

籼稻半矮秆新突变体的遗传分析及 对外源赤霉素的反应

饶得花, 郭涛, 王慧, 刘永柱, 张建国, 陈志强

(华南农业大学植物航天育种研究中心, 广东广州 510642)

摘要:对空间诱变矮秆突变体 CHA-2 的遗传分析表明, 其矮生性状是由 2 对隐性半矮秆基因控制的, 分别为 *sd1* 和 1 个新的半矮秆基因, 该基因初步定名为 *iga-1*. 从 CHA-2 与惠阳珍珠早杂交 F_2 群体中选择半矮秆株与矮脚南特进行测交和自交, 鉴定获得由半矮秆基因 *iga-1* 控制的新半矮秆株系 H2. 赤霉素敏感性试验表明, 半矮秆株系 H2 对赤霉素敏感性下降, 推测 H2 是属于赤霉素弱敏感矮化突变体.

关键词:籼稻; 空间诱变; 矮秆突变体; 遗传分析; 赤霉素

中图分类号: S335

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2009)01-0019-04

Genetic Analysis of a Semidwarf Mutant in *Indica* Rice and the Response to Gibberellin

RAO De-hua, GUO Tao, WANG Hui, LIU Yong-zhu, ZHANG Jian-guo, CHEN Zhi-qiang

(Plant Space Breeding Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Genetic analysis of the dwarf rice mutant CHA-2 by space mutation was studied. The results indicated that its dwarf trait was controlled by two recessive semi-dwarf genes without linkage, *sd1* and a new nonallelic to *sd1* gene named as *iga-1*. The new semidwarf plant H2 with the new *iga-1* gene from a cross between Huiyangzhenzhuo and CHA-2 was insensitive to exogenous gibberellin, so it was speculated that the H2 semi-dwarf mutant was the gibberellin insensitive dwarf mutant.

Key words: *indica* rice; space mutation; dwarf mutant; genetic analysis; gibberellin

矮化育种是我国水稻 *Oryza sativa* L. 育种的一个重大突破, 矮秆水稻良种的选育和推广是 20 世纪水稻育种中最重要的成果之一. 20 世纪 50 年代至 60 年代初, 我国在南方籼稻矮化育种方面取得了突破性的进展, 育成了一系列以“矮脚南特”和“矮仔占”为代表的综合性状良好的矮秆抗倒品种. 但是, 目前在我国生产中推广的半矮秆水稻品种绝大多数都是由矮仔占、矮脚南特、低脚乌尖和水田谷这四大矮源

衍生而来的, 而且遗传研究表明, 这些矮源携带的矮秆基因主要是半矮秆基因 *sd1* 或其等位基因^[1-2]. 这种单一基因的广泛利用限制了水稻产量的进一步提高. 因此, 发掘、鉴定和利用新的半矮秆基因是水稻育种实践中一项非常重要的研究课题^[3-5]. 我国自 20 世纪 80 年代末期开展空间诱变育种以来, 全国各地已先后选育出一大批优质、高产、抗病的作物新品种和新种质材料, 为我国的农业生产做出了贡

收稿日期: 2008-09-20

作者简介: 饶得花(1981—), 女, 硕士; 通讯作者: 陈志强(1956—), 男, 教授, E-mail: chenlin@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(307711313); 国家 863 计划项目(2007AA100101); “十一五”国家科技支撑计划重点项目(2008BAD97B02); 广东省科技计划项目(2004A20107001, 2006A20202006, 2007A020400003); 广东省自然科学基金(010353, 05006656)

献^[6-7]. 本研究所用水稻材料 CHA-2 是从半矮秆籼稻品种特籼占 13 的空间诱变后代中选育出来的稳定的矮秆突变体. 前期的研究表明, CHA-2 的矮生性状是由 2 对连锁基因控制的, 并将该基因初步定位于第 3 染色体^[8]. 为明确前期研究结果, 本研究组配了新杂交组合并进行了赤霉素敏感性试验, 旨在深入了解 CHA-2 的矮生性遗传机理并探讨其可能利用途径.

1 材料与方法

1.1 材料

籼粘稻品种: 特籼占 13 (基因型 *sd1sd1*), 平均株高为 107.2 cm; 矮脚南特 (基因型 *sd1sd1*), 平均株高为 90.4 cm; 惠阳珍珠早 (基因型 *Sd1Sd1*), 平均株高为 132.7 cm (数据来源于 2007 年晚造), 均由华南农业大学农学院提供.

