

# 臺灣栽培環境下水稻抽穗期基因型 與抽穗日數的關係<sup>1</sup>

王聖善、陳榮坤<sup>2</sup>

## 摘 要

王聖善、陳榮坤。2021。臺灣栽培環境下水稻抽穗期基因型與抽穗日數的關係。臺南區農業改良場研究彙報 77：13-29。

抽穗所需生育日數 (days to heading, DTH) 是水稻重要的育種性狀，為了瞭解臺灣水稻品種在各抽穗期基因所帶有的基因型，並了解這些抽穗期的等位基因在臺灣一期作與二期作環境下對水稻抽穗期的影響。本研究以 102 個國內外常見水稻品種為材料，分析 6 個抽穗期基因 (*HD1*、*HD6*、*EHD1*、*GHD7*、*RFT1* 與 *DTH8*) 的基因型，並調查該等品種於臺灣一期與二期稻作環境下，自插秧至抽穗之所需生育日數。研究結果發現，抽穗期基因 *HD1*、*HD6*、*EHD1*、*RFT1* 與 *DTH8* 在參試品種間存在高度的遺傳歧異度。綜合抽穗期基因型與抽穗所需生育日數分析顯示，3 個抽穗期基因 *HD1*、*HD6* 與 *EHD1* 顯著影響參試梗稻在臺灣栽培環境下的抽穗所需日數，*HD1* 與 *EHD1* 可共同解釋參試梗稻在臺灣一期作的 69.0% 抽穗期變異，而 *HD1*、*HD6* 與 *EHD1* 可共同解釋參試梗稻在臺灣二期作的 81.3% 抽穗期變異；抽穗期基因 *HD1*、*DTH8* 與 *RFT1* 則會影響參試秈稻在臺灣栽培環境下的抽穗所需日數，*RFT1* 可解釋參試秈稻在臺灣一期作 19.9% 的抽穗期變異，而 *HD1*、*DTH8* 與 *RFT1* 則可共同解釋參試秈稻在臺灣二期作的 54.8% 抽穗期變異。綜合以上結果，本研究結果可作為臺灣水稻育種人員在從事育種雜交組合之親本選擇的參考，以擬定育種策略，增加育種效率。

**現有技術：**目前已有多個關於水稻抽穗期相關的基因被選殖，但僅少數抽穗期基因被運用在水稻分子標誌輔助選種當中。

**創新內容：**本研究透過基因型分析，了解國內常見水稻品種在 6 個抽穗期基因所帶有的基因型差異，並了解這些差異對臺灣秈、梗稻抽穗期之影響。

**對產業影響：**本研究結果有助於提升國內水稻抽穗期相關性狀選拔的育種效率。

**關鍵字：**抽穗所需生育日數、抽穗期基因

接受日期：2021 年 6 月 14 日

1. 行政院農業委員會臺南區農業改良場研究報告第 531 號。

2. 行政院農業委員會臺南區農業改良場助理研究員與副研究員兼分場長。712 臺南市新化區牧場 70 號。

## 前 言

水稻 (*Oryza sativa* L.) 起源自中國南方，隨著人類聚落的遷移與交易逐漸的擴散至整個亞洲地區<sup>(9,12)</sup>，因而選育出不同光週期反應需求的品種，以適應不同的環境需求。為了瞭解不同地區品種間抽穗期基因的差異，Ebana 等人以越光與 12 個來自不同栽培環境所選育的水稻品種進行雜交，並以衍生的 12 個 F2 分離族群進行抽穗期的數量性狀基因座 (quantitative trait loci, QTLs) 定位，實驗結果獲得 34 個 QTLs，集中於 8 個染色體區間，有些染色體區間包含不只一個調控抽穗期的基因<sup>(4)</sup>，其中的 9 個調控抽穗期的基因已經釐清其分子機制<sup>(3,5,6,8,15,16,18,19,21)</sup>。本研究選取 *HD1*、*HD6*、*EHD1*、*GHD7*、*RFT1* 與 *DTH8* (*HD5*) 等 6 個基因進行亞洲地區常見水稻品系的遺傳歧異度勘查。上述 6 個調控水稻抽穗期基因的介紹如下：

*RFT1* 為阿拉伯芥 *FLOWERING LOCUS T1* (*FT*) 在水稻的同源基因之一，*RFT1* 與另一個 *FT-like* 基因 (*HD3A*) 是控制水稻開花機制的啟動基因<sup>(6)</sup>。*RFT1* 的編碼區域 (coding region) 在品種間具高度保留性 (highly conserved)，目前已在水稻品種間發現一個位於 *RFT1* 編碼區域的自然變異 (E105k)，此突變會導致 *RFT1* 失去正常功能，並且導致水稻在長日照環境下顯著的延長其開花所需生育日數<sup>(7,15)</sup>。

*EHD1* 為 B-type response regulator，無論在短日照或長日照環境之下，*EHD1* 均可正向調控 *HD3A* 與 *RFT1* 的基因表現，促進水稻幼穗分化<sup>(3)</sup>。此外，研究發現臺灣梗稻的 *EHD1* 均帶有一個位於 GARP domain 的胺基酸變異 (G219R) 的等位基因 *ehd1-T65*，此等位基因使得原本生長於較高緯度的溫帶型梗稻品種，可適合種植於臺灣一期與二期稻作的光週期環境<sup>(1,17)</sup>。

*HD1* 則為阿拉伯芥 *CONSTANS* (*CO*) 在水稻的同源基因，*HD1* 於短日環境下會促進 *HD3A* 的基因表現，因此啟動水稻的生殖生長機制。然而研究發現，*HD1* 於長日環境下則反而會抑制 *HD3A* 的基因表現，導致開花的延遲<sup>(6,17,21)</sup>。

*HD6* 屬 subunit of protein kinase CK2 的基因家族，其基因序列於水稻品種間也具高度保留性，研究發現 *HD6* 在長日照環境下，並且於 *HD1* 基因的功能正常時會抑制水稻幼穗分化<sup>(14,16)</sup>。前人研究也發現，部分梗稻品種帶有一個會導致移碼突變 (frameshift mutations) 的單一核苷酸多型性位點 (single nucleotide polymorphism, SNP)，此突變會導致 *HD6* 失去正常功能，使得水稻提早抽穗<sup>(14,16)</sup>。

*DTH8/GHD8* (*HD5*) 則為 putative HAP3 subunit of the CCAAT-box-binding transcription factor，*DTH8* 於長日照環境下會藉由負向調控 *EHD1*、*HD3A* 與 *RFT1* 的基因表現來抑制水稻幼穗分化<sup>(2,18)</sup>。

*GHD7* 則為 CCT domain protein 基因，*GHD7* 於長日照情況下會抑制水稻幼穗分化<sup>(19)</sup>，於高緯度地區，水稻為了適應夏天的長日照環境，因此選育出了一些 *GHD7* 功能缺失 (null allele) / 功能降低 (hypomorphic allele) 的品種，使得目前水稻可適應並栽培於中國黑龍江或日本北海道等高緯度地區<sup>(10)</sup>。

雖然目前已有許多關於水稻抽穗期的基因被選殖，並且其相關調控的分子機制也被廣泛的研究，然而這些抽穗期基因的作用機制多數是在實驗室的光週期控制環境下，或是在溫帶地區來進行研究。臺灣位於亞熱帶地區，水稻每年兩期作所遭遇的光週期變化皆與文獻的處理條件不同。此外，各文獻中所發現的水稻抽穗期相關等位基因，並不必然存在於臺灣的水

稻栽培品種當中，因此雖然有許多光週期的基因被選殖，但國內水稻育種專家依然未能釐清臺灣水稻栽培品種彼此間的抽穗期差異，主要是由哪些已知的抽穗期等位基因所導致。因此，本研究係藉由選取 102 個於不同地理環境下選育之水稻品種 / 系，並針對已知的 6 個水稻抽穗期基因 *HD1*、*HD6*、*EHD1*、*GHD7*、*RFT1* 與 *DTH8* 進行基因型分析，用來了解此 6 個抽穗期基因在參試品種 (系) 間的基因型差異。並且於臺灣環境之下調查了所有參試品種在兩個水稻期作個別的抽穗所需日數，藉由變方分析與複迴歸分析，以供探究各抽穗期等位基因在臺灣一期作與二期作環境下對參試品種抽穗期的影響，並藉本篇研究結果提供臺灣水稻育種家在從事以分子標誌輔助選種前的親本選擇，提升水稻育種效率。

