

谷子窄颖花突变体 *sins1* 的表型分析和突变基因定位

张浩^{1,2}, 汤沙², 李迎涛², 智慧², 贾冠清², 张伟², 乔治军³, 刁现民²

(¹山西大学生物工程学院, 太原 030006; ²中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081;

³山西省农业科学院农作物品种资源研究所/农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 太原 030031)

摘要: 利用甲基磺酸乙酯 (EMS, ethyl methyl sulfonate) 诱变剂处理野生型 Yugu1 (豫谷 1 号), 在后代中发现了一个可以稳定遗传的颖花明显变窄的突变体, 将其命名为 *sins1*。与 Yugu1 相比, 突变体 *sins1* 的株高显著降低了 3.89%, 穗长和穗粗分别显著降低了 17.42% 和 21.62%, 旗叶叶长和叶宽分别显著降低了 15.09% 和 25.78%, 千粒重显著降低了 40.96%, 谷码数显著降低了 25%, 均达到显著水平 ($P < 0.05$)。利用突变体 *sins1* 为母本, SSR41 为父本构建 F_2 定位群体, F_2 正常颖花与窄颖花植株数目的分离比例为 3:1, 表明该突变性状由隐性单基因控制。利用 F_2 群体隐性单株, 最终将突变基因定位在 3 号染色体上 SSR 标记 3-2658 与 CAAS3031 间约 7.709 Mb 的距离内, 为下一步精细定位提供了基础, 同时也为促进禾本科作物颖花的研究提供了方向。

关键词: 谷子; 颖花; 表型分析; 基因定位

Morphological Characterization and Gene Mapping of *sins1* (narrow spikelet 1) in Foxtail Millet

ZHANG Hao^{1,2}, TANG Sha², LI Ying-tao², ZHI Hui², JIA Guan-qing²,

ZHANG Wei², QIAO Zhi-jun³, DIAO Xian-min²

(¹College of Biological Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006;

²Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081;

³Institute of Crop Germplasm Resources, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture, Taiyuan 030031)

Abstract: A foxtail millet narrow spikelet mutant which was induced from Yugu1 by EMS treatment, was genetically identified and named as *sins1*. The mutant exhibited narrow-spikelet, low-plant-height, short-thin-panicle, short-narrow-leaf, low-spikelet-number per panicle, as well as low-1000-grain weight. Compared with its wild-type Yugu1, plant height, panicle length, panicle diameter, flag-leaf length, flag-leaf width, the 1000-grain weight, spikelet number per panicle of *sins1* were decreased by 3.89%, 17.42%, 21.62%, 15.09%, 25.78%, 40.96%, 25% respectively ($P < 0.05$). Genetic analysis showed that 3:1 segregation ratio of wild type to mutant plants were observed in the F_2 generation of *sins1* × SSR41, suggesting that the narrow-spikelet trait of *sins1* mutant was controlled by a single recessive nuclear gene. Genetic mapping of the mutant gene was conducted using narrow-spikelet individuals from the F_2 segregating population of *sins1* × SSR41. Finally, the mutant gene was mapped into genomic region within SSR markers 3-2658 and CAAS3031 in chromosome 3, with a 7.709 Mb interval. This research had laid the foundation for fine-mapping of the narrow spikelet causal gene and will promote spikelet development related re-

收稿日期: 2016-11-14 修回日期: 2017-02-26 网络出版日期: 2017-04-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170417.0830.002.html>

基金项目: 国家现代农业产业技术体系 (CARS07-13.5-A02); 中国农业科学院创新工程杂粮团队; 国家“863”计划 (2013AA102603); 国家自然科学基金 (31301328, 31522040)

第一作者研究方向为新基因挖掘与功能验证。E-mail: zhanghao10426@163.com

通信作者: 刁现民, 研究方向为谷子基因资源。E-mail: diaoxianmin@caas.cn

乔治军, 研究方向为种质资源创新与利用。E-mail: nkypzs@126.com

search in cereal crops.

