等位分析结果表明,*ef3*可能不在第6号染色体上^[16]。因此,我们发现的早熟基因*sgp(t)*是一个新的控制水稻生育期基因。目前正在对*sgp(t)*基因进一步精细定位,以期图位克隆该基因。

由于水稻抽穗期不仅存在等位和非等位基因间的互作,也存在同一位点、不同效应的多个复等位基因的分化,使得水稻抽穗期的遗传比较复杂,同一亲

本在不同的杂交组合中,其抽穗期的遗传行为可能不同^[31]。突变体*sgp(t)*与不同遗传背景品种杂交,均表现不完全显性早熟,暗示了*sgp(t)*在控制水稻抽穗期的主效基因作用。但不同杂交组合间抽穗期也存在不同程度的差异,这种差异一种可能是存在其他基因的修饰作用,另一种可能是受*sgp(t)*不同复等位基因的互作影响。博白B是一个早熟品种,但*sgp(t)*与博白B的F₁抽穗期表现较长,相对博白B的抽穗期缩短较少(表2),博白B相对*sgp(t)*的抽穗期显示弱的不完全显性(图3(d)),这表明博白B中可能存在不同的*sgp(t)*复等位基因,对该复等位基因的遗传机制有待进一步研究。

水稻早熟性育种一直是人们十分感兴趣的问题。杂交稻不育系的生育期往往较短,而恢复系的生育期一般较长,杂交稻抽穗期主要受恢复系迟熟基因的限制。目前发现的一些早熟突变体,或受多基因控制,或对水稻抽穗期的遗传效应较小,或受遗传背景的影响大等,这些缺陷大大限制了这些早熟基因在育种上的应用。*sgp(t)*是目前已报道对水稻抽穗期遗传效应较大的早熟突变体,受单基因控制且在不同的遗传背景下均显示主基因作用。一方面,纯合的*sgp(t)*抽穗期极短,正常季节全生育期90d左右。单基因控制,遗传简单,容易通过回交转育获得各种类型的早熟材料。但另一方面,由于纯合突变体抽穗期太短,可能影响水稻产量。可以利用杂合突变体的不完全显性特征,特别是不同复等位基因的效应差异,通过不同组合获得抽穗期相对长(如接近不育系抽穗期)的一些水稻早熟组合,减少生育期过短可能对产量的影响。

参考文献

- 1 曾红权,尹建华,刘宜柏.水稻早熟性研究进展.江西农业大学学报,2004,26(2):221—227
- 2 罗林广,翟虎渠,万建民.水稻抽穗期的遗传学研究.江苏农业学报,2001,17(2):119—126
- 3 董春林,孙业盈,邓晓建.水稻抽穗期基因研究进展.中国农学通报,2005,21(6):75—78
- 4 岳兵,邢永忠.水稻抽穗期分子遗传研究进展.分子植物育种,2005,3(2):222—228
- 5 Sato S, Sakamoto I, Shirakawa K, et al. Chromosomal location of an earliness gene *Efl* of rice (*Oryza sativa* L.). Jpn J Breed, 1988, 38: 385—396
- 6 Sato S, Ogata K, Shinjyo C. Thermo-sensitive action of an earliness gene *Ef-x* in rice, *Oryza sativa* L. Jpn J Genetics, 1992, 67(6): 473—482^[DOI]
- 7 Yang Y J, Wang X D, Wu X J, et al. The discovery, genetic analysis and mapping of earliness rice (*Oryza sativa* L.) D64B. Acta Genet Sin, 2005, 32(5): 495—500
- 8 邓晓建,周开达,李仁端,等.水稻核不育系6442S-7显性早熟性的遗传分析.遗传学报,2001,28(7):628—634
- 9 邓晓建,周开达,李仁端,等.水稻完全显性早熟性的发现和基因定位.中国农业科学,2001,34(3):233—239
- 10 Tsai K H. Gene loci and alleles controlling the duration of basic vegetative growth of rice. In: IRRI, ed. Rice Genetics. Proceedings of the First Rice Genetics Symposium, IRRI, Manila, 1986. 339—349

