

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2018.00169

水稻花器官数目突变体 *mf2* 的鉴定和基因定位

严贤诚** 陈立凯** 罗玉花 罗文龙 王慧 郭涛* 陈志强*

华南农业大学国家植物航天育种工程技术研究中心, 广东广州 510642

摘要: 水稻的花器官发育影响着水稻的产量与品质。本研究通过 ^{12}C 重离子诱变航恢 7 号获得一个水稻花器官突变体 *multi-floret 2 (mf2)*, 其稃片、浆片、雄蕊、雌蕊增多, 多数小穗内具 2~3 朵类似小花。*mf2* 内外稃不能很好勾合, 而且形状和维管束的数目都产生了一定程度的变化。电镜扫描幼穗发现花器官的变异在幼穗分化期的各花器官原基分化时就已形成。另外, 该突变体的抽穗期推迟, 株高降低, 穗数增多, 表明其营养生长也受到一定的影响。遗传分析表明 *mf2* 突变体表型受单隐性核基因控制。利用 SSR、InDel 分子标记将 *MF2* 定位于第 1 染色体的标记 SSR39108 和 InD39210 之间, 区间大小约为 102 kb。

关键词: 水稻; 重离子诱变; 花器官变异; 基因定位

Identification and Gene Mapping of a Floral Organ Number Mutant *mf2* in Rice (*Oryza sativa*)

YAN Xian-Cheng**, CHEN Li-Kai**, LUO Yu-Hua, LUO Wen-Long, WANG Hui, GUO Tao*, and CHEN Zhi-Qiang*

National Engineering Research Center of Plant Space Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangzhou, China

Abstract: A rice floral organ mutant *mf2 (multi-floret 2)* was identified from Hanghui 7, an *indica* restorer line in rice (*Oryza sativa* L.), which was treated with heavy ion irradiation. The glumes, lodicules, stamens, pistil of the mutant increased, and most of the spikelets had 2–3 flowers. The palea and lemma of *mf2* mutant were dehiscent, the shape and number of vascular bundles were different from those of the wild-type. Scanning electron microscope analysis revealed that the flowers variation of *mf2* had been formed in the differentiation of the primordium during the spike differentiation stage. The heading date of the *mf2* mutant was delayed, the plant height was decreased, but the number of panicles was increased, showing that the vegetative growth of the mutant was also affected. Genetic analysis showed that the *mf2* mutant phenotype was controlled by a recessive nuclear gene. There are 321 recessive individuals from the F_2 segregation population were used to fine map *MF2*. Finally, *MF2* was located in a 102 kb physical interval between markers SSR39108 and InDel39210 on chromosome 1.

Keywords: rice (*Oryza sativa* L.); heavy ion mutagenesis; floral mutants; gene mapping

花器官作为种子植物重要的繁殖器官, 一直是植物发育学研究中的热点之一。植物的花器官发育是一个十分复杂的过程, 包括花分生组织起始、花分生组织属性的特化与保持, 花器官原基的起始、花器官属性的特化、花分生细胞的终止以及花器官

的最终成熟^[1]。植物开花涉及大量的基因调控, 确定花器官的数目、属性等^[2]。随着对双子叶模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、金鱼草(*Antirrhinum majus*)和矮牵牛(*Petunia hybrida*)花器官同源异型突变体的研究, 相继提出了“ABC”模型、“ABCD”模型

本研究由国家重点研发计划项目(2016YFD0102102), 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-01-12)和广东省应用型研发项目(2015B020231011)资助。

This study was supported by the National Key Research and Development Program of China (2016YFD0102102), the China Agricultural Research System (CARS-01-12), and the Applied Research and Development Funds in Guangdong (2015B020231011).

* 通信作者(Corresponding authors): 陈志强, E-mail: zqchen@scau.edu.cn, Tel: 020-85283237; 郭涛, E-mail: guo.tao@vip.163.com, Tel: 020-38604903

** 同等贡献(Contributed equally to this work)

第一作者联系方式: 严贤诚, E-mail: 18659186232@163.com; 陈立凯, E-mail: leeking1113@163.com

Received(收稿日期): 2017-05-27; Accepted(接受日期): 2017-09-10; Published online(网络出版日期): 2017-10-27.

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20171027.1727.002.html>

和“ABCDE”模型^[3]。水稻(*Oryza sativa* L.)作为单子叶植物的重要模式植物,对于“ABCDE”模型也基本适用,表现出一定的保守性和多样性^[4]。

水稻花器官的基本结构单位是小穗,1个小穗包含1朵小花,小花具四轮结构,由外到内分别是内/外稃、浆片、雄蕊和雌蕊^[5]。水稻花器官的变异不仅包括各轮结构的同源异型转化,而且包括各轮结构数目的变化,甚至产生新的轮结构。目前已报道的有关调控水稻花器官数目的基因主要有 *PAP1*^[6]、*RFL*^[7]、*LHS1/OsMADS1*^[8]、*OsLRK1*^[9]、*OsFOR1*^[10]、*FONI*^[11]、*FON2/FON4*^[12,13]、*OsAP2-1*^[14]、*SNB*^[15]、*JMJ706*^[16]、*EG1*^[17]、*SLI*^[18]、*MFSI*^[19]、*NSG*^[20]、*EG2/OsJAZ1*^[21]、*OsIG1*^[22]、*OsMADS32*^[23]和 *YABBY4*^[24]。其中 *JMJ706* 通过编码 H2K9 去甲基酶调控花器官的发育; *EG1-EG2* 和 *YABBY4* 分别通过茉莉酸和赤霉素对花器官发育进行调控,在表观遗传调控和激素调控上很好地丰富了水稻花器官发育调控路径。

