

# 农业现代化研究

## NONGYE XIANDAIHUA YANJIU

(双月刊)

第 41 卷第 6 期 (总第 241 期)

2020 年 11 月

### 目次

数字乡村建设视角下乡村数字经济指标体系设计研究 .....	崔凯, 冯献 (899)
乡村振兴与发展中的产业富民: 国际经验与中国实践 .....	王国峰, 邓祥征 (910)
优化乡村振兴路径思考——基于中西方国家乡村发展评价 .....	常煜, 武圣钦 (919)
中国粮食产需平衡的时空格局演变分析——基于粮食用途和省域层面的视角 .....	孟召娣, 李国祥 (928)
新型农业经营主体发展模式的选择与优化——基于粮食安全和吸纳劳动力视角的经济学分析 .....	钱煜昊, 武舜臣 (937)
农业保险对家庭经营收入的影响效果——基于全国三类农户调查的实证分析 .....	韩旭东, 刘爽, 王若男, 郑凤田 (946)
风险感知、保险认知与养殖户肉鸡保险购买意愿——基于肉鸡主产区的实证分析 .....	王越, 何军 (957)
农户林权抵押贷款的收入效应及其差异性研究 .....	马橙, 高建中, 姚畅燕 (969)
社会化服务、农地确权对农业生产效率的影响研究 .....	廖文梅, 袁若兰, 王璐, 高雪萍 (978)
耕地流转、土地调整与小麦种植技术效率分析——基于随机前沿生产函数和 Tobit 模型的实证 .....	顾冬冬, 关付新 (988)
家庭禀赋视域下农户秸秆还田意愿与行为悖离研究——兼论生态认知的调节效应 .....	邰建功, 颜廷武, 杨国磊 (999)
消费者对不同可追溯产品支付意愿及影响因素差异分析 .....	徐芬, 陈红华 (1011)
农业信息资源配置对农产品电商绩效影响机制研究——以东部地区为例 .....	贾铖, 夏春萍, 陈鹏宇 (1020)
非洲猪瘟疫情背景下养殖场户生产决策研究——对生猪生产恢复发展的思考 .....	聂赞彬, 高翔, 李秉龙, 乔娟 (1031)
生产者质量控制认知与行为分析——以肉羊养殖户为例 .....	樊慧丽, 付文阁 (1040)
水稻矮秆小粒突变体 <i>dsg1</i> 的表型鉴定及粒形基因精细定位 .....	吕召坤, 玉一岚, 李兰英, 张德春 (1051)
基于 RUSLE、InVEST 和 USPED 的土壤侵蚀量估算对比研究——以陕北延河流域为例 .....	翟睿洁, 赵文武, 贾立志 (1059)
农业水贫困对农户灌溉技术采用效果的影响——以宝鸡峡灌区为例 .....	张华, 王礼力 (1069)
《农业现代化研究》2020 年 (第 41 卷) 总目次 .....	(1078)

引用格式:

吕召坤, 玉一岚, 李兰英, 张德春. 水稻矮秆小粒突变体 *dsg1* 的表型鉴定及基因精细定位 [J]. 农业现代化研究, 2020, 41(6): 1051-1058.

Lü Z K, Yu Y L, Li L Y, Zhang D C. Phenotypic characterization and identification of the grain shape gene rice responsible for the dwarf and small grain mutant *dsg1*[J]. Research of Agricultural Modernization, 2020, 41(6): 1051-1058.

DOI: 10.13872/j.1000-0275.2020.0097



## 水稻矮秆小粒突变体 *dsg1* 的表型鉴定及粒形基因精细定位

吕召坤<sup>1,2</sup>, 玉一岚<sup>1,2</sup>, 李兰英<sup>1</sup>, 张德春<sup>3\*</sup>

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 湖南 长沙 410125; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 三峡大学生物技术研究中心, 湖北 宜昌 443002)

**摘要:** 粒形是评价水稻产量和品质性状的重要指标之一, 其分子机制研究对水稻 (*Oryza sativa*) 遗传改良及品种培育有重要意义。利用 EMS 诱变粳稻品种 TB309 获得了一个矮秆小粒的突变体 *dwarf and short grain (dsg1)*。与野生型相比, 突变体 *dsg1* 株高较野生型显著降低 20.35%, 其矮化表型由穗长和节间长度缩短所致。突变体的籽粒粒长、粒宽和粒厚分别减少 15.53%、10.45% 和 7.26%。将突变体 *dsg1* 与 9311 进行杂交, 获得 F<sub>2</sub> 群体进行表型考察和遗传分析, F<sub>2</sub> 代出现表型分离, 正常粒长与 *dsg1* 突变体的粒长比例符合 3:1, 说明该粒长突变基因是由隐性单基因控制。利用图位克隆的方法, 将突变基因定位于水稻第 4 染色体分子标记 ID2798 与 ID2803 之间 52.28 kb 的区间内, 并利用 Gramene 数据库对定位区间进行基因预测, 发现该区间存在 11 个基因, 这为该突变基因的克隆和功能分析奠定了基础。

**关键词:** 水稻; 粒形; EMS 突变体; 基因定位; *dsg1*

中图分类号: S188<sup>+</sup>.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-0275 (2020) 06-1051-08

### Phenotypic characterization and identification of the grain shape gene rice responsible for the dwarf and small grain mutant *dsg1*

Lü Zhao-kun<sup>1,2</sup>, YU Yi-lan<sup>1,2</sup>, LI Lan-ying<sup>1</sup>, ZHANG De-chun<sup>3\*</sup>

(1. Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha, Hunan 410125, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Biotechnology Research Center, Three Gorges University, Yichang, Hubei 443002, China)

**Abstract:** Grain shape is one of the important traits to evaluate rice yield and quality. Understanding the molecular mechanism is great important for genetic improvement of the rice variety (*Oryza sativa*). In this study, we used EMS to generate a population of M<sub>2</sub> seedling from a japonica rice variety 'TB309', and sieved a mutant performing *dwarf and small grain (dsg1)* compared with the wild type. Mature *dsg1* plants were shorter with fewer tillers. The spike length and internode distances were reduced, resulting in a 20.35% in plant height. The grain length of *dsg1* were 15.53% shorter, 7.26% wider and 10.45% thicker than of 'TB309' grains. The phenotypic variation of grain length in F<sub>2</sub> population derived from *dsg1* with '9311' performed a segregation ratio of 3:1, revealing that *dsg1* mutant phenotype is due to the recessive mutant of a single locus. Through the phenotypic performance of extremely recessive individuals, the candidate was directly narrowed to a 52.28 kb region between ID2798 and ID2803 on the long arm of chromosome 4. Based on the information from Gramene database, we identify total 11 genes in this region. Together, our presented results prove a potential foundation for further molecular function analysis of the responsible gene.

