水稻F₁花粉不育基因座*S-b*的精细定位

李文涛 曾瑞珍 张泽民 丁效华 张桂权*

(华南农业大学广东省植物分子育种重点实验室, 广州 510642. * 联系人, E-mail: gqzhang@scau.edu.cn)

摘要 杂种不育是水稻籼粳亚种间杂种优势利用的主要障碍, 开展杂种不育基因的克隆和功能分析对于克服和缓解亚种间杂种的不育性具有重要的意义. 本研究在*S-b*座位初定位的基础上, 根据水稻基因组的序列发展微卫星标记, 将*S-b*座位定位在微卫星标记PSM8 和PSM202 之间. 为了精细定位*S-b*座位, 以*S-b*座位的近等基因系为材料培育了包含有 3910 株的F₂作图群体, 同时根据PSM8 和PSM202 界定范围内的基因组序列发展了 2 个微卫星标记, 2 个插入缺失多态性标记和 4 个CAPS标记. 利用作图群体中的重组株进行花粉育性表型与新发展标记基因型的连锁分析, 结果表明标记W4 与*S-b*座位完全连锁, 而标记A8 和A14 位于*S-b*座位的两侧, 与*S-b*座位的遗传距离分别为 0.026 和 0.038 cM. 将多态性标记与该区域克隆的序列进行整合, 结果表明, 新发展的多态性标记锚定在了AC093089, AC079021 和AC134931 三个首尾相连的克隆上. 根据各标记在物理图谱上的位置, 最终将*S-b*座位界定在了A8 与A14 之间 27 kb 的物理距离内. RiceGAAS注释表明该区域有 7 个预测ORF. 该结果为*S-b*座位进一步的功能分析奠定了基础.

关键词 杂种不育 分子标记 精细定位 水稻

水稻籼粳亚种间具有强大的杂种优势^[1,2], 然而杂种的不育性限制了亚种间杂种优势的利用^[3,4]. 针对亚种间杂种的不育性, Ikehashi等人^[5,6]提出亚种间杂种的不育性主要表现为雌性不育, 并受*S-5* 座位一组复等位基因*S-5'*, *S-5'*和*S-5'*的控制. 随后研究人员利用不同的材料鉴定和定位了一系列雌配子和雄配子不育的主效基因和QTL^[7-17]. 张桂权等人^[18]以台中65 及其近等基因系为材料, 通过双列分析鉴定出了 3 个F₁花粉不育基因座位, 随后又利用台中 65 的近等基因系与一系列品种测交鉴定出了另外 3 个F₁花粉不育基因座位^[19]. 在已鉴定出的 6 个不育基因座位中, *S-a*^[20], *S-b*^[21]和*S-c*^[22,23]座位已完成初步的分子定位, 杨存义等人^[24]对其中的一个座位*S-c*进行了精细定位.

Li等人^[25]通过筛选已发表的微卫星标记和发展酶切扩增多态性(cleaved amplified polymorphic sequence, CAPS)标记将F₁花粉不育基因*S-b*座位定位于第 5 染色体的短臂上, 与RM13 和R830STS紧密连锁. 水稻基因组的测序积累了大量的序列数据^[26-29], 为发展微卫星标记^[30,31]和插入缺失(insertion-deletion, InDel)多态标记^[32]进行基因的精细定位奠定了基础. 为了图位克隆F₁花粉不育基因*S-b*座位, 本研究通过构建较大的作图群体和以基因组序列为基础发展新的分子标记, 实现了*S-b*座位的精细定位, 在界定的区域内鉴定出几个预测基因.

1 材料与方法

() 供试材料. 所用的材料为粳型品种台中65(T65)及其近等基因系TISL2. TISL2 是以T65 为受体, 以粳型品种 144(O-luen-chung, 原产中国台湾)为供体, 经过连续 13 代的回交培育而成^[4]. T65 与TISL2 在*S-b*座位的基因型分别为*S'/S'*和*S'/S'*^[33]. *S-b*初定位的群体与Li等人^[21]的群体相同, 为 178 株的F₂分离群体. 用于*S-b*座位精细定位的作图群体为 3910 株的T65 与TISL2 组合的F₂群体, F₂作图群体的种植和分析分别在 2002 年晚季至 2004 早季四个季节里完成.

