

谷子 *Si-SPI* 小穗突变基因的遗传分析和定位

李 雯^{1,2,3}, 智 慧¹, 张 硕¹, 房雪娇¹, 王海龙¹, 贾冠清¹, 韩渊怀^{2,3}, 刁现民¹

(¹ 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; ² 山西农业大学农学院, 太谷 030801;

³ 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: 通过 EMS (Ethyl methylsulfonate, 甲基磺酸乙酯) 诱变豫谷 1 号获得一个遗传稳定的谷子小穗突变体 *si-spl*, 该突变体突出表现为穗部变小, 同时伴随有株高降低、单码小花数减少和根系变小等表现型变异。与野生型豫谷 1 号相比, 突变体的穗长和株高分别降低了 37.8% 和 9.0%, 单穗粒重和单码小花数分别降低了 40.3% 和 31.7%, 但千粒重增加了 20.2%。遗传分析表明, *si-spl* 突变性状由 1 对隐性基因控制。以 *si-spl* 为母本、辽谷 1 号为父本构建的 F₂ 定位群体的隐性单株, 将突变基因定位在 8 号染色体上 CAAS8003 与 SSR1038 间约 11.02 M 的距离内, 为下一步精细定位并分离该基因奠定了基础。

关键词: 谷子; 小穗; 遗传分析; 基因定位

Morphological Effect and Genomic Mapping of *Si-SPI* (small panicle 1) in Foxtail Millet

LI Wen^{1,2,3}, ZHI Hui¹, ZHANG Shuo¹, FANG Xue-jiao¹,

WANG Hai-long¹, JIA Guan-qing¹, HAN Yuan-huai^{2,3}, DIAO Xian-min¹

(¹ Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ² College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801; ³ Key Laboratory of Crop Genetics Resources and Germplasm Enhancement (Loess plateau), Ministry of Agriculture, Taiyuan 030031)

Abstract: A small-panicle mutant *si-spl* induced by chemistry (EMS) mutagenesis was isolated. The mutant exhibited small-panicle trait, as well as low-plant-height, low-spike-number per panicle and less-roots. Compared with its wild-type Yugu1, panicle length, plant height, spike weight per plant and spike number per panicle of *si-spl* were decreased by 37.8%, 9.0%, 40.3%, 31.7%, respectively, while the 1000-grain weight was increased by 20.2%. Genetic analysis showed that the small-panicle trait of *si-spl* mutant was controlled by one recessive nuclear gene. Genetic mapping of the mutant gene was conducted using small-panicle individuals from the F₂ segregating population of *si-spl*/Liaogu1. Finally, the mutant gene was mapped into genomic region within SSR markers CAAS8003 and SSR1038 in chromosome 8, with physical distances of 11.02 M. This research had laid the foundation for fine-mapping of the small panicle mutant gene.

Key words: *Setaria italica*; small-panicle mutant; genetic analysis; genetic mapping

穗是植物重要的生殖器官,也是禾谷类作物产量构成的来源^[1],穗部性状研究一直是高等植物遗传育种的重要研究内容^[2]。不同作物穗的结构和构成有较大的差异,禾谷类作物中水稻 (*Oryza sativa*)、谷子 (*Setaria italica*) 等粮食作物穗部结构和大小主要由初级和次级枝梗的形态、数量和长度决定^[3]。关于禾谷类作物穗部性状的研究有很多,王瑞等^[4]报道了水稻穗长与结实小穗数、小穗粒数、

穗部性状等。本研究通过 EMS 诱变豫谷 1 号获得一个遗传稳定的谷子小穗突变体 *si-spl*, 该突变体突出表现为穗部变小, 同时伴随有株高降低、单码小花数减少和根系变小等表现型变异。与野生型豫谷 1 号相比, 突变体的穗长和株高分别降低了 37.8% 和 9.0%, 单穗粒重和单码小花数分别降低了 40.3% 和 31.7%, 但千粒重增加了 20.2%。遗传分析表明, *si-spl* 突变性状由 1 对隐性基因控制。以 *si-spl* 为母本、辽谷 1 号为父本构建的 F₂ 定位群体的隐性单株, 将突变基因定位在 8 号染色体上 CAAS8003 与 SSR1038 间约 11.02 M 的距离内, 为下一步精细定位并分离该基因奠定了基础。

收稿日期: 2014-11-03 修回日期: 2014-11-28 网络出版日期: 2015-04-22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20150422.0822.004.html>

基金项目: “863” 计划 (2013AA102603); 国家科技支撑计划 (2014BAD07B01); 高等学校博士学科点专项科研基金联合资助课题 (20131403110001); 国家自然科学基金 (31301328)

