

水稻迟抽穗突变体 *dth9* 的遗传分析与基因定位

叶卫军^{1,2, #} 胡时开^{2,3, #} 吴立文² 郭龙彪² 钱前^{2,3, *}

(¹ 浙江大学 农业与生物技术学院, 杭州 310058; ² 中国水稻研究所, 杭州 310006; ³ 中国农业科学院 深圳农业基因组研究所, 广东深圳 518120; # 共同第一作者; * 通讯联系人, E-mail: qianqian188@hotmail.com)

Genetic Analysis and Gene Mapping of a Heading-delayed Mutant *dth9* in Rice (*Oryza sativa* L.)

YE Wei-jun^{1,2, #}, HU Shi-kai^{2, 3, #}, WU Li-wen², GUO Long-biao², QIAN Qian^{2,3, *}

(¹ College of Agriculture & Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; ² China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; ³ Agricultural Genomics Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518120, China; # These authors contributed equally to this work; * Corresponding author, E-mail: qianqian188@hotmail.com)

YE Weijun, HU Shikai, WU Liwen, et al. Genetic analysis and gene mapping of a heading-delayed mutant *dth9* in rice (*Oryza sativa* L.). Chin J Rice Sci, 2016, 30(3): 232-238.

Abstract: A heading-delayed mutant, *dth9* (days to heading 9) was identified from an ethyl methylsulfonate (EMS)-induced 93-11 mutant library. The heading date of *dth9* delayed about 50 days compared to the wild-type and there was no significant difference in other agronomic traits. Genetic analysis showed that the phenotype of *dth9* was controlled by a single recessive nuclear gene. To map this gene, two F₂ populations were generated by crossing the *dth9* mutant with Nipponbare or Wuyunjing 7 as mapping populations. By using SSR markers and eight new designed InDel markers, *DTH9* was narrowed to a 240kb interval between the markers D9-9 and D9-17 near the centromere of chromosome 9, there were no reports about genes associated with heading date in this interval. In addition, the expression levels of genes related to heading date were significantly decreased in *dth9* by quantitative real-time PCR analysis.

Key words: rice; heading date; genetic analysis; gene mapping

叶卫军, 胡时开, 吴立文, 等. 水稻迟抽穗突变体 *dth9* 的遗传分析与基因定位. 中国水稻科学, 2016, 30(3): 232-238.

摘要: 在 EMS 诱变的 93-11 突变体库中筛选到一个稳定遗传的迟抽穗突变体 *dth9* (days to heading 9)。该突变体的抽穗期比野生型延长了 50d 左右, 其他农艺性状基本无异。遗传分析表明迟抽穗性状受一个隐性核基因控制。以突变体 *dth9* 与日本晴和武运梗 7 号杂交构建的 F₂ 分离群体作为定位群体, 利用 SSR 标记和新开发的 8 个 InDel 标记, 将 *DTH9* 定位在第 9 染色体着丝粒附近 D9-9 和 D9-17 之间 240 kb 的区间内, 该区域尚未发现与抽穗期有关的基因。此外, 实时荧光定量 PCR 结果表明, 在突变体 *dth9* 中与抽穗期相关基因的表达量显著降低。

关键词: 水稻; 抽穗期; 遗传分析; 基因定位

中图分类号: Q343.5; S511.01

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2016)03-0232-07

水稻(*Oryza sativa* L.) 作为世界上最主要的粮食作物之一, 其产量和品质受到多种因素的影响。抽穗期是水稻重要农艺性状之一, 抽穗期的长短直接决定了水稻品种适宜种植区域和种植时间。此外, 适当的抽穗期可以使水稻在特定的生态条件下高效地利用当地的光热资源, 决定了水稻品种的增产潜力和米质。所以, 抽穗期的长短不仅决定了水

稻品种的种植区域, 也关系到水稻的产量和品质, 是水稻育种的重要目标之一^[1]。

抽穗期属于数量性状, 其遗传基础较为复杂, 受主效基因和微效多基因的共同控制^[2]。但也有研究发现水稻抽穗期既有表现为连续变异的数量性状遗传, 也表现为质量性状遗传^[3], 且不同品种可能会表现出不同的遗传特性, 而同一品种的抽穗期在不同

收稿日期: 2015-10-26; 修改稿收到日期: 2015-12-19。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31501279, 31521064, 31271700); 国家 973 计划资助项目(2013CBA01405); 中国博士后科学基金资助项目(2015M570181); 深圳市科技计划资助项目(JCYJ20150630165133402)。

