

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.01064

一个水稻内颖退化突变体的形态特征及基因的精确定位

杨德卫, 卢礼斌, 程朝平, 曾美娟, 郑向华, 叶宁, 刘成德, 叶新福

福建省农业科学院水稻研究所, 福州 350018

摘要: 水稻产量和品质受花器官发育的直接影响, 因此对水稻颖花发育机理的研究将有助于水稻产量提高和品质的改良。文章利用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照亲本 8PW33 (籼稻背景) 获得一个性状能稳定遗传的内颖退化突变体(编号: MU102), 并对其农艺性状和花器官进行了观察和分析。结果显示, 相对于野生型, 该突变体的株高、每穗总粒数及剑叶宽均显著增加, 而结实率则显著降低, 差异均达显著水平。解剖镜下观察表明, 该突变体内颖退化, 外颖弯曲呈现镰刀状, 其余器官与野生型表型基本一致。扫描电镜观察显示, 突变体与野生型叶片维管束的结构组成以及外颖表皮细胞组成、排列均正常, 没有明显差异; 与野生型相比, 突变体内颖表皮细胞排列较为紧密, 推测可能是内颖收缩退化导致的。遗传分析显示该突变性状是由隐性单基因控制, 并命名为 *pd2*。利用实验室现有的 SSR 分子标记将 *PD2* 基因定位于水稻第 9 号染色体上, 通过进一步扩大群体和开发新的 Indel 标记, 将 *PD2* 基因定位在 2 个 Indel 标记之间, 两者间的物理距离大约是 82 kb。在该物理区间内有一个已经克隆的内颖发育基因 *REPI*, 经过测序和比对分析, 推测 *REPI* 与 *PD2* 为等位基因。

关键词: 水稻; 内颖退化; 突变体; 形态特征; 精细定位

Morphological characteristics and gene mapping of a palea degradation(*pd2*) mutant in rice

YANG De-Wei, LU Li-Bin, CHEN Chao-Ping, ZENG Mei-Juan, ZHENG Xiang-Hua, YE Ning, LIU Cheng-De, YE Xin-Fu

Institute of Rice, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350018, China

Abstract: The yield and quality of rice are directly impacted by floral organ development in rice. Understanding of the floral development mechanism will be useful in genetic improvement of yield and quality. In this study, a rice mutant *palea degradation 2 (pd2)* in an indica cultivar '8PW33' was obtained after $^{60}\text{Co}\gamma$ -ray treatment. Analysis of the mutant showed that, compared to the wild type, plant height, total grain number per panicle, and sword leaf width were significantly in-

收稿日期: 2012-05-11; 修回日期: 2012-05-20

基金项目: 福建省自然科学基金项目(编号: 2011J01110), 福建省农业科学院青年人才创新基金项目(编号: 2010QJ-A4), 福建省农业科学院科技创新团队建设重点科研项目(编号: CXTD2011-12)资助

作者简介: 杨德卫, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 水稻遗传育种。E-mail: dewei-y@163.com

通讯作者: 叶新福, 博士, 研究员, 研究方向: 水稻遗传育种。E-mail: yexinfu@126.com

网络出版时间: 2012-7-16 10:34:50

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120716.1034.003.html>

creased, but the seed setting rate were significantly decreased. The florets of the mutant exhibited degraded palea and sickle-shaped tortuous lemma. Detail examination using scanning electron microscopy revealed that when epidermis of the vane and lemma were normal, epidermis of the palea were arranged tightly, which might result from degraded palea. Genetic analysis supported that this mutation phenotype was controlled by a single recessive gene. Polymorphic analysis of simple sequence repeat markers demonstrated that *PD2* gene is located on chromosome 9. With a larger mapping population and more indel markers, we further mapped *PD2* gene between 2 indel markers with a physical region of about 82 kb. Within this region, there is a cloned gene *REPI* known to control rice palea development. By comparing the DNA sequences of *REPI* from *pd2* and 8PW33, in combination with the results of phenotypic analysis, we concluded that *PD2* is an allele of *REPI*.

Keywords: rice; palea degradation; mutant; morphological characteristics; fine mapping

水稻(*Oryza sativa* L.)是重要的粮食作物之一。水稻的开花时间、花序和花器官的形态特征及结构对其产量和品质构成重要的影响。多少年来,水稻颖花发育的过程和机理,一直是人们很想揭开的奥秘,同时也是植物学领域研究的热点、焦点之一。因为水稻花器官发育的过程为研究其基因的表达调控与器官形态特征之间的关系,提供了一个极其独特的思路^[1-3]。因此,阐明水稻颖花发育的遗传机制不仅可以推动分子进化的研究,更为重要的是在此基础上可以更为有效地开展相关性状的分子研究,进而来提高水稻产量及品质。

