

直立密穗基因 *DEP2-1388* 的遗传分析及在杂交稻中的育种利用

胡运高^{1,2}, 郭连安², 杨国涛², 钦鹏¹, 范存留², 彭友林², 严维³,
何航³, 李仕贵¹

1. 四川农业大学水稻研究所, 成都 611130;

2. 西南科技大学水稻研究所, 绵阳 621010;

3. 北京大学生命科学院, 北京 100871

摘要: 通过 EMS 诱变粳型重穗恢复系蜀恢 498, 获得一个直立穗突变体 *R1338*。与野生型相比, 突变体表现为植株变矮、穗直立、穗长变短、一次枝梗变短、着粒密度增加、穗部抗弯曲力极显著增强、籽粒增宽增厚、粒长变短。组织细胞学分析发现, 穗颈节直径、纤维素含量和木质素含量在穗部抗弯曲上发挥了重要的作用。遗传分析表明该直立穗表型受一对半显性核基因 *DEP2* 控制, 通过重测序以及 MutMap 方法定位发现, 在 *R1338* 突变体中, *DEP2* 第 7 外显子有一个 A 到 G 的碱基置换, 导致第 928 个精氨酸(AGG)被置换成甘氨酸(GGG), 推测 *R1338* 直立穗性状可能由 *DEP2* 中该 SNP 导致。用 *R1338*、野生型与不同穗型不育系分别配组, *R1338* 与弯曲穗不育系所配组合穗部表现半直立, 且保持较高的结实率和杂种优势, 与 *DEP1* 直立穗不育系配组表现为基因累加效应的直立穗。本研究还讨论了直立穗突变体 *R1338* 在杂交水稻育种中的利用价值。

关键词: 水稻; 直立穗; 基因定位; 群体密度; 育种应用

Genetic analysis of dense and erect panicle 2 allele *DEP2-1388* and its application in hybrid rice breeding

Yungao Hu^{1,2}, Lianan Guo², Guotao Yang², Peng Qin¹, Cunliu Fan², Youlin Peng²,
Wei Yan³, Hang He³, Shigui Li¹

1. Rice Research Institute of Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Rice Research Institute of Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China;

3. College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

收稿日期: 2015-06-24; 修回日期: 2015-08-12

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31471475)、国家科技支撑计划“长江上游优质抗病种质创制与新品种选育”(编号: 2014BAD01B03)、四川省生物资源利用与改性工程技术中心开展开放基金项目和杂交水稻国家重点实验室开放基金项目(编号: 2014KF01)资助
[Project Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31471475), National Key Technology Support Program ‘Germplasm Creation and New Variety Breeding of High Quality and Disease Resistance in Upper Yangtze River’ (No. 2014BAD01B03), the Open Fund of Engineering Research Center for Biomass Resource Utilization and Modification of Sichuan Province, and the Open Research Fund of State Key Laboratory of Hybrid Rice (Hunan Hybrid Rice Research Center) (No. 2014KF01)]

作者简介: 胡运高, 博士, 研究员, 专业方向: 作物遗传育种。E-mail: yungaohu@hotmail.com

通讯作者: 李仕贵, 博士, 教授, 研究方向: 作物遗传育种。E-mail: lishigui@sicau.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.15-158

网络出版时间: 2015-9-23 17:06:40

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150923.1706.002.html>

Abstract: Using ethyl methanesulfonate (EMS) mutagenesis, we isolated an erect panicle mutant, *R1338*, from *indica* heavy-panicle restorer Shuhui498. Compared with wild type control, the mutant displayed dwarfism, erect and short panicle, short primary panicle branch, increased grain density, short grain length and increased grain thickness. In addition, the erect panicle architecture of *R1338* resulted in significant decreased bending moment and increased resistance to panicle bending. Histocytological analysis indicated that the diameter of uppermost internode, cellulose content and lignin content play important roles in resistance to panicle bending. Genetic analysis revealed that the mutant phenotype was controlled by a semi-dominant nuclear gene. With resequencing and MutMap analysis strategy, we found that one SNP from A to G at the seventh exon of *DEP2* resulted in the 928th amino acid substitution from arginine (AGG) to glycine (GGG) in *R1338* mutant. Considering the phenotype of other *dep2* mutants, the phenotype of *R1338* was likely to be caused by the SNP in *DEP2*. The mutant *R1338* and wild type were crossed with several sterile lines which respectively had different panicle types, the combinations generated from *R1338* and curve panicle sterile lines showed semi-erect panicle, higher seed setting percentage and heterosis, and the combinations generated from *R1338* and erect panicle sterile line with *DEP1* showed erect panicle by gene additive effect. Moreover, the combinations with semi-erect panicle had superior light transmittance and stronger light intensity, which improved efficiency of light utilization to intermediate and subjacent leaves compared to the combinations with curved panicle. This study provides a good strategy to solve the problem of population density in three-line hybrid rice.

Keywords: rice; erect panicle; gene mapping; population density; breeding application

水稻直立穗群体通透性较好, 有利于群体充分利用光能, 促进 CO_2 扩散, 提高群体光合效率, 增加作物产量, 直立穗型水稻还有利于增强品种的抗倒性^[1,2]。因此, 直立穗型被认为是继矮化育种之后, 水稻株型适应超高产育种的又一重要形态学变化^[3], 且直立粳稻品种已得到大面积推广利用。目前, 已克隆的直立穗基因包括 *DEP1*^[4]、*EP2/DEP2/SRS1*^[5~7]、*EP3*^[8]、*DEP3*^[9]、*FUWA*^[10]和 *SG1*^[11], 其中直立穗基因 *DEP1* 已经在北方粳稻生产上获得大面积应用, 而其他直立穗基因在生产上是否具有应用潜力, 目前还不清楚。

长江上游稻区属于寡日照稻区, 栽培稻以籼稻为主, 但对于籼稻直立穗型水稻品种的应用却鲜有报道。对籼型直立穗水稻品种的研究和育种应用, 将有助于进一步解析调控水稻直立穗型的分子机制, 提高寡日照稻区水稻的光能利用效率。本研究通过对籼型直立穗突变体 *R1338* 的基因定位, 比较野生型和突变体穗弯曲性、穗颈结构、生化成分等差异, 旨在探讨直立穗突变体 *R1338* 穗部保持直立的原因, 为进一步研究直立穗型水稻形成的分子机制奠定基础。通过突变体 *R1338* 与野生型分别同水稻“三系”不育系杂交配组, 比较研究了后代群体的产量性状及群体生态差异, 探讨了籼稻直立穗突变体在杂交育种上的应用价值。