Key words: *Setaria italica*; spikelet; phenotypic analysis; genetic mapping

我国作为世界人口大国,近年来人口数量不断增加,但耕地面积却不断减少,最终导致了人均耕地面积越来越少,使人们对农业关注的焦点均集中在如何提高粮食作物单产上^[1]。穗子是禾本科作物重要的生殖器官同时也是重要的产量性状^[2]。穗部颖花发育是从营养生长向生殖生长转换的重要特征之一,而花器官的发育对粮食作物产量和品质均有着直接的影响。人们最先在拟南芥和金鱼草中发现花器官特征基因,并且把这些特征基因分为 A、B、C 三类,形成 ABC 基因表达模型^[3],其在花发育研究中已被广泛接受,该模型认为相邻两轮花器官的发育受到同一类基因控制,同类基因有时可以影响 1 轮花器官的发育,但有时甚至能影响 4 轮花器官的发育^[4-6]。谷子颖花由外稃、内稃、2 枚浆片、3 枚雄蕊及 2 枚雌蕊组成,每个小穗花有 2 个护颖。谷子等禾本科植物颖花中的内稃对应着双子叶植物中的花萼,并由 MADS 盒(酵母转录因子 MCM1、拟南芥的花同源异型基因 *AGAMOUS*、金鱼草的花同源异型基因 *DEFICIENS*、人类血清免疫响应因子 SRF)的 A 类基因控制^[7]。禾本科植物花器官中,雌蕊和雄蕊的结构保守^[8];子房基部着生有浆片,浆片处于外稃和雄蕊之间,研究证明浆片对应的双子叶植物的花器官是花瓣^[9-11]。虽然禾本科植物和双子叶植物花器官的形态结构具有明显差异,但是对于 ABC 模型而言,它们在进化过程当中均具有高度的保守性。目前禾本科植物中对颖花有较多研究的是水稻,例如水稻中的长颖花突变体 *LRS*^[12],其性状特点为内稃、外稃变长,雄蕊雌蕊化,浆片呈现出稃片状,每个颖花含有 1~3 枚发育完整的雌蕊。此外,水稻中控制颖壳宽度的基因 *GW2* 的主要功能是编码一个环形蛋白,该蛋白拥有 E3 泛素连接酶活性,其在降解促进细胞分裂的蛋白的途径中具有非常重要的作用,如果 *GW2* 发生突变导致其功能的缺失,将使泛素不能正常转移到靶蛋白上,进而导致本应该被降解的底物因为不能被特异性识别而无法降解,最终促使颖花外壳细胞的分裂,从而增加了颖花外壳的宽度^[13]。Q. F. Zhang 等^[14]在水稻品种 W2555 的后代中发现了一个颖花发育突变体,突变基因命名为 *ah* (abnormal hull),与野生型相比,该突变体的小穗分支较稀疏,每级枝梗上的颖花数减少,同时顶端的颖花通常不能成熟,且泛白,由此可以看

出该突变也影响了水稻花序分生组织的发育。除了上述提到的基因外,还有很多基因也参与调控颖壳的发育。如水稻 3 号染色体着丝粒附近的 *GS3* 就被确认为与粒重和粒长相关的主效 QTL^[15],位于水稻 5 号染色体短臂的 *GS5* 参与调控颖壳的宽度^[16]。此外,*qSW-5* (*GW5*)^[17-18]也控制水稻颖壳宽度。

谷子 (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.), 属于禾本科 (Poaceae)、狗尾草属 (*Setaria* P. Beauv.), 其子粒脱皮后便是人们俗称的“小米”,是我国北方干旱半干旱地区主要的粮食作物。由于其子粒中含有丰富的膳食纤维和人体必需的微量元素,正逐步成为人们生活中极其重要的营养健康食品。谷子是单子叶植物,二倍体,自花授粉,生育周期短,因此实验室操作方便^[19],同时与水稻的基因组具有较高的共线性^[20],并且由于谷子全基因组测序和大批量重测序的完成(其基因组约 515 Mb),正促使其发展成为禾本科中除水稻之外的另一模式作物^[21-22]。

作为决定谷子产量的重要因素,穗部的结构与形态始终是育种过程中的重要指标,因此研究穗部性状对提高产量具有重要意义。而颖花的突变对谷子的授粉以及之后种子的发育均有着重要的影响,因此针对谷子颖花的研究可以为谷子的遗传育种提供重要基础,同时因为禾本科作物之间颖花结构具有极高的一致性,针对谷子颖花的研究也可对其他禾本科作物关于颖花性状的研究提供借鉴。G. Q. Jia 等^[20]搜集了 916 份谷子品种,对其测序发现 2584083 个 SNPs,并利用 GWAS (genome-wide association studies) 及 845787 个 SNPs 构建了谷子基因组的单倍型图谱,从中定位了一些和穗发育相关的基因。

本研究利用 EMS 诱变 Yugu1, 获得一个窄颖花突变体 *sins1* (图 1-C)。利用突变体 *sins1* 与正常野生型 SSR41 进行杂交,构建 F₂ 定位群体,利用 BSA^[23] 图位克隆技术与 SSR 分子标记等技术,对窄颖花基因进行初步定位,以期能够为谷子颖花相关基因的鉴定和功能分析提供数据基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料的获得

Yugu1 具有综合性状优良,耐旱涝、对光温反应不敏感、适应性广等特点,是我国华北夏谷区最有影

响力的品种之一,其全基因组测序已经完成。通过 EMS 诱变野生型 Yugu1,获得颖花显著变窄的突变体,命名为 *sins1*。多代自交稳定后,2013 年冬天在海南种植该突变体,并与 SSR41(父本)进行杂交,配制突变基因定位群体。2014 年夏天在北京顺义种植并鉴定杂交获得 F_1 ,通过对颖花的观察确定是否为真杂种,再对 F_1 真杂种植株进行自交,得到 F_2 种子。2015 年夏天在北京顺义种植 F_2 群体,在开花前对颖花变窄的植株的叶片进行取样,并统计正常颖花和变窄颖花植株的分离比例。

