

水稻矮秆基因 *iga-1* 的序列变异和表达分析

陈立凯, 卢苏龙, 刘永柱, 王 慧, 陈志强, 郭 涛*

(华南农业大学 国家植物航天育种工程技术研究中心, 广州 510642)

摘 要: 该研究以水稻矮秆突变体 *cha-2* 为材料, 对控制其表型性状的 *iga-1* 基因进行候选基因筛选, 利用基因注释数据库对定位区间进行候选基因预测, 通过 ORF 及其上下游调控区域的测序、序列比对及关键元件分析进行序列变异研究, 半定量 PCR 检测目标基因的表达模式, 明确其在基因序列、表达模式的变异, 探讨其分子遗传调控机理。结果显示: (1) 在隐性核基因 *iga-1* 精细定位基础上预测得到 3 个 ORF, 其中 2 个编码 dnaJ 分子伴侣 (含有 dnaJ 结构域的蛋白), 分别是 *LOC_Os05g26902* 和 *LOC_Os05g26926*; 另外 1 个为已克隆的水稻矮秆基因 *RGA1* (*LOC_Os05g26890*)。 (2) ORF 序列分析表明矮秆突变体 *cha-2* 与野生型仅在 *RGA1* 基因座存在 SNP 变异, 但未造成氨基酸编码的改变。 (3) 表达模式分析发现, 矮秆突变体 *cha-2* 的 *RGA1* 基因在种子萌发期、二叶期、四叶期和分蘖期等 4 个发育时期均不表达, 且在‘中花 11’、‘石狩白茅’的遗传背景下稳定遗传, 均显现出失活状态, 初步确定 *RGA1* 为 *iga-1* 的候选基因。 (4) 对 *RGA1* 基因上游和下游调控转录关键区进行测序结果表明, 突变体 *cha-2* 存在 865 bp 的大片段缺失, 包括第 1 外显子、部分第 1 内含子和转录起始上游区域。研究推断, 突变体 *cha-2* 的矮秆基因 *iga-1* 正是没有活性的 *RGA1* 基因, 其转录关键区域的大片段缺失, 导致无法正常转录表达。

关键词: 水稻; 矮秆基因; 缺失突变; G 蛋白 α 亚基; *iga-1*

中图分类号: Q754; Q789 **文献标志码:** A

Sequence Variation and Expression Analysis of Dwarf Gene *iga-1* in Rice (*Oryza sativa* L.)

CHEN Likai, LU Sulong, LIU Yongzhu, WANG Hui, CHEN Zhiqiang, GUO Tao*

(National Engineering Research Centre of Plant Space Breeding, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: In this study, we screened and confirmed the candidate gene of *iga-1* in the fine mapping region, which controls the dwarf phenotype of mutation of *cha-2*, made clear the sequence variation and expression patterns of the gene, and explored its molecular mechanism of genetic regulation. Candidate gene in the mapping region was predicted using rice annotation database, and sequence variations of the ORF, upstream and downstream were analyzed based on sequencing and sequence alignment. Furthermore, meta-analysis of the crucial motif was performed. And expression pattern was investigated using semi-quantitative PCR. (1) On the basis of early studies of fine mapping of the nuclear genes *iga-1*, 3 ORF were predicted in this study, including 2 dnaJ chaperones *LOC_Os05g26902* and *LOC_Os05g26926*, and another one is the dwarf gene, *RGA1* (*LOC_Os05g26890*). (2) It is found that only several SNP were detected in the *LOC_Os05g26890* in the mapping region between *cha-2* and wild type by sequencing of ORFs, which appear to have no alteration of amino acid coding. (3) Expression analysis results show that *RGA1* was unable to express in four devel-

收稿日期: 2015-09-09; 修改稿收到日期: 2015-11-16

基金项目: 国家自然科学基金(31200250); 国家“863”计划(2012AA101201); 广州市对外科技合作项目(2014J4500030); 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-01-12)

作者简介: 陈立凯(1986—), 男, 在读博士研究生, 主要从事作物遗传育种研究。E-mail: leeking1113@163.com

* 通信作者: 郭 涛, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事水稻分子育种研究。E-mail: guo.tao@vip.163.com

opmental stages of *cha-2* and was revealed inactivation in genetic background of ‘Zhonghua 11’ or ‘Shisou-baimao’ with genetic stability, which therefore was identified as candidate gene of *iga-1*. (4) The sequences in upstream and downstream of the *RGA1* were examined, and 865 bp deletion was found in the upstream of *RGA1* in *cha-2*, which was induced the whole exon 1, part of intron 1 and upstream region of transcription initiation. We concluded that the *iga-1* in mutation of *cha-2* was the inactivated *RGA1* without normal expression, which was caused by a large fragment deletion in the key region of transcription.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); dwarf gene; deletion mutation; G protein α subunit; *iga-1*