1 材料和方法

1.1 供试材料与试验设计

重穗型杂交稻骨干恢复系蜀恢 498(R498)及 EMS 诱变蜀恢 498 获得的遗传稳定的直立穗突变体 *R1338*; 生产应用的弯曲穗三系不育系川农 1A(CN1A)、川农 1B(CN1B)以及无花粉核不育材料川农 1S(H1S); 以含 *DEP1* 基因的粳稻直立穗辽粳 9 号为供体亲本进行回交, 转育至 BC_4 代再结合系谱选择, 育成的籼型直立穗不育系 E69A。本研究所用材料均由四川农业大学水稻研究所提供。

2013 年 *R1338* 分别与 R498 和 CN1B 杂交构建遗传分析群体; 同时利用 R498 和 *R1338* 分别与不育系 CN1A、CN1S 和 E69A 配制 6 个杂交组合: CN1A/R498、CN1A/*R1338*、H1S/R498、H1S/*R1338*、E69A/R498 和 E69A/*R1338*。

2014 年夏在西南科技大学试验基地种植 *R1338* 和 R498, *R1338* 与 R498 和 CN1B 的 F_1 、 F_2 群体, 以及 6 个杂交 F_1 群体。试验材料于 4 月 10 日播种, 5 月 12 日移栽, 栽插规格: $33.3 \text{ cm} \times 16.7 \text{ cm}$; 其中 6 个杂交 F_1 群体, 采用随机区组设计, 3 次重复, 小区行长 10 m, 5 行区。试验田为沙壤土, 肥力中上。

1.2 方法

1.2.1 穗颈节组织切片及木质素测定

在水稻开花后 20 d 分别取 R498 和 *R1338* 主穗的穗颈节, 用 10 % 氢氟酸脱硅 25 d, 冲洗后用 FAA 固定液固定, 用番红、固绿染色, 按石蜡制片法制作永久制片, 切片厚度 10 μm 。经显微观察后, 取有代表性的切片用 OLMPUS-2 显微摄像, 用图像处理软件(Axio-vision Rel. 4.6)计算穗颈横截面积、髓腔面积、茎壁面积^[12]。

同时取稻穗摘除籽粒, 保持枝梗完整, 于 105 下杀青 0.5 h, 再于 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干, 通过高速粉碎机粉碎, 然后过 80 目筛, 过筛后的粉末进行化学成分测定。纤维素和木质素含量的测定参照 FOSS 公司 FibertecTM M6 1020/1021 型纤维素测定仪的操作手册进行。

1.2.2 穗抗弯曲指标的测量

在水稻开花后 20 d 分别测量 R498、*R1338* 和 6 个杂交 F_1 群体的 5 个单株主穗的穗颈弯曲度(剑叶叶枕到穗尖的连线与茎秆延长线的夹角), 同时取稻穗保鲜, 称量鲜重后摘除籽粒, 保持枝梗完整。用 HP-5 型推拉力计(乐清市艾德堡仪器有限公司)推去粒稻穗的 1/2 处, 至稻穗弯曲 90° 时推力即为稻穗的抗弯曲力; 游标卡尺测定穗颈节的直径、壁厚等性状。

1.2.3 遗传分析与候选基因克隆

1.2.3.1 遗传分析

直立穗突变体 *R1338* 与 R498 和 CN1B 杂交的 F_1 和 F_2 群体成熟时, 按穗型分类统计群体中弯曲穗、半直立穗和直立穗的植株数量, 进行遗传分析。穗型分类按照徐正进^[13]粳稻穗型分类方法结合籼稻特性将 F_2 群体及杂交 F_1 分为直立穗型(穗弯曲度 $< 45^{\circ}$)、半直立穗型($45^{\circ} < \text{穗弯曲度} < 90^{\circ}$)、弯曲穗型(穗弯曲度 $> 90^{\circ}$)。

1.2.3.2 基因定位

利用 MutMap 方法^[10]在 *R1338*/R498 的 F_2 群体中取 25 株表型明显的直立穗单株的叶片, 剪取每一叶片上面等面积的部位混合在一起, 用 DNAsure 新型植物基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司)提取基因组 DNA, 构建隐性池, 与 R498 一

并送诺禾致源生物信息科技有限公司进行重测序。以 R498 序列为参考序列, 采用 SOAPsnp 软件(<http://soap.genomics.org.cn/soapsnp.html>)对测序结果进行 SNPs 分析。候选 SNPs 位点以参数(SNP index 0.8, read depth 5)为参考, 结合生物信息学手段确定突变位点。

1.2.3.3 候选基因验证

进一步选取 *R1338*/R498 的 F_2 群体中 100 株直立穗的叶片, 按每 10 株的叶片等量混合提取 DNA, 共构建 10 个 DNA 池。针对突变位点, 设计测序引物, 正向引物 AL40: 5'-ACTCGGTGTCATCAACTTCGTC-3', 反向引物 AL37: 5'-TTGCTCCACCTCCTTACC-AACT-3', 扩增上述 10 个 DNA 样本, 其 PCR 扩增产物由成都擎科梓熙生物技术有限公司测序, 利用 DNAMAN 软件进行序列比对, 验证突变位点。

1.2.4 不同杂交组合产量及穗部性状比较

在水稻开花后 20 d 测定 6 个杂交 F_1 群体的穗抗弯曲特性。水稻成熟后, 每小区收 100 株计产, 并按照实收小区面积计算各组合亩产($\text{kg}/667\text{m}^2$)并按平均分蘖数取有代表性的植株进行考种, 分别调查株高、分蘖数、穗长、穗着粒密度、实粒数、一二次枝梗数、一二次枝梗着粒数、籽粒长宽等性状。