第一作者研究方向为谷子功能基因组学。E-mail: liwen880705@126.com

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

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

穗粒数及主穗粒重之间存在着显著的正相关关系,说明穗长是穗部一个重要性状,必要的穗长度是保证高穗粒数与高穗粒重的先决条件。迄今,在水稻^[5-7]、玉米(*Zea mays*)^[8]等作物上,一些与穗部发育相关的基因已经克隆,相应的穗部突变体主要表现为穗部变小^[9]、穗部簇生^[10]及穗分枝变稀^[11]等。水稻 *mfl*^[5] 突变体表现为多小花小穗,一个小穗内出现 2 朵及以上小花,该突变性状受隐性单基因控制,该基因被定位在 3 号染色体上 34 kb 的物理距离上,区间内包含 4 个候选基因。水稻突变体 *asp1* 小穗和花异常,分支乱序,小穗和花轴不规则^[6],利用该突变体克隆的 *ASPI* 基因长 8.7 kb,功能分析表明该基因是水稻雄配子体发育和倒一节间的伸长所必须的。水稻 *fzp*^[12-13] 突变体表现为花序的一、二级枝梗分化正常,但在枝梗上不能分化形成小穗,而是在原本应该形成小花的地方不断形成下一级分枝。另外,在玉米上,有一个与 *fzp* 表型类似的突变体 *bdl*^[8],该突变体受隐性单基因控制,表现为小穗分生组织不能正常分化而形成小花分生组织。近年来,小穗突变体越来越受到关注,对于研究穗部的形成、分化及发育有重要意义。

谷子是一年生草本作物,属于禾本科植物狗尾草属,是中国起源的农作物,在古老中华农耕文明形成过程中起到了重要作用,是中华名族最早驯化栽培的粮食作物之一,且至今仍是我国北方干旱半干旱地区的主要粮食作物,在旱作生态农业建设和膳食结构多样性中具有不可或缺的作用。谷子是二倍体自花授粉植物,生育周期短且植株较小,适合实验室操作,其基因组大小约 490 ~ 510 Mb,并和模式作物水稻的基因组有着较高的共线性^[14],这些特点正促成谷子发展成为禾本科水稻以外的另一模式作物^[15-16]。谷子属禾本科黍亚科,和玉米、珍珠粟(*Castanea mollissima*)、黍稷(*Panicum miliaceum* L.)、柳枝稷(*Panicum virgatum*)、高粱(*Sorghum vulgare*)、甘蔗(*Saccharum officinarum*)等其他禾本科粮食作物和饲草能源作物有着较近的亲缘关系,谷子功能基因组的研究可以为这些因多倍体和基因组较大而难以研究的作物提供基因组参考信息。谷子全基因组测序和大批量重测序的完成,也在推进谷子发展成为新的模式作物^[17]。谷子的穗为顶生圆锥花序,在密生茸毛的穗轴上有排列整齐而明显的多级分枝,每个一级分支及其下级分支和小花形成一个俗称的谷码,由于分枝长短、稀密不同,形成多种穗型,有纺锤形、圆筒形、短棒形、分支形等多种类

型,它们是区别谷子不同类型和品种的重要标志之一。研究谷子穗部性状不仅可直接服务于谷子遗传育种,且其穗部结构和水稻、高粱、黍稷、珍珠粟等作物相似性很高,可为这些作物的穗部性状研究提供指导。目前关于谷子穗部性状的研究报道较少,A. N. Doust 等^[18]利用谷子 B100 和青狗尾草 A10 构建的 120 个 $F_{2:3}$ 家系群体,在不同种植密度下研究了谷子的码数、码密度、小花数和刚毛数 4 个穗部性状的遗传和主要 QTL,在高密度和低密度下,分别鉴定出 33 个和 38 个控制这 4 个性状的 QTL。利用突变体对谷子穗部性状进行研究还未见报道。

本研究利用化学诱变剂甲基磺酸乙酯(EMS, ethyl methylsulfonate)诱变谷子豫谷 1 号品种,得到了一个小穗突变体 *si-spl*。用突变材料 *si-spl* 与正常材料辽谷 1 号杂交,构建 F_2 作图群体,再利用 BSA^[19] 图位克隆技术与 SSR 分子标记等技术相结合的方法,对 F_2 分离群体进行小穗基因的初步定位,以期对谷子穗部性状控制基因的克隆与功能分析提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