1.2 定位群体叶片样品的选取

分单株对亲本(*sins1*、SSR41)以及 F_2 (*sins1* × SSR41)中的隐性单株叶片进行取样,从 F_2 群体中共收获 963 株隐性窄颖花突变株。

1.3 *sins1* 的初步定位

1.3.1 谷子叶片总基因组 DNA 的提取 叶片总基因组 DNA 的提取方法采用 CTAB 法^[8]。

1.3.2 SSR 标记的筛选 利用 X. Jia 等^[24] 和 S. Zhang 等^[25] 设计的 SSR 标记,筛选在突变体 *sins1* 和 SSR41 之间具有多态性且没有杂带的标记。

1.3.3 混池的构建与突变基因的初步定位 从 F_2 (*sins1* × SSR41) 隐性单株中取 30 株窄颖花植株叶片,提取 DNA 并按等量混匀,即定位群体 DNA 混池,再利用 DNA 分子标记,以该隐性混池 DNA 为底物进行 PCR 扩增,最后利用聚丙烯酰胺凝胶电泳法确定造成窄颖花表型的基因所处的染色体和大致区域。接着在确定的区域内使用 SSR 标记,确定 F_2 定位群体中 963 份窄颖花表型植株叶片 DNA 的带型,根据定位群体重组事件的统计,确定目标基因所在精确位置^[26]。其他标记用 Primer 5.0 软件设计。PCR 反应体系参照 R. W. Michelmore 等^[23] 的方法。本研究中所涉及的引物均由金唯智生物科技(北京)有限公司合成。PCR 扩增产物经过 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,再用银染显色后,判断电泳结果,并对结果进行拍照,确定目标基因所在的区域。

1.4 农艺性状调查分析

在开花前,分别随机选取 10 株颖花变窄表型的突变体 *sins1* 和颖花正常的野生型 Yugu1,对颖花进行观察并拍照,然后对选取的植株做标记。植物完全成熟后,对标记的植株分别进行穗长、穗粗、株高、穗颈长、茎粗、旗叶叶长、旗叶叶宽、千粒重、谷码数等重要农艺性状的调查并进行统计分析。本研究所涉及到的植物学性状数据均为 2015 年 9 月在北京

顺义调查获得。利用 Excel 软件进行数据分析,分别计算突变体 *sins1* 和野生型 Yugu1 的 10 株个体不同性状的均值和标准差,并进行方差分析,再利用 GraphPad Prism 6.07 软件作图。

