

· 研究报告 ·

## 一个新的水稻花器官突变体的鉴定和基因定位

罗伟雄<sup>1</sup>, 李明<sup>2</sup>, 陈军<sup>1</sup>, 罗琼<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>云南农业大学农业生物多样性与病虫害控制教育部重点实验室/云南省植物病理重点实验室, 昆明 650201

<sup>2</sup>中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101

**摘要** 在水稻(*Oryza sativa*)品种台中65的组培后代中发现一个花器官发育异常突变体*flower organ number 6 (fon6)*, 其主要表型为: 双子房, 多柱头, 7–8枚雄蕊。遗传分析表明, 该突变表型由一对隐性基因控制。以该突变体与籼稻3037杂交的F<sub>2</sub>代分离群体作为定位群体, 利用STS标记将与突变性状相关的基因定位于第6染色体短臂上STS标记PL4和PL5之间约480 kb的范围内。该研究结果为进一步的基因克隆及功能研究奠定了基础。

**关键词** 双子房, 花器官, 基因定位, 多柱头, 水稻

罗伟雄, 李明, 陈军, 罗琼 (2011). 一个新的水稻花器官突变体的鉴定和基因定位. 植物学报 46, 506–513.

花器官的形成是植物生殖阶段最明显的特征, 花器官发育是植物发育生物学研究的热点。典型双子叶植物的花从外向内依次由花萼、花瓣、雄蕊和雌蕊4轮花器官组成。根据对双子叶模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和金鱼草(*Antirrhinum majus*)花器官同源异型突变体的遗传分析, Coen和Meyerowitz等人在20世纪90年代初提出了花器官特性决定的ABC模型(Coen et al., 1990; Sommer et al., 1990; Coen and Meyerowitz, 1991; Weigel and Meyerowitz, 1994)。

经典的ABC模型认为存在A、B、C三类基因活性控制4轮花器官的发育, 同一组基因控制相邻2轮花器官的发育, 即花的4轮器官花萼、花瓣、雄蕊和心皮分别由A、AB、BC和C组基因决定(Yanofsky et al., 1990; Jack et al., 1992; Mandel et al., 1992; Goto and Meyerowitz, 1994)。之后由于调控胚珠发育的D功能基因和调控内3轮器官发育的E功能基因的鉴定, ABC模型被进一步扩展为ABCDE模型或A–E模型(Colombo et al., 1995; Pelaz et al., 2000; Theißen and Saedler, 2001; 刘建武等, 2004)。

通过对单子叶植物花发育的分子遗传学研究发现, 适合于双子叶植物的ABC模型也基本适用于单子叶植物(吕山花和孟征, 2007; 计慎敏和张大兵,

2007)。在单子叶植物水稻(*Oryza sativa*)中鉴定和克隆了与双子叶植物A、B、C、D、E类基因功能相似的基因, 这些基因大多属于MADS-box基因家族(Hong et al., 2010)。它们包括A类基因OsMADS14、OsMADS15和OsMADS18(Moon et al., 1999; Jeon et al., 2000; Lim et al., 2000; Wang et al., 2010), B类基因OsMADS16(SPW1)、OsMADS2和OsMADS4(Pelaz et al., 2000), C类基因OsMADS3和OsMADS58(Yamaguchi et al., 2006), D类基因OsMADS13和OsMADS21(Lee et al., 2003; Dreni et al., 2007)以及E类基因LHS1(OsMADS1)、OsMADS5、OsMADS7(也称为OsMADS45)、OsMADS8(也称为OsMADS24)和OsMADS34(Nam et al., 2004; Agrawal et al., 2005; Cui et al., 2010; Gao et al., 2010)。

引起花器官发育异常的突变体, 大多属于同源异型突变体, 即一个正常器官的位置产生另一类器官的突变。除同源异型突变体之外, 还有一类重要的花器官突变体是花器官数目变异突变体。这类突变体通常有正常的4轮花器官分化, 但各轮的花器官数目异常, 表现为增多或减少; 这种数目异常有的仅发生在1轮或2轮花器官中, 有的每轮都有异常。在拟南芥中, 利用花器官数目变异突变体, 研究者们对花器官数目控制的分子和遗传机制进行了详细的研究(Suzaki et

收稿日期: 2011-01-27; 接受日期: 2011-04-21

基金项目: 国家自然科学基金(No.30760100/30900885)和云南省应用基础研究计划(No.2007C0063M)

\* 通讯作者。E-mail: qiongbf@yahoo.com.cn

al., 2004)。与双子叶植物相比, 单子叶植物中对该调控机制的研究相对落后。随着近10年来水稻分子遗传学研究的迅速发展, 单子叶植物花器官数目调控机制的研究也取得了长足进展。目前已报道的水稻中引起花器官数目变异的基因主要有 *FLORAL ORGAN NUMBER(FON)1-5*、*FON(t)* 和 *JUMONJI(JMJ)706* 等(Suzaki et al., 2004, 2009; Jiang et al., 2005; Chu et al., 2006; Li et al., 2007; Sun and Zhou, 2008; 张向前等, 2008)。

