

肖冬冬, 宗伍辈, 孙康莉, 等. *Ghd7* 和 *DTH8* 协同调控水稻抽穗期和部分农艺性状 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(3): 18-25.
XIAO Dongdong, ZONG Wubei, SUN Kangli, et al. Synergistic regulation of rice heading date and some agronomic traits by *Ghd7* and *DTH8*[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(3): 18-25.

Ghd7 和 DTH8 协同调控水稻抽穗期和部分农艺性状

肖冬冬, 宗伍辈, 孙康莉, 李加俊, 刘耀光, 郭晶心
(华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】抽穗期是水稻重要的农艺性状, 决定品种适宜的栽培地区和季节。*Ghd7* 与 *DTH8* 是水稻的关键抽穗基因, 全面揭示 *Ghd7*、*DTH8* 在不同背景中的遗传互作规律、表达调控和对农艺性状的作用, 对指导水稻品选育、提高水稻适应性和产量具有重要的应用价值。【方法】本研究通过分子标记辅助选择从杂交稻 ‘宁优 1179’ 后代中鉴定培育了 1 个 *hd1* 和 *prp37* 无功能的背景下 *Ghd7* 和 *DTH8* 的双基因分离群体, 对其进行了抽穗期调查、下游基因 (*Ehd1*、*Hd3a*、*RFT1*) 表达检测和部分农艺性状分析。【结果】在自然长日和自然短日下, *Ghd7* 或 *DTH8* 单基因均可抑制 *Ehd1*、*Hd3a* 和 *RFT1* 的表达, 延迟抽穗, *Ghd7* 或 *DTH8* 单基因可以显著增加水稻株高、一级枝梗数、二级枝梗数、主穗粒数和千粒质量; *Ghd7* 和 *DTH8* 双基因组合强烈抑制 *Ehd1*-*Hd3a*/*RFT1* 通路的表达, 延迟抽穗, 并且能够显著增加水稻株高、一级枝梗数、二级枝梗数、主穗粒数和千粒质量等农艺性状。【结论】长、短日下, *Ghd7* 和 *DTH8* 能协同抑制成花素基因表达, 延长水稻抽穗期, 正向调控多个产量相关性状, 在水稻高产育种和遗传改良中具有重要的应用价值。

关键词: 水稻; 抽穗期; *Ghd7*; *DTH8*; 基因调控; 农艺性状
中图分类号: Q75 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2022)03-0018-08

Synergistic regulation of rice heading date and some agronomic traits by *Ghd7* and *DTH8*

XIAO Dongdong, ZONG Wubei, SUN Kangli, LI Jiajun, LIU Yaoguang, GUO Jingxin
(College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】Heading date is an important agronomic trait in rice, which determines suitable cultivated areas and seasons of rice varieties. *Ghd7* and *DTH8* are two key heading date genes in rice, comprehensively discovering their genetic interaction, expression regulation, and effects on agronomic traits are important for variety breeding, improvement of adaptability and yield of rice. 【Method】In this study, we bred a *Ghd7*/*DTH8* digenic segregating population in the non-functional *hd1* and *prp37* background from the progeny of the hybrid rice ‘Ningyou 1179’ by molecular marker-assisted selection. Heading date, expression of the downstream genes (*Ehd1*, *Hd3a*, *RFT1*), and some agronomic traits were investigated. 【Result】Under natural long day and natural short day conditions, either *Ghd7* or *DTH8* independently repressed the expression of *Ehd1*, *Hd3a* and *RFT1* genes, and delayed heading. Both *Ghd7* and *DTH8* could significantly promoted plant height,

收稿日期: 2021-09-30 网络首发时间: 2022-03-10 13:11:12
网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20220309.1128.002.html>
作者简介: 肖冬冬, 硕士研究生, 主要从事水稻抽穗期的改良与应用研究, E-mail: 2919349944@qq.com; 通信作者: 郭晶心, 研究员, 博士, 主要从事水稻抽穗期分子作用机制的基础研究以及利用生物技术精准调控水稻抽穗期的应用研究, E-mail: jingxinguo@scau.edu.cn
基金项目: 国家自然科学基金 (31871596, 31921004)

number of primary branches, number of secondary branches, spikelets of main panicle and 1 000-grain weight. The *Ghd7/DTH8* combination strongly suppressed the expression of the *Ehd1-Hd3a/RFT1* pathway, and largely delayed heading. It also played a significant role to promote some agronomic traits, including plant height, number of primary branches, number of secondary branches, spikelets of main panicle and 1 000-grain weight. 【Conclusion】 *Ghd7/DTH8* synergistically represses the expression of the florigen genes, suppresses heading, and positively regulates some yield-related traits regardless of day-length, which is of great value for high yield breeding and genetic improvement of rice.

Key words: Rice; Heading date; *Ghd7*; *DTH8*; Gene regulation; Agronomic trait

抽穗期是水稻重要的农艺性状, 决定水稻品种对栽培季节和地域的适应性, 与产量密切相关。水稻抽穗期受光照和温度等外部因素调控, 同时也受内在信号如苗龄和激素的作用^[1]。水稻抽穗期主要由 3 个因素决定: 基本营养生长性、感光性和感温性。水稻是典型的短日植物, 短日促进抽穗, 长日延迟抽穗^[2]。

在长日植物拟南芥中, 光周期对开花的主要调控途径是 *GI-CO-FT*^[3]。 *GI* 是生物钟构成基因, *CO* 是核心转录因子, 长日信号经由 *GI* 等促进 *CO* 在黄昏特异积累, 激活成花素基因 *FT* 的转录。 *FT* 蛋白由叶片转运到茎顶端分生组织促进成花转换^[4]。

水稻中成花素基因是 *Hd3a* 和 *RFT1*, 是拟南芥 *FT* 的同源基因^[5-7]。 *Ehd1* 是水稻特有的 1 个抽穗基因, 编码含 341 个氨基酸的 B 型反应调节子, 激活 *Hd3a* 和 *RFT1* 的表达, 促进抽穗^[8-9]。有研究表明, 水稻中存在长日抑制途径 (*Hd1/Ghd7/DTH8*)–*Ehd1-Hd3a/RFT1* 和短日促进途径 *Hd1-Hd3a/RFT1*, 协同调控抽穗期和感光性^[10]。