光温条件下也表现各异,这些都使得抽穗期遗传机制更为复杂。近年来,随着新的分子标记技术的开发和应用,国内外科研工作者对水稻抽穗期的研究取得了重大进展。目前,已有 618 个与水稻抽穗期相关的位点被定位到各个染色体上,其中,第 3 染色体上最多,最少的是第 10 染色体^[4] (<http://archive.gramene.org/db/qlt>),并表现为区域分布。这些基因已有部分先后被克隆,如 *Hd1*、*Hd3a*、*Ehd1*、*Hd6*、*Ehd3*、*Ehd4*、*Ghd7*、*Ghd8*^[5-12] 等 (<http://www.ricedata.cn/gene/index.htm>)。这些基因的发现和功能分析为充分认识水稻抽穗期的遗传机理奠定了坚实的基础。

尽管目前已经在水稻抽穗期的研究工作中获得了巨大的进步,但水稻抽穗期受到内部复杂的基因调控网络和外界环境条件的共同作用,其调控机制相当复杂,目前我们所了解的还很少,尤其是内部的调控网络以及基因间的互作关系,这些都需要进一步的深入研究。而更多相关基因的克隆将会完善水稻抽穗期的遗传调控网络,加深对水稻抽穗期的认识,并对品种改良和扩大品种适宜种植区域有着重要的参考价值。本研究从籼稻 93-11 的突变体库中筛选获得一个稳定遗传的迟抽穗突变体 *dth9* (*days to heading 9*),我们对该突变体的表型及主要农艺性状进行考查,并对 *dth9* 进行遗传分析和基因定位,将该基因定位在第 9 染色体的着丝粒附近,以期为该基因的克隆、功能分析及应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

以甲基磺酸乙酯(ethylmethane sulphonate, EMS)诱变 93-11 种子,在 M_2 代获得一个迟抽穗表型突变体 *dth9*,经多代自交后稳定遗传,迟抽穗性状在杭州和海南都能稳定表现,表明该性状可稳定遗传。材料种植于中国水稻研究所试验基地,常规水肥管理。

1.2 突变体表型分析

突变体 *dth9* 和野生型 93-11 于 2013 年种植于中国水稻研究所试验基地和海南南繁基地。抽穗期的调查方法:当株系中 50% 植株抽穗即认定为其抽穗,从播种到抽穗的天数记为抽穗期。在成熟期对突变体和野生型的株高、单株有效穗数、穗长、一次枝梗数、二次枝梗数等重要的农艺性状进行调查,每个性状至少 3 次重复,并利用 Microsoft Excel 软件

进行统计分析。

1.3 遗传分析

2013 年夏季在杭州将突变体 *dth9* 与野生型品种 93-11 进行正反交交配组,同年冬季将 F_1 种植于海南陵水,并观察两个组合的 F_1 表型。自交获得 F_2 种子,2014 年夏季将这两个 F_2 群体种植于杭州富阳,并分别调查野生型表型和突变体表型植株数目,考查性状分离比。

1.4 迟抽穗基因定位

2013 年夏季在杭州将突变体 *dth9* 与粳稻品种日本晴和武运粳 7 号杂交,同年冬季将 F_1 种植于海南陵水,并观察两个组合的 F_1 表型。自交获得 F_2 种子,2014 年夏季将这两个 F_2 群体种植于杭州富阳,收取 F_2 群体中全部迟熟表型单株的叶片,用于基因定位。具体实验过程如下:从突变体 *dth9* 与日本晴衍生 F_2 群体中首先挑选出 21 株表型为迟抽穗的单株用于 *dth9* 的连锁分析。利用本实验室均匀分布于 12 条染色体上的 163 对公共引物进行多态性筛选,共获得 140 对在亲本间多态性表现较好的引物。利用这些引物及 21 株单株初步确定目的基因所在的染色体位置。在与目标基因连锁的标记附近设计引物并获得了 8 对多态性较好的 InDel 标记(表 1)。用 F_2 群体中 542 株表现出突变体表型的单株对 *DTH9* 进行进一步的定位。为了缩小定位区间,从突变体和武运粳 7 号杂交获得的 F_2 分离群体中获得了 832 株表型为突变体表型的单株,用于基因的精细定位。亲本、 F_1 及 F_2 遗传群体植株的总 DNA 提取采用 CTAB 法^[13]。10 μ L 的 PCR 体系包括:DNA 模板 1 μ L,10 \times PCR 缓冲液 1 μ L,正反向引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ L,dNTPs 1 μ L,*rTaq* 酶 0.05 μ L,加 ddH₂O 补足 10 μ L。PCR 扩增程序如下:94 $^{\circ}$ C 下预变性 4 min;94 $^{\circ}$ C 下变性 30 s,55 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C 下退火 30 s(温度因引物不同而异),72 $^{\circ}$ C 下延伸 30 s,40 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 下延伸 5 min。PCR 产物用 4% 琼脂糖凝胶电泳,电泳结束后在凝胶成像仪拍照并读胶。

