

· 研究报告 ·

水稻短根毛突变体 *Ossrh2* 的表型分析与基因定位

丁沃娜^{1*}, 童艳丽², 宁永强¹, 朱世华¹

¹宁波大学植物分子生物学研究室, 宁波 315211; ²浙江大学植物生理学与生物化学国家重点实验室, 杭州 310058

摘要 在粳稻品种中花11为遗传背景的T-DNA突变体库中筛选获得一个遗传稳定的水稻(*Oryza sativa*)短根毛突变体 *Ossrh2* (*Oryza sativa short root hair 2*)。突变体在苗期表现为根毛数量减少, 为野生型的61.4%, 根毛长度明显变短, 只有野生型的22.8%, 同时根毛增粗, 根毛形态也发生了变异, 局部扭曲膨胀和分叉, 除此之外突变体的地上部和根部生长情况与野生型相比没有显著差异。遗传分析表明, 该突变性状受1对隐性单基因控制。通过对突变体T₂和F₂代的分子检测发现, 该突变体表型非T-DNA插入引起。利用 *Ossrh2* 纯合体和籼稻品种 *Kasalath* 杂交构建的F₂群体对 *OsSRH2* 进行基因定位, 发现其与第10号染色体短臂上的SSR (simple sequence repeat) 标记RM6370和RM474连锁, 遗传距离分别为1.1 cM和3.0 cM。通过在两标记间发展3个新的STS (sequence-tagged site) 标记, 将 *OsSRH2* 基因定位于标记S1227和S1531之间, 物理距离约为304 kb, 为进一步克隆 *OsSRH2* 打下了基础。

关键词 基因定位, 遗传分析, 水稻, 短根毛突变体

丁沃娜, 童艳丽, 宁永强, 朱世华 (2011). 水稻短根毛突变体 *Ossrh2* 的表型分析与基因定位. 植物学报 46, 625–631.

根系是植物的重要组成部分, 是植物与土壤进行物质交换和信息交流的桥梁。根毛是根系特异表皮细胞外伸形成的管状突出物 (Gilroy and Jones, 2000), 是植物吸收水分、养分以及固定植株的重要器官。根毛生长发育过程大致可分为细胞命运特化、根毛起始和顶端伸长3个阶段 (Cho and Cosgrove, 2002)。根毛的发育是一个复杂的基因调控过程, 其遗传调控机理的研究在双子叶植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中取得了突破性的进展 (Horn et al., 2009; Libault et al., 2010)。

由于作物根系生长环境的复杂性及根系研究方法和手段的局限性, 目前有关水稻 (*Oryza sativa*) 根系性状的遗传研究相对滞后。近年来, 一些限制根毛发育的突变体在玉米 (*Zea mays*)、大麦 (*Hordeum vulgare*) 和水稻中被鉴别出来。已报道了3个影响玉米根毛发育的突变体 *rth1*、*rth2* 和 *rth3*, 其中 *rth1* 和 *rth3* 是一类没有根毛的突变体, 且植株生长缓慢矮小; *rth2* 根毛能正常发生, 但是根毛长度只有正常植株的1/5–1/4 (Wen and Schnable, 1994)。 *RTH1* 编码了囊泡分泌物 *sec3* 及其同源分泌物 (Wen et al., 2005); *RTH3* 编码在根表皮生毛细胞形成中发挥重要作用的

COBRA-like蛋白, 主要调节细胞壁的合成和细胞的延伸 (Hochholdinger et al., 2008); 有关 *RTH2* 至今未见报道。从大麦中筛选到了50多个根毛发育缺陷突变体 (Gahoonia et al., 2001; Engvild and Rasmussen, 2004), 但是其中许多突变体表型不稳定, 自交后代表型出现分离, 至今只有1个与根毛起始相关的膨胀素基因 *HvEXPB1* 被克隆 (Kwasniewski and Szarejko, 2006)。有关水稻根毛基因的分子定位和克隆的研究也较少, 目前只有4个基因被克隆。 *OsRHL1* 是促进水稻根毛顶端生长的一个重要调控因子, 编码1个bHLH (basic/Helix-Loop-Helix) 转录因子 (Ding et al., 2009)。 *OsCSLD1* 是一个纤维素合成酶基因, 与拟南芥 *KOJAK/AtCSLD3* 同源 (Kim et al., 2007)。 *OsAPY* 编码一个水解NTPs的三磷酸双磷酸酶, 影响根毛的发生和伸长 (You et al., 2009)。最近Yu等 (2011) 报道了一个膨胀素基因 *OsEXPA17* 与根毛伸长时细胞壁的延伸直接相关。