在 *Ehd1*、*Hd3a/RFT1* 的上游, 存在众多调控基因。其中, 水稻感光性的核心基因有 *Hd1*、*Ghd7*、*DTH8*、*OsPRR37*。 *Hd1* 是克隆的第 1 个水稻抽穗期基因, 是拟南芥 *CO* 的同源基因, 蛋白含有 B-box 和 CCT 结构域。在一定的遗传背景中, *Hd1* 具有双重作用, 长日抑制、短日促进抽穗, 但 *Hd1* 的转录水平在长、短日下并没有明显差异^[11-13]。 *Ghd7* 为单子叶植物特有, 编码含有 CCT 结构域的蛋白, 长日下特异表达, 一因多效, 对水稻株高、抽穗和穗粒数有显著促进作用^[14]。 *DTH8* 编码 CCAAT-Box-Binding 转录因子中 NF-YB(也称为 HAP3) 亚基, 长日下依赖 *Ghd7* 促进株高、抽穗和穗粒数^[15-17]。 *OsPRR37* 编码 PSEUDO-RESPONSE REGULATOR 7 的类似蛋白, 也含有 CCT 结构域, 长日下抑制抽穗提高产量^[18-21]。

研究表明, *Hd1*、*Ghd7*、*DTH8* 和 *OsPRR37* 之间存在复杂的遗传和分子互作^[10, 22-23]。无论日长如何, *Hd1*(在 *ghd7/dth8/OsPRR37* 背景中) 促进抽穗, *Ghd7*(在 *hd1/dth8/OsPRR37* 背景中) 抑制抽穗。长日下 *Hd1*、*Ghd7* 和 *DTH8* 存在双基因和三基因的互作, 形成不同的蛋白抑制复合体, 从而部分抑制(双基因组合)或完全沉默(三基因组合)*Ehd1-Hd3a/RFT1* 开花通路, 使水稻不同程度地延迟抽穗或不抽穗。短日下, *Ghd7* 的表达水平很低, *Hd1* 原本促进 *Hd3a/RFT1* 表达的作用与抑制复合体的作用存在竞争, 不同程度地促进抽穗。其中, 无论日长如何, *Ghd7* 和 *DTH8* 组合抑制抽穗作用更强。

以往对 *Ghd7* 和 *DTH8* 的研究是基于其他核心基因有功能的遗传背景, 为在不同的遗传背景中, 特别是在 *hd1* 和 *prrr37* 无功能的 (*hd1/prrr37*) 背景中, 深入了解 *Ghd7* 和 *DTH8* 调控水稻抽穗和农艺性状的遗传互作关系, 本研究鉴定了 1 个 *hd1/prrr37* 背景下 *Ghd7* 和 *DTH8* 的双基因分离群体, 发现 *Ghd7* 和 *DTH8* 单基因均能抑制抽穗且不受日长影响。 *DTH8* 单基因仅微弱抑制抽穗, 却能显著增加二级枝梗数和主穗粒数。在长、短日下, *Ghd7* 和 *DTH8* 双基因组合更强烈抑制 *Ehd1-Hd3a/RFT1* 的表达, 延迟抽穗, 并且能够明显增加水稻株高、一级枝梗数、主穗粒数等农艺性状, 具有重要的应用价值。

1 材料与方法

1.1 供试材料

华南农业大学陈志强教授团队培育了恢复系‘航恢 1179’、不育系‘宁 A’及杂交稻‘宁优 1179’(粤审稻 2014044)^[24-25], 本研究从‘宁优 1179’后代中筛选培育了 1 个 F₆ 群体 (*hd1/prrr37* 背景, *Ghd7* 和 *DTH8* 双基因分离)(简称为 *GgDd*), 并从中鉴定得到 4 种基因型纯合材料 *ggdd*、*ggDD*、*GGdd*、*GGDD*。材料种植于广东省广州市天河区华南农业大学教学科研基地, 按水稻常规方法栽培管理。

在广州自然短日和自然长日条件下种植双基因分离群体。

1.2 试验方法

1.2.1 分子标记鉴定 采用王慧娜等^[26]的方法提取水稻叶片基因组 DNA。利用亲本基因组中 *Hd1*、*Ghd7*、*DTH8* 和 *OsPRR37* 的序列差异设计分子标记引物 (表 1), 通过 PCR 和聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测, 鉴定 F₂~F₆ 个体基因型。

表 1 分子标记引物序列

Table 1 The primer sequences of molecular markers

引物名称	引物序列(5'→3')
Primer name	Primer sequence (5'→3')
Ghd7-F	CAAAGGGGGTGTCTCTATG
Ghd7-R	GTTGCTCGTCCTACATGTGC
DTH8-1F	GTCACACTCACACCATGGTCATCA
DTH8-2F	ACTGCAAACCATGTGTAGGACG
DTH8-R	TCGCTCGATAACGACAACAGCA
PRR37-F	ACAAGGTTCTAATGGTAGTAGC
PRR37-R	AACAGCTGAGGGTGACATTACT
Hd1-F	ACGTCAATCAAAATTACCT
Hd1-R	GTCCTTAACTTTACACCGA

1.2.2 表型调查 广州 (23.13°N, 113.27°E) 自然长日 (Natural long day, NLD: 4 月下旬到 7 月中旬, 包含了 1 h 曙暮光和日出到日落的时间, 总计大于 13.5 h) 和自然短日 (Natural short day, NSD: 8 月中旬到 10 月, 包含了 1 h 曙暮光和日出到日落的时间, 总计小于 13.5 h), 以单株为单位每天调查抽穗期, 本研究以该株主穗抽出 1 cm 作为始穗的标准, 以种子萌动到始穗的天数作为抽穗期。水稻材料成熟后, 考察记录株高、穗长、一级枝梗数、二级枝梗数、主穗粒数、千粒质量、分蘖数等农艺性状。

