

水稻显性感光抑制基因 $Su-E_1(t)$ 的定位及遗传分析

周振玲¹, 孙志广^{1,2}, 徐卫平¹, 徐艳¹, 杨波¹, 刘艳¹, 王宝祥¹, 江玲², 徐大勇^{1,2}

(¹ 连云港市农业科学院, 连云港 222000; ² 南京农业大学农学院, 南京 210095)

摘要: 利用粳稻品种 Asominori 和籼稻品种 IR24 衍生的重组自交系群体, 在南京和海南 2 种自然环境下对水稻抽穗期 QTL 进行检测, 分别检测到 5 个和 6 个影响抽穗期的 QTL, 其中位于第 6 染色体的 $qDTH-6$ 在 2 种环境下都能被检测到, LOD 值分别为 6.28 和 12.93, 贡献率分别为 12.26% 和 17.18%。对以 Asominori 为背景、在 $qDTH-6$ 处置换了 IR24 片段的染色体片段置换系 CSSL45 及背景亲本进行人工短日照处理, 发现 $qDTH-6$ 来自籼稻 IR24 的等位基因具有显性感光抑制效应。利用抽穗期基因型测验系和 9311 等一些常规稻与 CSSL45 杂交分析, 进一步证实了 $qDTH-6$ 的显性感光抑制功能, 并初步判断其抑制对象为主效感光基因 E_1 ($Ghd7$), 本研究将其命名为 $Su-E_1(t)$ 。同时利用 CSSL45 × Asominori 次级 F_2 群体分别在人工短日照和自然长日照条件下对 $Su-E_1(t)$ 进行了进一步定位, 将其定位在 SSR 标记 RM527 附近。本研究对有效地解决水稻籼粳亚种间杂种生育期超亲晚熟的难题具有重要意义。

关键词: 水稻; 抽穗期; QTL; 感光抑制基因

Genetic Mapping of a Dominant Photosensitive Suppressor Gene, $Su-E_1(t)$ in *Oryza Sativa*

ZHOU Zhen-ling¹, SUN Zhi-guang^{1,2}, XU Wei-ping¹, XU Yan¹, YANG Bo¹,

LIU Yan¹, WANG Bao-xiang¹, JIANG Ling², XU Da-yong^{1,2}

(¹ Lianyungang Academy of Agricultural Sciences, Lianyungang 222000;

² Agricultural College of Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: The recombinant inbred line population, which was derived from a hybridization of the japonica variety Asominori and the indica variety IR24, was deployed for the quantitative trait locus (QTL) mapping for the genetic components underlying the heading date (HD) in two environments (Nanjing and Hainan, both from China). As a result, five and six QTLs were detected from both locations respectively. Of them, this locus $qDTH-6$ on chromosome 6 could be simultaneously detected with LOD values of 6.28 and 12.93, and with the contribution rates of 12.26% and 17.18%, respectively. Moreover, this line CSSL45, which is one of IR24 chromosome segment substitution lines (CSSL) and which contains $qDTH-6$, and its background parental line were treated under short-day (SD) condition. The $qDTH-6$ allele from IR24 showed dominant photo-inhibition. By analyzing a set of heading date tester lines and some tester cultivars crossed with CSSL45, we speculated that the $qDTH-6$ allele from IR24, which names $Su-E_1(t)$, inhibited the function of photoperiod-sensitive gene E_1 ($Ghd7$). Using CSSL45 × Asominori secondary F_2 population, $Su-E_1(t)$ was further localized close to SSR marker RM527. Taken together, the results might be of significance in order to shorten the heading date of indica-japonica hybrid.

Key words: rice; heading date; QTL; photosensitive suppresser gene

收稿日期: 2019-12-05 修回日期: 2019-12-24 网络出版日期: 2020-03-27

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191205003>

第一作者研究方向为水稻遗传育种, E-mail: zhouzhenling0910@163.com

通信作者: 徐大勇, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: xudayong3030@sina.com

基金项目: 江苏省政策引导类计划(苏北科技专项)(LYG-SZ201930); 江苏省六大人才高峰项目(NY214); 连云港市财政专项(QNJ1803); 现代农业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-01-61)

Foundation project: Special Project of Science and Technology in Northern Jiangsu Province (LYG-SZ201930), Project of Jiangsu provincial Six Talent Peaks (NY214), The Financial Grant Support Program of Lianyungang City (QNJJ1803), Project Supported by Special Fund for Construction of Modern Agricultural Technology System (CARS-01-61)

抽穗期是决定水稻品种地区与季节适应性的重要农艺性状。抽穗期的长短主要由品种的感光性、感温性和基本营养生长性决定^[1-2],其中感光性的强弱与水稻品种的栽培布局最为密切。近些年在多个群体中定位了 600 多个控制水稻抽穗期的数量性状位点(QTL)^[3-4],部分抽穗期 QTL 已被成功克隆^[5],并从光周期对水稻开花期的调控途径和作用机理角度进行了阐述^[6],为水稻抽穗开花调控网络的解析提供了突破口,同时也为水稻抽穗期的分子育种提供了可能。