我们从中花11为遗传背景的T-DNA插入突变体库中筛选获得了2个根毛发育缺陷突变体, 其中1个突变体的根毛长度变短, 数量和形态未发生变异, 将其命名为 *Ossrh1* (*Oryza sativa short root hair 1*), 另

收稿日期: 2011-05-04; 接受日期: 2011-07-04

基金项目: 国家自然科学基金 (No.31071388) 和宁波市自然科学基金 (No.2011A610001)

* 通讯作者。E-mail: dwn@zju.edu.cn

外1个突变体的根毛长度、数量和形态都发生了变化,将其命名为*Ossrh2*(*Oryza sativa short root hair 2*)。本研究对*Ossrh2*进行了表型分析和基因定位,以期为该基因的克隆和功能分析奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用的水稻(*Oryza sativa* L.)短根毛突变体*Ossrh2*来源于以粳稻品种中花11为遗传背景的T-DNA插入突变体库,经连续几代自交种植,性状表型一致,遗传稳定。将*Ossrh2*与根毛正常的籼稻品种Kasalath杂交,构建F₂群体,用于遗传分析和基因定位。

1.2 突变体的表型分析

将突变体*Ossrh2*和野生型中花11破休眠萌发后,直播于漂浮在水稻营养液(Yoshida et al., 1976)中的尼龙网纱上面。生长7天后,将幼苗取下进行观察,用Nikon DC70s照相机拍摄整个植株及根部,主根根毛区用Leica MZ95(Germany)进行取景拍照。在显微镜(ZEISS Axiovert 200)下观察成熟区的根毛。分别用刻度尺测量植株的株高、主根长度和不定根长度,统计不定根数目。用透射扫描仪STD1600 Scanner(Epson, Japan)扫描水稻主根。使用WinRHIZO(Regent Instruments Inc, Canada)图像分析系统进行根系的侧根长度统计。

1.3 根毛形态的观测

挑选饱满的野生型和突变体的种子,剥壳后用75%乙醇消毒2分钟,20%次氯酸钠溶液消毒15分钟,再用无菌水清洗4-5次。然后将消毒后的种子直播在1/2MS培养基(0.5% phytoigel)上,培养皿用Parafilm膜封口,转移至水稻生长室竖直放置,使水稻主根沿培养基表面生长。取培养3天的苗,在低温扫描电子显微镜(Cryo-SEM)(HITACHI, JAPAN; GATAN., UK)下对主根根毛区进行显微观察和拍照。同时,根据距根尖3-4 mm处拍摄的电镜照片对根毛细胞的相关参数(如根毛长度、直径和数量等)进行量化统计。

1.4 突变体与T-DNA的协同分离分析

为了验证*Ossrh2*是否是由T-DNA插入引起的,对该

材料进行潮霉素(HPT)协同分离分析。在T₂和F₂群体中各取突变植株30株,以HPT-F(5'-CGGTCGCGG-AGGCTATGGATG-3')和HPT-R(5'-GCTTCTGCGG-GCGATTTGTGTA-3')为引物对选择标记基因HPT进行PCR扩增。10 μL PCR扩增反应体系包含模板DNA 1 μL、25 mmol·L⁻¹ MgCl₂ 1.2 μL、2.5 mmol·L⁻¹ dNTP 0.3 μL、10 μmol·L⁻¹正反向引物各0.3 μL、10×buffer 1.0 μL和5 U·μL⁻¹ Taq DNA聚合酶0.1 μL。PCR反应程序为:94°C预变性5分钟;94°C变性30秒,64°C退火30秒,72°C延伸30秒,35个循环;72°C延伸5分钟。反应产物经0.8%琼脂糖凝胶电泳后在BIORAD凝胶成像仪上成像。