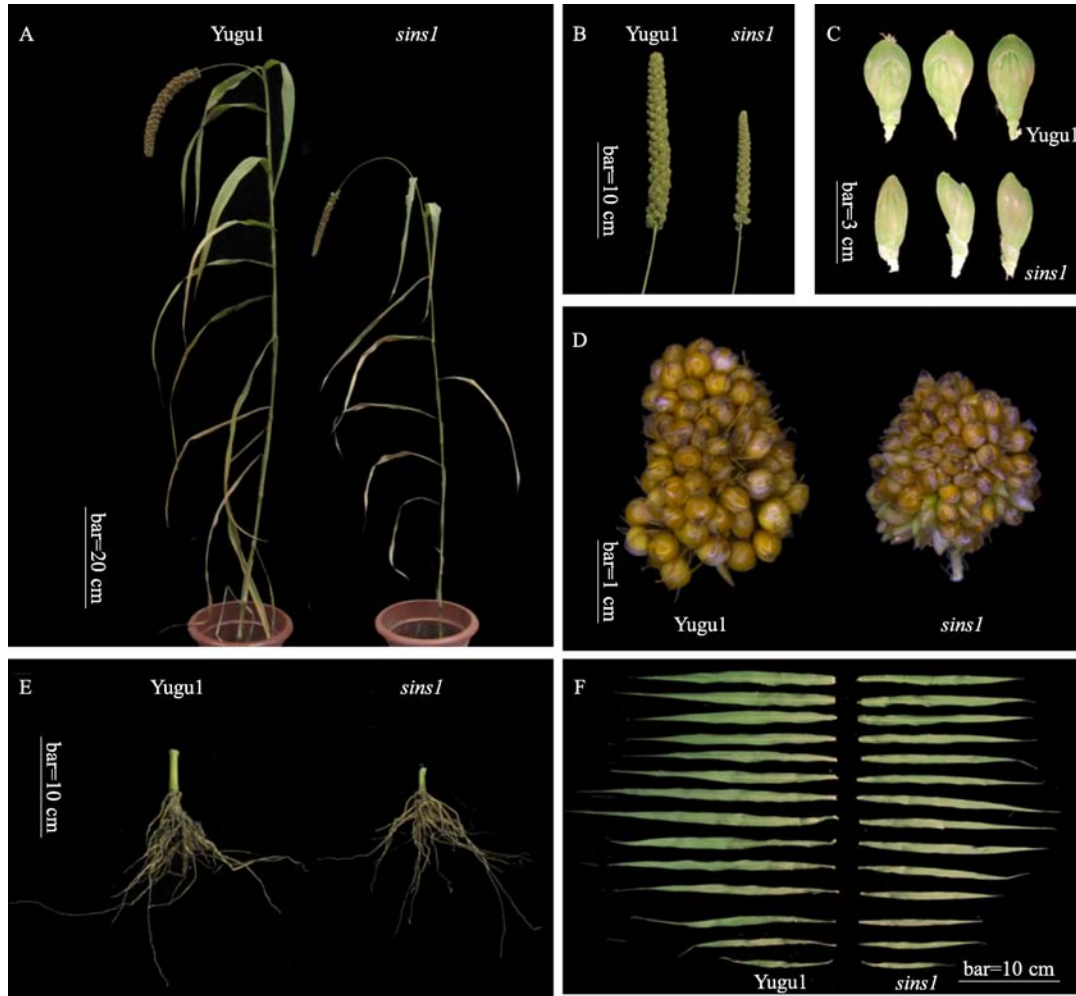
2 结果与分析

2.1 突变体 *sins1* 的表型特征及主要农艺性状的分析

突变体 *sins1* 与野生型 Yugu1 各种表型性状见图 1,数据分析见图 2。突变体 *sins1* 的穗部表型发生明显变化,最突出的特点是颖花明显变窄(图 1-C)。此外,突变体的株高、旗叶叶长、旗叶叶宽均显著降低。野生型株高为 142.89 cm,突变体株高为 137.33 cm,突变体株高降低了 3.89%(图 1-A、图 2-A, $P = 0.022$);野生型旗叶叶长为 38.70 cm,突变体旗叶叶长为 32.86 cm,突变体旗叶叶长降低了 15.09%(图 1-F、图 2-D, $P = 4.25513E-20$);野生型旗叶叶宽为 2.56 cm,突变体旗叶叶宽为 1.90 cm,突变体旗叶叶宽降低了 25.78%(图 1-F、图 2-E, $P = 3.80404E-24$)。对穗部主要性状进行统计分析发现:突变体 *sins1* 谷码的分布相对野生型 Yugu1 而言较紧密,但子粒有些不够饱满(图 1-D);野生型穗长为 19.23 cm,突变体穗长为 15.88 cm,突变体穗长降低了 17.42%(图 1-B、图 2-F, $P = 9.75566E-11$);野生型穗粗为 28.07 cm,突变体穗粗为 22.00 cm,突变体穗粗降低了 21.62%(图 1-B、图 2-G, $P = 1.44024E-15$);野生型单穗谷码数为 132.67 个,突变体单穗谷码数为 99.5 个,突变体谷码数降低了 25%(图 2-H, $P = 2.6701E-07$)。对穗部性状进行 t 检验,发现突变体 *sins1* 与野生型 Yugu1 穗部部分性状的差异均具有统计学意义。在产量性状方面,野生型千粒重为 2.49 g,突变体千粒重为 1.47 g,突变体千粒重降低了 40.96%(图 2-I, $P = 4.04287E-05$)。突变体 *sins1* 的其他农艺性状,如穗颈长(图 2-B)、茎粗(图 2-C)变化不显著,根部发育也无异常(图 1-E)。

2.2 突变体 *sins1* 的遗传分析

突变体 *sins1* 经过连续多代自交后,能够稳定遗传。*sins1* 与颖花正常的 SSR41 杂交得到的 F_1 均表现为正常颖花,证明突变后的窄颖花性状为隐性性状。 F_2 群体中正常颖花与窄颖花分离比为 3:1 ($\chi^2 = 1.209 < \chi_{20.05}^2(1) = 3.84$),正常颖花与窄颖花分离比例表明该突变类型为单基因隐性突变,即该突变性状受隐性单基因控制。



A、B、D、E、F:成熟期的植株、穗、谷码、根、叶;C:花

A、B、D、E、F: Whole plant phenotype, spike, spikelet, root, leaf at mature stage, C: Flower

图 1 野生型 (Yugul) 和突变体 (*sins1*) 成熟期表型比较Fig. 1 Phenotype of the mutant (*sins1*) and its wild-type parent (Yugul) at mature stage