虽然目前已找到大量的水稻花器官突变相关基因,但是水稻花器官的调控机制(花分生组织确定性以及花器官属性的特化)仍然不够清晰。李云峰等^[25]曾报道了一个多小花小穗突变体 *mf1*,其一个小穗内出现两朵及以上小花。本研究通过重离子诱变获得的花器官数目突变体,其四轮器官均有增多现象,个别器官还表现出同源异型转化,暂命名为 *multi-floret 2 (mf2)*。本研究对该突变体进行了表型鉴定、遗传分析和基因初步定位,并借助定位区间的基因注释功能对候选基因进行筛选,为候选基因的克隆及功能研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

突变体 *mf2* 是在籼稻航恢 7 号重离子诱变 M_2 中筛选得到的一个花器官突变体,经过多代的自交繁殖,其性状稳定遗传。以 *mf2* 为父本,分别与 02428 (粳稻)和 Francis (粳稻)配制杂交组合用于遗传分析。以 02428×*mf2* 的 F_2 群体作为初步定位群体,以 Francis×*mf2* 的 F_2 群体作为精细定位群体。

重离子诱变处理方法:航恢 7 号干种子于 2014 年 4 月在兰州重离子加速器(HIRFL)国家实验室进行辐照。重离子为 $^{12}C^{6+}$, 80.55 MeV u^{-1} , 束斑直径 4 cm, 束斑均匀度>90%, 流强 5~20 nA。辐照剂量为 80 Gy。

1.2 农艺性状调查

突变体材料 *mf2* 和野生型(WT)同期种植。全生

育期观察 *mf2* 和 WT 的田间表型,重点调查其抽穗期、株高、穗长、穗数、结实率、千粒重等主要农艺性状。

1.3 形态学和组织学观察

1.3.1 解剖观察 于抽穗期分别取突变体和野生型的未散粉颖花,在 SZ780 体视显微镜下解剖、观察并拍照。

1.3.2 石蜡切片观察 随机取突变体和野生型临近开放的颖花,用 FAA 固定液(90 mL 70%酒精、5 mL 福尔马林、5 mL 冰醋酸)固定。经酒精梯度脱水、氯仿梯度透明后采用常规石蜡切片程序包埋。用石蜡切片片机连续切片。用苯胺番红-固绿双重染色,中性树胶封片保存。用 Olympus SZX10 型光学显微镜观察并拍照。

1.3.3 电镜观察 取突变体和野生型水稻幼穗用 2.5%~5.0%的戊二醛固定。为了让固定液能够充分浸入材料,将幼穗放入固定液时先抽气 3~4 min,在 4 °C 条件下固定 1~3 h 后吸出固定液,用 0.1 mol L^{-1} pH 6.8 的 PBS 漂洗 1 h,期间换漂洗液 3~4 次。吸出 PBS 后用乙醇梯度脱水干燥。经无水乙醇干燥后使用导电双面胶黏贴在载物台上,喷金后用 XL-30-ESEM 型号电镜扫描观察。

1.4 分子标记获取与开发

参照 gramene 数据库(<http://www.gramene.org/>)的 SSR 引物序列,用 SSRHunter1.3 软件搜索粳稻 Nipponbare 部分 SSR 引物。根据粳稻 Nipponbare 和籼稻 93-11 的序列差异比对设计 InDel 引物,用 Primer Premier 5.0 软件设计引物,引物均由上海生物工程技术有限公司合成。

1.5 DNA 提取与 PCR 检测

采用 CTAB 法^[26]提取水稻基因组 DNA。PCR 扩增体系含 5.0 μL 2×PCR Reaction Mix、0.1 μL 5 U μL^{-1} Taq DNA 聚合酶、引物(10 $\mu mol L^{-1}$)各 0.3 μL 、1.0 μL 模板 DNA, ddH₂O 补至 10 μL 。PCR 程序为 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 35 个循环; 72°C 延伸 7 min。扩增产物经 8.0%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳后银染观察。

1.6 基因定位

02428 ×*mf2* 的 F_2 群体用于基因的初定位。采用 BSA 法定位目标基因^[27]。即根据 F_2 植株表型,各取 10 株正常植株和突变体植株的叶片等量混合提取 DNA 构建近等基因池,利用近等基因池筛选具有多

态性的 SSR 标记。再用分离后代单株验证该多态性标记是否真正与目标基因连锁。

Francis×*mf2* 的 F₂ 群体用于基因的精细定位。在初定位的基础上, 利用更大的定位群体, 通过高密度 SSR 标记与 InDel 标记对目的基因进行连锁分析, 利用 gramene 数据库确定与突变基因紧密连锁的标记在水稻基因组(Nipponbare)上的位置, 并利用水稻基因组注释(<http://rice.plantbiology.msu.edu/>)筛选候