1.2.3 遗传效应的计算 以双基因无功能型植株 *ggdd* 为参照, 计算 *Ghd7*、*DTH8* 和两者组合的净遗传效应^[10]。单基因的净遗传效应计算公式: $e(ggDD) = D(ggDD) - D(ggdd)$ 、 $e(GGdd) = D(GGdd) - D(ggdd)$, 双基因的净遗传效应计算公式: $e(GGDD) = D(GGDD) - D(ggdd) - e(ggDD) - e(GGdd)$; 式中, D 代表平均抽穗期。

1.2.4 感光指数的计算 以双基因无功能型植株 *ggdd* 为参照, 计算不同功能型组合感光指数 (Photoperiod sensitivity index, PSI)^[10], 用 $mPSI_b$ 和

$mPSI_c$ 分别计算同一生长季节和不同生长季节的感光指数。以 *DTH8* 为例, $mPSI_b(ggDD) = (D_{ALD} - D_{NSD}) / D_{NSD}$, $mPSI_c(ggDD) = (D_{NLD} - D_{NSD}) / D_{NSD}$, 同样计算其他基因型组合的感光指数; 式中, ALD 代表人工长日, NLD 代表自然长日, NSD 代表自然短日。

1.2.5 qRT-PCR 表达检测 在自然短日和人工长日 (Artificial long day, ALD: 自然长日同期种植材料, 并在黄昏人工加光, 使光照时间维持在 14.0~14.5 h) 下种植 4 基因型纯合材料 *ggdd*、*ggDD*、*GGdd*、*GGDD*, 苗龄 60 d, 早上 8:00 取样, 取每个单株的倒一至倒三叶上半段, 共取 3 次生物学重复。采用 Trizol 法提取植物总 RNA, 经 DNaseI 处理后用 Oligo d(T) 反转成 cDNA, 用目标基因特异引物进行 PCR 反应, 以 *Actin* 作为内参基因 (表 2), 通过计算 $2^{-\Delta Ct}$ 值来确定目标基因在 4 种纯合型材料中的相对表达量^[10]。

表 2 qRT-PCR 引物序列

Table 2 The sequences of qRT-PCR primers

引物名称	引物序列(5'→3')
Primer name	Primer sequence (5'→3')
Actin1-3A-R	ACCACAGGTAGCAATAGGTA
Actin1-5B-F	CACATTCCAGCAGATGTGG
Ehd1-RT-F	GGATGCAAGGAAATCATGGA
Ehd1-RT-R	AATCCCATCGGAAATCTTGG
RFT1-RT-F	GTCGCCACCGTCTACTTCAA
RFT1-RT-R	ATACAGCTAGGCAGGTCTCAG
Hd3a-RT-F	GTCTACCCCTAGCTAACGATGA
Hd3a-RT-R	CACCATCATATATATGTTGTGTGTCG

1.2.6 对农艺性状贡献度的计算 以双基因无功能型植株 *ggdd* 为参照, 计算不同功能型组合对农艺性状的贡献度 (Contribution degree, CD)。以 *DTH8* 为例, $CD_{DTH8}/\% = (AT_{ggDD} - AT_{ggdd}) / AT_{ggdd}$, 式中, AT 表示各农艺性状 (Agronomic trait) 的平均值, 同样方法计算其他基因型组合的贡献度。

2 结果与分析

2.1 在 *hd1/prr37* 背景中, *Ghd7* 和 *DTH8* 双基因分离群体的构建和抽穗表型

已有研究表明, *Ghd7* 和 *DTH8* 组合抑制抽穗作用更强^[22]。为了深入揭示 *Ghd7* 和 *DTH8* 调控水稻抽穗和农艺性状的遗传互作关系, 本研究构建了 1 个 *Ghd7* 和 *DTH8* 双基因分离的重组自交群体

(*hd1/prr37* 背景, 详见“1.1”)。‘宁 A’ 携带功能型 *Hd1*、*DTH8* 和无功能型 *ghd7*、*prr37*, ‘航恢 1179’ 携带无功能型 *hd1*、*dth8* 和功能型 *Ghd7*、*PRR37*。本研究利用分子标记, 在 ‘宁 A’ 和 ‘航恢 1179’ 的 F_2 代中选择 *hd1/prr37* 纯合无功能、*Ghd7* 和 *DTH8* 为杂合的植株 (基因型为 *Ghd7ghd7DTH8dth8*, *GgDd*), 自交留种并持续选择到 F_5 , 从 F_5 中选择 *GgDd* 基因型单株自交留种, 此

F_6 群体用于下一步研究 (图 1)。

我们在广州自然短日和自然长日条件下分别种植了 116 株和 188 株 F_6 群体, 观察植株的抽穗期并进行了分子标记检测。对植株的基因型进行卡方检验, 群体中 *Ghd7* 和 *DTH8* 独立分配, 分离符合孟德尔双基因分离遗传定律 $9:3:3:1$, $\chi^2_{(9:3:3:1)} < \chi^2_{0.05, df=3} = 7.82$, 无显著差异 (表 3)。