**Key words:** rice; grain length; dwarf; EMS mutant; gene mapping; *dsg1*

稻米的产量和品质对于确保国民粮食安全和促进农业可持续发展具有重要意义。水稻 (*Oryza sativa*) 是世界主要粮食作物之一, 全世界有接近一

半的人口以稻米为主食。虽然水稻半矮秆基因的发掘和应用以及杂种优势的利用使得水稻产量取得了巨大的飞跃<sup>[1]</sup>, 然而, 面对世界人口的持续增长 (预

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31371603)。

作者简介: 吕召坤 (1994—), 男, 山东聊城人, 硕士研究生, 主要从事分子生物学研究, E-mail: 2062721757@qq.com; 通信作者: 张德春 (1969—), 男, 湖北天门人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事植物分子生物学研究; E-mail: zhangdc227@163.com。

收稿日期: 2020-05-27, 接受日期: 2020-11-11

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (31371603).

**Corresponding author:** ZHANG De-chun, E-mail: zhangdc227@163.com.

**Received** 27 May, 2020; **Accepted** 11 November, 2020

计 2050 年将达到 90 亿)<sup>[2]</sup>，水稻育种家和植物遗传学家需要进一步提高水稻的产量。

水稻产量是一种多性状共同决定的复杂农艺性状，主要受有效穗数、每穗粒数和千粒重三因素制约<sup>[3]</sup>。有效穗数在很大程度上取决于单株分枝数、分蘖角度和株高；每穗粒数主要取决于穗部结构，如穗长、每穗分枝数、籽粒密度和育性；而千粒重直接受到籽粒的形状和大小的影响<sup>[4]</sup>。此外，粒形也是评价稻米品质的重要指标之一，印度、越南和美国偏爱细长型稻米，而中国东北、韩国和日本更喜欢短圆型稻米<sup>[5]</sup>。因此，剖析稻米粒形的遗传基础对水稻产量和品质具有重要意义。

粒形可以划分为粒长、粒宽、粒厚三个不同的影响因子，且三者都是由多基因控制的数量性状<sup>[6]</sup>。揭示水稻粒长、粒宽和粒厚的分子遗传机理，对于全面解析控制粒形性状的分子调控网络和挖掘可利用的优异育种基因资源具有重要意义。因此，寻找并克隆控制相应性状的数量性状位点 (Quantitative trait loci, QTL) 及剖析相关信号转导网络是研究粒形的重要途径。目前，在水稻 12 条染色体上检测到与粒形相关的 QTL 已经超过 600 个，其中 93 个已被成功克隆并进行了功能分析<sup>[7-8]</sup>。它们通过不同的信号途径调控水稻粒形的发育，主要包括泛素—蛋白酶体途径、G 蛋白信号途径、转录调控途径、MAPK 信号途径以及植物激素调控途径。GW2 和 GW5 通过泛素—蛋白酶体途径调控水稻籽粒大小。GW2 编码一个 E3 泛素连接酶，通过降解促进细胞分裂的蛋白酶负调控水稻颖壳大小，进而影响籽粒大小<sup>[9]</sup>。GW5 编码的蛋白质与多聚泛素有相互作用，通过泛素—蛋白酶体途径调控籽粒颖壳的细胞分裂数目对籽粒大小进行调控<sup>[10-11]</sup>。GS3 和 DEP1 通过 G 蛋白信号途径参与稻米粒形的调控。GS3 编码一个由 5 个外显子组成的 G $\gamma$  亚基，它的功能缺失会导致籽粒明显变小；而 DEP1 是一种功能获得性突变基因，功能获得性突变 *depl* 能够促进细胞分裂，并使穗粒数增加，促进水稻增产<sup>[12-14]</sup>。GLW7、GW8、LGY3 等在转录调控因子途径中参与水稻粒形的调控，GW8 和 GLW7 的编码蛋白都是调控粒形的正向调控因子，其高表达水平能够促进颖壳细胞分裂，导致籽粒变大，LGY3 编码的转录因子在第 7 内含子和第 8 外显子的连接区发生突变，产生一个新的可变剪切位点，导致籽粒变长<sup>[15-17]</sup>。SMG1 编码一个丝裂原活化蛋白激酶 MAPK4，通过 MAPK 信号途径调控籽粒形状；而 GS2/GL2 参与了植物激素油菜素内酯调控途径<sup>[18-21]</sup>。虽然这些

基因部分解析了调控稻米粒形的分子机理，但这对于了解水稻粒形遗传网络还远远不够。因此，发现新的调控粒形的 QTL 位点及其调控机制更有利于全面阐述整个遗传网络，为今后水稻产量和稻米品质的提高提供遗传基础。

在本研究中，矮秆小粒突变体 *dsgl* (*dwarf and short grain*) 是由 TB309 经甲基磺酸乙酯 (thymethylsulfone, EMS, 体积比为 0.8%) 溶液诱变后筛选得到的。通过对 *dsgl* 进行表型和农艺性状考察，发现粒宽、粒厚和千粒重显著降低，并且穗长和地上部节间距也显著缩短。对候选基因进行精细定位，将突变基因 *dsgl* 定位于水稻第 4 号染色体，位于分子标记 ID2798 与 ID2803 之间的 52.28 kb 区间内，并利用 Gramene 数据库在该定位区间找到 11 个候选基因，为 *dsgl* 基因的克隆和功能研究奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

*dsgl* 突变体由 TB309 经 EMS 诱变获得，经连续多年自交已稳定遗传。*dsgl* 与 9311 杂交后构建 F<sub>2</sub> 分离群体进行基因定位。

### 1.2 试验方法

1.2.1 主要农艺性状考察 将实验材料 TB309、突变体 *dsgl*、9311 和 F<sub>2</sub> 群体种植于湖南宁乡关山和海南三亚水稻田，单株种植，行距为 26 cm，株距为 16 cm，大田常规管理。在水稻成熟期进行株高测量，分别测 100 株；并测定茎秆的节间长度，测 10 个重复。种子成熟后，单株收取各家系植株，用恒温干燥箱 60 °C 烘烤直至籽粒重量恒重为止。利用游标卡尺对实验材料 TB309、突变体 *dsgl*、9311 和 F<sub>2</sub> 群体的成熟种子进行粒长、粒宽和粒厚等指标的测定，每个性状测 10 个重复。将 TB309 和 *dsgl* 植株的整个穗子取回，测量其穗长、千粒重、结实率等性状，每个性状测 10 个重复<sup>[22]</sup>。