1.5 水稻DNA的提取

采用简易的TPS法(张向前等, 2008)从水稻叶片中提取亲本、基因池DNA、F₁和F₂分离群体DNA。

1.6 突变基因的定位分析及基因预测

本研究用于基因定位的分子标记来自自己公布的SSR序列(<http://www.gramene.org/microsat/ssr.html>)。选取本实验室已有的均匀覆盖水稻12条染色体上的98对Kasalath和中花11具多态性的SSR标记进行初定位。STS标记根据已公布的水稻全基因组序列信息RGP(<http://rgp.dna.affrc.go.jp/E/toppage.html>)和中国华大基因研究中心提供的9311全基因组序列比对,分析日本晴和9311籼粳间的序列差异,在有差异的序列两侧设计正反向引物,选取在亲本间条带有差异的STS标记对*OsSRH2*基因进行定位。所用的SSR和STS标记引物均由上海生工生物工程有限公司合成,反应体系同上。PCR反应程序为:94°C预变性5分钟;94°C变性30秒,55°C退火30秒,72°C延伸30秒,36个循环;72°C延伸5分钟。PCR扩增产物经6%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,银染检测。

依据突变基因定位的区间结果,通过TIGR网站(<http://rice.plantbiology.msu.edu/osa1.shtml>)的水稻基因注释信息进行预测,分析此区间内的基因。

2 结果与讨论

2.1 突变体表型分析

将突变体*Ossrh2*和野生型在水稻全营养液中培养7天

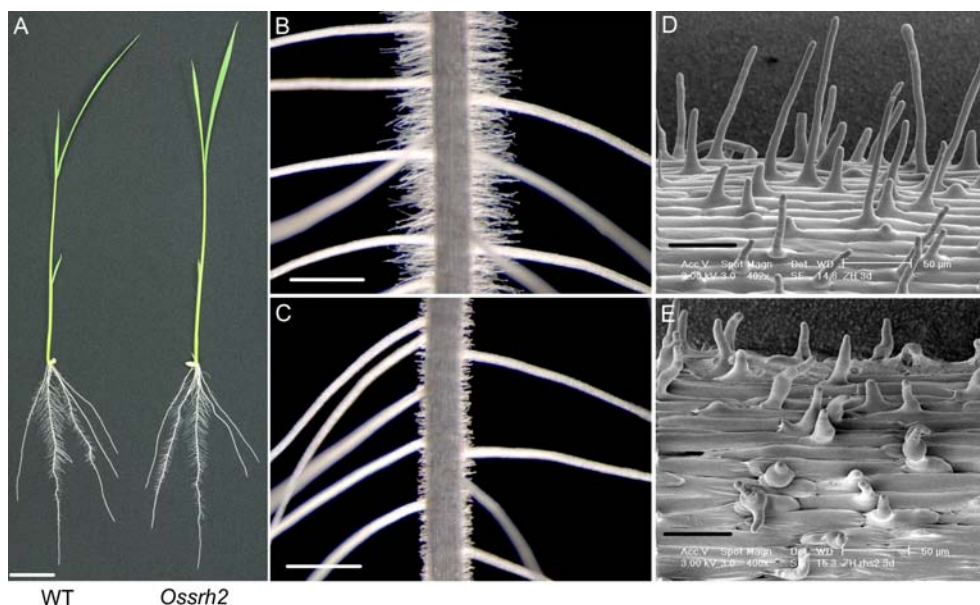


图1 水稻野生型和突变体*Ossrh2*生长7天的表型

(A) 野生型(WT)和突变体*Ossrh2*全株照(Bar=2 cm); (B) 野生型主根的体视镜照片(Bar=1 mm); (C) 突变体*Ossrh2*主根的体视镜照片(Bar=1 mm); (D) 野生型根毛区在低温扫描电子显微镜下的照片(Bar=50 μ m); (E) 突变体*Ossrh2*根毛区在低温扫描电子显微镜下的照片(Bar=50 μ m)