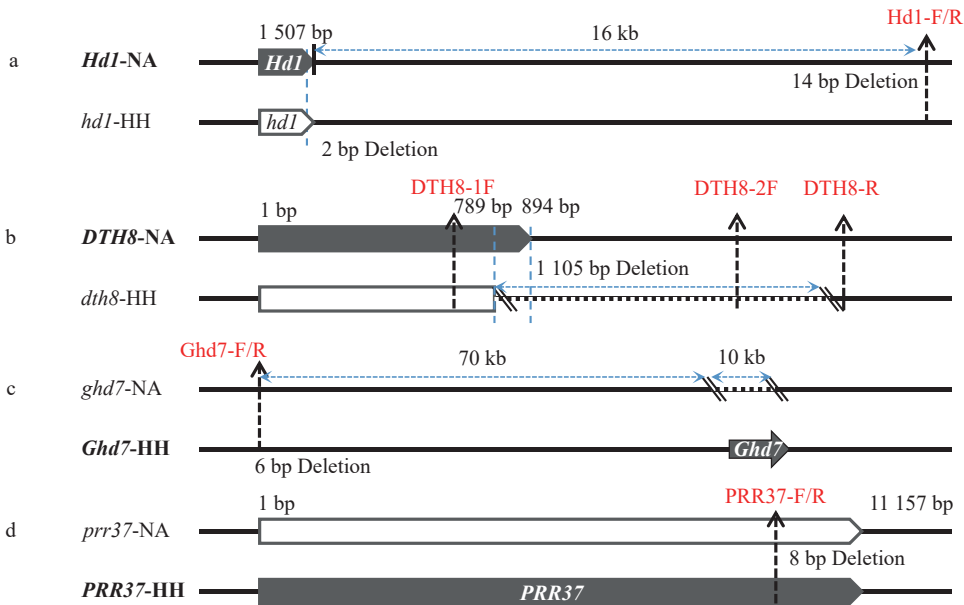


图 1 ‘宁 A’(NA) 与 ‘航恢 1179’(HH) 4 个抽穗基因的结构和分子标记

Fig. 1 Structures and molecular markers of four heading date genes in ‘Ning A’ (NA) and ‘Hanghui 1179’ (HH)

表 3 F_6 群体基因型的卡方检验

Table 3 The chi-square test of plant genotypes from F_6 population

日长 ¹⁾ Day-length	<i>G_D_</i>	<i>ggD_</i>	<i>G_dd</i>	<i>ggdd</i>	$\chi^2_{(9:3:3:1)}$
NLD	113	34	31	10	1.31
NSD	70	19	20	7	0.84

1) NLD: 自然长日, NSD: 自然短日
1) NLD: Natural long day, NSD: Natural short day

在自然长日下, *Ghd7* 和 *DTH8* 双基因分离群体的抽穗期在 82~118 d 之间呈较连续分布, 110 d 为抽穗高峰; *ggdd* 和 *ggD_* (代表 *DD* 纯合或 *Dd* 杂合) 基因型植株早抽穗, *G_dd* 型抽穗稍晚, 同时携带功能型 *G_D_* 的植株抽穗最晚 (图 2a)。在自然短日下, 分离群体的抽穗期分布在 66~97 d 之间, 90 d 为抽穗高峰; *Ggdd*、*G_dd* 和 *ggDD* 基因型的植株抽穗明显早于 *G_D_* 植株 (图 2b)。在 *Ghd7* 和 *DTH8* 双基因分离的群体中, 长、短日下二者组合植株抽穗最晚。我们从 F_6 中筛选出 4 种基因型纯合的植株自交留种, 后续用这些纯合体研究 *Ghd7* 和 *DTH8* 的遗传互作和调控机制。

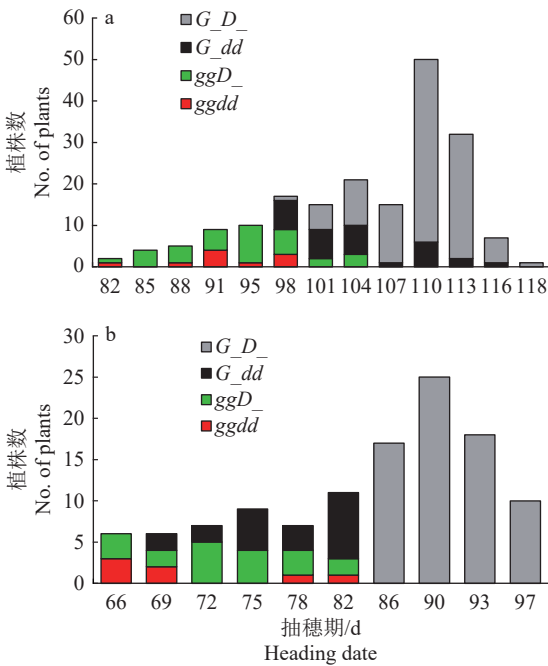


图 2 自然长日 (a)、自然短日 (b) 下 *Ghd7*、*DTH8* 双基因分离群体抽穗分布

Fig. 2 The distribution of heading date in *Ghd7*, *DTH8* segregating population under natural long day (a) natural short day (b) conditions

2.2 *Ghd7* 和 *DTH8* 4 种基因型组合材料的抽穗期、感光性、遗传效应及其对下游基因的调控

我们在广州自然短日、同期人工长日以及自然长日下种植了 4 种纯合型植株 *ggdd*、*ggDD*、*GGdd* 和 *GGDD*。观察材料的抽穗期，计算基因的净遗传效应和感光指数。

我们对比分析了 *Ghd7* 和 *DTH8* 单基因以及组合对抽穗的效应。在自然长日、人工长日和自然短日 3 种日长下，*ggDD* 型植株分别比 *ggdd* 型晚抽穗 6、5 和 6 d，表明 *DTH8* 有较弱的抑制抽穗的作用。*GGdd* 型植株比 *ggdd* 型抽穗晚，*Ghd7* 在 3 种日长条件下分别抑制抽穗 17、10 和 13 d。*GGDD* 型植株在各种日长条件下抽穗均为最晚，比 *ggdd* 型分别晚 31、24 和 29 d (图 3、图 4)。我们通过计算净遗传效应 (*e*) 来分析 *Ghd7* 与 *DTH8* 组合对抽穗期的影响，结果表明，*Ghd7* 和 *DTH8* 组合抑制抽

穗的作用，在扣除了 *Ghd7* 和 *DTH8* 单基因的效应后，还有 8~10 d；这说明二者组合后的效应不是简单的加性关系。*DTH8* 对抽穗的影响较小，和 *Ghd7* 组合在一起后二者产生了更高阶的互作，表现出更强的抑制作用 (表 4)。感光指数用来衡量和比较材料的抽穗期对日长的敏感程度，数值越大，感光性越强^[10]。4 种基因型材料 *ggdd*、*ggDD*、*GGdd* 和 *GGDD*，在同一生长季节人工长日和自然短日的抽穗期，测得的感光指数 (*mPSI_b*) 分别是 0.08、0.06、0.03 和 0；在不同生长季节自然长日和自然短日的抽穗期，测得的感光指数 (*mPSI_c*) 分别是 0.19、0.17、0.20 和 0.15。由于本研究中材料在自然短日和人工长日下的抽穗期是在同一生长阶段观察到的，同一生长季节感光指数更准确。结果表明在 *hd1/prr37* 背景中，单基因 *Ghd7*、*DTH8* 以及二者组合株系的感光性弱。