() *S-b*座位精细定位的策略. *S-b*座位的精细定位首先是根据*S-b*座位初定位的结果, 利用两侧与*S-b*座位紧密连锁的分子标记分析 3910 株的作图群体, 筛选重组株, 然后检测重组株的花粉育性表型, 并在F₃代验证育性表型, 随后在两端紧密连锁的标记所界定的区域内发展新的分子标记, 利用重组株分析育性表型与新发展标记基因型间的重组关系, 从而将*S-b*座位界定在较小的区域内, 实现*S-b*座位的精细定位.

() 分子标记的发展. 微卫星标记的发展是根据 *S-b* 座位初定位的结果, 从 IRGSP (<http://rgp.dna.affrc.go.jp/IRGSP/index.html>) 下载界定区域已测序克隆的序列, 利用微卫星在线搜索软件 SSRIT ([<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb2006-0174-404>](http://</p></div><div data-bbox=)

www.gramene.org/microsat/) 搜索合适的微卫星序列用于引物的设计, 引物设计利用 Primer Premier 5.0 进行, 将所设计的微卫星标记命名为 PSM (position-specific microsatellite). 插入缺失多态性标记和酶切扩增多态性标记是将 *S-b* 座位两端标记界定范围内粳型品种日本晴的基因组序列与籼型品种 93-11 的序列进行 BLAST 分析, 寻找序列差异, 然后按 10 kb 左右的距离设计扩增长度在 0.8~1.5 kb 的 PCR 引物, 利用设计的引物分析亲本间扩增产物插入缺失的多态性, 将没有插入缺失多态性的 PCR 产物利用限制性内切酶酶切, 分析酶切多态性.

() 分子标记的分析. 作图群体 DNA 的提取采用微量 DNA 的提取方法^[34]. 亲本及重组株 DNA 的提取采用 CTAB 法^[35]. 微卫星标记 PCR 检测的反应条件参照 Panaud 等人^[36]的方法稍加修改, 插入缺失多态性标记和酶切扩增多态性标记的 PCR 检测条件参照 Li 等人^[21]的方法.

() 花粉育性的鉴定. 将 3910 株作图群体中筛选出的重组株用于花粉育性表型的分析, 花粉育性的鉴定参照张桂权等人^[18]的方法进行, 按照 Li 等人^[21]的标准将重组株划分为可育株和不育株.

() 基因预测. *S-b* 座位限定区域序列的基因预测利用 RGP 在线注释系统 RiceGAAS (<http://ricegaas.rgp.dna.affrc.go.jp>) 进行.

2 结果与分析

2.1 F_1 花粉不育基因座 *S-b* 的进一步定位

Li 等人^[21]通过筛选已发表的微卫星标记和发展 CAPS 标记将 *S-b* 座位定位于第 5 染色体短臂上 R830STS 和 RM13 之间. 根据 *S-b* 座位初定位的结果, 从 IRGSP 下载 *S-b* 座位所在区域部分克隆的序列, 利用在线软件 SSRIT 搜索该区域的微卫星序列, 选择设计了 18 对 PCR 引物. 亲本分析表明 18 对引物中 15 对引物有特异的 PCR 产物, 其中 PSM7, PSM8, PSM9, PSM202, PSM206 和 PSM208 6 对引物的 PCR 产物亲本间存在多态性(表 1). 利用 176 株的 F_2 作图群体^[21]进行多态性标记与 *S-b* 座位育性表型的连锁分析, 结果表明, 6 个多态性标记均与 *S-b* 座位紧密连锁(图 1), 其中两侧与 *S-b* 座位连锁最紧密的微卫星标记分别为 PSM8, PSM9 和 PSM202, 与 *S-b* 座位的遗传距离均为 0.9 cM.

2.2 F_1 花粉不育基因座 *S-b* 的精细定位

为了精细定位 *S-b* 座位, 在 PSM8 与 PSM202 界

图 1 水稻第 5 染色体上 *S-b* 座位的连锁图

定的区域内发展一系列分子标记. 在此区域搜索发展了 8 个微卫星标记, 亲本分析表明, PSM214 和 PSM215 两标记亲本间存在多态性(表 2). 随后利用 BLAST 分析 PSM8 与 PSM202 之间粳型品种日本晴和籼型品种 93-11 序列的差异, 按约 10 kb 左右的距离选择设计了 25 个插入缺失多态性标记, 亲本分析表明, A8 和 A14 亲本间存在插入缺失多态性(表 1). 将亲本间不存在插入缺失多态性的 PCR 产物利用限制性内切酶酶切, 分析酶切多态性, 结果表明, W4 (*Mse*), T17 (*Msp*), T18 (*Acc*) 和 T19 (*Dra*) 4 个标记亲本间存在酶切多态性(表 1).