1.2.5 数据处理

采用 Excel 2003 进行试验数据的整理和分析, 用 DPS 7.05 数据处理系统对数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 突变体 *R1338* 的农艺性状

突变体 *R1338* 与野生型 R498 比较, 株高略低, 穗长变短, 穗部着粒密度增大, 粒宽和粒厚增加, 粒长缩短, 千粒重降低了 2.11 g, 穗型直立, 分蘖数和穗平着粒数无显著差异(图 1, 表 1)

2.2 突变体 *R1338* 穗部抗弯曲性及组织学观察、成分分析

R1338 与野生型 R498 穗部弯曲相关性状比较分析结果表明(表 2), 穗长和一次枝梗长度变短, 一次枝梗着生密度增加, 穗抗弯曲力是野生型的 3 倍。*R1338* 穗主轴和枝梗的纤维素和木质素含量显著高

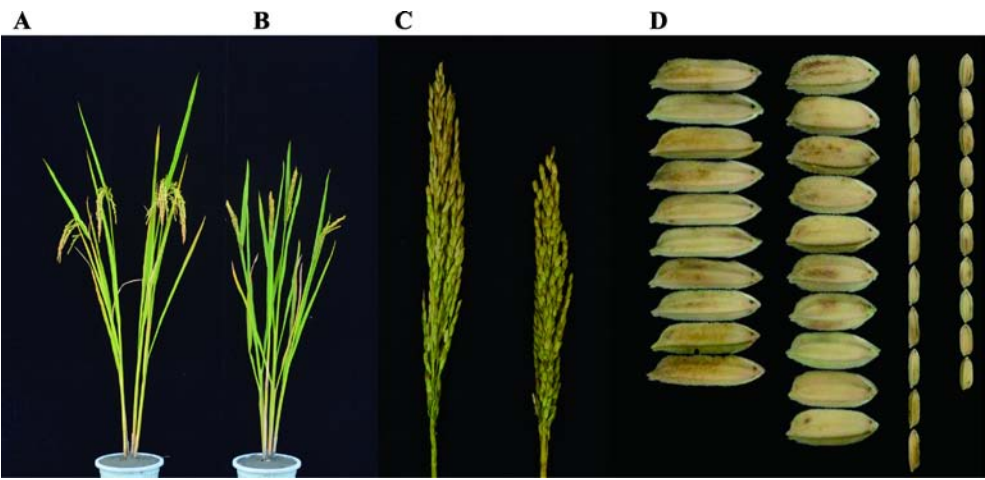


图 1 野生型 R498 与 R1338 的表型

Fig. 1 Phenotypes of mutant R1338 and wild type R498

A : R498 与 R1338 的成熟植株。标尺为 10 cm。B : R498 与 R1338 的主穗。标尺为 2 cm。C 和 D : 来自 R498 与 R1388 主穗上的籽粒。C 中标尺为 5 mm , D 中标尺为 10 mm。A~D 中左边为 R498 , 右边为突变体 R1338。

表 1 野生型 R498 和突变体 R1338 的形态特征比较

Table 1 Comparison of morphological characteristics between wild type R498 and mutant R1338

性状	R498	R1338
株高(cm)	117.15±1.33	98.90±1.23**
分蘖数	5.00±1.33	4.00±0.90
穗长(cm)	26.70±1.07	20.55±1.00**
每穗着粒数	222.18±36.13	221.48±26.25
着粒密度	8.31±0.42	10.87±0.23**
结实率(%)	0.92±0.03	0.85±0.02**
粒长(mm)	10.01±0.63	8.09±0.55**
粒宽(mm)	2.86±0.23	3.38±0.04**
粒厚(mm)	5.13±0.13	6.14±0.08**
千粒重(g)	34.67±1.06	32.56±0.61*

注 : * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

于野生型 R498 ,其中木质素含量提高 17.89% ,纤维素含量提高 2.76%(表 3) ;因此 R1338 相对较短的穗长和枝梗长度 ,枝梗着生密度的增加以及纤维素和木质素含量的提高是保持穗直立的可能原因。

R1338 较野生型株高降低了 18 cm 左右 ,且茎节相应缩短 ,茎秆变粗。进一步比较分析穗颈节的组织和形态结构 ,结果表明 R1338 穗颈节间横切面中的薄壁细胞明显比野生型大(图 2) ,茎壁增厚 ,穗颈节直径、壁面积、横截面积、髓腔面积均显著高

于野生型(表 3)。这些茎秆结构和形态性状的变化导致 R1338 的抗倒力显著增强。

2.3 遗传分析

R1338 与野生型 R498 和 CN1B 杂交 , F_1 植株的穗型均表现为半直立 ;两个 F_2 群体中均出现了弯曲穗、半直立穗和直立穗 3 种表型(图 3) ,分别统计 3 种表型植株的数量 ,经 χ^2 测验 ,其分离比例符合 1:2:1 的孟德尔遗传规律(表 4) ,表明该突变性状由 1 对半显性核基因控制。

2.4 基因定位及候选基因克隆

对野生型与 25 株直立穗混合 DNA 池的重测序比较分析 ,结果表明在 7 号染色体上检测到 1 个 A 到 G 的 SNP 位点(SNP index=1) ,位于 LOC_Os07g42410 (图 4B)。LOC_Os07g42410 是已报道的直立穗基因 *DEP2* ,全长 7850 bp ,包含 10 个外显子 ,编码 1 个由 1365 氨基酸组成的蛋白质。突变体 R1338 中 *DEP2* 基因第 7 外显子上存在 1 个 A 到 G 的突变 ,导致第 928 位的碱性精氨酸(AGG)被替换成中性甘氨酸(GGG)。

为了验证突变体的表型是否由 *DEP2* 基因点突变引起的 ,本文将 F_2 群体中的 100 个直立穗单株混成 10 个 DNA 池。在突变位点附近设计 1 对测序引物 ,通过 PCR 扩增并对产物进行测序。从图 4C 中

表 2 野生型 R498 与突变体 R1338 穗抗弯曲相关指标比较

Table 2 Comparison of related indexes of bending resistance of panicle between R498 and R1338					
材料	一次枝梗数	一次枝梗着生密度	一次枝梗长度(mm)	抗弯曲力(N)	弯曲力矩(cm·g)
R498	15.73±0.71	0.55±0.03	15.90±0.68	0.11±0.01	353.54±14.55
R1338	16.55±0.48*	0.77±0.02**	11.40±0.61**	0.34±0.04**	271.65±30.16**