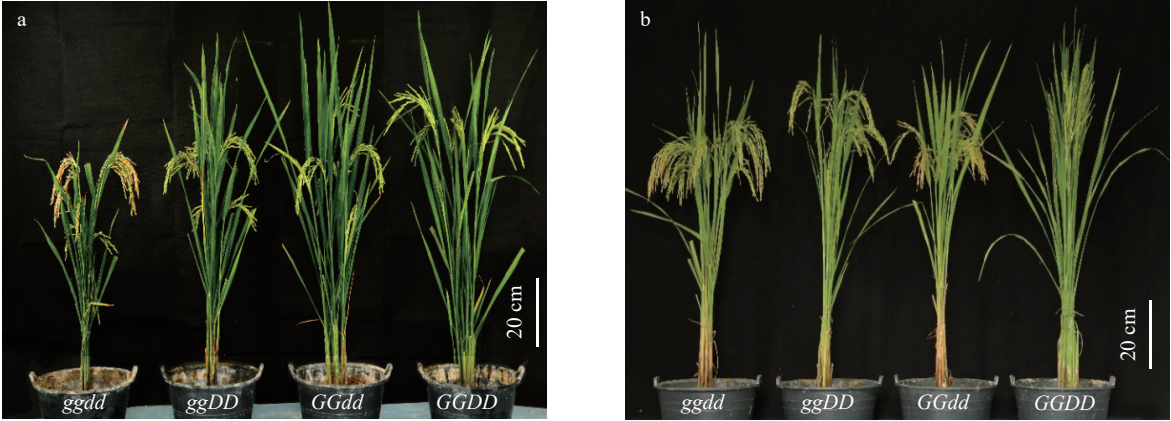
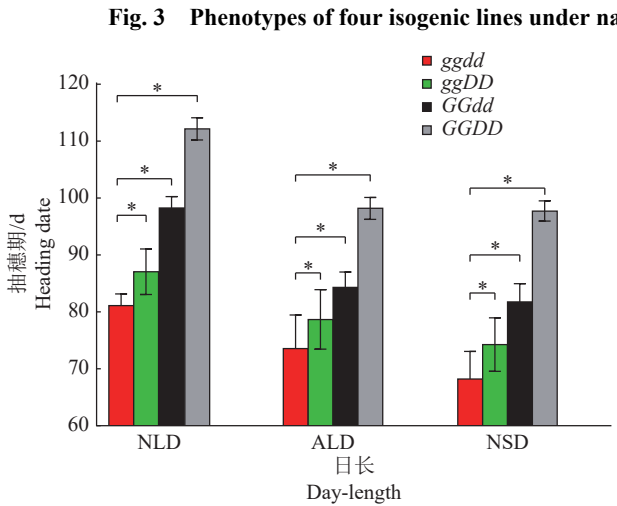


图 3 4 种纯合型株系在自然长日 (a) 和自然短日 (b) 下的表型



“*”表示在 $P < 0.01$ 水平差异显著 (Duncan’s 法); NLD: 自然长日, ALD: 人工长日, NSD: 自然短日
“*” indicates significant difference at $P < 0.01$ level (Duncan’s method); NLD: Natural long day, ALD: Artificial long day, NSD: Natural short day

图 4 4 种纯合型株系在不同日长条件下的抽穗期
Fig. 4 Heading dates of four isogenic lines under different day-length conditions

为了研究 *Ghd7* 和 *DTH8* 不同组合对下游基因的调控，我们利用 qRT-PCR 检测 4 种纯合基因型材料的叶片 (自然短日和人工长日下，苗龄 60 d，早上 8:00 取样) 中 *Ehd1*、*Hd3a*、*RFT1* 的表达。我们结合遗传效应来分析表达数据，*GGDD* 型植株比 *ggDD* 型抽穗晚，*Ghd7* 在长、短日都下调 *Ehd1*、*Hd3a* 和 *RFT1* 的表达，抑制抽穗；*Ghd7* 和 *DTH8* 的组合在长、短日下更明显地抑制 *Ehd1*、*Hd3a* 和 *RFT1* 的表达，对抽穗的抑制作用更强；*DTH8* 在长、短日下微弱抑制抽穗，但对下游基因的调控却没有表现出相应的规律 (图 5a~5f)。

2.3 *Ghd7* 和 *DTH8* 4 种基因型组合材料的农艺性状

已有的研究表明 *Ghd7* 和 *DTH8* 是多效性基因，调控抽穗期、分蘖数、千粒质量等^[14, 16]。我们系统考察了自然短日和自然长日下 *Ghd7* 与 *DTH8* 的 4 种组合材料的农艺性状，包括株高、穗长、一级枝梗

表 4 不同日长条件下 *Ghd7*、*DTH8* 对抽穗的净遗传效应 (e)¹⁾

Table 4 Net genetic effect (e) on heading date of *Ghd7* and *DTH8* under different day-length conditions

基因型 Genotype	单基因效应 Monogenic effect			双基因效应 Digenic effect		
	自然长日	人工长日	自然短日	自然长日	人工长日	自然短日
	Natural long day	Artificial long day	Natural short day	Natural long day	Artificial long day	Natural short day
<i>ggDD</i>	+5.96*	+5.12*	+6.05*			
<i>GGdd</i>	+17.16*	+10.76*	+13.57*			
<i>GGDD</i>				+7.96*	+8.75*	+9.89*

1) “+” 表示基因对抽穗的抑制作用, “*” 表示在 $P < 0.01$ 水平影响显著(Duncan’s法)
1) “+” indicates the delay effect of gene on heading, “*” indicates significant effect at $P < 0.01$ level (Duncan’s method)

