

· 研究报告 ·

## 一个水稻矮秆突变体的遗传分析及基因定位

杨德卫<sup>†</sup>, 曾美娟<sup>†</sup>, 卢礼斌, 叶宁, 刘成德, 郑向华, 叶新福<sup>\*</sup>

福建省农业科学院水稻研究所, 福州 350018

**摘要** 水稻(*Oryza sativa*)是我国重要的粮食作物之一。水稻矮秆材料的引入掀起了第1次“绿色革命”。但近年来,在水稻育种中矮生基因遗传单一的问题越来越突出,已经严重影响到水稻产量的持续提高。利用<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照籼稻亲本材料M804获得了一个性状能够稳定遗传的矮秆突变体MU101。对该矮秆突变体和台梗16号杂交获得的F<sub>2</sub>代的遗传分析表明,该矮秆性状受1对隐性单基因控制,并暂命名为*ds1*。利用已有的SSR分子标记将*DS1*基因定位在水稻第5号染色体上,通过扩大群体和开发新的Indel标记,进一步将*DS1*基因定位在2个Indel标记之间,两者间的物理距离大约为384 kb。该研究为*DS1*基因的克隆及其在生产中的应用奠定了基础。

**关键词** 矮秆突变体, 基因定位, 遗传分析, 水稻

杨德卫, 曾美娟, 卢礼斌, 叶宁, 刘成德, 郑向华, 叶新福 (2011). 一个水稻矮秆突变体的遗传分析及基因定位. 植物学报 46, 617–624.

水稻(*Oryza sativa*)是我国重要的粮食作物之一,而株高是水稻重要的农艺性状,直接影响水稻的抗倒伏性和产量。近十几年来,理想株型作为“超级稻”育种采用的技术路线之一,指的是水稻在特定的生态条件下与丰产性有关的各种有利性状的最佳组配(Yuan, 2000)。显然,株型改良是水稻育种工作的一条主线,优化水稻株型是搭建水稻高产平台的基础。因此,发掘和鉴定控制水稻株高的新基因,对于水稻的遗传改良具有重要意义。

目前,已发现和鉴定的水稻矮化突变体有70多个(夏令等, 2007)。据不完全统计,在水稻中已经定位了50多个矮秆和半矮秆基因位点。其中,*d10*、*d2*、*d18*、*d62(t)*、*d63*、*d68*、*h*、*LC(t)*、*sd-1*、*sd-b(t)*、*sde(t)*、*Ssil*和*tdr2* 13个矮秆基因被定位在第1号染色体上;*d5*、*d30*、*d32*和*sdn(t)* 4个矮化基因被定位在第2号染色体上;*d56*、*d162(t)*、*ipd1*和*ssd1* 4个矮化基因被定位在第3号染色体上;*d11*、*d31*、*htd1*、*htd(t)*、*htd1-2*、*sd-t(t)*和*sdt2* 7个矮化基因被定位在第4号染色体上;*d1*、*sd-g*和*sd-n* 3个矮化基因被定位在第5号染色体上;*d9*、*Sdd(t)*、*sd-sl*和*Sdt97* 4个矮化基因被

定位在第6号染色体上;*d6*和*ddul* 2个矮化基因被定位在第7号染色体上;*Dx*矮化基因被定位在第8号染色体上;*DWARF1-like*和*tdr1* 2个矮化基因被定位在第9号染色体上;*d27*、*d53*、*sdt3*和*Tid1* 4个矮化基因被定位在第11号染色体上;*d33*矮化基因被定位在第12号染色体上;涉及除了第10号染色体外的所有水稻染色体(<http://www.ricedata.cn/gene/>)。

图位克隆是一种基于遗传作图和物理作图分离基因的方法。这种方法首先在初步定位该基因的基础上,通过寻找较为紧密的分子标记,对该基因进行精细定位,然后再通过设计各种不同类型的分子标记,寻找与该基因更为紧密连锁的分子标记,从而将该基因界定在一个较小的区域内,最后通过构建覆盖目的基因区域的物理图谱,筛选和鉴定候选基因的片段克隆。目前,水稻中的很多基因,包括控制株高和抽穗期等的基因,均可通过图位克隆的方法进行分离,如水稻矮秆或半矮秆基因*d1*、*d2*、*d3*、*d10*、*d11*、*d12*、*d18*、*htd1*、*gid1*、*gid2*和*sd-1* 11个基因均是通过这种方法克隆分离的(Ashikari et al., 1999; Nishikubo et al., 2000; Itoh et al., 2001; Spielmeier et al.,

