

水稻温度超敏突变体*ths1*的鉴定和基因定位

徐纪明, 姜小燕, 赵鹏, 于亚男, 毛传澡, 吴忠长*

浙江大学生命科学院, 杭州310058

摘要: 从籼稻品种‘Kasalath’甲基磺酸乙酯(ethyl methanesulfonate, EMS)诱变突变体库中筛选到一个温度敏感突变体*ths1* (*temperature hyper-sensitive 1*)。与野生型相比, 突变体*ths1*的主根伸长和侧根发育对温度变化非常敏感: 在30°C条件下*ths1*表型与野生型一致; 在温度低于26°C时, *ths1*主根变短, 侧根缺失。在低温(24°C)条件下*ths1*侧根原基停留在原基起始阶段, 根尖ROS含量显著高于野生型。遗传分析显示, *ths1*表型由半显性单基因控制。利用F₂群体对*ths1*基因进行定位, 将突变基因定位在第1染色体长臂着丝粒附近C01M14到RM11110两个标记之间的694 kb区间。研究结果为进一步克隆*THS1*基因, 揭示植物感受外界温度变化的分子生理机制奠定基础。

关键词: 水稻; 温度敏感; 侧根; 基因定位

水稻(*Oryza sativa*)是世界上第二大粮食作物, 也是中国最主要的粮食作物之一。水稻起源于热带和亚热带且具有光温敏感性, 极易受到温度的影响。研究表明, 水稻苗期受到低温胁迫, 幼苗生长变缓、叶片黄化, 分蘖也会受到抑制, 而在孕穗期受到低温胁迫, 水稻抽穗灌浆会受到影响, 进而大大降低水稻产量, 而高温对水稻生长发育及产量的影响也很大(霍晨敏和汤文强2016; 唐婷等2017)。因此对水稻温度敏感性的研究, 有助于通过遗传学或者基因工程手段培育耐低温或高温的抗逆水稻品种, 从而降低水稻生产中因低温或高温而造成的损失。

植物遭受低温胁迫时, 细胞膜磷脂双分子层结构改变, 进而降低细胞膜流动性, 使得植物细胞中应有的离子平衡被打破, 影响细胞的功能, 进一步影响植物的发育与代谢(Kodama等1995; Quinn 1988), 但是作为可能的初级信号感受器, 细胞膜感受信号的精确机制以及信号传递机制还不清楚。通过正向和反向遗传学手段, 人们对水稻低温冷害耐受机制有了一定的了解。Ma等(2015)通过QTL克隆, 发现水稻质膜上1个具有9次跨膜结构的蛋白COLD1 (CHILLING-TOLERANCE DIVERGENCE 1)发生突变后可显著影响水稻对冷的抵抗能力。COLD1是一个G蛋白调节因子, 与G蛋白 α 亚基互作蛋白GFG1/2同源, 可与G蛋白 α 亚基RGA1 (G-protein α subunit1)互作增强RGA1的活性。短时间的低温刺激能够使共表达COLD1和RGA1蛋白的细胞发生电流变化, 而高温刺激不能导致电

流变化, 表明COLD1特异响应低温信号(Ma等2015)。黄建平和熊立仲(2016)研究发现, DUF761超家族基因*OsLCL3*表达受低温诱导, 超表达*OsLCL3*的植株在低温胁迫下的电导率显著低于野生型对照植株, 胁迫后超量表达植株的存活率显著高于野生型对照植株, 说明*OsLCL3*可能在水稻对低温的应答中起着重要作用。另外很多温度敏感突变体也被筛选出来并被克隆, 如*virescent-2* (*v2*) (Hiroki等2007)、*virescent-1* *V1* (*V1virescent1*) (Kensuke等2010)、*ts111* (江少华等2013)、*OsV4* (Gong等2014)、*TCD9* (Jiang等2014)、*WLP1* (Song等2014)、*tcm11* (王文娟等2017)和*dy1* (张天雨等2017)等, 但是具体调控机制了解不多。

水稻侧根发生发育除受到自身激素浓度和分布的影响外, 与外界环境条件密切相关, 光照、温度、水分以及矿物营养等条件都会影响侧根生长。目前为止, 水稻中很多与侧根发育相关的功能蛋白已被鉴定, 但是温度对侧根发育的影响, 尤其是低温的影响研究鲜有报道。本研究在EMS诱变后代群体材料中筛选到对温度超敏水稻突变体*ths1* (*temperature hyper-sensitive 1*), 对该突变体在不同温度条件下的地上部和根部表型进行了细致的观察和分析, 对突变体根尖进行ROS含量测定和H₂O₂染色, 并利用遗传群体对该突变基因进行了