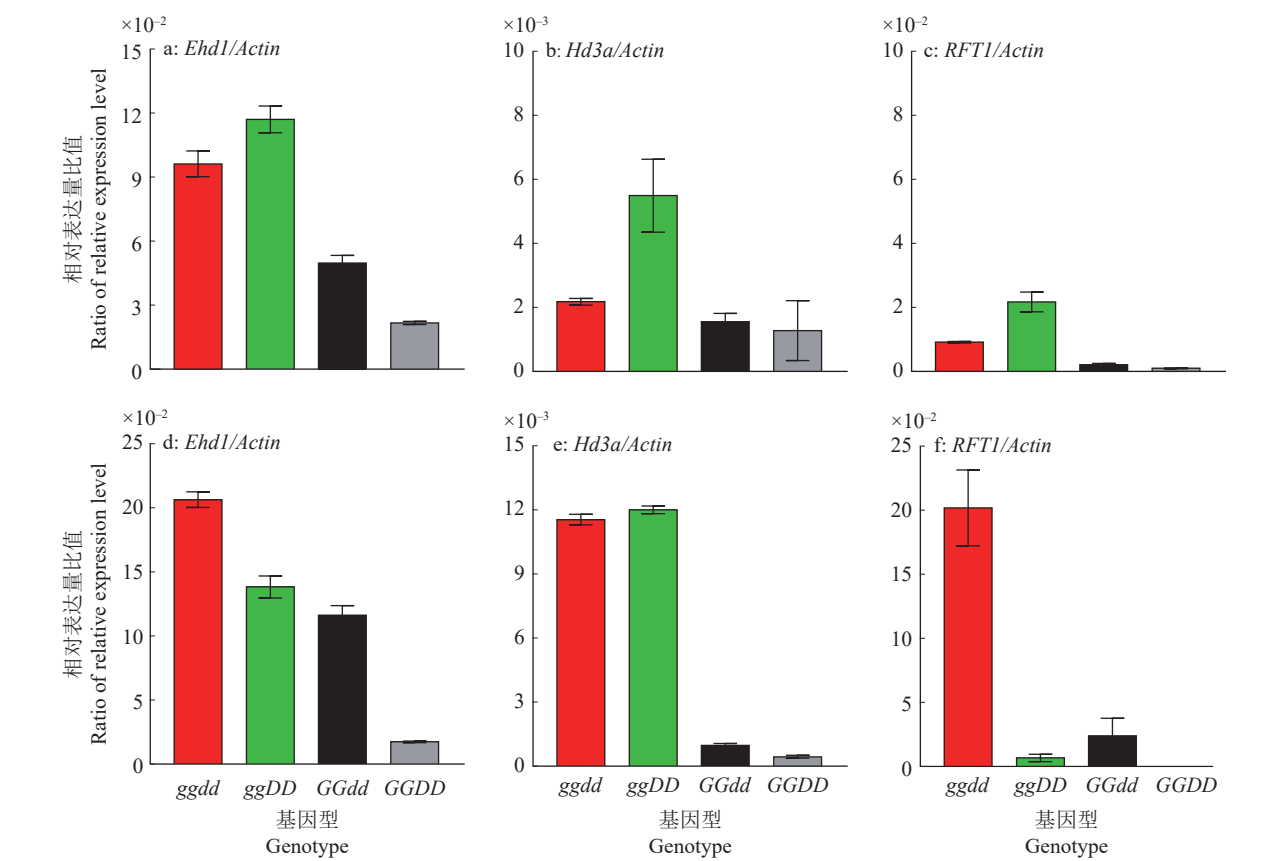


图 5 4 种纯合型株系人工长日 (a~c)、自然短日 (d~f) 下 *Ehd1*、*Hd3a* 和 *RFT1* 的表达

Fig. 5 Expression of *Ehd1*, *Hd3a* and *RFT1* in the four isogenic lines under artificial long day (a~c) and natural short day (d~f) conditions

数、二级枝梗数、主穗粒数, 千粒质量和分蘖数。以 *ggdd* 基因型为参照, 对农艺性状进行单因素方差分析; 总体上, 无论日长如何, *Ghd7*、*DTH8* 以及双基因组合都能不同程度地促进株高、穗长、一级枝梗数、二级枝梗数、主穗粒数和千粒质量, 但对分蘖数没有显著影响(表 5)。

以 *ggdd* 为参照, 我们计算了 *Ghd7*、*DTH8* 及组合对农艺性状的贡献度(图 6a、6b)。*ggDD* 材料相比 *ggdd*, 在自然长日下, *DTH8* 对二级枝梗数和主穗粒数的促进作用最强, 贡献度分别为

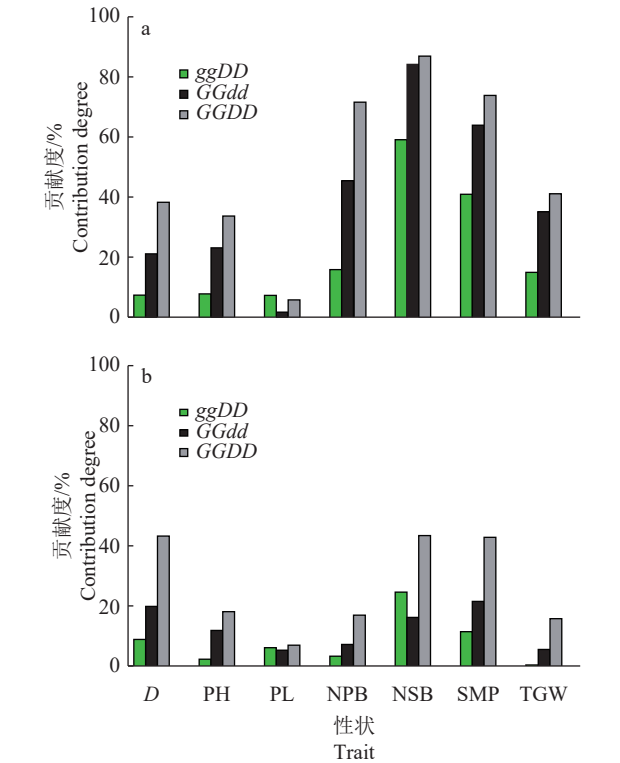
59.11% 和 40.93%; 在自然短日下, *DTH8* 对二级枝梗数的促进作用最强, 贡献度为 24.61%。虽然 *DTH8* 对抽穗的作用较弱, 但其单基因长、短日下均能显著地促进二级枝梗数。*GGdd* 材料相比 *ggdd*, 在自然长日下, *Ghd7* 对二级枝梗数和主穗粒数的促进作用最强, 贡献度分别为 84.19% 和 63.98%; 在自然短日下, *Ghd7* 对主穗粒数的促进作用最强, 贡献度为 21.56%。*DTH8* 和 *Ghd7* 单基因对农艺性状的作用在长日下明显高于短日下。在长、短日下, *Ghd7* 和 *DTH8* 组合对抽穗期的调