株高和分蘖是水稻株型结构中的两个重要农艺性状,也是影响产量的关键因素^[1]。自然变异产生的半矮秆基因 *sd-1* 在水稻育种史上具有重要影响^[2-3],利用 *sd-1* 系列矮源种质,中国在水稻矮化育种上取得重要进展,先后育成了大批高产、优质、抗倒伏的优良品种在生产上大面积应用。但是,单一矮源的广泛利用存在遗传脆弱性风险^[4],限制了新品种生产潜力的进一步提高。

一般认为,水稻植株矮化是矮秆主基因表达作用的结果,同时也受到修饰基因或抑制基因的影响。矮秆基因能直接导致水稻植株形态学或细胞结构发生变化,如节间变短或细胞个数减少,从而使植株变矮^[5]。迄今已登记的矮秆基因接近 100 多个,包括小粒矮秆(*d1*、*d7*、*d11* 等)、畸形矮秆(*d2*、*d6*、*d20* 等)、半矮秆(*sd-1*、*sd-g*、*sd-t* 等)和多蘖矮秆(*htd1*、*tdr1*、*tdr2* 等)^[6]。多数新发现的矮秆突变体经常伴随其他不良性状,难以在生产上利用^[7]。相对于自然突变,空间诱变是创新矮秆基因的潜在途径。目前,已通过空间诱变技术创造了一系列矮秆突变体,其中部分突变体应用于育种实践^[8]。

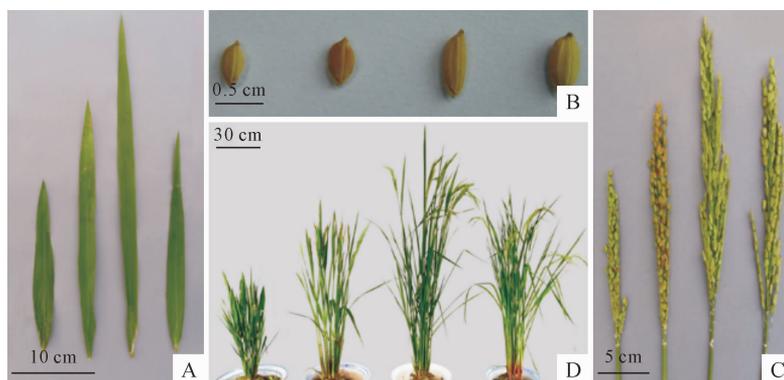
本研究通过空间诱变获得矮秆突变体 *cha-2*, 该

突变体株高降低、粒型短圆、着粒密度高,并将控制矮秆性状的突变基因 *iga-1* 精细定位于第 5 染色体约 50 kb 的范围内^[6,9],但尚未实现候选基因筛选。本研究在前期工作基础上,通过序列检测和表达分析鉴定候选基因。研究结果有望进一步丰富水稻矮化基因分子调控机制,为株型育种提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 供试材料

‘特粘占 13’为野生型原种,是广东省佛山市农科所选育的籼型常规稻品种。‘惠阳珍珠早’为高秆品种,是广东省惠阳地区籼型常规稻。*cha-2* 是由‘特粘占 13’(TXZ13)干种子经卫星搭载后,在地面种植诱变后代筛选得到的矮秆突变体,经多世代观察,其矮秆性状稳定遗传(图 1)。遗传分析表明其携带 2 个矮秆基因,基因型为 *sd1sd1iga-1iga-1*。以‘惠阳珍珠早’(HYZZZ)为轮回亲本、*cha-2* 为非轮回亲本,回交 3 次将 *iga-1* 导入‘惠阳珍珠早’,形成矮秆材料 *cha-2n*(图 1),矮秆基因型为 *SD-1SD-1iga-1iga-1*。利用同样方法,将 *iga-1* 分别导入‘中花 11’(ZH11)、“石狩白茅”(SSBM),形成 ZH11-