注：* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

表 3 野生型 R498 与突变体 R1338 穗颈节组织特性及成分比较

Table 3 Comparison of texture characteristic and ingredient of uppermost internodes between wild type R498 and R1338 mutant							
材料	纤维素(%)	木质素(%)	穗颈节直径(mm)	颈壁厚度(mm)	穗颈横截面积(mm ²)	髓腔面积(mm ²)	茎壁面积(mm ²)
R1338	43.25±0.52a	9.16±0.64a	4.18±0.36a	0.33±0.02a	13.80±2.41a	9.78±1.93a	4.02±0.53a
R498	42.09±0.35b	7.77±0.31b	3.30±0.17b	0.34±0.03a	8.59±0.86b	5.42±0.55b	3.17±0.36b

注：同列数据后不同小写字母表示 LSD(Least-significant difference)检验在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

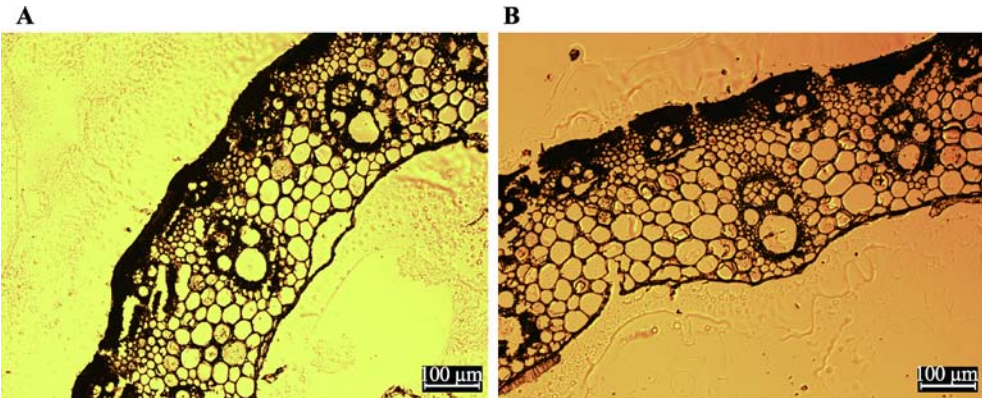


图 2 穗颈解剖结构
Fig. 2 Anatomical structure of the uppermost internodes.
A：R498 的穗颈节横切面；B：R1338 的穗颈节横切面。

表 4 突变体 R1338 直立穗特性的遗传分析

组合	F ₁ 表型	F ₂ 群体				$\chi^2_{(3:1)}$	$\chi^2_{0.05}$
		总植株数	弯曲穗	半直立穗	直立穗		
R1338/R498	半直立穗	720	185	365	170	0.67	3.84
R1338/C1B	半直立穗	1269	326	641	302	0.91	3.84

的测序结果可以看出，F₂ 突变单株中的 *DEP2* 基因均发生了突变，说明 *DEP2* 基因的突变与 R1338 的直立穗表型共分离，并将控制该突变表型的基因命名为 *DEP2-1388*。

2.5 突变体 R1338 在育种上的应用

R498、R1338 分别与 H1A、CN1A、E69A 配制成 6 个杂交组合，通过对 F₁ 群体的穗型分析(表 5)，

结果表明 *dep1* 和 *dep2-1388* 控制的直立穗亲本与弯曲穗亲本的 F₁ 群体表现为半直立穗，而 *dep1* 和 *dep2-1388* 控制的直立穗亲本 E69A 和 R1338 相互杂交的 F₁ 群体表现为直立穗，表明 *dep1* 和 *dep2-1388* 表现的性状均为半显性，且具有遗传累加效应。进一步分析 6 个杂交组合 F₁ 群体植株穗一次枝梗数和着生密度表明，遗传背景相同组合的一次枝梗数无显著差异，但一次枝梗着生密度差异显著，表现为

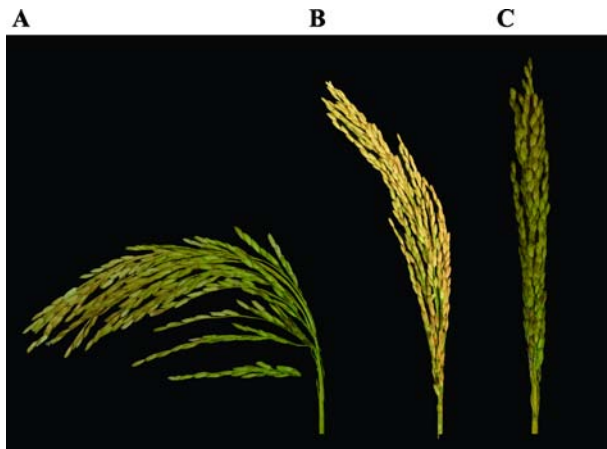


图 3 群体中 3 种不同穗型

Fig. 3 Three panicle types in the population

A: 弯曲穗; B: 半直立穗; C: 直立穗。

直立穗>半直立穗>弯曲穗; 穗抗弯曲能力表现相同的趋势, 直立穗>半弯曲穗>弯曲穗; 遗传背景相同的直立穗和半直立穗组合的穗颈节的茎壁厚度和茎直径无显著差异, 但半直立穗显著高于弯曲穗。因此水稻穗部直立特性的增加是一次枝梗着生密度、穗抗弯曲能力、颈壁厚度、穗颈直径共同作用的结果。6 个杂交组合 F_1 的农艺性状和产量表现(表 6)结果表明, 遗传背景相同的半直立穗组合的产量与弯曲穗相当或者更高, 极显著高于直立穗组合的产量, 其中半直立穗 H1A/*R1338* 产量最高, 达到 711.58 kg/667m²; 不同组合在农艺性状方面除株高无显著差异外, 其他性状存在显著差异, 相同遗传背景半直立穗的每穗着粒数和千粒重均高于弯曲穗和直立穗组合, 而有效穗低于弯曲穗和直立穗组合; 在结实率方面, 不育系影响更大, 无花粉隐性核不育系材料 H1A 所配组合的产量、结实率均显著高于 C1A 和 E69A 所配组合, 直立穗组合 E69A/*1338* 结实率显著低于弯曲穗及半直立穗组合。穗长主要受亲本是否含有直立穗基因影响; 双亲或单一亲本含有直立穗基因的组合, 穗长均显著低于不含直立穗基因的组合。双亲都含有直立穗基因的组合, 穗长显著低于单亲含直立穗基因的组合, 可见直立穗基因对于穗长具有累加抑制效应。