特籼占 13 种子 1 000 粒于 1996 年 10 月搭载高空气球, 1997 年早造种植诱变一代 (SP_1), 1997 年晚造种植诱变二代 (SP_2), 从 SP_2 中选择出 1 个矮秆突变体 CHA-2. 经多代的观察测定, CHA-2 突变性状均稳定遗传. CHA-2 平均株高 51.4 cm (数据来源于 2007 年晚造).

1.2 遗传分析及新半矮秆基因的分选方法

2006 年晚造, 在华南农业大学教学实验农场以 CHA-2 为母本, 分别以矮脚南特、特籼占 13 和惠阳珍珠早为父本进行杂交, 杂交所得种子的一部分于海南加代, 2007 年早造于华南农业大学农场种植亲本、杂交 F_1 和 F_2 , 成熟期田间调查各世代植株的株高 [茎基部到穗顶 (不包括芒) 的高度]. 亲本和杂交 F_1 各调查 10 株, F_2 调查 1 000 株以上. 为了鉴定新矮秆基因对外源赤霉素的反应, 从 CHA-2 与惠阳珍珠早杂交 F_2 群体中选择半矮秆单株分别与矮脚南特进行测交, 根据测交 F_1 及被测植株自交 F_3 代株系的株高表现, 鉴定仅含新半矮秆基因的单株, 对筛选出的单株套袋自交 2 代 (2007 年晚造、2008 年早造), 得到农艺性状纯合一致的新半矮秆株系 H2.

1.3 新半矮秆株系对外源赤霉素敏感性实验

参照王慧等^[9]的方法, 选取适当数量的饱满供试种子, 用质量分数为 0.1% 的 HgCl 溶液消毒 5 min, 自来水冲洗干净后用蒸馏水洗 3 次, 室温下浸种 24 h, 放在垫有吸水纸的锥形瓶内于 27 °C 培养箱中催芽 2 d, 期间适当补充水分, 之后每个材料分别挑选基本整齐一致的发芽种子播于 96 孔 PCR 板 (下

端剪掉) 中, 每孔 1 粒种子, PCR 板置于离心管盒中. 在离心管盒中分别加入 5、10、20、30、40 mg/L 的外源赤霉素 (GA_3) 溶液 400 mL, 以等量的蒸馏水为对照, 每个处理 30 苗, 3 次重复, 自然光照, 10 d 后测量苗高. 对试验数据进行 *t* 测验和方差分析, 比较各处理间苗高的差异显著性.

2 结果与分析

2.1 CHA-2 与各亲本杂交 F_1 、 F_2 的株高表现

CHA-2 与高秆亲本惠阳珍珠早、半矮秆亲本矮脚南特杂交 F_1 的平均株高分别为 136.5 和 101.1 cm, 表现十分接近高秆、半矮秆亲本, 2 个组合的杂交 F_1 株高均显著高于 CHA-2 (51.4 cm), 说明 CHA-2 携带的矮秆基因为隐性基因 (图 1).



图 1 CHA-2、新半矮秆株系 (H2) 和原种特籼占 13

Fig. 1 CHA-2, Xinbanaiganzhuxi and Texianzhan13

对 F_2 群体株高的调查结果 (表 1) 表明, CHA-2 与惠阳珍珠早杂交 F_2 群体株高出现明显的高秆、半矮秆、矮秆分离, 分离比例为 872:524:104, 符合 2 对基因独立分配所表现的 9:6:1 的分离比例 ($\chi^2 = 4.7 < \chi_{0.05,2}^2 = 5.99$). CHA-2 与矮脚南特杂交 F_2 中, 株高明显出现半矮株与矮株 2 种类型的分离, 比例为 813:237, 符合 1 对基因所表现的 3:1 的分离比例 ($\chi^2 = 3.4 < \chi_{0.05,1}^2 = 3.84$). 以上结果表明, CHA-2 的矮生性状是由 2 对独立分配的隐性基因控制的, 其中 1 对为与 *sd1* 等位的矮秆基因, 另 1 对为与 *sd1* 不等位的新矮秆基因, 暂命名为 *iga-1*. 这 2 对半矮秆基因具有相似的矮化效应, 且存在着累加作用. 通

过鉴定,从CHA-2与惠阳珍珠早杂交F₂群体的半矮秆中分离出了仅由*iga-1*半矮秆基因控制的半矮秆单株,对筛选出的单株套袋自交2代(2007年晚造、2008年早造),得到农艺性状纯合一致的新半矮秆株系H2(图1)。