水稻是一种重要的粮食作物, 其花器官发育正常与否直接影响稻谷产量和稻米品质, 但水稻花发育分子遗传机制的研究却远远落后于双子叶模式植物。因此, 更多水稻花器官突变体的鉴定和基因功能研究不仅有助于进一步揭示水稻及其它单子叶植物花器官发育的分子机制, 同时还将为水稻的分子育种提供重要的理论依据。

我们在粳稻品种台中65的转基因后代中发现了一个花器官发育异常突变体, 其主要表型为: 双子房、多柱头和雄蕊数目增加, 暂定名为 *flower organ number 6 (fon6)*。本研究以该突变体为材料, 进行花器官形态解剖学观察和性状遗传分析, 并对引起该突变性状的基因进行了精细定位, 以期为进一步的基因克隆和深入的功能研究奠定基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 水稻材料

突变体 *fon6* 分离自粳稻 (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*) 品种台中65的组培后代。该突变体经多次自交繁殖和选择, 突变性状稳定。杂交所用的中粳3037和9311由扬州大学农学院提供, 均为花器官发育正常的粳稻 (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) 品种。

### 1.2 突变体的表型观察

抽穗后, 在解剖镜下对野生型及 *fon6* 突变体的穗部、颖花、柱头和雌雄蕊形态进行仔细观察并拍照。随机挑取野生型和突变体的颖花各100朵, 对花器官数目分别进行统计。随机选取来自10个突变体单株的25朵成熟颖花的花药。将每朵颖花的雄蕊置于载玻片上, 用解剖针捣碎后, 小心除去花粉粒以外的其它杂质, 加入1-2滴浓度为1%的  $I_2-KI$  染色后, 于显微镜下观

察并拍照。根据花粉粒的形态、大小和染色程度判断花粉育性, 统计可育比例, 以野生型植株作为对照。

### 1.3 遗传分析和定位群体的构建

以 *fon6* 突变体为父本, 分别与中粳3037及9311配组杂交产生  $F_1$  代, 抽穗期观察杂交  $F_1$  代植株花器官的表型。剔除假杂种, 分单株收获  $F_1$  代种子, 并播种。在抽穗期对  $F_2$  代各单株的花器官形态进行调查, 计算性状分离比。2009年, 在扬州种植的  $F_2$  代群体中共获得42个隐性纯合体用于基因初步定位。

### 1.4 基因定位和连锁分析

#### 1.4.1 水稻总DNA的提取

取田间生长的  $F_2$  代突变单株的新鲜叶片, DNA的提取采用CTAB法(Murray and Thompson, 1980)。

#### 1.4.2 STS标记及连锁分析

根据公布在 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 上的粳稻9311和粳稻日本晴的序列进行BLAST序列比对, 利用Primer Primer 5软件设计发展了216个均匀分布在水稻12条染色体上的STS引物, 引物由上海生工公司合成。用这216个PCR标记对亲本突变体和中粳3037进行差异分析, 筛选出具有多态性的标记, 并利用有差异的标记对突变体与中粳3037杂交获得的  $F_2$  群体各单株进行连锁分析。PCR反应程序为:  $94^{\circ}C$  预变性4分钟; 循环( $94^{\circ}C$ 30秒,  $56^{\circ}C$ 30秒,  $72^{\circ}C$ 30秒)32次;  $72^{\circ}C$  延伸5分钟。20  $\mu L$  的反应体系包括: 0.2  $\mu mol \cdot L^{-1}$  引物、200  $\mu mol \cdot L^{-1}$  dNTP、 $1 \times$  PCR buffer、20 ng模板DNA和1 U *Taq* DNA酶。PCR buffer和 *Taq* DNA酶购自北京天根公司。用3%琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增产物, 经溴化乙锭染色后于紫外灯下观察拍照。

根据分离群体的突变性状和分子标记分离的数据进行连锁分析, 并借助Photoshop CS2软件绘制物理图谱。

## 2 结果与amp;讨论

### 2.1 *fon6* 突变体的表型

突变体营养生长正常, 花期与野生型大致相同。突变体颖花外稃、内稃和浆片器官正常, 与野生型(图1A)

