

王士磊, 丁正权, 黄海洋. 水稻隐性早熟突变体 *ref* 早熟性的遗传分析和基因定位[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(4): 721-724.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.04.001

水稻隐性早熟突变体 *ref* 早熟性的遗传分析和基因定位

王士磊, 丁正权, 黄海洋

(嘉兴市农业科学研究院, 浙江 嘉兴 314016)

摘要: 为了更好地理解水稻早熟性的遗传机制, 对隐性早熟突变体 *ref* 进行了遗传分析和基因定位。突变体 *ref* 对光周期不敏感, 与 6 个晚熟品种(系)杂交 F_1 代均为晚熟。*ref*×嘉禾 218 F_2 分离群体抽穗期呈现连续双峰分布, 早抽穗和晚抽穗之比符合 1:3 的分离比, 表明 *ref* 早熟性主要受 1 对隐性早熟基因控制。 F_2 群体中 1 005 株早熟和晚熟单株组成定位群体, 混合基因池分析发现 5 号染色体上 SSR 标记 *RM7302* 和 *RM3853* 与突变体 *ref* 早熟基因连锁。构建 5 号染色体的连锁图谱, 进行表型和标记基因型的连锁分析, 进一步确认突变体 *ref* 早熟基因定位在标记 *RM7302* 和 *RM3853* 之间 18.32 cM 的遗传区间内。

关键词: 水稻; 隐性早熟突变体; 抽穗期; 遗传分析; 基因定位

中图分类号: S511.032 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2016)04-0721-04

Inheritance and gene mapping of recessive earliness in rice (*Oryza sativa* L.)

WANG Shi-lei, DING Zheng-quan, HUANG Hai-xiang

(Jiaxing Academy of Agricultural Sciences, Jiaxing 314016, China)

Abstract: To uncover the genetic mechanism regulating early flowering in rice, a newly identified mutant *ref* was genetically analyzed and mapped for earliness genes. *Ref* was insensitive to photoperiodic response. The F_1 progenies, derived from *ref* and six late flowering accessions, expressed late flowering. The heading date in *ref*×Jiahe218 F_2 population displayed continuous and bimodal frequency distributions, and the ratio early flowering plants to late flowering plants followed a 1:3 segregation ratio, suggesting that earliness was controlled by a pair of recessive genes. A total of 1 005 early/late flowering plants derived from F_2 generation was selected to construct the gene mapping population. Bulk segregation analysis identified SSR markers *RM7302* and *RM3853* on chromosome 5 associated with earliness genes. With further linkage analysis, earliness gene was finally mapped to an interval of 18.32-cM region between SSR markers *RM7302* and *RM3853* on the genetic map of chromosome 5.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); recessive earliness; heading date; inheritance; gene mapping

水稻是中国主要粮食作物, 培育早熟高产的水

稻品种一直是育种家的主要目标之一^[1-3]。普通栽培稻起源于低纬度地区, 经过长期驯化和选择, 已在中国广泛栽培, 适当的早熟有利于品种在严寒和逆境来临前完成生命周期, 优化特定地区的稻作结构。

根据国家水稻数据中心 (<http://www.ricedata.cn/gene/index.htm>) 的统计, 迄今为止报道的早熟突变体有 *m-Ef*、*Su-Ef-cd*、*Efcd*、*ef(t)*、*Efy*、*Efx*、*w-Ef-1*、*Ef3*、*Ef-1*, 其中显性早熟基因 *Ef-1* 被克隆。Tsai

收稿日期: 2015-12-27

基金项目: 嘉兴市科技项目 (2010AZ2017、2011AZ1021、2012AY1053、2013BZ26001); 浙江省公益项目 (2013C32028)

作者简介: 王士磊 (1983-), 男, 山东莘县人, 硕士, 农艺师, 从事水稻遗传育种工作。 (Tel) 15888309034; (E-mail) wangshilei2010@126.com