表 5 4 种纯合型株系自然长日、自然短日下的农艺性状¹⁾

Table 5 Agronomic traits of four isogenic lines under natural long day and natural short day conditions

日长 Day-length	基因型 Genotype	株高/cm Plant height	穗长/cm Panicle length	一级枝梗数 No. of primary branches	二级枝梗数 No. of secondary branches	主穗粒数 Spikelets of main panicle	千粒质量/g 1 000-grain weight	分蘖数 Tiller number
自然长日 Natural long day	ggdd	88.10±2.59d	26.14±1.48b	8.80±0.98d	29.10±3.73d	182.70±18.04d	18.73±0.84d	5.00±1.18a
	ggDD	95.00±3.32c	28.04±1.31a	10.18±0.87c	46.18±5.78c	229.18±28.23c	18.08±0.78c	5.70±1.10a
	GGdd	108.50±4.84b	26.59±0.92ab	12.80±1.17b	53.60±3.72ab	266.80±19.92ab	18.26±0.81ab	5.00±0.63a
	GGDD	117.80±1.99a	27.66±1.17ab	18.10±0.70a	54.40±5.05a	282.90±23.29a	22.18±1.02a	5.00±0.77a
自然短日 Natural short day	ggdd	84.40±3.77d	27.22±2.03c	11.18±1.62d	43.60±5.28c	240.40±31.76c	22.93±1.97d	4.70±1.00a
	ggDD	86.33±10.39c	28.89±1.91ab	11.67±1.49c	54.33±7.67b	268.00±55.26b	23.01±1.55c	5.89±1.63a
	GGdd	94.44±3.89b	28.67±1.05bc	12.11±1.29b	50.67±6.85b	292.22±61.01b	24.18±0.95b	5.50±0.99a
	GGDD	99.67±3.89a	29.11±1.65ab	13.22±1.31a	62.56±3.02a	343.56±22.12a	26.56±1.28a	5.67±0.68a

1)相同日长条件下同列数据后不同小写字母表示不同基因型间在 $P < 0.05$ 水平差异显著(Duncan's法)
1) Different lowercase letters in the same column under the same day-length condition indicate significant differences at $P < 0.05$ level among different genotypes (Duncan's method)



D: 平均抽穗期, PH: 株高, PL: 穗长, NPB: 一级枝梗数, NSB: 二级枝梗数, SMP: 主穗粒数, TGW: 千粒质量
D: Average heading date, PH: Plant height, PL: Panicle length, NPB: No. of primary branches, NSB: No. of secondary branches, SMP: Spikelets of main panicle, TGW: 1 000-grain weight

图 6 自然长日 (a) 和自然短日 (b) 下 *Ghd7*、*DTH8* 及组合对抽穗期和农艺性状的贡献度
Fig. 6 Contribution degree of *Ghd7*, *DTH8* and their combination on heading date and agronomic traits under natural long day (a) and natural short day (b) conditions

控存在更高阶的互作,对株高、一级枝梗数、主穗粒数也有明显的增强效应,在农业生产中有

重要的应用价值。

3 讨论与结论

本研究培育了 *hd1/prr37* 背景下 *Ghd7*、*DTH8* 双基因分离的群体,深入揭示了无论日长如何 *Ghd7* 和 *DTH8* 单基因均能抑制抽穗, *Ghd7* 抑制抽穗更强。 *Ghd7* 和 *DTH8* 之间存在遗传互作,二者更显著抑制 *Ehd1-Hd3a/RFT1* 通路,延迟抽穗。二者的关系在 *Hd1/OsPRR37* 背景下同样如此^[10, 27-28],表明它们的互作非常稳定,不受遗传背景和日长的影响。酵母双杂交以及 pull-down 验证了 *Ghd7* 和 *DTH8* 存在分子互作,通过 BiFC 证明了互作发生在细胞核^[29]。研究还发现, *DTH8* 可以与 NF-YC2 形成异源二聚体,3 个 CCT 亚家族的 *Ghd7*、*PRR37*、*Hd1* 分别可以与 *DTH8*/*OsNF-YC2* 形成三元复合物,进而能够结合特定的 DNA 序列^[30]。因此,在充分的遗传研究的基础上,可以更为深入地研究 *Ghd7*/*DTH8* 复合体作用的分子机制,包括复合物的其他组分,如直接结合的 DNA 序列和调控的下游基因等。

在一定范围内,水稻抽穗期和产量呈现显著正相关,抽穗期越长,积累的生物量越多,产量越高^[21, 31]。有趣的是,我们发现 *DTH8* 单基因微弱抑制抽穗,却能显著增加二级枝梗数和主穗粒数。在长、短日下 *Ghd7* 和 *DTH8* 的组合使抽穗期延长,能最大限度地利用光热资源,积累和转运更多的光合产物,明显增加水稻株高、一级枝梗数、主穗粒数等农艺性状。尽管长日下 *Ghd7* 和 *DTH8* 双基因纯合抽穗期较长,但对杂交稻来说,双基因为杂合状态,抽穗相对纯合型早一些,并且利用了二者对农艺性状的

协同促进作用, 因此具有重要的应用价值。这同时表明抽穗期基因以及不同组合调控了水稻整体的生长发育, 但它们是直接在穗部发挥作用, 还是通过调控成花素间接调控农艺性状及产量, 相关的机制值得深入研究。

参考文献:

[1] SONG Y H, SHIM J S, KINMONTH-SCHULTZ H A, et al. Photoperiodic flowering: Time measurement mechanisms in leaves[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2015, 66(1): 441-464.