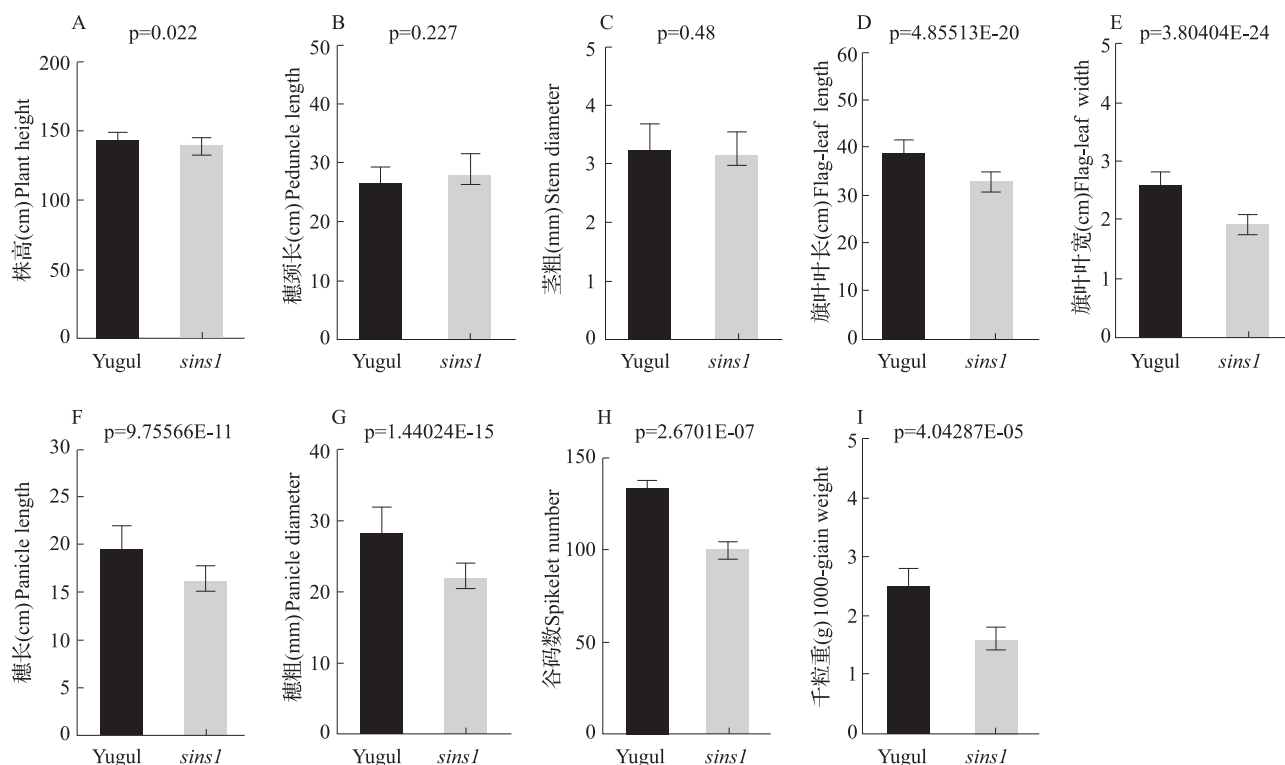
2.3 突变体 *sins1* 的初步定位

在 9 条染色体上均匀选取了 196 对 SSR 引物,检测它们在突变体 *sins1* 与 SSR41 之间的多态性。最终确定可用的标记数量为 66 个。这 66 个标记基本覆盖了 9 条染色体,分布频率满足 BSA 隐性个体基因混池法的要求,其中在 1~9 号染色体上分别有 7、8、8、6、8、7、6、7、9 个多态性标记。

利用 BSA 隐形混池法对这 66 个标记分别扩增父本 SSR41、母本 *sins1*、F₁、隐性混池 (P),发现在 3 号染色体上有 1 个与目的基因紧密连锁的标记 CAAS3031 (图 3-A)。从图 3-A 可以看出,在标记 CAAS3031 的混池条带中母本 (*sins1*) 带扩增明显,未出现父本 (SSR41) 条带。进一步在 CAAS3031 的上下游寻找标记,最后选出 3 个可用的标记,分别为

SIMS18978、CAAS3132、CAAS3036。用这 3 个标记分别检测 120 株收取的窄颖花表型植株叶片 DNA,根据电泳检测结果,将窄颖花突变基因 *sins1* 定位在 SIMS18978 (图 3-B) 与 CAAS3031 这 2 个标记之间,物理距离为 11.53 Mb。

为了缩小区间,在 11.53 Mb 的区间内,设计了 20 个 SSR 标记,对这些 SSR 标记在母本 (*sins1*) 与父本 (SSR41) 之间进行多态性检测,仅发现 5 对标记可用,分别为 3-2318、3-2428、3-2534、3-2658、3-2979。通过 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳对 F₂ 群体中 963 份隐性单株进行检测,最终将目的基因定位在标记 3-2658 和 CAAS3031 间的 7.709 Mb 区间 (表 1)。因为 F₂ 群体只选取了 963 份单株,因此无法继续进行区间缩小工作,即无法用 F₂ 群体进行精细定位 (图 4)。



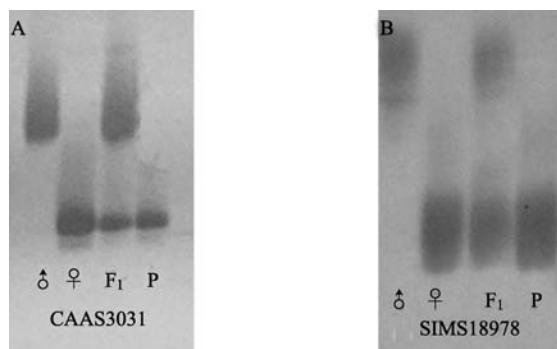
A:株高;B:穗颈长;C:茎粗;D:旗叶叶长;E:旗叶叶宽;F:穗长;G:穗粗;H:谷码数;I:千粒重