通讯作者: 黄海洋, (Tel) 0573-83777114; (E-mail) jiahe218@live.cn

等^[4]和 Ichitani 等^[5]最先报道了早熟突变体 *Ef-1*, *Ef-1* 控制水稻的基本营养生长 (Basic vegetative growth, BVG), 对光周期不敏感。*w-Ef-1* 对突变体 *Ef-1* 的早熟性起减弱效应^[6]。*Efcd* 位点影响水稻抽穗期和成熟, 携带 *Efcd* 位点的早籼核不育系 6442S-7 表现完全显性早熟特性^[7]。早熟显性抑制基因 *Su-Ef-cd* 可部分抑制 6442S-7 基因的表达^[8]。本研究对一水稻早熟突变体 *ref* 进行遗传分析和基因定位, 探讨水稻早熟性遗传机制以及突变体 *ref* 的育种利用价值。

1 材料与方法

1.1 水稻早熟突变体 *ref*

2011 年秋, 在嘉兴市农业科学院自育中间材料 1352 中发现 1 株早熟水稻, 株叶型较优, 穗粒数多, 籽粒细长, 具有一定的育种价值。2012、2013 年在海南、嘉兴连续 2 年 4 季种植, 其早熟性稳定, 株型等农艺性状未见分离。为确定其早熟性遗传规律, 用该材料与晚熟品种 (系) 杂交, 观察后代熟性表现, 发现其早熟性呈现隐性单基因遗传, 暂命名为 *ref*。

1.2 田间试验、性状调查和统计分析

将早熟突变体 *ref* 分别与 6 个晚熟品种 (系) 嘉禾 212、嘉禾 218、嘉禾 258、秀水 134、秀水 128 和嘉 58 杂交, 获得杂交种。2014 年, 在海南省陵水县种植 F_1 代, 观察 F_1 抽穗期表现。选择 *ref* × 嘉禾 218 F_2 作为基因定位群体。田间调查 F_2 群体单株抽穗期, 采集叶片样本。本研究中熟期用抽穗期表示, 单株抽穗期为播种到单株主茎穗露出叶鞘 1/3 的天数。统计分析使用 Excel 软件。

1.3 标记分析和基因定位

基因定位群体由 *ref* × 嘉禾 218 F_2 群体中极端早抽穗和晚抽穗的单株组成。按单株提取叶片 DNA, 随机选择 10 株极端早抽穗植株的 DNA 混合组成早熟基因池, 10 株晚抽穗植株的 DNA 混合组成晚熟基因池。

分子标记选用 SSR 标记。在双亲间进行多态性标记筛选, 带型明显、多态性好的标记用于扩增双亲 DNA、早熟基因池和晚熟基因池, 以获得 *ref* 连锁标记。用连锁标记及其邻近标记检测定位群体基因型, 使用 MAPMAKER/EXP3.0 软件构建连锁图谱, 连锁分析确定基因 *ref* 的位置。

2 结果与分析

2.1 水稻早熟突变体 *ref* 的特征特性

ref 是在田间发现的早熟突变体, 其早熟性对光周期反应不敏感。2012 年, 嘉兴和海南正常光温下, 自播种到抽穗分别历时 (83.2 ± 1.0) d、 (82.6 ± 0.7) d, 差异不显著。*ref* 株高 (87.4 ± 3.4) cm, 有效分蘖 (7.0 ± 2.0) 个, 每穗粒数 (131 ± 11) 粒, 籽粒为细长粒型。

2.2 早熟突变体 *ref* 早熟性遗传分析

ref 分别与晚熟品种 (系) 嘉禾 212、嘉禾 218、嘉禾 258、秀水 134、秀水 128 和嘉 58 人工杂交, F_1 代抽穗期均与晚熟品种相似。选择 *ref* × 嘉禾 218 的后代自交获得 F_2 代, 群体大小为 1 846 株。*ref* × 嘉禾 218 的 F_1 抽穗期 112 d, 长于高亲值嘉禾 218。 F_2 出现极端抽穗期, 最短抽穗期 76 d, 最长抽穗期 115 d, 抽穗期次数分布呈现连续双峰分布, 峰谷为 97 d (图 1)。从峰谷处将群体分为早熟和晚熟 2 组, 每组分别有 498 株和 1 348 株, 卡平方测验符合 1:3 分离比 ($\chi^2 = 3.744$, $\alpha = 0.05$)。遗传分析结果表明 *ref* 的早熟性受 1 对隐性主基因控制, F_2 群体抽穗期的分离同时受到微效基因和修饰基因的作用。