收稿日期: 2011-05-20; 接受日期: 2011-07-23

基金项目: 福建省自然科学基金(No.2011J01110)、福建省农业科学院科技创新团队建设重点科研项目(No.CXTD2011-12)和福建省农业科学院青年人才创新基金(No.2010QJ-A4)

<sup>†</sup> 共同第一作者。

<sup>\*</sup> 通讯作者。E-mail: yexinfu@126.com

2002; Hong et al., 2003; Sasaki et al., 2003; Ishikawa et al., 2005; Tanabe et al., 2005; Ueguchi-Tanaka et al., 2005; Zou et al., 2006; Arite et al., 2007)。

水稻突变体是某个性状发生可遗传变异或某个基因发生突变的材料。长期以来,水稻育种学家一直在尽力发现和分离有价值的变异材料(郭龙彪等, 2006)。本研究通过<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线(剂量为350 Gy)辐照骨干亲本M804,从突变群体中得到了一个性状能稳定遗传的矮秆突变体,编号为MU101(杨德卫等, 2011)。通过对该突变体进行初步遗传分析表明,该突变的性状受1对隐性单基因控制,将其命名为*ds1*。进一步利用SSR和Indel分子标记对该基因进行了精细定位,为今后克隆该基因及利用分子标记辅助选育理想株型的水稻新品种奠定了基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

野生型水稻M804(*Oryza sativa* ssp. *indica* L.);矮秆突变体*ds1*是M804经<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线(剂量为350 Gy)辐照后获得的,经过连续2年的田间观察证实性状能够稳定遗传;台粳16号(*Oryza sativa* ssp. *japonica* L.)为本课题组保存的材料。所有亲本材料均种植于福建省农业科学院水稻研究所实验农场。

### 1.2 矮秆突变体*ds1*的遗传分析

将矮秆突变体*ds1*和野生型M804进行正交和反交获得F<sub>1</sub>,观察F<sub>1</sub>的表型。F<sub>1</sub>自交得到F<sub>2</sub>,在F<sub>2</sub>成熟期统计野生型和矮秆表型的个体数,并采用统计学方法计算分离比例。

### 1.3 矮秆突变体*ds1*定位群体的构建

2009年7月,在福建省农业科学院水稻研究所实验农场用矮秆突变体*ds1*(籼稻)与台粳16号(粳稻)配制杂交组合得到F<sub>1</sub>种子。2010年3月在海南播种F<sub>1</sub>种子,抽穗期观察F<sub>1</sub>代植株的表型,并收获F<sub>2</sub>代种子。2010年7月在水稻研究所实验农场播种F<sub>2</sub>代种子,从大约2 000株F<sub>2</sub>代个体中,共鉴定出512个矮秆表型的单株。每株取1 g左右的叶片,用于提取基因组DNA,将

这些单株作为该基因的定位群体。

## 1.4 水稻DNA的提取及电泳检测

### 1.4.1 CTAB法提取水稻总DNA

水稻基因组DNA的提取采用Murray和Thompson(1980)使用的CTAB法,并进行适当修改。取1 g左右的水稻叶片在液氮中快速研磨成粉末,适量转移至1.5 mL Eppendorf管中(可暂时保存于-20°C冰箱中)。加入600  $\mu$ L预热(65°C)的2 $\times$ CTAB缓冲液,然后在65°C温浴中加热45分钟(每隔10分钟,温和地摇匀)。45分钟后取出Eppendorf管,加入等体积(600  $\mu$ L)氯仿/异戊醇(v/v, 24:1)混合均匀,置于摇床上摇40分钟。至Eppendorf管内出现黑色时,12 836 $\times$ g离心10分钟,吸取上清液(约400  $\mu$ L)至新的1.5 mL Eppendorf管中。再加入2倍体积(约800  $\mu$ L)的100%乙醇,-20°C下放置大约2小时。然后15 403 $\times$ g离心10分钟,弃上清液,加入75%乙醇漂洗DNA两次,静置20分钟后室温下烘干。最后加入80-100  $\mu$ L TE buffer(或用无菌水代替)溶解DNA。

### 1.4.2 PCR扩增

20.0  $\mu$ L的PCR反应体系中包括10  $\times$ PCR buffer (2.0  $\mu$ L)、10 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> dNTP(0.5  $\mu$ L)、10 pmol $\cdot$  $\mu$ L<sup>-1</sup> primer(1.0  $\mu$ L)、5 U $\cdot$  $\mu$ L<sup>-1</sup> Taq聚合酶(0.2  $\mu$ L)、DNA模板(2.0  $\mu$ L)和ddH<sub>2</sub>O(14.3  $\mu$ L)。反应程序为:94°C预变性5分钟;循环(94°C 30秒,55°C 30秒,72°C 30秒)30次;最后72°C延伸10分钟。