Figure 1 Phenotypic characterization of 7-day-old seedlings of *Oryza sativa* wild type (WT) and *Ossrh2* mutant

(A) Seedlings of the WT and *Ossrh2* mutant (Bar=2 cm); (B) The primary root of WT under stereoscope (Bar=1 mm); (C) The primary root of *Ossrh2* mutant under stereoscope (Bar=1 mm); (D) Cryo-SEM images of root hair zone of WT (Bar=50 μ m); (E) Cryo-SEM images of root hair zone of *Ossrh2* mutant (Bar=50 μ m)

表1 水稻野生型(WT)和突变体*Ossrh2*生长7天的植株表型比较(平均值 \pm 标准差)

Table 1 The characteristics of 7-day-old seedlings of *Oryza sativa* *Ossrh2* mutant and wild type (WT)(means \pm SD)

Trait	WT	<i>Ossrh2</i>
Plant height (cm)	16.3 \pm 0.85	16.8 \pm 1.63
Seminal root length (cm)	11.1 \pm 0.58	11.0 \pm 0.80
Adventitious root length (cm) ^a	5.1 \pm 1.23	5.3 \pm 0.83
Adventitious root number	5.3 \pm 0.52	5.4 \pm 0.51
Lateral root length (cm) ^b	0.4 \pm 0.03	0.4 \pm 0.11
Lateral root number	198.3 \pm 18.54	207.0 \pm 9.12

a: 3根最长不定根根长的平均值; b: 种子根上20根最长侧根的平均长度

a: The average length of three longest adventitious roots; b: The average length of twenty longest lateral roots on each seminal root

后观察表型,发现突变体的地上部和根部生长情况与野生型相比没有显著差异(图1A; 表1),主要是根毛的发生和顶端伸长受到了影响,根毛数量明显减少,

为野生型的61.4%,根毛长度只有野生型的22.8%,根毛形态也发生了变异,局部扭曲膨胀,顶端分叉(图1B-E; 表2)。

2.2 突变体与T-DNA的协同分离分析

如果突变性状确定是由T-DNA的插入引起,则在突变的隐性单株中可以检测到标记基因潮霉素基因(*HPT*)的存在。对30株表现为突变性状的T₂植株用选择标记基因*HPT*的特异引物进行PCR扩增,结果均未发现PCR产物(图2)。对30株表现为突变性状的F₂植株的检测也是同样的结果(数据未显示)。说明该突变性状与T-DNA不存在协同分离关系,表明该突变体不是由T-DNA插入引起的,可能是由组培引起的。

2.3 突变体*Ossrh2*的遗传分析

将水稻短根毛突变体*Ossrh2*与籼稻品种Kasalath野生型杂交,其F₁个体表型正常,均与Kasalath野生型

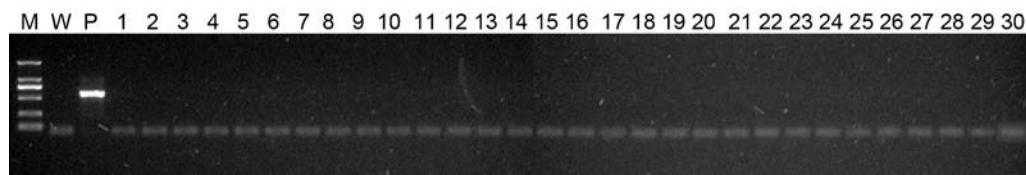


图2 T₂株系中潮霉素基因与表型协同分离的PCR检测

M: 分子量标准; W: 野生型; P: 携带潮霉素基因的质粒; 1–30: 不同的T₂株系

Figure 2 The co-segregation analysis of the *HPT* gene with the phenotype in T₂ plants by PCR

M: Marker DL2000; W: Wild type; P: Plasmid containing the *HPT* gene used as positive control; 1–30: Different T₂ plants