A. 灌浆期叶片; B. 谷粒; C. 灌浆期稻穗; D. 灌浆期植株; 每个图中从左到右依次为 *cha-2*、*cha-2n*、特粘占 13 和矮脚南特

图 1 *iga-1* 矮秆突变体 *cha-2* 和 *cha-2n* 的表型^[5]

A. Leaf blades in grain-filling stage; B. Grain; C. Panicles in grain-filling stage; D. Gross morphology in grain-filling stage; From left to right: *cha-2*, *cha-2n*, TXZ13, AJNT

Fig. 1 Phenotypes of the *iga-1* dwarf line *cha-2* and *cha-2n*^[5]

表 1 用于扩增定位区间内 ORF 及侧翼序列的引物

Table 1 Primers used to amplify the ORF and flanking sequences within the mapping region

引物 Primer	正向引物 Forward primer (5'→3')	反向引物 Reverse primer (5'→3')	扩增子长度 Amplicon size/bp	备注 Remark
P902	CTAGTATATTGAAGGTTGAAGC	ATATTGCCAAAGCATTTTGTCCA	2 737	扩增 LOC_Os05g26902 ORF Amplification of LOC_Os05g26902 ORF
P926	GTGGGTATCCAGCAAGTATTTTC	TGCATATTGCCAAAGCATTTTGTTC	2 715	扩增 LOC_Os05g26926 ORF Amplification of LOC_Os05g26926 ORF
P890-1	ATGTCCTGCTTACCTGAGTGC	GTTTGCAACTTATTGAAGGAAC	2 212	扩增 LOC_Os05g26890 ORF
P890-2	ACTTATCTAAGCACCTTGAGC	TGACTTACAACCTAGTCTTAGC	1 584	扩增 LOC_Os05g26890 ORF
P890-D	TACAGGTTTGTCAAGAAGAAGTT	GAGAAGAATACGGCAATAGGAT	1 364	扩增 LOC_Os05g26890 下游序列 Amplification of LOC_Os05g26890 downstream
P890-U	AAGTGTCATGCCAGTAGCC	GTTGTTTCAGCTCACTTAAAGA	3 635	扩增 LOC_Os05g26890 上游序列 Amplification of LOC_Os05g26890 upstream

iga-1、SSBM $iga-1$ 矮秆株系。

1.2 引物设计

根据前期定位结果,从 NCBI 网站和 MUS 数据库获得各预测 ORF 及其上下游碱基序列,用在线引物设计工具 Primer 3 Plus 进行引物设计(表 1)。

1.3 PCR 扩增

参照王慧等^[9]的方法提取水稻叶片基因组总 DNA。取适量新鲜叶片放在 2 mL 离心管中加液氮捣碎,加入 1 mL CTAB 抽提液,摇匀;置于 65 °C 水浴锅或恒温箱 30~45 min 后取出;加入氯仿-异戊醇(24 : 1)至满管,上下剧烈摇动混匀;15 000 r/min 离心 10 min 后吸取上清液至新的灭菌离心管中,加入 600 μ L 预冷的异丙醇后-20 °C 放置 20 min,使 DNA 充分沉淀后 10 000 r/min 瞬间离心,立即倒掉液体,加入 720 μ L 70%乙醇洗涤;待 DNA 干燥后加入 100 μ L 1 \times TE Buffer,溶解 DNA;置于-20 °C 保存、备用。

采用适合长片段高保真扩增的 KOD Fx *Taq* 酶(TOYOBO,上海),PCR 扩增体系按照说明书配制。反应条件为:94 °C 预变性 5 min;98 °C 变性 30 s,57 °C 退火 30 s,68 °C 延伸 2~4.5 min,32~35 个循环;68 °C 延伸 10 min。扩增产物在 1.2% 琼脂糖凝胶中电泳检测。

1.4 序列比对分析

使用 TIANgel Midi Purification Kit(天根生化公司,#DP130419)对扩增产物进行回收纯化。具体操作参照试剂盒说明书。主要步骤:从琼脂糖凝胶上割下带有目的片段的凝胶块到一个 2 mL 离心管中,加入 1 \times Buffer GC,置于 55~60 °C 热板中约 10 min 直完全溶化。转移混合液至带收集管的吸附柱中离心。重复该步骤,直至剩余的混合液全部

通过吸附柱。加入 650 μ L 预热的 DNA 洗涤缓冲液(wash buffer)至吸附柱中,60 °C 静置 5 min。室温下,13 000 r/min 离心 30 s。重复此步骤。转移吸附柱至 1.5 mL 收集管中,加入 30~50 μ L 预热的洗脱液(Elution buffer)至吸附柱中央,室温放置 1 min,13 000 r/min 离心 1 min。