1.5 抽穗期相关基因的表达分析

用总 RNA 提取试剂盒(Axygen)提取突变体和野生型幼穗分化前的叶片总 RNA。以经过 DNase I 处理过的总 RNA 为模板,采用实时 PCR 用 cDNA 合成试剂盒(TOYOBO)反转录合成 cDNA 第 1 链。然后利用实时定量 PCR(qRT-PCR)方法分析各基因在野生型和突变体中的表达量。以

表 1 本研究中精细定位所用引物

Table 1. Primers used for fine mapping in the study.

| 分子标记 | 正向引物 (5'-3') | 反向引物 (5'-3') | 大小 | 物理位置 |
|--------|------------------------|------------------------|---------|----------------------|
| Marker | Forward primer (5'-3') | Reverse primer (5'-3') | Size/bp | Physical position/Mb |
| D9-4 | AGCCTCATACCTCCCACA | CGCCTGGAAGACAATCAA | 151 | 3.047 |
| D9-7 | AAAGATTCTCAAGGCCAGTC | TATCTAGATCGTGGCCCA | 172 | 3.583 |
| D9-8 | TTGCATGGTCACGTTTCCT | TGATTGCGGAGTGATGAG | 260 | 3.608 |
| D9-9 | CCAATGTAGCAGCCGTAA | CGTTGAGGATTCACTGGT | 129 | 3.983 |
| D9-17 | AATCGGTGAATGTCCTTG | GAAACATCCATGCCTTGC | 124 | 4.223 |
| D9-19 | TCCATCGCATTGTGAGTGT | AAGTTAGTAGGCGGAAGG | 223 | 4.332 |
| D9-12 | GGGGTGATGCTGGTTTAT | AAGGGTCTCATCTGGAAAA | 255 | 4.354 |
| D9-2 | GGCTTCTCAACCAAGGTAA | ACGCATCAAATCAGGCAC | 205 | 4.554 |
| RM444 | GCTCCACCTGCTTAAGCATC | TGAAGACCATGTTCTGCAGG | 162 | 5.925 |

PCR 产物大小和物理位置参考日本晴的序列。
The sizes of PCR products and the markers' physical positions are based on the sequence of Nipponbare.

表 2 抽穗期相关基因表达量分析引物

Table 2. Primers used for qRT-PCR analysis of genes associated with heading date.

| 分子标记 | 正向引物 (5'-3') | 反向引物 (5'-3') |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|
| Marker | Forward primer (5'-3') | Reverse primer (5'-3') |
| <i>Ghd7</i> | AGGTGCTACGAGAAGCAAATCC | GGGCCTCATCTCGGCATAG |
| <i>Ghd8</i> | CGTGCAATGGTTTAGACTAAAG | AACAGCATCAGCATCAACAA |
| <i>Hd6</i> | ACGTGAAGCTATGGCACATC | TGTGGTCGTGCTCTGCTATT |
| <i>Hd3a</i> | GCTAACGATGATCCCGAT | CCTGCAATGTATAGCATGC |
| <i>Hd1</i> | CGTTTCGCCAAGAGATCAG | AGATAGAGCTGCAGTGGAAGAAC |
| <i>RFT1</i> | CGTCCATGGTGACCCAACA | CCGGGTCTACCATCACGAGT |
| <i>Ehd1</i> | AATCGATTCCAACAACAAGCAA | TGTCGAGAGCGGTGGATGA |
| <i>OsMADS51</i> | GTCGGCAAGCTCTACGAGTACTC | GCGAATTGCTGATAGCGATCA |
| <i>OsActin1</i> | GCTATGTACGTCGCCATCCA | GGACAGTGTGGCTGACACCAT |

基因 *Actin1* (Os03g0718100)作为内参基因。20 μ L 实时荧光定量 PCR 体系包括 cDNA 模板 1 μ L, 2 \times SYBR qPCR Mix (TOYOBO) 10 μ L, 正反引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ L, ddH₂O 补足至 20 μ L。PCR 扩增程序如下: 95 $^{\circ}$ C 下预变性 1.5 min; 95 $^{\circ}$ C 下 10 s, 60 $^{\circ}$ C 下 30 s, 72 $^{\circ}$ C 下 20 s, 40 个循环。以 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法计算各基因的相对表达量^[14]。用于检测与抽穗期相关基因表达量的引物见表 2。