### 1.4.3 电泳检测

PCR扩增产物用6%聚丙烯酰胺变性凝胶电泳分离。具体步骤如下。(1)制胶。6%聚丙烯酰胺变性凝胶(用于2块102孔板)的配制方法:取14 mL 40%丙烯酰胺母液和55 mL无菌水,加入0.6 mL 50  $\times$ TAE缓冲液、0.6 mL 10%过硫酸铵和50  $\mu$ L TEMED,搅拌均匀后立即注胶,注满后放平玻璃板,小心插入梳子,放置20-30分钟。(2)点样。待胶完全凝固后,将玻璃板固定在垂直电泳槽上,加入适量的1 $\times$ TAE缓冲液,小心拔出梳子;每管PCR扩增产物加入4  $\mu$ L载样缓冲液,取1.5  $\mu$ L样品注入点样孔。(3)电泳。调节电压至110 V,电泳时间约为1.5小时。(4)电泳结束后溴

化乙锭(EB)染色, 利用凝胶成像系统进行观察和记录。

## 1.5 多态性标记的筛选及Indel标记的开发

### 1.5.1 SSR标记的选择

利用已公布的分布于水稻12条染色体上、遗传相距约10–30 cM的SSR标记, 共选取326对引物, 由上海生物工程公司合成, 用于分析其在矮秆突变体 $ds1$ 和台粳16号之间的多态性。

### 1.5.2 Indel分子标记的开发

从公共网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)上获得粳稻日本晴和籼稻9311两品系已公布的核苷酸序列; 将得到的序列进行比对, 找到序列之间有差异的部分(通常要求有5个以上碱基的插入或缺失差异), 差异大小一般选择在50 bp以下; 然后利用引物设计软件Primer 5.0 (<http://www.tucows.com/preview/205452>)在其两侧设计并合成引物, 对这段包含有差异碱基的序列进行扩增; 最后通过电泳结果验证该引物在本实验所用到的2个亲本之间是否具有多态性。

### 1.5.3 分子标记间物理距离的确定

在GRAMENE数据库(<http://www.gramene.org>)主界面, 进入“Quick Search”菜单界面, 然后点击“BLAST”程序, 在“Enter the Query Sequence”框中粘贴入某个标记两侧引物的前引物或后引物序列, 选择物种“Rice”及其“Genomic sequence”, 点击Run进行检索, 即可获得该分子标记在水稻物理图上的具体位置。以此方法可知不同分子标记在水稻物理图上的具体位置, 彼此间的差值(单位为kb)即为分子标记间的物理距离。

## 1.6 矮秆突变体 $DS1$ 基因的初步定位

利用构建的 $F_2$ 分离群体, 运用BSA(bulked segregant analysis)法(Quarrie et al., 1999), 随机选取 $F_2$ 分离群体中20个矮秆表型单株的叶片, 并等量混成DNA池。以两亲本和 $F_1$ 代的DNA为对照, 用筛选的多态性简单序列重复标记(SSR)进行分子标记筛选; 获得偏扩增带型后, 再随机选取186个矮秆表型的单株确定连锁标记与突变体基因间的重组值及遗传距离, 进行突变体基因的初步定位。

## 1.7 矮秆突变体 $DS1$ 基因的精细定位

根据 $DS1$ 初步定位结果, 进一步扩大定位群体, 利用已经公布的水稻数据库引物及水稻基因组序列, 在目标基因附近区域合成并开发新的SSR和Indel标记, 对 $DS1$ 基因进行精细定位(表1)。

## 1.8 数据分析

根据分子标记的分析结果, 参照李楠等(2011)报道的方法并做相应修改, 将具有矮秆突变体 $ds1$ 和台粳16号带型的个体分别赋值1和3, 具有双亲带型(杂合带型)的个体赋值2。利用MapMaker3.0软件进行分子数据的分析(Lander et al., 1987), 再利用MapDraw2.1软件绘制目标基因区域的分子标记连锁图谱(刘仁虎和孟金陵, 2003)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 矮秆突变体 $ds1$ 的主要形态特征

