

## 一种水稻分蘖突变体的初步分析(简报)

王永胜<sup>1</sup> 王景<sup>1</sup> 蔡业统<sup>2</sup> 林慧贤<sup>1</sup> 刘良式<sup>1\*</sup>

(1. 中山大学生物工程中心, 广东 广州 510275; 2. 仲恺农业技术学院, 广东 广州 510225)

**摘要:** 通过 EMS(甲基磺酸乙酯, ethyl methane sulfonate) 诱变处理籼稻丰矮占 5 号的种子, 在 M<sub>2</sub> 代中分离到一株少分蘖突变体, 命名为 ret5-5(reduced tiller mutant)。植株表现为不分蘖, 自交所得 M<sub>3</sub>、M<sub>4</sub> 和 M<sub>5</sub> 代植株表现为 0-2 个分蘖, 而原正常品种 FAZ-5 同期平均分蘖数为 8.2。突变体与 FAZ-5 的杂交结果显示该突变表型为隐性突变。在 F<sub>1</sub> 代自交所得 F<sub>2</sub> 和 F<sub>3</sub> 代植株出现性状分离, 突变可能涉及 2 个或 2 个以上的基因。

**关键词:** 水稻; 分蘖突变体; EMS

**中图分类号:** S511.035.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-3395(2001)04-0341-04

## PRELIMINARY ANALYSIS OF A RICE TILLER MUTANT

WANG Yong-sheng<sup>1</sup> WANG Jing<sup>1</sup> CAI Ye-tong<sup>2</sup> LIN Hui-xian<sup>1</sup> LIU Liang-shi<sup>1\*</sup>(1. *Biotechnology Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;*2. *Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou 510225, China)*

**Abstract:** The seeds of *Indica* rice (*Oryza sativa*) variety FAZ-5 were treated with ethyl methane sulfonate (EMS) for mutation breeding. A reduced tiller mutant (ret5-5), which exhibited no tiller, was obtained from M<sub>2</sub> population. The selfed progenies M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub> and M<sub>5</sub> showed 0-2 tillers, while its parents, FAZ-5, had average 8.2 or more tillers in the corresponding period. The mutant ret5-5 after being crossed with FAZ-5 indicates that it is a recessive mutant and more than one gene were mutated after the EMS treatment.

**Key words:** Rice; Tiller mutant; EMS

五、六十年代的矮化育种和七十年代的杂交水稻培育是我国水稻增产的两次革命, 但近几年来水稻的增产开始徘徊, 因此人们进一步考虑新的水稻育种策略<sup>[1]</sup>, 提出培育可增产 20%-50% 的超级稻育种计划, 即水稻新株型育种计划<sup>[2]</sup>。为此必须寻找新的育种途径和创造新的种质资源。虽然一个有利的农艺性状需要许多基因的协调作用才能产生, 但其中在植物生长、发育、细胞分裂和分化中起决定作用的主调节基因尤为重要。遗传操作这些发育调节基因是创造种质资源的一条有效途径, 它可以大大增加性状变异的范围和深度, 为育种学家提供更多的原始材料和选择机会。通过突变体来研究及获得一些与植物生长、发育和其他性状相关的基因已成为一种重要的分子遗传学的研究手段。实际上通过传统的辐射诱变、化学诱变以及新近发展的转座子标签法和 T-DNA 法均已分离到一批与植物发育调节相关的重要基因, 如拟南芥的 *RGA*<sup>[3]</sup>、*CUC1* 和 *CUC2*<sup>[4]</sup>。

栽培稻的分蘖数是一个重要的农艺性状。Wu<sup>[5]</sup>等利用时间相关的 QTL(quantitative trait loci)作图法分别在染色体 1、3 和 5 上检测到 5 个与水稻分蘖数相关的位点。有关影响分蘖的分子机理研究方面, John Doebley 等<sup>[6,7]</sup>在 1997 年利用转座子标签法分离到一个玉米草 (*teosinte*) 主茎腋生分枝

收稿日期: 2001-03-02

基金项目: 教育部重点科学技术项目(061C615); 广东省科技计划项目(99M01503G)资助

\* 通讯作者 Corresponding author

数相关基因 *TBI*。Peater 等<sup>[6]</sup>和 Schumacher 等<sup>[9]</sup>分别分离了调节拟南芥和番茄中侧生分生组织形成的 *AXR1* 基因和 *Ls* 基因。这些现象说明侧生分生组织的形成可能受到植物激素的控制。