3 讨 论

3.1 *DEP2/EP2* 等位突变基因的遗传效应比较分析

随着基因定位和克隆技术的发展, 许多水稻穗

型相关基因被克隆。*DEP1* 基因是一个控制水稻产量性状的主效 QTL, 编码一个类似于磷脂酰乙醇胺结合蛋白的蛋白, 突变后能引起稻穗变短、直立和着粒数增加, 以及营养生长阶段对氮不敏感型, 从而增加水稻产量, 属于功能获得型突变^[4,14,15]。*DEP2* 基因突变后穗变短、直立、粒长减少、千粒重降低, *DEP2/EP2/SRS1* 基因有 8 个等位突变体^[5~7]。*DEP3* 编码一类 patatin 磷脂酶 A 蛋白, 突变后茎秆变粗、谷粒变小和粒数增加^[9]。*ep3* 突变体中一个核苷酸缺失导致转录时提前终止, 使分蘖数量、穗长和每穗粒数减少^[8]。

本研究中的突变体 *R1338* 由重穗型籼稻骨干恢复系 R498 经 EMS 诱变而来, 是 *DEP2/EP2/SRS1* 基因的新等位突变体, 突变方式与已报道的 *DEP2/EP2/SRS1* 突变方式不同, 其第 7 外显子上 A 突变为 G, 导致精氨酸(AGG)被置换成甘氨酸(GGG), 且遗传效应也存在差异, *DEP2/EP2/SRS1* 其它等位突变体的 *dep2* 基因表现为隐性, 而 *DEP2-1388* 基因表现为半显性。在农艺性状方面, 突变体 *R1338* 和 *DEP2/EP2* 其他等位突变体与相应野生型比较均表现出穗短直立、株高变矮、茎秆变粗、粒型变短, 着粒密度增加, 不同之处 *DEP2/EP2* 其他等位突变体每穗粒数减少和千粒重降低, 而 *R1338* 中每穗粒数和千粒重无明显变化, 且与弯曲穗材料的杂种 F_1 表现出半直立表型, 有利于杂交水稻中对该基因的利用。因此, *DEP2-1388* 基因及突变体 *R1338* 的优良农艺性状为籼型杂交稻株型和穗型的遗传改良提供了优良基因和材料基础。

3.2 穗部生理生化特性与穗直立特性

水稻穗部表现直立受到穗长、穗颈抗弯曲能力、以及穗着粒密度等的影响。其中穗颈的抗弯曲能力是稻穗保持直立的关键因素。水稻穗颈的抗弯曲能力与基部各节的抗倒伏能力相似, 均是在基因控制下的茎部解剖结构和成分的差异所引起的抗弯曲能力变化。Ookawa^[16]等研究发现 *SCM2* 基因近等位基因系表现出茎秆强度增强, 抗弯曲能力增加现象。Hirano 等^[17]发现 *LRC1* 基因提高抗弯曲能力主要是通过增加茎秆直径和厚度。抗弯曲能力的大小主要与节厚壁组织的发达程度、维管束数目、髓腔大小等影响^[18]。机械组织发达, 木质化程度高, 大维管