2 结果与分析

2.1 突变体的表型分析

与野生型 93-11 相比, 突变体 *dth9* 的抽穗期延长了 50 d 左右。在苗期和分蘖期, 野生型和突变体的表型基本无差异。但当 93-11 抽穗时, *DTH9* 仍处于分蘖期; 当 93-11 处于成熟期时, *DTH9* 处于孕穗期(图 1-A)。突变体 *dth9* 在浙江杭州(长日照)的抽穗期要长于海南陵水(短日照), 表明该基因在长日照下对抽穗期的影响可能更大。其他主要农

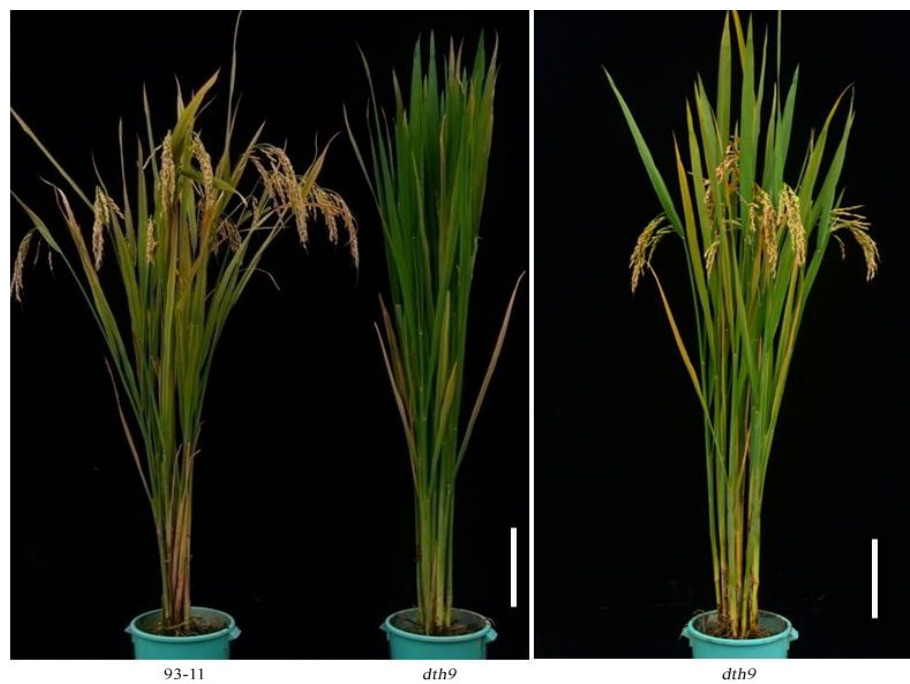
艺性状与野生型相比无显著差异(表 3)。

2.2 突变体的遗传分析

为了研究 *dth9* 的遗传特性, 将 *dth9* 与野生型品种 93-11 进行正反杂交配组后, 2 个组合 F₁ 表现为正常抽穗期, 说明该性状受隐性基因控制。而 2 个组合获得的 F₂ 群体表现出明显的分离现象。在 *dth9* 和 93-11 的组合中, 调查了 870 个植株的表型, 其中表现为正常抽穗期的植株 662 株, 晚抽穗表型的植株 208 株, 经卡方检验正常抽穗与晚抽穗单株的分离比符合 3 : 1 分离比($\chi^2 = 0.281 < \chi^2_{0.05} = 3.84$)(表 4)。在 93-11 和 *dth9* 的组合中, 调查了 508 个单株的表型, 其中表型正常的植株 389 株, 晚抽穗表型的植株有 119 株, 经卡方检验正常表型单株与突变表型单株的分离比也符合 3 : 1 分离比($\chi^2 = 0.343 < \chi^2_{0.05} = 3.84$)(表 4), 进一步表明 *dth9* 迟抽穗表型受一对隐性核基因控制。

2.3 迟抽穗基因定位

从 *dth9* 与日本晴杂交获得的 F₂ 群体中, 随



A—93-11 和突变体的植株表型,标尺=20 cm。B—*DTH9* 成熟期表型,标尺=20 cm。
A, Phenotypes of the wild-type and the heading-delayed mutant *DTH9*, bar=20 cm. B, Phenotype of *DTH9* at mature stage, bar=20 cm.
图 1 野生型和迟抽穗突变体 *dth9* 的表型

Fig. 1. Phenotypes of the wild-type and the heading-delayed mutant *dth9*.

表 3 野生型和突变体的主要农艺性状比较(浙江杭州,2013 年)

Table 3. Comparison of major agronomic traits between the wild-type and the mutant (Hangzhou, Zhejiang, 2013).