A: Plant height, B: Peduncle length, C: Stem diameter, D: Flag-leaf length, E: Flag-leaf width,

F: Panicle length, G: Panicle diameter, H: Spikelet number, I: 1000-grain weight

图2 突变体 *sins1* 与野生型 Yugu1 主要农艺性状的比较

Fig. 2 Comparison of major agronomic traits between the *sins1* mutant and its wild-type parent Yugu1



A: 标记 CAAS3031 扩增条带; δ : SSR41; η : 突变体 *sins1*; F_1 : 突变体 *sins1* \times SSR41; P: F_2 群体隐性单株 DNA 混池;

B: 标记 SIMS18978; δ : SSR41; η : 突变体 *sins1*; F_1 : 突变体 *sins1* \times SSR41; P: F_2 群体隐性单株 DNA

A: Marker CAAS3031. δ : SSR41, η : *sins1*, F_1 : F_1 of *sins1* \times SSR41, P: DNA pool of recessive individuals of F_2 population,

B: Marker SIMS18978. δ : SSR41, η : *sins1*, F_1 : F_1 of *sins1* \times SSR41, P: DNA pool of recessive individuals of F_2 population

图3 *sins1* 连锁标记检测结果

Fig. 3 Linked markers results of *sins1*

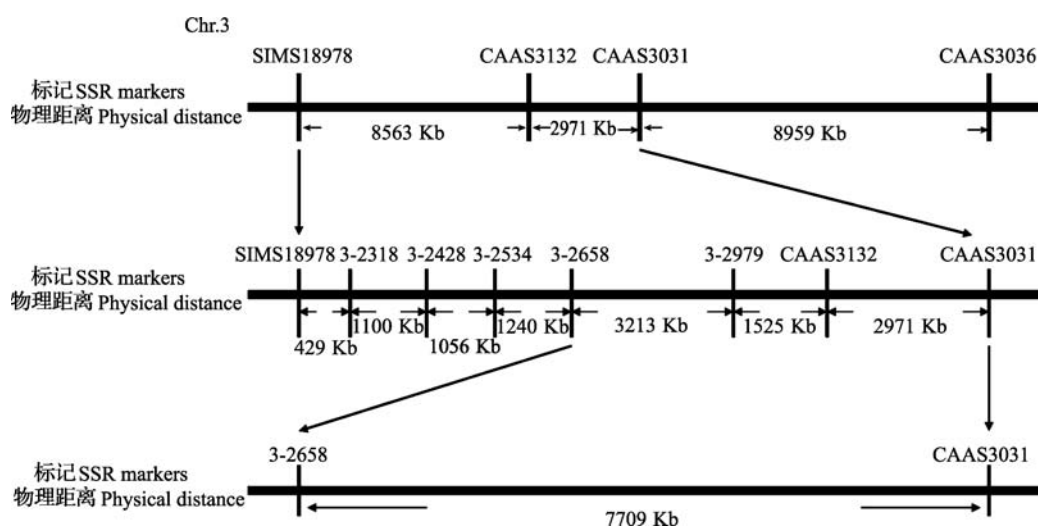
表 1 SSR 标记检测结果

Table 1 Test results of SSR markers

株号 Code	SSR 标记 SSR markers								
	SIMS18978	3-2318	3-2428	3-2534	3-2658	3-2979	CAAS3132	CAAS3031	CAAS3036
2	H	S	S	S	S	S	S	S	S
18	H	H	H	H	S	S	S	S	H
21	H	H	H	S	S	S	S	S	S
34	H	S	S	S	S	S	S	S	S
45	H	S	S	S	S	S	S	S	S
84	S	S	S	S	S	S	S	S	H
85	H	H	H	S	S	S	S	S	S
109	S	S	S	S	S	S	S	S	H
114	H	S	S	S	S	S	S	S	H
158	H	H	H	H	H	S	S	S	S
553	S	S	S	S	S	S	S	H	H
554	H	H	H	S	S	S	S	S	S
567	H	H	S	S	S	S	S	S	S
610	H	H	H	H	S	S	S	S	S
773	S	S	S	S	S	S	S	H	H
779	H	H	S	S	S	S	S	S	H
792	S	S	S	S	S	S	S	H	H
921	S	S	S	S	S	S	S	H	H

S: 母本 *sins1* 突变体带型; H: 同时具有双亲带型

S: The strip of *sins1*, H: The individuals with the strips of parents

图 4 窄颖花突变基因 *sins1* 的定位Fig. 4 Gene mapping of the narrow spikelet mutant *sins1*

3 讨论

花性状的变异是非常重要的表型突变,会直接导致粮食作物产量的变化。之前关于花发育的研究

多集中在模式作物拟南芥,但是近年来随着生物技术的发展,在单子叶植物的研究也越来越多。如在水稻中, *GS3* 基因负责编码一个包含 232 个氨基酸的蛋白,并且含有一个类 PEBP 结构域。 *GS3* 含有 5