纯化 PCR 产物送至 Invitrogen 公司测序,利用正反向引物双向测序。测序碱基序列使用 DNA-Dynamo 和 CLC Sequence 软件拼接,并进行序列比对分析。

1.5 半定量 RT-PCR

突变体和野生型各组织总 RNA 提取方法参考文献[10]。以第一链 cDNA 为模板,应用引物组合进行 PCR 扩增,琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 程序如下:94 °C 预变性 2 min,94 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,共 30 个循环,最后 72 °C 延伸 7 min。所用内参照基因为 *Actin1*,所用引物为 ActinF(5'-TCCTCTCTCTGTATGCCAGT-3')和 ActinR(5'-CGGAAACGCTCAGCACCAAT-3'),扩增片段长度为 351 bp,PCR 退火温度为 58 °C。

2 结果与分析

2.1 候选基因预测

根据前期研究结果,候选基因被定位于第 5 染色体标记 DL18 和 DL19 之间^[6],通过 MSU Rice Genome Annotation Project Database(<http://rice.plantbiology.msu.edu/index.shtml>)对定位区间进行候选基因预测(图 2)。预测得到 3 个 ORF,其中 2 个编码 dnaJ 分子伴侣(含有 dnaJ 结构域蛋白)LOC_Os05g26902 和 LOC_Os05g26926;另外 1 个为已克隆的水稻矮秆基因 *RGA1*(LOC_Os05g26890)。

RGA1(*D1, Dwarf1, DAIKOKUDWARF*)基

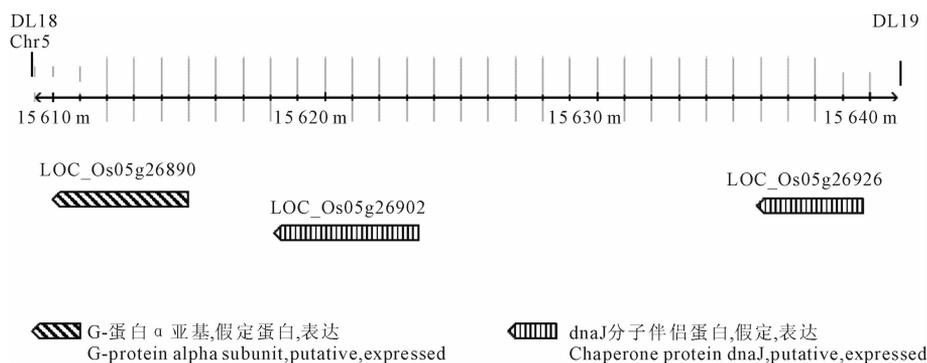


图 2 *iga-1* 定位区域的基因预测 (<http://rice.plantbiology.msu.edu>)

Fig. 2 Gene prediction within the mapping region of *iga-1* (<http://rice.plantbiology.msu.edu>)

表 2 *LOC_Os05g26890* 基因座的变异位点

Table 2 Variation sites located in the *LOC_Os05g26890*

位置 Position	区域 Region	IR 36	日本晴 Nipponbare	特粘占 13 TXZ13	<i>cha-2</i>
59	外显子 Exon	A	C	C	A
379	内含子 Intron	A	A	—	A
1 315	内含子 Intron	G	G	C	G
1 359	内含子 Intron	A	A	T	A

因是第一个克隆的水稻矮秆基因,编码 GTP 结合蛋白(G 蛋白)的 α 亚基,参与赤霉素(gibberellic acid,GA)信号传导通路,影响糊粉层中 α -淀粉酶的诱导和节间延长^[11]。突变体材料 HO541 由于 *d1* (*dwarf1*)基因的第 1 外显子和内含子部分碱基缺失,导致 GTP 结合蛋白表达受到抑制,赤霉素信号传导途径受阻,从而产生矮秆、谷粒小而圆等性状特征^[3],与本研究 *cha-2* 突变表型高度相似,最有可能是候选基因。