选基因。

2 结果与分析

2.1 表型观察

与野生型比较, 突变体 *mf2* 的营养生长和生殖生长都受到了一定的影响, 主要表现在抽穗期推迟、株高降低、穗数增多, 其穗的穗重、结实率以及籽粒的千粒重都极显著降低(表 1 和图 1-A)。

表 1 野生型和突变体 *mf2* 主要农艺性状调查

Table 1 Comparison of main agronomic traits between wild type and *mf2* mutant

材料 Material	抽穗期 Heading period (d)	株高 Plant height (cm)	单株穗重 Single plant spike weight (g)	穗数 Panicle number per plant	结实率 Seed-setting rate (%)	千粒重 1000-grain weight (g)
野生型 Wild-type	70.62±0.28	104.60±0.90	27.73±0.76	7.33±0.58	86.49±0.45	21.47±0.18
突变体 <i>mf2</i>	79.33±2.16*	92.44±1.37**	10.66±1.70**	13.20±0.86**	12.36±1.82**	13.64±0.10**

*, **分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著。

*, ** indicate significant difference at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

一个正常的小花具有确定数目的四轮结构, 包含 1 对闭合的内外稃、2 个浆片、6 枚雄蕊以及 1 个双柱头的雌蕊, 小花基部还有 1 对副护颖和护颖(图 1-C, D)。突变体 *mf2* 的副护颖和护颖与野生型基本无异, 但是小花的四轮结构均异常, 表现为内外稃增多、开裂、雌雄蕊数目增多、浆片稃片化等(图 1-E~J)。尤其是小花内三轮结构成倍增长, 形成类似 2 朵小花(图 1-H)和 3 朵小花(图 1-J), 且许多小花的雄蕊比正常的 6 枚都有不同程度的减少。对 150 个 *mf2* 颖花统计发现, 突变体小穗中包含 1 朵小花、2 朵小花、3 朵小花的颖花分别占 6.00%、75.33%和

18.67%。对 *mf2* 成熟后的籽粒进行统计却发现小穗中包含 1 粒籽粒、2 粒籽粒、3 粒籽粒的小穗分别占 81.56%、17.49%和 0.95%。表明多数突变体的小花并不能成功授粉、灌浆, 最终形成籽粒(图 2)。

2.2 组织学观察

组织学观察(图 3)表明正常小花的内外稃分别有 3 条和 5 条维管束(图 3, I-A)。突变体 *mf2* 具有多片稃状结构, 其内外稃大多不能很好地勾合, 而且形状和维管束都产生了一定程度的变化(图 3, I-B, C)。从维管束的数量和内外稃形状上看, 其外稃具有一定程度的内稃化。

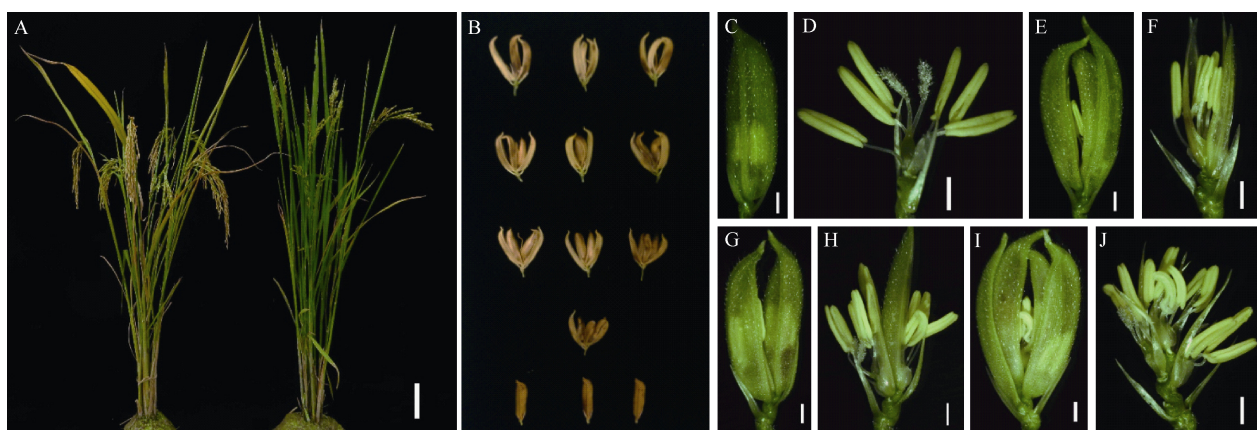


图 1 突变体 *mf2* 及其野生型的表型

Fig. 1 Phenotypes of *mf2* and the wild type

A: 野生型(左)和突变体 *mf2* (右)灌浆期植株表型; B: 野生型(下)和突变体 *mf2* (上)籽粒; C, D: 野生型颖花, D 为 C 去掉内外稃后的形态; E~J: 突变体 *mf2* 的颖花, 其中 F、H、J 分别为 E、G、I 去掉稃片后的形态。Scale bar=100 mm (A); Scale bars = 1 mm (C~J)。

A: phenotype of wild type (left) and *mf2* (right) individual plant during the filling stage; B: grains of wild type (lower) and mutant *mf2* (upper); C, D: spikelet of wild-type, D is the C removing the lemma and palea; E~J: spikelets of the mutant *mf2*, where F, H, and J are E, G, and I, respectively removing hulls. Scale bars = 100 mm (A) or 1mm (C~J).