收稿 2018-06-11 修定 2018-07-12

资助 国家自然科学基金(31701983和31770281)。

* 通讯作者(wzchang@zju.edu.cn)。

初步定位, 为该基因的分子克隆及探明水稻根系响应低温的分子机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

甲基磺酸乙酯(ethyl methanesulfonate, EMS)诱变籼稻(*Oryza sativa* L. ssp. *indica*)野生型‘Kasalath’, 从诱变后代中获得低温敏感突变体*ths1* (*temperature hyper-sensitive 1*), 经5代回交和自交, 获得低温敏感稳定株系。以*ths1*为母本, 分别与野生型对照‘Kasalath’、粳稻(*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*)品种‘Nipponbare’杂交获得F₁, F₁自交获得的F₂群体用于遗传分析及基因定位。所有繁种材料均种植于浙江大学紫金港农业试验站。

1.2 苗期表型分析

将水稻材料置于不同温度条件下的培养箱中培养7 d, 用相机(Nikon D70s, Japan)整株拍照, 对侧根、根尖、根毛和根茎结合部用体视镜(Leica MZ95, Germany)进行拍照, 并对株高、主根长度、不定根长度、不定根数量和侧根密度进行测量和统计。用透射扫描仪STD1600 Scanner (Epson, Japan)进行水稻主根的扫描, 采用WinRHIZO (Regent Instruments Inc, Canada)图像分析系统进行根系的侧根数量(lateral root number, LRN)和主根上侧根密度(lateral root density, LRD)统计。样本统计数为7。

1.3 根部亚甲基蓝染色与切片观察

24°C恒温条件下培养7 d的水稻根成熟区在固定液(无水乙醇:冰乙酸=3:1, V:V)中, 4°C固定24 h, 无菌水漂洗5 min后, 加入0.01%亚甲基蓝溶液, 真空条件下染色至材料被染为蓝色, 使用Leica MZ95

体视镜观察并拍照。

24°C恒温条件下培养7 d的水稻根成熟区用3%的低熔点琼脂糖包埋后, 用震动切片机(Leica VT 1000S, Germany)切成30 μm的薄片, 用Leica MZ95显微镜和CCD camera (Leica, Germany)进行观察和拍照。

1.4 基因定位

*ths1*突变体与‘Nipponbare’杂交F₂代群体在24°C恒温条件下种植7 d后, 挑选表型与*ths1*突变体一致的极端个体380个, 提取DNA后, 利用实验室已有的分子标记筛选突变体与杂交亲本之间多态性, 选出均匀分布于12条染色体且多态性良好的分子标记150对, 利用F₂群体中30株极端表型个体进行初步连锁分析。根据定位区间, 利用Primer 5.0加密区间内的标记, 同时增加极端表型单株580株用于精细定位。精细定位引物序列见表1。

1.5 活性氧含量测定

在24和30°C恒温条件下培养5 d的水稻1 cm长度根尖放入液氮中充分研磨后, 将粉末转入10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl buffer (pH 7.3)中, 4°C, 18 000×g离心10 min, 取上清于一个新的离心管中, 将样品加入DMSO溶解H₂DCFDA中(H₂DCFDA终浓度为10 μmol·L⁻¹), 通过酶标仪检测荧光值(吸收波长485 nm; 发射波长535 nm)。取3次生物学重复的平均值, 每个样品用蛋白含量标准化。

1.6 过氧化氢(H₂O₂)染色

将DAB (diaminobenzidine tetrahydrochloride)溶于50 mmol·L⁻¹的Tris-HCl buffer (pH 4.8)中, 终浓度为0.1 mg·mL⁻¹。根系在DAB染液中避光染色30 min后, 用扫描仪扫描并拍照。

表1 用于基因定位的多态性标记

Table 1 Molecular markers used in mapping of the *ths1* locus

标记	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
RM1160	TCCCTCTCTGCTTGACGC	AGCCAAGTTTCAGGGAAACC
RM11044	CAAGCTATTGATCCTCCTTGTCG	AGTTAAGTGGGCTATGTGTGTGTC
C01M14	AGTAATCTTGAGCGTCCAC	CTGTTAGTGCCTGTACCGAA
STS1-1	TGGCATGGTTTTATATGTATG	TGTGAATAAGTCCGAGACAA
RM11110	ATGAGGCTTTGCAGCATGAGG	CCAAGCAAGGCAGTAGCAGTAGC
RM11121	CAAGGATGGCGCCAGTAGAGG	CCTGCAGCGCTCAACTCTCC
RM5638	GGCTTCCTCATCGCCATC	CTGAGCAGCAATCCAGTCTG
C01M20	CAGCTAGGGTTTTGAGGCTG	TAGCAACAACCAGCGTATGC