豫谷 1 号是我国华北地区广泛栽培的谷子优良品种和众多谷子品种的亲本,也是谷子基因组测序的品种,在生产和基础研究中均具有重要作用。通过 EMS 化学诱变剂诱变豫谷 1 号,在植株后代中发现了一个穗部明显变小的突变体,定名为 *si-spl*,经自交稳定后,2011 年冬在海南三亚实验站种植该突变体并与辽谷 1 号做杂交,配制遗传分析和突变基因定位群体。2012 年夏,在北京顺义实验站种植鉴定 F_1 ,经过对穗部等性状的鉴定和分子标记鉴定确定 F_1 真杂种,用 F_1 真杂种自交获得 F_2 种子。2012 年冬,在海南三亚实验站种植 F_2 群体,在抽穗后对群体中表现小穗突变的单株进行叶片取样,并调查穗部正常个性(野生型)和小穗突变体之间的分离比例。

1.2 突变体农艺性状调查

在谷子完全抽穗后,分别对突变体 *si-spl* 和野生型豫谷 1 号取样 10 株进行株高、穗长、穗粗、穗颈长和茎粗等重要植物学性状调查并统计分析;在谷子成熟期,分别对突变体 *si-spl* 和豫谷 1 号取样 10 株进行单株穗重、单株粒重、千粒重、码重、单码小穗数、谷码数等测量和统计分析。本研究农艺性状数据调查是 2013 年 8 月在北京顺义实验站进行的。

数据统计处理采用 SPSS (Ver. 17) 软件, 计算 10 个个体性状的均值和标准差, 并进行方差分析。

1.3 叶片总 DNA 的提取

成熟期分别对亲本和群体进行调查后, 分单株对 F_2 隐性单株和亲本植株的叶片进行取样, *si-spl* 定位的 F_2 群体共收获 756 株隐性小穗突变株。谷子基因组 DNA 参照 CTAB 法^[20-21] 进行基因组 DNA 的提取。

1.4 作图群体父母本分子标记多态性的检测

利用 X. Jia 等^[22] 和 S. Zhang 等^[23] 开发的可以覆盖谷子全基因组的 SSR 标记, 扩增突变体 *si-spl* 和父本辽谷 1 号的 DNA, 扩增产物用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 记录在父本和突变体间存在多态性, 且条带清晰、单一的标记, 并统计父本辽谷 1 号与突变体 *si-spl* 之间有多态性的标记的数量。

1.5 用 SSR 标记和 SNP 标记进行初步定位

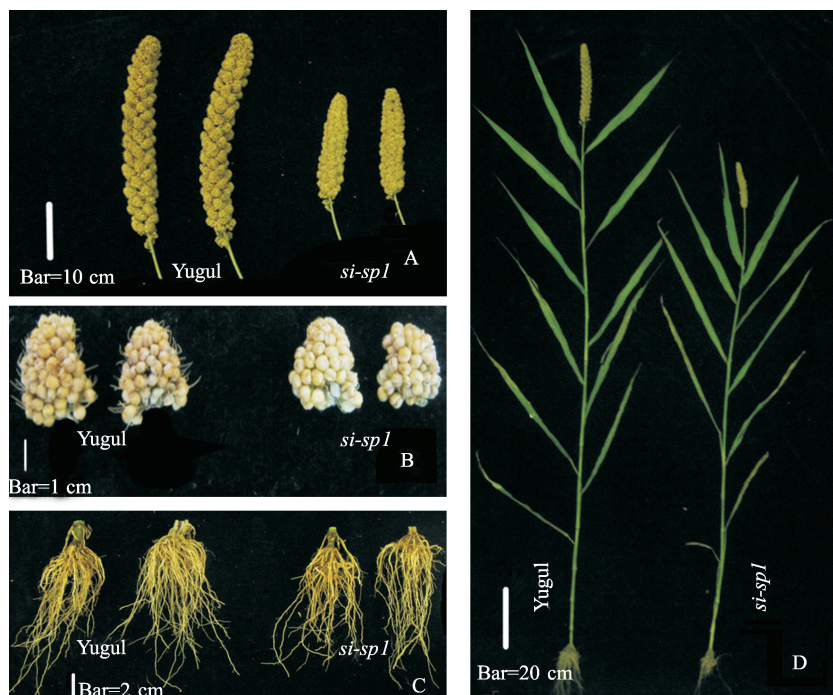
从 F_2 群体中取 20 株小穗突变体单株的 DNA 等量混合, 构建 F_2 群体隐性单株 DNA 混池, 利用构建的 DNA 池来确定控制突变性状的基因所在的染色体及在染色体上的大概区段, 即进行突变基因的初定位; 然后在目标区段内利用 SSR 标记, 分析 F_2 定位群体中的所有 756 个隐性突变体, 用基因分离分析法定位突变基因^[24], 确定突变基因与连锁标