2.2 新半矮秆系H2对外源赤霉素的反应

由表2可知,矮秆、半矮秆材料与对照相比,其苗高增长率都达到了显著或极显著水平,但具不同矮秆基因的品种对外源赤霉素(GA₃)的反应不同。

矮脚南特、特粳占13和CHA-2均在10 mg/L的GA₃处理下增长率达到最大值,分别为115.7%、100.4%和114.5%;H2则在20 mg/L的GA₃处理下增长率达到最大值,为56.4%。外源GA₃处理可以使具有*sd1*基因的特粳占13和矮脚南特的株高恢复为野生表型;而H2的苗高增长率低于CHA-2与特粳占13的苗高增长率,说明新半矮秆基因*iga-1*对外源GA₃响应弱于突变前的原种及从中选出的突变体。

表1 CHA-2与惠阳珍珠早、矮脚南特杂交F₂各组合株高分离表现¹⁾

Tab. 1 Segregation of plant height in F₂ population derived from the crosses between CHA-2 and Huiyangzhenzhuao, Aiji-aonante respectively

组合	F ₂ 株高分组/株			实际比例	理论比例	χ ²
	高秆	半矮秆	矮秆			
CHA-2/矮脚南特		1 399	419	3.34:1	31	3.6
CHA-2/惠阳珍珠早	872	524	104	8.38:5.04:1	9:6:1	4.7

1) $\chi^2_{0.01,2} = 9.21$, $\chi^2_{0.05,2} = 5.99$; $\chi^2_{0.01,1} = 6.63$, $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$

表2 各水稻材料幼苗期对不同浓度外源赤霉素(GA₃)的反应¹⁾

Tab. 2 The response of seedling height to GA₃ in rice varieties

ρGA ₃ / (mg·L ⁻¹)	矮脚南特		特粳占13		CHA-2		新半矮秆(H2)		惠阳珍珠早	
	苗高/cm	增长率/%	苗高/cm	增长率/%	苗高/cm	增长率/%	苗高/cm	增长率/%	苗高/cm	增长率/%
0(ck)	8.56±0.81		11.67±0.93		5.00±0.54		7.96±0.87		13.85±0.79	
5	17.77±0.73	108.50**	20.22±1.01	73.20**	7.52±0.63	51.50**	9.23±0.94	16.10**	18.38±0.97	32.70**
10	18.37±0.61	115.70**	23.40±0.91	100.40**	10.68±0.78	114.50**	12.16±0.80	52.70**	24.41±0.93	76.25**
20	18.12±0.58	112.20**	22.41±0.92	92.50**	9.47±0.83	89.10**	12.44±0.73	56.40**	25.63±0.86	85.10**
30	16.84±0.73	97.50**	19.03±0.81	63.60**	8.76±0.93	75.20**	10.67±0.67	34.40**	21.37±0.69	54.30**

1) 各处理苗高为30株的平均值+标准误;增长率=(处理苗高-对照苗高)/对照苗高;**表示与对照比差异达到1%极显著水平(*t*测验)

3 讨论

已有的研究表明,矮秆性状多数受单基因控制,基因间关系主要是等位基因的显隐性关系;由2对矮秆基因共同作用的突变体,则2对矮秆基因间存在着累加作用^[10];多基因控制的矮秆突变体主要表现出多基因的累加效应。王慧等^[8]的研究表明,CHA-2与原种特粳占13及其他半矮秆品种杂交,其F₂代株高分离均不符合1对基因的分离模式,推测CHA-2矮生性由2对连锁基因控制。本研究用CHA-2与高秆品种惠阳珍珠早杂交的F₂代表现出明显的高秆、半矮秆、矮秆分离,分离比例符合2对基因独立分配所表现的9:6:1的分离模式,与之前发表的结果不完全一致。表明CHA-2的矮生性状

由2对隐性基因控制,这2对半矮秆基因具有相似的矮化效应,并且存在着累加作用。本研究初步确定了CHA-2中存在1个对赤霉素弱敏感的矮秆基因*iga-1*,并分离出新的纯合半矮秆株系H2。

造成植物矮化的因素可能很多,近年来矮化拟南芥和矮秆水稻等植物的分子遗传学研究表明,赤霉素(GA₃)和油菜素类固醇(BR)是决定株高的重要因素^[11-13]。目前,人们已从玉米、水稻、豌豆、番茄及拟南芥等18种不同植物中发现了近50个不同的GA缺陷型突变体。在拟南芥、玉米、豌豆、水稻等植物中也发现了一些GA不敏感型突变体。这类突变体的表现型与GA生物合成突变体相似,半矮化或者完全矮化,发芽率降低,叶片浓绿紧缩,开花延迟,花发育不正常。GA不敏感性的矮化突变型又分为2种