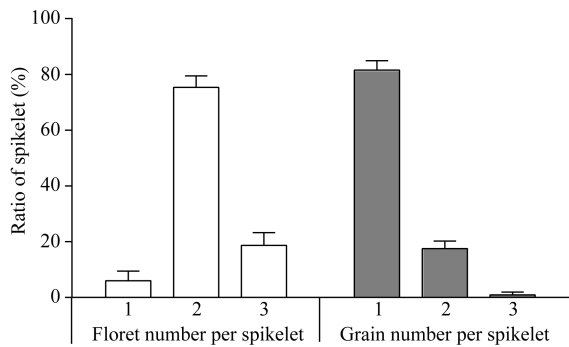


图2 *mf2* 突变体小穗小花数和籽粒数所占比例

Fig. 2 Ratio of the floret and grain number per spikelet of *mf2* mutant

电镜观察(图 3-II)发现, 突变体花器官的异常在幼穗的分化期, 各花器官在原基分化时就已经产

生。一般正常的小花原基先后分化出外稃原基、内稃原基、浆片原基、雄蕊原基、雌蕊原基, 6 个雌蕊原基以同心圆的方式围绕着雄蕊原基(图 3, II-A, B)。突变体小花在雌雄蕊原基分化时期表现为雌雄蕊原基排列散乱, 数目和大小不一, 还有额外的稃片原基产生(图 3, II-C, D), 这是产生多个雌雄蕊和类稃器官的基础。

2.3 遗传分析

突变体 *mf2* 分别与 02428 和 Francis 杂交, F_1 所有植株表型均正常, 与野生型相同, 说明 *mf2* 为隐性突变。 F_2 群体抽穗期花器官正常的称为野生型, 异常的称为突变型, 两者的分离比符合 3 : 1 (表 2), 说明 *mf2* 突变性状受 1 对隐性核基因控制, 暂命名为 *MF2*。

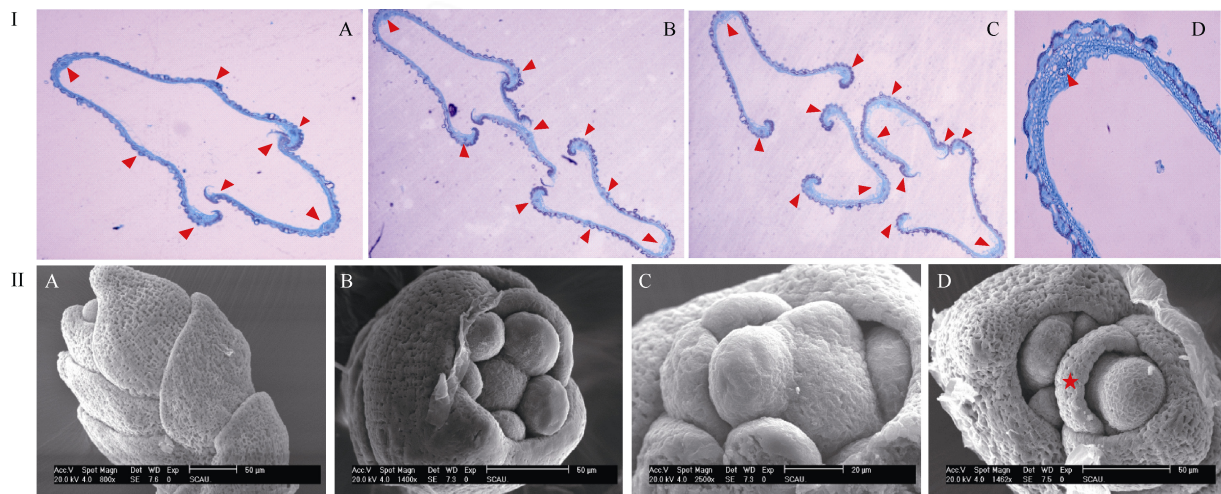


图3 突变体 *mf2* 及其野生型小穗显微结构

Fig. 3 Micrographs of wild-type and *mf2* spikelets

I: 野生型和 *mf2* 稃片石蜡切片观察。A: 野生型小穗; B, C: *mf2* 小穗含类稃结构; D: 维管束部分局部放大。箭头表示维管束。II: 野生型和 *mf2* 幼穗电镜观察。A, B: 野生型幼穗, 雄蕊原基出现; C, D: *mf2* 幼穗, 雄蕊原基出现, D 中具额外的稃片原基(星号表示)。
I: observation of wild type and *mf2* spikelets paraffin sections. A: wild type spikelet; B, C: *mf2* spikelets containing hull-like structure; D: partial enlargement of the vascular bundle, red arrowheads indicate vascular bundles. II: scanning electron micrographs of wild type and *mf2* young spikelets. A, B: wild type young spikelets at a time when stamen primordia are emerging; C, D: *mf2* young spikelets at the same time of A and B, asterisk indicates a extra palea primordium in D.