2002 晚季至 2004 年早季连续 4 个季节里总共种植了 3910 株 T65 与 TISL2 组合的 F_2 作图群体, 利用该群体对 *S-b* 座位进行精细定位. 作图群体的分析首先利用与 *S-b* 座位紧密连锁的分子标记 PSM8 与 PSM202 筛选两标记间的重组株, 结果在 3910 株的群体中筛选出了 97 个重组株. 接着检测重组株的花粉育性表型, 按照 Li 等人^[21]的标准将重组株划分为可育株和不育株, 收获重组株的种子发展 F_3 群体验证重组株的花粉育性. 随后利用 PSM8 与 PSM202 之间新发展的亲本间有多态性的 2 个微卫星标记, 2 个插入缺失多态性标记和 641 个 CAPS 标记分析重组株的

表 1 新发展的亲本间有多态性的标记

标记	标记类型	引物序列	内切酶
PSM7	SSR	5'-GGTGGTGGGTTAGCATCT-3' 5'-TTGGCAACTTGTAGTCTTGT-3'	
PSM8	SSR	5'-CCAGGTCACCACCACAAT-3' 5'-AAATCCGAATCGCATCAG-3'	
PSM9	SSR	5'-GTTGAAACCGAAACTGCC-3' 5'-GATACAGATAATCACGAAA-3'	
PSM202	SSR	5'-CGGAATCAATGGAAGGTTT-3' 5'-CGGCTAGGCTATAAGTGGG-3'	
PSM206	SSR	5'-TGGTTGGGTTTGGTGAT-3' 5'-GCAGCGACTACTCCTCC-3'	
PSM208	SSR	5'-CTGAGGTGGAGCAGGGAGGGT-3' 5'-CAGCAACTTGGTAAAAGAGCA-3'	
PSM214	SSR	5'-GCAAACGAATAGGAGACAAGGAG-3' 5'-GTCCGTAGCCATTTGTCTCAG-3'	
PSM215	SSR	5'-CAAGATGTGATAACGACGAAGA-3' 5'-ACATTGTGAAACGGAGGAAGTA-3'	
A8	InDel	5'-ACTCATATCGGCAACGACTA-3' 5'-CCAATACAAACCCTGAAAGA-3'	
A14	InDel	5'-GAATCTTGATGCCCAGGTA-3' 5'-GGGTTTAGCCATTGGAGGT-3'	
T17	CAPS	5'-CCACCTCCAATGGCTAAA-3' 5'-GGGTCCTTCACTGGCTAC-3'	<i>Msp</i>
T18	CAPS	5'-ACGGGCTTGACCACTACTG-3' 5'-ATGGCTGGTTGCTAAGGGA-3'	<i>Acc</i>
T19	CAPS	5'-CTTTGGTGGTAATGGTGGTC-3' 5'-CAGGCTTATCTGGAATGAGTA-3'	<i>Dra</i>
W4	CAPS	5'-TGGACAGACGCTTGGACTTTATG-3' 5'-TGCTTACCCACCTTGTAACACCT-3'	<i>Mse</i>

基因型.根据重组株育性表型与标记基因型之间的重组关系,分析各标记与 *S-b* 座位的连锁关系,结果表明多态性标记均与 *S-b* 座位紧密连锁,其中 W4 在 3910 株的群体中与 *S-b* 座位完全连锁,而 A8 和 A14 位于 *S-b* 座位的两侧且与 *S-b* 连锁最紧密,与 *S-b* 座位的遗传距离分别为 0.026 (2 株)和 0.038 cM (3 株)(图 2(a)).