2 实验结果

2.1 *ths1*表型分析

通过筛选EMS诱变的籼稻品种‘Kasalath’突变体库, 得到一个主根缩短、侧根减少的突变体*ths1* (*temperature hyper-sensitive 1*) (图1-A)。对*ths1*突变体侧根进行观察发现, 突变体主根上侧根分段出现 (图1-B), 由于培养水稻温室昼夜温度分别为30和22°C, 因此推测*ths1*侧根分段出现的表型是昼夜温度变化导致。对野生型和突变体*ths1*的温度梯度培养试验结果表明, 在22和24°C恒温培养条件下, 突变体株高和主根长度都明显短于野生型, 主根优势不明显, 无侧根 (图2-A1、A2、B1和B2, 图3-A~D); 在26°C恒温的条件下, 突变体的株高和主根长度都有所伸长, 但是仍然明显短于野生型, 出



图1 水稻突变体*ths1*的表型分析

Fig.1 Phenotypic characterization of the *ths1* mutant
30/22°C (昼/夜)温度条件下培养7 d的野生型(WT, 左)和突变体*ths1* (右)表型。A、B分别为整株和根部照片。Bar=2 cm。

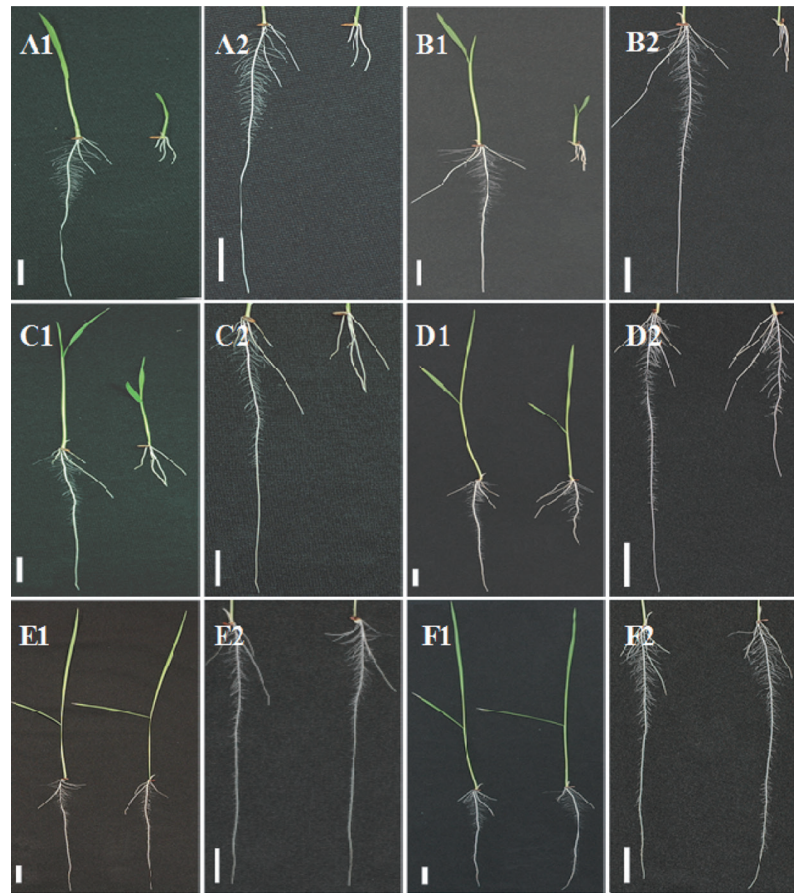


图2 不同温度下野生型和突变体*ths1*表型分析

Fig.2 Phenotypic characterization of the *ths1* mutant at different temperature

A1、B1、C1、D1、E1、F1分别是22、24、26、28、30和32°C恒温条件下生长7 d的WT (左)和*ths1* (右)整株表型。A2、B2、C2、D2、E2、F2分别是22、24、26、28、30和32°C恒温条件下生长7 d的WT (左)和*ths1* (右)根部照片。Bar=2 cm。

现了极少量侧根(图2-C1和C2, 图3-E和F); 在28°C恒温的条件下, 突变体的株高和主根长度进一步增加, 但是仍然短于野生型, 侧根数量较少于野生型(图2-D1和D2, 图3-G和H); 在30和32°C恒温的条件下, 突变体与野生型的表型基本无差异(图2-E1、E2、F1和F2), 突变体*ths1*的根毛、根尖和根冠都和野生型无显著差异(图3-I~L)。