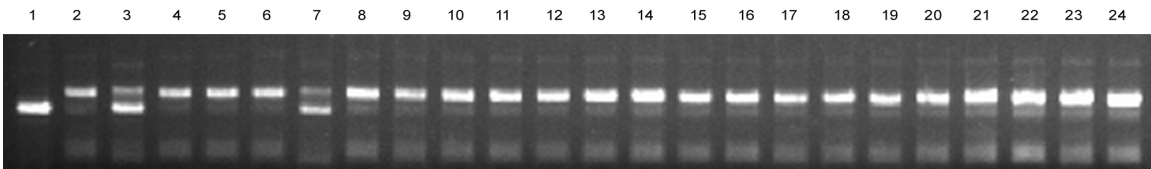
| 农艺性状 | 野生型 | 突变体 |
|--|-------------|---------------|
| Agronomic trait | Wild-type | Mutant |
| 株高 Plant height /cm | 118.67±1.52 | 115.30±0.58 * |
| 穗长 Panicle length/cm | 23.05±0.91 | 21.33±1.15 |
| 有效穗数 No. of effective panicles | 8.3±0.5 | 8.0±0.8 |
| 抽穗期 Heading date/d | 98.0±0.8 | 147.3±2.5 * * |
| 每穗实粒数 No. of filled grains per panicle | 171.5±4.0 | 173.0±2.7 |
| 结实率 Seed-setting rate/% | 93.72±0.01 | 92.20±0.01 |
| 千粒重 1000-grain weight/g | 31.50±0.57 | 31.57±0.40 |
| 一次枝梗数 Primary rachis branch number | 12.0±0.7 | 12.6±0.6 |
| 二次枝梗数 Secondary rachis branch number | 36.8±1.3 | 37.3±0.6 |

数据用平均数±标准差表示(*n*=3)。*,** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著(*t* 检验)。
Figures are shown as mean ± SD (*n*=3). *, ** Significant at 0.05 and 0.01 levels by *t*-test, respectively.

表 4 迟抽穗突变体 *dth9* 的遗传分析

Table 4. Genetic analysis of the *dth9* mutant.

| 组合 | F ₁ 表型 | F ₂ | | | χ ² |
|--------------------|-----------------------------|----------------------|-------------------------------|-------|----------------|
| | | 正常植株数 | 迟抽穗植株数 | 总数 | |
| | Phenotype of F ₁ | No. of normal plants | No. of heading-delayed plants | Total | |
| <i>DTH9</i> /93-11 | 正常抽穗期 Normal | 662 | 208 | 870 | 0.281 |
| 93-11/ <i>DTH9</i> | 正常抽穗期 Normal | 389 | 119 | 508 | 0.343 |



1—日本晴；2—93-11；3—F₁；4~24—F₂群体中突变体表型的单株；7—单交换单株。
1, Nipponbare; 2, 93-11; 3, F₁; 4~24, Individuals with mutant phenotype in the F₂ population; 7, Single crossing-over plant.

图 2 利用标记 RM444 对 F₂群体中 21 个突变体单株进行基因型分析
Fig. 2. Genotype analysis of the 21 F₂plants with mutant phenotype using the marker RM444.

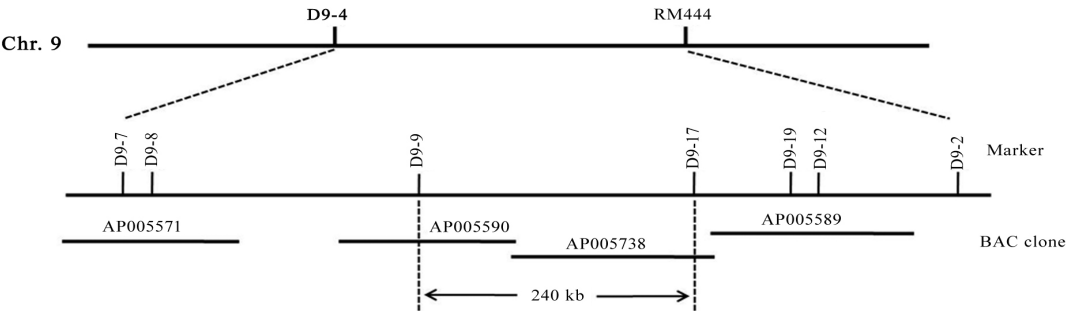


图 3 *DTH9* 基因的精细定位
Fig. 3. Fine mapping of *DTH9*.