记的距离。在基因定位阶段, 除利用 X. Jia 等^[22] 和 Q. F. Zhang 等^[24] 开发的可以覆盖谷子全基因组的 SSR 标记外, 还运用 Primer 5.0 软件在谷子基因组的目标区间自行设计了部分 SSR 标记。所有 SSR 引物由北京生物工程公司合成。PCR 反应体系参照 R. W. Michelmore 等^[19] 的方法。扩增产物经 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染显色后, 读胶并记录电泳分离结果。然后, 根据定位群体重组事件的统计, 确定目标基因所在区域。根据重测序得到的豫谷 1 号与辽谷 1 号之间的 SNP^[15], 开发酶切扩增多态性序列标记 (CAPS), 利用这些 CAPS 标记进行基因的进一步定位。扩增采用 TaKaRa 公司的 PrimesSTAR HS DNA 聚合酶, 反应体系参照 Q. F. Zhang 等^[24] 方法。限制性内切酶采用 NEB 公司生产的, 反应体系及时间按照说明书进行。酶切产物经琼脂糖凝胶电泳检测, 读胶并记录酶切结果。统计定位群体重组事件, 确定目标基因所在区域。

2 结果与分析

2.1 突变体的形态特征及主要农艺性状变异分析

经过对试验材料的全生育期观察得知: 突变体 *si-spl* 与野生型豫谷 1 号在苗期没有明显差异, 植株及其性状间的差异在成熟期表现较为明显。图 1



A ~ D: 左边为豫谷 1 号 (野生型), 右边为 *si-spl* (突变体)

A ~ D: Yugul (wild-type) at the left, *si-spl* mutant at the right

图 1 野生型和突变体成熟期表型比较

Fig. 1 Phenotype of the mutant and its wild-type parent at mature stage

为突变体 *si-spl* 及其野生型主要农艺性状的差异分析。从结果可以看出,突变体与野生型在所调查农艺性状间的差异均达到显著水平。突变体株高显著降低(图 1-D),约为野生型的 91.00%。对突变体与野生型的穗部性状进行分析可得:野生型穗长约为 18.5 cm,突变体穗长约为 11.5 cm,突变体穗长约为野生型的 62.16% (图 1-A);突变体 *si-spl* 穗部的谷码排列与野生型相比,*si-spl* 谷码较紧实,刚毛较短,结实饱满(图 1-B)。对二者谷码数、单码小花

数、茎粗、单株穗重、穗粗、穗颈长等进行 *t* 检验分析得知,突变型与野生型穗部性状的差异均亦达显著水平。同时,对突变体与野生型根部进行比较分析可以看出:突变体根部较野生型稀疏(图 1-C),根条数较少,根量显著减少;在产量性状方面,野生型单株粒重约为 12.47 g,突变体单穗粒重约为 7.59 g,突变体约为野生型的 59.70%;但是,突变体千粒重却比野生型要高,突变体千粒重为 2.58 g,而野生型为 2.15 g,突变体约为野生型的 1.2 倍(图 2)。