对24、28和32°C恒温条件下培养7 d的野生型和突变体株高、主根长度、不定根数量和平均长度(统计最长3条根)、侧根数量和主根上侧根密度进行统计分析。结果表明, 在24°C恒温条件下, 与野生型相比, 突变体*ths1*在株高、主根长度、不定根平均长度、侧根数量和主根上侧根密度表现出极显著差异($P<0.01$), 而不定根数量差异不显著; 在28°C恒温条件下, *ths1*与野生型在株高、主根长度、侧根数量和侧根密度仍然表现出极显著差异; 在32°C恒温的条件下, 突变体*ths1*的各项根系表型参数与野生型差异不显著(表2)。

2.2 *ths1*侧根原基观察

利用亚甲基蓝染色方法对24°C低温条件下生长7 d的突变体*ths1*主根中侧根原基即将突破表皮的成熟区进行了观察。结果发现, 侧根原基在突破表皮前, 野生型可以检测到亚甲基蓝染色加深的侧根原基(图4-A), 而突变体*ths1*没有侧根原基被染出(图4-B), 说明突变体低温条件下早期侧根缺失是由于侧根原基形成受到阻碍。生长7 d的突变体*ths1*的主根成熟区纵切结果显示, 在野生型根切片中可以观察到侧根从起始的细胞垂周分裂、平周分裂、原基逐渐膨大、直至最后突出皮层的一系列侧根发生事件(图4-C); 而在突变体中这些侧根发生事件均没有观察到, 这表明突变体的侧根发生停止在原基的起始阶段(中柱鞘细胞第一次垂周分裂之前)(图4-D), 此结果与亚甲基蓝染色结果一致。对野生型和突变体主根成熟区细胞长度进行测量, 发现突变体根部成熟区细胞明显短于野生型, 仅为野生型细胞长度的1/3(图4-E),

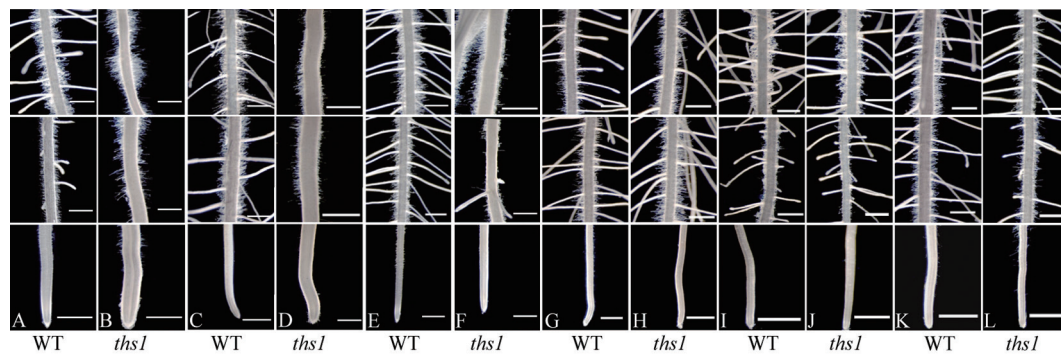


图3 不同温度梯度下野生型和突变体*ths1*根部体视镜照片

Fig.3 Root phenotype of wild type and *ths1* mutant at different temperature

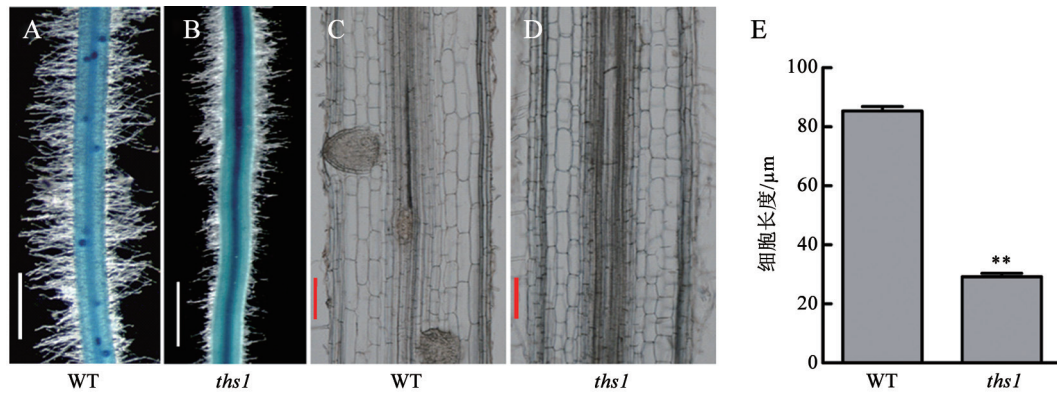
A、C、E、G、I、K为22、24、26、28、30和32°C恒温条件下生长的野生型; B、D、F、H、J、L为22、24、26、28、30和32°C恒温条件下生长的*ths1*突变体。第1行: 靠近根茎结合部的主根; 第2行: 主根成熟区; 第3行: 主根根尖。Bar=1 mm。