## 材料與方法

### 一、試驗材料與生長環境

參試品種包含 63 個梗稻品種與 39 個秈稻品種，種子來源由臺南區農業改良場嘉義分場所提供。第一期作試驗於 2013 年 1 月 24 日，各品種營養生長期之生育期間每日日照長度介於 11.0 ~ 13.0 小時 (1 月 24 到 5 月 10 日)；二期作試驗於 2013 年 7 月 26 日，各品種營養生長期之生育期間的日照長度介於 13.3 ~ 11.5 小時 (7 月 26 到 10 月 24 日)。兩期作試驗皆採單本植插秧，種植於臺南區農業改良場嘉義分場試驗田區 (嘉義縣鹿草鄉)，水稻種植行株距為 30 × 15 公分，依水田慣行栽培模式進行田間管理。

### 二、抽穗期調查

參試材料於每個期作分別種植 52 株，抽穗所需生育日數 (days to heading, DTH) 則以插秧後到每個品種過半數植株的第一支穗抽出的時間，作為本次試驗的抽穗所需日數。

### 三、基因型分析

本研究於參試材料植株抽穗期前摘取嫩葉，以 CTAB 方法<sup>(12)</sup> 抽取葉片的基因體組 DNA。*HD1*、*DTH8* 與 *GHD7* 等 3 個抽穗期基因在參試品種間有相當高的遺傳歧異度，因此採用核酸定序的方式進行遺傳歧異度的探勘。依表 1 所列引子序列，針對各品種進行三次獨立的連鎖聚合擴增反應 (polymerase chain reaction, PCR)，接著再將三個獨立的連鎖聚合反應產物混合成為一管，並將 DNA 產物委託廠商明欣生物科技有限公司進行 Sanger 定序分析，定序結果以軟體 Chromas Software v2.23 (<http://www.technelysium.com.au>) 進行資料分析。*EHD1*、*RFT1* 與 *HD6* 等 3 個抽穗期基因序列於品種間則具有高度保留特性，前人研究顯示 3 個基因中僅各別發現一個能導致不同基因功能的單一核苷酸多型性位點<sup>(3,15,16)</sup>，因此本研究針對 *EHD1* 編碼區域的自然變異 (G219R)、*RFT1* 編碼區域的自然變異 (E105K) 與 *HD6* 編碼區域的移碼突變位置設計 CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 分子標誌 (表 1) 來擴增目標的 DNA 片段，並選用特定的限制酶來區分不同等位基因的 SNP，對增幅 DNA 片段進行酶切反應後，使用電泳分辨增幅 DNA 片段能否被限制酶切割，而達到分辨不同等位基因之目的。

### 四、統計資料分析

為了瞭解各個抽穗期基因對於水稻品種間抽穗所需生育日數的影響，試驗設計係將參試的抽穗期基因做為處理因子，每個因子 (基因) 分為具正常功能等位基因

(functional alleles) 與不具功能等位基因 (nonfunctional alleles) 兩個變級，以完全隨機設計 (Completely randomized design) 進行檢定，用以判斷各基因的 2 個變級對於抽穗所需生育日數是否有顯著差異。於完全隨機設計檢定完成後，將具有顯著差異的基因作為複迴歸分析 (Multiple linear regression) 的自變數，抽穗所需生育日數作為應變數進行統計分析，用以了解各個抽穗期基因可解釋參試族群的變異量，以及不同等位基因對抽穗期變化的影響。

表 1. 抽穗期基因型分析所使用的引子資訊

Table 1. Primers used in this study

ID	Ta (°C) <sup>a</sup>	Forward primer	Reverse primer	Size (bp)	R.E. <sup>b</sup>
Seq_Hd1_1	60	CACAAGCAAGGCTACTTCGTTTC	ACATTGACAACGTGGCATGTA	986	-
Seq_Hd1_2	60	TGATTTCGCATATTTTCAGTGACC	ATCCGGAAATTACAAAGCAAAA	581	-
Seq_Ghd7_1	55	CAATGAGGAGTCGCCAAATTAT	CCGGATCAGGATTATTGGATT	828	-
Seq_Ghd7_2	60	GCTTATGCGTACATCTGGATTG	TGGTATATACGCACTGTAATTATCT	457	-
Seq_DTH8	60	ATCTCCTCACCTCCTTTCCTTC	AAACAGCATCAGCATCAACAAT	1,111	-
FM_RFT1	55	AGATAATTAATTGATGCAGGTCAA	CTGCATGCATATACAGCTAGGC	331	<i>Hpy</i> 188 III
FM_EHD1	60	CAGTTGCACCGTCAGTTCATT	CTTGCAATGAGCCACTGAAATA	301	<i>Dde</i> I
FM_HD6	60	TGGTGCATCTTAACAGTGAGC	GCAAGCAGTGAGAATGGTGATA	611	<i>Hind</i> III

<sup>a</sup> Ta, annealing temperature

<sup>b</sup> RE, restriction enzyme

## 結 果

### 一、參試水稻品種於臺灣一期作與二期作環境下之抽穗期變異

本次試驗於兩個期作的插秧日期、幼穗分化時期與抽穗期所遭遇的日長呈現如圖 1，參試品種在 2013 年一期作抽穗前 30 日 (幼穗分化前 10 日) 的日照時數約為 11.9 ~ 12.6 小時；而 2013 年二期作抽穗前 30 日 (幼穗分化前 10 日) 的日照時數則為 12.9 ~ 12.1 小時。由圖 2 顯示，參試粳稻品種於一期作抽穗所需生育日數介於 75 ~ 99 天之間，二期作抽穗所需日數則介於 50 ~ 75 天之間，兩個期作間的抽穗所需日數之相關係數 (Pearson's correlation coefficients) 為 0.819 (圖 2e)；參試秈稻品種於一期作抽穗所需日數介於 83 ~ 106 天之間，二期作抽穗所需日數則介於 54 ~ 90 天之間，兩個期作間的抽穗日數相關係數則為 0.623 (圖 2f)。

### 二、6 個抽穗期基因於參試品種間的基因型調查

前人研究顯示，抽穗期基因 *HD1*、*DTH8* 與 *GHD7* 的編碼區域於品種間具有高度遺傳歧異度<sup>(10,20,21)</sup>。為了判別所有參試品種在這 3 個抽穗期基因是否具有正常功能，實驗以 Sanger 定序方法分析了 *HD1*、*DTH8* 與 *GHD7* 三個基因的編碼區域。結果顯示，

*HDI* 於參試品種間帶有高度遺傳歧異度，於 *HDI* 的編碼區域總共發現了 11 個 SNPs 與 11 個 indels (insertion/deletion)。藉由這些 SNPs 與 indels，可以將所有參試品種的 *HDI* 基因歸納為 20 個單套型 (haplotypes) (圖 3 及表 2)。藉由定序結果顯示，總共有 6 個 Indels 與 1 個 SNP 會導致無義突變 (nonsense mutation) 因而導致 *HDI* 失去正常功能。因此，將帶有該等 6 個 Indels 與 1 個 SNP 的單套型等位基因 (編號 2、4、5、8、9、10、11、14、17、18 與 20) 歸類為不具正常功能的 *HDI* 等位基因，其餘的單套型則被歸類為正常功能的 *HDI* 等位基因。於 *DTH8* 的編碼區域的定序結果，發現 14 個 SNPs 與 5 個 Indels。藉由這些 SNPs 與 Indels，可以將所有參試品種的 *DTH8* 等位基因分為 10 個單套型 (圖 4 及表 2)。其中的 3 個 Indels 會導致無義突變。因此，將帶有這 3 個 Indels 的單套型等位基因 (編號 3、4、5 與 8) 歸類為不具正常功能的 *DTH8* 等位基因。在 *GHD7* 的定序結果中，僅發現 12 個 SNPs；依據此 12 個 SNPs，可將所有 *GHD7* 的編碼區域分為 10 個單套型 (圖 5 及表 2)。然而所有 SNPs 皆無法導致無義突變，因此所有 *GHD7* 的等位基因我們將之判定為具有正常功能。