业已鉴别出的感光性基因主要有 *Se* 和 *E* 两类^[7-8], *Hd1* 是水稻中首个被克隆的控制开花期的基因, Yano 等^[9]研究发现 *Hd1* 与 *Se-1* 在功能与 DNA 序列对应上都表现为一致,推断 *Hd1* 就是 *Se-1* 的等位基因。*Hd1* 编码产物是 1 个含 CCT (Constans, Constans-like, Timing of *cab1*) 结构域的 B-box 锌指蛋白,通过 26S 蛋白酶体介导的通路,进而调控其昼夜节律的积累,在短日照条件下促进抽穗,长日照条件下抑制抽穗^[9-11]。Xue 等^[12]、Weng 等^[13]和 Nemoto 等^[14]研究发现 *Hd4/Ghd7* 是 *E₁* 的等位基因,它能同时控制水稻每穗粒数、株高和抽穗期 3 个性状,在长日照下通过直接或间接的方式抑制 *Ehd1* 的表达而延迟抽穗。控制早熟性状的 *Ef-1* 基因也已被克隆,即 *Ehd1* 基因,它不需要依赖 *Hd1* 基因就能独自诱导水稻在短日照条件下提早抽穗,很多基因通过调控 *Ehd1* 的表达来影响抽穗^[15]。Nemoto 等^[14]在研究 *Hd1* 基因功能时发现其转录激活结构域可以和 *Ghd7* 蛋白的 CCT 结构域结合形成复合物,功能转变为强转录阻遏因子,抑制 *Ehd1* 的表达。同时,前人研究中还发现了抑制或增强感光基因感光性的修饰因子,隐性感光抑制基因 *i-Se-1* 的存在,可完全抑制 *Se-1* (*Hd1*) 的感光性,使得水稻在长日照下抽穗提前, *Su-Se-1* (*t*) 也可抑制感光基因的表达^[16-18]。而 *En-Se-1* 和 *se-pat* (*t*) 则可以增强 *Se-1* (*Hd1*) 基因的表达^[19-20]。Matsubara 等^[21]发现位于水稻 8 号染色体上 *Ehd3* 基因在短日照条件下通过上调 *Ehd1* 的表达促进开花,在长日照条件下,则通过下调 *Ghd7* 的表达减少对 *Ehd1* 的抑制作用来促进开花。位于水稻 6 号染色体上 *OsELF3/Hd17/Ef7/OsELF3-1* 等基因可在长日照条件下抑制 *Ghd7* 的表达,从而促进 *Ehd1* 的表达^[22-25]。

水稻籼粳亚种间的杂种优势利用对于提高我国水稻产量有着重要的意义,籼粳亚种间 F_1 的生育期超亲晚熟是影响杂种优势利用的主要因素之一。两类感光基因 (*Hd1* 和 *Ghd7*) 的互作效应可能是水

稻籼粳亚种间杂种超亲迟熟的重要遗传基础^[26-28]。利用携带感光抑制基因或早熟基因的亲本,避免杂种双亲存在非等位互补的主效感光基因效应,将能很好地解决亚种间杂交超亲晚熟问题。然而,关于具有感光抑制效应 QTL 的定位以及如何利用已经定位的基因/QTL 来解决亚种间杂种抽穗超亲晚熟的研究报道较少。

本研究利用粳稻品种 Asominori 和籼稻品种 IR24 衍生的 RIL 群体,在 2 种环境下对水稻抽穗期 QTL 进行了检测,发现了 11 个抽穗期相关的 QTL。对其位于第 6 染色体的 *qDTH-6* 进一步作遗传分析发现其为一个显性感光抑制基因,能与感光基因 *Ghd7* 互作,对 *Ghd7* 的感光性产生一定的抑制作用,显著缩短亚种间杂种抽穗期。同时本研究利用包含 *qDTH-6* 的染色体片段置换系 CSSL45 与背景亲本 Asominori 回交所构建的次级 F_2 群体分别在自然长日照和人工遮光短日照条件下对 *qDTH-6* 进行精细定位。

1 材料与方法

1.1 材料

粳稻品种 Asominori 和籼稻品种 IR24 及其构建的 RIL 群体和以 Asominori 为遗传背景插入 IR24 染色体片段的 CSSL 群体的部分家系。其中 RIL 群体由水稻籼粳亚种间组合“Asominori × IR24”自交 10 代(单粒传)的 71 个株系构成,RIL 群体分子连锁图谱包含 375 个 RFLP 标记,覆盖水稻基因组的长度为 1275.3 cM,平均 2 个标记间的距离为 3.4 cM;CSSL 群体是从 RIL 群体构建中的 F_7 重组株系中选用 19 个株系与 Asominori 连续回交和自交,并借助于均匀分布在 12 条染色体上的 116 个 RFLP 多态性分子标记进行辅助选择,得到的置换片段覆盖了水稻全基因组的 66 个具有供体 IR24 染色体片段的稳定株系。2 个群体及相应分子数据均由日本九州大学提供。

抽穗期基因型已知的测验系:EG0、ER 系列(日本京都大学农学部育种学教研室、中国台湾中兴大学农学系育种学教研室提供)。

常规水稻品种:9311、培矮 64、明恢 63、Kasalath、Nipponbare、02428 等。

部分置换系家系(CSSL11、CSSL43、CSSL44、CSSL45、CSSL47)与背景亲本 Asominori 的 F_1 组合,CSSL45 与 Asominori 所衍生的次级 F_2 群体,CSSL45 与测验系、9311 等常规水稻品种的 F_1 组合。

1.2 田间试验

2011 年夏季在南京农业大学土桥试验基地,冬

季在海南陵水县南农试验基地同时种植 RIL 和部分 CSSL 家系。2012 年在南京种植部分 CSSL 家系与 Asominori、IR24 的 F_1 组合。2013 年在南京设置人工遮光短日照处理(9 h 光照/15 h 黑暗),在人工短日照和自然长日照 2 种环境下分别种植 Asominori、IR24、CSSL45、CSSL45 \times Asominori 的 F_1 及次级 F_2 群体,2014 年在南京自然长日照条件下种植 CSSL45 与测验系、9311 等常规水稻品种的 F_1 组合。

温室催芽后播种,秧龄 25 d 移栽至大田,亲本、RIL 和 CSSL 群体各家系及 F_1 杂种各种 1 行, F_2 群体大小为 300 株左右,宽窄行种植,窄行密度为 13.3 cm \times 13.3 cm,宽行密度为 13.3 cm \times 33.3 cm,每行 10 株。田间水、肥、病、虫管理同生产大田。

分单株调查亲本、 F_1 及 F_2 抽穗期,单株第 1 穗穗尖露出叶鞘 1 cm 记为该单株抽穗,每 2 d 调查 1 次。抽穗期的表型值为播种至抽穗期的日数。亲本及 F_1 的抽穗期为不同单株抽穗期的平均值。