在过去的 20 年里,随着分子生物学、遗传学研究技术和方法的快速发展,通过对拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)、金鱼草(*Antirrhinum majus* L.)等双子叶模式植物的广泛而深入研究,人们对于高等植物花发育调控分子机理的认识有了长足进展^[4],总结形成了植物花发育调控的ABC模型^[5]。随着一些新基因被鉴定以及研究的不断深入,ABC模型得到不断的发展和完善,使得ABC模型发展为ABCD模型^[6]、四因子模型^[7]和ABCDE模型^[8]等。虽然水稻花器官在结构上有别于拟南芥、金鱼草等双子叶植物的花器官,然而随着对植物花器官研究的深入,尤其是对水稻的研究,发现适合于双子叶植物的ABC模型也同样适用于水稻等单子叶植物^[9]。

然而,由于目前对水稻颖花发育缺失突变体的研究多限于形态学和遗传学方面,大部分研究是利用拟南芥、金鱼草等模式植物来研究水稻颖花的发育,直接克隆水稻颖花发育的相关基因还很少^[10],无法确定相关基因在水稻中的确切功能,还无法绘

制水稻开花主控线路图。在水稻中很多工作还无法像拟南芥等模式植物那样高效地开展,这是当前制约水稻颖花发育相关研究的主要因素^[11]。因此,只有分离和鉴定更多的颖花发育相关的突变体,详细分析各个基因的功能以及它们之间的相互关系,才能系统地了解整个颖花发育的调控网络。

本研究通过⁶⁰Co γ 射线辐照亲本 8PW33(籼稻背景)获得了一个性状能稳定遗传的内颖退化突变体,编号为 MU102,通过对其相关农艺性状进行了详细的观察和分析,并利用解剖镜和扫描电镜对该突变体颖花发育的过程进行了观察,进而了解其突变表型和形态发生过程,同时对该突变基因进行精细定位,为研究水稻颖花发育的机理及进一步通过分子手段来提高水稻产量和品质奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供试材料为野生型 8PW33,是明恢 86/新科 2 号//东南恢 307 的 F₂ 后代分离中,通过多代选择而得到稳定的亲本材料。内颖退化突变体 MU102,是 8PW33 经过⁶⁰Co- γ 射线(剂量为 350Gy)辐照后获得的,对该突变体进行连续 2 年的田间观察,性状均能稳定遗传。根据突变表型,初步命名为内颖退化(*palea degradation 2, pd2*)突变体。

1.2 性状调查

2011 年在福建省福州市种植野生型和突变体,5 月 14 日播种,6 月 10 日移栽。单株栽插,株行距为 17 cm×20 cm,每个材料种植 6 行,每行 6 株,均种

植在福建省农业科学院水稻研究所网室。栽培管理与一般大田相同, 生长期均正常生长。待水稻籽粒灌浆成熟后, 各取 6 株突变体和野生型植株分别调查株高、分蘖数、剑叶长、剑叶宽、每穗总粒数和结实率等相关性状。分别选取 20 个突变体单株和野生型单株, 每株随机选取 10 个颖花观察, 对其花器官的发育特征进行了调查与分析。

1.3 解剖结构与育性观察

分别对突变体与野生型在孕穗期、抽穗期、开花期、灌浆期和成熟期进行解剖观察。取突变体和野生型在不同发育时期的颖花及果实, 在解剖镜(LEIcAM26)下观察其各个不同发育时期的特征并进行拍照记录, 每个材料选取 8 个单株, 每株随机选取 10 个颖花观察。同时, 在其开花期取突变体和野生型不同部位的颖花, 在解剖镜下观察其花器官内部形态特征并拍照记录, 每个材料选取 8 个单株, 每株随机选取 10 个颖花观察。

在水稻开花期, 分别取突变体和野生型颖花的花药, 先置于载玻片上, 并用镊子夹碎后, 加入 1~2 滴浓度为 1% 的 I_2 -KI 进行染色, 在显微镜下观察花粉粒形态、大小和染色深浅并进行拍照记录, 并根据记录结果并判断其育性。

1.4 组织细胞学观察

取突变体和野生型各 5 朵刚刚抽穗的颖花, 用解剖针轻轻剥下外颖及内颖, 同时取突变体和野生型的剑叶, 用小剪刀分别横剪长约 1 cm 的 5 个小叶片, 在 4 固定液(2.5% 的戊二醛)中固定过夜, 磷酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 1.0)漂洗, 1% 饿酸固定, 梯度脱水后, 再分别用乙醇和醋酸异戊酯(体积比 1:1)混合液和纯醋酸异戊酯处理样品, 经临界点干燥镀膜后在环境扫描电镜(荷兰 Philips 公司的 XL30 ESEM-TMP 型)下观察并拍照。

1.5 内颖退化突变体遗传分析及基因定位群体的构建

将内颖退化突变体 *pd2* 分别与野生型 8PW33、籼稻品种 9311 进行杂交, 并观察 F_1 表型。 F_1 通过自交获得 F_2 , 在成熟期, 分别统计 F_2 分离群体中正常表型个体和突变体表型个数, 并用统计学方法计算各自的分离比例。