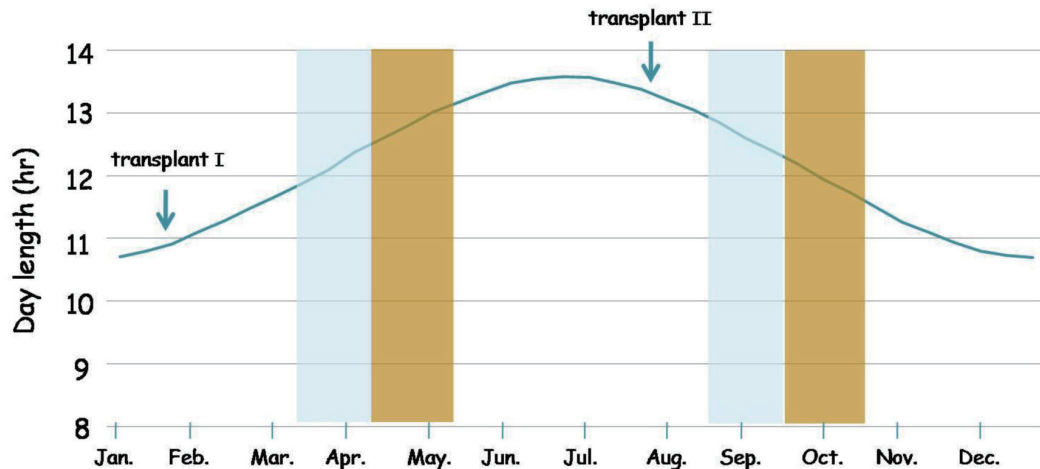


圖 1. 嘉義地區於 1 至 12 月的光週期變化。試驗的第一期作於 2013 年 1 月 24 日插秧；二期作試驗則於 2013 年 7 月 26 日插秧。藍色區間為參試品種在兩個期作分別的幼穗分化時間；黃色區間為參試品種在兩個期作分別的抽穗時間

Fig. 1. Changes in daylength at the growing location. Arrows indicate the transplanted days of each season. Blue boxes represent the period of sensitive to photoperiod of 102 cultivars; Yellow boxes represent the period of heading date of 102 cultivars

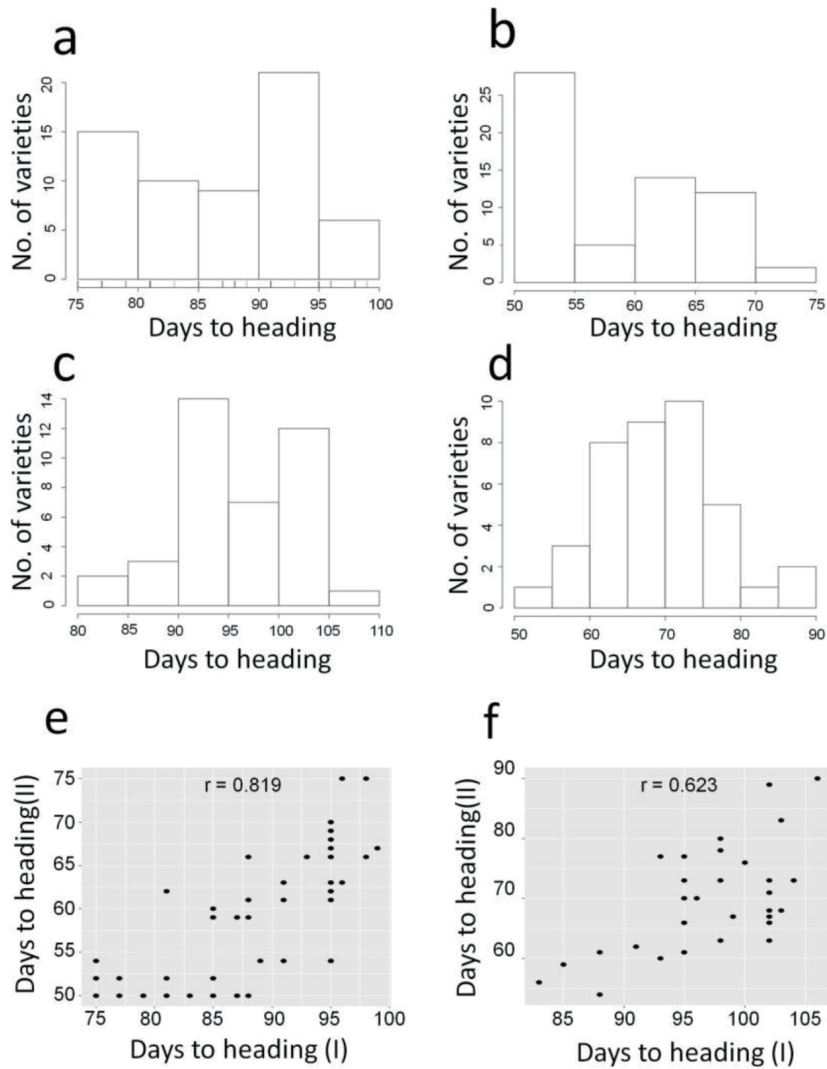


圖 2. 參試稈稻與秈稻品種在兩個期作的抽穗所需生育日數分布圖。a. 參試稈稻品種 ( 品種編號 1 ~ 63 ) 於第一期作抽穗所需日數分布；b. 參試秈稻品種 ( 品種編號 64 ~ 102 ) 於第一期作抽穗所需日數分布；c. 參試稈稻品種 ( 品種編號 1 ~ 63 ) 於第二期作抽穗所需日數分布；d. 參試秈稻品種 ( 品種編號 64 ~ 102 ) 於第二期作抽穗所需日數分布；e. 參試稈稻品種在兩個期作的抽穗所需日數散佈圖；f. 參試秈稻品種在兩個期作的抽穗所需日數散佈圖

Fig. 2. Distribution of the DTH (days to heading). (a) The distribution of DTH among *japonica* varieties (accession numbers: 1~63) in the first crop season. (b) The distribution of DTH among *indica* varieties (accession numbers: 64~102) in the first crop season. (c) The distribution of DTH among *japonica* varieties (accession numbers: 1~63) in the second crop season. (d) The distribution of DTH among *indica* varieties (accession numbers: 64~102) in the second crop season. (e) The scatter plot between DTH of two crop seasons from 63 *japonica* varieties. (f) The scatter plot between DTH of two crop seasons season from 39 *indica* varieties

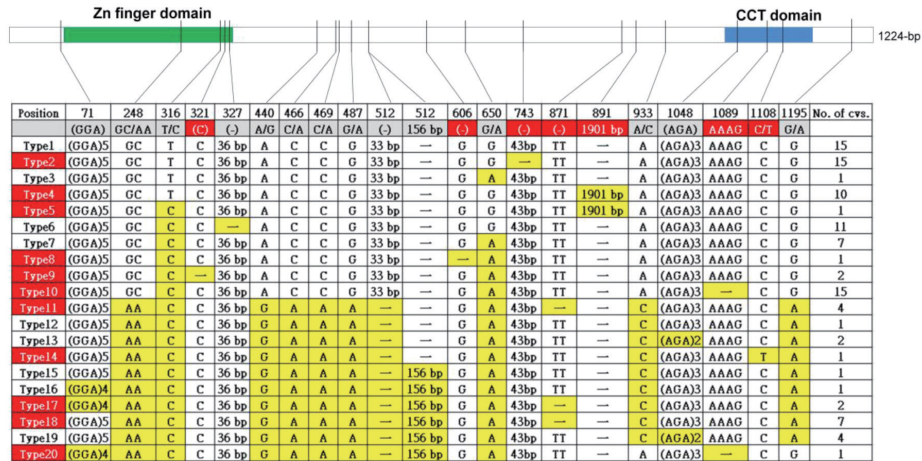


圖 3. 102 個水稻品種在 *HDI* 基因編碼區域的定序結果。Type1 為對照品種 Nipponbare 的基因型。表格最上方數字為此突變在 *HDI* 基因起始密碼子下游核苷酸相對位子。黃色反白表格代表此區間基因型與 Nipponbare 基因型有差異；紅色反白表格代表此變異會導致基因失去正常功能。基因型 Type2、4、5、8、9、10、11、14、17、18 與 20 為不具正常功能的等位基因，其餘基因型則被歸類為具正常功能等位基因