1.3 数据处理和 QTL 定位

利用 Mapmaker/Exp3.0 软件构建 CSSL45 \times Asominori 次级 F_2 群体连锁图谱,连锁图谱所用分子标记为已发表的 SSR 标记^[29]。利用 QTL IciMapping v2.1 软件,采用完备复合区间(ICIM)作图法,对 RIL 和 CSSL45 \times Asominori 次级 F_2 群体抽穗期进行定位。将 LOD 值 2.5 定为阈值,若标记区间 LOD>2.5,则认为该区间 LOD 值最高处所对应的位点存在 1 个控制抽穗期的 QTL。QTL 命名遵循 McCouch^[30]制定的原则。

表 2 在 2 种环境下的水稻抽穗期 QTL 定位结果

Table 2 Putative QTLs of HD detected at two environments

环境 Environments	QTL	染色体 Chromosome	标记区间 Marker Interval	图距 Position	LOD	贡献率(%) PEV	加性效应 Additive Effect
南京 Nanjing	<i>qDTH-2</i>	2	XNpb67~C621	0.66	3.03	5.09	-2.15
	<i>qDTH-3</i>	3	XNpb279~C721	0.34	4.84	8.40	-2.76
	<i>qDTH-6</i>	6	XNpb165-1~R2171	1.43	6.28	12.26	3.81
	<i>qDTH-8</i>	8	C259G~R902	0.32	21.62	70.43	8.02
	<i>qDTH-12</i>	12	R3375~R367	0.14	3.96	6.73	-2.50
海南 Hainan	<i>qDTH-3</i>	3	XNpb184~R518	3.50	5.76	6.50	1.95
	<i>qDTH-4a</i>	4	R738~Ky5	0.47	8.09	8.95	-2.27
	<i>qDTH-4b</i>	4	XNpb237~R288	1.03	7.28	7.79	-2.12
	<i>qDTH-5</i>	5	R830~R3166	0.50	10.51	12.68	-2.72
	<i>qDTH-6</i>	6	XNpb165~1-R2171	0.57	12.93	17.18	-3.61
	<i>qDTH-10</i>	10	R1629~C1166	1.75	13.11	18.61	3.33

2 结果与分析

2.1 亲本及 RIL 群体抽穗期表型

在南京、海南 2 种环境中 Asominori 与 IR24 及其衍生 RIL 群体的抽穗期表型变异见表 1。Asominori 与 IR24 抽穗期表型存在明显差异,RIL 群体各家系抽穗期呈现连续变化,说明水稻抽穗期属于数量性状,受多基因控制。

表 1 在 2 种环境下 RIL 群体和亲本的抽穗期表型值

Table1 DTH of parents and RIL populations in Nanjing and Hainan growing condition (d)

环境 Environments	Asominori	IR24	RILs
南京 Nanjing	89.8 \pm 1.2	95.4 \pm 3.2	80~125
海南 Hainan	71.5 \pm 2.3	108 \pm 2.5	69~107

2.2 利用 RIL 群体定位抽穗期 QTL

对南京与海南 2 个环境中 RIL 群体抽穗期进行 QTL 检测,分别检测到 5 个和 6 个影响抽穗期的 QTL,分布于水稻 8 条染色体上,LOD 在 3.03~21.62 之间,贡献率变幅为 5.09%~70.43%,其中在南京检测到的 *qDTH-6*、*qDTH-8* 与在海南检测到的 *qDTH-3*、*qDTH-10* 的正向加性效应来源于 Asominori 的等位基因,而其他 QTL 的正向加性效应均来源于 IR24 的等位基因。*qDTH-3*、*qDTH-6* 在 2 个环境中同时被检测到,其中位于第 6 染色体的 *qDTH-6* 贡献率较高,在南京和海南分别为 12.26% 和 17.18% (表 2、图 1)。