相对于野生型M804, 矮秆突变体 $ds1$ 具有明显的矮秆特性。其主要特征表现为叶色浓绿、株型紧凑、分蘖较多、茎秆粗壮和籽粒小等(图1)。

### 2.2 矮秆突变体 $ds1$ 的遗传分析

将矮秆突变体 $ds1$ 和野生型M804进行正交和反交获得 $F_1$ ,  $F_1$ 均表现为正常植株表型。正交获得的 $F_2$ 群体中正常植株为153株, 矮秆植株为45株; 反交获得的 $F_2$ 群体中正常植株为303株, 矮秆植株为102株; 卡方检验结果表明分离比例均符合3:1(表2)。以上结果表明,  $DS1$ 表型受1对隐性单基因控制。

### 2.3 矮秆突变体 $DS1$ 基因的初步定位

选用实验室新合成的326对SSR引物, 对矮秆突变体 $ds1$ 与台粳16号之间进行多态性检测, 结果表明其中197对引物在亲本间有多态性, 多态率为60.4%。随机选取20个 $ds1$ /台粳16号 $F_2$ 代的矮秆表型单株, 等量提取DNA并混成池, 利用筛选的197对多态引物分别扩增 $ds1$ 、台粳16号、 $F_1$ 和 $F_2$  DNA混池, 进行染色体初步定位。结果发现在第5染色体上4对引物出现偏分离, 分别是RM2422、RM169、RM1237和RM430。

进一步利用这4对引物对186个 $F_2$ 代分离群体进

表1 本研究中开发的SSR和Indel分子标记引物序列

Table 1 SSR and Indel molecular markers developed in this study

SSR marker	Sequence of forward primer	Sequence of reverse primer	Locations
RM18251	5'-GGATCTTTAGTCCTGGTTGGTTCC-3'	5'-CATTGGAGGATGAAGTTGCTAACC-3'	OSJNBb0061M13
RM18346	5'-AACCCAACCCTCGAAGAAAGC-3'	5'-CTTGTGCGATCACAAACGGATACC-3'	P0585E02
RM18360	5'-TCGAGACTGATCGGAGTTTAGGC-3'	5'-CGCTCCTCCCTAACACCTCTACG-3'	P0570A02
RM18384	5'-GCAGCAGAAAGGGAGAGAGATGG-3'	5'-CAGCAACGTACGTACCAACAGG-3'	OSJNBb0059K16
RM18397	5'-GCAGCAGAAAGGGAGAGAGATGG-3'	5'-CCCACCCTCCAAGTGATAAACC-3'	P0018A03
RM18405	5'-GATCGAACCAGCGCCTTTATCC-3'	5'-GGTGGAGGAGGAAGCAACACC-3'	OSJNBa0076A09
RM2848	5'-GAATGAGAATGAGCGAACGAACG-3'	5'-CAGGCTTGACGGGACTCC-3'	P0015F11
RM18440	5'-CCTGTTGCTGCATGGTTTATGC-3'	5'-AAAGCGGTCCAAGAGGATGC-3'	P0015F11
RM18448	5'-CCAGCTGGCCTAGAACTTAATCG-3'	5'-CAGTTGGGCATCTCCATTGTACC-3'	B1164G01
RM18451	5'-ATATACAGCGCGACATTGTGG-3'	5'-CATGTCATCTTCACGCGAATCC-3'	B1164G01
RM3838	5'-GTTGGTAGTGCTTTGTGCAAGC-3'	5'-GCAACACCTCTTTCAATCTTCC-3'	OSJNBa0077J17
RM18510	5'-GGTCAGAAGAATGGAGGCAGTACC-3'	5'-GTGTGCGATCAGGAGATCTGG-3'	P0686B10
RM18550	5'-CCGAGATTGCAAGAATGAAGACAACC-3'	5'-GCTGGCCATCGAGATGTTCCG-3'	OJ1005_E12
RM18567	5'-GGTGGCGAATCCTACTTAGACAGC-3'	5'-TCGTATCCCTTAACCGCAATACC-3'	OJ1764_D01
Indel-5-1	5'-TAACTCGCCACCAACTGCCTCATA-3'	5'-ATCGCGGAAAGTAACTGAACATA-3'	OSJNBa0051L16
Indel-5-2	5'-TAAAGGATTGTCAAGACCGTAAAG-3'	5'-CCCAAGCCATAGAAGAAGTAGAAC-3'	OSJNBb0020D14
Indel-5-3	5'-CAAGGAACCCTCTGGAACGGAAAT-3'	5'-CCATAGTGGTCTTCACAGGAATAAA-3'	OJ1675_H07
Indel-5-4	5'-TTGGGCTTAGTTGGGCTTGCTGTT-3'	5'-CGGCTCGTCTCGTTTGGATTTGTT-3'	OJ1005_D04
Indel-5-5	5'-CCGTGAGGTAGATGAGGGAGGAGA-3'	5'-ATGGAAGAAGAAGCCAAGCAGGAG-3'	OSJNBa0049D13
Indel-5-6	5'-TCACGAATCAGCTCTTTCTCC-3'	5'-ATATTGGTGCTGCAGGTAGTGG-3'	OSJNBa0053E01
Indel-5-7	5'-AACCTGGTAGTAAGAACCTGTAA-3'	5'-GTAGATATGTCTGTTGTCAAACG-3'	OJ1116_F05