Fig. 3. Haplotype analysis of *HDI* coding region in the 102 cultivars. The nucleotide sequences of all cultivars were compared with Nipponbare (type 1). The Numbers at the top indicate position from ATG start codon. Polymorphic nucleotides are indicated in different colors. The locations of frameshift mutation or premature stop which cause loss of function are shown in red color. Type 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 14, 17, 18 and 20 are identified as nonfunctional alleles

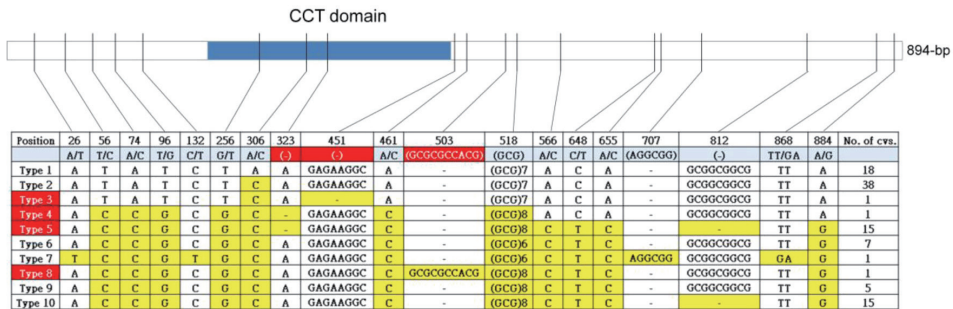


圖 4. 102 個水稻品種在 *DTH8* 基因編碼區域的定序結果。Type1 為對照品種 Nipponbare 的基因型。表格最上方數字為此突變在 *DTH8* 基因起始密碼子下游核苷酸相對位子。黃色反白表格代表此區間基因型與 Nipponbare 基因型有差異；紅色反白表格代表此變異會導致基因失去正常功能。基因型 Type3、4、5 與 8 為不具正常功能的等位基因，其餘基因型則被歸類為具正常功能等位基因

Fig. 4. Haplotype analysis of the *DTH8* coding region in the 102 cultivars. The nucleotide sequences of all cultivars were compared with Nipponbare (type 1). The Numbers at the top indicate position from ATG start codon. Polymorphic nucleotides are indicated in different colors. The locations of frameshift mutation or premature stop that cause loss of protein function are shown in red color. Type 3, 4, 5 and 8 are identified as nonfunctional alleles

表 2. 102 個參試品種在兩期作的抽穗所需生育日數與 6 個抽穗期基因的單套型種類。灰色反白顯示為不具正常功能的等位基因

Table 2. The haplotypes of 6 heading day genes and days to heading in 102 rice cultivars. Grey highlight represents nonfunctional alleles

ID	variety	<i>Japonica</i>	<i>Indica</i>	<i>HD6</i>	<i>EHD1</i>	<i>DTH8</i>	<i>HD1</i>	<i>RFT1</i>	<i>GHD7</i>	heading (I)	heading (II)
1	良稔	V		II	I	I	VI	I	I	75	50
2	福錦	V		II	I	I	I	I	I	77	50
3	奧羽 342	V		II	I	I	VI	I	I	77	50
4	飛鳥稔	V		II	I	I	VI	I	I	77	50
5	越光	V		II	I	II	VI	I	I	75	50
6	臺中 191	V		II	I	II	VI	I	I	79	50
7	絹光	V		II	I	II	VI	I	I	81	50
8	秋光	V		II	I	II	XIX	I	I	85	52
9	日本晴	V		II	I	I	I	I	I	75	54
10	Pegonil (大粒)	V		II	I	I	XIX	I	I	79	50
11	BL 1	V		I	I	I	I	I	I	75	50
12	Kitakaori	V		I	I	I	I	I	I	83	50
13	北陸 100	V		I	I	I	VI	I	I	81	50
14	栃木酒 14	V		I	I	I	I	I	I	77	50
15	夢光	V		I	I	II	VI	I	I	81	50
16	南錦	V		I	I	I	I	I	I	77	52
17	立見糯	V		I	I	I	XIX	I	I	77	50
18	Lomello-1	V		I	I	I	XIX	I	I	81	52
19	Khao-lo-1	V		I	I	II	XV	I	I	81	62
20	臺梗 1 號	V		II	II	II	VI	I	I	85	59
21	高雄 141 號	V		II	II	II	I	I	I	87	59
22	高雄 142 號	V		II	II	II	I	I	I	87	59
23	臺南 13 號	V		II	II	II	VI	I	I	88	59
24	臺中 192 號	V		II	II	VI	I	I	I	95	61
25	臺梗 11 號	V		II	II	II	I	I	I	88	61
26	高雄選 1 號	V		II	II	II	I	I	I	85	60
27	桃園 4 號	V		I	II	I	VI	I	I	91	61
28	臺東 32 號	V		I	II	II	I	I	I	98	66
29	臺梗 12 號	V		I	II	VI	I	I	I	98	66
30	臺農 37 號	V		I	II	I	I	I	I	88	66
31	嘉農 242 號	V		I	II	II	I	I	I	99	67
32	心町	V		II	I	II	II	I	I	85	50
33	千代錦	V		II	I	II	II	I	I	87	50
34	加賀光	V		II	I	II	II	I	I	88	50
35	龍錦 1 號	V		I	I	I	II	I	I	75	52
36	藤坂 5	V		I	I	II	II	I	I	77	50
37	山形酒 49	V		I	I	II	II	I	I	88	50



表 2. 102 個參試品種在兩期作的抽穗所需生育日數與 6 個抽穗期基因的單套型種類。灰色反白顯示為不具正常功能的等位基因 (續)

Table 2. The haplotypes of 6 heading day genes and days to heading in 102 rice cultivars. Grey highlight represents nonfunctional alleles (continued)

ID	variety	<i>Japonica</i>	<i>Indica</i>	<i>HD6</i>	<i>EHD1</i>	<i>DTH8</i>	<i>HD1</i>	<i>RFT1</i>	<i>GHD7</i>	heading (I)	heading (II)
38	高雄 144	V		I	I	II	II	I	I	95	54
39	Vandana	V		I	I	X	XI	I	I	75	54
40	オオチカラ	V		I	I	II	II	I	I	89	54
41	オオチクス	V		I	I	II	II	I	I	91	54
42	Aromatic	V		I	I	II	XVIII	I	I	95	63
43	臺農 72 號	V		II	II	II	IV	I	I	95	61
44	高雄 146	V		II	II	I	II	I	I	95	61
45	高雄 145 號	V		II	II	II	IV	I	I	91	63
46	桃園 1 號	V		II	II	II	II	I	I	95	66
47	桃園 3 號	V		II	II	II	II	I	I	95	62
48	臺梗 14 號	V		II	II	VI	IV	I	I	95	63
49	臺農 71 號香米	V		II	II	II	II	I	I	91	61
50	臺梗 5 號	V		II	II	II	IV	I	I	93	66
51	臺梗 16 號	V		I	II	II	IV	I	I	95	68
52	臺南 11 號	V		I	II	I	XVIII	I	I	95	69
53	臺東 30 號	V		I	II	II	IV	I	I	95	70
54	臺農 68 號	V		I	II	II	V	I	II	95	70
55	高雄 139 號	V		I	II	II	II	I	I	96	75
56	臺農 75 號	V		I	II	II	IV	I	I	98	75
57	臺中 194 號	V		I	II	II	XVIII	I	I	96	63
58	臺梗 9 號	V		I	II	VI	XVIII	I	I	95	66
59	臺南 14 號	V		I	II	II	IV	I	I	91	61
60	臺梗 8 號	V		I	II	II	XVIII	I	I	95	67
61	臺中 65 號	V		I	II	II	IV	I	I	91	61
62	日矮梗糯 (直)	V		II	II	IV	IV	I	I	95	67
63	大理早秈	V		I	I	III	II	I	I	77	52
64	IR72		V	I	I	V	X	II	X	102	68
65	臺農秈 12 號		V	I	I	V	XVII	II	IV	95	70
66	臺農秈 18 號		V	I	I	V	X	II	X	102	73
67	高雄秈 7 號		V	I	I	V	X	II	VII	102	73
68	臺中秈 5 號		V	I	I	X	X	II	X	95	73
69	嘉農秈 6 號		V	I	I	X	X	II	X	98	80
70	SAHEL 108		V	I	I	X	X	II	X	103	83
71	臺農秈 14 號		V	I	I	V	VII	II	IV	102	73
72	臺農秈 19 號		V	I	I	V	VII	II	IV	100	76
73	NonaBokra		V	I	I	X	VII	II	X	102	89
74	Prenifull		V	I	I	IX	XII	II	III	106	90