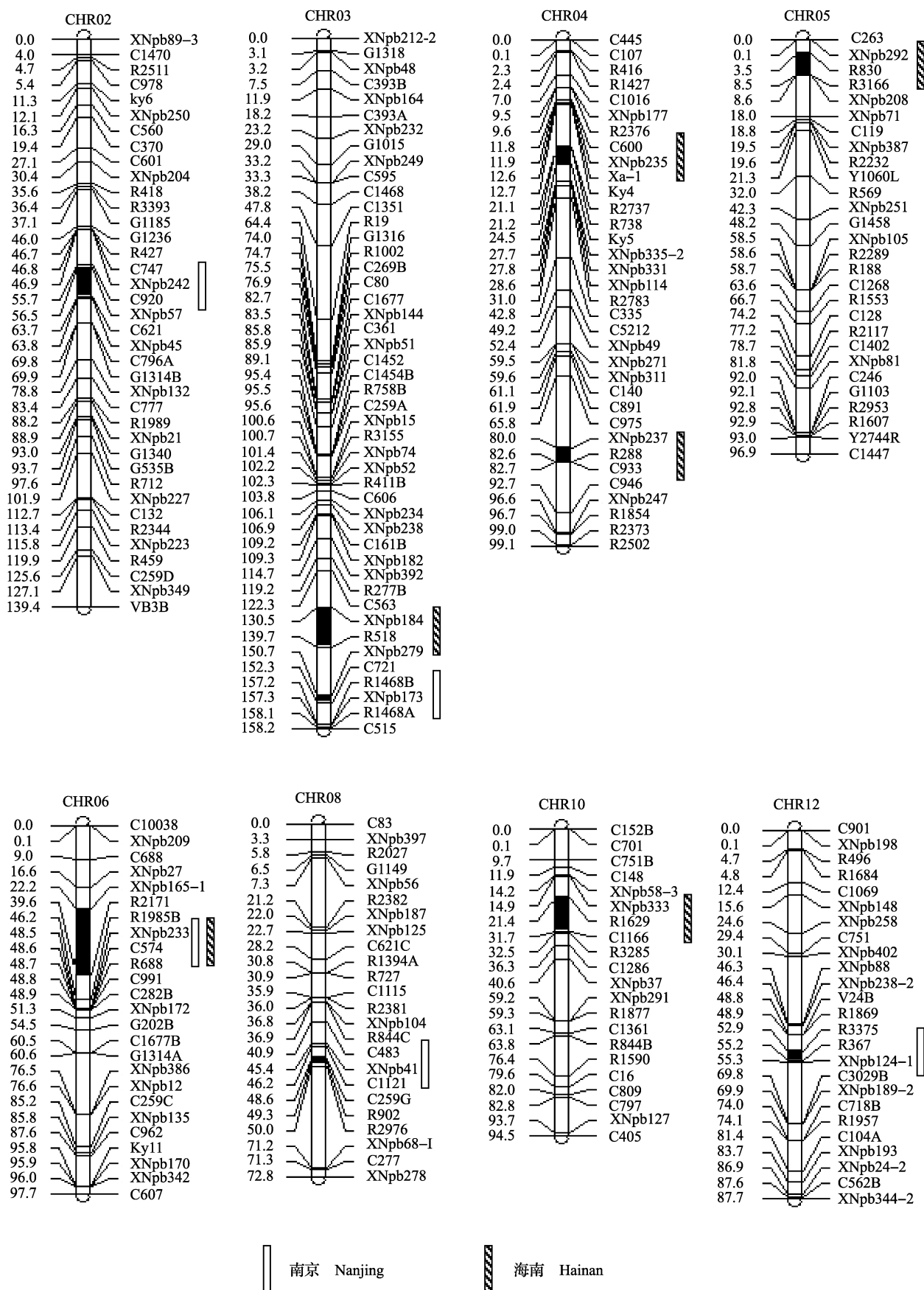


图1 水稻抽穗期性状的 QTL 在分子标记连锁图谱上的分布
 Fig.1 Distribution of putative QTL on the marker linkage map for HD of rice

2.3 *qDTH-6* 的遗传功能分析

在所定位 QTLs 中 *qDTH-6* 在 2 个环境中能被同时检测到且贡献率较高(表 2),在南京高温长日照条件下来自 IR24 的等位基因可缩短抽穗期 3.8 d,表现出一定的早熟性,而在海南低温短日照条件下来自 IR24 的等位基因可延长抽穗期 3.6 d,又表现出一定的迟熟性,说明 *qDTH-6* 来自 IR24 的等位基因在两种环境中可以表现出不同的效应,或者该位点有紧密连锁的 2 个基因分别起作用,这有待于进一步验证。

为了分析 *qDTH-6* 来自 IR24 的等位基因早熟性的原因及其能否缩短亚种间杂种抽穗期,2012 年在南京高温长日照条件下种植了包含 *qDTH-6* 的早熟置换系家系(CSSL11、CSSL43、CSSL44、CSSL45、CSSL47)(图 2)与两亲本 Asominori、IR24 的杂交 F₁ 组合,并以典型亚种间组合 Asominori × R24 作对照。结果显示,在南京长日照条件下,CSSL45 × Asominori 等杂种抽穗期与早熟置换系亲本基本一致(表 3),这表明 *qDTH-6* 来自 IR24 等位基因的早熟效应为显性;对照组合 Asominori × IR24 抽穗期超大值亲本 IR24 达 12 d,具有典型的亚种间超亲遗传特性,而 CSSL45 × IR24 等杂种抽穗期与早熟置换系亲本基本一致(表 3),没有表现出超亲迟熟,这一结果说明 *qDTH-6* 来自 IR24 的等位基因能够缩短亚种间杂种的抽穗期,消除亚种间杂种来自双亲感光基因的互作效应。

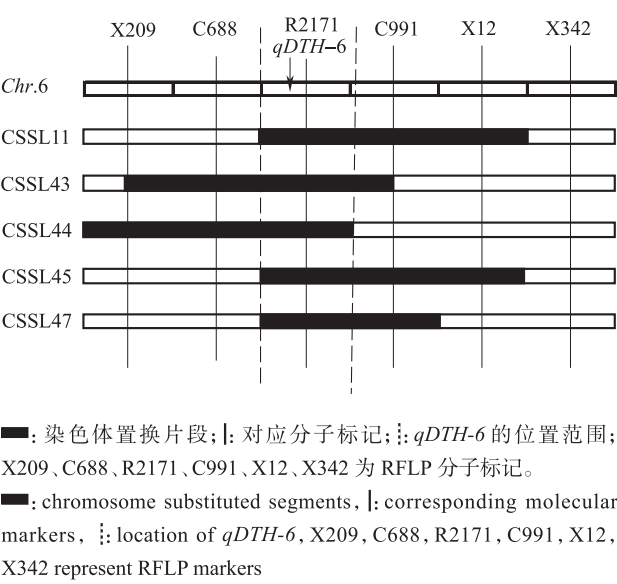


图 2 含有第 6 染色体上 *qDTH-6* 的置换系图示 genotype
Fig.2 Graphical genotype analyses of CSSLs containing *qDTH-6* on Chr.6

表 3 置换系、相应 CSSL × Asominori F₁、CSSL × IR24 F₁ 的抽穗期表型值

Table 3 DTH of CSSL and corresponding CSSL × Asominori F₁, CSSL × IR24 (d)

品种 variety		× Asominori	× IR24
CSSL11	82	81.7	83.5
CSSL43	78	79.5	82.1
CSSL44	79.5	78.1	82.35
CSSL45	78.5	78.5	80.25
CSSL47	81.2	82.2	83.6
Asominori	87.5	--	103
IR24	91	--	--

为了排除温度的干扰,进一步分析 *qDTH-6* 的感光性,2013 年在南京设置了人工遮光短日照处理,并以自然长日照为对照,在 2 种环境下种植 Asominori、IR24、CSSL45、CSSL45 × Asominori、CSSL45 × Asominori 次级 F₂ 群体。结果表明 CSSL45 在自然长日照下表现出早熟性,比背景亲本 Asominori 早 4.5d,在人工短日照条件下早熟性并没有表现出来,且与 CSSL45 × Asominori 的感光性、早熟性都一致(表 4、图 3),由此可以进一步推知,来自 IR24 的 *qDTH-6* 的等位基因可能为一个显性感光抑制基因,它的存在可能正是 IR24 没有感光性的原因,同时它的导入使 Asominori 较强的感光性变成了 CSSL45 较弱的感光性。