国际水稻研究所曾公布多个多分蘖矮生突变株,并对几个矮化相关基因进行了粗略的定位<sup>[7]</sup>。但未见有关少分蘖的报道。本文报道的 *ret 5-5* 表现为少分蘖。该突变体的获得为进一步研究分蘖相关的遗传和育种提供新的材料和思路。进一步的遗传学和分子遗传学研究正在进行中。

## 1 材料和方法

**材料** 供诱变处理的水稻品种分别为丰矮占 5 号(FAZ-5)由广东省农业科学院水稻研究所王丰副研究员惠赠。

**化学诱变** 利用甲基磺酸乙酯(ethyl methane sulfonate, EMS)处理水稻种子时,先用蒸馏水浸泡种子 5 h,换 0.5% EMS 浸泡过夜(约 12 h),清水冲洗 4 h,然后放入加水的培养皿中 37℃培养过夜,第二天播种在湿沙上,待长出 4-5 个叶片后移栽至大田。

**突变体筛选** 经诱变处理的  $M_1$  代植株移栽到大田,单株种植后,分别对营养期和抽穗期的植株高度、分蘖数、根系发达程度进行测量与观察。从中筛选出不分蘖和少分蘖突变株,并收集自交的种子继续大田播种,进一步筛选与亲本分蘖数有显著性状差异的  $M_2$  代突变体后代。

**杂交检测** 对筛选得到的  $M_2$  代植株进行杂交检测,对其小穗的部分花序利用温汤去雄法处理,以突变体 *ret5-5* 为父本,野生型 FAZ-5 为母本杂交,同时也进行反交实验。突变体植株的其它小穗不做任何处理,使其自交产生种子。主要目的是检测突变体的稳定性及突变性状涉及的基因数目。

## 2 结果和分析

### 2.1 突变体的筛选

EMS 诱变处理了 FAZ-5 等四个品种共 20 000 粒种子,于 1998 年 3 月早造播种后,通过对  $M_1$  植株营养期和抽穗期的测量和观察,初步筛选出与野生型品种性状有差异的  $M_1$  代水稻植株共计 16 组 124 株,分别涉及植株的高度、分蘖数、叶片的宽度和厚度及根系发达程度等几类生物学性状。收获这些植株自交种子,每株随机挑选 5 粒种子于 1998 年 8 月晚造播种,以进一步筛选遗传稳定的  $M_2$  代植株。通过测量  $M_2$  代成熟植株的高度和分蘖数,得到一株突变体,表型为不分蘖,株高低于正常对照组约 20 cm,结实率较低,鉴于其多次自交后代表现为少分蘖(0-2 个)的特点,现将该突变体命名为少分蘖突变体 *ret5-5*(reduced tiller mutant)。

### 2.2 杂交及自交检测

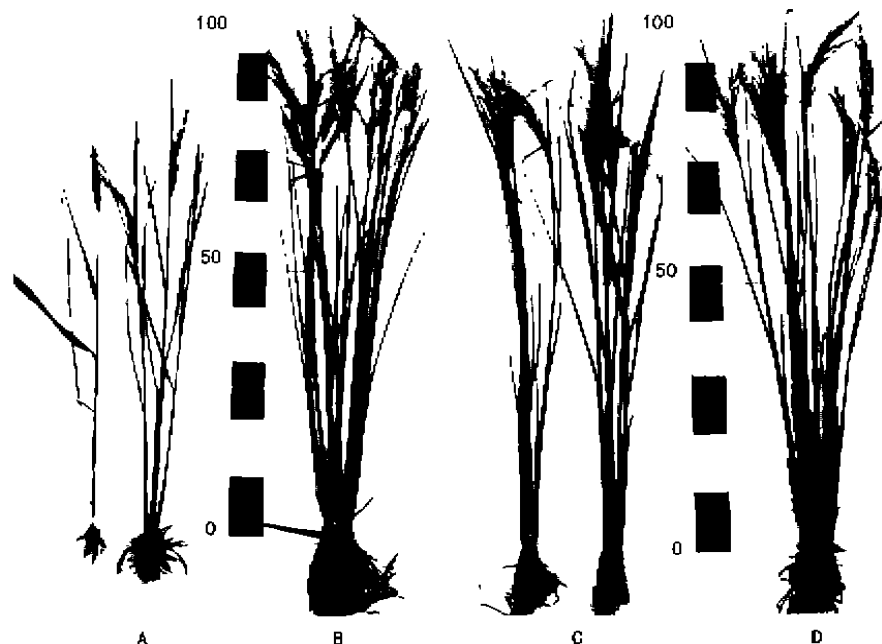
收获 *ret5-5* 的自交种子,于 1999 年 3 月种植,得到 *ret5-5*  $M_3$  代植株,其表型未发生变化,与突变体表型一致。成熟期植株平均高度与 FAZ-5 相比低 45.5 cm,是 FAZ-5 高度的 57.8%,平均分蘖数为 2.5,是 FAZ-5 的 34.7%。随后分别得到了  $M_4$ 、 $M_5$  代植株,均未出现性状分离,仍属 0-2 个分蘖情况,*ret5-5* 及其自交子代与 FAZ-5 的比较结果如表 1 和图 1 所示。