表2 24、28和32°C恒温条件下7 d野生型(WT)和突变体*ths1*表型参数

Table 2 Characterization of wild type (WT) and *ths1* mutant cultured for 7 days at 24, 28 and 32°C

温度/°C	材料	株高/cm	根长/cm	不定根数量	不定根长/cm	侧根数量	主根上侧根密度/cm ⁻¹
24	WT	13.94±0.16	15.07±0.32	3±0	2.96±0.18	187±3	12.43±0.42
	<i>ths1</i>	5.15±0.15**	3.08±0.05**	3±0	1.81±0.54**	0**	0**
28	WT	19.49±0.42	14.53±0.25	3±0	3.19±0.14	249±6	17.04±0.41
	<i>ths1</i>	15.75±0.45**	8.71±0.12**	3±0	2.91±0.18	84±4**	0.95±0.54**
32	WT	25.57±0.44	12.78±0.30	3±0	3.03±0.18	255±8	19.99±0.39
	<i>ths1</i>	23.00±0.62	12.13±0.38	3±0	2.82±0.34	238±8	19.68±0.43

每列的数据均代表*n*株植物的平均值±标准误, $n=7$ 。**表示每列数据在1%水平上的显著性差异。

图4 *ths1*侧根原基缺失Fig.4 Lateral root primordia of *ths1* are absent

A、B分别为24°C条件下生长7 d的野生型(WT)和*ths1*亚甲基蓝染色。Bar=1 mm; C、D分别为24°C条件下生长7 d的野生型(WT)和*ths1*根成熟区纵切结果。Bar=100 μm 。E: 野生型和突变体主根成熟区细胞长度测定。**表示在1%水平上的显著性差异。

说明突变体主根缩短表型主要由细胞长度缩短引起。

2.3 *ths1*基因的遗传分析和基因定位

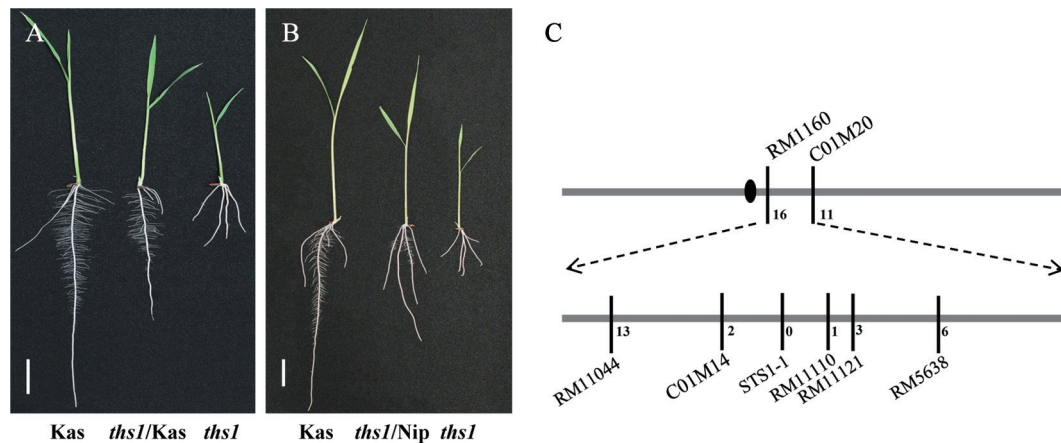
将突变体*ths1*分别与野生型‘Kasalath’和粳稻品种‘Nipponbare’进行杂交, F₁植株在24°C恒温培养条件下都表现为野生型和突变体之间的中间型表型(图5-A和B)。突变体*ths1*与‘Kasalath’杂交F₂代群体表型发生分离, 野生型:中间型:突变体表型的比例为34:53:30, 经卡方测验符合1:2:1的分离比($\chi^2=1.27$, $P>0.05$), 说明突变体*ths1*表型由半显性单基因控制。

利用突变体*ths1*和‘Nipponbare’杂交得到的F₂

群体, 随机选30株表型与突变体一致的个体提取DNA并等比例混合, 选取150个在两亲本间多态性良好且均匀分布于12条染色体的SSR标记进行连锁分析, 将突变基因初步定位在第1染色体长臂着丝粒附近标记RM1160与C01M20之间, 物理距离约为6 129 kb。继续扩大突变体个体数量到580个, 最终将目标基因定位在标记C01M14到RM11110之间, 物理距离约694 kb (图5-C)。