[2] YOSHITAKE Y, YOKOO T, SAITO H, et al. The effects of phytochrome-mediated light signals on the developmental effect of photoperiod sensitivity in rice[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 7709. doi: 10.1038/srep07709.

[3] SONG Y H, ITO S, IMAIZUMI T. Similarities in the circadian clock and photoperiodism in plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(5): 594-603.

[4] CORBESIER L, VINCENT C, JANG S, et al. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*[J]. *Science*, 2007, 316(5827): 1030-1033.

[5] TAMAKI S, MATSUO S, WONG H L, et al. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice[J]. *Science*, 2007, 316(5827): 1033-1036.

[6] KOMIYA R, IKEGAMI A, TAMAKI S, et al. *Hd3a* and *RFT1* are essential for flowering in rice[J]. *Development*, 2008, 135(4): 767-774.

[7] 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[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97(1/2): 37-44.

[8] 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*[J]. *Genes & Development*, 2004, 18(8): 926-936.

[9] ENDO-HIGASHI N, IZAWA T. Flowering time genes heading date 1 and early heading date 1 together control panicle development in rice[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2011, 52(6): 1083-1094.

[10] ZONG W, REN D, HUANG M, et al. Strong photoperiod sensitivity is controlled by cooperation and competition among *Hd1*, *Ghd7* and *DTH8* in rice heading[J]. *The New Phytologist*, 2021, 229(3): 1635-1649.

[11] ZHANG Z, HU W, SHEN G, et al. Alternative functions of *Hd1* in repressing or promoting heading are determined by *Ghd7* status under long-day conditions[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 5388. doi: 10.1038/s41598-017-05873-1.

[12] 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*[J]. *The Plant Cell*, 2000, 12(12): 2473-2484.

[13] TAKAHASHI Y, TESHIMA K M, YOKOI S, et al. Variations in *Hd1* proteins, *Hd3a* promoters, and *Ehd1* expression levels contribute to diversity of flowering time in cultivated rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(11): 4555-4560.

[14] XUE W, XING Y, WENG X, et al. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(6): 761-767.

[15] WEI X, XU J, GUO H, et al. *DTH8* suppresses flowering in rice, influencing plant height and yield potential simultaneously[J]. *Plant Physiology*, 2010, 153(4): 1747-1758.

[16] YAN W, WANG P, CHEN H, et al. A major QTL, *Ghd8*, plays pleiotropic roles in regulating grain productivity, plant height, and heading date in rice[J]. *Molecular Plant*, 2011, 4(2): 319-330.

[17] FUJINO K, YAMANOUCHI U, YANO M. Roles of the *Hd5* gene controlling heading date for adaptation to the northern limits of rice cultivation[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(3): 611-618.

[18] YAN W, LIU H, ZHOU X, et al. Natural variation in *Ghd7.1* plays an important role in grain yield and adaptation in rice[J]. *Cell Research*, 2013, 23(7): 969-971.

[19] KOO B H, YOO S C, PARK J W, et al. Natural variation in *OsPRR37* regulates heading date and contributes to rice cultivation at a wide range of latitudes[J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(6): 1877-1888.

[20] LIU T, LIU H, ZHANG H, et al. Validation and characterization of *Ghd7.1*, a major quantitative trait locus with pleiotropic effects on spikelets per panicle, plant height, and heading date in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2013, 55(10): 917-927.

[21] GAO H, JIN M, ZHENG X M, et al. Days to heading 7, a major quantitative locus determining photoperiod sensitivity and regional adaptation in rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(46): 16337-16342.

[22] LI X, LIU H, WANG M, et al. Combinations of *Hd2* and *Hd4* genes determine rice adaptability to Heilongjiang Province, northern limit of China[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2015, 57(8): 698-707.

[23] FUJINO K, YAMANOUCHI U, NONOUE Y, et al. Switching genetic effects of the flowering time gene *Hd1* in LD conditions by *Ghd7* and *OsPRR37* in rice[J]. *Breeding Science*, 2019, 69(1): 127-132.

[24] 刘永柱, 王慧, 梁克勤, 等. 优质抗稻瘟病粳型水稻不育系宁 A 的选育与应用[J]. *杂交水稻*, 2014, 29(5): 10-11.

[25] 肖武名, 罗立新, 王慧, 等. 抗稻瘟病水稻恢复系航恢 1179 的选育及应用[J]. *杂交水稻*, 2017, 32(4): 18-22.

[26] 王慧娜, 初志战, 马兴亮, 等. 高通量 PCR 模板植物基因组 DNA 制备方法[J]. *作物学报*, 2013, 39(7): 1200-1205.

[27] ZHU S, WANG J, CAI M, et al. The *OsHAP1-DTH8-Hd1* complex functions as the transcription regulator to repress heading date in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(3): 552-567.

[28] ZHANG B, LIU H, QI F, et al. Genetic interactions among *Ghd7*, *Ghd8*, *OsPRR37* and *Hd1* contribute to large variation in heading date in rice[J]. *Rice*, 2019, 12: 48. doi: 10.1186/s12284-019-0314-x.

[29] WANG P, GONG R, YANG Y, et al. *Ghd8* controls rice photoperiod sensitivity by forming a complex that interacts with *Ghd7*[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 462. doi: 10.1186/s12870-019-2053-y.

[30] CAI M, CHEN S, WU M, et al. Early heading 7 interacts with *DTH8*, and regulates flowering time in rice[J]. *Plant Cell Reports*, 2019, 38(5): 521-532.

[31] LI F, XIE J, ZHU X, et al. Genetic basis underlying correlations among growth duration and yield traits revealed by GWAS in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 650. doi: 10.3389/fpls.2018.00650.