2010 年 7 月在福建省农科院水稻研究所实验网室用内颖退化突变体 *pd2*(籼稻)与台粳 16 (粳稻)杂交配制组合。2010 年 12 月在海南省三亚市福建省藤桥育种基地种植 F_0 代的种子, 成熟期观察 F_1 代的表型, 并收获所有 F_1 代种子。于 2011 年 7 月将该 F_2 分离群体种植于福建省农业科学院水稻研究所实验农场, 从大约 6 500 株 F_2 代分离群体中, 共鉴定出 1 508 个突变体表型的单株, 成熟期分单株取少量叶片, 用以提取每个单株基因组的 DNA, 并将这些单株作为该突变基因的定位群体。

1.6 水稻 DNA 的提取及电泳检测

水稻基因组 DNA 的提取、PCR 扩增及扩增产物的电泳检测均参照杨德卫等^[12]方法。

1.7 多态性标记的筛选及 Indel 标记的开发

1.7.1 SSR 标记的选择

通过筛选均匀分布于水稻 12 条染色体上 SSR 标记(遗传相距约 10~30 cM), 共筛选 326 对 SSR 引物, 所有引物均由上海生工生物工程技术服务有限公司合成, 用于分析其在两个亲本之间的多态性。

1.7.2 Indel 标记的开发和分子标记间的物理距离确定

PD2 基因精细定位 Indel 标记的开发以及两个分子标记间物理距离的确定均参照杨德卫等^[12]方法。

1.8 内颖退化突变体 *PD2* 基因初步定位

运用 BSA(Bulked segregant analysis)法^[13], 从 6 500 个 F_2 分离群体中, 随机挑选 25 个突变体表型的单株, 各自取其叶片并等量混成 DNA 混池, 以 F_1 代及双亲本的 DNA 作为对照, 利用在双亲中筛选的多态性进行分子标记检测, 获得偏扩增带型后, 从分离群体中再随机选取 138 个突变体, 进一步确定连锁标记与突变体基因间的重组值及遗传距离, 进而对 *PD2* 基因进行初步定位。

1.9 内颖退化突变体 *PD2* 基因的精确定位

根据对 *PD2* 基因初步定位结果, 通过扩大定位群体, 并利用已经公布的水稻数据库引物及水稻基因组序列, 在目标基因附近区域筛选并合成新的 SSR 引物, 同时在目标区域筛选不到多态性 SSR 引物时, 开发并合成新的 Indel 标记, 从而完成 *PD2* 基因的精细定位(表 1)。

表 1 本研究精细定位 *PD2* 基因所开发的 SSR 和 Indel 分子标记序列

标记名称	标记类型	序列		BAC 克隆
		正向(5' 3')	反向(5' 3')	
RM5657	SSR	TATGTGCATTTGTAAGGTGA	GCTTTAGATTATTGAGCGAG	OJ1261_A08
RM24240	SSR	ATGCAACCTCCTCCATCATAAGG	TGCTGCTCCTACCTCACTCACC	B1040D06
RM24260	SSR	ACTAAAGGTCCCTAGATGA	TAAAGATGTTGGCTATGTC	P0435D08
RM24275	SSR	TATAGCAAGAGCCATAGC	CTACCAACCCAGATGAAC	P0650H04
RM24282	SSR	TTGTGGTTATTTGGCTGTC	CGAACTGTAAACGATGTG	OSJNBb0014M19
RM24301	SSR	GAGCTGGATGTCCTCGAACG	GACCACCTCTCCAAGCTCACC	OSJNBa0084L05
Indel-9-1	Indel	TATGTGCATTTGTAAGGTGA	GCTTTAGATTATTGAGCGAG	OJ1261_A08
Indel-9-2	Indel	TCTTGCATTGACACCTCTTGAGC	AGTCCCAACAAGTGAAGAGAGG	P0465E03
Indel-9-3	Indel	TGACGTGTCTAGGTCCATAATGC	TTTCTGTTCGGTTTGTCAGG	OJ1585_D02
Indel-9-4	Indel	GAACAGAGGAGGAGATCGAGAGG	CTTCTTGGGAGATGCAGAAATGG	OJ1294_G06
Indel-9-5	Indel	CGATGTGTCGTCGTCGTC	AGCTCCTCGTGCAGAAGAAG	OJ1294_G06
Indel-9-6	Indel	ACCCAACCTACGATCAGCTCG	CTCCAGGAACACGCTCTTTC	P0643D11
Indel-9-7	Indel	TCCACTTCATCTTCTCAACC	CGGAGTAGATCAGTAGGATCG	P0643D11
RM24323	SSR	GTATATATCCGTGCGAATCACTCTCC	AACACAGCTCACGCCAGTTCC	P0707C02
RM24334	SSR	GAACGGTTTGAGGAAGAAGAAGACG	ATCCATCCACGACACACCATCC	P0668D04