2.4 *qDTH-6* 的感光抑制效应分析

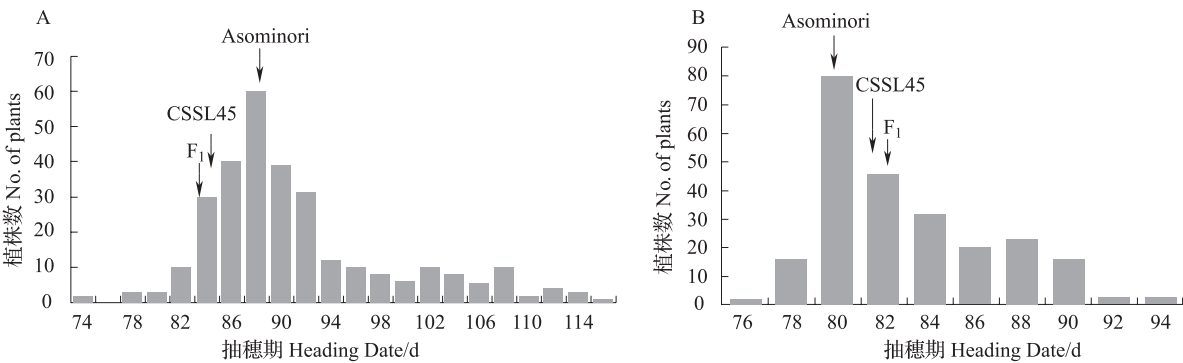
为了进一步分析 *qDTH-6* 的感光抑制效应,2014 年在南京自然长日照条件下种植了 CSSL45 与抽穗期基因型已明确的测验品种(系)的 F₁ 组合,并以 Asominori 与测验品种(系)的 F₁ 组合作对照,用以验证 *qDTH-6* 的感光抑制效应并对其抑制对象做初步分析。

Asominori 与 9311 等籼稻的杂种 F₁ 表现出典型超亲晚熟现象,而 CSSL45 与 9311 等籼稻的杂种 F₁ 抽穗期均明显短于 Asominori 与 9311 等籼稻的杂种 F₁,甚至都明显短于 9311 等籼稻本身;CSSL45 与 Nipponbare 和 EG0(测验系)等粳稻的杂种 F₁ 抽穗期也均短于 Asominori 与 Nipponbare 和 EG0(测验系)等粳稻杂种 F₁(表 5)。上述结果进一步证明了 *qDTH-6* 的存在能避免籼粳亚种间杂种超亲晚熟,其实质可能是 *qDTH-6* 作为显性感光抑制基因而存在,抑制了杂种双亲非等位互补的主效感光基因。

表 4 两亲本、CSSL45 和 CSSL45 × Asominori 的抽穗期表型值及其短日照效应

Table 4 DTH and shortern day effect of two parents, CSSL45 and CSSL45 × Asominori (d)

环境 Environments	IR24	Asominori	CSSL45	CSSL45 × Asominori
自然长日照 Natural long day	93.45	89.5	85.00	84.00
人工短日照 Artificially shortern day	93.25	81.33	82.00	83.00
短日照效应 Shortern day effect	0.20	8.12	3.00	1.00



A: 自然长日照; B: 人工遮光短日照
A: Natural long day, B: Artificially shortern day

图 3 CSSL45 × Asominori 次级 F₂ 群体抽穗期次数分布
Fig.3 Frequency histograms for DTH of the second F₂ population derieved from CSSL45 × Asominori

CSSL45 与含有感光基因 E_1 ($Ghd7$) 的测验系和常规籼、粳稻的杂种 F_1 抽穗期不但短于 Asominori 与这些测验系和常规籼、粳稻的杂种 F_1 , 也短于这些测验系和常规籼、粳稻本身; 而 CSSL45 与不含感光基因 E_1 ($Ghd7$) 的 EG0 杂种 F_1 抽穗期, 虽然也短于 Asominori 与 EG0 的杂种 F_1 , 但却长于测验系 EG0 本身, 因此初步推测 $qDTH-6$ 的抑制对象为 E_1 ($Ghd7$), 将 IR24 在 $qDTH-6$ 基因座上的感光抑制基因暂时命名为 $Su-E_1(t)$ 。

表 5 $qDTH-6$ 的感光抑制效应的验证

Table 5 Verification of inhibitory effect to photoperiodism for $qDTH-6$

测验品种 (系) Test lines	测验品种 (系) 抽穗期基因型 Genotype	抽穗天数 (d) Days to heading		
		测验品种 (系) Test lines	× Asominori	× CSSL 45
IR24	$E1E1Se-I^nSe-I^nef-1i-Se-1$	91.60	104.00	81.42
9311	$E1E1Se-I^nSe-I^nef-1ef-1$	100.50	106.36	88.40
培矮 64	$E1E1Se-I^nSe-I^nef-1i-Se-1$	89.40	111.00	87.60
明恢 63	$E1E1Se-I^nSe-I^nef-1i-Se-1$	90.70	104.56	83.23
Kasalath	—	89.40	89.80	80.55
02428	—	92.00	100.85	82.44
Nipponbare	$E1E1Se-I^nSe-I^n$	86.90	85.58	79.90
EG0	$e1e1Se-I^nSe-I^nef-1ef-1$	71.20	78.00	74.67
EG1	$E1E1Se-I^nSe-I^nef-1ef-1$	90.40	94.33	88.00
ER	$E1E1Se-I^nSe-I^nef-1ef-1$	80.70	78.60	76.80
LR	$E1E1Se-I^nSe-I^nef-1ef-1$	102.70	105.00	99.11

— : 该组数据缺失
— : absence of the date

2.5 利用次级 F_2 群体定位 $Su-E_1(t)$

为了进一步精细定位 $Su-E_1(t)$, 2013 年对南京自然日照和人工遮光短日照条件下种植的 CSSL45 \times Asominori 次级 F_2 群体抽穗期性状分别