以‘日本晴’基因组作为参考序列,针对定位区间的 3 个预测 ORF 设计引物进行扩增和测序。序列比对结果发现,突变体 *cha-2* 和野生型‘特粘占 13’在 *LOC_Os05g26902* 和 *LOC_Os05g26926* 的 ORF 序列完全一致,而 *LOC_Os05g26890* 则发生一些点突变(表 2)。与野生型‘特粘占 13’相比,*cha-2* 存在 4 个 SNP,其中 3 个位于内含子区域(+379、+1 315 和 +1 359),另外存在 1 个 SNP(+59)是位于外显子内。在 +59 这个碱基位点,IR 36 与 *cha-2* 都是 A,而‘日本晴’和‘特粘占 13’都是 C。通过编码序列分析,发现此突变属于同义突变,即密码子 ACA(IR 36 与 *cha-2*)/ACC(‘日本晴’和‘特粘占 13’)都编码苏氨酸。由此表明,*iga-1* 的突变位点并非位于 *RGA1* 基因 CDS 区域。

2.2 预测候选基因的表达模式

基因表达水平往往对基因的功能活性具有显著影响。前人研究表明,*RGA1* 基因表达降低会产生

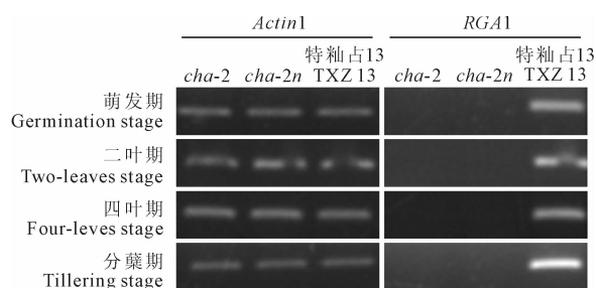


图 3 *cha-2*、*cha-2n*、特粘占 13

不同时期 *RGA1* 基因检测

Fig. 3 PCR analysis of *RGA1* in 4 different stages among *cha-2*, *cha-2n* and TXZ 13

矮秆性状,因此,进一步调查突变体 *cha-2* 该基因的表达模式。选取‘特粘占 13’、*cha-2*、*cha-2n* 种子萌发期、二叶期、四叶期和分蘖期等 4 个发育时期,利用半定量 PCR 分析 *RGA1* 基因表达模式。结果表明,‘特粘占 13’的预测基因均正常表达,且在分蘖期表达水平较高;而 *cha-2*、*cha-2n* 预测基因在上述时期均不表达(图 3)。上述结果表明,*iga-1* 可能是 *RGA1* 表达缺陷型突变基因。

为进一步研究突变体预测候选基因 *iga-1* 在不同遗传背景下的表达情况,分别以‘中花 11’和‘石狩白茅’作为轮回亲本,构建了 *iga-1* 的基因导入系 *ZH11-iga1*、*SSBM-iga1*。表型观察发现,2 个基因导入系均表现出矮化、叶色浓绿、圆小粒及直立紧凑小穗性状,与 *cha-2* 相似。进一步利用半定量 PCR 检测亲本及 2 个导入系 *RGA1* 基因表达水平

(图 4)。结果表明,‘中花 11’、‘石狩白茅’均能检测到 RGA1 正常表达;而 2 个导入系与突变体 *cha-2* 则均无法扩增得到目的片段。说明突变基因 *iga-1* 在不同遗传背景中稳定遗传,且均表达缺失,进而引起植株的矮化等表型。

2.3 候选基因 RGA1 序列分析

为了了解导致 RGA1 基因在突变体 *cha-2* 中表达缺失的原因,对候选基因 RGA1 的上、下游区序

列进行检测,分析是否其转录表达的调控序列发生突变。

通过检索 NCBI 数据库,下载已报道的 IR36 的 RGA1 序列(GenBank 登录号 L35844.1),扩增测序‘特粘占 13’和 *cha-2* 的 RGA1 的上、下游区域。通过序列比对,发现三者基因下游约 1 200 bp 碱基序列完全一致,而在基因上游区域则发现 *cha-2* 存在大片段碱基缺失。以已克隆的 IR36、H0541、‘日本