表2 水稻矮秆突变体 $ds1$ 的遗传分析Table 2 Genetic analysis of rice dwarf mutant  $ds1$ 

Cross	F <sub>1</sub> phenotype	Number of F <sub>2</sub> population			$\chi^2$ (3:1)	P value
		Wild plants	Dwarf plants	Total plants		
$ds1/M804$	Normal type	153	45	198	0.330*	0.5–0.75
$M804/ds1$	Normal type	303	102	405	0.013*	>0.9

\*表示在0.05显著水平上, 表型正常植株和突变植株的分离比例符合3:1。

\* denoted that the segregation ratio of normal plants to mutant plants complied with 3:1 at 0.05 significant probability level.

行验证, 证实RM2422、RM169、RM1237和RM430与 $DS1$ 连锁。利用MapDraw2.1软件连锁分析表明, $DS1$ 基因位点与分子标记RM2422、RM169、RM1237和RM430的遗传距离分别为15.5 cM、8.3 cM、6.2 cM和12.6 cM, 并且所有RM169的交换单株都出现在RM2422中, 所有RM1237的交换单株都出现在RM430中, 而用RM169检测到的所有交换单株与用RM1237检测的交换单株均完全不同。这说明 $DS1$ 基因定位于SSR标记RM169和RM1237之间, 遗传距离分别为8.3 cM和6.2 cM(图2A)。

## 2.4 矮秆突变体 $DS1$ 基因的精细定位

为了进一步缩小 $DS1$ 基因区间的范围, 我们在 $DS1$ 基因位点附近合成了30对SSR引物; 经验证, 其中14对引物在亲本间有多态性(表1)。利用这些多态性引物分析F<sub>2</sub>群体中的512株矮秆表型个体, 检测出重组个体并验证方向, 将 $DS1$ 基因精确定位于SSR分子标记RM18405和RM2848之间, 与RM18405和RM2848之间的遗传距离分别为1.2 cM和0.3 cM(图2B)。



图1 野生型(M804)与突变体(ds1)的形态  
W: 野生型; M: 突变体ds1

Figure 1 Phenotype of the wild-type (M804) and the mutant plant (ds1)  
W: The wild-type; M: ds1 mutant

目的基因的精细定位是图位克隆的关键步骤。为了精细定位DS1基因,我们在RM18405和RM2848所在的克隆OSJNBa0076A09和P0015F11之间发展了12对Indel标记;经检测,其中7对引物具有多态性(表1)。利用这7对多态性Indel标记检测F<sub>2</sub>群体中的重组个体,同时验证方向,将DS1基因进一步精确定位于Indel分子标记Indel-5-3和Indel-5-6之间;查阅GRAMENE数据库(<http://www.gramene.org>),得知这2个分子标记之间的物理距离约为384 kb(图2C)。

### 2.5 讨论

20世纪50年代末,水稻半矮秆基因“sd-1”的应用掀起了农业生产的第1次“绿色革命”,其产量几乎增加了1倍(章忠贵等,2010)。在其后的几十年里,虽然鉴定和发现了大量的矮秆、半矮秆基因,遗憾的是,仅有半矮秆基因“sd-1”在育种上得到了广泛的应用(于永红和斯华敏,2005)。显然,水稻育种中矮生基因遗传单一的问题越来越突出,已经严重影响了水稻产量的持续提高,因此寻找优良性状水稻新矮源的呼声越来越高。