相比, 雄蕊数目增多, 少数花中有畸形雄蕊(图1B), 雌蕊表现为双子房和多柱头(图1C)。开花前, 对田间随机选取的100朵突变体小花的观察统计结果显示(表1), 91%的颖花表现为双子房、多柱头, 柱头数目为3–5个。其中, 有3个柱头的颖花占9%, 4个柱头的颖花占39%, 5个柱头的颖花占52%; 81%的颖花雄蕊数为7–8枚, 仅有19%的颖花表现为正常的6枚雄蕊。成熟期调查结果表明, 多数种子颖壳开裂(图1D), 约有85%的谷壳内有2粒米(图1E)。

为了进一步明确 $fon6$ 突变体花器官数目的变异是否影响雌雄性器官的育性, 我们用 $I_2$ -KI染色法对野生型和突变体植株的花粉育性进行了染色检查。结果表明, 野生型植株成熟可育的花粉粒被染成黑色, 呈

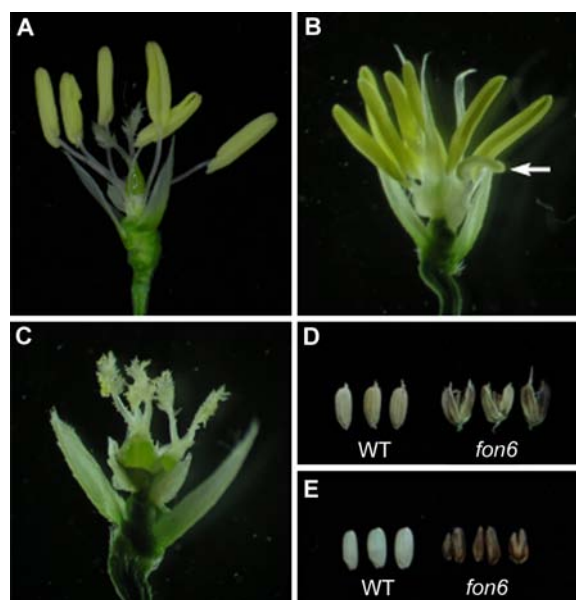


图1  $fon6$ 突变体和野生型(WT)水稻小花的内部结构

(A) 除去内外稃的野生型颖花; (B) 除去内外稃的突变体颖花, 箭头所指为一畸形的雄蕊; (C) 去除内外稃和雄蕊后的突变体颖花, 示双子房; (D) 野生型和突变体的种子形态; (E) 野生型和突变体的米粒形态

Figure 1 Inner structure of the  $fon6$  mutant and wild-type (WT) rice flower

(A) Wild-type flower without lemma and palea; (B) Mutant flower without lemma and palea, the arrow indicated a malformed stamen; (C) Mutant flower without lemma, palea and stamens, showing the double-ovary; (D) The phenotype of wild-type and mutant seeds; (E) The phenotype of wild-type and mutant grains

表1 野生型和 $fon6$ 突变体水稻的内轮花器官数目

Table 1 Number of the inner flower organs of the wild-type and  $fon6$  mutant rice

Genotype	Floret	Stamen	Stigma	Ovary
Wild-type	100	6	2	1
$fon6$	100	7.05	4.43	1.91

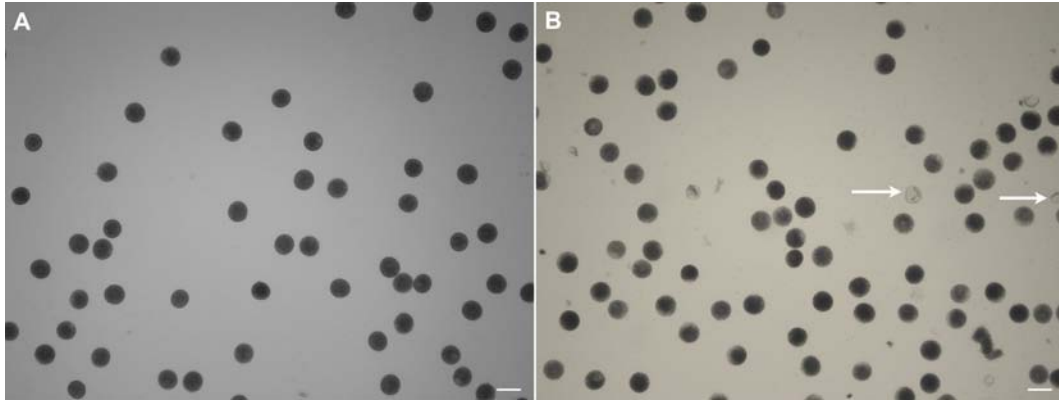
圆形(图2A)。突变体植株90%左右的花粉粒呈圆形, 且染色正常, 虽然存在少数不能染色的空泡化和不规则花粉粒(图2B), 但育性水平仍属正常。对突变体在自然条件下自交育性的观察结果表明, 突变体结实正常, 且自交结实的种子能够正常发芽生长。故 $FON6$ 基因的突变只影响雌雄蕊数目的发育, 而对雌雄性器官的育性没有影响。