表 2. 102 個參試品種在兩期作的抽穗所需生育日數與 6 個抽穗期基因的單套型種類。灰色反白顯示為不具正常功能的等位基因 (續)

Table 2. The haplotypes of 6 heading day genes and days to heading in 102 rice cultivars. Grey highlight represents nonfunctional alleles (continued)

ID	variety	<i>Japonica</i>	<i>Indica</i>	<i>HD6</i>	<i>EHD1</i>	<i>DTH8</i>	<i>HD1</i>	<i>RFT1</i>	<i>GHD7</i>	heading (I)	heading (II)
75	臺秈糯 2 號		V	I	I	V	X	I	X	95	61
76	臺中秈 16 號		V	I	I	V	X	I	VI	95	61
77	中秈育 962024		V	I	I	V	XVII	I	VI	98	63
78	中秈育 112		V	I	I	V	X	I	VII	102	71
79	IR75286-AC5		V	I	I	VI	XVIII	I	X	88	54
80	DULAR		V	I	I	IX	XI	I	I	83	56
81	Kasalath		V	I	I	IX	XI	I	VIII	95	61
82	臺農秈糯 2 號		V	I	I	X	X	I	X	88	61
83	撰 9		V	I	I	X	XI	I	X	88	61
84	關東 154		V	I	I	VII	XVIII	I	X	91	62
85	嘉農秈糯育 892239		V	I	I	X	X	I	X	95	66
86	CT9159-13-2-2-1		V	I	I	X	VIII	I	X	103	68
87	高秈糯育 1290		V	I	I	VI	X	I	X	95	70
88	嘉農秈糯育 892220		V	I	I	X	IX	I	X	96	70
89	日本紫香糯		V	I	I	X	IX	I	VI	104	73
90	IR841-85		V	I	I	X	X	I	X	95	73
91	臺農秈 15 號		V	I	I	X	X	I	X	95	73
92	臺農秈 20 號		V	I	I	X	XX	I	X	98	73
93	IR71694-39-2-5-2		V	I	I	VI	XIV	I	X	93	77
94	陸 Auar-97		V	I	I	X	X	I	X	98	78
95	秈早糯		V	I	I	V	VII	I	X	85	59
96	Pokhrel		V	I	I	VIII	VII	I	X	93	60
97	臺中在來 1 號		V	I	I	V	VII	I	IV	102	63
98	臺中秈 10 號		V	I	I	V	XVI	I	V	102	66
99	Hseng-Ma-Tsam		V	I	I	V	III	I	V	99	67
100	臺中秈 17 號		V	I	I	V	VII	I	IV	102	67
101	BASMATI 370 A		V	I	I	IX	XIII	I	IX	95	73
102	Basmati T3		V	I	I	IX	XIII	I	X	95	77

相較於 *HD1*、*DTH8* 與 *GHD7* 的編碼區域，抽穗期基因 *EHD1*、*RFT1* 與 *HD6* 的編碼區域於品種間則具有高度保留特性<sup>(3,14,17)</sup>。因此，我們則以自行設計的 3 個功能性分子標誌 (Functional markers) 針對 *EHD1*、*RFT1* 與 *HD6* 進行分析，藉以判定基因是否帶有正常功能。實驗結果顯示，抽穗期基因 *EHD1* 與 *HD6* 於所有參試的秈稻品種當中皆具有正常功能；而抽穗期基因 *RFT1* 則於所有參試的粳稻品種當中皆具有正常功能 (表 2)。

綜合上述結果發現，參試粳稻品種與秈稻品族群間各自帶有不同抽穗期基因的

對偶基因型變異，參試硬稻品種中，僅 *HD1*、*HD6*、*DTH8* 與 *EHD1* 在品種間具有對偶基因型的變異 ( 具功能等位基因與不具功能等位基因 )；而參試秈稻品種中，僅 *HD1*、*DTH8* 與 *RFT1* 在品種間具有對偶基因型的變異。由於秈稻與硬稻間的遺傳背景與抽穗期變異不同，因此後續水稻的抽穗期基因型與外表型關聯性分析時，將採硬稻與秈稻品種分開分析。

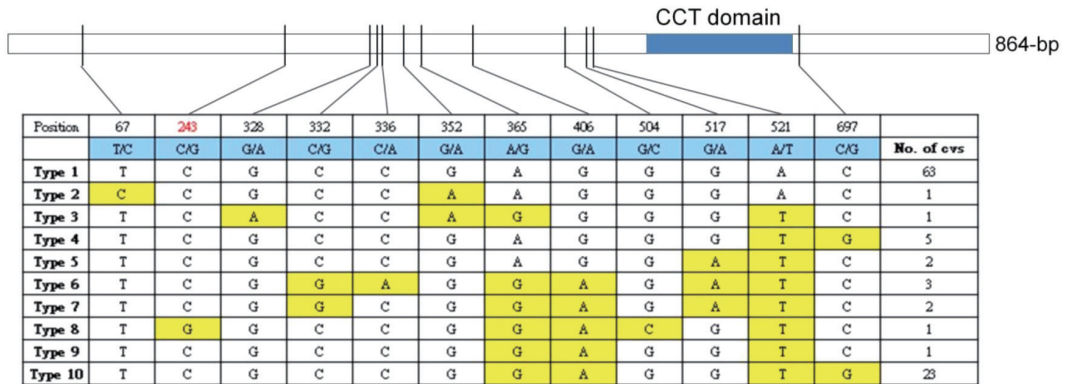


圖 5. 102 個水稻品種在 *GHD7* 基因編碼區域的定序結果。Type1 為對照品種 Nipponbare 的基因型。表格最上方數字為此突變在 *GHD7* 基因起始密碼子下游核苷酸相對位子。黃色反白表格代表此區間基因型與 Nipponbare 基因型有差異。所有基因型皆被歸類為具正常功能等位基因

Fig. 5. Haplotype analysis of the *GHD7* coding region in the 102 cultivars. The nucleotide sequences of all cultivars were compared with Nipponbare (type 1). The Numbers at the top indicate position from ATG start codon. Polymorphic nucleotides are indicated in yellow. No SNPs were caused premature stop and identified as nonfunctional allele

### 三、*EHD1*、*HD1*、*HD6* 對於參試硬稻抽穗期之影響

在參試硬稻品種中，僅 *HD1*、*HD6*、*DTH8* 與 *EHD1* 在參試硬稻品種中具有對偶基因型的變異 ( 具功能等位基因與不具功能等位基因 )，而 *DTH8* 在參試硬稻品種中僅有日矮硬稻與大理早秈帶有具功能等位基因型，*DTH8* 在不同對偶基因型樣品數的差異過大，無法進行有效的統計分析，因此在接下來硬稻品種抽穗期基因型與外表型的關聯性分析時，僅對 *HD1*、*HD6* 與 *EHD1* 進行關聯性分析。

實驗將 *EHD1*、*HD1* 與 *HD6* 等三個基因的等位基因，歸納為具功能等位基因與不具功能等位基因。為了瞭解 *EHD1*、*HD1* 與 *HD6* 三個基因對水稻抽穗期的影響，我們將上述 3 個基因作為完全隨機設計的三個因子，每個因子則包含兩個變級 ( 具功能等位基因與不具功能等位基因 )，並以 2013 年第一期作與第二期作當作抽穗所需日數的觀測值進行變方分析。