机挑选 21 株迟抽穗表型的单株,并筛选了 140 对在亲本间多态表现较好的引物用于 *DTH9* 的连锁分析。发现第 9 染色体着丝粒附近 SSR 标记 RM444 与 *DTH9* 表现出连锁现象(图 2)。在连锁标记附近设计引物获得了 1 对多态性良好的 InDel 连锁标记 D9-4。用这两对引物对 F₂群体中 93 株迟抽穗表型的单株进行基因型分析,结果发现在两个标记处都有交换发生,但没有单株在两个标记处同时发生交换。因此,我们将 *DTH9* 初步定位在标记 D9-4 和 RM444 中间。为了进一步精细定位 *DTH9* 基因,我们在 D9-4 和 RM444 标记之间开发了 7 对有多态性的 InDel 标记。从 *dth9* 和日本晴以及 *dth9* 和武运 7 号杂交衍生的 F₂群体中共获得了 1374 个迟抽穗表型的单株,利用这些单株最终将该基因精细定位在 D9-9 和 D9-17 之间大约 240 kb 的区间内,横跨 AP005590 和 AP005738 这两个 BAC(图 3)。

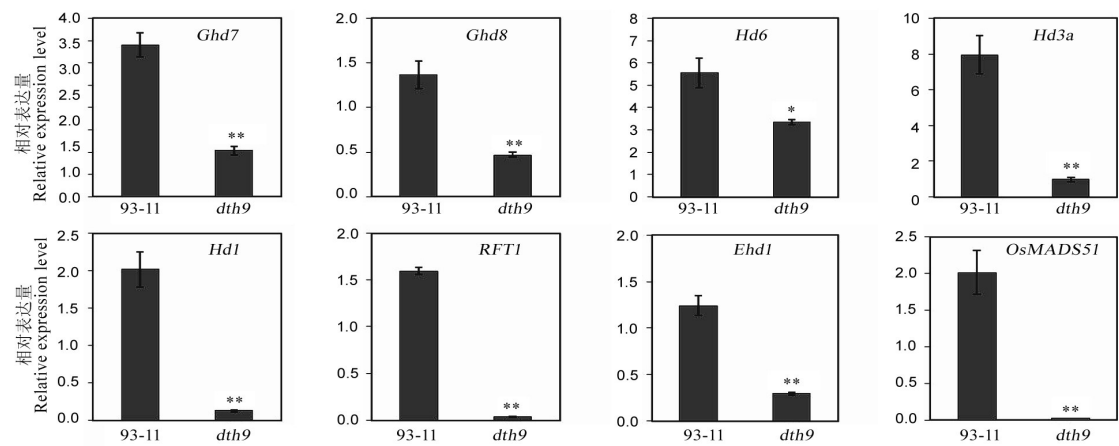
2.4 抽穗期相关基因的表达分析

为了研究该基因突变后对其它抽穗期相关基因表达的影响。我们通过荧光定量 PCR 技术对 *Hd1*、*Hd3a*、*Ghd7* 等与抽穗期相关基因的表达进

行分析。结果显示,与野生型相比,所有检测基因的表达量在突变体中都明显下调(图 4)。其中,*Hd6* 在野生型和突变体中的表达差异达到了显著水平,*Ghd7*、*Ghd8*、*Hd3a*、*Hd1*、*RFT1*、*Ehd1* 和 *OsMADS51* 的表达差异达到了极显著水平,且 *Hd1*、*RFT1*、*OsMADS51* 在突变体中几乎不表达。说明 *DTH9* 的突变影响其他抽穗期相关基因的表达。

3 讨论

水稻是重要的粮食作物,且作为单子叶的模式植物,其功能基因组学研究受到越来越多科研工作者的关注^[15]。抽穗期是水稻重要的农艺性状之一,适宜的抽穗期对扩大水稻品种的种植区域和提高产量有着重要意义。更多水稻抽穗期相关基因的克隆对充分认识抽穗期的遗传机制和品种改良都有重大意义。迄今已克隆了 20 多个水稻抽穗期基因,还精细定位了 9 个抽穗期 QTL^[16],如 *dth.1a*、*Hd9*、*Hd8*、*Hd16*、*Hd3b*、*Hd4*、*Hd2*^[17-23]。*Hd1* 是水稻中第一个通过图位克隆方法克隆的水稻抽穗期基因,编码与拟南芥 *CO* 同源的基因,表现为短日照下促进开花,长日照下抑制开花^[5]。*Hd3a* 编码



数据用平均数±标准差表示($n=3$)。*, ** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著(t 检验)。
Figures were shown as mean ± SD ($n=3$). *, ** Significant at 0.05 and 0.01 levels by t -test, respectively.