1.2.2 遗传分析 以籼稻 9311 和突变体 *dsgl* 为亲本，经过杂交后自交得到由 68 个单株组成的 F<sub>2</sub> 群体，对 F<sub>2</sub> 群体的粒形分离情况进行统计分析，并进行卡方测验。

1.2.3 基因定位 根据实验室已有的存在于水稻 12 条染色体上的 Indel 引物，筛选在 *dsgl* 和 9311 两亲本间存在多态性的引物。从 *dsgl*/9311 的 F<sub>2</sub> 分离群体挑选 10 株极端矮化小粒的单株和 10 株极端长粒表型的单株，采用极端个体法进行连锁分析。利用均匀分布于 12 条染色体的 171 对有多态性的分子标记扩增极端个体的 DNA，用 3% 的琼脂凝

胶进行检测，并做好数据记录<sup>[23]</sup>。使用作图软件MAPMAKER(EXP3.0b)构建突变基因所在范围的分子标记连锁图谱，将突变基因定位在一条染色体上的两个标记之间，完成初定位。初定位后，扩大F<sub>2</sub>群体，同时使用16个具有多态性的标记进行候选基因的精细定位，并绘制突变基因所在位置的遗传图谱。精细定位所用引物序列见表1。

1.2.4 BR 激素敏感性实验 将去壳的饱满水稻种子经75%乙醇和5%次氯酸钠消毒处理后，在无菌条件下分别播种至含有油菜素内酯(EpiBL)和不含EpiBL的1/2 MS固体培养基，生长8 d后，观察根生长情况，记录数据<sup>[24]</sup>。

1.2.5 数据分析 所有数据的平均值计算、显著性差异分析、卡平方测验均用Microsoft Excel软件进行。根据 $\chi^2$ 的数值和自由度得到概率值，以 $P=0.05$ 为适合性测验符合的下限。

## 2 结果与分析

### 2.1 突变体 *dsg1* 的表型分析

在自然生长条件下，对 *dsg1* 与 TB309 进行表型考察。利用 *t* 测验对表型数据进行分析，分析结果显示：与野生型相比，突变体 *dsg1* 表现出明显的矮秆表型（表2，图1a），其株高约为TB309的79.00%，倒一节、倒二节、倒三节和穗长的长度显著低于TB309（表2，图1b、图1d）。与TB309相比，*dsg1* 的籽粒出现明显的小粒表型，粒长、粒宽、粒厚分别减小15.53%、7.26%和10.45%，千粒重降低了34.14%（表2，图1c）。另外，与野生型相比，*dsg1* 分蘖数也显著减少，单株总产量显著降低。

### 2.2 油菜素内酯激素敏感性分析

由于突变体不仅在粒形性状上发生改变，在植株高度、分蘖数目、节间长度和稻穗长度等方面

表1 本研究使用的引物  
Table 1 The primers used for this study

引物名称	正向引物	反向引物
ID2610	CACGGCCTAAGTTGGTACTT	CTAGCATAGCGTTTTGTCTC
ID2774	GGGGATGCAGACAATTGTCT	GTCCAACCTCCGTCCACTAAT
ID2798	CCCCTCTCCAGAACTTTGCT	GTCTTCCTTACGTCACACC
ID2803	CCACCACCCAGATTATCCAT	GCACCGGAAATACAGTACGT
ID2820	CGTGTGTTGAGCCGGTTTTT	GAGTCCGACTTTCATTACAAG
ID2823	CCGGCAGATTCAGTAGCAAT	CGTGCAAGAACAACGAGAAG
ID2827	GGCTGGCAAACAGATCGTTT	GGAAGGGAGTAAGTACAACG
ID2833	GTGCTCCACCAAATCCTTTTT	GTGTGCTAGTGAATGACATC
ID2841	GGCACGGTAACCTAATGATC	CAAGCGAGGCGCTATCTTC
ID2861	CGAGATTTGGATGGCTCTTG	GAATAGGAAAAGAACCAAAAACG
ID2885	CCAAAGGTGGTGTGTTTCGAA	CCGATCCATACGATGATGCT
ID2948	GGGTCCTCTAATTTTTCTGTTT	CTCACATAACCAGCCATGTG
ID2975	CTCCATTGTTTCAGCATCTTC	CAGGGCAAATAATTTTTGTCC
ID2981	GACAAAACGATTCTGAGGTCC	CTAGCTATCGACCAAGCGTT
ID3000	GATCCCCCGGAGAAAAAAG	CCCAGGACACTGTATTGT
ID3004	GGGCCCTAATTAGAGGATTC	GGGGCCCTTTAAATCATAAATC

表2 野生型 TB309 与突变体 *dsg1* 的表型鉴定  
Table 2 Comparison of agronomic trait of the wild type TB309 and the *dsg1* plants

表型	TB309	<i>dsg1</i>	P 值
株高 (cm)	113.00±1.60	90.00±5.03	3.23×10 <sup>-5</sup>
穗长 (cm)	26.43±1.34	19.96±1.26	1.09×10 <sup>-13</sup>
倒一节长度 (cm)	53.10±2.29	39.53±3.43	1.87×10 <sup>-13</sup>
倒二节长度 (cm)	17.99±0.96	15.25±1.10	3.18×10 <sup>-8</sup>
倒三节长度 (cm)	10.32±1.50	8.20±1.29	7.80×10 <sup>-4</sup>
分蘖数目	8.80±2.14	6.33±1.70	4.80×10 <sup>-2</sup>
千粒重 (g)	22.58±0.65	14.87±0.52	1.17×10 <sup>-24</sup>
粒长 (mm)	7.20±0.12	6.09±0.12	1.31×10 <sup>-22</sup>
粒宽 (mm)	3.44±0.08	3.19±0.05	3.18×10 <sup>-10</sup>
粒厚 (mm)	2.20±0.06	1.97±0.05	1.07×10 <sup>-22</sup>