## 2.2 遗传分析

在抽穗期分别对 $fon6$ 突变体与中粳3037及9311杂交的2个 $F_1$ 代群体性状进行调查, 所有 $F_1$ 代单株均表现为正常亲本表型, 表明该性状受隐性基因控制。对 $F_2$ 代群体的田间调查发现, 2个 $F_2$ 代群体均表现出明显的分离, 分别表现为正常亲本和突变亲本性状。由 $fon6$ 与中粳3037杂交产生的174个单株组成的 $F_2$ 代群体中, 花器官正常的植株为132株, 花器官表现为突变亲本表型的植株为42株。经卡方适合度检测( $\chi^2_{0.05,1}=3.84$ ), 符合3:1分离比例(表2)。同样, 在由 $fon6$ 与9311杂交产生的80个单株组成的 $F_2$ 代群体中, 正常个体和突变个体的比例也符合3:1分离比例(表2), 进一步表明该突变性状是受一对隐性基因控制的, 并将该突变体基因定名为 $fon6$ , 对应的野生型基因为 $FON6$ 。

## 2.3 基因定位

用216个均匀分布于水稻12条染色体上的STS特异引物对亲本突变体和中粳3037进行多态性筛选, 其中能揭示亲本间多态性的标记有104个。应用这104个STS标记对 $fon6$ /中粳3037杂交的 $F_2$ 代群体的42个隐性纯合体突变单株进行连锁分析, 发现第6染色体短臂上的标记P2与突变性状存在较明显的连锁关系(图3)。进一步利用该染色体短臂上的其它多态性标记进行分析, 初步把 $FON6$ 基因定位在STS标记P2和P3之间约3.75 Mb的范围内。

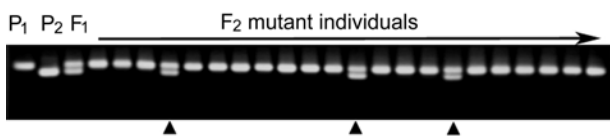


**图2** 野生型(A)和*fon6*突变体(B)水稻花粉的I<sub>2</sub>-KI染色分析  
箭头所示为空泡化和不规则花粉粒。Bar=30 μm。

**Figure 2** I<sub>2</sub>-KI staining of the pollens of wild-type (A) and *fon6* mutant (B) rice  
The arrows indicated the vacuuous and anomalous pollen. Bar=30 μm.

**表2** 水稻*fon6*突变体与野生型杂交的F<sub>2</sub>代群体的性状分离情况  
**Table 2** Analysis of frequency of mutant in F<sub>2</sub> population from the cross between *fon6* mutant and wild-type rice

Cross	Number of plants			$\chi^2(3:1)$
	Total	Mutant type	Wild type	
<i>fon6</i> /3037	174	42	132	0.069
<i>fon6</i> /9311	80	18	62	0.150



**图3** STS标记P2在F<sub>2</sub>代群体中的分离情况  
P<sub>1</sub>: 野生型亲本3037; P<sub>2</sub>: 突变体亲本*fon6*; F<sub>1</sub>: *fon6*/3037; ▲: 交换单株

**Figure 3** Segregation of the STS marker P2 in the F<sub>2</sub> population  
P<sub>1</sub>: Wild-type parent 3037; P<sub>2</sub>: Mutant parent *fon6*; F<sub>1</sub>: *fon6*/3037; ▲: Exchange plant

根据日本晴和9311的基因组序列, 利用2个标记间日本晴和9311之间的序列差异, 在不同区段的BAC克隆上进一步发展了10个STS标记。其中4个标

记PL1、PL4、PL5和PL9(表3)能揭示亲本间的多态性。利用这4个多态性标记对亲本及群体进行分析, 发现这4个标记也与突变性状存在连锁关系, 并利用这些STS标记对群体中发现的数据进行连锁分析, 构建了第6染色体的部分物理图谱。最终将FON6基因定位于第6染色体短臂上PL4和PL5两标记之间约480 kb的物理距离内(图4)。

## 2.4 讨论

本研究报道的水稻*fon6*突变体表现为第1、2轮花器官内稃、外稃和浆片发育正常, 第3轮花器官雄蕊数目增加, 且有少数畸形雄蕊, 第4轮花器官雌蕊表现为双子房、多柱头。而观察到的少数畸形雄蕊可能是由于雌雄蕊数目增加引起小穗内空间过于拥挤, 使部分雄蕊发育受阻所致, 属于花器官数目变异突变体。利用STS标记将突变性状相关基因定位在第6染色体短臂上。该突变性状与已报道的花器官数目变异突变体在表型上存在不同程度的差异, 尚没有突变性状相关基因定位在该突变基因所在染色体位置附近的报道。因此, 我们认为FON6可能是一个新的与水稻雌雄蕊数目发育相关的基因。