表2 *mf2* 突变体遗传分析

Table 2 Genetic analysis of *mf2* mutant

组合 Cross	F ₁ 表型 Phenotype of F ₁	F ₂ 表型 Phenotype of F ₂			$\chi^2_{(3:1)}$	$\chi^2_{0.05}$
		正常表型 Wild type	突变表型 Mutant type	总数 Total		
02428/ <i>mf2</i>	野生型 Wild type	357	126	483	0.249	3.84
Francis/ <i>mf2</i>	野生型 Wild type	1091	321	1412	3.748	

2.4 基因定位

选用均匀分布在水稻 12 条染色体上的 302 对 SSR 标记对两亲本 02428、*mf2* 进行多态性分析, 筛选出 107 对具多态性 SSR 标记, 多态率为 34.97%。进一步利用亲本间具多态性的标记扩增 F_2 近等基因

池筛选多态性标记, 并分别随机选取野生型和突变型分离单株各 10 株进行验证, 最终发现标记 RM315 与 *MF2* 连锁(图 4-A)。

为进一步确定基因所在的标记区间, 利用 Francis *mf2* 的 F_2 群体的 24 株突变表型单株在 RM315 附近筛

选更高密度的多态性 SSR 标记。结果表明 RM472、RM104 与目标基因连锁, 其重组个体分别为 5 个和 3 个, 且 2 个标记的重组个体不重叠。因此, *MF2* 基因初步被定位于 RM472–RM104 区间(图 4-A)。

在 RM472 和 RM104 区间内设计多个 InDel、SSR 标记(具多态性的标记列于表 3), 利用全部隐性

单株(321 个)进一步缩小定位区间。在标记 SSR39108 和 InD39210 各有 1 个重组子, 且互不重叠。比对 Nipponbare 的序列(<http://ensembl.gramene.org/Tools/Blast>), 标记 SSR39108–InD39210 对应于日本晴第 1 染色体 39 198 782~39 210 592 bp, 物理距离约为 102 kb (图 4-B)。

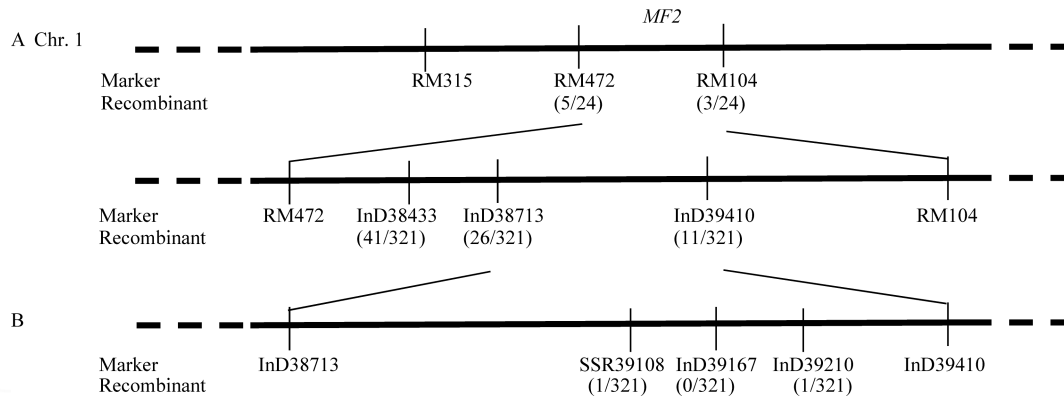


图 4 *MF2* 基因的精确定位
Fig. 4 Fine mapping of *MF2*

表 3 定位 *MF2* 所设计的引物序列
Table 3 Primer sequence used for *MF2* mapping

标记 Marker	正向引物 Forward primer (5'–3')	反向引物 Reverse primer (5'–3')
InD38433	AGGAGAAGCTCCCAGTCGTT	AATCCAAGTATCCCTTGCAAAC
InD38713	AACAGCAACGGTAACTTTTACACA	ACGCTTAGGAAGCTATGAGGTG
SSR39108	CATGTCTTGCAAGCTAACCAAA	CTATATATGCCACGACGAGCAG
InD39167	GCAAGTAAACCAACCACACGTA	CCATCCATCAATCCGAAGTACT
InD39210	TTTAAGGGGTTTCTAGCTGCTG	ATAGCTTTGGACCTGTTTTGGA
InD39410	TGAACTCAGGCCAGTTTAGTT	TTGAGCCTCCAGTAGTTCCTTC

根据 Rice Genome Annotation Project (<http://rice.plantbiology.msu.edu/index.shtml>)提供的基因注释信息, 在目的基因所在的 102 kb 定位区间内共有 10 个预测基因(表 4)。其中 *Os01g67430* 为脂肪酶基因, 该基因目前已被克隆, 即 *EG1* (*EXTRA GLUME 1*), 参与花器官的调控^[17]。*Os01g67410* 是 AP2/EREBP 转录因子, 目前已发现多个 AP2 亚家族基因, 在调控花分生组织确定性、花器官属性和种子发育上发挥着重要的作用^[28]。因此本研究将 *EG1* (*Os01g67430*) 和 *Os01g67410* 作为初步的候选基因。