分析結果顯示，*EHD1* 與 *HD1* 抽穗期基因的效應在兩個期作均顯著 ( $P < 0.05$ )，*HD6* 抽穗期基因則只有在第二期作效應顯著，三個基因의 交感效應無論在一期作與二期作均不顯著。接著，在一期作中將 *EHD1* 與 *HD1* 抽穗期基因做為自變數，一期作所需抽穗日數作為應變數進行複回歸分析；在第二期作中將 *EHD1*、*HD1* 與 *HD6* 抽穗期基因做為自變數，第二期作所需抽穗日數作為應變數進行複回歸分析。試驗結果顯示，

*EHD1* 與 *HD1* 兩個抽穗期基因可以共同解釋 69.0% 的一期作參試粳稻抽穗期變異，*EHD1*、*HD1* 與 *HD6* 三個抽穗期基因可以共同解釋 81.3% 的二期作參試粳稻抽穗期變異。*EHD1* 基因於兩個期作則分別可以解釋 58.8% 與 73.2% 族群間抽穗所需日數的變異，具功能的 *EHD1* 等位基因於兩個期作分別可使參試粳稻提早 11.9 與 12.6 天抽穗。*HD1* 基因於兩個期作分別可以解釋 24.2% 與 14.1% 族群間抽穗日數的變異，具功能的 *HD1* 等位基因於兩個期作分別可導致水稻提早 7.6 與 5.5 天抽穗。*HD6* 基因於第二期作可以解釋 3.4% 族群間抽穗日數的變異。*HD6* 在 *EHD1* 功能正常的狀況下，對參試粳稻的抽穗期影響不大，然而具功能的 *HD6* 等位基因在 *EHD1* 功能異常狀況下 (臺灣粳稻品種皆帶有 *EHD1* 功能異常的等位基因)，會導致第二期作水稻延遲 5.2 天抽穗。一期作參試粳稻抽穗所需日數在不同 *EHD1* 與 *HD1* 對偶基因型族群的分佈如圖 6a；二期作參試粳稻抽穗所需日數在不同 *EHD1*、*HD1* 與 *HD6* 對偶基因型族群的分佈如圖 6b。

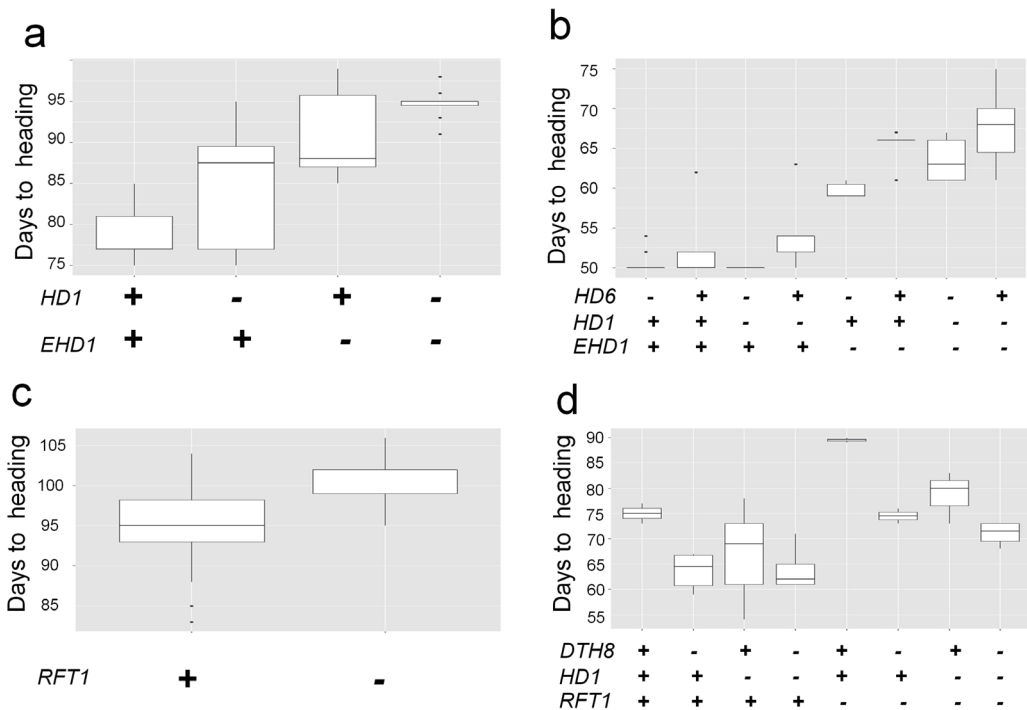


圖 6. 秈稻與粳稻的各種基因型組合，分別在一期作與二期作的抽穗所需生育日數。a 參試粳稻品種於第一期作抽穗所需日數；b 參試粳稻品種於第二期作抽穗所需日數；c 參試秈稻品種於第一期作抽穗所需日數；d 參試秈稻品種於第二期作抽穗所需日數。+ 代表此抽穗期基因帶有正常功能的等位基因座；- 代表此抽穗期基因帶有不具正常功能的等位基因座

Fig. 6. Days to heading (DTH) of each group among two crop seasons. (a) DTH of *japonica* cultivars in the first crop season. (b) DTH of *japonica* cultivars in the second crop season. (c) DTH of *indica* cultivars in the first crop season. (d) DTH of *indica* cultivars in the second crop season. Plus signs indicate the functional allele; Minus signs indicate the nonfunctional allele

#### 四、*DTH8*, *HDI*, *RFT1* 對於參試秈稻抽穗期之影響

相較於粳稻參試品種，所有參試的 39 個秈稻品種均帶有正常功能的 *HD6*、*GHD7* 與 *EHD1* 等位基因，而抽穗期基因 *RFT1*、*HDI* 與 *DTH8* 於品種間則具有較高的遺傳歧異度。因此，我們將 *RFT1*、*HDI* 與 *DTH8* 的等位基因歸納為具功能等位基因與不具功能等位基因。為了瞭解 *RFT1*、*HDI* 與 *DTH8* 三個基因對水稻抽穗期的影響，我們將上述 3 個基因型資料與參試秈稻的抽穗期結果進行變方分析與複迴歸分析。結果發現，2013 年第一期作僅抽穗期基因 *RFT1* 處理效應顯著 ( $P < 0.05$ )，*RFT1* 於第一期作可解釋 19.9% 參試秈稻抽穗期的變異，具功能的 *RFT1* 等位基因會促進水稻提早 5.4 天抽穗。在 2013 年第二期作資料中，三個抽穗期基因 *RFT1*、*HDI* 與 *DTH8* 的效應均為顯著 ( $P < 0.05$ )，但抽穗期間的交感效應均不顯著，三個抽穗期基因可共同解釋 54.8% 參試秈稻於二期作的抽穗期變異。*RFT1* 的效應可以解釋 33.6% 參試秈稻於二期作的抽穗期變異，具有正常功能的 *RFT1* 等位基因可促進水稻提早 10.5 天抽穗。*DTH8* 則可以解釋 7.1% 參試秈稻於二期作的抽穗期變異，具有正常功能的 *DTH8* 等位基因會導致水稻延遲 4.4 天抽穗。*HDI* 可以解釋 3.0% 參試秈稻於二期作的抽穗期變異，具有正常功能的 *HDI* 等位基因會導致水稻延遲 3.1 天抽穗。一期作參試秈稻抽穗所需日數在不同 *RFT1* 對偶基因型族群的分佈如圖 6c；二期作參試秈稻抽穗所需日數在不同 *RFT1*、*HDI* 與 *DTH8* 對偶基因型族群的分佈如圖 6d。