2 结果与分析

2.1 突变体 *pd2* 与其野生型 8PW33 相关农艺性状比较

相对于野生型 8PW33, *pd2* 突变体的株高为 119.6 cm, 差异达到极显著水平; 每穗总粒数, 野生型平均是 152.3, 而 *pd2* 突变体平均是 255.3, 差异达到极显著水平; 结实率, 野生型平均为 92.6%, 基本正常, 而 *pd2* 突变体平均为 48.4%, 仅为野生型的一半, 差异达到极显著水平; 剑叶宽, 与野生型相比显著增加, 差异达到显著水平; 每株分蘖数和剑叶长等性状, 突变体与野生型表现基本一致(表 2)。显然, *pd2* 突变体在株高、每穗总粒数和剑叶宽等性状野生型相比有显著差异。

表 2 突变体 *pd2* 与野生型 8PW33 部分农艺性状的比较

主要性状	8PW33	<i>pd2</i>	差异
株高 (cm)	99.3	119.6	-20.3**
每株分蘖数 (个)	6.8	7.3	-0.5
剑叶长 (cm)	55.0	58.4	-3.4
剑叶宽 (cm)	2.00	2.80	-0.8*
每穗总粒数 (个)	152.3	255.3	-102.0**
结实率 (%)	92.6	48.4	44.2**

注: **为极显著差异($P<0.01$), *为显著差异($P<0.05$)。

2.2 突变体 *pd2* 表型分析

从外观形态上看, 突变体 *pd2* 与野生型相比, 株型相似, 外颖表现弯曲, 像镰刀状(图 1 A), 内颖退化收缩, 内、外颖一般不闭合(图 1 E)。用解剖镜观察突变体和野生型 20 朵不同单株的颖花, 结果显示: 突变体颖花由 1 对护颖、1 枚外颖和 1 枚内颖、2 枚浆片、6 枚雄蕊和 1 枚雌蕊组成。因此, *pd2* 突变体除了内颖表现退化外, 其余器官及构件与野生型基本相同。

为了进一步了解 *pd2* 突变体内外颖发育过程, 我们利用解剖镜对突变体和野生型在不同生长时期进行观察, 包括孕穗期、抽穗期、开花期、灌浆期和成熟期等。结果显示 *pd2* 突变体在孕穗期和抽穗期, 内颖表现收缩, 而未退化, 外颖弯曲, 内外颖表现闭合(图 1 B, C)。从开花期开始, 一直到成熟期, 内颖开始逐渐退化, 内外颖表现开裂不闭合(图 1: D, E, F)。而有趣的是, *pd2* 突变体在开花期, 有 3~5 枚雄蕊暴露在退化的内颖外面, 而野生型的 6 枚雄蕊均被正常的内外颖包裹着(图 1 D)。

I₂-KI 染色、显微镜下观察发现, *pd2* 突变体的花粉类型与野生型相似(图 1 G), 为染败类型, 花粉可育率大于 90%以上。 *pd2* 突变体用正常可育花粉辅助授粉后, 均能正常结实, 进一步表明 *pd2* 突变体

的雄蕊和雌蕊均正常可育。

2.3 突变体 *pd2* 组织细胞学分析

为了从细胞学水平比较 *pd2* 突变体与野生型之间的差异, 我们对其内颖、外颖和叶片横切面进行了扫描电镜观察。观察发现, *pd2* 突变体与野生型叶片中维管束的组成和结构没有明显差异(图 2 :A, B)。 *pd2* 突变体与野生型外颖表皮细胞形态基本一致, 细胞排列成行, 有明显的突出结构(图 2 : C, D); *pd2* 突变体内颖表皮细胞形态与野生型基本一致, 细胞

排列成行, 但细胞排列较密, 可能是内颖收缩导致的结果(图 2 : E, F)。

2.4 突变体 *pd2* 的遗传分析

将 *pd2* 突变体分别与野生型 8PW33、籼稻品种 9311 杂交, 种植 F_1 代, 其颖壳均表现正常。将 F_1 自交种子全部种下, 田间调查 F_2 代分离比, 经卡平方检验 $\chi^2_c < \chi^2_{0.05} = 3.84$, 即正常型与突变型的分离符合孟德尔遗传 3:1 比例 (表 3)。这一结果表明该突变性状是由 1 对隐性单基因控制的。



图 1 突变体与野生型表型及穗部发育过程比较
A : 整个单株比较; B : 孕穗期颖花比较; C : 抽穗期颖花比较; D : 开花期颖花比较; E : 灌浆期颖壳比较; F : 成熟期颖壳比较; G : 花粉育性比较, 其中 wt 表示野生型, *pd2* 表示突变体。