在 1998 年 10 月首次得到 *ret5-5* 突变体时,我们就进行了杂交实验,利用温汤去雄处理 FAZ-5 的小穗,并以其作母本,以 *ret5-5* 作为父本进行杂交。由于 *ret5-5* 抽穗异常,花药成活率低,因而以其作为父本的杂交成功率极低,杂交  $F_1$  代只得到一粒种子。1999 年 3 月早造种植后,得到一株  $F_1$  代植株,表型与亲本 FAZ-5 相似,植株的高度和分蘖数均恢复正常,说明该突变性状为一种隐性突变,同时收获  $F_2$  种子。

表1 FAZ-5 和 *ret5-5* M<sub>2</sub> 自交后代的株高和分蘖数Table 1 Plant height and tiller number of FAZ-5 and self-bred progeny of *ret5-5* M<sub>2</sub>

年份 Year	类型 Type	株数 Plant number	株高 Height (cm)	R1	分蘖数 Tiller number	R2
1998.10	FAZ-5	5	87.6		3	
	<i>ret5-5</i> M <sub>2</sub>	1	66	75.3%	0	0
1999.7	FAZ-5	5	107.2		7.2	
	<i>ret5-5</i> M <sub>1</sub>	2	62	57.8%	2.5	34.7%
	FAZ-5 × <i>ret5-5</i> M <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	1	110	102.6%	8	111.1%
1999.10	FAZ-5	5	86.8		5.6	
	<i>ret5-5</i> M <sub>4</sub>	6	67	77.2%	0.8	14.3%
	FAZ-5 × <i>ret5-5</i> M <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	5	85.8	98.8%	4.8	85.7%
2000.7	FAZ-5	5	95.4		8.2	
	<i>ret5-5</i> M <sub>5</sub>	7	76.1	79.8%	1.6	19.5%
	FAZ-5 × <i>ret5-5</i> M <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	96	97.4	102.1%	5.5	67.1%

株数超过1的数值为相应的平均值, R1为突变体株高/FAZ-5株高的百分值, R2为突变体分蘖数/FAZ-5分蘖数的百分值。If the plant is more than 1, the corresponding value means their average number. R1=height of mutants / height of FAZ-5×100%; R2=tiller number of mutant / tiller number of FAZ-5 × 100

图1 *ret5-5* M<sub>5</sub>, FAZ-5 及杂交 F<sub>3</sub> 代植株的表型Fig. 1. The phenotypes of *ret5-5* M<sub>5</sub>, FAZ-5 and F<sub>3</sub> lines crossed between *ret5-5* and FAZ-5

A: *ret5-5* M<sub>5</sub>; B: FAZ-5; C 和 D: FAZ-5 × *ret5-5* M<sub>2</sub> 杂交 F<sub>3</sub> 代, 示分蘖多和少两种类型。F<sub>3</sub> lines of FAZ-5 × *ret5-5*

1999年8月晚造种植 F<sub>2</sub> 代植株。由于当时兼顾其它突变体类型较多, 所以只种了5株。F<sub>2</sub> 代成熟植株平均高度与野生型接近, 但平均分蘖数是野生型的85.7%。同期亲本 FAZ-5 的分蘖数全在6以上, 而5株 F<sub>2</sub> 植株中有一株分蘖数为4。可惜的是当时 F<sub>2</sub> 植株收集过少, 但此结果可以看出突变体 *ret5-5* 对杂交后代的表型中植株高度的影响不大, 而影响杂交子代的分蘖数低于野生型的分蘖数。收获此5株杂交 F<sub>2</sub> 代的自交后代即 F<sub>3</sub> 代的种子, 每株系12或24粒于2000年3月早造种植。

FAZ-5 × *ret5-5* 杂交 F<sub>3</sub> 代成熟植株平均高度与亲本 FAZ-5 接近 (图1), 而平均分蘖数是 FAZ-5 的67.1% (表1)。FAZ-5 的分蘖数均在5以上, 而96株 F<sub>3</sub> 个体分蘖数在5或5以下的占 F<sub>3</sub>

个体总数的 53.1%(表 2),使群体的分蘖数日发生明显的变化(图 1)。进一步证实突变体 *ret5-5* 对杂交后代的株高影响不大,而只影响杂交后代半数以上的个体和群体的分蘖数(表 2),其分蘖数低于野生型的平均数,说明该突变体表现出影响分蘖数的遗传特征。