表2 水稻野生型(WT)和突变体*Ossrh2*的根毛参数(平均值±标准差)

Table 2 The characteristics of root hairs of *Oryza sativa* *Ossrh2* mutant and wild type (WT)(means±SD)

Characters ^a	WT	<i>Ossrh2</i>
Root hair length (μm) ^b	256.7±6.05	58.6±1.83**
Root hair width (μm) ^c	5.3±0.52	8.2±1.05**
Number of root hair ^d	14.0±1.05	7.7±0.75**

a: 距根尖3–4 mm处; b: 20根最长根毛的平均长度; c: 100根根毛宽部和窄部的平均值; d: 100 μm×100 μm面积内的根毛数量; ** 在0.01水平上差异显著。

a: In the region 3–4 mm from the root tip; b: The average of 20 longest root hairs; c: The average width of 100 root hairs in the thickest and thinnest parts; d: Root hair number in a 100 μm×100 μm region; ** Significant difference at the 0.01 level.

表型一致, 表明短根毛突变体受隐性核基因控制。400个F₂单株间根毛长度出现分离, 经卡方检测, 正常根毛与短根毛株数符合3:1的分离比例($\chi^2=0.85 < \chi^2_{0.05}=3.84$)(表3)。因此, 该性状是一个由单隐性基因控制的质量性状。

2.4 *OsSRH2*基因的分子定位

选用*Ossrh2*/Kasalath的F₂群体作为定位群体, 利用

混合分离分析法(bulked segregant analysis, BSA) (Michelmore et al., 1991)对*Ossrh2*进行初定位。从F₂分离群体中随机抽取30个突变株分别提取DNA, 然后取等量DNA混合构建一个突变池。以突变池为模板, 两亲本和F₁DNA为对照, 用12条染色体上均匀分布的98对具多态性的SSR标记进行扩增, 发现第10号染色体上的分子标记RM6370和RM474的突变池DNA的PCR产物偏向突变体*Ossrh2*的带型。进一步分析表明RM6370和RM474与突变体表型紧密连锁, 其遗传距离分别为1.1 cM和3.0 cM。在初定位的基础上, 进一步扩大F₂群体, 得到具有突变体表型的F₂单株1 050株。根据日本晴和9311的基因组序列差异, 在RM6370和RM474之间发展了3个在两亲本间具多态性的STS分子标记S1227、S1315和S1531(表4), 最终将该水稻短根毛基因定位在STS标记S1227和S1531之间, 其在染色体上的物理位置分别为1 227 917 bp和1 531 894 bp, 2个标记间物理距离约为304 kb, 有3个部分重叠的BAC克隆, 即OSJNAa0079-B05、OSJNBa0049K09和OSJNAa0049K09(图3)。

2.5 讨论

根毛是植物吸收养分的重要器官。根毛发育的调控机

表3 水稻短根毛突变体*Ossrh2*的遗传分析

Table 3 Genetic analysis of short root hair mutant *Ossrh2* of *Oryza sativa*

Cross	F ₁ phenotype	F ₂ population			$\chi^2(3:1)$
		Normal plants	Short root hair plants	Total plants	
<i>Ossrh2</i> /9311	Normal type	308	92	400	0.85