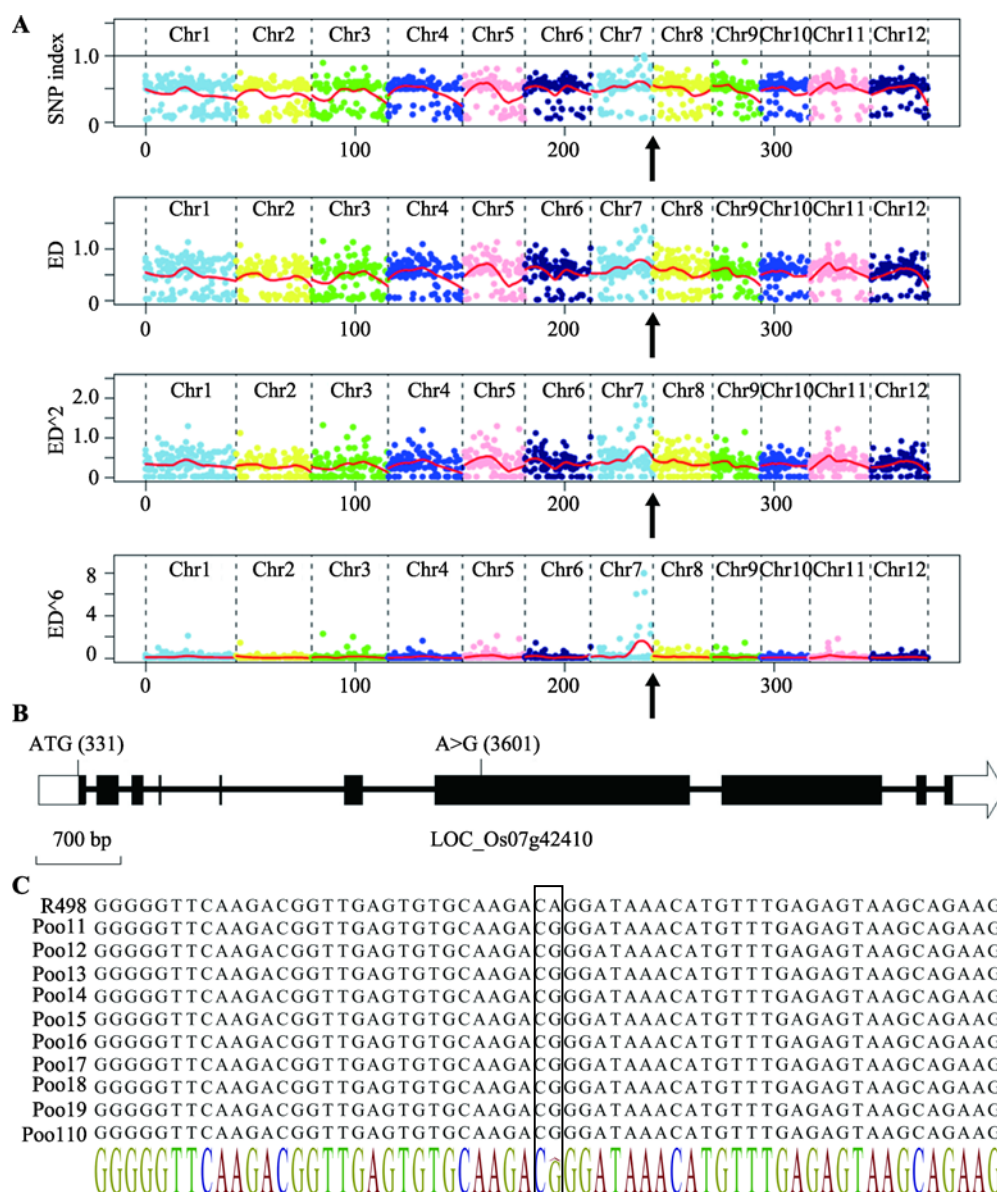


图 4 *dep2-1338* 候选基因部分序列

Fig. 4 Partial sequence of *dep2-1338* candidate gene

A: 重测序的 MutMap。红色箭头表示预测的 SNP 位点, ED 值(SNP 参数, 等位基因参数以及最小测序深度); B: *DEP2-1338* 基因的结构及突变位点; C: 突变体组成的 10 个混池与野生型的测序分析。黑色方框区域为碱基差异位点。

表 5 杂交组合穗弯曲相关性状比较

Table 5 Comparison of panicle curve related traits of hybrid combinations

组合	穗型	一次枝梗数	一次枝梗着生密度	弯曲力矩(cm·g)	穗抗弯曲力(N)	颈壁厚度(mm)	穗颈直径(mm)
H1A/R498	弯曲	16.43bc	0.59e	337.33±23.64a	0.07±0.00d	0.30±0.03c	3.12±0.12d
H1A/R1338	半直立	16.44bc	0.61de	303.86±38.36ab	0.10±0.01cd	0.33±0.05c	3.23±0.31c
CN1A/R498	弯曲	16.10c	0.58e	306.91±8.31ab	0.11±0.02cd	0.34±0.03bc	3.17±0.13d
CN1A/R1338	半直立	15.70c	0.61de	264.30±48.15bc	0.13±0.01c	0.47±0.08a	3.48±0.36b
E69A/R498	半直立	18.13a	0.76b	288.89±36.08b	0.17±0.03b	0.39±0.05bc	3.65±0.31a
E69A/R1338	直立	17.62a	0.83a	202.63±9.90c	0.28±0.03a	0.38±0.03bc	3.68±0.27a

注: 同列数据后不同小写字母表示 LSD 检验在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。

表 6 不同杂交组合株高、产量、单株光合效率和产量性状比较
Table 6 Comparison of plant height, yield, photosynthetic efficiency per plant and yield traits in different hybrid combinations

组合	产量(kg/667m ²)	株高(cm)	每株有效穗	穗长(cm)	每穗着粒数	结实率(%)	千粒重(g)
H1A/R498	661.94±12.96b	122.36±2.90a	8.00±1.00b	28.08±0.65a	228.83±17.41a	90.28±2.55a	28.70±0.51b
H1A/R1338	711.85±9.75a	122.52±3.02a	6.40±0.55bc	26.79±0.59bc	238.02±32.61bc	91.38±1.75a	29.49±0.52b
CN1A/R498	577.94±29.29d	124.04±2.46a	6.80±1.10bc	27.61±0.98ab	207.03±19.84c	81.71±3.30b	33.28±0.52a
CN1A/R1338	571.54±3.78d	120.86±3.05a	5.60±0.55c	25.77±0.97c	212.53±27.90c	73.00±4.31c	34.27±0.42a
E69A/R498	618.86±8.12c	123.72±2.99a	7.20±0.84bc	23.76±0.79d	348.12±75.38a	80.73±3.96b	28.05±0.31cd
E69A/R1338	457.39±23.01e	122.32±1.73a	10.00±1.87a	21.26±0.72d	241.16±53.81bc	60.15±8.34d	27.44±0.94d

注：同列数据后不同小写字母表示 LSD 检验在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

束长且宽，数目多，秆壁厚，髓腔大小适中的解剖结构有利于增加抗弯曲能力^[19]。纤维素和木质素是构成细胞壁的主要成分，能显著地增强茎秆的机械强度和抗倒伏能力。研究发现茎基节的抗折力与纤维素含量间的相关系数达到显著正相关水平^[20]。同时木质素含量与茎秆强度的关系也比较密切^[21~23]。Ookawa 和 Ishihara^[24]研究明确发现茎秆的木质素含量与抗折力有相关性，但在不同品种间有差异。Wang 等^[25]等研究发现纤维素对茎秆抗弯曲能力的贡献大于木质素。因此细胞中的纤维素和木质素积累也是茎秆抗弯曲能力增强的内在标志^[26]。在本研究中，突变体 *R1338* 的穗长和一次枝梗变短，着粒密度增加，穗颈抗弯曲能力极显著高于野生型弯曲穗品种。*R1388* 株高变矮、节间变短、穗颈节直径和茎壁增加，其他节表型相似，且纤维素和木质素含量显著高于野生型。突变体 *R1338* 穗枝梗和着粒密度的变化以及茎秆结构变异和茎中含有更多的纤维素和木质素增加是导致突变体穗部直立和抗倒力增加的主要原因。