2.3 覆盖F₁花粉不育基因座*S-b*的物理图谱的构建

从 IRGSP 下载 *S-b* 座位所在区域克隆的序列,根据克隆之间的重叠关系将克隆首尾相连,随后将 PSM8 与 PSM202 之间的多态性标记与克隆序列进行整合,结果表明,10 个与 *S-b* 座位紧密连锁的多态性标记锚定在了 AC093089, AC079021 和 AC134931 三个首尾相连的克隆上(图 2(b)),其中 *S-b* 座位两侧距离最近的标记 A8 和 A14 分别锚定在克隆 AC079021 的 77 和 104 kb 处,而与 *S-b* 座位完全连锁的 W4 则锚定在了 87 kb 处.根据物理图谱上各标记的位置信息,从而最终将 *S-b* 座位界定在了 A8 和 A14 之间 27 kb 的物理距离内.在 3910 株的作图群体中, W4 与 *S-b* 座位完全连锁, A8 与 W4 之间 10 kb 的范围内检测到了 2 个重组事件,而 W4 与 A14 之间 17 kb 的范围内检测到了 3 个重组事件(图 2(b)).

利用在线注释软件 Rice GAAS 对 A8 与 A14 之间 27 kb 的序列进行注释,结果表明此区域共有 7 个预测 ORF(图 2(c)). 7 个 ORF 的编码蛋白有如下功能: ORF1 和 ORF6 为假定的 γ 维生素 E 甲基化转移酶(putative gamma-tocopherol methyltransferase), ORF2 为假定的锚蛋白(putative ankyrin), ORF3 为假定的乙酰转移酶(putative acetyltransferase), ORF4 为假定的 GFP 结合操纵蛋白 Gs 的 α -XL 链(putative GFP-binding regulatory protein Gs alpha-XL chain), ORF5 和 ORF7 为未知蛋白.

3 讨论

水稻粳籼亚种间杂种的不育性具有十分复杂的遗传基础,目前关于亚种间杂种不育性的研究大多停留在基因鉴定和初定位的水平上^[7~17],进一步深入研究杂种不育性的分子生物学机理非常迫切.本研究以 F₁ 花粉不育基因*S-b*座位的近等基因系为材料,通过构建较大的作图群体和根据基因组序列发展分子标记实现了*S-b*座位的精细定位,基因注释表明该区域有 7 个候选 ORF. 杨存义等人^[24]将 F₁ 花粉不育基因座*S-c*界定在了 46 kb 的物理距离内,基因注释表明该区域有 6 个候选 ORF,比较*S-b*座位 7 个候选 ORF 与 *S-c*座位 6 个候选 ORF,没有发现相似的候选

图 2 水稻第 5 染色体上 *S-b* 座位所在区域分子标记连锁图(a)、物理图(b)以及界定区域的预测 ORF(c)

ORF, 说明不同 F_1 花粉不育基因座位花粉败育的生物学机制可能不同。

基因的精细定位中, 目标基因候选区域的范围与作图群体的大小关系密切。一般情况下作图群体越大, 则目标基因的候选区域就越小。在拟南芥中, 400~500 株的作图群体可以将基因的候选区域界定在 100~160 kb 的范围, 而 2500~3000 株的作图群体则可以将基因的候选区域界定在 10 kb 之内^[37]。水稻的基因组比拟南芥大, 因此精细定位需要的群体也相应要大一些。在水稻中, Yano 等人^[38]利用 1505 株的作图群体将 *Hd1* 界定在了 12 kb 之内; Takahashi 等人^[39]利用 2807 株的作图群体将 *Hd6* 界定在了 26.4 kb 之内; Yamanouchi 等人^[40]利用 2944 株的作图群体将 *Spl7* 界定在了 3 kb 之内; Monna 等人^[41]利用 3477 株的作图群体将 *sd-1* 界定在了 6 kb 之内。根据这些研究, 可以大致地认为在没有重组抑制存在的区域, 利用 3500~4000 株的作图群体可以将目标基因界定在 10 kb 左右。本研究利用 3910 株的作图群体将 F_1 花粉不育基因座 *S-b* 界定在了 27 kb 以内, 两端与 *S-b* 座位紧密连锁的标记各与 *S-b* 座位有 2 个和 3 个重组, 因此还可以进一步发展新的 InDel 或 SNP 标记, 将 *S-b* 座位界定在更小的区域内。

水稻亚种间杂种不育的复杂性还表现在不育基因功能研究的复杂性上。在普通的基因功能研究中, 突变型与野生型是一一对应的关系, 而杂种不育基因不具备这种对应关系。目前已鉴定出的几个 F_1 花粉不育基因座位尽管其败育的时期和程度存在差异, 但这些基因座位的遗传效应均符合单座位孢子体-配