植物生长周期中各种器官的形成依赖于分生组织的持续活力。茎端分生组织(shoot apical meristem,

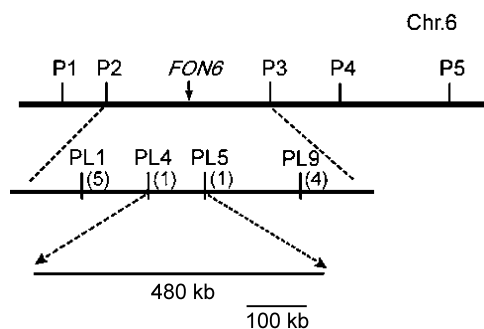


图4 *FON6*基因在水稻第6号染色体上的精细定位

Figure 4 Fine mapping of *FON6* on rice chromosome 6

表3 与*FON6*基因连锁标记的引物序列

Table 3 Primer sequences of the markers linked with *FON6* gene

Marker	Primer sequence (5'-3')	Distance (Mb)
P2	F: AATGTCAACTAATCCTCCTG R: GACGGAATCAATAAACTGC	1.55
P3	F: CGGATGTGCTCGTAGGAGTC R: GTGGTTTTGATCTAGGTGACG	5.30
PL1	F: GGAGTTATTTCCCATCTGCA R: TGTGCTTTGCTACAGTAGAT	2.31
PL4	F: CCCCAGACTGCTTAGCTTCCT R: GCCGCATTTTATCATACTCTC	2.98
PL5	F: ATACGGAGCAGGTTAAATGGG R: AGTGGGTCGGGTTCTGTGAGG	3.46
PL9	F: ATTAGAGTGGTTTTAGGGTT R: TGTTCTGCATTCCTCCTAG	4.25

SAM)中央区域的干细胞能够持续生长,分裂产生新细胞补充SAM侧翼,使其能够不断形成周边器官(计慎敏和张大兵,2007)。在花器官发育阶段,引起花分生组织发育异常的突变常导致花器官发育异常。拟南芥*CLAVATA*(*CLV*)途径中的3个基因(*CLV1*、*CLV2*、*CLV3*)中任何一个突变都会引起花序和花分生组织增大,从而导致花和花器官数目增多(Clark et al., 1997; Fletcher et al., 1999)。

水稻中最早报道的花器官数目变异突变体是*fon1*和*fon2*。*fon1*突变体大部分花的浆片数量受到影响,而一半以上的突变体花的心皮数目则不受影响。与此相反,*fon2*中绝大多数花的心皮数量增多,偶尔也会发现浆片和雄蕊发生同源转化的现象(Nagasawa et al., 1996)。Suzaki等(2004)通过图位

克隆的手段获得了*FON1*,该基因编码一个包含994个氨基酸残基的亮氨酸富集重复(leucine-rich repeat, LRR)类型的受体激酶,含有疏水信号肽、22个亮氨酸富集重复、跨膜区以及丝-苏氨酸激酶功能域。进化分析表明,*FON1*是水稻中*CLV1*的同源基因。对突变体分生组织形态的研究表明,*FON1*控制花分生组织的大小。对T-DNA和Tos17插入突变体的研究表明,*FON1*的缺失还影响水稻的营养生长,突变体出现分蘖数减少、矮化以及茎端分生组织增大等表型。这些研究结果表明,*FON1*通过控制茎端分生组织大小调控营养期和生殖期水稻的发育(Suzaki et al., 2004)。*OsLRK1*(*Oryza sativa leucine-rich repeat receptor-like kinase1*)是从水稻中克隆的另一个控制花器官数目的基因,该基因编码一个包含941个氨基酸残基的LRR类受体激酶。*OsLRK1*中的亮氨酸富集重复数目为21,与*CLV1*相应区域有49%的氨基酸相同。mRNA表达分析显示,*OsLRK1*在幼嫩的花序中大量表达,表达量随发育的进行逐渐降低,在抽穗期的花序中检测不到表达信号;而在7天苗龄的茎和授粉2-10天后的种子中有少量表达。利用反义RNA技术获得的转基因株系中变异最大的表型是所有花器官的数目都增加,表现为2-4个内/外稃、2-4个浆片、6-9个雄蕊以及1-2个心皮;有些花还具有异位的浆片,其形状异常,与内、外稃结构类似,但没有发生同源转化。统计分析表明,受影响最大的是内、外稃和浆片的数量。这些结果暗示*OsLRK1*参与花器官,尤其是内、外稃以及浆片数目的控制(Kim et al., 2000)。Jang等(2003)分离到一个同样含有LRR功能域的基因*OsFOR1*(*Oryza sativa floral organ regulator1*),该基因编码全长为333个氨基酸的蛋白,其N-端有一个含10个LRR单位的分泌信号肽。蛋白序列分析表明,*OsFOR1*是多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白(polygalacturonase-inhibiting proteins, PGIPs)家族的一员。mRNA表达分析表明,*OsFOR1*在愈伤组织和花序中大量表达,在10天苗龄的根以及成熟的茎中有少量表达。在小穗中,*OsFOR1*的表达量随着花序的成熟而增加,但在发育的种子中表达量很低。原位杂交结果表明,*OsFOR1*的转录产物在花原基中均匀分布,但在不同花器官中的表达有差异:内3轮中大量表达,而内、外稃中杂交信号较弱。利用反义RNA技术获得的转基因植株中所有花器官的数量都