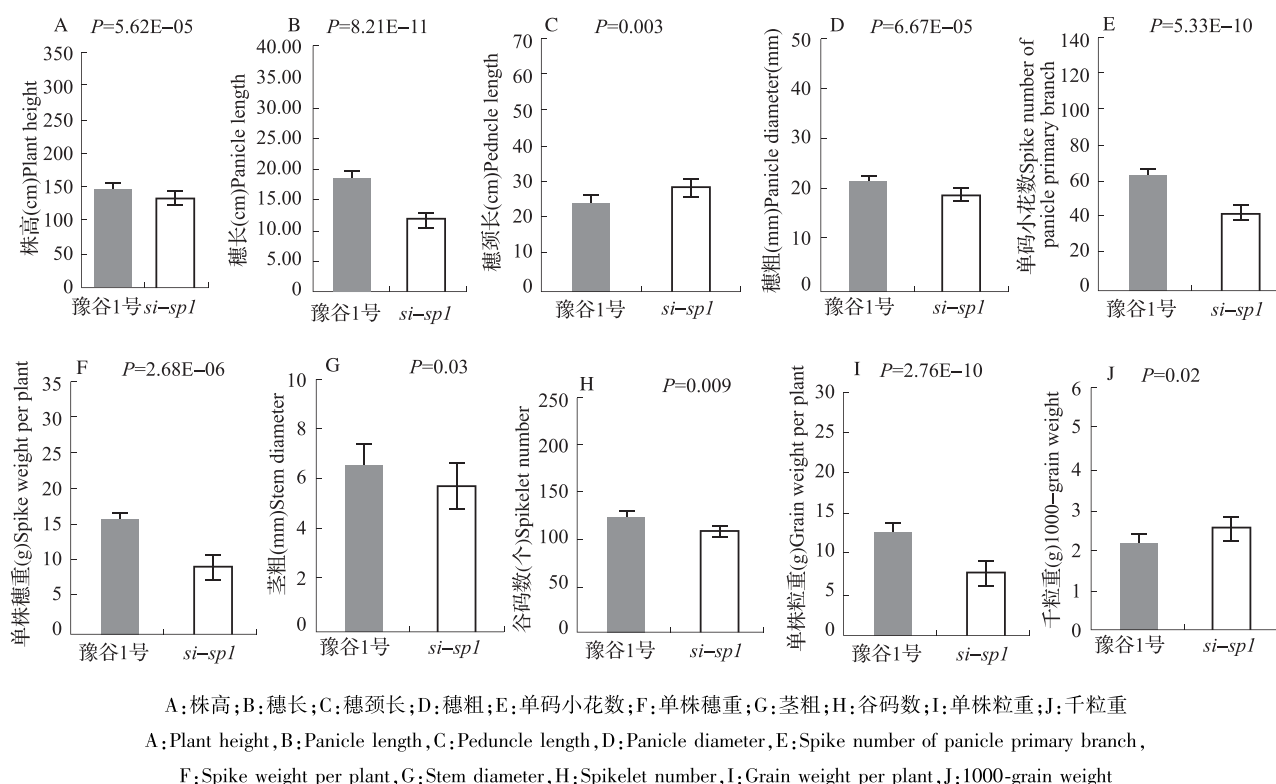


图 2 突变体 *si-spl* 与野生型豫谷 1 号主要农艺性状的比较

Fig. 2 Comparison of major agronomic traits between the *si-spl* mutant and its wild-type parent Yugu 1

2.2 突变性状的遗传分析

si-spl 与正常穗型的野生型亲本辽谷 1 号杂交, F_1 植株表现为正常穗型,说明突变的谷穗变小为隐性,而野生型为显性。 F_2 群体中野生型的正常穗与突变型的较小穗分离明显,分离比例经卡方(χ^2)测验, $\chi^2 = 1.109 < \chi_{0.05}^2(1)$ ($\chi_{0.05}^2(1) = 3.84$),即正常穗与突变小穗的分离符合 3:1 的分离比例,表明该突变受 1 对隐性单基因控制。

2.3 作图群体父母本多态性分析

在谷子基因组的 9 条染色体上均匀选取了 192 对 SSR 引物,用来检测 *si-spl* 与辽谷 1 号之间的多态性。其中,突变体与辽谷 1 号之间有多态性的标记为 55 对。这 55 个标记均匀分布在 9 条染色体

上,分布数量分别为 6、9、5、4、5、8、6、5、8,平均每条染色体上有 6.1 个多态性标记。满足利用 BSA 法对目的基因进行初步定位的要求。

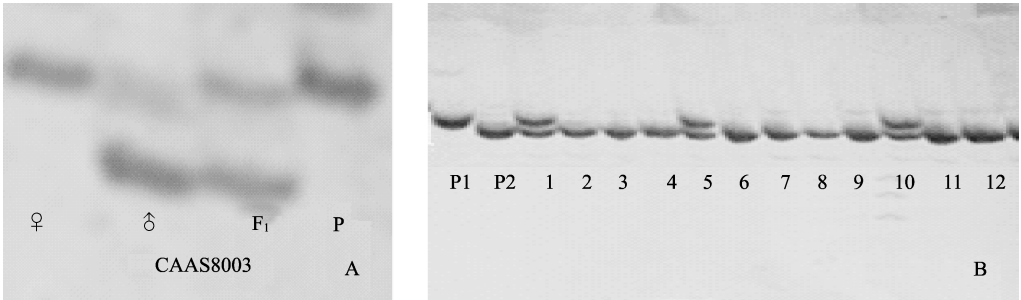
2.4 突变基因定位分析

根据筛选出来的 55 个多态性好的标记进行混池扫描,用基因分组分离分析法(BSA 法)找到目标基因所在染色体为 8 号染色体(图 3-A)。且根据图 3-A 所示,目的基因与标记 CAAS8003 连锁较为紧密。从图中可以看到,CAAS8003 标记隐性混池的条带中母本扩增带强,父本扩增带看不到,即父本基本没有扩增。然后根据谷子基因组已有序列,在标记 CAAS8003 上下游筛选实验室现有引物,共检测 43 对,筛选出 5 对在父母本之间有多态性的 SSR 标