3 讨论

植物的形态建成取决于植物分生组织的活动^[29]。在生殖生长阶段, 花器官分生组织的异常导致花器官形态、数目的变异。在部分报道的调控花器官数目的基因中, *FON1* 调控花分生组织大小。*FON1* 基

因突变导致花分生组织增大, 其突变体所有花器官的数目增多, 更有异位的花器官产生以及新的轮结构形成^[11];*FON1* 还能调控干旱胁迫和种子萌发^[30]。*FON2* 控制花分生组织的保守性及分化, 其突变也导致花分生组织增大, 使花器官数目增多^[13]。*FON4* 与 *FON2* 是同一基因^[12]。*FON3* 突变体花分生组织在外稃原基分化后就明显增大, 导致异常的小花内轮发育^[31]。*Fon(t)* 在雄蕊原基分化时也观察到了分生组织的异常^[32]。本研究中所获得的突变体 *mf2* 雌雄蕊原基排列散乱, 数目和大小不一, 还有额外的稃片原基产生, 暗示花器官分生组织的异常致使其花器官变异。

本研究将 *MF2* 定位在第 1 染色体的标记 SSR39108 和 InD39210 之间, 与已报道的 *MF1* 基因在不同染色体上^[25]。定位区间内具多个可能的基因, 其中 *Os01g67410* 为 AP2/EREBP 转录因子基因, 在

表 4 *MF2* 定位区间内的候选基因
Table 4 Candidate genes of *MF2* mapped region

基因号 Gene ID	位置 Location	基因注释 Description
<i>Os01g67364</i>	39114681–39117532	Ty3-gypsy 家族反转录转座子蛋白 Retrotransposon protein, putative, Ty3-gypsy subclass, expressed
<i>Os01g67370</i>	39129736–39134858	表达蛋白 Expressed protein
<i>Os01g67380</i>	39136361–39136861	表达蛋白 Expressed protein
<i>Os01g67390</i>	39136937–39139380	花粉 Ole-e-1 变应原和扩展蛋白家族的蛋白前体 POEI32-Pollen Ole-e-I allergen and extensin family protein precursor, expressed
<i>Os01g67400</i>	39140444–39140762	假定蛋白 Hypothetical protein
<i>Os01g67410</i>	39141130–39145479	AP2/EREBP 转录因子 AP2/EREBP transcription factor BABY BOOM, putative, expressed
<i>Os01g67420</i>	39158153–39165729	脂肪酶 Lipase, putative, expressed
<i>Os01g67430</i>	39177169–39178676	脂肪酶 Lipase, putative, expressed
<i>Os01g67440</i>	39179769–39180065	转座子蛋白 Transposon protein, putative, unclassified, expressed
<i>Os01g67450</i>	39195689–39196972	脂肪酶 Lipase, putative, expressed

植物发育中起重要调控作用, 比如调控花器官的发育, 影响株高、育性, 对生物胁迫和非生物胁迫的应答反应等^[28]。拟南芥的 *AP2* 基因是 AP2 亚族成员, 属于“ABCDE”花器官模型中的 A 类基因, 在调控花分生组织确定性、花器官属性和种子发育上具有重要作用^[28]。该类基因在单子叶植物中具有一定的保守性。玉米 *IDS1* 基因是拟南芥 *AP2* 的同源基因, 调控小穗分生组织特性。*ids1* 突变体小穗分生组织的确定性丢失, 每个小穗产生了多个小花^[33]。水稻 *SNB* 基因同样属于 AP2 亚族, 调控小穗分生组织向花分生组织转化以及花器官的发育^[15]。*SNB* 与另一个 AP2-LIKE 基因 *OsIDS1* 协同控制花序结构和花分生组织建成^[34]。*OsAP2-1* 基因属于 AP2 亚族, 该基因下调导致雄蕊减少, 心皮或柱头增加, 也会产生额外的内外稃器官, 表明该基因也参与花器官数目的调控^[14]。此外, *Os01g67430* 基因即 *EG1* 已被定位克隆。*EG1* 涉及花分生组织的确定性, 其突变导致空颖的属性以及数目变化, 产生异位的花器官^[17]。该脂肪酶基因与已知的其他植物的脂肪酶基因不同, 拟南芥中与之高度同源的基因(*At2g31690*)并不影响花器官的发育^[35], 表明其功能在水稻中存在分化。*EG1* 作为质体定位脂肪酶, 参与 JA 的生物合成, 揭示了禾本科植物中一个新的小穗发育调控机制^[21]。Zhang 等^[36]的实验证明, *EG1* 可以通过一个高度依赖温度的线粒体脂肪酶途径使确定花器官属性的基因安全表达, 进而提高植株花器官的稳定性以应对温度的波动, 这又对该基因调控花器官发育机制有了新的理解。