进行了定位, 结果显示在 2 种环境条件下各分别存在 1 个主效 QTL (表 6、图 4)。由于 2 个 QTL 都位于标记 RM527 附近, 可能为同一 QTL, 即 $Su-E_1(t)$ 。

表 6 利用 CSSL45 \times Asominori 次级 F_2 群体定位 $Su-E_1(t)$
Table 6 Map location of $Su-E_1(t)$ using secondary F_2 population of CSSL45 \times Asominori

环境 Environments	最近标记 Closest Marker	LOD	贡献率 (%) PEV	加性效应 Additive effect
自然长日照 Natural long day	RM136	16.2	43.02	7.37
遮光短日照 Artificially shortern day	RM6818	2.52	14.09	2.90

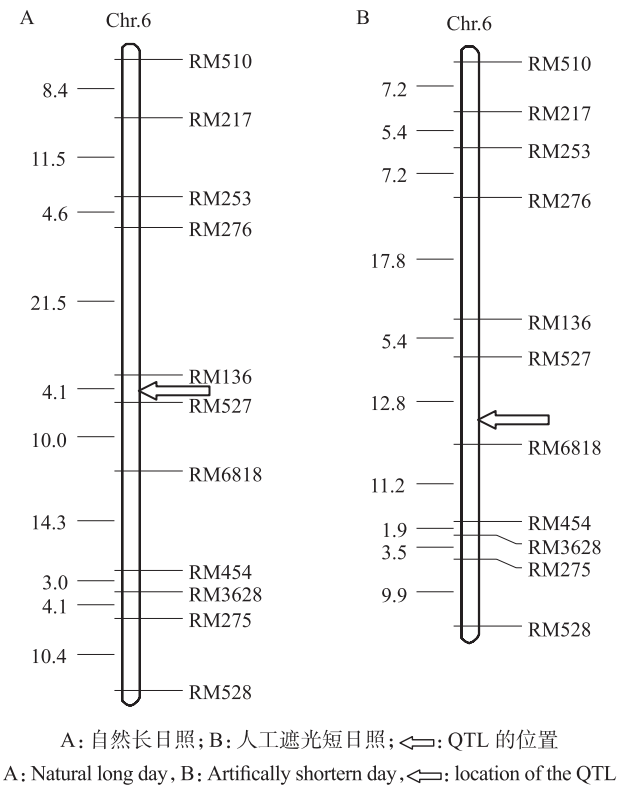


图 4 $Su-E_1(t)$ 在连锁图谱上的位置
Fig.4 Map location of $Su-E_1(t)$

3 讨论

水稻是典型的短日喜温植物, 在经历了长期的自然和人为的扩散和选择后, 形成了丰富多样的光温反应类型。本研究使用的 2 个亲本, Asominori 是适应高纬度地区种植的日本粳稻, IR24 是具有广泛适应性的热带籼稻, 其感光反应类型截然不同, 利用这 2 个品种构建的 RIL 群体, 在 2 种环境下共定位了多个抽穗期的 QTL^[31-32]。同时, 本研究利用与 RIL 群体相同亲本构建的 CSSL 群体验证了 RIL 群体定位的部分结果。一个带有目标基因的置换系, 其性质相当于一个近等基因系, 因此, CSSL 群

体不仅是复杂数量性状基因定位的有效工具材料, 而且能将 QTL 拆解成简单的孟德尔因子进行遗传分析^[33-36]。本研究利用包含目标 QTL 的 CSSL 株系与双亲回交组合, 并通过设置人工短日照与自然长日照条件, 阐明了目标 QTL 的遗传效应, 在非感光籼稻品种 IR24 中发现了一个显性感光抑制基因, 将其定名为 $Su-E_1(t)$ 。同时通过含有 $Su-E_1(t)$ 的 CSSL45 与测验品种 (系) 的杂交组合验证了其显性感光抑制功能, 并对其抑制对象作了初步分析。

$Se-1(Hd1)$ 和 $E_1(Ghd7)$ 是水稻主要的两类感光基因。研究表明, 抑制 $Se-1(Hd1)$ 基因表达的因子有 $i-Se-1$ 、 $Su-Se-1(t)$ ^[16-18], Sano^[19]推测, 早熟籼稻品种 “Culture340” 在 $Se1(Hd1)$ 位点既存在感光性基因 $Se-1$, 还存在感光性抑制基因 $i-Se-1$, 从而导致该品种在长日照下表现为早熟, 进而推测 $i-Se-1$ 基因可能广泛存在于早熟籼稻品种中。Okumoto 等^[8]研究表明显性早熟基因 $Ehd1$ 的存在可以部分抵消 $Ghd7$ 的感光性。前人研究还发现 $Ehd3$ 在短日照条件下促进 $Ehd1$ 的表达, 在长日照条件下则抑制 $Ghd7$ 的表达^[21], $OsELF3/Hd17/Ef7/OsELF3-1$ 等在长日条件下抑制 $Ghd7$ 的表达^[22-25], 而除此之外抑制 $Ghd7$ 功能的修饰基因鲜有报道。本研究定位的 $Su-E_1(t)$ 位于第 6 染色体中部, 并推测其能够抑制 $Ghd7$ 的感光性, 从而避免了 $Ghd7$ 与 $Hd1$ 的非等位互作, 可有效地解决籼、粳稻亚种间杂种超亲晚熟问题。 $Su-E_1(t)$ 与 Yano 等^[9]定位的 $Hd1$ 位置较近, 前人研究已明确 $Hd1$ 不抑制 $Ghd7$, 并且 $Hd1$ 蛋白能与 $Ghd7$ 蛋白结合形成复合体, 然后与 $Ehd1$ 蛋白的顺式调控区域特异性结合, 抑制 $Ehd1$ 基因的表达进而抑制抽穗^[13-14], 推测 $Su-E_1(t)$ 不是 $Hd1$; $Ehd3$ 位于第 8 染色体, $OsELF3/Hd17/Ef7/OsELF3-1$ 均定位于第 6 染色体短臂末端^[22-25], 因此 $Su-E_1(t)$ 可能是一个新基因。