子体互作模式^[42]。也就是当孢子体的基因型为纯合 (S^iS^i 或 S^jS^j) 时雄配子正常可育, 而当孢子体的基因型为杂合 (S^iS^j) 时部分携带 S^j 基因的雄配子败育。因此杂种不育基因的克隆和遗传互补验证的研究也有其特殊性。一方面可以将 S^i 基因和 S^j 基因相互转化, 获得转基因杂合植株, 分析杂合植株花粉的育性来验证目的基因。另一方面也可以将中性基因 S^n 转化到杂合体中, 分析转化植株的育性恢复程度来验证目的基因。目前我们正在进行 *S-b* 座位更精细的定位工作, 力图通过发展新的分子标记将 *S-b* 座位的候选区域缩小至 10 kb 以内, 同时也在进行候选基因的遗传互补转化的研究, 试图获得 *S-b* 座位的目的基因, 为进一步 *S-b* 座位的功能分析打下基础。

致谢 本工作作为国家自然科学基金(批准号: 30330370 和 30471068)和广东省自然科学基金博士启动基金(批准号: 04300492)资助项目。

参 考 文 献

- 1 杨守仁, 沈锡英, 顾慰莲. 籼粳杂交育种研究. 作物学报, 1962, 1(2): 97~102
- 2 曾世雄, 杨秀青, 卢庄文. 栽培稻籼粳亚种间杂种一代优势的研究. 作物学报, 1980, 6(4): 193~202
- 3 Oka H I. Genetic analysis for the sterility of hybrids between distantly related varieties of cultivated rice. J Genet, 1957, 53: 397~409
- 4 Oka H I. Analysis of genes controlling F_1 sterility in rice by the use of isogenic lines. Genetics, 1974, 77: 521~534
- 5 Ikehashi H, Araki H. Genetics of F_1 sterility in remote cross of rice (*Oryza sativa* L). In: Khush G, ed. Rice Genetics. Philippines: International Rice Research Institute, 1986. 119~130
- 6 Ikehashi H, Araki H. Multiple alleles controlling F_1 sterility in