突变体 *mf2* 的花器官发育受到严重影响, 其各

轮结构的数目异常、形状畸变, 浆片稃片化以及部分外稃内稃化, 表明其花分生组织的确定性以及花器官属性的调控受到影响。虽然其表型与 *EG1* 突变体的花器官表型相似但也存在差异。*mf2* 表现出生育期推迟、植株变矮、分蘖增多, 表明其营养生长也受到严重影响, 而 *EG1* 突变体 *egl-1* 和 *egl-2* 的营养生长和圆锥花序的数目并不受影响^[17]。初步的测序结果表明, 突变体 *mf2* 与野生型的 *Os01g67430/EG1* 基因和 *Os01g67410* 基因的编码区以及 5'UTR 都未发现碱基序列改变, 需进一步对这 2 个候选基因及定位区间内的其他基因进行表达分析以及测序验证。

4 结论

水稻突变体 *mf2* 的营养生长和生殖生长都受到影响。其花器官表现出多向性缺陷, 主要体现在各轮花器官数目的变化, 包括稃片、浆片、雄蕊、雌蕊, 多数小穗内具 2~3 朵类似小花。花器官的变异在幼穗分化期的各花器官原基分化时就已形成。*mf2* 突变体表型受单隐性核基因控制, 该基因被定位于第 1 染色体的标记 SSR39108 和 InD39210 之间, 区间大小约为 102 kb。

References

- [1] Guo S, Sun B, Looi L S, Xu Y, Gan E S, Huang J, Ito T. Co-ordination of flower development through epigenetic regulation in two model species: rice and *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56: 830–842
- [2] Yanofsky M F. Floral meristems to floral organs: genes controlling early events in *Arabidopsis* flower development. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1995, 46: 167–188