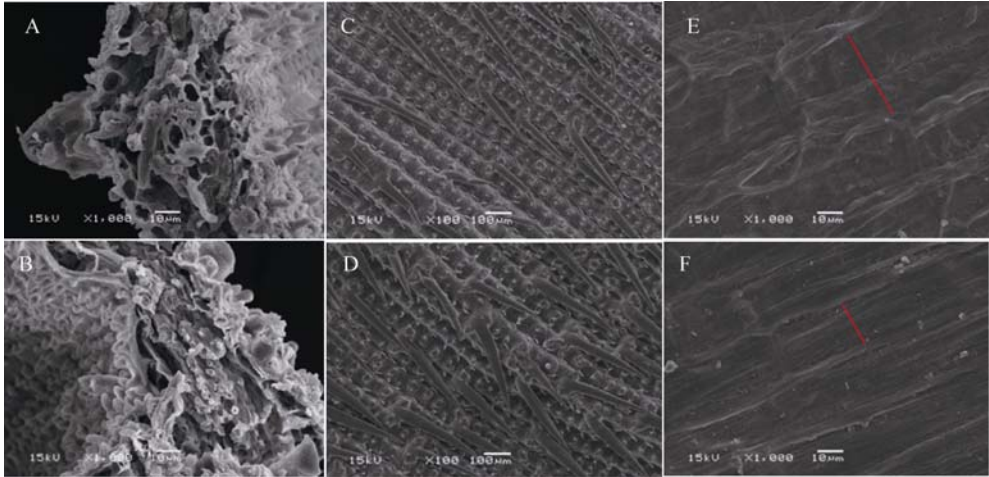


图 2 突变体与野生型扫描电镜观察比较
野生型(A)与突变体(B)叶片横切面扫描电镜观察比较; 野生型(C)与突变体(D)外颖表面扫描电镜观察比较; 野生型(E)与突变体(F)内颖表面边缘部分的扫描电镜观察比较, 其中红色线条表示表皮细胞排列的疏密程度。

表 3 内颖退化突变体 *pd2* 的遗传分析

杂交组合	F ₁ 表型	F ₂ 群体			$\chi^2(3:1)$	P 值
		正常型株数	退化内颖数	总株数		
<i>pd2</i> /8PW33	正常型	156	46	202	0.330*	0.5~0.75
<i>pd2</i> /9311	正常型	135	55	190	0.688*	0.25~0.5

注: *表示在 0.05 显著水平上, 正常株和突变株的分离比例符合 3:1。

2.5 内颖退化突变体 *PD2* 基因的初步定位

利用 326 对均匀分布于水稻 12 条染色体上的 SSR 标记对亲本突变体和台粳 16 号进行多态性筛选, 其中能揭示亲本间多态性的标记有 158 个, 多态率约为 48.5%。利用筛选的这 158 对多态引物分别扩增 *pd2* 突变体、台粳 16 号、F₁ 和 F₂ 混池基因组的 DNA, 结果发现在水稻第 9 染色体上有 5 对引物表现偏分离, 它们分别是 RM269、RM3769、RM6051、RM6854 和 RM566。

利用 F₂ 代分离群体 138 个单株对这 5 对引物进行验证分析, 结果表明这 5 对引物与 *PD2* 基因连锁。利用 MapDraw V2.1 软件连锁分析表明 *PD2* 基因位点与 RM269、RM3769、RM6051、RM6854 和 RM566 这 5 对分子标记遗传距离分别为 10.3 cM、9.1 cM、3.6 cM、1.2 cM 和 2.3 cM。通过进一步分析, 所有 RM6051 的交换单株都出现在 RM3769 中, 而所有 RM3769 的交换单株都在 RM296 中出现, 所有 RM6854 的交换单株都在 RM566 中出现, 而用

RM6051 检测到的所有交换单株与 RM6854 检测到的交换单株完全不同。进而说明 *PD2* 基因位点被定位在 SSR 标记 RM6051 和 RM6854 之间, 遗传距离为 3.6 cM 和 1.2 cM(图 3 A)。

2.6 内颖退化突变体 *PD2* 基因的精确定位

为了进一步将 *PD2* 基因界定在较小的区域范围内, 我们在 *PD2* 基因附近筛选并合成了 20 对 SSR 引物, 检测结果显示有 8 对引物有多态性(表 1), 利用这 8 对多态性引物分析 F₂ 群体中 1 508 株突变体表型个体, 将 *PD2* 基因界定于 SSR 分子标记 RM24301 和 RM24323 之间, 与 RM24301 和 RM24323 之间的遗传距离分别是 0.7 cM 和 0.4 cM(图 3B)。

基因的精确定位是完成基因图位克隆的关键步骤。SSR 标记 RM24301 和 RM24323 对应的 BAC 克隆分别是 OSJNBa0084L05 和 P0707C02, 这 2 个 BAC 克隆之间共有 5 个 BAC 克隆, 分别是 OJ1261_A08、P0465E03、OJ1585_D02、OJ1294_G06 和 P0643D11。为了对该基因进行精确定位, 我们在这