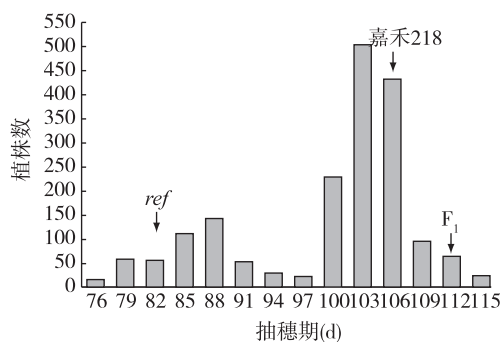


图 1 *ref* × 嘉禾 218 F_2 群体抽穗期的次数分布图

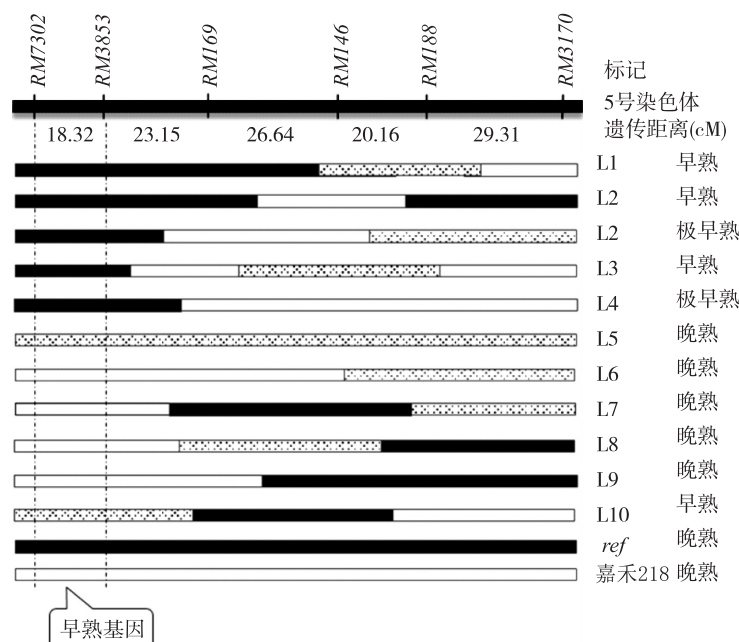
Fig.1 Frequency distribution of heading date in F_2 population of *ref* × Jiahe218

2.3 早熟突变体 *ref* 早熟基因定位

在双亲间筛选了 281 对 SSR 引物, 获得 77 对有多态的标记, 多态率为 27.4%。用多态标记分别扩增 *ref*、嘉禾 218、早熟基因池和晚熟基因池, 发现 5 号染色体上标记 RM7302、RM3853 在双亲、早熟基因池和晚熟基因池间表现多态。用 5 号染色体上 6

个 SSR 标记分析 389 株早熟和 616 株晚熟单株基因型,构建 5 号染色体的连锁图谱。对表型和基因型进行连锁分析,发现 *RM7302*-*RM3853* 为 *ref* 纯合的