个外显子,而在大粒品种中 *GS3* 的第 2 个外显子发生了由 C 到 A 的单碱基突变,使得密码子 TGC 变成终止密码子 TGA,造成翻译的提前停止,导致其最后编码的蛋白丢失了 178 个氨基酸,这些氨基酸的丢失使其含有的类 PEBP 结构丢失了 3 个功能域,通过这些分析说明 *GS3* 与粒重之间呈负相关^[15]。但是最新的研究表明 *GS3* 其实不属于 PEBP 蛋白家族,之前认为 *GS3* 编码的蛋白中包含的类 PEBP 结构实际上只含有 1/3 长度的 PEBP,但是在其 N 端含有一个在大多数被子植物中均存在的高度相似并且保守的 66 个氨基酸的结构域,该结构暂时被命名为 OSR^[27]。参与调控颖壳宽度的 *GS5* 位于 RM593 和 RM574 之间,负责编码丝氨酸羧基酶,能够控制水稻子粒宽度、充实度以及千粒重,是重要的数量性状基因,该基因通过上调细胞周期相关基因的表达,从而促进细胞的分裂,使细胞数目增加,同时使细胞横向生长的效应提高,最终颖壳宽度增加,这些结果说明 *GS5* 能够正向调控颖壳的宽度^[16];通过组织特异性分析还发现 *GS5* 在幼穗中的表达量是最高的,通过对比宽粒和窄粒表型的植株中 *GS5* 的表达量,结果为在宽粒类型植株的幼穗中 *GS5-ZS97* 的表达量高于窄粒类型植株幼穗中 *GS5-H94* 的表达量^[28]。*qSW-5 (GW5)* 同样是控制水稻颖壳宽度的基因,但与 *GS5* 的调控机制不同,它编码一个核定位蛋白,该蛋白能够与多聚泛素相互作用,其对颖壳发育的调控机制与 *GW2* 相类似^[17-18]。本研究中的谷子窄颖花突变体也是由 1 对隐性核基因控制,其表型与上述一些突变体的表型具有一定的相似性,尤其是与 *GS5* 突变后的效应极为相似,这为以后的研究提供了一个可能的方向。

此外,对定位区间 7.709 Mb 内的所有候选基因进行分析和数据库比对 (<http://structuralbiology.cau.edu.cn/SIFGD/search.php>),发现 8 个在穗部高表达的基因,分别为 *Seita. 3G287000*、*Seita. 3G289200*、*Seita. 3G289600*、*Seita. 3G291800*、*Seita. 3G294300*、*Seita. 3G299300*、*Seita. 3G297400*、*Seita. 3G298300*。其中 *Seita. 3G289200*、*Seita. 3G299300*、*Seita. 3G298300*、*Seita. 3G298300*、*Seita. 3G297400* 这 5 个基因在穗部的表达量高于根、茎、叶中的表达量。数据库查找发现 *Seita. 3G289200* 功能为乙烯应答转录因子 ERF098,该基因在拟南芥中的同源基因是 *AT4G27950*,功能为细胞分裂素响应因子 4;在水稻中的同源基因是 *LOC_Os05g25260*,属于 AP2 类转录因子基因,该类基因能够控制赤霉素与脱落酸

之间的相互作用。从中可以发现 *Seita. 3G289200* 与植物激素的响应相关,在 *GS5* 的研究结果中就是因为细胞分裂异常最后导致了颖壳宽度的变化。*Seita. 3G299300* 在拟南芥中的同源基因为 *AT5G48480*,编码乳酰谷胱甘肽裂解酶或乙二醛酶 I 型家族蛋白。*Seita. 3G297400* 是 zinc finger 家族成员,是一种蛋白质酰基转移酶。*Seita. 3G298300* 具有 2 个转录本,分别是 *Seita. 3G298300. 1*、*Seita. 3G298300. 2*,均为 C3HC4 type-RING Zinc finger。C3HC4 型锌指蛋白是目前功能研究较多的一种锌指蛋白类型,结合有 2 个锌离子并且含有 40~60 个 Cys 残基富集的结构域,该蛋白是一种具有环指状结构的锌指蛋白,这类锌指蛋白在目前的研究中分为两类,较少的一类属于转录因子,大多数一类则属于泛素连接酶 E3,主要功能是结合蛋白质^[29]。C3HC4 型锌指蛋白的功能与水稻控制硬壳宽度的基因 *GW2* 的功能几乎相同,这个发现同样对以后的精细定位工作具有很重要的参考价值。