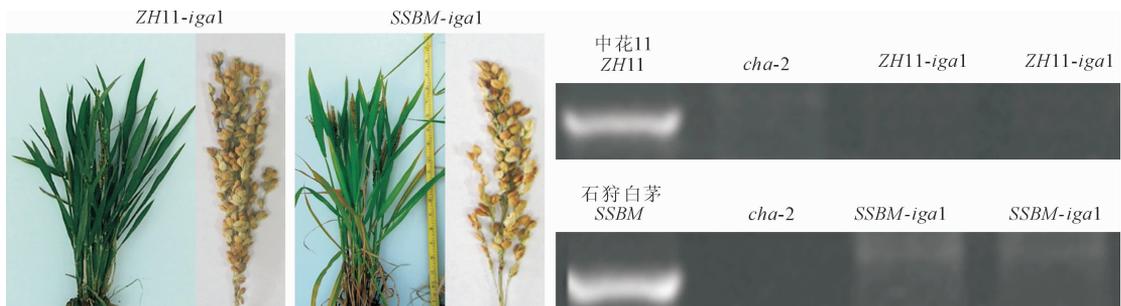


图 4 候选基因 RGA1 在不同遗传背景下的表型和表达情况

Fig. 4 Phenotypes and expression analysis of candidate gene RGA1 in different genetic background

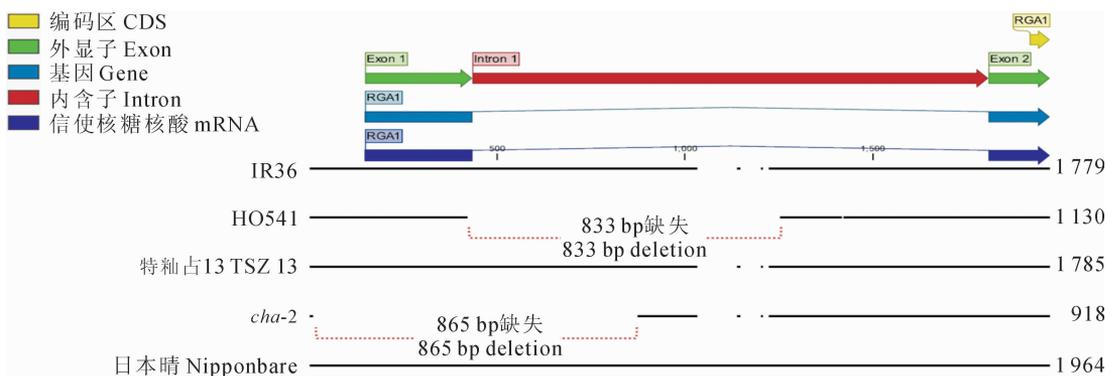


图 5 水稻 RGA1 基因部分结构及 *cha-2* 突变位置示意图

Fig. 5 Schematic diagram of partial structure of the RGA1 gene and the positions of mutation in *cha-2*



方框序列分别表示 CAAT-box 和 TATA-box;灰色背景方框序列表示转录起始位点;红色背景碱基表示 SNP 位点

图 6 突变体 *cha-2* 部分缺失碱基序列分析

Sequences with box represent CAAT-box and TATA-box;sequence with gray background box represents transcription start site;bases with red background represent SNPs

Fig. 6 Sequence analysis of partial nucleotides deleted in *cha-2*

晴’与‘特粘占 13’、*cha-2* 对 *RGA1* 的上游区域进行比对分析。结果(图 5)显示, H0541(*d1* 突变体)在第 1 外显子和内含子区域缺失了 833 bp, 导致基因表达受抑制; 而突变体 *cha-2* 缺失了包括第 1 外显子整体、第 1 内含子部分以及转录起始上游区在内的 865 bp。关键转录起始、调控位置大片的缺失, 理论上将导致基因表达失活, 不具备正常功能。

对 *RGA1* 转录起始上游区的序列分析(图 6)可以发现, 该区域存在着 TATA-Box 及 CAAT-Box 等转录关键元件(基序)。前者功能在于结合 RNA 聚合酶, 引导聚合酶准确识别转录的起始位点, 而后者一般被认为控制着转录的起始频率。*cha-2* 在 *RGA1* 的转录起始关键位置的大片段缺失对该基因的转录是致命的, 将导致 *RGA1* 完全无法表达, 这与表达分析的结果相一致。

RGA1 编码 GTP 结合蛋白, 是 GA 的传导途径的重要因子, 对植株的正常生长和结实具有重要影响。由此判断, 矮秆突变体 *cha-2* 的矮秆基因 *iga-1* 正是没有活性的 *RGA1* 基因, 其转录关键区域的大片段缺失, 导致无法正常转录表达, 属于 GA 信号传导受阻型突变体。