注：“±”表示标准差。



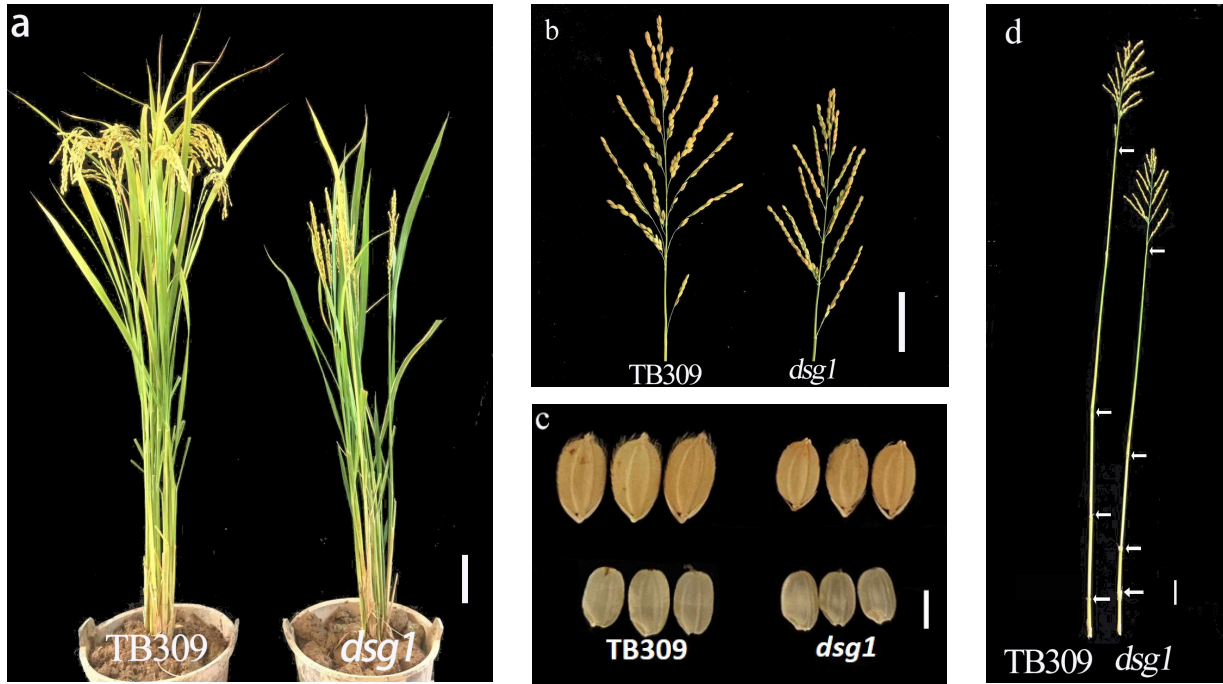


图 1 野生型 TB309 与突变体 *dsG1* 的表型鉴定

Fig. 1 Phenotypic identification of the wild type TB309 and the *dsG1* mutant

注：图 a 为株高，图 b 为穗长，图 c 为籽粒，图 d 为节间长；图 a、b、c 和 d 的标尺长度分别为 9 cm、4 cm、3 mm 和 3 cm。

也表现出显著性变化，这与先前报道的油菜素内酯的合成或代谢缺陷表型相似<sup>[25-26]</sup>，因此，我们猜测 *dsG1* 突变体可能与 BR 激素有关。为了验证这个猜测，我们对野生型 TB309 和突变体 *dsG1* 进行了 BR 激素响应的敏感性实验。我们通过外施 EpiBL 的方式检测 *DSG1* 是否参与 BR 响应。在施加 EpiBL 培养后，野生型 TB309 的主根长度明显缩短，说明外源施加 EpiBL 抑制了根部的伸长；然而突变体 *dsG1* 的主根长度并没有显著性变化（图 2a, 图 2b）。由此表明，*dsG1* 并不是一个 BR 合成缺陷突变体，而有可能是 BR 信号转导过程中出现缺陷导致了突变。

### 2.3 遗传分析

为了克隆该突变体的基因，把粒长作为目标性状对 *DSG1* 进行遗传效应分析和精细定位研究。我们将 *dsG1* 与 9311 进行杂交，得到  $F_1$  代植株，其表型与 9311 表型相似。将  $F_1$  代自交获得  $F_2$  群体，在  $F_2$  群体中出现 9311 粒长表型和突变体小粒表型分离，说明该突变表型是由隐性基因控制的。统计  $F_2$  群体中粒长表型的单株数量，发现粒长表型频率呈现双峰分布（图 3），表明存在主效 QTL。在  $F_2$  群体中，长粒和短粒表型数目分别为 42 和 26。对粒长表型进行  $\chi^2$  测验，两种表型在  $F_2$  群体中的分离

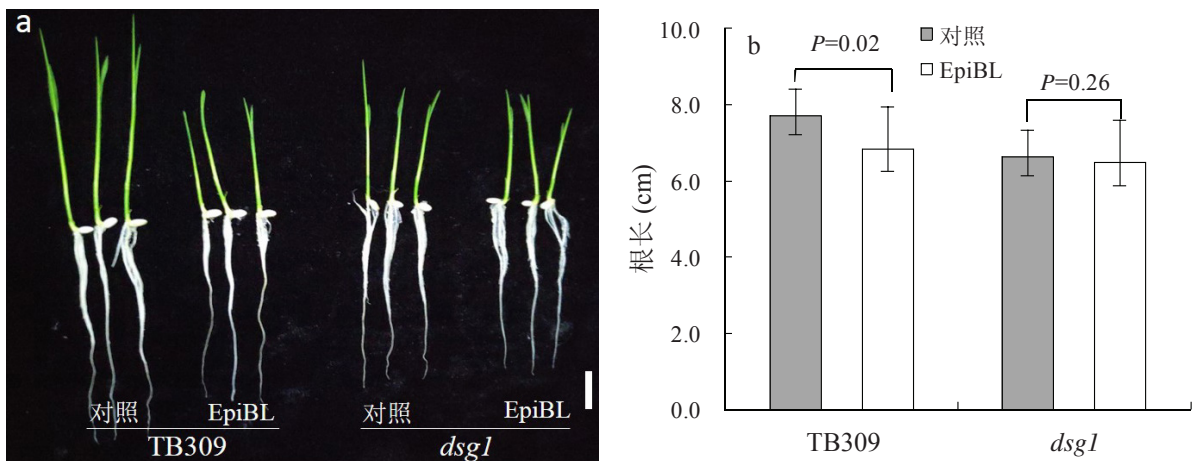


图 2 突变体 *dsG1* 对 BR 响应敏感性

Fig. 2 Mutant *dsG1* as a BR-insensitive mutant

注：图 a 标尺长度为 1.5 cm

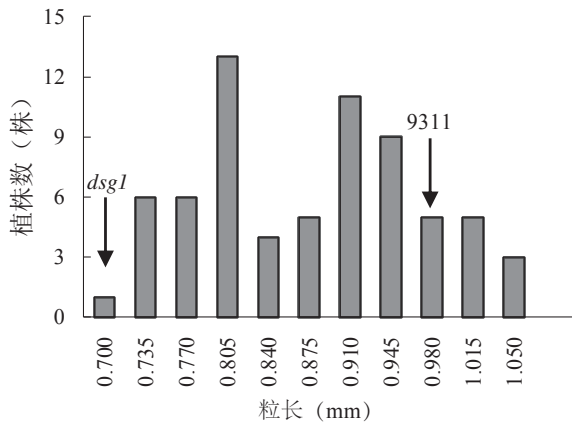


图 3 F<sub>2</sub> 群体粒长性状频率分布  
Fig. 3 Frequency distribution of grain length in a F<sub>2</sub> population