本研究以 SSR41 作为父本, Yugu1 的突变体 *sins1* 作为母本进行杂交,以 F₂ 中窄颖花性状植株作为分析群体。通过表 1 可以发现,将窄隐花突变基因 *sins1* 定位在标记 3-2658 与标记 CAAS3031 之间的 7.709 Mb 区域内,963 个 F₂ 隐性单株中在标记 3-2658 处只有 1 个交换株,在标记 CAAS3031 处只有 4 个交换株。这说明在定位的这段区域内,突变体 *sins1* 和野生型 SSR41 的杂合体在进行减数分裂时,姊妹染色单体之间发生交叉互换的频率较低,这可能是导致本研究中的定位难以进行的重要原因之一,需要进一步扩大定位群体的数量以进行下一步工作。

参考文献

- [1] 卢寰,时振英. 水稻穗发育的分子生物学研究进展[J]. 植物生理学报,2013,49(2):111-121
- [2] Matsushima S. Theories and techniques in rice cultivation-theory on yield analysis and its application[M]. Tokyo:Yokendo,1959:1-195
- [3] Theissen G. Development of floral organ identity:Stories from the MADS house[J]. Curr Opin Plant Biol,2001,4(1):75-85
- [4] Coen E S, Meyerowitz E M. The war of the whorls:Genetic interactions controlling flower development[J]. Nature,1991,353(6339):31-37
- [5] Weigel D, Meyerowitz E M. The ABCs of floral homeotic genes: Review[J]. Cell,1994,78:203-209
- [6] Kunst L, Klenz J E, Martinez-Zapater J, et al. AP2 gene determines the identity of perianth organs in flowers of *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Cell,1989,1(12):1195-1208
- [7] Thompson B E, Hake S. Translational biology: from *Arabidopsis* flowers to grass inflorescence architecture[J]. Plant Physiol,2009,149(1):38-45

- [8] McCouch S R, Kochert G, Yu Z H, et al. Molecular mapping of rice chromosomes[J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 76(6):815-829
- [9] Akagi H, Yokozeki Y, Inagaki A, et al. Microsatellite DNA makers for rice chromosomes[J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 93(7):1071-1077
- [10] Wu K S, Tanksley S D. Abundance polymorphism and generic mapping of microsatellites in rice[J]. *Mol Gen Genet*, 1993, 241(1):225-235
- [11] Panaud O, Chen X, McCouch S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphisms(SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Mol Gen Genet*, 1996, 252(5):597-607
- [12] 吴先军, 王彬, 韩赞平, 等. 水稻长颖花突变体 LRS 的鉴定[J]. *中国农业科学*, 2004, 37(3):453-455
- [13] 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]. *Nat Genet*, 2007, 39(5):623-630
- [14] Zhang Q F, Xu J D, Li Y, et al. Morphological, anatomical and genetic analysis for a rice mutant with abnormal hull[J]. *J Genet Genomics*, 2007, 34(6):519-526
- [15] Fan C C, Xing Y Z, Mao H L, et al. GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative trans-membrane protein[J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(6):1164-1171
- [16] Li Y B, Fan C C, Xing Y Z, et al. Natural variation in GS5 plays an important role in regulating grain size and yield in rice[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(12):1266-1269
- [17] Shomura A, Izawa T, Ebana K, et al. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(8):1023-1028
- [18] Weng J F, Gu S H, Wan X Y, et al. Isolation and initial characterization of GW5, a major QTL associated with rice grain width and weight[J]. *Cell Res*, 2008, 18(12):1199-1209
- [19] 李雯, 智慧, 张硕, 等. 谷子 *Si-SPI* 小穗突变基因的遗传分析和定位[J]. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(3):581-587
- [20] Jia G Q, Huang X H, Zhi H, et al. A haplotype map of genomic variations and genome-wide association studies of agronomic traits in foxtail millet (*Setaria italica*) [J]. *Nat Genet*, 2013, 45(8):957-961
- [21] Bennetzen J L, Schmutz J, Wang H, et al. Reference genome sequence of the model plant *Setaria* [J]. *Nat Biotech*, 2012, 30(6):556-561
- [22] Li P H, Brutnell T P. *Setaria viridis* and *Setaria italica*, model genetic systems for the Panicoid grasses [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(9):3031-3037
- [23] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating population [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(21):9828-9832
- [24] Jia X, Zhang Z, Liu Y, et al. Development and genetic mapping of SSR markers in foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.] [J]. *Theor Appl Genet*, 2009, 118(4):821-829
- [25] Zhang S, Tang C, Zhao Q, et al. Development of highly polymorphic simple sequence repeat markers using genome-wide microsatellite variants analysis in Foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.] [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1):78
- [26] Zhang Q F, Shen B Z, Dai X K, et al. Using bulked extremes and recessive class to map genes for photoperiod-sensitive genic male sterility in rice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(18):8675-8679
- [27] Mao H, Sun S, Yao J, et al. Linking differential domain functions of the GS3 protein to natural variation of grain size in rice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(45):19579-19584
- [28] 许纯珏. 水稻粒宽基因 *GS5* 的调控与分子机理研究 [D]. 武汉:华中农业大学, 2015
- [29] 余晓丹, 沈晓明, 颜崇淮. 锌指蛋白结构和功能研究进展 [J]. *国外医学:卫生学分册*, 2004, 31(3):171-175