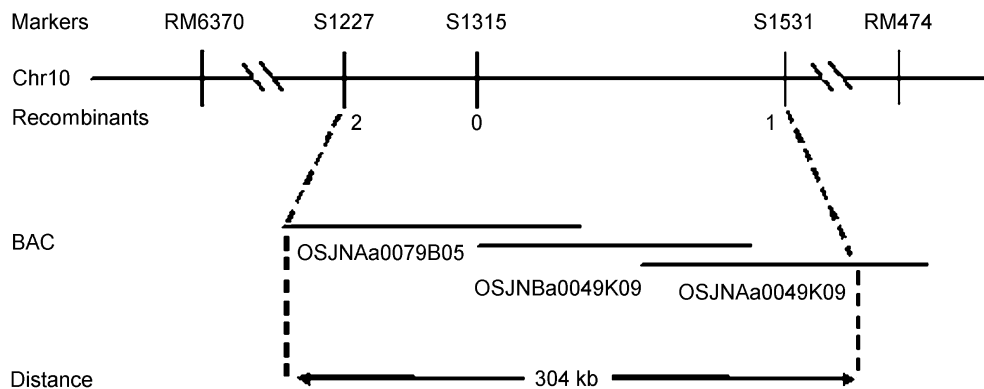


图3 *OsSRH2*基因在水稻第10号染色体上的分子定位

Figure 3 Molecular mapping of *OsSRH2* on rice chromosome 10

表4 用于突变体*Ossrh2*基因定位的分子标记序列

Table 4 Molecular markers and primers used to map *Ossrh2*

Marker	Primer sequence (5'-3')	Product size (bp) in Nipponbare
RM6370	F: TTGACAAGCCACACACACAG R: GTCCTCCCTTGGTTCTTTCC	90
S1227	F: TACATCTGCCCTGCTTCT R: CAAAGTCACTGGCTTATG	210
S1315	F: AAAGCCTCAAGTGTCAGAC R: GGCATGGATGTGTAGTAAGC	155
S1531	F: GAGGAGGAGGATTGGTTGAC R: GCGAGCGAACGAACCTTATC	139
RM474	F: AAGATGTACGGGTGGCATT R: TATGAGCTGGTGAGCAATGG	232

理十分复杂, 根毛的定向分化在发育早期就已决定 (Dolan et al., 1994)。在拟南芥中根毛发生具有位置效应: 位于2个皮层细胞之间的表皮细胞分化成根毛细胞, 而只和1个皮层细胞接触的表皮细胞则分化成非根毛细胞 (Schiefelbein, 2003)。除此之外, 植物中还存在2种根毛发生形式 (Dolan and Costa, 2001), 一类主要出现在玉米等禾本科植物以及大多数双子叶植物, 即任何一个表皮细胞都有可能特化形成根毛细胞; 另一类主要出现在单子叶早熟禾亚科, 如大麦、小麦 (*Triticum aestivum*) 以及一些低等蕨类和原始被子植物中, 它们的根表皮细胞由于不均等分裂会形成2种大小不同的细胞, 其中只有较小的细胞才能

分化成根毛。水稻根毛的发生比较复杂, 对它的表皮细胞命运模式至今还有争议。有研究认为由表皮细胞不对称分裂产生的小细胞分化成根毛 (Yuo et al., 2009); 也有研究认为每个表皮细胞都有可能发生根毛 (Kim et al., 2007)。

从根毛发生前细胞特异化到顶端伸长后延续生长的整个过程中, 通过筛选根毛形态缺陷突变体已经在拟南芥中发现了许多参与其中的基因。这些基因突变后或引起生毛/非生毛细胞命运的改变, 或影响根毛的起始, 或引起根毛起始后顶端伸长受阻, 还有些基因突变会造成根毛形态的变异, 出现扭曲、分叉、膨胀和螺旋等异常的形态 (Horn et al., 2009; Libault et al., 2010)。已报道的4个水稻根毛突变体的顶端伸长都受到了不同程度的抑制, 定位在第7号染色体上的 *OsAPY* 突变会造成根毛在起始后停止伸长, 只能形成很短的突起 (You et al., 2009)。 *Osrh1*、 *Osclsd1* 和 *Osexpa17* 的根毛长度分别只有野生型的11.5%、31.7%和30%。 *OsCSLD1* 除了影响根毛的顶端伸长, 还引起了根毛形态的改变, 突变体根毛扭曲, 底端肿胀。 *OsCSLD1* 定位在第10号染色体上, *OsRHL1* 和 *OsEXPA17* 均定位在第6号染色体上 (Kim et al., 2007; Ding et al., 2009; Yu et al., 2011)。

本研究中, *Ossrh2* 根毛明显变短, 形态也发生变异, 并且数量减少, 有些表皮细胞不能正常起始根毛或起始滞后, 有些表皮细胞根毛能正常起始, 但是不能正常伸长, 推测其根毛起始或表皮细胞命运决定、