单株均表现早熟,进一步确认早熟突变体 *ref* 早熟基因位于标记 *RM7302* 与 *RM3853* 之间,标记间遗传距离为 18.32 cM(图 2)。



黑色框代表 *ref* 纯合基因型,白色框代表嘉禾 218 纯合基因型,网格代表杂合基因型。L1~L10 为基因定位中的关键交换单株。

图 2 早熟基因在遗传图谱上的位置

Fig.2 The location of earliness genes on the genetic map

3 讨论

抽穗期是水稻的重要农艺性状,抽穗期基因研究一直是水稻遗传研究的热点。利用突变体和 QTL 定位方法鉴定、克隆了很多抽穗期相关位点和基因,抽穗期 *HD1*、*HD3*、*HD6*、*HD17*,早穗基因 *Ehd1*、*Ehd2*、*Ehd3* 和 *Ehd4*,光周期基因 *Se1*、*Se3* 和 *Se5*,早熟基因 *Ef-1* 以及迟熟基因 *ef1-h* 等均已被克隆。其中,*Hd1* 和 *Se-1*^[9] 等位,*Ef-1*、*Ehd1* 和 *ef1-h*^[10-11] 等位。在早熟基因定位方面,*Ef-1*、*m-Ef* 和 *ef(t)* 定位在 10 号染色体上,*Efd* 和 *Efx* 定位在 3 号染色体,*Su-Ef-cd* 和 *Ef3* 分别定位在 8 号和 2 号染色体,*Efy* 和 *w-Ef-1* 未被定位 (<http://www.ricedata.cn/gene/index.htm>)。本研究中 *ref* 早熟基因定位在 5 号染色体 *RM7302* 标记和 *RM3853* 标记之间 18.32 cM 的遗传区间内,在这一区间未见报道与抽穗期相关基因,因此 *ref* 早熟基因是一个新的早熟基因。

早熟高产育种对水稻生产发展具有重要意义,但品种的早熟性与高产、优质之间存在一定的矛盾,

往往不可兼得。发掘早熟、丰产性好的水稻新材料,通过回交、分子育种等手段定向转育早熟基因,是早熟、高产育种的有效途径^[12]。目前报道的早熟突变体虽然能够缩短生育期,但往往伴随株叶型的变化,造成丰产性下降,限制了早熟基因的利用。本研究中突变体 *ref* 的早熟基因是隐性早熟突变,且具有较好的丰产性。在 *ref*×嘉禾 218 *F*₂ 群体中,隐性纯合 *ref* 早熟基因能显著缩短抽穗期 22~31 d。利用这一优点可以从 *F*₂ 群体中选出适度早熟、株型优、丰产性好的株系用于早熟高产新材料的选育。杂交水稻为中国粮食安全做出重大贡献,而杂种 *F*₁ 普遍存在超亲迟熟的现象。如果将 *ref* 早熟基因通过定向转育同时导入到不育系和恢复系中,创制早熟优质的不育系和恢复系亲本与组合,能够克服杂种 *F*₁ 超亲迟熟的障碍。

参考文献:

- [1] 景德道,钱华飞,林添资,等. 早熟晚粳稻新品种镇稻 18 号的选育及丰产稳产性分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(4): 88-89,164.

- [2] 曾红权,尹建华,刘宜柏.水稻早熟性研究进展[J].江西农业大学学报,2004,26(2):221-227.
- [3] 戴高兴,邓国富,陈仁天,等.早晚兼用型超级稻新品种桂两优2号的选育及应用[J].南方农业学报,2015,46(4):560-563.
- [4] TSAI K. Studies on earliness genes in rice, with special reference to analysis of isoalleles at the *E* locus[J]. The Japanese Journal of Genetics, 1976, 51(2): 115-128.
- [5] 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.) [J]. Euphytica, 2002, 126(2): 227-234.
- [6] TSAI K. A gene, *w-Ef-1(t)*, for weakening the effect of early-heading[J]. Rice Genetics Newsletters, 1996, 13: 78-80.
- [7] 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[J].中国农业科学,2001,34(3):233-239.
- [8] 蒋佩琪,淳泽,邓晓建,等.水稻早熟基因显性抑制基因的遗传分析和分子标记定位[J].四川大学学报:自然科学版,2003,40(2):377-381.
- [9] 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* [J]. The Plant Cell, 2000, 2(12): 2473-2484.
- [10] SAITO H, YUAN Q, OKUMOTO Y, et al. Multiple alleles at *Early flowering 1* locus making variation in the basic vegetative growth period in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 119(2): 315-323.
- [11] NISHIDA H, INOUE H, OKUMOTOY, et al. A novel gene *ef1-h* conferring an extremely long basic vegetative growth period in rice [J]. Crop Science, 2002, 42: 348-354.
- [12] 汪秀志,汪旭东,吴先军,等.水稻早熟性研究进展[J].中国农学通报,2004,20(3):129-132.

(责任编辑:张震林)