- [3] Fornara F, Marziani G, Mizzi L, Kater M, Colombo L. MADS-box genes controlling flower development in rice. *Plant Biol*, 2003, 5: 16–22
- [4] 田大刚, 刘华清, 苏军, 张礼华, 王锋. 水稻与拟南芥中控制花器官发育 MADS-box 基因的比较研究进展. *福建农业学报*, 2011, 26: 309–320
Tian D G, Liu H Q, Su J, Zhang L H, Wang F. Flower-Development-Controlling MADS-box genes in rice and *Arabidopsis thaliana*. *Fujian J Agric Sci*, 2011, 36: 309–320 (in Chinese with English abstract)
- [5] Yoshida H, Nagato Y. Flower development in rice. *J Exp Bot*, 2011, 62: 4719–4730
- [6] Takahashi M, Nagasawa N, Kitano H, Nagato Y. *Panicle phytochrome 1* mutations affect the panicle architecture of rice. *Theor Appl Genet*, 1998, 96: 1050–1056
- [7] Kyoizuka J, Konishi S, Nemoto K, Izawa T, Shimamoto K. Down-regulation of *RFL*, the *FLO/LFY* homolog of rice, accompanied with panicle branch initiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 1979–1982
- [8] Jeon J S, Jang S, Lee S, Nam J, Kim C, Lee S H, Chung Y Y, Kim S R, Lee Y H, Cho Y G. *Leafy hull sterile 1* is a homeotic mutation in a rice MADS box gene affecting rice flower development. *Plant Cell*, 2000, 12: 871–884
- [9] Chanhong K, Donghoon J, An G H. Molecular cloning and characterization of *OsLRK1* encoding a putative receptor-like protein kinase from *Oryza sativa*. *Plant Sci*, 2000, 152: 17–26
- [10] Jang S, Lee B, Kim C, Kim S J, Yim J, Han J J, Lee S, Kim S R, An G. The *OsFOR1* gene encodes a polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) that regulates floral organ number in rice. *Plant Mol Biol*, 2003, 53: 357–369
- [11] Suzaki T, Sato M, Ashikari M, Miyoshi M, Nagato Y, Hirano H Y. The gene *FLORAL ORGAN NUMBER1* regulates floral meristem size in rice and encodes a leucine-rich repeat receptor kinase orthologous to *Arabidopsis CLAVATA1*. *Development*, 2004, 131: 5649–5657
- [12] Chu H, Qian Q, Liang W, Yin C, Tan H, Yao X, Yuan Z, Yang J, Huang H, Luo D. The *FLORAL ORGAN NUMBER4* gene encoding a putative ortholog of *Arabidopsis CLAVATA3* regulates apical meristem size in rice. *Plant Physiol*, 2006, 142: 1039–1052
- [13] Suzaki T, Toriba T, Fujimoto M, Tsutsumi N, Kitano H, Hirano H Y. Conservation and diversification of meristem maintenance mechanism in *Oryza sativa*: function of the *FLORAL ORGAN NUMBER2* gene. *Plant Cell Physiol*, 2006, 47: 1591–1602
- [14] Zhao L, Xu S, Chai T, Tai W. *OsAP2-1*, an AP2-like gene from *Oryza sativa*, is required for flower development and male fertility. *Plant Reprod*, 2006, 19: 197–206
- [15] Lee D Y, Lee J, Moon S, Park S Y, An G. The rice heterochronic gene *SUPERNUMERARY BRACT* regulates the transition from spikelet meristem to floral meristem. *Plant J*, 2007, 49: 64–78
- [16] Sun Q, Zhou D X. Rice jmjC domain-containing gene *JMJ706* encodes H3K9 demethylase required for floral organ development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 13679–13684
- [17] Li H, Xue D, Gao Z, Yan M, Xu W, Xing Z, Huang D, Qian Q, Xue Y. A putative lipase gene *EXTRA GLUME1* regulates both empty-glume fate and spikelet development in rice. *Plant J Cell Mol Biol*, 2009, 57: 593–605
- [18] Xiao H, Tang J, Li Y, Wang W, Li X, Jin L, Xie R, Luo H, Zhao X, Meng Z. *STAMENLESS 1*, encoding a single C2H2 zinc finger protein, regulates floral organ identity in rice. *Plant J*, 2009, 59: 789–801
- [19] Ren D Y, Li Y F, Wang Z, Xu F F, Guo S, Zhao F M, Sang X C, Ling Y H, He G H. Identification and gene mapping of a *multi-floret spikelet 1 (mfs1)* mutant associated with spikelet development in rice. *J Integr Agric*, 2012, 11: 1574–1579
- [20] Wang N, Li Y F, Sang X C, Ling Y H, Zhao F M, Yang Z L, He G H. *Nonstop glumes (nsg)*, a novel mutant affects spikelet development in rice. *Genes & Genomics*, 2013, 35: 149–157
- [21] Cai Q, Yuan Z, Chen M, Yin C, Luo Z, Zhao X, Liang W, Hu J, Zhang D. Jasmonic acid regulates spikelet development in rice. *Nat Commun*, 2014, 5: 3476
- [22] Zhang J, Tang W, Huang Y, Niu X, Zhao Y, Han Y, Liu Y. Down-regulation of a LBD-like gene, *OsIG1*, leads to occurrence of unusual double ovules and developmental abnormalities of various floral organs and megagametophyte in rice. *J Exp Bot*, 2015, 66: 99–112
- [23] Wang H H, Zhang L, Cai Q, Jin Z M, Zhao X X, Huang Q M, Luo Z J, Chen M J, Zhang D B, Yuan Z. *OsMADS32* interacts with PI-like proteins and regulates rice flower development. *J Integr Plant Biol*, 2015, 57: 504–513
- [24] Yang C, Ma Y, Li J. The rice *YABBY4* gene regulates plant growth and development through modulating the gibberellin pathway. *J Exp Bot*, 2016, 67: 5545–5556
- [25] 李云峰, 杨正林, 凌英华, 王楠, 任德勇, 王增, 何光华. 水稻多小花小穗突变体 *mf1* 的鉴定与基因定位. *作物学报*, 2011, 37: 280–285
Li Y F, Yang Z L, Ling Y H, Wang N, Ren D Y, Wang Z, He G H. Characterization and gene mapping of a spikelet mutant *mf1* in rice. *Acta Agron Sin*, 2011, 37: 280–285 (in Chinese with English abstract)
- [26] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl Acids Res*, 1980, 8: 4321–4326
- [27] 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 populations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 9828–9832
- [28] 赵利峰, 柴团耀. AP2/EREBP 转录因子在植物发育和胁迫应答中的作用. *植物学通报*, 2008, 25: 89–101
Zhao L F, Chai T Y. Roles of AP2/EREBP family of transcription factors in development and stress response of plants. *Chin Bull Bot*, 2008, 25: 89–101 (in Chinese with English abstract)
- [29] Poethig R S. Phase change and the regulation of developmental timing in plants. *Science*, 2003, 301: 334–336
- [30] Feng L, Gao Z, Xiao G, Huang R, Zhang H. Leucine-rich repeat receptor-like kinase *FON1* regulates drought stress and seed germination by activating the expression of ABA-responsive genes in rice. *Plant Mol Biol Rep*, 2014, 32: 1158–1168
- [31] Jiang L, Qian Q, Mao L, Zhou Q Y, Zhai W X. Characterization of the rice floral organ number mutant *fon3*. *J Integr Plant Biol*, 2005, 47: 100–106
- [32] Li Y, Xu P, Zhang H, Peng H, Zhang Q, Wang X, Wu X. Characterization and identification of a novel mutant *fon(t)* on floral

- organ number and floral organ identity in rice. *J Genet Genomics*, 2007, 34: 730–737
- [33] Kaplinsky N J, Freeling M. Combinatorial control of meristem identity in maize inflorescences. *Development*, 2003, 130: 1149–1158
- [34] Lee D Y, An G. Two AP2 family genes, *SUPERNUMERARY BRACT (SNB)* and *OsINDETERMINATE SPIKELET 1 (OsIDS1)*, synergistically control inflorescence architecture and floral meristem establishment in rice. *Plant J*, 2012, 69: 445–461
- [35] Padham A K, Hopkins M T, Wang T W, Mcnamara L M, Lo M, Richardson L G, Smith M D, Taylor C A, Thompson J E. Characterization of a plastid triacylglycerol lipase from *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 143: 1372–1384
- [36] Zhang B, Wu S, Zhang Y, Xu T, Guo F, Tang H, Li X, Wang P, Qian W, Xue Y. A high temperature-dependent mitochondrial lipase *EXTRA GLUME1* promotes floral phenotypic robustness against temperature fluctuation in rice (*Oryza sativa* L.). *PLoS Genet*, 2016, 12: e1006152