比符合 3 : 1 ( $\chi^2=0.16$ ,  $\chi^2_{0.05}=3.84$ ,  $df=1$ ), 符合孟德尔遗传规律, 表明该 *dsg1* 的粒长性状受单基因控制。

### 2.4 基因定位

将 *dsg1* 与 9311 进行杂交, 在 F<sub>2</sub> 分离群体中分别选取 10 株极端小粒表型单株和极端长粒表型的单株, 利用均匀分布于 12 条染色体的 Indel 分子标记进行连锁分析, 将 *DSG1* 基因初定位于第 4 染色体标记 ID2610 和 ID3004 之间。为了进一步对候选 QTL 进行精细定位, 在初定位区间内设计 14 对新的多态性分子标记, 利用交换单株缩小定位区间, 最终将突变基因定位在分子标记 ID2798 与 ID2803 的区间内, 物理距离约为 52.28 kb, 其间包含 11 个候选基因 (图 4)。

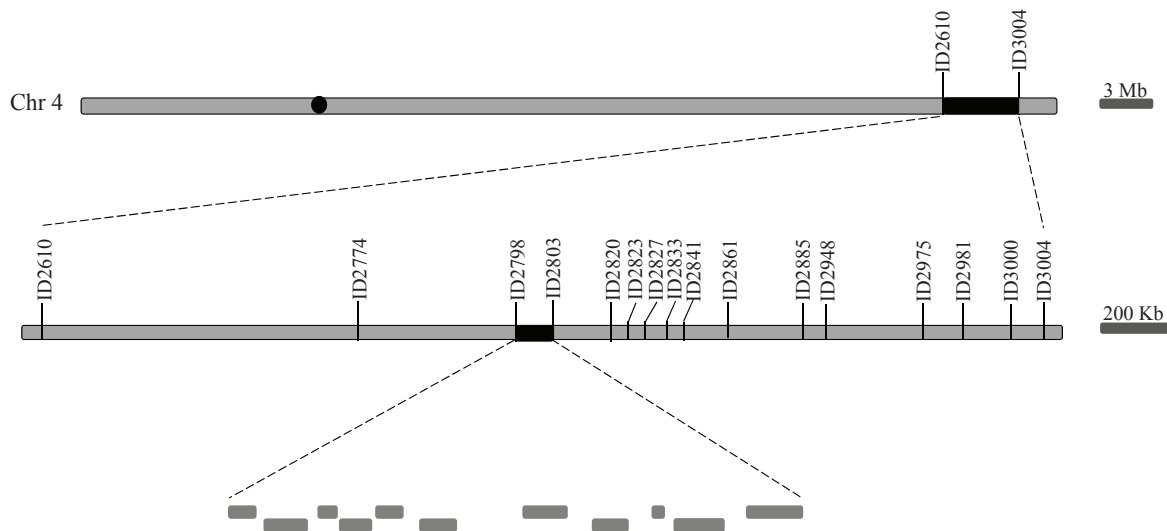


图 4 水稻突变体 *dsg1* 的基因定位  
Fig. 4 Fine mapping of rice mutant *dsg1* gene

### 2.5 候选基因的预测及分析

根据水稻基因组数据库 (<http://rice.plantbiology.msu.edu>) 提供的基因注释信息, 在 52.28 kb 候选区间内存在 11 个注释基因 (表 3)。其中 3 个编码表达蛋白, 2 个功能未知蛋白, 其余分别编码转座蛋白、逆转录转座子蛋白、跨膜蛋白、含有 DUF630/DUF632 域的蛋白、含有激酶结构域的蛋白和生长调控相关蛋白。通过 Gramene 网站进行生物信息学分析后发现, 该区间内存在 3 个可能与水稻株高、穗型和粒性发育相关的基因。LOC\_Os04g47480 预测结果显示, 其编码蛋白可能含有 DUF630/DUF632 结构域。未知功能结构域蛋白家族 (domains of unknown function protein families, DUFs) 是一类进化保守且有功能的蛋白家族, 其不同成员参与不同的生长发育过程及胁迫响应<sup>[27]</sup>。含有 DUF630/DUF632 结构域的蛋白参与了叶片形态建成, 进

表 3 定位区间内的候选基因注释

Table 3 Annotation of *DSG1* candidate genes in the location interval

基因命名	基因注释	预测长度 (bp)
LOC_Os04g47470	表达蛋白	174
LOC_Os04g47480	DUF630/DUF632 结构域	2 322
LOC_Os04g47490	表达蛋白	306
LOC_Os04g47500	Pong 亚族转运蛋白	1 263
LOC_Os04g47510	表达蛋白	357
LOC_Os04g47520	生长调控相关蛋白	1 713
LOC_Os04g47530	跨膜蛋白	1 119
LOC_Os04g47550	表达蛋白	672
LOC_Os04g47555	表达蛋白	870
LOC_Os04g47560	反转录转座子	4 911
LOC_Os04g47570	蛋白激酶结构域	1 518

而导致了稻米籽粒大小的变化。LOC\_Os04g47570 的表达蛋白含有激酶结构域, 其同源基因 LOC\_Os03g40400 的表达产物参与了 GS3 和 qGL3 调控

稻米籽粒大小的信号转导过程, 其表达水平上调了 1.5 倍, 该基因的表达可能会影响稻米籽粒的大小<sup>[28]</sup>。LOC\_Os04g47510 在水稻中有一个同源基因 LOC\_Os07g27670, 该基因的编码蛋白是 WRKY 家族中的一员。WRKY 家族蛋白是一种转录因子, 广泛参与并调控植物生长发育、形态建成和各种生物或非生物胁迫反应<sup>[29]</sup>。WRKY 蛋白能够与生长素 (IAA)、赤霉素 (GA)、脱落酸 (ABA) 以及油菜素内酯 (BR) 等多种植物激素相互作用调控植物生长发育<sup>[30-31]</sup>。在拟南芥中, WRKY46、WRKY54 和 WRKY70 能促进与 BR 相关的生长基因表达并抑制抗旱基因的表达, 调节拟南芥生长<sup>[32]</sup>。在苹果中, 转录因子 MdWRKY9 直接抑制油菜素类固醇限制合成酶 MdDWF4 的转录, 减少 BR 产生, 调控植株高度<sup>[33]</sup>。在水稻中, OsWRKY53 能够正向调控 BR 信号进而调控水稻叶片角度及籽粒大小, 其过表达植株的叶角增加, 稻米籽粒变大; 而 OsWRKY78 的 RNAi 植株可能由于细胞长度的缩减而表现出半矮化和小籽粒的表型<sup>[34-35]</sup>。因此, 这 3 个基因都有可能是 *DSGI* 的候选基因。