2.4 *ths1*突变体根尖ROS含量测定和H₂O₂染色

对24和30°C条件培养5 d的野生型和突变体根尖1 cm长度ROS含量进行测定, 结果发现, 30°C条件下野生型和突变体根尖ROS含量差别不大, 24°C

图5 *THS1*基因的遗传分析和基因定位Fig.5 Genetic analysis and fine mapping of *THS1*

A、B: 突变体*ths1*分别与‘Kasalath’(Kas)野生型(A)和‘Nipponbare’(Nip)野生型(B)杂交F₁代在24°C培养7 d的表型; C: *THS1*基因的染色体定位, 数字表示该标记发生交换的个体数。

条件下野生型根尖ROS含量被诱导, 高于30°C条件下ROS含量, 而*ths1*突变体中ROS的含量在24°C条件下更高, 是24°C条件下野生型的2.3倍, 30°C条件下野生型的6.3倍(图6)。

为了检测突变体和野生型根部H₂O₂的含量和分布, 用DAB对24和30°C条件培养5 d的野生型与突变体根部进行染色, 结果显示, 在30°C时, 野生型和突变体的染色结果一致(图7-E~J), 主根根尖、侧根原基、侧根根尖都可以被DAB染成棕色。在24°C时, 野生型的染色结果与高温条件的野生型和突变体一致, 只是颜色变深, 但是突变体根尖H₂O₂存在部位发生了较大的变化, 表现为分生区累积不明显, 但成熟区染色较野生型深(图7-A~D), 表明H₂O₂在成熟区的累积较野生型多, 与ROS含量测定结果一致。综上, *ths1*突变体侧根发育的异常可能与根中ROS清除异常有关。

3 讨论

水稻受到低温胁迫后, 很多发育过程都会受

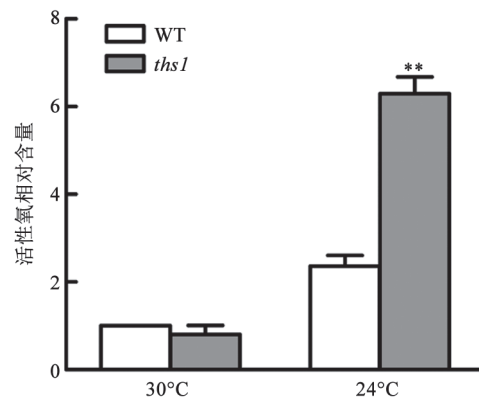


图6 根尖活性氧相对含量测定

Fig.6 ROS content analysis of root tip

野生型(WT)和突变体*ths1*在24和30°C条件培养5 d, 取根尖1 cm长度进行活性氧含量测定。数据为3次生物学重复的平均值。**: $P < 0.01$ (*t*-检验)。

到影响, 目前已有许多低温耐受相关基因被筛选出来并得到研究。但温度敏感的根相关突变体研究较少, 本研究从EMS突变体库中筛选到一个主根缩短、侧根减少的突变体*ths1*。*ths1*突变体在



图7 根部H₂O₂的DAB染色

Fig.7 3,3-Diaminobenzidine (DAB) staining for hydrogen peroxide in root

A~C、E~G分别为24、30°C培养5 d的野生型DAB染色结果, D、H~J分别为24、30°C培养5 d的突变体DAB染色结果。Bar=1 mm。

30/22°C (昼/夜)条件下培养表现出侧根分段出现的表型(图1), 不同温度梯度条件下恒温培养后发现, *ths1*突变体在相对低温条件下(低于26°C)地上部发育缓慢, 主根变短, 侧根缺失, 而且温度越低, 与野生型差异越大, 随着温度的升高, 主根、侧根表型逐渐恢复(图2和3), 说明*ths1*突变体是一个温度超敏感突变体, 其侧根的发生对温度非常敏感。

对水稻根系发育的研究证明, 不定根与侧根的发育调控机制并不相同, 很多无侧根突变体的不定根发育都正常, 如水稻*iaa11*突变体(Zhu等2012), 该突变体仅侧根发育受到影响, 其他表型与野生型没有差异。*ths1*突变体侧根发育表现出低温敏感, 但是不定根数在不用温度条件下与野生型没有显著差异(表2), 说明不定根和侧根发育受到低温胁迫后的调控机制也不相同。