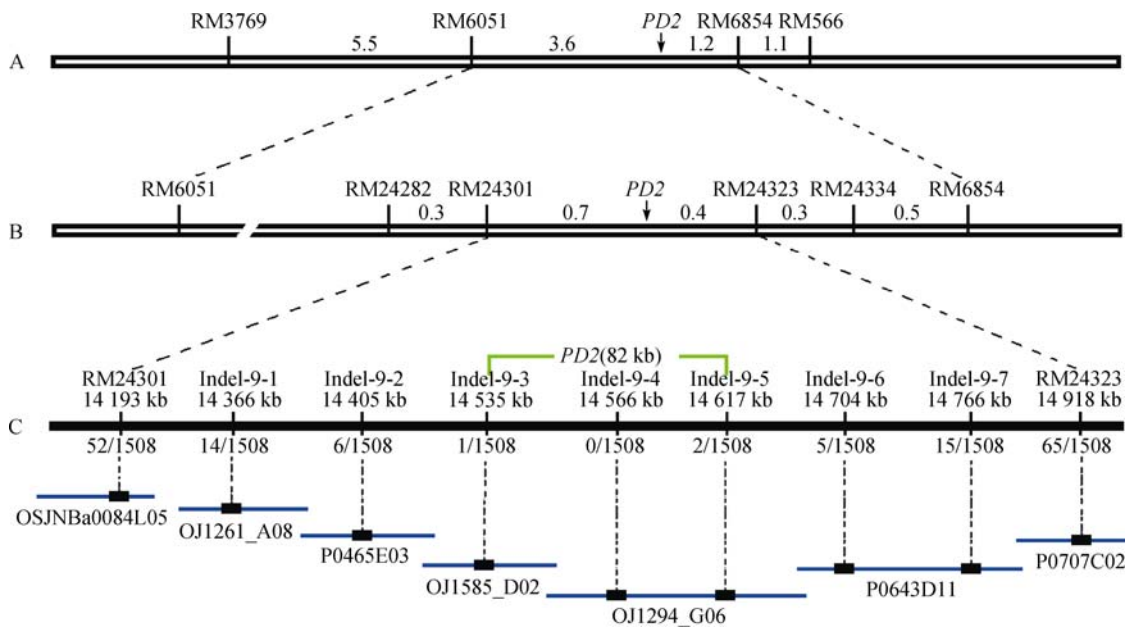


图 3 *PD2* 基因在水稻第 9 染色体上的精确定位

发育, 颖花发育的早期只在内颖原基中表达, 而在花发育后期就在雄蕊和内外颖的维管束中表达。在 *rep1* 突变体中内颖的发育表现显著延缓, 其内颖有 5 个维管束, 这与野生型外颖的维管束分布类似。进一步研究表明 *REP1* cDNA 全长 1 376 bp, 包含有 1 个外显子, 编码一个由 242 氨基酸组成的蛋白, 产物含有 TCP 结构域。*rep1-1* 是包括 *REP1* 在内 42 kb 的基因组序列缺失; *rep1-2* 是 *REP1* 编码区内 13 bp 序列缺失。*rep1* 突变体在营养生长期与野生型没有任何表型差异, 生殖生长期其他花器官也与野生型一样, 唯一的差别是内颖的发育明显比野生型慢, 引起内颖比野生型小; 过量表达 *REP1* 的转基因植株内颖增大。另外, 最近报道 *DPI* 的增强子 *SDPI* 与内颖退化基因 *REP1* 是同一个基因, 编码一个 TCP 家族转录因子, *SDPI/REP1* 位于 *DPI* 下游, 受 *DPI* 调控 [35]。

本研究 *pd2* 突变体的雌蕊和雄蕊发育均正常, 但其结实率却显著降低, 只有 48.4%。而据前文观察可知, *pd2* 突变体在开花期, 有 3~5 枚雄蕊暴露在退化的内颖外面。我们推测由于 *pd2* 突变体部分雄蕊暴露外面, 花粉很难到达雌蕊柱头上, 从而导致其结实率下降。另外, 据前文分析结果可知, *pd2* 突变体相对于野生型来说, 在株高、每穗总粒数、结实率和剑叶宽等均达到显著水平。而研究显示 *sdp1/rep1* 相对于野生型来说, 其在营养生长期与野生型没有明显的表型差异, 生殖生长期其他花器官也与野生型一样, 唯一的差别是内颖的发育明显比野生型慢; 同时在整个生长期, 其相关农艺性状与野生型相比, 文中没有提及明显的差异 [14, 35]。虽然 *pd2* 突变体与 *sdp1/rep1* 突变体是等位基因的突变, 但两者表型却存在着一定的差异, 推测可能是缺失基因间互作的结果。而值得一提的是, 本研究 *pd2* 突变体就其整个生长期来看, 该突变体除了在株高、每穗总粒数、剑叶宽显著增加以及内颖表现退化外, 其余花器官及相关农艺性状与野生型相比, 均没有明显的变化。显然, 该突变体内颖的退化与其株高、每穗总粒数和剑叶宽的显著变化, 是否存在某种内在的联系, 将是很值得研究的问题。