3.3 直立穗突变体 *R1338* 在杂交水稻中的应用

通过水稻品种的合理密植，控制无效分蘖，是优化群体的重要措施之一。李建广和祁玉良等^[19,27]研究发现，合理密植可以控制水稻的无效分蘖，促进分蘖成穗率的提高，每穗着粒数也有较大程度增加。同时，增加种植密度可以使植株整个生育期的生长速度更为均一。但又有研究表明^[28,29]过度密植会导致每穗着粒数和产量的下降。因此，提高成穗率必须建立在合理密植、稳定穗数的基础上，这样才有利于改善冠层结构和群体通透质量，改善中后

期群体内光照条件，延长功能叶片寿命，提高抽穗后群体光合效率，获取高产^[30]。在本研究中，野生型 R498 是重穗型杂交稻骨干恢复系，已组配系列杂交稻新品种大面积生产应用，其直立穗突变体 *R1338* 所配半直立杂交稻组合在株高方面均无显著差异，株型更紧凑，具有较高的光合效率和群体透光性，其群体中部透光率较弯曲穗群体最高可提高 44.72%^[31]，且着粒密度、每穗着粒数和千粒重增加，在本研究栽插密度不足条件下，产量与相应弯曲穗组合相当或更高。因此在保持与现有弯曲穗籼稻组合相同的群体透性条件下，*R1338* 所配半直立穗组合可以通过增加种植密度，进一步提高单位面积的有效穗，获得更高产量。另一方面，利用具有半显性特点的直立穗基因 *DEP2-1388* 进行杂交水稻亲本改良，并配套增加半直立穗杂交水稻品种的种植密度，可能是解决目前杂交水稻产量徘徊不前问题的关键技术措施之一。

参考文献(References):

[1] Yuan LP. Hybrid rice breeding for super high yield. *Hybrid Rice*, 1997, 12(6): 1–6.
袁隆平. 杂交水稻超高产育种. *杂交水稻*, 1997, 12(6): 1–6. [DOI]
[2] Xu ZJ, Chen WF, Zhou HF, Zhang BL, Yang SR. The physiological and ecological characteristics of erect panicle rice population and its utilization prospect. *Chinese Science Bulletin*, 1996, 41(12): 1122–1126.
徐正进, 陈温福, 周洪飞, 张龙步, 杨守仁. 直立穗型水稻群体生理生态特性及其利用前景. *科学通报*, 1996, 41(12): 1122–1126. [DOI]
[3] Chen WF, Xu ZJ, Zhang LB. *Physiological Basis Rice Breeding for Super High Yield*. Shenyang: Liaoning Sci-

- ence and Technology Press, 1995.
- 陈温福, 徐正进, 张龙步. 水稻超高产育种生理基础. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1995. [DOI]
- [4] Huang XZ, Qian Q, Liu ZB, Sun HY, He SY, Luo D, Xia GM, Chu CC, Li JY, Fu XD. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nat Genet*, 2009, 41(4): 494–497. [DOI]
- [5] Zhu KM, Tang D, Yan CJ, Chi ZC, Yu HX, Chen JM, Liang JS, Gu MH, Cheng ZK. *ERECT PANICLE2* encodes a novel protein that regulates panicle erectness in *Indica Rice*. *Genetics*, 2010, 184(2): 343–350. [DOI]
- [6] Li F, Liu WB, Tang JY, Chen JF, Tong HN, Hu B, Li CL, Fang J, Chen MS, Chu CC. Rice DENSE AND ERECT PANICLE 2 is essential for determining panicle outgrowth and elongation. *Cell Res*, 2010, 20(7): 838–849. [DOI]
- [7] Abe Y, Mieda K, Ando T, Kono I, Yano M, Kitano H, Iwasaki Y. The *SMALL AND ROUND SEED1 (SRS1/DEP2)* gene is involved in the regulation of seed size in rice. *Genes Genet Syst*, 2010, 85(5): 327–339. [DOI]
- [8] Piao RH, Jiang WZ, Ham TH, Choi MS, Qiao YL, Chu SH, Park JH, Woo MO, Jin ZX, An G, Lee J, Koh HJ. Map-based cloning of the *ERECT PANICLE 3* gene in rice. *Theor Appl Genet*, 2009, 119(8): 1497–1506. [DOI]
- [9] Qiao YL, Piao RH, Shi JX, Lee SI, Jiang WZ, Kim BK, Lee J, Han LZ, Ma WB, Koh HJ. Fine mapping and candidate gene analysis of *dense and erect panicle 3*, *DEP3*, which confers high grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2011, 122(7): 1439–1449. [DOI]
- [10] Chen J, Gao H, Zheng XM, Jin MN, Weng JF, Ma J, Ren YL, Zhou KN, Wang Q, Wang J, Wang JL, Zhang X, Cheng ZJ, Wu CY, Wang HY, Wan JM. An evolutionarily conserved gene, *FUWA*, plays a role in determining panicle architecture, grain shape and grain weight in rice. *Plant J*, 2015, 83(3): 427–438. [DOI]
- [11] Duan PG, Rao YC, Zeng DL, Yang YL, Xu R, Zhang BL, Dong GJ, Qian Q, Li YH. *SMALL GRAIN 1*, which encodes a mitogen-activated protein kinase kinase 4, influences grain size in rice. *Plant J*, 2014, 77(4): 547–557. [DOI]
- [12] Yang YH, Zhu Z, Zhang YD, Zhao QY, Zhou LH, Wang CL. Relationship between anatomic structure of the stem and lodging resistance of rice. *Guihaia*, 2012, 32(6): 834–839.
- 杨艳华, 朱镇, 张亚东, 赵庆勇, 周丽慧, 王才林. 水稻茎秆解剖结构与抗倒伏能力关系的研究. 广西植物, 2012, 32(6): 834–839. [DOI]
- [13] Xu ZJ, Chen WF, Han Y, Shao GJ, Zhang WZ, Ma DR. Classification of panicle type and its relationship with grain yield and quality of rice in liaoning province. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(9): 1411–1418.
- 徐正进, 陈温福, 韩勇, 邵国军, 张文忠, 马殿荣. 辽宁水稻穗型分类及其与产量和品质的关系. 作物学报, 2007, 33(9): 1411–1418. [DOI]
- [14] Zhou Y, Zhu JY, Li ZY, Yi CD, Liu J, Zhang HG, Tang SZ, Gu MH, Liang GH. Deletion in a quantitative trait gene *qPE9-1* associated with panicle erectness improves plant architecture during rice domestication. *Genetics*, 2009, 183(1): 315–324. [DOI]
- [15] Sun HY, Qian Q, Wu K, Luo JJ, Wang SS, Zhang CW, Ma YF, Liu Q, Huang XZ, Yuan QB, Han RX, Zhao M, Dong GJ, Guo LB, Zhu XD, Gou ZH, Wang W, Wu YJ, Lin HX, Fu XD. Heterotrimeric G proteins regulate nitrogen-use efficiency in rice. *Nat Genet*, 2014, 46(6): 652–656. [DOI]
- [16] Ookawa T, Hobo T, Yano M, Murata K, Ando T, Miura H, Asano K, Ochiai Y, Ikeda M, Nishitani R, Ebitani T, Ozaki H, Angeles ER, Hirasawa T, Matsuoka M. New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield. *Nat Commun*, 2010, 1(8): 132. [DOI]
- [17] Hirano K, Okuno A, Hobo T, Ordonio R, Shinozaki Y, Asano K, Kitano H, Matsuoka M. Utilization of stiff culm trait of rice *smos1* mutant for increased lodging resistance. *PLoS One*, 2014, 9(7): e96009. [DOI]
- [18] Kong EY, Liu DC, Guo XL, Yang WL, Sun JZ, Li X, Zhan KH, Cui DQ, Lin JX, Zhang AM. Anatomical and chemical characteristics associated with lodging resistance in wheat. *Crop J*, 2013, 1(1): 43–49. [DOI]
- [19] Li JG, Zhang XH, Zhang GX, Zhen CR. Effect on cultivation density to rice growth and yield. *Reclaiming and Cultivation*, 2005, (1): 18–19. [DOI]
- 李建广, 张秀和, 张国新, 甄翠荣. 移栽密度对水稻生长发育及产量的影响. 垦殖与稻作, 2005, (1): 18–19.
- [20] Yang CH, Li DY, Liu X, Ji CJ, Hao LL, Zhao XF, Li XB, Chen CY, Cheng ZK, Zhu LH. OsMYB103L, an R2R3-MYB transcription factor, influences leaf rolling and mechanical strength in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 158. [DOI]
- [21] Guo YH, Zhu SG, Zhang LB. Influence of different cultivation conditions on biochemistry components of rice culms. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2003, 34(2): 89–91. [DOI]
- 郭玉华, 朱四光, 张龙步. 不同栽培条件对水稻茎秆生化成分的影响. 沈阳农业大学学报, 2003, 34(2): 89–91.
- [22] Ookawa T, Inoue K, Matsuoka M, Ebitani T, Takarada T, Yamamoto T, Ueda T, Yokoyama T, Sugiyama C, Nakaba S, Funada R, Kato H, Kanekatsu M, Toyota K, Motobayashi T, Vaziranjani M, Tojo S, Hirasawa T. Increased