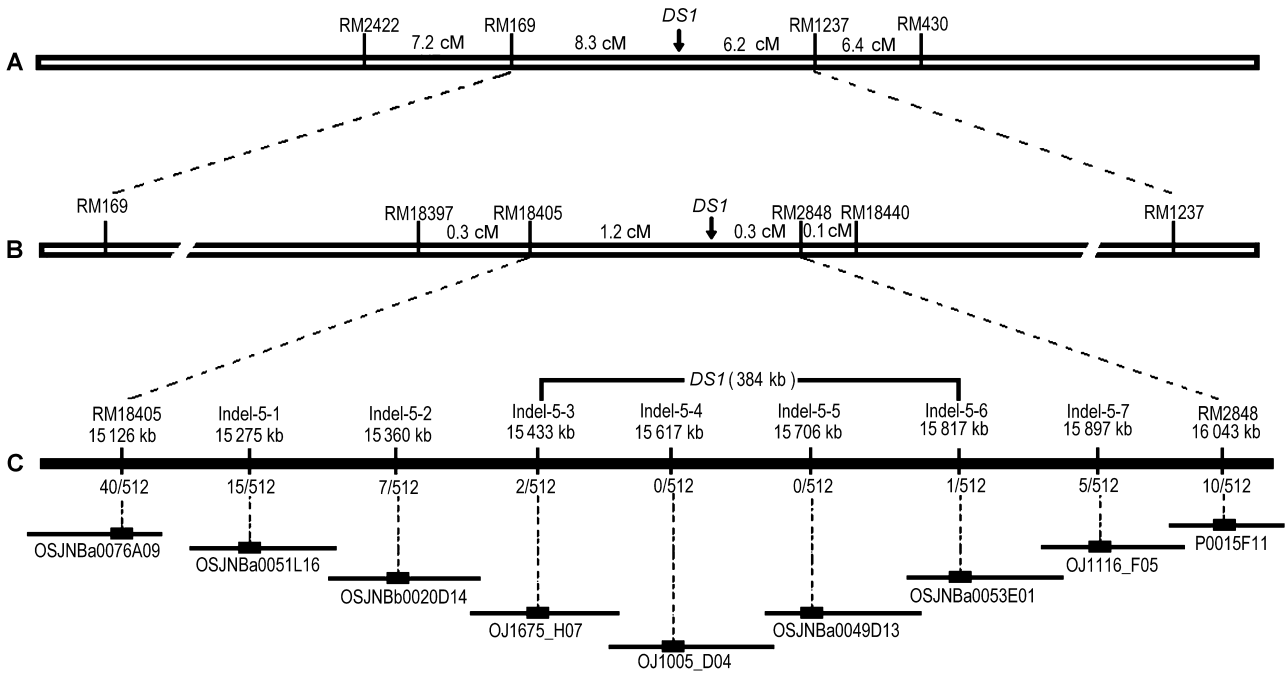


图2 DS1基因在水稻第5号染色体上的精细定位  
Figure 2 Fine mapping of DS1 on rice chromosome 5

本研究利用 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线(剂量为350 Gy)辐照获得一个性状能稳定遗传的矮秆突变体 $ds1$ , 并通过分子标记技术将 $DS1$ 基因定位在水稻第5号染色体Indel标记Indel-5-3和Indel-5-6之间, 位于2个BAC克隆OJ1675\_H07和OSJNBa0053E01之间。比较发现这一点与已经克隆的 $D1$ 基因位置很接近, 从GRAMENE网站(<http://www.gramene.org>)上查知 $D1$ 基因位于BAC克隆OSJNBa0049D13上, 而OSJNBa0049D13位于BAC克隆OJ1675\_H07和OSJNBa0053E01之间。因此, 根据其在染色体的位置, 初步推测 $DS1$ 基因可能与已克隆的 $D1$ 基因等位。然而, 研究表明 $d1$ 矮秆突变体对外源赤霉素刺激不敏感, 即外源赤霉素不能诱导其株高恢复正常(Ashikari et al., 1999), 而本研究中的 $ds1$ 突变体对外源赤霉素刺激敏感, 即外源赤霉素能诱导其株高恢复正常(杨德卫等, 2011)。因此,  $DS1$ 与 $D1$ 是否为同一个基因或者是等位基因, 还需要通过扩大定位群体, 进一步精确定位来确定。