显然, 与拟南芥相比, 水稻颖花发育的相关研究还相对滞后。例如, 水稻开花主控线路图还没有明确; 目前虽然分离了几个水稻内颖发育相关的基

因。然而, 在水稻中, 只有外颖壳发生变异的突变体还未见报道, 水稻内、外颖是同一种器官不同部分, 还是本来就不是同一器官, 这点尚无定论; 这些都将成为我们今后研究的重要方向。因此, 本研究结果不仅为今后开展水稻内外颖发育的相关研究提供基础材料, 同时也为今后开展水稻颖花发育相关研究提供一定的借鉴和思路。

参考文献(References):

- [1] 陈少游, 王峰. 一个水稻生殖发育突变体的遗传分析及基因定位[学位论文]. 福州: 福建农林大学, 2008. DOI
- [2] 罗琼, 周开达, 刘国庆, 徐吉臣, 肖晗, 朱立煌. 水稻无内稃突变体的遗传分析和基因定位. 遗传学报, 2002, 29(31): 230-234. DOI
- [3] Zhang QF, Xu JD, Li Y, Xu PZ, Zhang HY, Wu XJ. Morphological, anatomical and genetic analysis for a rice mutant with abnormal hull. *J Genet Genomics*, 2007, 34(6): 519-526. DOI
- [4] 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 *mfl* 的鉴定与基因定位. 作物学报, 2011, 37(2): 280-285. DOI
- [5] Coen ES, Meyerowitz EM. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 1991, 353(6339): 31-37. DOI
- [6] Angenent GC, Franken J, Busscher M, van Dijken A, van Went JL, Dons HJ, van Tunen AJ. A novel class of *MADS* box genes is involved in ovule development in *petunia*. *Plant Cell*, 1995, 7(10): 1569-1582. DOI
- [7] Theissen G, Saedler H. Plant biology: floral quartets. *Nature*, 2001, 409(6819): 469-471. DOI
- [8] Ferrario S, Immink RG, Shchennikova A, Busscher-Lange J, Angenent GC. The *MADS* box gene *FBP2* is required for *SEPALLATA* function in *petunia*. *Plant Cell*, 2003, 15(4): 914-925. DOI
- [9] Yamaguchi T, Lee DY, Miyao A, Hirochika H, An G, Hirano HY. Functional diversification of the two C-class *MADS* box genes *OSMADS3* and *OSMADS58* in *Oryza sativa*. *Plant Cell*, 2006, 18(1): 15-28. DOI
- [10] Li Y, Xu PZ, Zhang HY, Peng H, Zhang QF, Wang XD, Wu XJ. Characterization and identification of a novel mutant *fon(t)* on floral organ number and floral organ identity in rice. *J Genet Genomics*, 2007, 34(8): 730-737. DOI
- [11] 杨德卫, 叶新福. 水稻颖花突变体的最新研究进展. 分子植物育种, 2010, 8(1): 106-116. DOI
- [12] 杨德卫, 曾美娟, 卢礼斌, 叶宁, 刘成德, 郑向华, 叶新福. 一个水稻矮秆突变体的遗传分析及基因定位. 植物学报, 2011, 45(6): 617-624. DOI
- [13] Quarrie S, Lazic-Jancic V, Kovacevic D, Steed A, Pekic S.