发生了变化, 其中外轮器官数目的变化更为明显。RT-PCR分析结果显示, 在*fzp(frizzy panicle)*突变体中检测不到*OsFOR1*以及B、C类MADS-box基因的表达, 而在*OsMADS3*的缺失突变体中*OsFOR1*表达正常, 表明*OsFOR1*在FZP和A类MADS-box基因后, *OsMADS1*、*OsMADS3*和*OsMADS16*基因之前起作用(Jang et al., 2003)。在Jiang等(2005)报道的*fon3*中, 每一轮花器官数目均增加, 其中浆片最为明显; 此外, 还出现了部分融合的子房和花序轴扭曲的现象(Jiang et al., 2005)。Chu等(2006)报道了水稻中*CLV3*的同源基因*FON4*。在*fon4*突变体中, 所有花器官的数目都增加, 尤其是第3、4轮花器官, 这一点与*fon1*和*fon2*相似; 在*fon4*中, 分生组织在心皮和胚珠形成之后并不消失, 相反甚至在形成一个新的心皮原基后仍然存在, 说明*FON4*对分生组织的正常终止是必需的, 表型上的相似性暗示*FON1*与*FON4*在控制分生组织发育的通路中共同起作用。然而, 除了花器官数目增加以外, 在*fon4*中还发现了异常的花器官形态, 包括颖片和雄蕊的同源转化, 而在*fon1*和*fon2*中, 同源转化仅出现在浆片和雄蕊中, 说明*FON4*的功能较*FON1*、*FON2*和*FON3*更为广泛(Chu et al., 2006)。张向前等(2008)报道了一个早花突变体*fon5*, 该突变体表现为多雄蕊、多子房和生育期明显提前。此外, 在*fon(t)*中除了雌雄蕊数目增加外, 还出现内外稃开裂、花器官外露和浆片内(外)稃化的现象(Li et al., 2007)。本研究报道的*fon6*突变体与上述花器官突变体有相似的表型: 雌雄蕊数目增加, 由此我们推测*FON6*基因可能与上述已报道的引起花器官数目变异的基因共同发挥作用调控水稻雌雄蕊数目的发育。但是*FON6*基因的确切功能还有待进一步的基因克隆和功能研究予以证实。

根据基因定位的结果和水稻基因组TIGR数据库的预测注释, 在*FON6*所在区域内有一个MADS-box基因*OsMADS5*, 这是水稻中的一个SEP类基因, 其编码氨基酸序列与*OsMADS1*之间有72%的相似度。*OsMADS5*基因的突变体除了浆片发育异常外, 其它花器官发育正常(Agrawal et al., 2005)。我们对野生型和*fon6*突变体中的*OsMADS5*基因进行了测序和序列分析, 没有发现DNA序列上的差异, 表明*OsMADS5*不是*FON6*的候选基因。

对水稻花器官突变体*jmj706*的研究表明, 控制水

稻花器官发育的分子机理也涉及表观遗传学调控。*JMJ706*编码一个去甲基化蛋白, 该蛋白能够去除H3组蛋白上第9个赖氨酸(H3K9)上的甲基化, 其突变导致一系列MADS-box基因的组蛋白修饰发生异常, 最终导致各轮花器官发育异常, 具体表现为内、外稃的数目增加或缺失以及雄蕊和雌蕊数目的增多等(Sun and Zhou, 2008)。这为*FON6*基因的克隆和进一步的功能研究提供了一个新的思路。