本研究发现的 $Su-E_1(t)$ 具有较高的育种利用价值。一般分布在中、低纬度地区的粳稻品种具有明显的短日照反应,利用与 $Su-E_1(t)$ 基因紧密连锁的分子标记进行辅助选择,将该基因导入到这类粳稻中,可选育适合北方稻区推广的早熟粳稻和杂交粳稻。此外,将 $Su-E_1(t)$ 导入到早籼类型的不育系中,可利用熟期相对较长的中籼型恢复系选育出早熟类型的杂交稻,这样既可扩大此类恢复系的应用范围,又能提高早熟型杂交稻的产量水平。水稻籼、粳亚种间具有强大的杂种优势,但是籼、粳亚种间杂种后代往往会超亲晚熟,这给籼、粳亚种间杂种优势的利用带来了极大的障碍,而 $Su-E_1(t)$ 的导入将会很好地解决这一问题。

参考文献

- [1] Chang T T, Li C C, Vergara B S. Component analysis of duration from seeding to heading in rice by the basic vegetative phase and photoperiod-sensitive phase. *Euphytica*, 1969, 18: 79-91
- [2] Vergara B S, Chang T T. The flowering response of the rice plant to photoperiod. A review of the literature (4th edition). Los Banos, Manila, Philippines: International Rice Research Institute, 1985: 61
- [3] 杨德卫,陈王杰,程朝平,郑向华,叶宁,叶新福,黄凤凰. 水稻抽穗期基因的鉴定与遗传调控网络研究与分析,分子植物育种, 2019, 17(14): 4656-4660
Yang D W, Chen R J, Cheng C P, Zheng X H, Ye N, Ye X F, Huang F H. The progress of gene identification and genetic regulation mechanism for heading date in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(14): 4656-4660
- [4] 王茜,吴涛,任雅琨,牟昌铃,丁宝旭,魏子尧,刘喜,刘裕强,江玲. 水稻抗褐飞虱种质 Swarnalata 抽穗期和休眠性相关 QTL 检测. 植物遗传资源学报, 2015, 16(4): 781-787
Wang Q, Wu T, Ren Y K, Mou C L, Ding B X, Wei Z R, Liu X, Liu Y Q, Jiang L. Detection of quantitative trait loci for heading date and seed dormancy in the brown planthopper resistance cultivar Swarnalata (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(4): 781-787
- [5] Matsubara K, Hori K, Ogiso-Tanaka E, Yano M. Cloning of quantitative trait genes from rice reveals conservation and divergence of photoperiod flowering pathways in Arabidopsis and rice. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 193
- [6] 徐铨,奥本裕,王晓雪. 水稻开花期调控分子机理研究进展. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1): 129-136
Xu Q, Okumoto Y, Wang X X. Research progress on regulatory molecular mechanisms of flowering time in rice. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(1): 129-136
- [7] Ichitani K, Okumoto Y, Tanisaka T. Genetic analysis of the rice cultivar Kasalath with special reference to two photoperiod sensitivity loci E_1 and $Se-1$. *Breeding Science*, 1998, 48: 51-57
- [8] Okumoto Y, Inoue H, Ichitani K, Tanisaka T. Effects of three genes that control heading date ($Se1$, E_1 and Efl) in four varietal groups of Japonica rice//Rice Genetics III. Manila Philippones: International Rice Research Institute, 1996: 423-427
- [9] Yano M, Katayose Y, Ashikari M, Yamanouchi U, Monna L, Fuse T, Baba T, Yamamoto K, Umehara Y, Nagamura Y, Sasaki T. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering line gene *CONSTANS*. *Plant Cell*, 2000, 12: 2473-2483.
- [10] Tsuji H, Tachibana C, Tamaki S, Taoka K I, Kyoizuka J, Shimamoto K. Hd3a promotes lateral branching in rice. *Plant Journal*, 2015, 82(2): 256-266
- [11] Yang Y, Fu D B, Zhu C M, He Y Z, Zhang H J, Liu T, Li X H, Wu C Y. The RING-Finger ubiquitin ligase hAF1 mediates heading date1 degradation during photoperiodic flowering in rice. *The Plant Cell*, 2015, 27(9): 2455-2468
- [12] Xue W Y, Xing Y Z, Weng X Y, Zhao Y, Tang W J, Wang L, Zhou H J, Yu S B, Xu C G, Li X H, Zhang Q F. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nature Genetics*, 2008, 40(6): 761-767
- [13] Weng X Y, Wang L, Wang J, Hu Y, Du H, Xu C G, Xing Y Z, Li X H, Xiao J H, Zhang Q F. *Grain number, plant height, and heading date7* is a central regulator of growth, development, and stress response. *Plant Physiology*, 2014, 164(2): 735-747
- [14] Nemoto Y, Nonoue Y, Yano M, Izawa T. *Hd1*, a *CONSTANS* ortholog in rice, functions as an *Ehd1* repressor through interaction with monocot-specific CCT-domain protein *Ghd7*. *Plant Journal*, 2016, 86(3): 221-233
- [15] Doi K, Izawa T, Fuse T, Yamanouchi U, Kubo T, Shimatani Z, Yano M, Yoshimura A. *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls *FT-like* gene expression independently of *Hd1*. *Genes and Development*, 2004, 18(8): 926-936
- [16] Ohshima I, Watanabe Y, Asahic C. Genetic analysis of heading time in cross between two *Indica* varieties with two inhibitor genes for photoperiod sensitivity. *Japanese Journal of Breeding*, 1993, 43: 101-106
- [17] Sano Y. A dominant suppressor for the photoperiod sensitive gene, *Se-1*, detected in a photoperiod-sensitive cultivar of an *Indica* type. *Rice Genetic Newslett*, 1990, 7: 101-103
- [18] Ohshima I, Kikuchi F. Identification of a recessive inhibitor for photoperiod-sensitive gene, *Se-1*, in photoperiod-insensitive varieties of indica type rice//Proceedings of the 7th International Congress SABRAO. Taichang: SABRAO, 1994: 93-100
- [19] Sano Y. Genetic comparisons of chromosome 6 between wild and cultivated rice. *Japanese Journal of Breeding*, 1992, 42: 561-572
- [20] Dung L V, Inukai T, Sano Y. Dissection of a major for photoperiod sensitivity in rice: its association with a gene expressed in an age-dependent manner. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97: 714-720
- [21] Matsubara K, Yamanouchi U, Nonoue Y, Sugimoto K, Wang Z X, Minobe Y, Yano M. *Ehd3*, encoding a plant homeodomain finger-containing protein, is a critical promoter of rice flowering. *Plant Journal*, 2011, 66(4): 603-612
- [22] Yang Y, Peng Q, Chen G X, Guo X, Li X H, Wu C Y. OsELF3 is involved in circadian clock regulation for promoting flowering under long-day conditions in rice. *Molecular Plant*, 2013, 6(1): 202-215
- [23] Zhao J M, Huang X, Ouyang X H, Chen W L, Du A P, Zhu