- Bulk segregant analysis with molecular markers and its use for improving drought resistance in maize. *J Exp Biol*, 1999, 50(337): 1299–1306. [DOI](#)
- [14] Yuan Z, Gao S, Xue DW, Luo D, Li LT, Ding SY, Yao X, Wilson ZA, Qian Q, Zhang DB. *RETARDED PALEA1* controls palea development and floral zygomorphy in rice. *Plant Physiol*, 2009, 149(1): 235–244. [DOI](#)
- [15] Ambrose BA, Lerner DR, Ciceri P, Padilla CM, Yanofsky MF, Schmidt RG. Molecular and genetics analyses of *Silky1* gene reveal conservation in floral organ specification between eudicots and monocots. *Mol Cell*, 2000, 5(3): 569–579. [DOI](#)
- [16] 彭慧娟, 刘国华. 水稻无内稃突变体的花器形态观察与基因定位[学位论文]. 长沙: 湖南农业大学, 2007. [DOI](#)
- [17] Bossinger G, Rohde W, Lundquist U, Salamini F. Genetics of barley development: mutant phenotypes and molecular aspects. In: *barley: Genetics, Biochemistry, Molecular Biotechnology*. Edited by Shewry PR, 1992, 231–263. CAB International, Wallingford. [DOI](#)
- [18] Zhu QH, Ramm K, Shivakkumar R, Dennis ES, Upadhyaya NM. The *ANTHER INDEHISCENCE1* gene encoding a single MYB domain protein is involved in anther development in rice. *Plant Physiol*, 2004, 135(3): 1514–1525. [DOI](#)
- [19] Park JJ, Jin P, Yoon J, Yang JJ, Jeong H, Ranathunge K, Schreiber L, Franke R, Lee IJ, An G. Mutation in *WILTED DWARF* and *LETHAL 1 (WDL1)* causes abnormal cuticle formation and rapid water loss in rice. *Plant Mol Biol*, 2010, 74(1–2): 91–103. [DOI](#)
- [20] Suzaki T, Sato M, Ashikari M, Miyoshi M, Nagato Y, Hirano HY. 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(22): 5649–5657. [DOI](#)
- [21] Kalika P, Sriram P, Usha VH. *OsMADS1*, a rice MADS-box factor, controls differentiation of specific cell types in the lemma and palea and is an early-acting regulator of inner floral organs. *Plant J*, 2005, 43(6): 915–928. [DOI](#)
- [22] Lee SY, Kim J, Han JJ, Han MJ, An G. Functional analyses of the flowering time gene *OsMADS50*, the putative *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO1/AGAMOUS-LIKE 20 (SOC1/AGL20)* ortholog in rice. *Plant J*, 2004, 38(5): 754–764. [DOI](#)
- [23] Nonomura KI, Miyoshi K, Eiguchi M, Suzuki T, Miyao A, Hirochika H, Kurata N. The *MSPI* gene is necessary to restrict the number of cells entering into male and female sporogenesis and to initiate anther wall formation in rice. *Plant Cell*, 2003, 15(8): 1728–1739. [DOI](#)
- [24] Luo H, Lee JY, Hu Q, Nelson-Vasilchik K, Eitas TK, Lickwar C, Kausch AP, Chandless JM, Hodges TK. *RTS*, a rice anther-specific gene is required for male fertility and its promoter sequence directs tissue-specific gene expression in different plant species. *Plant Mol Biol*, 2003, 62(3): 397–408. [DOI](#)
- [25] Lee DY, Lee J, Moon S, Park SY, An G. The rice heterochronic gene *SUPERNUMERARY BRACT* regulates the transition from spikelet meristem to floral meristem. *Plant J*, 2006, 49(1): 64–78. [DOI](#)
- [26] Li N, Zhang DD, Liu HS, Yin CH, Li XX, Liang WQ, Yuan Z, Xu B, Chu HW, Wang J, Wen TQ, Huang H, Luo D, Ma H, Zhang DB. The rice *TAPETUM DEGENERATION RETARDATION* gene is required for tapetum degradation and anther development. *Plant Cell*, 2006, 18(11): 2999–3014. [DOI](#)
- [27] Jung KH, Han MJ, Lee YS, Kim YW, Hwang I, Kim MJ, Kim YK, Nahm BH, An G. Rice *UNDEVELOPED TAPETUM1* is a major regulator of early tapetum development. *Plant Cell*, 2005, 17(10): 2705–2722. [DOI](#)
- [28] Jang S, Hur J, Kim SJ, Han MJ, Kim SR, An G. Ectopic expression of *OsYAB1* causes extra stamens and carpels in rice. *Plant Mol Biol*, 2004, 56(1): 133–143. [DOI](#)
- [29] Li L, Yuan H, Barrena GV, Yang CY, Liang WQ, Zong J, Wilson ZA, Zhang DB. *PERSISTENT TAPETAL CELL1* encodes a PHD-finger protein that is required for tapetal cell death and pollen development in rice. *Plant Physiol*, 2011, 156(2): 615–630. [DOI](#)
- [30] Yoshida A, Suzaki T, Tanaka W, Hirano HY. The homeotic gene long sterile lemma (G1) specifies sterile lemma identity in the rice spikelet. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(47): 20103–20108. [DOI](#)
- [31] Li HF, Liang WQ, Jia RD, Yin CS, Zong J, Kong HZ, Zhang DB. The *AGL6*-like gene *OsMADS6* regulates floral organ and meristem identities in rice. *Cell Res*, 2010, 20(3): 299–313. [DOI](#)
- [32] Hu LF, Liang WQ, Yin CS, Cui X, Zong J, Wang X, Hu JP, Zhang DB. Rice *MADS3* regulates ROS homeostasis during late anther development. *Plant Cell*, 2011, 23(2): 515–533. [DOI](#)
- [33] Li HF, Liang WQ, Yin CS, Zhu L, Zhang DB. Genetic interaction of *OsMADS3*, *DROOPING LEAF*, and *OsMADS13* in specifying rice floral organ identities and meristem determinacy. *Plant Physiol*, 2011, 156(1): 263–274. [DOI](#)
- [34] Li HF, Liang WQ, Hua Y, Zhu L, Yin CS, Xu J, Dreni L, Kater MM, Zhang DB. Rice *MADS6* interacts with the floral homeotic genes *SUPERWOMANI*, *MADS3*, *MADS58*, *MADS13*, and *DROOPING LEAF* in specifying floral organ identities and meristem fate. *Plant Cell*, 2011, 23(7): 2536–2552. [DOI](#)
- [35] Jin Y, Luo Q, Tong HN, Wang AJ, Cheng ZJ, Tang JF, Li DY, Zhao XF, Li XB, Wan JM, Jiao YL, Chu CC, Zhu LH. An AT-hook gene is required for palea formation and floral organ number control in rice. *Dev Biol*, 2011, 359(2): 277–288. [DOI](#)