图 4 抽穗期相关基因在 *dth9* 和野生型中的表达差异

Fig. 4. Expression levels of genes associated with heading date in the *dth9* mutant and the wild-type.

一个与拟南芥中促进开花的 *FLOWERING LOCUS T (FT)* 基因高度相似的基因。在短日照条件下, *Hd3a* 的转录水平直接影响水稻的抽穗期, 且 *Hd3a* 的表达受到 *Hd1* 的调控^[6]。 *Ehd1* 编码一种 B 型反应调节子, 与水稻中未知的组蛋白激酶形成双组分信号级联传递通路, 调控水稻的开花, 且 *Ehd1* 能独立于 *Hd1* 调控水稻抽穗期^[7]。水稻抽穗期基因除了直接调控抽穗期外, 部分基因还表现出一因多效的现象。 *Ghd7* 是一个同时控制株高、每穗粒数和抽穗期的基因, 编码一个 CCT 结构域蛋白。研究表明, 在长日照条件下增强 *Ghd7* 的表达, 能延长抽穗期, 增加株高, 使稻穗变大^[11]。 *Ghd8* 编码转录因子 CCAAT 盒结合蛋白的 HAP3 亚基, 同时调控水稻产量、株高和抽穗期, 并在长日照下下调 *Ehd1* 和 *Hd3a* 的转录水平^[12,24]。此外, *Ghd8* 上调水稻分蘖和侧枝发生基因 *MOC1* 的表达, 从而调控水稻的分蘖数、一次枝梗数和二次枝梗数, 进而影响产量^[24]。另外, 也有科研工作者将水稻抽穗期基因应用于育种实践^[25]。中国科学院遗传和发育生物学研究所林少杨研究组将 *Hd1* 导入到越光品种中, 新品种 Koshihikari H3 号的种植区域由原品种的北纬 35.0°~37.5° 延伸至北纬 10°, 且产量增加了 30%。

本研究从 93-11 为背景的突变体库中筛选到一个迟抽穗突变体 *dth9*, 并进行了遗传分析和精细定

位。遗传分析表明该性状受一对隐性核基因控制, 并将 *DTH9* 定位在第 9 染色体着丝粒附近, 位于标记 D9-9 和 D9-17 之间约 240 kb 的区间内。该区段内未见抽穗期相关基因的报道。因此, *DTH9* 是一个新的抽穗期基因。由于该区段靠近着丝粒, 因此需要更大的定位群体进行进一步的精细定位。通过对突变体和野生型中抽穗期相关基因表达的分析, 发现所有检测基因的表达量在突变体中均下调, 表明该基因的突变影响了其他相关基因的表达。本研究为该基因的进一步克隆和功能分析提供参考。该突变体也可作为种质资源来改良水稻品种抽穗期, 比如解决杂交配组时抽穗期差异太大而无法配组的问题。

参考文献:

[1] 刘广林, 罗群昌, 陈远孟, 等. 水稻种质资源抽穗扬花期耐冷性鉴定评价. 西南农业学报, 2013, 26(2): 395-398.
Liu G L, Luo Q C, Chen Y M, et al. Analysis and evaluation on cold tolerance for rice germplasm resources at flowering stage. Southwest China J Agric Sci, 2013, 26(2): 395-398. (in Chinese with English abstract)

[2] 邱磊, 蒋海潮, 冯玉涛, 等. 控制水稻抽穗期和株高的 QTL 定位及遗传分析. 基因组学与应用生物学, 2014, 33(4): 828-835
Qiu L, Jiang H C, Feng Y T, et al. Mapping and genetic analysis of QTL for heading date and plant height in rice. Genom Appl Biol, 2014, 33(4): 828-835. (in Chinese with English ab-