根毛顶端生长机制都受到影响。*Ossrh2*所携带的突变基因也定位于第10号染色体上,但其遗传距离与*OsCSLD1*不同,其定位于第10号染色体短臂上的STS标记S1227和S1531之间约304 kb范围内,遗传距离为2.2 cM,这一区间内有3个部分重叠的BAC。根据TIGR网站提供的基因注释信息,在OSJNBa00-49K09上有一个预测的磷脂酰肌醇转移蛋白(phosphatidylinositol transfer protein)基因LOC_Os10g0-3400,其与拟南芥根毛发育相关基因*CAN OF WOR-MS1(COW1)*同源。*cow1*突变体根毛变短、增粗且分叉(Crierson et al., 1997; Böhme et al., 2004; Vincent et al., 2005)。*Ossrh2*根毛的异常表型与*cow1*非常相似,推测*OsSRH2*可能是磷脂酰肌醇转移蛋白基因,但还需进行测序及功能互补实验予以验证。

致谢 浙江大学生命科学学院吴平教授对本研究给予了大力的支持和帮助,谨致谢忱。

参考文献

- 张向前, 邹金松, 朱海涛, 李晓燕, 曾瑞珍 (2008). 水稻早熟多子房突变体*fon5*的遗传分析和基因定位. *遗传* **30**, 1349–1355.
- Böhme K, Li Y, Charlot F, Grierson C, Marrocco K, Okada K, Laloue M, Nogué F (2004). The Arabidopsis *COW1* gene encodes a phosphatidylinositol transfer protein essential for root hair tip growth. *Plant J* **40**, 686–698.
- Cho HT, Cosgrove DJ (2002). Regulation of root hair initiation and expansin gene expression in Arabidopsis. *Plant Cell* **14**, 3237–3253.
- Crierson CS, Roberts K, Feldmann KA, Dolan L (1997). The *COW1* locus of Arabidopsis acts after *RHDZ*, and in parallel with *RHD3* and *TIP1*, to determine the shape, rate of elongation, and number of root hairs produced from each site of hair formation. *Plant Physiol* **115**, 981–990.
- Ding WN, Yu ZM, Tong YL, Huang W, Chen HM, Wu P (2009). A transcription factor with a bHLH domain regulates root hair development in rice. *Cell Res* **19**, 1309–1311.
- Dolan L, Costa S (2001). Evolution and genetics of root hair stripes in the root epidermis. *J Exp Bot* **52**, 413–417.
- Dolan L, Duckett CM, Grierson C, Linstead B, Schneider K, Lawson E, Dean C, Poethig S, Roberts K (1994). Clonal relationships and cell patterning in the root epidermis of Arabidopsis. *Development* **120**, 2465–2474.
- Engvild KC, Rasmussen SK (2004). Root hair mutants of barley. *Barley Genet News* **34**, 13–15.
- Gahoonia TS, Nielsen NE, Joshi PA, Jahoor A (2001). A roothairless barley mutant for elucidating genetic of root hairs and phosphorus uptake. *Plant Soil* **235**, 211–219.
- Gilroy S, Jones DL (2000). Through form to function: root hair development and nutrient uptake. *Trends Plant Sci* **5**, 56–60.
- Hochholdinger F, Wen TJ, Zimmermann R, Chimot-Marolle P, da Costae Silva O, Bruce W, Lamkey KR, Wienand U, Schnable PS (2008). The maize (*Zea mays* L.) *roothairless3* gene encodes a putative GPI-anchored, monocot-specific, COBRA-like protein that significantly affects grain yield. *Plant J* **54**, 888–898.
- Horn R, Yi K, Menand B, Pernas-Ochoa M, Takeda S, Walker T, Dolan L (2009). Root epidermal development in Arabidopsis. *Annu Plant Rev* **37**, 64–82.
- Kim CM, Park SH, Je BI, Park SH, Park SJ, Piao HL, Eun MY, Dolan L, Han CD (2007). *OsCSLD1*, a cellulose synthase-like D1 gene, is required for root hair morphogenesis in rice. *Plant Physiol* **143**, 1220–1230.
- Kwasniewski M, Szarejko I (2006). Molecular cloning and characterization of β -expansin gene related to root hair formation in barley. *Plant Physiol* **141**, 1149–1158.
- Libault M, Brechenmacher L, Cheng JL, Xu D, Stacey G (2010). Root hair systems biology. *Trends Plant Sci* **15**, 641–650.
- Michelmore RW, Papan I, Kesseli RV (1991). Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**, 9828–9832.
- Schiefelbein J (2003). Cell-fate specification in the epidermis: a common patterning mechanism in the root and shoot. *Curr Opin Plant Biol* **6**, 74–78.
- Vincent P, Chua M, Nogue F, Fairbrother A, Mekeel H, Xu Y, Allen N, Bibikova TN, Gilroy S, Bankaitis VA (2005). A Sec14p-nodulin domain phosphatidylinositol transfer protein polarizes membrane growth of *Arabidopsis thaliana* root hairs. *J Cell Biol* **168**, 801–812.
- Wen TJ, Schnable PS (1994). Analyses of mutants of three genes that influence root hair development in *Zea mays* (Gramineae) suggest that root hairs are dispensable. *Am J Bot* **81**, 833–842.
- Wen TJ, Hochholdinger F, Sauer M, Bruce W, Schnable PS (2005). The *roothairless1* gene of maize encodes a homolog of *sec3*, which is involved in polar exocytosis. *Plant Physiol* **138**, 1637–1643.

Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA (1976). Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice, 3rd edn. Manila: The International Rice Research Institute. pp. 62–62.

You T, Toyota M, Ichii M, Taketa S (2009). Molecular

cloning of a root hairless gene *rth1* in rice. *Breed Sci* **59**, 13–20.

Yu ZM, Kang B, He XW, Lü SL, Bai YH, Ding WN, Chen M, Cho HT, Wu P (2011). Root hair-specific expansins modulate root hair elongation in rice. *Plant J* **66**, 725–734.

Phenotypic Analysis and Gene Mapping of a Short Root Hair Mutant *Ossrh2* in Rice (*Oryza sativa*)

Wona Ding^{1*}, Yanli Tong², Yongqiang Ning¹, Shihua Zhu¹

¹Laboratory of Plant Molecular Biology, Ningbo University, Ningbo 315211, China; ²State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract A rice (*Oryza sativa*) mutant with short root hairs (*Ossrh2*) was isolated from a T-DNA insertion mutant library of rice in the Zhonghua11 background. Except for root hairs, *Ossrh2* did not differ from the wild type. The number and length of root hairs of *Ossrh2* were only 61.4% and 22.8%, respectively, that of the wild type, and hairs were thicker. The root hairs of *Ossrh2* were also morphologically abnormal and showed distortion, swelling and branching. Genetic analysis revealed that the mutant phenotype was controlled by a single recessive nuclear gene. PCR analysis of T₂ and F₂ mutants showed that the phenotype was not caused by T-DNA insertion. To map the *OsSRH2* gene, we generated an F₂ population by crossing the mutant *Ossrh2* with the Kasalath wild type. *OsSRH2* was first mapped between the microsatellite markers RM6370 and RM474 on the short arm of chromosome 10 with genetic distance of 1.1 and 3.0 cM, respectively. Then, 3 new polymorphic sequence-tagged site markers were developed in the region. *OsSRH2* was finally mapped between markers S1227 and S1531 with a physical distance of 304 kb, which would help in its cloning.

Key words gene mapping, genetic analysis, *Oryza sativa*, short root hair mutant

Ding WN, Tong YL, Ning YQ, Zhu SH (2011). Phenotypic analysis and gene mapping of a short root hair mutant *Ossrh2* in rice (*Oryza sativa*). *Chin Bull Bot* **46**, 625–631.

* Author for correspondence. E-mail: dwn@zju.edu.cn