记, 分别为 SIMS11410、CAAS8001、CAAS8018、CAAS8003、CAAS8013。然后用这几个标记分别检测 60 株 F₂ 群体小穗突变单株。根据 PAGE 凝胶电泳检测结果(图 3-B), 谷子小穗突变基因定位在 SIMS11410 与 CAAS8013 2 个标记之间, 物理距离为 25.2 M。

在 25.2 M 的区间内, 用 SSR Hunter 软件开发

SSR 标记, 共开发 48 对, 对这些 SSR 标记在母本 *si-spl* 与父本辽谷 1 号之间进行多态性检测, 仅发现 1 对标记有多态性, 为 SSR1038。通过聚丙烯酰胺凝胶电泳对 60 个单株进行检测, 在此 SSR1038 标记中两交换株, 单株号 39、54(表 1), 这样就将目的基因所在区间缩小为标记 SIMS11410 和 SSR1038 之间的 19.3 M 的区间。



A: 标记 CAAS8003, 从左到右 4 个条带分别为 ♀: 突变体 *si-spl*; ♂: 辽谷 1 号; F₁: 突变体 *si-spl* × 辽谷 1 号的 F₁; P: F₂ 群体隐性单株 DNA 混池; B: SSR 标记 SIMS11410 在两亲本之间的多态性及其在 F₂ 部分突变植株中的分离带型; P1: ♂ 辽谷 1 号; P2: ♀ 突变体 *si-spl*; 1 ~ 12: F₂ 群体中的突变植株; 1、5、10: 交换单株
A: Marker CAAS8003, four strips from left to right were ♀: *si-spl*, ♂: liaogul, F₁: F₁ of *si-spl* × liaogul, P: DNA pool of recessive individuals of F₂ population, B: Polymorphism between the two parents of marker SIMS11410 and the type of separation of F₂ generation portion of the mutant plants, P1: ♂ liaogul, P2: ♀ *si-spl*, 1 - 12: The mutant plants of F₂ generation, 1, 5, 10: Exchange plants

图 3 连锁标记聚丙烯酰胺凝胶电泳检测
Fig. 3 Linked markers by polyacrylamide gel electrophoresis

表 1 利用 SSR 标记检测的重组交换事件
Table 1 Exchange recombination event by SSR markers

株号 Code	SIMS11410	CAAS8001	CAAS8018	CAAS8003	SSR1038	CAAS8013
24	S	S		S	S	H
30	H	S		S	S	S
36	H	S		S	S	S
39	S	S	S	S	H	H
54	S	S	S	S	H	H
57	H	S		S	S	H
60	H	S		S	S	S
62	S	S	S	S	H	H
85	H	S	S	S	H	H
94	M	H	H	H	S	S
367	S	S	S	S	S	H
389	S	S	S	S	S	H
396	H	S	S	S	S	H
402	S	S	S	S	H	H
421	H	S	S	S	S	S
427	H	S	S	S	S	S
429	H	S	S	S	S	S
480	S	S	S	S	H	H
H 株	158	1	1	1	8	68
总数	756	756	756	756	756	756

S 代表母本 *si-spl* 突变体带型; M 代表父本野生型带型; H 代表双亲带型具备(即发生交换的个体)
S: The strip of *si-spl*, M: The strip of liaogul, H: The strip of individuals who exchanged

为了进一步进行突变基因的精细定位,扩大群体至 756 个 F_2 隐性单株。将 756 个单株分别在上述有多态性的标记中筛选交换株,结果如表 1。94 号单株在 CAAS8003 处存在重组交换现象,根据这一株的现象,定位区间应为 CAAS8003 与 SSR1038 之间 11.02 M 的物理距离上。

由于在 CAAS8003 和 SSR1038 之间找不到可用的 SSR 标记。为进一步缩小定位区间,在该区间内开发了 3 个具有多态性的 CAPS 标记,分别命名为 SNP1、SNP2 和 SNP3。CAPS 标记的物理位置如图 4。用这些标记扩增在 CAAS8003 和 SSR1038 之间筛选到的 H 株(株号 39、54、62、85、94、402、480),进一步筛选交换株,但并未检测到交换株。也就是说,这些 CAPS 标记,并没有缩小定位区间。CAPS 标记定位结果如表 2。

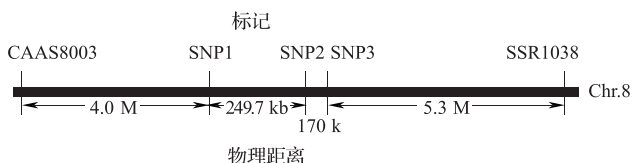


图 4 CAPS 标记的物理位置
Fig. 4 Physical location of CAPS markers

表 2 利用 CAPS 标记的重组交换事件

Table 2 Exchange recombination event by CAPS markers

株号 Code	CAAS8003	SNP1	SNP2	SNP3	SSR1038
39	S	S	S	S	H
54	S	S	S	S	H
62	S	S	S	S	H
85	S	S	S	S	H
94	H	S	S	S	S
402	S	S	S	S	H
480	S	S	S	S	H