### 3 讨论

水稻粒形是重要的农艺性状之一, 对水稻的产量和品质起到重要作用, 是多基因、多途径调控的复杂遗传性状, 也是分子设计育种的主要性状之一<sup>[36]</sup>。分子设计育种是在解析作物重要农艺性状遗传机理的基础上, 通过品种设计对复杂性状进行定向改良, 达到聚合优异性状的目标, 实现作物复杂性状的精准改良<sup>[37]</sup>。实现精准设计育种的难点在于调控目标性状的遗传网络非常复杂, 所以, 分子设计育种的前提和要求是对目标性状的分子机理和遗传基础有较为深刻的理解。虽然在水稻中已克隆 93 个与粒型相关的 QTL, 然而, 可应用于分子设计育种的控制稻米籽粒的基因非常有限。利用 *Ghd7* 不同等位基因之间地理分布不同的特点, *Ghd7* 在不同生态区的水稻生育期改良中得到了高效利用, 获得了生育期改良的新品系<sup>[38]</sup>。Wang 等将 *GW8* 和 *GW7* 导入我国高产水稻品种, 在不减产的基础上提升稻米品质<sup>[39]</sup>。还有研究表明, 将 *GS3*、*DPE1*、*qSW5*、*SD1*、*Ghd7*、*Ghd8* 和 *Wx* 等基因聚合获得的改良品种与超级杂交稻“两优培九”相比, 该新品种表现出更高的产量潜力和更好的籽粒品质<sup>[40]</sup>。所以, 随着分子设计育种构想的发展, 需要挖掘更多的粒形相关基因。在本研究中, 我们利用 EMS 诱变粳稻品种 TB309, 筛选得到遗传性状稳定的矮秆

小粒突变体 *dsg1*, 并将其定位于第 4 染色体分子标记 ID2798 与 ID2803 之间 52.28 kb 的区间内, 以期克隆到相关基因, 以便应用于分子设计育种。

此外, 我们发现 *dsg1* 突变体不仅粒形性状发生显著性变化, 而且株高、穗长、分蘖数目和节间长度等其他农艺性状也呈现显著性减小, 说明该基因能够控制多种不同的表型, 这可能与“一因多效”有关。一因多效是自然界中广泛存在的现象, 其概念最早是由孟德尔所提出的, 用来描述一个单独的基因或位点影响两个或两个以上不同性状的现象<sup>[41]</sup>。例如, *GS3* 编码的  $G\gamma$  亚基, 可通过 G 蛋白信号途径调控稻米粒长和粒重, 同时对粒宽和粒厚也具有微效作用<sup>[15]</sup>; *DPE1* 不仅能够调控粒长和千粒重, 还对穗长、每穗实粒数、耐旱性等其他性状有影响<sup>[42]</sup>; *WTG1* 同时控制每穗粒数和分蘖数目 2 种不同的性状<sup>[43-44]</sup>; *Ghd7* 同时调控水稻抽穗期、每穗粒数和株高 3 种性状, 猜测可能是抽穗期延迟增加了穗部和秸秆等器官的发育进程从而使产量增加和植株变高<sup>[39]</sup>。同样, *DSGI* 可能能够影响不同的生化代谢途径, 形成复杂的调控网络, 进而影响多种农艺性状。本研究完成了对该基因的精细定位, 并通过基因注释信息分析和激素敏感性实验得到 3 个可能是 *DSGI* 的候选基因, 为进一步克隆该基因并剖析其分子机制奠定了基础, 同时对于利用分子设计育种的方法改善稻米产量和品质也具有重要意义。

### 4 结论

1) 本研究利用 EMS 技术诱变粳稻品种 TB309 获得了一个矮秆小粒的突变体 *dwarf and short grain* (*dsg1*)。与野生型相比, 突变体 *dsg1* 的株高、粒长、粒宽、粒厚和千粒重显著降低, 并且突变体的穗长和节间距也显著缩短。

2) 通过植物激素敏感性实验证实 *dsg1* 有可能是 BR 信号转导过程中出现缺陷导致了突变, 而不是 BR 合成缺陷突变体。在施加 EpiBL 培养后, 野生型 TB309 的主根长度明显缩短, 但是突变体 *dsg1* 的主根长度并没有显著性变化。

3) 对突变体 *dsg1* 与 9311 杂交获得的  $F_2$  群体进行表型考察和遗传分析,  $F_2$  代出现表型分离, 且符合孟德尔遗传规律, 说明该粒长突变基因是由隐性单基因控制。

4) 通过精细定位, 将突变基因定位于水稻第 4 染色体分子标记 ID2798 与 ID2803 之间 52.28 kb 的区间内, 并利用 Gramene 数据库对定位区间进行基



因预测, 发现该区间存在 11 个基因, 这为该突变基因的克隆和功能分析奠定了基础。

参考文献:

- [1] Zeigler R S, Barclay A. The relevance of rice[J]. *Rice*, 2008, 1(1): 3-10.
- [2] Godfray H C J, Beddington J R, Crute I R, et al. Food security: The challenge of feeding 9 billion people[J]. *Science*, 2010, 327(5967): 812-818.
- [3] Song X J, Ashikari M. Toward an optimum return from crop plants[J]. *Rice*, 2008, 1(2): 135-143.
- [4] Xing Y, Zhang Q. Genetic and molecular bases of rice yield[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 421-442.
- [5] Golam F, Prodhan Z H. Kernel elongation in rice[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(3): 449-456.
- [6] Huang R Y, Jiang L R, Zheng J S, et al. Genetic bases of rice grain shape: So many genes, so little known[J]. *Trends in Plant Science*, 2013, 18(4): 218-226.
- [7] 杨维丰, 詹鹏麟, 林少俊, 等. 水稻粒形的遗传研究进展 [J]. *华南农业大学学报*, 2019, 40(5): 203-210.  
Yang W F, Zhan P L, Lin S J, et al. Research progress of grain shape genetics in rice[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2019, 40(5): 203-210.
- [8] 尉鑫, 曾智锋, 杨维丰, 等. 水稻粒形遗传调控研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2019, 47(5): 21-28.  
Wei X, Zeng Z F, Yang W F, et al. Advances in studies on genetic regulation of rice grain shape[J]. *Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 47(5): 21-28.
- [9] Song X J, Huang W, Shi M, et al. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase[J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(5): 623-630.
- [10] Weng J F, Gu S H, Wan X Y, et al. Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight[J]. *Cell Research*, 2008, 18(12): 1199-1209.
- [11] Shomura A, Izawa T, Ebana K, et al. Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(8): 1023-1028.
- [12] Fan C C, Xing Y Z, Mao H L, et al. *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112(6): 1164-1171.
- [13] Mao H L, Sun S Y, Yao J L, et al. Linking differential domain functions of the *GS3* protein to natural variation of grain size in rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(45): 19579-19584.
- [14] Sun S Y, Wang L, Mao H L, et al. A G-protein pathway determines grain size in rice[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 851.
- [15] Si L, Chen J, Huang X, et al. *OsSPL13* controls grain size in cultivated rice[J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(4): 447-456.
- [16] Wang S, Wu K, Yuan Q, et al. Control of grain size, shape and quality by *OsSPL16* in rice[J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(8): 950-954.
- [17] Liu Q, Han R X, Wu K, et al. G-protein  $\beta\gamma$  subunits determine grain size through interaction with MADS-domain transcription factors in rice[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 1164-1171.
- [18] Duan P G, Rao Y C, Zeng D L, et al. *SMALL GRAIN 1*, which encodes a mitogen-activated protein kinase kinase 4, influences grain size in rice[J]. *The Plant Journal*, 2014, 77(4): 547-557.
- [19] Che R H, Tong H N, Shi B H, et al. Control of grain size and rice yield by *GL2*-mediated brassinosteroid responses[J]. *Nature Plants*, 2015, 2(1): 1917-1919.
- [20] Hu J, Wang Y X, Fang Y X, et al. A rare allele of *GS2* enhances grain size and grain yield in rice[J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(10): 1455-1465.
- [21] Duan P G, Ni S, Wang J M, et al. Regulation of *OsGRF4* by *OsmiR396* controls grain size and yield in rice[J]. *Nature Plants*, 2015, 2(1): 541-544.
- [22] 姚文元, 禹黎, 陈大洲, 等. 东乡野生稻的粒形相关 QTL 分析 [J]. *杂交水稻*, 2014, 29(6): 50-55.  
Yao W Y, Yu L, Chen D Z, et al. QTL analysis for grain shape traits of Dongxiang wild rice[J]. *Hybrid Rice*, 2014, 29(6): 50-55.
- [23] Li L Y, Mao D H. Deployment of cold tolerance loci from *Oryza sativa* ssp. *Japonica* cv. 'Nipponbare' in a high-yielding *Indica* rice cultivar '93-11' [J]. *Plant Breeding*, 2018, 137(4): 553-560.
- [24] Takeno K, Pharis R P. Brassinosteroid-induced bending of the leaf lamina of dwarf rice seedlings: An auxin-mediated phenomenon[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1982, 23(7): 1275-1281.
- [25] Tanaka A, Nakagawa H, Tomita C, et al. *BRASSINOSTEROID UPREGULATED1*, encoding a helix-loop-helix protein, is a novel gene involved in brassinosteroid signaling and controls bending of the lamina joint in rice[J]. *Plant Physiology*, 2009, 151(2): 669-680.
- [26] Xiao Y H, Zhang G X, Liu D P, et al. *GSK2* stabilizes *OF3* to suppress brassinosteroid responses in rice[J]. *The Plant Journal*, 2020, 102(6): 1187-1201.
- [27] 罗成科, 肖国举, 李明. 不同未知功能结构域蛋白家族 (DUFs) 基因在植物中的生物学功能 [J]. *植物生理学报*, 2015, 51(2): 153-158.  
Luo C K, Xiao G J, Li M. Biological functions of different domains of unknown function protein families(DUFs) genes in plants[J]. *Plant Physiology Journal*, 2015, 51(2): 153-158.
- [28] Gao X Y, Zhang X J, Lan H X, et al. The additive effects of *GS3* and *qGL3* on rice grain length regulation revealed by genetic and transcriptome comparisons[J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15:156.
- [29] Zeng D L, Tian Z H X, Rao Y C, et al. Rational design of high-yield and superior-quality rice[J]. *Nature Plants*, 2017, 3(4): 337-342.
- [30] Rushton P J, Somssich I E, Ringler P, et al. *WRKY* transcription factors[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(5): 247-258.
- [31] 赵楠楠, 刘立峰. 植物 *WRKY* 转录因子及其生物学功能 [J]. *分子植物育种*, 2019, 17(21): 7040-7046.  
Zhao N N, Liu L F. *WRKY* transcription factors and their biological functions in plants[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(21): 7040-7046.
- [32] Chen J N, Nolan T M, Ye H X, et al. *Arabidopsis* *WRKY46*, *WRKY54*, and *WRKY70* transcription factors are involved in brassinosteroid-regulated plant growth and drought responses[J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(6): 1425-1439.



- [33] Zheng X D, Zhao Y, Shan D Q, et al. *MdWRKY9* overexpression confers intensive dwarfing in the M26 rootstock of apple by directly inhibiting brassinosteroid synthetase *MdDWF4* expression[J]. *New Phytologist*, 2018, 217(3): 1086-1098.
- [34] Tian X J, Li X F, Zhou W J, et al. Transcription factor OsWRKY53 positively regulates brassinosteroid signaling and plant architecture[J]. *Plant Physiology*, 2017, 175(3): 1337-1349.
- [35] Chen F, Hu Y, Vannozzi A, et al. The WRKY transcription factor family in model plants and crops[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2017, 36(5/6): 311-335.
- [36] 周梦玉, 宋昕蔚, 徐静, 等. 籼稻 C84 和粳稻春江 16B 重组自交系遗传图谱构建及籽粒性状 QTL 定位与验证 [J]. *中国水稻科学*, 2018, 32(3): 207-218.  
Zhou M Y, Song X W, Xu J, et al. Construction of genetic map and mapping and verification of grain traits QTLs using recombinant inbred lines derived from a cross between *indica* C84 and *japonica* CJ16B[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2018, 32(3): 207-218.
- [37] 郭韬, 余泓, 邱杰, 等. 中国水稻遗传学研究进展与分子设计育种 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(10): 1185-1212.  
Guo T, Yu H, Qiu J, et al. Advances in rice genetics and breeding by molecular design in China[J]. *Scientia Sinica (Vitae)*, 2019, 49(10): 1185-1212.
- [38] Guo T, Yu H, Qiu J, et al. Advances in rice genetics and breeding by molecular design in China[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2019, 49: 1185-1212.
- [39] Xue W, Xing Y, Weng X, et al. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(6): 761-767.
- [40] Wang S K, Li S, Liu Q, et al. The *OsSPL16-GW7* regulatory module determines grain shape and simultaneously improves rice yield and grain quality[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(8): 949-954.
- [41] Stearns F W. One hundred years of pleiotropy: A retrospective[J]. *Genetics*, 2010, 186(3): 767-773.
- [42] Huang X Z, Qian Q, Liu Z B, et al. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice[J]. *Nature Genetics*, 2009, 41(4): 494-497.
- [43] Huang K, Wang D K, Duan P G, et al. *WIDE AND THICK GRAIN 1*, which encodes an otubain-like protease with deubiquitination activity, influences grain size and shape in rice[J]. *The Plant Journal*, 2017, 91(5): 849-860.
- [44] Wang S S, Wu K, Qian Q, et al. Non-canonical regulation of SPL transcription factors by a human OTUB1-like deubiquitinase defines a new plant type rice associated with higher grain yield[J]. *Cell Research*, 2017, 27(9): 1142-1156.