- 11 Tsai K H. Genes for late heading and their interaction in the background of *Taichuang 65*. In: IRRI, ed. *Rice Genetics II: Proceedings of the Second Rice Genetics Symposium*, IRRI, Manila, 1991. 211—215
- 12 Tsai K H. A gene accelerating the heading of late lines with *ef-1* allele. *Rice Genet Newsl*, 1993, 10: 83
- 13 Nishida H, Inoue H, Okumoto Y, et al. A novel gene *ef1-h* conferring an extremely long basic vegetative growth period in rice. *Crop Sci*, 2002, 42: 348—354
- 14 Khun L H, Motomura K, Murayama S, et al. Trisomic analysis of a lateness genes in rice. *Breed Sci*, 2005, 55: 35—39[DOI]
- 15 Khun L H, Motomura K, Murayama S, et al. Linkage analysis of a lateness gene *ef4* in rice, *Oryza sativa* L. *Breed Sci*, 2005, 55: 231—235[DOI]
- 16 Khun L H, Hiraiwa M, Sato S, et al. Location of new gene for late heading in rice, *Oryza sativa* L. Using Interchange Homozygotes. *Breed Sci*, 2004, 54(3): 259—263[DOI]
- 17 李仕贵, 马玉清, 王文明, 等. 一个新的水稻迟熟基因的遗传分析和分子标记定位. *遗传学报*, 2000, 27 (2): 133—138
- 18 孙嫩芝, 金卫, 骆倩. 水稻突变品种原丰早抽穗期的遗传分析. *浙江农业学报*. 1990, 2(3): 97—101
- 19 Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high-molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*, 1980, 8: 4321—4325[DOI]
- 20 Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V, et al. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregation analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregation population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 9828—9832[DOI]
- 21 McCouch S R, Teytelman L, Xu Y B, et al. Development and mapping of 2240 new SSR markes for rice (*Oryza sativa* L). *DNA Research*, 2002, 9: 199—207[DOI]
- 22 Panaud O, Chen X, McCouch S R. Development microsatellite markers characterization of simple sequence length polymorphism (SSLPs) in rice (*Oryza sativa* L). *Mol Gen Genet*, 1996, 259: 597—607
- 23 许绍斌, 陶玉芬, 杨昭庆, 等. 简单快速 DNA 银染和胶保存方法. *遗传*, 2002, 24 : 335—336
- 24 Lander E S, Green P, Abrahamson J, et al. Mapmaker: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1987, 1: 174—181[DOI]
- 25 郑家团, 张建新, 罗家密, 等. 重穗型恢复系明恢 86 及其配制组合的选育. *福建农业大学学报*, 1998, 27(3): 279—284
- 26 Ichitani K, Okumoto Y, Tanisaka T. Genetic analysis of the rice cultivar Kasalath with special reference to two photoperiod sensitivity loci, *E1* and *Se-1*. *Breed Sci*, 1998, 48: 51—57
- 27 Ichitani K, Okumoto Y, Tanisaka T. Genetic analyses of low photoperiod sensitivity of rice cultivars from the northernmost regions of Japan. *Plant Breed*, 1998, 117: 543—547[DOI]
- 28 Ichitani K, Inoue H, Nishida H, et al. Interactive effects of two heading-time loci, *Se1* and *Ef1*, on pre-flowering developmental phases in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2002, 126: 227—234[DOI]
- 29 Poonyarit M, Mackill D J, Vergara V S. Genetics of photoperiod sensitivity and critical daylength in rice. *Crop Sci*, 1989, 29: 647—652
- 30 Sano Y. A dominant suppressor for the photoperiod sensitivity gene *Se1* detected in a photoperiod insensitive cultivar of Indica type. *Rice Genet Newsl*, 1990, 7: 103—105
- 31 周元昌, 蔡俊迈, 李维明. 杂交水稻 IR54 及其早熟突变系 5460 的抽穗期遗传分析. *核农学报*, 1994, 8(3): 149—153
- 32 Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, et al. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L): Frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Res*, 2001, 11: 1441—1452[DOI]
- 33 Yano M, Katayose Y, Ashikari M, et al. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell*, 2000, 12: 2473—2483[DOI]
- 34 Monna L, Lin H X, Kojima S, et al. Genetic dissection of a genomic region for quantitative trait locus, *Hd3*, into two loci, *Hd3a* and *Hd3b*, controlling heading date in rice. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 772—778[DOI]
- 35 Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, et al. *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43: 1096—1105[DOI]
- 36 Khun L H, Miyaji S, Motomura K, et al. Trisomic analysis of new gene for late heading in rice, *Oryza sativa* L. *Euphytica*, 2006, 151: 235—242[DOI]