3 结论与讨论

小穗和花发育突变是一种很重要的性状突变,通常影响突变体的穗部形态,以及株高、单株粒重等关联性状,从而为利用这些突变发掘产量相关基因提供信息,因此近年来小穗和花发育突变体受到越来越多关注。目前,以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为模式植物,利用花发育突变体,已分离出分生组织相关的多个基因,有 LFY/FLO、AP1/SQUA、CAL、FIL 和 AP2^[25-26]等。这些基因都在一定程度上影响

着花器官的形成。对穗部发育的研究不仅在双子叶植物中有较多研究,在水稻^[13,27]、玉米^[8]等单子叶作物上也有研究。Y. L. Qiao 等^[7]对水稻直立型密穗突变体 *dep3* 进行遗传分析,结果发现 *dep3* 穗部从开花到完全成熟都保持直立状态,该突变性状受隐性单基因控制,通过图位克隆技术鉴定出候选基因,该基因编码 PLA2 超家族结构域的蛋白,*dep3* 在该基因处缺失 408 bp,PLA2 可能在维管束形成中发挥重要作用;S. B. Li 等^[9]发现水稻 SP1 突变体在花序伸长上有缺陷,导致穗部变短,该突变性状受 1 对隐性单基因控制,该突变基因编码的蛋白属于 PTR 蛋白家族,*SP1* 基因包含 PTR2 结构域,由 12 个跨膜结构域构成;水稻 *SNB* 基因与 *OsIDS1* 基因同属 AP2 家族,对花序形态和小花分生组织的形成起重要作用,D. Y. Lee 等^[28]对 *snb osids1* 双突变分析,发现在该双突中,花序分枝数目和小穗数目明显减少,AP2 家族基因在控制枝梗分生组织的分枝程度,调控小穗分生组织基因的表达有重要作用。本研究中的谷子小穗突变体亦是由 1 对隐性核基因控制,但同上述的突变体表现不同,该 *si-sp1* 突变体穗部变小,可正常形成穗部分支和小花,结实也基本正常。本研究发现的小穗突变体经 EMS 诱变的突变体是研究穗部形成发育等生殖生长过程的理想材料,同时利用该突变体可分析该基因功能。

本试验以辽谷 1 号作父本、豫谷 1 号突变体 *si-sp1* 作母本配制分离群体,以 F_2 中的隐性个体作为定位分析个体。辽谷 1 号表现为东北春谷来源,农艺性状良好,开花期和豫谷 1 号相遇性好花粉量大,且为显性的红色叶鞘,而豫谷 1 号及其突变体则是相对隐性的绿色叶鞘,在 F_1 利用杂种表现显性的红色叶鞘为指示性状,很容易鉴定出杂种,因此被选为配制分离群体的品种。但由于辽谷 1 号与豫谷 1 号两亲本间多态性较低,且目标基因所在染色体区段的特性也给本研究的精细定位工作造成了困难。在筛选亲本间具有多态性的标记时,192 对覆盖谷子 9 条染色体的 SSR 标记中共有 55 个有多态性,多态性比率为 28.6%,其中 8 号染色体上有 5 个表现多态性,但这 5 个标记均分布在染色体上的长臂上。而本研究中的目标基因所在区段位于该染色体的短臂上,这样的特性本身给定位工作造成了困难。通过表 1 可以发现,标记 SIMS11410 与标记 SSR1038 之间,其物理距离 19.3 M 的范围内在 756 个 F_2 隐性个体中只有 1 个交换株,说明突变体和辽谷 1 号的杂种在减数分裂时,该区域突变体和辽谷 1 号姊

妹染色单体之间发生交换的事件很少。因此, 交换率低可能是导致缩小定位区间困难的一个重要原因。一般而言, 寻找合适的多态性分子标记是精细定位的一个限速步骤。随着目标区域段的逐渐缩小, 寻找多态性分子标记就变得越来越困难。因此, 采取合适的方法来开发多态性标记是很重要的。在本研究中, 在区间内可用多态性 SSR 标记共 4 个, 我们还采用了 CAPS 标记, CAPS 虽然数量较多, 但由于群体交换率低的原因, 也没能有效地用于突变基因的精细定位。利用不同亲本构建的分离群体形成的交换律可能不同, 精细定位和克隆本研究中 *Si-SPI* 基因需要利用不同于辽谷 1 号和豫谷 1 号之间多态性更丰富的亲本来组配组合, 从而完成该突变基因的精细定位。由此看来, 辽谷 1 号并不适合作为豫谷 1 号突变体突变基因定位的分离群体构建的亲本。