对水稻侧根的发生发育研究发现, 水稻侧根的发生是内皮层和中柱鞘细胞共同发育的结果。水稻的侧根发生源自临近原生韧皮部的中柱鞘细胞的分裂。发育的过程和拟南芥侧根的发育过程也比较相似(Rebouillat等2009)。首先2个临近的中柱鞘细胞进行垂周分裂, 继而进行多次的垂周、平周分裂, 原基逐渐膨大, 并逐步穿过皮层, 到最终突破表皮。对*ths1*突变体侧根原基进行亚甲基蓝色染色发现, 突变体在低温下侧根原基缺失, 根部纵切结果也显示没有可见原基出现(图4), 说明低温影响了*ths1*突变体侧根的起始过程, 而在30/22°C条件下培养表现出侧根分段出现的表型, 说明可能30°C条件下, 侧根起始过程完成, 侧根的发育过程不受低温影响, 也同时说明了侧根的起始和发育过程受到低温胁迫的调控机制也不相同。

研究发现, 低温会使类囊体膜固化, 抑制电子传递, 导致类囊体过度激发使ROS水平升高, 并且低温抑制活性氧清除相关酶活性, 使过多的ROS不能被及时清除(Schieber和Chandel 2014; Suzuki等2012), 而过多的ROS会影响植物生长发育的各个过程。本研究中, 低温显著提高野生型与突变体根中的ROS含量, 而突变体*ths1*根中的ROS含量在高温下与野生型一样, 在低温下则大大高于野生型, 说明*ths1*突变体可能在中低温下ROS清除机制异常, 进而出现各种发育缺陷表型。

光照和温度是影响植物发育最重要的两大因

素。与在光信号的调控途径研究相比, 植物在温度信号调控途径的研究进展还是远远不够的。以往相关研究大多围绕在极端高温(37°C以上)或低温(4°C以下)影响下的植物响应或耐受机制的研究。与以往温度相关突变体材料相比, 正常生长的温度范围内, 水稻*ths1*对外界温度的变化已非常敏感, 1~2°C的变化就能严重影响*ths1*的侧根发育。因此, *ths1*有可能成为植物精确地感受外界温度的变化, 进而精准调节自身发育的理想研究材料。

综上所述, 本研究通过筛选EMS突变体库筛选到一个温度超敏感突变体*ths1*, 与野生型相比, *ths1*突变体低温恒温条件下(低于26°C)出现地上部和主根长度明显缩短, 侧根原基缺失表型。进一步研究发现, 低温恒温条件下*ths1*突变体根部ROS含量显著高于野生型, 而这可能是突变体根部低温下发育缺陷的原因。*ths1*突变由一对半显性单基因控制, 位于第1染色体长臂着丝粒附近C01M14到RM11110之间两个标记的694 kb区间。本研究结果为进一步克隆*THS1*基因并揭示低温调控侧根原基起始的分子生理机制奠定基础。

参考文献(References)

- Gong XD, Su QQ, Lin DZ, et al (2014). The rice *OsV4* encoding a novel pentatricopeptide repeat protein is required for chloroplast development during the early leaf stage under cold stress. *J Integr Plant Biol*, 56 (4): 400–410
- Hiroki S, Kensuke K, Ko N, et al (2007). The rice nuclear gene, *VIRESCENT 2*, is essential for chloroplast development and encodes a novel type of guanylate kinase targeted to plastids and mitochondria. *Plant J*, 52 (3): 512–527
- Huang JP, Xiong LZ (2016). Isolating and characterizing one low-temperature-responsive gene *OsLCL3* in rice. *J Huazhong Agric Univ*, 35 (2): 1–9 (in Chinese with English abstract) [黄建平, 熊立仲(2016). 水稻低温应答基因*OsLCL3*的分离与功能鉴定. 华中农业大学学报, 35 (2): 1–9]
- Huo CM, Tang WQ (2016). A review of plant cold signal transduction mechanisms. *Biotechnol Bull*, 32 (10): 27–33 (in Chinese with English abstract) [霍晨敏, 汤文强(2016). 植物冷信号传导机制研究进展. 生物技术通报, 32 (10): 27–33]
- Jiang Q, Mei J, Gong XD, et al (2014). Importance of the rice *TCD9* encoding subunit of chaperonin protein 60 (*Cpn60a*) for the chloroplast development during the early leaf stage. *Plant Sci*, (215–216): 172–179
- Jiang SH, Zhou H, Lin DZ, et al (2013). Identification and gene mapping of a thermo-sensitive leaf-color mutant