- stract)
- [3] 邓晓建, 周开达, 李仁端, 等. 水稻完全显性早熟性的发现和基因定位. *中国农业科学*, 2001, 34(3): 233-239.
Deng X J, Zhou K D, Li R D, et al. Identification and gene mapping of completely dominant earliness in rice (*Oryza sativa* L.). *Sci Agric Sin*, 2001, 34(3): 233-239. (in Chinese with English abstract)
 - [4] 胡时开, 苏岩, 叶卫军, 等. 水稻抽穗期遗传与分子调控机理研究进展. *中国水稻科学*, 2012, 26(3): 373-382.
Hu S K, Sun Y, Ye W J, et al. Advances in genetic analysis and molecular regulation mechanism of heading date in rice (*Oryza sativa* L.). *Chin J Rice Sci*, 2012, 26(3): 373-382. (in Chinese with English abstract)
 - [5] Yano M, Katayose Y, Ashikari M, et al. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell*, 2000, 12(12): 2473-2484.
 - [6] Kojima S, Takahashi Y, Kobayashi Y, et al. *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis* *FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43(10): 1096-1105.
 - [7] Doi K, Izawa T, Fuse T, et al. *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls FT-like gene expression independently of *Hd1*. *Genes & Dev*, 2004, 18(8): 926-936.
 - [8] Takahashi Y, Shomura A, Sasaki T, et al. *Hd6*, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the alpha subunit of protein kinase CK2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(14): 7922-7927.
 - [9] Matsubara K, Yamanouchi U, Nonoue Y, et al. *Ehd3*, encoding a plant homeodomain finger-containing protein, is a critical promoter of rice flowering. *Plant J*, 2011, 66(4): 603-612.
 - [10] Gao H, Zheng X M, Fei G, et al. *Ehd4* encodes a novel and *Oryza*-genus-specific regulator of photoperiodic flowering in rice. *Plos Genet*, 2013, 9(2): e1003281.
 - [11] Xue W, Xing Y, Weng X, et al. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet*, 2008, 40(6): 761-767.
 - [12] Wei X, Xu J, Guo H, et al. *DTH8* suppresses flowering in rice, influencing plant height and yield potential simultaneously. *Plant Physiol*, 2010, 153(4): 1747-1758.
 - [13] Wu K S, Tanksley S D. Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. *Mol Gen Genet*, 1993, 241(1): 225-235.
 - [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 2001, 25: 402-408.
 - [15] Hirochika H, Guiderdoni E, An G, et al. Rice mutant resources for gene discovery. *Plant Mol Biol*, 2004, 54(3): 325-334.
 - [16] 郭梁, 张振华, 庄杰云. 水稻抽穗期 QTL 及其与产量性状遗传控制的关系. *中国水稻科学*, 2012, 26(2): 235-245.
Guo L, Zhang Z H, Zhuang J Y. Quantitative trait loci for heading date and their relationship with the genetic control of yield traits in rice (*Oryza sativa*). *Chin J Rice Sci*, 2012, 26(2): 235-245. (in Chinese with English abstract)
 - [17] Thomson M J, Edwards J D, Septiningsih E M, et al. Substitution mapping of *dth1.1*, a flowering-time quantitative trait locus (QTL) associated with transgressive variation in rice, reveals multiple sub-QTL. *Genetics*, 2006, 172: 2501-2514.
 - [18] Lin H, Ashikari M, Yamanouchi U, et al. Identification and characterization of a quantitative trait locus, *Hd9*, controlling heading date in rice. *Breeding Sci*, 2002, 52(1): 35-41.
 - [19] Takeuchi Y, Lin S Y, Sasaki T, et al. Fine linkage mapping enables dissection of closely linked quantitative trait loci for seed dormancy and heading in rice. *Theor Appl Genet*, 2003, 107(7): 1174-1180.
 - [20] Matsubara K, Kono I, Hori K, et al. Novel QTLs for photoperiodic flowering revealed by using reciprocal backcross inbred lines from crosses between *japonica* rice cultivars. *Theor Appl Genet*, 2008, 117(6): 935-945.
 - [21] Monna L, Lin H X, Kojima S, et al. Genetic dissection of a genomic region for a quantitative trait locus, *Hd3*, into two loci, *Hd3a* and *Hd3b*, controlling heading date in rice. *Theor Appl Genet*, 2002, 104(5): 772-778.
 - [22] Lin H, Liang Z W, Sasaki T, et al. Fine mapping and characterization of quantitative trait loci *Hd4* and *Hd5* controlling heading date in rice. *Breeding Sci*, 2003, 53(1): 51-59.
 - [23] Yamamoto T, Kuboki Y, Lin S Y, et al. Fine mapping of quantitative trait loci *Hd-1*, *Hd-2* and *Hd-3*, controlling heading date of rice, as single Mendelian factors. *Theor Appl Genet*, 1998, 97(1): 37-44.
 - [24] Yan W H, Wang P, Chen H X, et al. A major QTL, *Ghd8*, plays pleiotropic roles in regulating grain productivity, plant height, and heading date in rice. *Mol Plant*, 2011, 4(2): 319-330.
 - [25] 杜雪树, 戚华雄, 廖世勇, 等. 水稻抽穗期分子生物学研究进展. *湖北农业科学*, 2013, 52(24): 5958-5962.
Du X S, Qi H X, Liao S Y, et al. Advances on the molecular biology of rice heading date. *Hubei Agric Sci*, 2013, 52(24): 5958-5962. (in Chinese)