水稻株高直接影响品种的生产潜力和抗倒伏性, 因此, 水稻株高相关基因的研究受到水稻育种工作者的广泛重视。目前已经鉴定的水稻矮秆突变体有70多个, 而其中有一大部分突变体除了具有特有的矮秆表型外, 还表现出一些其它特征, 如粒小、多分蘖和叶片卷曲等不良性状, 很难在生产上广泛应用。例如, 目前鉴定的小粒矮秆基因已有不少, 如 $d1$ 、 $d11$ 、 $d63$ 、 $d162(t)$ 、 $Dx$ 和 $DWARF1-like$ 等(Ashikari et al., 1999; Li et al., 2003; Tanabe et al., 2005; 胡兴明, 2005; 胡江, 2006; Qin et al., 2008), 这些材料均存在粒型较小的不良性状。本研究鉴定的 $ds1$ 突变体也属于小粒矮秆突变体类型, 但有趣的是, 我们在512株矮秆表型个体中, 发现有509个矮秆单株表现小粒的性状, 而另有3个矮秆单株表现为大粒(台粳16号粒型)的表型。说明 $ds1$ 突变体的矮秆和小粒性状存在极其紧密连锁的现象, 同时在矮秆突变体 $ds1$ 中矮秆基因和小粒基因是2个不同的基因。进一步用标记Indel-5-3和Indel-5-6的检测结果显示, 这3个矮秆单株在2个标记中均显示为纯合矮秆的带型。因此, 推测矮秆突变体 $ds1$ 中矮秆基因和小粒基因, 均位于BAC克隆OJ1675\_H07和OSJNBa0053E01之间, 而且这2个基因相距很近。目前对水稻小粒矮秆突变体的研究中, 很少有涉及小粒和矮化性状遗传分离的现象。因此,

本研究所揭示的这一现象, 将会为今后开展水稻矮秆突变体应用方面的研究提供一定的思路和借鉴。

最后, 对本研究发现的矮秆突变体 $ds1$ 在今后育种工作中的应用提出以下2点建议。(1) 该矮秆突变体材料除株高明显变矮外, 还具有叶片粗短而直立、叶色浓绿和茎秆粗壮等表型特征, 这些特性在品种选育中具有一定的应用价值, 可以适当加以利用。(2) 由于该突变体的矮秆与小粒性状存在紧密连锁的现象。因此, 要想打破这种不利因素, 一是要扩大选择的群体; 二是可以利用分子标记辅助选择, 减少田间工作量, 从而加快品种选育的进程。

## 参考文献

- 郭龙彪, 储成才, 钱前 (2006). 水稻突变体与功能基因组学. 植物学通报 23, 1-13.
- 胡江 (2006). 一个新水稻矮化突变体 $d63(t)$ 的遗传分析与分子定位. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学.
- 胡兴明 (2005). 水稻矮秆 $DWARF1-Like$ 基因的精确定位. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.
- 李楠, 桑贤春, 赵芳明, 凌英华, 李云峰, 杨正林, 何光华 (2010). 水稻窄叶突变体 $nal(t)$ 的表型分析与基因定位. 植物学报 45, 157-161.
- 刘仁虎, 孟金陵 (2003). MapDraw, 在Excel中绘制遗传连锁图的宏. 遗传 25, 317-321.
- 夏令, 陈亮, 郭迟鸣, 张红心, 赵政, 沈明山, 陈亮 (2007). 一个新的水稻矮秆突变体 $sd-sl$ 的遗传与基因定位研究. 厦门大学学报(自然科学版) 46, 847-851.
- 杨德卫, 卢礼斌, 郑向华, 黄镜浩, 叶宁, 刘成德, 程朝平, 何琴, 叶新福 (2011). 水稻矮秆突变体MU101的诱发及鉴定. 核农学报 25, 202-207.
- 于永红, 斯华敏 (2005). 水稻矮化相关基因的研究进展. 植物遗传资源学报 6, 334-347.
- 章忠贵, 刘斌美, 许学, 张丽丽, 王敏, 吴跃进 (2010). 水稻株高突变系的农艺性状与抗倒伏研究. 核农学报 24, 430-435.
- Arite T, Iwata H, Ohshima K, Maekawa M, Nakajima M, Kojima M, Sakakibara H, Kyojuka J (2007).  $DWARF10$ , an RMS1/MAX4/DAD1 ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice. *Plant J* 51, 1019-1029.
- Ashikari M, Wu JZ, Yano M, Sasaki T, Yoshimura A (1999). Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene

- Dwarf1* encodes the  $\alpha$ -subunit of GTP-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**, 10284–10289.
- Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Umemura K, Uozu S, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M** (2003). A rice brassinosteroid-deficient mutant, *ebisu dwarf (d2)*, is caused by a loss of function of a new member of cytochrome P450. *Plant Cell* **15**, 2900–2910.
- Ishikawa S, Maekawa M, Arite T, Onishi K, Takamure I, Kyojuka J** (2005). Suppression of tiller bud activity in tillering dwarf mutants of rice. *Plant Cell Physiol* **46**, 79–86.
- Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sentoku N, Kitano H, Matsuoka M, Kobayashi M** (2001). Cloning and functional analysis of two gibberellin 3  $\beta$ -hydroxylase genes that are differently expressed during the growth of rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 8909–8914.
- Lander ES, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daly MJ, Lincoln SE, Newberg LA** (1987). Corrigendum to “Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations”. *Genomics* **1**, 174–181.
- Li XL, Wu C, Deng XJ, Wang PR, Li RD, Yang ZR** (2003). Molecular tagging and effect analysis of a new small grain dwarf gene in rice. *Acta Bot Sin* **45**, 757–761.
- Murray MG, Thompson WF** (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* **8**, 4321–4325.
- Nishikubo N, Araki T, Kajita S, Kuroda K, Kitano H, Katayama Y** (2000). Specific accumulation of polysaccharide-linked hydroxycinnamoyl esters in the cell walls of irregularly shaped and collapsed internode parenchyma cells of the dwarf rice mutant Fukei 71. *Plant Cell Physiol* **41**, 776–784.
- Qin RZ, Qiu Y, Cheng ZJ, Shan XY, Guo XP, Zhai HQ, Wan JM** (2008). Genetic analysis of a novel dominant rice dwarf mutant 986083D. *Euphytica* **160**, 379–387.
- Quarrie SA, Lazić-Jančić V, Kovačević D, Steed A, Pekić S** (1999). Bulk segregant analysis with molecular markers and its use for improving drought resistance in maize. *J Exp Bot* **50**, 1299–1306.
- Sasaki A, Itoh H, Gomi K, Ueguchi-Tanaka M, Ishiyama K, Kobayashi M, Jeong DH, An G, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M** (2003). Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant. *Science* **299**, 1896–1898.
- Spielmeyer W, Ellis MH, Chandler PM** (2002). Semidwarf (*sd-1*), “green revolution” rice, contains a defective gibberellin 20-oxidase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 9043–9048.
- Tanabe S, Ashikari M, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Yano M, Yoshimura A, Kitano H, Matsuoka M, Fujisawa Y, Kata H, Iwasaki Y** (2005). A novel cytochrome p450 is implicated in brassinosteroid biosynthesis via the characterization of a rice dwarf mutant, *dwarf11*, with reduced seed length. *Plant Cell* **17**, 776–790.
- Ueguchi-Tanaka M, Ashikari M, Nakajima M, Itoh H, Katoh E, Kobayashi M, Chow TY, Hsing YI, Kitano H, Yamaguchi I, Matsuoka M** (2005). *GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1* encodes a soluble receptor for gibberellin. *Nature* **437**, 693–698.
- Yuan LP** (2000). Super hybrid rice. *Chin Rice Res Newsletter* **8**, 13–15.
- Zou JH, Zhang SY, Zhang WP, Li G, Chen ZX, Zhai WX, Zhao XF, Pan XB, Xie Q, Zhu LH** (2006). The rice *HIGH-TILLERING DWARF1* encoding an ortholog of Arabidopsis MAX3 is required for negative regulation of the outgrowth of axillary buds. *Plant J* **48**, 687–696.

## Genetic Analysis and Mapping of Rice Dwarf Mutant *ds1*

Dewei Yang<sup>†</sup>, Meijuan Zeng<sup>†</sup>, Libin Lu, Ning Ye, Chengde Liu, Xianghua Zheng, Xinfu Ye<sup>\*</sup>

*Institute of Rice, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350018, China*

**Abstract** Rice is one of the most important cereal crops. The introduction of dwarf rice has led to the first “green revolution”. However, the genetic uniformity of dwarf gene in rice breeding is a concern, which severely affects the continuous increase in rice harvest. In the present study, we mutated the indica cultivar M804 by using <sup>60</sup>Co-γ-Ray and obtained a genetically stable rice dwarf mutant (MU101), which was crossed with a japonica cultivar Taigeng 16 to investigate the genetic mode and map the gene. Genetic analysis revealed the phenotype of the dwarf mutant, which we designated tentatively as *ds1*, controlled by a pair of recessive genes. Polymorphic analysis of simple sequence repeat markers demonstrated the *DS1* gene located on chromosome 5. With a larger mapping population and more Indel markers, we further mapped the *DS1* gene between 2 Indel markers with a physical region of about 384 kb. These results provide a basis for molecular cloning and production application of *DS1*.

**Key words** dwarf mutant, gene mapping, genetic analysis, rice

**Yang DW, Zeng MJ, Lu LB, Ye N, Liu CD, Zheng XH, Ye XF (2011).** Genetic analysis and mapping of rice dwarf mutant *ds1*. *Chin Bull Bot* **46**, 617–624.

---

<sup>†</sup> These authors contributed equally in this paper.

<sup>\*</sup> Author for correspondence. E-mail: yexinfu@126.com