## 参考文献

- 计慎敏, 张大兵 (2007). 水稻花器官特征决定以及数量控制的分子机制. 植物学通报 **24**, 284–292.
- 刘建武, 孙成华, 刘宁 (2004). 花器官决定的ABC模型和四因子模型. 植物学通报 **21**, 346–351.
- 吕山花, 孟征 (2007). MADS-box基因家族基因重复及其功能的多样性. 植物学通报 **24**, 60–70.
- 张向前, 邹金松, 朱海涛, 李晓燕, 曾瑞珍 (2008). 水稻早熟多子房突变体*fon5*的遗传分析和基因定位. 遗传 **30**, 1349–1355.
- Agrawal GK, Abe K, Yamazaki M, Miyao A, Hirochika H (2005). Conservation of the E-function for floral organ identity in rice revealed by the analysis of tissue culture-induced loss-of-function mutants of the *OsMADS1* gene. *Plant Mol Biol* **59**, 125–135.
- Chu HW, Qian Q, Liang WQ, Yin CS, Tan HX, Yao X, Yuan Z, Yang J, Huang H, Luo D, Ma H, Zhang DB (2006). The *FLORAL ORGAN NUMBER4* gene encoding a putative ortholog of Arabidopsis *CLAVATA3* regulates apical meristem size in rice. *Plant Physiol* **142**, 1039–1052.
- Clark SE, Williams RW, Meyerowitz EM (1997). The *CLAVATA1* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in Arabidopsis. *Cell* **89**, 575–585.
- Coen ES, Meyerowitz EM (1991). The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature* **353**, 31–37.
- Coen ES, Romero JM, Doyle S, Elliott R, Murphy G, Carpenter R (1990). *Floricaula*: a homeotic gene required for flower development in *Antirrhinum majus*. *Cell* **63**, 1311–1322.
- Colombo L, Franken J, Koetje E, van Went J, Dons HJM, Angenent GC, van Tunen AJ (1995). The petunia MADS box gene *FBP11* determines ovule identity. *Plant Cell* **7**,

- 1859–1868.
- Cui RF, Han JK, Zhao SZ, Su KM, Wu F, Du XQ, Xu QJ, Chong K, Theißen G, Meng Z** (2010). Functional conservation and diversification of class E floral homeotic genes in rice (*Oryza sativa*). *Plant J* **61**, 767–781.
- Dreni L, Jacchia S, Fornara F, Fornari M, Ouwerkerk PBF, An G, Colombo L, Kater MM** (2007). The D-lineage MADS-box gene *OsMADS13* controls ovule identity in rice. *Plant J* **52**, 690–699.
- Fletcher JC, Brand U, Running MP, Simon R, Meyerowitz EM** (1999). Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in Arabidopsis shoot meristems. *Science* **283**, 1911–1914.
- Gao XC, Liang WQ, Yin CS, Ji SM, Wang HM, Su X, Guo CC, Kong HZ, Xue HW, Zhang DB** (2010). The *SEPALLATA*-like gene *OsMADS34* is required for rice inflorescence and spikelet development. *Plant Physiol* **153**, 728–740.
- Goto K, Meyerowitz EM** (1994). Function and regulation of the Arabidopsis floral homeotic gene *PISTILLATA*. *Genes Dev* **8**, 1548–1560.
- Hong LL, Qian Q, Zhu KM, Tang D, Huang ZJ, Gao L, Li M, Gu MH, Cheng ZK** (2010). *ELE* restrains empty glumes from developing into lemmas. *J Genet Genomics* **37**, 101–115.
- Jack T, Brockman LL, Meyerowitz EM** (1992). The homeotic gene *APETALA3* of *Arabidopsis thaliana* encodes a MADS box and is expressed in petals and stamens. *Cell* **68**, 683–697.
- Jang S, Lee B, Kim C, Kim SJ, Yim J, Han JJ, Lee S, Kim SR, An G** (2003). The *OsFOR1* gene encodes a polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) that regulates floral organ number in rice. *Plant Mol Biol* **53**, 357–369.
- Jeon JS, Lee S, Jung KH, Yang WS, Yi GH, Oh BG, An G** (2000). Production of transgenic rice plants showing reduced heading date and plant height by ectopic expression of rice MADS-box genes. *Mol Breed* **6**, 581–592.
- Jiang L, Qian Q, Mao L, Zhou QY, Zhai WX** (2005). Characterization of the rice floral organ number mutant *fon3*. *J Integr Plant Biol* **47**, 100–106.
- Kim C, Jeong DH, An G** (2000). Molecular cloning and characterization of *OsLRK1* encoding a putative receptor-like protein kinase from *Oryza sativa*. *Plant Sci* **152**, 17–26.
- Lee S, Kim J, Son JS, Nam J, Jeong DH, Lee K, Jang S, Yoo J, Lee J, Lee DY, Kang HG, An G** (2003). Systematic reverse genetic screening of T-DNA tagged genes in rice for functional genomic analyses: MADS-box genes as a test case. *Plant Cell Physiol* **44**, 1403–1411.
- Li Y, Xu PZ, Zhang HY, Peng H, Zhang QF, Wang XD, Wu XJ** (2007). Characterization and identification of a novel mutant *fon(t)* on floral organ number and floral organ identity in rice. *J Genet Genomics* **34**, 730–737.
- Lim J, Moon YH, An G, Jang SK** (2000). Two rice MADS domain proteins interact with *OsMADS1*. *Plant Mol Biol* **44**, 513–527.
- Mandel MA, Gustafson-Brown C, Savidge B, Yanofsky MF** (1992). Molecular characterization of the Arabidopsis floral homeotic gene *APETALA1*. *Nature* **360**, 273–277.
- Moon YH, Kang HG, Jung JY, Jeon JS, Sung SK, An G** (1999). Determination of the motif responsible for interaction between the rice *APETALA1/AGAMOUS-LIKE9* family proteins using a yeast two-hybrid system. *Plant Physiol* **120**, 1193–1204.
- Murray MG, Thompson WF** (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* **8**, 4321–4326.
- Nagasawa N, Miyoshi M, Kitano H, Satoh H, Nagato Y** (1996). Mutations associated with floral organ number in rice. *Planta* **198**, 627–633.
- Nam J, Kim J, Lee S, An G, Ma H, Nei M** (2004). Type I MADS-box genes have experienced faster birth-and-death evolution than type II MADS-box genes in angiosperms. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**, 1910–1915.
- Pelaz S, Ditta GS, Baumann E, Wisman E, Yanofsky MF** (2000). B and C floral organ identity functions require *SEPALLATA* MADS-box genes. *Nature* **405**, 200–203.
- Sommer H, Beltrán JP, Huijser P, Pape H, Lönning W, Saedler H, Schwarz-Sommer Z** (1990). *Deficiens*, a homeotic gene involved in the control of flower morphogenesis in *Antirrhinum majus*: the protein shows homology to transcription factors. *EMBO J* **9**, 605–613.
- Sun QW, Zhou DX** (2008). Rice *jmjC* domain-containing gene *JMJ706* encodes H3K9 demethylase required for floral organ development. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 13679–13684.
- Suzaki T, Ohneda M, Toriba T, Yoshida A, Hirano HY** (2009). *FON2 SPARE1* redundantly regulates floral meristem maintenance with *FLORAL ORGAN NUMBER2* in rice. *PLoS Genet* **5**, e1000693.
- Suzaki T, Sato M, Ashikari M, Miyoshi M, Nagato Y, Hirano HY** (2004). The gene *FLORAL ORGAN NUMBER1* regulates floral meristem size in rice and