(责任编辑: 王育花)

# RESEARCH OF AGRICULTURAL MODERNIZATION ( Bimonthly )

Vol. 41, No. 6 ( Sum. No. 241 )

Nov., 2020

## CONTENTS

- Research on the indicator system design for rural digital economy from the perspective of digital village construction  
..... CUI Kai, FENG Xian ( 899 )
- Industrial development to increase rural income under the strategy of rural revitalization: International experiences and China's practices  
..... WANG Guo-feng, DENG Xiang-zheng ( 910 )
- Optimizing the rural revitalization path: The important direction of rural development in China and western countries  
..... CHANG Ting, WU Sheng-qin ( 919 )
- The spatio-temporal evolution of China's grain production and demand balance: From the perspectives of grain use and provincial level  
..... MENG Zhao-di, LI Guo-xiang ( 928 )
- Development mode selection and optimization of the new agricultural business operations: An economic analysis from the perspectives  
of grain security and labor absorption ..... QIAN Yu-hao, WU Shun-chen ( 937 )
- The impacts of crop insurance on rural household income: An empirical analysis based on a survey data of three types of rural households  
..... HAN Xu-dong, LIU Shuang, WANG Ruo-nan, ZHENG Feng-tian ( 946 )
- Risk perception, insurance cognition and breeders' willingness to purchase broiler insurance: Empirical analysis based on major broiler  
production areas ..... WANG Yue, HE Jun ( 957 )
- Income effects and the heterogeneity of forest property right mortgage ..... MA Cheng, GAO Jian-zhong, YAO Chang-yan ( 969 )
- The influences of socialized services and farmland contracting right confirmation on the efficiency of agricultural production  
..... LIAO Wen-mei, YUAN Ruo-lan, WANG Lu, GAO Xue-ping ( 978 )
- Farmland transfer and reallocation and the technical efficiency of wheat production: An empirical research based on the stochastic frontier  
production function and the Tobit model ..... GU Dong-dong, GUAN Fu-xin ( 988 )
- The paradox between farmers' willingness and their behaviors of straw-return-to-field practice from the perspective of family endowment  
and the analysis of the moderating effects of farmers' ecological cognition ..... ZHI Jian-gong, YAN Ting-wu, YANG Guo-lei ( 999 )
- Consumers' willingness to pay for different traceable food products and its influencing factors  
..... XU Fen, CHEN Hong-hua ( 1011 )
- The influencing mechanism of agricultural information resource allocation on agricultural e-commerce performance in eastern China  
..... JIA Cheng, XIA Chun-ping, CHEN Peng-yu ( 1020 )
- Farmers' production decision under the background of African swine flu: Thoughts on the recovery and development of hog production  
..... NIE Yun-bin, GAO Xiang, LI Bing-long, QIAO Juan ( 1031 )
- The analysis of quality control cognitions and behaviors of sheep farmers ..... FAN Hui-li, FU Wen-ge ( 1040 )
- Phenotypic characterization and identification of the grain shape gene rice responsible for the dwarf and small grain mutant *dsg1*  
..... Lü Zhao-kun, YU Yi-lan, LI Lan-ying, ZHANG De-chun ( 1051 )
- A comparative study of soil erosion estimation based on RUSLE, InVEST and USPED models: A case study of the Yanhe River Basin in  
Northern Shaanxi ..... ZHAI Rui-jie, ZHAO Wen-wu, JIA Li-zhi ( 1059 )
- The impact of agricultural water poverty on farmers' adoption of irrigation technology: A case study of Baojixia irrigation district  
..... ZHANG Hua, WANG Li-li ( 1069 )

**Editors in duty** TONG Cheng-li, WANG Yu-hua

## 《农业现代化研究》第五届编委会

顾 问：傅伯杰 印遇龙 邹学校 骆世明 吴金水

主 编：王克林

副主编：张林秀 史志华 刘黎明 王育花（常务）

编 委：柏连阳 曹林奎 曾希柏 陈利顶 邓 伟 葛体达

谷树忠 胡新艳 孔祥智 匡远配 李德军 刘世荣

刘彦随 刘 颖 梅旭荣 彭 建 谭支良 王 飞

王亚华 吴志峰 武拉平 夏显力 谢炳庚 谢永宏

辛 岭 徐志刚 颜晓元 杨林章 张兴义 章家恩

赵文武 周清波 朱教君 朱满德 宋宝辉 章春华

编辑部：童成立 王育花

农业现代化研究

NONGYE XIANDAIHUA YANJIU

(双月刊, 1980年创刊)

第41卷第6期(总第241期)2020年11月

RESEARCH OF AGRICULTURAL  
MODERNIZATION

(Bimonthly, started in 1980)

Vol. 41, No. 6 ( Sum. No. 241 ) Nov., 2020

主 管	中国科学院	Administrated by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院亚热带农业生态研究所	Sponsored by	Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences
出 版	科学出版社 (北京东黄城根北街16号, 邮编: 100717)	Published by	Science Press (16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China)
主 编	王克林	Chief Editor	WANG Ke-lin
编 辑	《农业现代化研究》编辑部 地址: 湖南长沙市芙蓉区远大二路644号 邮编: 410125 电话: 0731-84615231 E-mail: nyxdhbj@isa.ac.cn	Edited by	Editorial Department of Research of Agricultural Modernization
印刷装订	湖南省农业科学院印刷厂	Address	No. 644, Yuanda 2nd Road, Furong District, Changsha City, Hunan, China
国内总发行	中国邮政集团公司湖南省报刊发行局	Postal Code: 410125 Telephone: 0731-84615231	
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 地址: 北京399信箱 邮编: 100044	Distributed	China International Book Trading Corporation
订 购 处	全国各地邮政局(所)	Abroad by	(P. O. Box 399, Beijing 100044, China)

ISSN 1000-0275  
CN 43-1132/S

国内邮发代号 42—46  
国外发行代号 BM6665

国内外公开发行  
定价: 15.00 元