## 討 論

臺灣屬於亞熱帶地區，主要栽培粳稻品種，位處全世界粳稻栽培生產的最低緯度；加以臺灣每年兩期作的稻作生產制度，水稻生產所遭遇的光週環境有所不同，可能會導致各種抽穗期基因有不同的調控反應。本研究調查了秈稻與粳稻品種分別在臺灣兩個期作栽培的抽穗期分佈，結果顯示，無論是在秈稻或粳稻族群，由於第二期作水稻營養生長期氣溫較高，較快累積植物生長所需生育積溫度數，因此二期作的抽穗所需日數均低於一期作。此外，粳稻品種在兩個期作的抽穗所需生育日數的相關係數較高 (0.819)，顯然參試粳稻品種對於臺灣兩個期作間的光週期反應較為一致。相較之下，秈稻品種對於臺灣兩個期作間的光週期反應差異較大 (相關係數 = 0.623)，推測兩個不同期作的光週期在秈稻品種的遺傳背景下有著明顯不同的調控機制。

*HDI* 是最早被選殖出來的水稻抽穗期基因<sup>(21)</sup>，無論是前人研究或本研究的分析結果皆顯示 *HDI* 基因在秈稻與粳稻品系當中都存在相當大的遺傳歧異度<sup>(17,13)</sup>。於 Takahashi 等人 (2009) 研究中總共發現了 17 個 *HDI* 的單套型，並發現有 4 個 Indels 與 1 個 SNP 會導致無義突變<sup>(17)</sup>。而本研究進行分析 102 個品系的 *HDI* 基因編碼區域，結果總共發現了 20 個單套型，與 Takahashi 等人 (2009) 文章相較，增加 2 個會導致移碼突變的 Indels。此外，於前人研究發現，*HDI* 於短日環境下會促進開花，而 *HDI* 於長日環境下則反而會抑制開花<sup>(6,17,21)</sup>。在本次試驗中發現具有正常功能的 *HDI* 基因於參試粳稻遺傳背景中，無論是在一期作或二期作之光週條件下，都可以使水稻提早抽穗，因此推測本次參試的粳稻品種的 *HDI* 基因，在臺灣一期與二期稻作環境下皆具有與文獻上短日條件相同的基因調控機制。有趣的是，在所有參試的秈稻遺傳背景下，*HDI* 在一期作對水稻抽穗日數無顯著影響，而 *HDI* 在

二期作環境下則會延遲水稻幼穗分化，因此秈稻遺傳背景下的 *HD1* 基因，在二期作環境下的光週期表現機制與文獻中長日照的調控機制相同。綜合以上結果顯示，*HD1* 對於長日與短日光週的感受，會受到其自身所帶有的遺傳背景所影響。

*DTH8* 基因於前人研究顯示能在長日照條件下抑制水稻抽穗，定序結果則發現 *DTH8* 的編碼區域在水稻品種間具有高度的遺傳變異<sup>(2,18)</sup>。於本試驗當中，總共發現了 10 個單套型，與 Dai 等人 (2012) 相比<sup>(2)</sup>，多發現了 2 個會導致移碼突變的 Indels。此外，在秈稻遺傳背景當中，具有正常功能的 *DTH8* 基因在臺灣第二期作栽培環境下可延遲水稻抽穗。此現象與文章當中 *DTH8* 基因於長日狀況的調控機制一致<sup>(2,18)</sup>。

*EHD1* 與 *HD6* 兩抽穗期基因於本次參試秈稻品種當中皆為具有正常功能的等位基因，而於參試粳稻當中則普遍具有正常與不具功能的 2 種等位基因。*EHD1* 基因型分析結果顯示，臺灣所有粳稻品種皆帶有不具功能的 *EHD1* 等位基因 (*ehd1-T65*)。相較於帶有 *EHD1* 正常功能的日本粳稻，不具功能的 *EHD1* 等位基因於日長相對較短的臺灣兩期稻作環境下，可降低由短日環境而促進早熟的环境敏感性，讓適應於長日環境下種植的粳稻，在臺灣短日照環境下，仍不致於過度早熟，而維持較長之生育日數。具有較長生育日數的水稻品種於臺灣一期與二期作生長環境之下，乾物重與產量表現較佳，因此在長期著重於產量育種目標的選拔結果下，導致所有臺灣粳稻皆帶有不具功能的 *EHD1* 等位基因 (*ehd1-T65*)。前人研究顯示，*HD6* 在長日照環境下會藉由調控 *HD1* 基因來抑制水稻開花<sup>(14)</sup>。於本次試驗結果亦顯示，相較於 *HD1* 與 *EHD1*，*HD6* 在臺灣栽培環境下對抽穗期的影響相對較小，原因可能在於臺灣一期與二期作的光週期相較於前人研究所使用的長日照 (14 hours) 來的短，因此 *HD6* 對抽穗日數的影響相對不大。然而，我們發現到，具正常功能的 *HD6* 在 *EHD1* 基因功能缺失的粳稻品種中，無論是一期作或是二期作都具有明顯延遲水稻開花的現象 (一期作延遲 3.5 天；二期作延遲 5.2 天)，由於臺灣粳稻均為不具正常功能的 *EHD1* 等位基因 (*ehd1-T65*)，因此，*HD6* 對臺灣粳稻品種抽穗期的影響還是扮演舉足輕重的角色。

*RFT1* 是阿拉伯芥 FT 在水稻的同源基因，與 *HD3A* 在水稻抽穗期性狀上扮演著相似的角色，*RFT1* 為水稻在長日照環境下開花機制的啟動基因<sup>(6,15)</sup>。在本試驗 102 個參試水稻品種當中，僅發現 11 個秈稻品種帶有 *RFT1* 的變異 E105k，其中臺灣秈稻品種則佔了 7 個。前人研究顯示，在長日照環境下，當品種同時帶有正常功能的 *HD1* 與 E105k 變異時會極度延遲水稻幼穗分化<sup>(15)</sup>。於本次研究當中發現 E105k 變異無論在一二期作都會導致水稻抽穗期延遲的現象，尤其在二期作對抽穗期的延遲會更加明顯。

前人研究發現，*GHD7* 的編碼區域相較於 *HD3A*、*EHD1*、*HD6* 與 *RFT1* 具有較大的遺傳變異<sup>(10)</sup>，因此本試驗亦針對 *GHD7* 的編碼區域在 102 個參試品種當中進行核酸定序。定序結果顯示，102 個品種在 *GHD7* 的編碼區域均未發現會導致無義突變的核酸變異。不具正常功能的 *GHD7* 往往僅出現在高緯度地區 (如：日本北海道與中國黑龍江)，因為地處高緯度所能種植水稻的生育日數較短，因此適合栽種帶有 *GHD7* 功能異常的品種來縮短水稻生育所需日數<sup>(10)</sup>。本試驗的參試品種由於缺乏來自高緯度地區的水稻品種，因此未偵測到不具正常功能的 *GHD7* 等位基因，也因此無法了解不同 *GHD7* 等位基因在臺灣兩個期作栽培環境下對水稻生育日數的影響。

## 結 論

本研究藉由調查 102 個國內外水稻品種在 *HD6*、*EHD1*、*RFT1*、*HD1*、*DTH8* 與 *GHD7* 基因上的變異，以了解這 6 個抽穗期基因的不同等位基因，於臺灣一期與二期作環境下對水稻生育日數的影響。雖然參試梗稻與秈稻族群在臺灣一期作與二期作的抽穗所需日數分布差異不大，然而藉由品種間 6 個抽穗期基因的等位基因型分析，發現導致梗稻與秈稻族群內抽穗所需日數差異的調控機制有所不同。在參試梗稻族群內的第一期作抽穗期差異，主要是由 *EHD1* 與 *HD1* 的等位基因差異所導致，兩個基因共可解釋參試梗稻 69.6% 的一期作抽穗期變異；而梗稻族群內的第二期作抽穗期差異，主要是由 *EHD1*、*HD1* 與 *HD6* 的等位基因差異所導致，三個抽穗期基因可共同解釋 81.3% 的二期作抽穗期變異；秈稻族群內的抽穗期差異主要是由 *DTH8*、*HD1* 與 *RFT1* 的等位基因差異所導致，三個基因於一期作的生育環境下，僅 *RFT1* 的等位基因差異會顯著影響秈稻品種間的抽穗所需日數，於二期作生育環境下，*DTH8*、*HD1* 與 *RFT1* 個別的等位基因差異皆會影響秈稻品種間的抽穗所需日數，並且能共同解釋 54.8% 參試秈稻於二期作的抽穗期變異。雖然這樣的研究方法可能會受到水稻品種所帶有的不同遺傳背景影響，而導致試驗結果稍有差異，然而本研究依然可以提供臺灣水稻育種研究者從事育種規劃時的親本選擇依據。