encodes a leucine-rich repeat receptor kinase orthologous to Arabidopsis CLAVATA1. *Development* **131**, 5649–5657.

**Theißen G, Saedler H** (2001). Floral quartets. *Nature* **409**, 469–471.

**Wang KJ, Tang D, Hong LL, Xu WY, Huang J, Li M, Gu MH, Xue YB, Cheng ZK** (2010). *DEP* and *AFO* regulate reproductive habit in rice. *PLoS Genet* **6**, e1000818.

**Weigel D, Meyerowitz EM** (1994). The ABCs of floral

homeotic genes. *Cell* **78**, 203–209.

**Yamaguchi T, Lee DY, Miyao A, Hirochika H, An G, Hirano HY** (2006). Functional diversification of the two C-class MADS box genes *OsMADS3* and *OsMADS58* in *Oryza sativa*. *Plant Cell* **18**, 15–28.

**Yanofsky MF, Ma H, Bowman JL, Drews GN, Feldmann KA, Meyerowitz EM** (1990). The protein encoded by the Arabidopsis homeotic gene *agamous* resembles transcription factors. *Nature* **346**, 35–39.

## Characterization and Gene Mapping of a Novel Mutant in Rice Floral Organs

Weixiong Luo<sup>1</sup>, Ming Li<sup>2</sup>, Jun Chen<sup>1</sup>, Qiong Luo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Agriculture Biodiversity for Plant Disease Management, Ministry of Education/Key Laboratory of Plant Pathology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; <sup>2</sup>State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract** We obtained a rice floral mutant, inner *flower organ number 6* (*fon6*), from the progenies of tissue culture of a *japonica* variety Taichung65. The mutant has double ovaries, multi-stigmas, and 7 to 8 stamens. The mutant trait is controlled by a single recessive gene. The F<sub>2</sub> population derived from the cross between Zhongxian 3037 and *fon6* was used for gene mapping. *FON6* was mapped to the ~480-kb region between the sequence-tagged site markers PL4 and PL5 on chromosome 6. These results will be useful for cloning and functional analysis of the gene.

**Key words** double-ovary, flower organ, gene mapping, multi-stigmas, rice

**Luo WX, Li M, Chen J, Luo Q** (2011). Characterization and gene mapping of a novel mutant in rice floral organs. *Chin Bull Bot* **46**, 506–513.

---

\* Author for correspondence. E-mail: qiongbf@yahoo.com.cn