3 讨 论

RGA1 基因在 1995 年以 IR36 为材料进行了 cDNA 克隆, 序列分析表明 *RGA1* 基因含有 14 个外显子, 编码 380 个氨基酸的 GTP 结合蛋白 α 亚基。到目前为止, 至少发现鉴定了 7 个该位点的等位变异, 包括 *d1*^[11-12]、*dwarf89*^[13]、*dwarf69*^[14]、*d1C6PS*^[15]、*d1-8*、*d1-4* 和 *Epi-d1*^[16] 等。*d1* 等位基因由于第 1 外显子和内含子的 833 bp 缺失造成 GTP 结合蛋白功能丧失, 从而导致矮化。在植株生长正常的材料中, 转入 G 蛋白(GTP 结合蛋白) α 亚基的反义 cDNA, 其单株表现为 *d1* 基因类似的生长特征。*dwarf89* 编码区存在一个 SNP(A-G), 以致核苷酸编码发生突变(由苏氨酸突变为丙氨酸), 亚基螺旋变短进而无法结合 GSP, 导致基因失活。*dwarf69* 的 5' 上游区存在大片段(1 076 bp)插入导致突变体 *RGA1* 的表达显著下降, 从而造成植株矮化。*EPI-d1* 的研究还发现了 *RGA1* 基因新的突变分子机制, 启动子区域的组蛋白和 DNA 甲基化修饰变异显著地影响基因的表达造成植株株高的亚稳定状态。这些结果表明, 新的 *d1* 等位基因的发

现及研究会促进我们对 G 蛋白 α 构象的了解, 从而揭示其与效应因子相互作用参与信号转导的精细机制^[15]。

水稻突变体 *cha-2* 是籼稻品种‘特粘占 13’的空间诱变后代中选育出来的遗传稳定的矮秆突变体, 前人的研究将控制基因 *iga-1* 精细定位在约 32 kb 的区间内。定位区间的预测基因 LOC_Os05g-26890.1(即 *RGA1*)是编码 GTP 结合蛋白的相关基因, 编码区序列比对表明 *cha-2* 并没有发生氨基酸编码的突变, 排除了基因区突变引起矮秆的预测。基因表达差异筛选是另一有效鉴定基因突变的手段, 因此, 通过半定量 PCR 分析, 意外发现野生型原种的 *RGA1* 正常表达, 而 *cha-2*、*cha-2n* 的 *RGA1* 在 4 个发育阶段均为表达缺失。推测 *cha-2*、*cha-2n* 中因缺少或只携带无功能的 G 蛋白, 导致 GA 信号传导受到抑制, 从而出现株高的矮化。基因表达的缺失, 说明转录受到了致命性的阻碍, 通过调控区域的测序发现 *RGA1* 上游序列出现大片段的缺失, 并且缺失的区域涵盖了转录起始、启动子和第一外显子等关键部位。分析表明, *cha-2* 缺失了受 RNA 聚合酶识别活化的特异顺式元件, 不能形成具有 RNA 聚合酶活性的转录起始复合体, 也不存在特异的转录起始位点进行启动转录的过程。绝大多数矮化基因都是由于基因编码区出现碱基的插入、缺失和替换所引起的突变得到的, 与 *cha-2* 植株矮化的分子机理存在明显不同。

GA 信号传导途径对植物的生长是不可或缺的, *cha-2* 能够生长和结实, 说明 GA 信号传导在 *cha-2* 生物体内仍能够完成, 暗示 *RGA1* 功能缺失的情况下应还有其他基因承担部分 GA 信号传导的功能, 因此突变体 *cha-2* 是研究 GA 信号传导相关基因的特异材料。另一方面, G 蛋白是调控动植物生长发育的重要信号传导蛋白, G-蛋白 α 能够与 γ 亚基互作, 降低水稻营养生长期对氮的响应, 增强氮的吸收和同化能力, 进而提高收获指数和产量^[17]。通过调节 G 蛋白的活性可以改变水稻的氮响应, 可以在适当减少氮肥施用量的条件下获得水稻的高产。突变基因 *iga-1* 能够在后代稳定遗传, 这些矮秆分离个体表现出来矮秆、叶片直立挺拔、茎秆粗壮、着粒密等优良性状, 具有同时改良品种多个性状的潜力, 能够间接应用于品种选育。

参考文献:

- [1] KULKARNI K P, VISHWAKARMA C, SAHOO S P, *et al.* A substitution mutation in OsCCD7 cosegregates with dwarf and increased tillering phenotype in rice[J]. *Journal of Genetics*, 2014, **93**(2):389-401.
- [2] KHUSH G S. Green revolution: preparing for the 21st century [J]. *Genome*, 1999, **42**(4):646-655.
- [3] ASHIKARI M, WU J, YANO M, *et al.* Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene *Dwarf1* encodes the alpha-subunit of GTP-binding protein[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, **96**(18):10 284-10 289.
- [4] ASANO K, HIRANO K, UEGUCHI-TANAKA M, *et al.* Isolation and characterization of dominant dwarf mutants, *Slr1-d*, in rice[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2009, **281**(2):223-231.
- [5] MONNA L, KITAZAWA N, YOSHINO R, *et al.* Positional cloning of rice semidwarfing gene, *sd-1*: rice "green revolution gene" encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis[J]. *DNA Research*, 2002, **9**(1):11-17.
- [6] 郭涛, 霍兴, 饶得花, 等. 水稻半矮秆基因 *iga-1* 的鉴定及精细定位[J]. 作物学报, 2011, **37**(6):955-964.
GUO T, HUO X, RAO D H, *et al.* Identification and fine mapping of a semidwarf gene *iga-1* in rice[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, **37**(6):955-964.
- [7] ARITE T, IWATA H, OHSHIMA K, *et al.* DWARF10, an RMS1/MAX4/DAD1 ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice[J]. *Plant Journal*, 2007, **51**(6):1 019-1 029.
- [8] 陈志强, 郭涛, 刘永柱, 等. 水稻航天育种研究进展与展望[J]. 华南农业大学学报, 2009, **30**(1):1-5.
CHEN Z Q, GUO T, LIU Y Z, *et al.* Achievements and perspective outlook of rice space induced mutation breeding in China[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2009, **30**(1):1-5.
- [9] 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定位[J]. 分子植物育种, 2006, (S2):1-6.
WANG H, ZHANG S T, GUO T, *et al.* Genetic analysis and mutant gene mapping of space induced dwarf mutant *CHA-2* of indica rice[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2006, (S2):1-6.
- [10] 刘永柱, 罗文龙, 黄翠红, 等. 水稻花色素苷合成调节基因 *hrd1* (t) 的鉴定[J]. 中国农业科学, 2013, **46**(19):3 955-3 964.
LIU Y ZH, LUO W L, HUANG C H, *et al.* Characterization of the regulatory gene *hrd1* (t) involved in anthocyanin biosynthesis[J]. *China Agriculture Science*, 2013, **46**(19):3 955-3 964.
- [11] UEGUCHI-TANAKA M, FUJISAWA Y, KOBAYASHI M, *et al.* Rice dwarf mutant *d1*, which is defective in the alpha subunit of the heterotrimeric G protein, affects gibberellin signal transduction[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, **97**(21):11 638-11 643.
- [12] ISHIKAWA A, TSUBOUCHI H, IWASAKI Y, *et al.* Molecular cloning and characterization of a cDNA for the alpha subunit of a G protein from rice[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1995, **36**(2):353-359.
- [13] YANG D, ZHENG X, CHENG C, *et al.* A dwarfing mutant caused by deactivation function of alpha subunit of the heterotrimeric G-protein in rice[J]. *Euphytica*, 2014, **197**(1):145-159.
- [14] 费小雯, 邓晓东, 王永胜, 等. 水稻矮化突变体 G 蛋白 α 亚基基因的结构和表达[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2004, **43**(1):70-74.
FEI X W, DENG X D, WANG Y SH, *et al.* Genetic analysis and molecular characterization of the GTP binding protein alpha-subunit gene from rice dwarf mutant dwarf 69[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni* (Nat. Sci. Edi.), 2004, **43**(1):70-74.
- [15] 陈华夏, 周成博, 邢永忠. 水稻 *Dwarf1* 移码突变的新突变体鉴定[J]. 遗传, 2011, **33**(4):397-403.
CHEN H X, ZHOU CH B, XING Y ZH. A new rice *Dwarf1* mutant caused by a frame-shift mutation [J]. *Hereditas*, 2011, **33**(4):397-403.
- [16] MIURA K, AGETSUMA M, KITANO H, *et al.* A metastable DWARF1 epigenetic mutant affecting plant stature in rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, **106**(27):11 218-11 223.
- [17] KUNIHIRO S, SAITO T, MATSUDA T, *et al.* Rice DEP1, encoding a highly cysteine-rich G protein gamma subunit, confers cadmium tolerance on yeast cells and plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, **64**(14):4 517-4 527.

(编辑:宋亚珍)