## 引用文獻

1. 王聖善、陳榮坤、楊藹華、羅正宗。2019。2014。臺灣常見稻種之產量相關等位基因型調查。臺南區農業改良場研究彙報 64：56-74。
2. Dai X., Y. Ding, L. Tan, Y. Fu, F. Liu, Z. Zhu, X. Sun, X. Sun, P. Gu, H. Cai and C. Sun. 2012. *LHD1*, an allele of *DTH8/Ghd8*, controls late heading date in common wild rice (*Oryza rufipogon*). *J. Integr. Plant Biol.* 54: 790-799.
3. Doi K., T. Izawa, T. Fuse, U. Yamanouchi, T. Kubo, Z. Shimatani, M. Yano and A. Yoshimura. 2004. *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.* 18: 926-936.
4. Ebana K., T. Shibaya, J. Wu, K. Matsubara, H. Kanamori, H. Yamane, U. Yamanouchi, T. Mizubayashi, I. Kono, A. Shomura, S. Ito, T. Ando, K. Hori, T. Matsumoto and M. Yano. 2011. Uncovering of major genetic factors generating naturally occurring variation in heading date among Asian rice cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 122: 1199-210.
5. Hori K., E. Ogiso-Tanaka, K. Matsubara, U. Yamanouchi, K. Ebana and M. Yano. 2013. *HD16*, a gene for casein kinase I, is involved in the control of rice flowering time by modulating the day-length response. *The Plant J.* 76: 36-46.
6. Kojima S., Y. Takahashi, Y. Kobayashi, L. Monna, T. Sasaki, T. Araki and M. Yano. 2002. *HD3A*, a rice ortholog of the Arabidopsis *FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *HD1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol.* 43: 1096-1105.
7. Komiya R., S. Yokoi and K. Shimamoto. 2009. A gene network for long-day flowering, activates *RFT1* encoding a mobile flowering signal in rice. *Development.* 136: 3443-3450.

8. Koo B. H., S. C. Yoo, J. W. Park, C. T. Kwon, B. D. Lee, G. An, Z. Zhang, J. Li, N. C. Paek. 2013 Natural variation in *OsPRR37* regulates heading date and contributes to rice cultivation at a wide range of latitudes. *Molecular Plant* 6: 1877-1888.
9. Liu L., G.A. Lee, L. Jiang and J. Zhang. 2007. Evidence for the early beginning (c. 9000 cal. BP) of rice domestication in China: A response. *The Holocene*. 17: 1059-1068.
10. Lu L., W. Yan, W. Xue, D. Shao and Y. Xing. 2012. Evolution and association analysis of *GHD7* in rice. *PLoS ONE* 7: e34021.
11. Molina J., M. Sikorab, N. Garudb, J.M. Flowersa, S. Rubinsteina, A. Reynoldsb, P. Huangc, S. Jackson, B.A. Schaalc and C.D. Bustamanteb *et al.* 2011. Molecular evidence for a single evolutionary origin of domesticated rice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 8351-8356.
12. Murrery M.G. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8 :4321-4325.
13. Naranjo L., M. Talón and C. Domingo. 2014. Diversity of floral regulatory genes of *japonica* rice cultivated at northern latitudes. *BMC Genomics* 15: 101-111.
14. Ogiso E., Y. Takahashi, T. Sasaki, M. Yano, and T. Izawa. 2010. The role of Casein Kinase II in flowering time regulation has diversified during evolution. *Plant Physiol.* Vol. 152, pp. 808-820.
15. Ogiso-Tanaka E., K. Matsubara, S.I. Yamamoto, Y. Nonoue, Wu J, Fujisawa H, Ishikubo H, Tanaka T, Ando T and Matsumoto *et al.* 2013. Natural variation of the RICE *FLOWERING LOCUS T1* contributes to flowering time divergence in rice. *PloS One*. 8: e75959.
16. Takahashi Y., A. Shomura, T. Sasaki and M. Yano. 2001. *HD6*, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the alpha subunit of protein kinase CK2 $\alpha$ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 7922-7927.
17. Takahashi Y., K. M. Teshima, S. Yokoi, H. Innan and K. Shimamoto. 2009. Variations in *HDI* proteins, *HD3A* promoters, and *EHD1* expression levels contribute to diversity of flowering time in cultivated rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 4555-4560.
18. Wei X., J. Xu, H. Guo, L. Jiang, S. Chen, C. Yu, Z. Zhou, P. Hu, H. Zhai and J. Wan. 2010. *DTH8* suppresses flowering in rice, influencing plant height and yield potential simultaneously. *Plant Physiol.* 153: 1747-1758.
19. Xue W., Y. Xing, X. Weng, Y. Zhao, W. Tang, L. Wang, H. Zhou, S. Yu, C. Xu, X. Li and Q. Zhang. 2008. Natural variation in *GHD7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat. Genet.* 40: 761-767.
20. Yan W. H., P. Wang, H. X. Chen, H. J. Zhou, Q. P. Li, C. R. Wang, Z. H. Ding, Y. S. Zhang, S. B. Yu and Y. Z. Xing. 2011. A major QTL, *Ghd8*, plays pleiotropic roles in regulating grain productivity, plant height, and heading date in rice. *Mol. Plant* 4: 319-330.
21. Yano M., Y. Katayose, M. Ashikari, U. Yamanouchi, L. Monna, F. Takuichi, T. Baba, K. Yamamoto, Y. Umehara, Y. Nagamura and T. Sasaki. 2000. *HDI*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell* 12: 2473-484.



# Diversity of floral regulatory genes contribute to various heading date of rice cultivars in Taiwan<sup>1</sup>

Wang, S. S. and R. K. Chen<sup>2</sup>

## Abstract

Days to heading (DTH) is an important trait in rice breeding program. In order to understand how rice genetic diversity affects variation of heading date in Taiwan, we investigated the days to heading of 102 accessions in two cropping seasons, and the genetic diversity of 6 genes, *HD1*, *HD6*, *EHD1*, *GHD7*, *RFT1*, and *DTH8*. Our results indicated that the genetic diversity of five genes, *HD1*, *HD6*, *EHD1*, *RFT1*, and *DTH8* was associated with variation of DTH. For *japonica* accessions, allelic diversity of *EHD1*, *HD6*, and *HD1* genes resulted in the variation of DTH: the genetic diversity of *EHD1* and *HD1* explained 69.0% phenotypic variation of DTH in the first cropping season, and the diversity of *EHD1*, *HD6*, and *HD1* explained 81.3% phenotypic variation of DTH in the second season. For *indica* accessions, allelic diversity of *RFT1*, *DTH8*, and *HD1* genes led to the variation of DTH: the genetic diversity of *RFT1* explained 19.9% phenotypic variation of DTH in the first cropping season, and the diversity of *RFT1*, *DTH8*, and *HD1* explained 54.8 % phenotypic variation of DTH in the second season. Our findings provide genetic information and technical protocols to predict DTH in rice based on the allelic combination of these five genes. It allows plant breeders to choose proper genetic materials in a rice breeding project, and hence to increase breeding efficiency.

### What is already known on this subject?

To date, several genes for days to heading (DTH) have been identified from natural variations, but only few genes were applied in rice breeding programs by using marker-assisted selection.

### What are the new findings?

In the current study, we figure out the relationship between the DTH and genetic diversity of 6 floral regulatory genes in our ecological conditions.

### What is the expected impact on this field?

Our finding would be helpful to improve rice breeding efficiency in Taiwan.

**Key words:** Days to Heading, floral regulatory genes

Accepted for publication: June 14, 2021

---

1. Contribution No. 531 from Tainan District Agricultural Research and Extension Station.

2. Assistant Researcher, Associate Researcher and Branch station Director, Tainan District Agricultural Research and Extension Station. 70 Muchang, Hsinhua, Tainan 712, Taiwan, R.O.C.