表 2 FAZ-5 × *ret5-5* M<sub>2</sub> 组合 F<sub>3</sub> 代株高和分蘖数  
Table 2 Height and tiller number of F<sub>3</sub> from FAZ-5 × *ret5-5* M<sub>2</sub>

类型 Type	植株数 Plant number	株高 Height (cm)	分蘖数 Tiller number (0-5 ↑)	分蘖数 Tiller number (6-10 ↓)	总分蘖数 Total tiller number	平均每株分蘖数 Average tiller number
FAZ-5	5	95.4		5	41	8.2
<i>ret5-5</i> M <sub>2</sub>	7	76.1	7		11	1.6
FAZ-5 × <i>ret5-5</i> M <sub>2</sub> F <sub>3</sub> -1	12	100	6	6	69	5.8
FAZ-5 × <i>ret5-5</i> M <sub>2</sub> F <sub>3</sub> -2	12	93.1	7	5	59	4.9
FAZ-5 × <i>ret5-5</i> M <sub>2</sub> F <sub>3</sub> -3	24	99.1	10	14	140	5.8
FAZ-5 × <i>ret5-5</i> M <sub>2</sub> F <sub>3</sub> -4	24	98	15	9	120	5
FAZ-5 × <i>ret5-5</i> M <sub>2</sub> F <sub>3</sub> -5	24	97.4	13	11	140	5.8
F 总和	96	97.4	51	45	528	5.5

### 3 讨论

水稻少分蘖突变体 *ret5-5*, 经过 5 代自交, *ret5-5* 的性状趋于稳定, 平均分蘖数为 1.6, 为亲本的 19.5%。该突变体的株高为亲本的 67.1%, 推测该突变体可能涉及 2 个或多个基因。然而, 当以突变体为父本与亲本的杂交后代, 不管是 F<sub>2</sub> 还是 F<sub>3</sub>, 株高均得到恢复, 分别是亲本的 98.8% 和 102.1%, ; 但分蘖数降低, 分别是亲本的 85.7% 和 67.1%, 据此分析, 株高和分蘖数目的变化是由两个不同的基因发生突变造成的。但是由于当时进行了多种突变体的观察, F<sub>2</sub> 和 F<sub>3</sub> 只是作为一种观察的对象, 未达到群体的水平, 鉴于 M<sub>3</sub> 性状已趋于稳定, 遂于 2000 年重新建立 F<sub>2</sub> 群体, 用作遗传分析之用。仅从本结果来看, 在 M<sub>3</sub>、M<sub>4</sub> 和 M<sub>5</sub> 植株中, 突变基因控制的分蘖数在 0.8-2.5 的范围内, 所以我们称之为少分蘖基因, 而非不分蘖基因。在利用 EMS 诱变水稻的研究中, 我们同时还获得了一株极度分蘖突变体, 一旦对这些突变体的遗传基础了解清楚, 就可应用到水稻育种中, 以便将来控制植株分蘖数和群体分蘖数。本文的初步结果显示这种可能性。

#### 参考文献:

- [1] 袁隆平. 杂交水稻育种战略 [A]. 两系法杂交水稻研究论文集 [C]. 北京: 农业出版社, 1992, 1-5.
- [2] 袁隆平. 杂交水稻超高产育种 [J]. 科学中国人, 1998, (6): 14-16.
- [3] Aron L S, Charles N C, Sun T P. The *Arabidopsis* *RGA* gene encodes a transcriptional regulation repressing the gibberellin signal transduction pathway [J]. *The Plant Cell*, 1998, 10(2): 155-169
- [4] Aida M, Ishida T, Fukaki H, et al. Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant [J]. *The plant cell*, 1997, 9(6): 841-857.
- [5] Wu W R, Li W M, Tang D Z, et al. Time-relate mapping of quantitative trait loci underlying tiller number in rice [J]. *Genetics*, 1999, 151: 297-303.
- [6] Doebley J, Stec A, Hubbard L. The evolution of apical dominance in maize [J]. *Nature*, 1997, 386: 485-488.
- [7] Martienssen R. The origin of maize branches out [J]. *Nature*, 1997, 386: 443.
- [8] Stürnberg P, Chatfield S P and Ottoline Leyser H M. *ARL1* acts after lateral bud formation to inhibit lateral bud growth in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 1999, 121: 839-847.
- [9] Schumacher K, Schmitt T, Rossberg M, et al. The lateral suppressor gene of tomato encodes a new member of the VHLID protein family [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 290-295.