- lodging resistance in long-culm, low-lignin *gh2* rice for improved feed and bioenergy production. *Sci Rep*, 2014, 4: 6567. [DOI]
- [23] Zhao DQ, Han CX, Tao J, Wang J, Hao ZJ, Geng QP, Du B. Effects of inflorescence stem structure and cell wall components on the mechanical strength of inflorescence stem in herbaceous peony. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(4): 4993–5009. [DOI]
- [24] Ookawa T, Ishihara K. Varietal difference of the cell wall components affecting the bending stress of the culm in relation to the lodging resistance in paddy rice. *Jpn J Crop Sci*, 1993, 62(3): 378–384. [DOI]
- [25] Wang J, Zhu JM, Huang RZ, Yang YS. Investigation of cell wall composition related to stem lodging resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by FTIR spectroscopy. *Plant Signal Behav*, 2012, 7(7): 856–863. [DOI]
- [26] Ling QH, Zhang HC. The New Theory on Rice. Beijing: Science Press, 1994. [DOI]
凌启鸿, 张洪程. 稻作新理论. 北京: 科学出版社, 1994.
- [27] Qi YL, Shi SS, Lu WL, Yu XC, He DJ, Yu MH, Hu JT. Studies on the characters of panicle and its formation rules from tillers of hybrid rice at different transplanting densities. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(5): 177–181. [DOI]
祁玉良, 石守设, 鲁伟林, 余新春, 何道君, 余明慧, 胡建涛. 不同栽植密度杂交稻分蘖成穗规律及其穗部性状研究. 中国农学通报, 2006, 22(5): 177–181.
- [28] Chen XY, Hu GL, Qian QP, Yu HF, Jiang MQ. Effectsofnitrogenandplantdensityontheyieldandyieldcomponents of rice cultivar Tian-You-Hua-Zhan (*Oriza sativa* L.). *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(17): 160–163.
陈晓阳, 胡谷琅, 钱秋平, 于海富, 蒋梅巧. 施氮水平和栽插密度对天优华占生长和产量及产量构成因子影响. 中国农学通报, 2010, 26(17): 160–163. [DOI]
- [29] Zhao RD. Effects of transplanting density and nitrogen fertilizer rate on yield and its components in super-high-yielding early rice variety Y-liangyou 302. *Journal of Southern Agriculture*, 2011, 42(5): 518–520.
赵荣德. 施氮量和栽培密度对超高产早稻 Y 两优 302 产量及其构成因素的影响. 南方农业学报, 2011, 42(5): 518–520. [DOI]
- [30] Ling QH, Su ZF, Zhang HQ. Relationship between earbearing tiller percentage and population quality and its influential factors in rice. *Acta Agronomica Sinica*, 1995, 21(4): 463–469.
凌启鸿, 苏祖芳, 张海泉. 水稻成穗率与群体质量的关系及其影响因素的研究. 作物学报, 1995, 21(4): 463–469. [DOI]
- [31] Hu YG. Genetic analysis, position cloning, and breeding utilization of erect panicle mutant in heavy-panicle indica rice[Dissertation]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2015.
胡运高. 籼稻直立重穗突变体的遗传分析、候选基因克隆与育种利用的研究[学位论文]. 雅安: 四川农业大学, 2015. [DOI]

(责任编辑: 张红生)