亚型,即隐性 GA 不敏感矮化突变体和半显性或显性的 GA 不敏感矮化突变体,如水稻的(*d1*)突变体就属于隐性的 GA 不敏感矮化突变体^[14-15]。外源 GA₃ 处理不能恢复这些突变体茎的伸长。半显性或显性的 GA 不敏感矮化突变体如拟南芥突变体(*gai*、*rga*)等^[16],这些突变体积累较高水平的活性 GA₁,说明突变体破坏了 GA 的信号传导,而通过正反馈作用调节 GA 的生物合成。在拟南芥中 *gai* 和 *rga* 突变体呈 GA 缺陷型表型,这 2 个突变体是半显性的,可以通过施外源赤霉素部分被营救。

本研究通过各水稻苗期对赤霉素敏感性试验表明,经外源 GA₃ 处理的新半矮秆株系 H2 的苗高与对照相比均显著增长,但未超过原种特籼占 13 和 CHA-2 的苗高增长率,说明新半矮秆基因 *iga-1* 对外源 GA₃ 响应较弱,外源 GA₃ 处理可以部分恢复 H2 苗高。因此推测 H2 是属于弱敏感的矮化突变体,新半矮秆基因 *iga-1* 有可能影响 GA 的信号传导,从而导致 H2 的株高变矮。目前对有关 GA 的信号传导模式及其机理了解较少^[17],因此发掘新的 GA 的信号传导突变基因,对于明确水稻株高的调控机理具有一定的理论意义。

参考文献:

- [1] 顾铭洪,潘学彪,李欣,等. 一种籼稻矮源的分离和鉴定[J]. 中国农业科学, 1988, 21(1): 33-40.
- [2] 朱立宏,周傲南. 籼稻矮源遗传研究[J]. 南京农业大学学报, 1986, 3(1): 15-22.
- [3] 梁国华,潘学彪,顾铭洪,等. 矮泰引-2 中半矮秆基因的分离与鉴定研究[J]. 中国水稻科学, 1995, 9(3): 189-192.
- [4] 李欣,顾铭洪,梁国华,等. 水稻半矮秆基因 *sd-t* 的染色体定位研究[J]. 遗传学报, 2001, 28(1): 33-40.
- [5] 李欣,徐金凤,王兴稳,等. 水稻半矮秆基因 *sd-n* 的染色体定位研究[J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2002, 23(1): 11-16.
- [6] 王慧,陈志强,张建国,等. 优质高抗水稻新品种华航丝苗的选育[J]. 广东农业科学, 2006(9): 43-44.
- [7] 陈芳远,卢升安,易小平. 空间诱变创造克服籼粳杂种半不育性新种质和新恢源研究[J]. 激光生物学报, 2000, 9(2): 119-124.
- [8] 王慧,张书涛,郭涛,等. 籼型矮秆突变体 CHA-2 的矮生性状遗传分析及基因初步出位[J]. 分子植物育种, 2006, 4(6S): 1-6.
- [9] 王慧,刘永柱,张建国,等. 空间诱变水稻矮秆突变体 CHA-1 对赤霉素的反应及其遗传分析[J]. 中国水稻科学, 2004, 18(5): 391-395.
- [10] 梁国华,顾铭洪,潘学彪,等. 几个籼稻半矮秆基因等位性和遗传效应分析[J]. 江苏农学院学报, 1996, 17(1): 25-30.
- [11] ASHIKARI M, WU J, YANO M, et al. Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene *Dwarf 1* encodes the α -subunit of GTP-binding protein [J]. PNAS, 1999, 96: 10284-10289.
- [12] IKEDA A, UEGUCHI-TANAKA M, SONODA Y, et al. Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the SLR1 gene, an ortholog of the height-regulating gene GAL/RGA/RHT/D8 [J]. The Plant Cell, 2001, 13: 999-1010.
- [13] SPIELMEYER W, ELLIS M, CHANDLER M. Semidwarf (*sd-1*), green revolution rice, contains defective gibberellin 20-oxidase gene [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 9043-9048.
- [14] LOVEGXOVE A, HOOLEY R. Gibberellin and abscisic acid signalling in aleurone [J]. Trends in Plant Science, 2000, 5: 102-110.
- [15] SUN T P. Gibberellin signal transduction [J]. Current Opininion in Plant Biology, 2000, 3: 374-380.
- [16] DILL A, JUNG H S, SUN T P. The DELLA motif is essential for gibberellin-induced degradation of RGA [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98: 14162-14167.
- [17] 王月华,韩烈保,曾会明,等. 植物赤霉素矮化突变体研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2006, 26(8): 22-27.

【责任编辑 周志红】