参考文献

- [1] Matsushima S. Theories and techniques in rice cultivation – theory on yield analysis and its application[M]. Tokyo: Yokendo, 1959
- [2] 徐正进, 陈温福, 张文忠, 等. 水稻的产量潜力与株型演变[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(6): 534-536
- [3] Huang X Z, Qian Q, Liu Z B, et al. Natural variation at the DEP1 locus enhances grain yield in rice [J]. Nat Genet, 2009, 41: 494-497
- [4] 王瑞, 宁锐, 王怡, 等. 普通小麦穗部性状的遗传与相关分析[J]. 河南农业大学学报, 1997, 3(1): 17-22
- [5] 李云峰, 杨正林, 凌英华, 等. 水稻多小花小穗突变体 *mfl* 的鉴定与基因定位[J]. 作物学报, 2011, 37(2): 280-285
- [6] Yoshida A, Ohmori Y, Kitano H, et al. ABERRANT SPIKELET AND PANICLE1, encoding a TOPLESS-related transcriptional corepressor, is involved in the regulation of meristem fate in rice [J]. Plant J, 2012, (70): 327-339
- [7] Qiao Y L, Piao R H, Shi J X, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of dense and erect panicle 3, *DEP3*, which confers high grain yield in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2011, 122(7): 1439-1449
- [8] Colombo L, Marziani G, Masiero S, et al. BRANCHED SILKLESS mediates the transition from spikelet to floral meristem during *Zea mays* ear development[J]. Plant J, 1998, 16(3): 355-363
- [9] Li S B, Qian Q, Fu Z M. Short panicle 1 encodes a putative PTR family transporter and determines rice panicle size[J]. Plant J, 2009, 58: 592-605
- [10] 郑雷英, 朱旭东, 钱前, 等. 水稻穗部突变体 *Cl* 的形态和定位分析[J]. 科学通报, 2003, 48(3): 264-267
- [11] 王赞, 肖晗, 钱前, 等. 水稻稀穗突变体的遗传分析及基因的精细定位[J]. 科学通报, 2003, 48(15): 1666-1670
- [12] Kato T, Horibata A. A novel frameshift mutant allele, *fzp-10*, affecting the panicle architecture of rice[J]. Euphytica, 2012, 184: 65-72
- [13] 段远霖, 李维明, 吴为人, 等. 水稻小穗分化调控基因 *fzp(t)* 的遗传分析和分子标记定位[J]. 中国科学, 2003, 33(1): 27-32
- [14] 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 Gene, 2013, 45(8): 957-961
- [15] Bennetzen J L, Schmutz J, Wang H, et al. Reference genome sequence of the model plant *Setaria* [J]. Nat Biotech, 2012, 30: 556-561
- [16] 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
- [17] Diao X M, Schnable J, Bennetzen J L, et al. Initiation of *Setaria* as a model plant [J]. Sci Eng, 2014, 1(1): 16-20
- [18] Doust A N, Kellogg E A, Devos K M, et al. Foxtail millet; a sequence – driven grass model system[J]. Plant Physiol, 2009, 149(1): 137-141
- [19] 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[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 9828-9832
- [20] McCouch S R, Kochert G, Yu Z H. Molecular mapping of rice chromosomes[J]. Theor Appl Genet, 1998, 76(6): 815-829
- [21] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA [J]. Nucleic Acids Res, 1980, 8(19): 4321-4325
- [22] 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
- [23] Zhang S, Tang C J, Zhao Q, et al. Development and characterization of highly polymorphic SSR (Simple Sequence Repeat) markers through genome – wide microsatellite variants analysis in Foxtail millet [*Setaria italica* (L.) P. Beauv.] [J]. BMC Genomics, 2014, 15: 78
- [24] 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
- [25] Ng M, Yanofsky M. Three ways to learn the ABCs [J]. Curr Opin Plant Biol, 2003, 3(1): 47-52
- [26] Sawa S, Watanabe K, Goto K, et al. FILAMENTOUS, a meristem and organ identity gene of *Arabidopsis*, encodes a protein with a zinc finger and HMG-related domains [J]. Genes Dev, 1999, 13(9): 1079-1088
- [27] Mackill D J, Pinson S R M, Rutger J N. Frizzy panicle, an EMS-induced mutant in the japonica cultivar M – 201 [J]. Rice Genet Newsl, 1992, 9: 100-102
- [28] 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 [J]. Plant J, 2011, 69(3): 445-461