- at seedling stage in rice. Chinese J of Rice Sci, 27 (4): 359–364 (in Chinese with English abstract) [江少华, 周华, 林冬枝等(2013). 水稻幼苗叶色温敏感突变体的鉴定及其基因定位. 中国水稻科学, 27 (4): 359–364]
- Kensuke K, Shoko H, Hiroshi S, et al (2010). Contribution of chloroplast biogenesis to carbon-nitrogen balance during early leaf development in rice. J Plant Res, 123 (4): 617–622
- Kodama H, Horiguchi G, Nishiuchi T, et al (1995). Fatty acid desaturation during chilling acclimation is one of the factors involved in conferring low-temperature tolerance to young tobacco leaves. Plant Physiol, 107 (4): 1177–1185
- Ma Y, Dai XY, Xu YY, et al (2015). COLD1 confers chilling tolerance in rice. Cell, 160 (6): 1209–1221
- Quinn PJ (1988). Effects of temperature on cell membranes. Symp Soc Exp Biol, 42: 237–258
- Rebouillat J, Dievart A, Verdeil JL, et al (2009). Molecular genetics of rice root development. Rice, 2 (1): 15–34
- Schieber M, Chandel NS (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. Curr Biol, 24 (10): 453–462
- Song J, Wei XJ, Shao GN, et al (2014). The rice nuclear gene *WLPI* encoding a chloroplast ribosome L13 protein is needed for chloroplast development in rice grown under low temperature conditions. Plant Mol Biol, 84 (3): 301–314
- Suzuki N, Koussevitzky S, Mittler R, et al (2012). ROS and redox signaling in the response of plants to abiotic stress. Plant Cell Environ, 35 (2): 259–270
- Tang T, Chen YY, Yang Y, et al (2017). Research progress of rice resistance to high temperature. Mol Plant Breeding, 15 (9): 3694–3700 (in Chinese with English abstract) [唐婷, 陈艳艳, 杨洋等(2017). 水稻耐高温性研究进展. 分子植物育种, 15 (9): 3694–3700]
- Wang WJ, Wu LL, Lei XQ, et al (2017). Identification and gene mapping of a novel low temperature sensitive leaf color mutant *tcm11* in rice (*Oryza sativa* L.). J Shanghai Normal Univ (Nat Sci), 46 (2): 319–325 (in Chinese with English abstract) [王文娟, 吴兰兰, 雷晓庆等(2017). 一个新水稻低温敏感叶色突变体 *tcm11* 的鉴定及基因定位. 上海师范大学学报(自然科学版), 46 (2): 319–325]
- Zhang TY, Zhou CL, Liu X, et al (2017). Phenotypes and gene mapping of a thermo-sensitive yellow leaf mutant of rice. Acta Agron Sin, 43 (10): 1426–1433 (in Chinese with English abstract) [张天雨, 周春雷, 刘喜等(2017). 一个水稻温敏黄化突变体的表型分析和基因定位. 作物学报, 43 (10): 1426–1433]
- Zhu ZX, Liu Y, Liu SJ, et al (2012). A gain-of-function mutation in *OsIAA11* affects lateral root development in rice. Mol Plant, 5 (1): 154–161

Characterization and gene mapping of a temperature hyper-sensitive mutant *ths1* in rice

XU Ji-Ming, JIANG Xiao-Yan, ZHAO Peng, YU Ya-Nan, MAO Chuan-Zao, WU Zhong-Chang*

College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: A temperature hyper-sensitive mutant *ths1* (*temperature hyper-sensitive 1*) was isolated from a rice EMS (ethyl methanesulfonate, EMS)-generated mutant library ('Kasalath', *indica*). The development of primary root and lateral roots of *ths1* mutant showed hyper-sensitive to temperature changes. The phenotype of *ths1* mutant was consistent with wild-type at 30°C, but under the condition of temperature below 26°C, the primary root of *ths1* mutant was shorter and the lateral roots growth was inhibited compared with the wide type. The development of lateral roots of the mutant was inhibited at the initial stage of primordium, and the ROS content in root tip of *ths1* mutant was significantly higher than wild type when cultured at low temperature (24°C). Genetic analysis showed that *ths1* possessed a semi-dominant mutation in a single nuclear locus. F₂ population was constructed by crossing the mutant with 'Nipponbare', and the mutants from extreme individuals were selected to map gene *ths1*. The gene was located in the 694 kb region near the centromere between the molecular markers C01M14 and RM11110 on the long arm of chromosome 1. The results of this study lay a foundation for further cloning *THSI* gene and revealing the molecular mechanism of plant perception and response to temperature.

Key words: rice; temperature sensitive; lateral root; gene mapping

Received 2018-06-11 Accepted 2018-07-12

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (31701983 and 31770281).

*Corresponding author (wzchang@zju.edu.cn).