- remote cross of rice (*Oryza sativa* L.). Jpn J Breed, 1988, 38: 283~291
- 7 Wan J, Ikehashi H. Identification of a new locus *S-16* causing hybrid sterility in native rice varieties (*Oryza sativa* L.) from Tai-hu Lake region and Yunnan Province, China. Breed Sci, 1995, 45: 461~470
- 8 Wan J, Yamaguchi Y, Kato H, et al. Two new loci for hybrid sterility in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). Theor Appl Genet, 1996, 92(2): 183~190[DOI]
- 9 Wan J, Yanagihara S, Kato H, et al. Multiple alleles at a new locus causing hybrid sterility between a Korean *indica* variety and a *japonica* variety in rice. Jpn J Breed, 1993, 43: 507~516
- 10 Liu K D, Wang J, Li H B, et al. A genome-wide analysis of wide compatibility in rice and the precise location of the *S5* locus in the molecular map. Theor Appl Genet, 1997, 95: 809~814[DOI]
- 11 Wang J, Liu K D, Xu C G, et al. The high level of wide-compatibility of variety 'Dular' has a complex genetic basis. Theor Appl Genet, 1998, 97: 407~412[DOI]
- 12 张小惠, 朱旭东, 钱前, 等. 水稻新广亲和基因的初步分子定位. 中国水稻科学, 1998, 12(1): 11~16
- 13 朱旭东, 王建林, 钱前, 等. 籼粳不育新位点的发现及其遗传分析. 遗传学报, 1998, 25(3): 245~251
- 14 严长杰, 梁国华, 顾世梁, 等. 典型籼粳杂种不育性的分子标记分析及其遗传基础. 遗传学报, 2003, 30(3): 267~276
- 15 严长杰, 梁国华, 朱立煌, 等. 秋稻品种 Dular 广亲和基因的 RFLP 分析. 遗传学报, 2000, 27(5): 409~417
- 16 Liu Y S, Zhu L H, Sun J S, et al. Mapping QTLs for defective female gametophyte development in an inter-subspecific cross in *Oryza sativa* L. Theor Appl Genet, 2001, 102: 1243~1251[DOI]
- 17 Wang C M, Yasui H, Yoshimura A, et al. Construction of RFLP linkage map and identification of QTLs controlling spikelet and pollen sterility in rice. Acta Agron Sin, 2002, 28(5): 650~653
- 18 张桂权, 卢永根. 栽培稻(*Oryza sativa*)杂种不育性的遗传研究. 等基因 F_1 不育系杂种不育性的双列分析. 中国水稻科学, 1989, 3(3): 97~101
- 19 张桂权, 卢永根, 张华, 等. 栽培稻(*Oryza sativa*)杂种不育性的遗传研究. F_1 花粉不育的基因型. 遗传学报, 1994, 21(1): 34~41
- 20 庄楚雄, 张桂权, 梅曼彤, 等. 栽培稻 F_1 花粉不育基因座 $S-a$ 的分子定位. 遗传学报, 1999, 26(3): 213~218
- 21 Li W T, Zeng R Z, Zhang Z M, et al. Mapping of *S-b* locus for F_1 pollen sterility in cultivated rice using PCR based markers. Acta Bot Sin, 2002, 44(4): 463~467
- 22 张泽民, 张桂权. 水稻 *S-c* 座位的 PCR 标记精细定位及分子标记辅助选择. 作物学报, 2001, 27(6): 704~709
- 23 Zhuang C, Fu Y, Zhang G, et al. Molecular mapping of *S-c*, an F_1 pollen sterility gene in cultivated rice. Euphytica, 2002, 127: 133~138[DOI]
- 24 杨存义, 陈忠正, 庄楚雄, 等. 水稻籼粳杂种不育基因座 *Sc* 的遗传图和物理图精细定位. 科学通报, 2004, 49(13): 1273~1277
- 25 李文涛, 曾瑞珍, 张泽民, 等. 水稻 F_1 花粉不育性近等基因系导入片段的分析. 中国水稻科学, 2003, 17(2): 95~99
- 26 Barry G F. The use of the Monsanto draft rice genome sequence in research. Plant Physiol, 2001, 125: 1164~1165[DOI]
- 27 Goff S A, Ricke D, Lan T H, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). Science, 2002, 296(5): 92~100[DOI]
- 28 Yu J, Hu S, Wang J, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). Science, 2002, 296: 79~92[DOI]
- 29 International Rice Genome Sequencing Project. The map-based sequence of the rice genome. Nature, 2005, 436: 793~800
- 30 Temnykh S, DeClerck G, Lukashova, A, et al. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): Frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. Genome Res, 2001, 11(8): 1441~1452[DOI]
- 31 McCouch S R, Teytelman L, Xu Y, et al. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Res, 2002, 9: 199~207[DOI]
- 32 Shen Y J, Jiang H, Jin J P, et al. Development of genome-wide DNA polymorphism database for map-based cloning of rice genes. Plant Physiol, 2004, 135: 1198~1205[DOI]
- 33 Zhang G, Lu Y. Genetics of F_1 pollen sterility in *Oryza sativa*. In: Khush G, ed. Rice Genetics III. Philippines: International Rice Research Institute, 1996. 418~422
- 34 Zheng K L, Huang N, Bennett J. PCR-based marker-assisted selection in rice breeding. IRRI discussion paper series No.12. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, 1995
- 35 Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res, 1980, 8: 4321~4325
- 36 Panaud O, Chen X, McCouch S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). Mol Gen Genet, 1996, 252: 597~607
- 37 Lukowitz W, Gillmor C S, Scheible W R. Positional cloning in *Arabidopsis*. Why it feels good to have a genome initiative working for you. Plant Physiol, 2000, 123: 795~805[DOI]
- 38 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: 2473~2483[DOI]
- 39 Takahashi Y, Shomura A, Sasaki T, et al. *Hd6*, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the α subunit of protein kinase CK2. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(14): 7922~7927[DOI]
- 40 Yamanouchi U, Yano M, Lin H X, et al. A rice spotted leaf gene, *Spl7*, encodes a heat stress transcription factor protein. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(11): 7530~7535[DOI]
- 41 Monna L, Kitazawa N, Yoshino R, et al. Positional cloning of rice semidwarfing gene, *sd-1*: Rice "Green Revolution Gene" encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. DNA Res, 2002, 9: 11~17[DOI]
- 42 张桂权, 卢永根. 栽培稻(*Oryza sativa*)杂种不育性的遗传研究. F_1 花粉不育性的基因模式. 遗传学报, 1993, 20(3): 222~228

(2005-11-05 收稿, 2005-12-21 接受)

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb2006-51-4-404>