- L, Wang S G, Deng X W, Li S G. *OsELF3-1*, an ortholog of *Arabidopsis EARLY FLOWERING 3*, regulates rice circadian rhythm and photoperiodic flowering. *PLoS One*, 2012, 7 (8): e43705
- [24] Saito H, Ogiso-Tanaka E, Okumoto Y, Yoshitake Y, Izumi H, Yokoo T, Matsubara K, Hori K, Yano M, Inoue H, Tanisaka T. *Ef7* encodes an ELF3-like protein and promotes rice flowering by negatively regulating the floral repressor gene *Ghd7* under both short-and long-day conditions. *Plant Cell Physiology*, 2012, 53 (4): 717-728
- [25] Matsubara K, Ogiso-Tanaka E, Hori K, Ebana K, Ando T, Yano M. Natural variation in *Hd17*, a homolog of *Arabidopsis ELF3* that is involved in rice photoperiodic flowering. *Plant Cell Physiology*, 2012, 53 (4): 709-716
- [26] Cai C M, Li W M, Zhou Y C. Complementary genes controlling photoperiod sensitivity in hybrid rice. *Rice Genetic Newslett.* 1987, 4: 90-91
- [27] 李和标, 邹江石. 水稻籼粳亚种间 F_1 抽穗期超亲表现与遗传分析. *江苏农业学报*, 1992, 8 (1): 7-12.
Li H B, Zou J S. Expression and inheritance of heading date in hybrids between Indica and Japonica varieties. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 1992, 8 (1): 7-12
- [28] 顾兴友, 顾铭洪. 轮回 422 与籼稻杂交 F_1 抽穗期超亲遗传分析. *中国水稻科学*, 1995, 9 (1): 21-26.
Gu X Y, Gu M H. Genetic analysis of heading time transgression of F_1 between Lunhui422 and Indica varieties. *Chinese Journal of Rice Science*, 1995, 9 (1): 21-26
- [29] Mccouch S R, Leonid T, Yunbi X, Lobos K B, Karen C, Mark W. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Reaserch*, 2002, 9 (6): 199-207
- [30] McCouch S R. Gene nomenclature system for rice. *Rice*, 2008, 1: (1): 72-84
- [31] Wei X J, Xu J F, Guo H N, Jiang L, Chen S H, Yu C Y, Zhou Z L, Hu P S, Zhai H Q, Wan J M. DTH8 suppresses flowering in rice, influencing plant height and yield potential simultaneously. *Plant Physiology*, 2010, 153 (4): 1747-1758
- [32] Zhong Z Z, Wu W X, Wang H J, Chen L P, Liu L L, Wang C M, Zhao Z G, Lu G W, Gao H, Wei X J, Yu C Y, Chen M J, Shen Y Y, Zhang X, Cheng Z J, Wang J L, Jiang L, Wan J M. Fine mapping of a minor-effect QTL, DTH12, controlling heading date in rice by up-regulation of florigen genes under long-day conditions. *Molecular Breeding*, 2014, 34 (2): 311-322
- [33] 孙妍, 苏龙, 乔卫华, 郑晓明, 齐兰, 丁膺宾, 许睿, 张丽芳, 程云连, 兰进好, 杨庆文. 基于染色体片段置换系的野生稻粒宽 QTL-qGW8.1 的精细定位. *植物遗传资源学报*, 2018, 19 (1): 135-142
Sun Y, Su L, Qiao W H, Zheng X M, Qi L, Ding Y B, Xu R, Zhang L F, Cheng Y L, Lan J H, Yang Q W. Fine mapping of a wild rice grain width QTL-qGW8.1 using a chromosome segment substitution line. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19 (1): 135-142
- [34] Tsunematsu H, Yoshimura A, Harushima Y, Nagamura Y, Kurata N, Yano M, Sasaki T, Iwata N. RFLP framework map using recombinant inbred lines in rice. *Breeding Science*, 1996, 46: 279-284
- [35] Kubo T, Nakamura K, Yoshimura A. Development of a series of *Indica* chromosome segment substitution lines in *Japonica* background of rice. *Rice Genetic Newslett*, 1999, 19: 104-106
- [36] 李静, 孙妍, 齐兰, 苏龙, 丁膺宾, 许睿, 张莉珍, 王艳艳, 郑晓明, 张丽芳, 程云连, 乔卫华, 杨庆文. 基于染色体置换系的野生稻抽穗期及紫色性状 QTL 的鉴定. *植物遗传资源学报*, 2018, 19 (3): 568-577
Li J, Sun Y, Qi L, Su L, Ding Y B, Xu R, Zhang L Z, Wang Y Y, Zheng X M, Zhang L F, Cheng Y L, Qiao W H, Yang Q W. Identification of agronomic traits relatated QTLs from wild rice in chromosome segment substitution lines. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19 (3): 568-577