

水稻 *eui* 种质的遗传评价和育种利用

杨仁崔

(福建农林大学, 福州 350002)

[摘要] 发现水稻节间伸长的 *eui* 新基因及其高秆隐性种质的多型性, 育成长穗颈的雄性不育系, 组配成 *e* (*eui*) - 杂交稻, 并已进入生产应用。*e*-杂交稻研究和发展的目标是: 减少杂交稻种子生产中 50%~90% 的赤霉素用量, 并提高种子产量和质量; 杂交稻增产, 同时减少杂交稻种植的氮肥用量。已克隆分离出 *EUI1*, *EUI2* 基因, 并获得该突变基因碱基缺失多样性的材料, 将为植物生长发育, GA 代谢激素与杂种优势, 以及基因突变的分子机理和植物基因工程的研究提供材料和机遇。

[关键词] 水稻; *eui*; *e*-杂交稻; 遗传评价; 育种

[中图分类号] S334 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1009-1742(2005)08-0026-05

20 世纪 70 年代中期, 中国的杂交水稻研究成功为世界所瞩目。1981 年, J. N. Rutger 等发现一种最上节间伸长的高秆隐性种质, 他认为此种质可作为杂交稻的第四遗传因素, 用于选育高秆隐性恢复系^[1]。因此, 此类种质的发现、研究和利用为水稻遗传育种者所重视。文献 [2~8] 对此先后都有过研究报道。

笔者提出用 *eui* 种质选育长穗颈不育系, 以达到遗传解除或缓解雄性不育性引起的包穗缺陷, 之后又发现了互不等位并分别命名为 *eui1*, *eui2* 的两个基因^[9,10], 实现了对这 2 个基因的定位、克隆和分离^[11,12]; 与此同时, 应用此类种质研究与发展了 *e*-杂交稻育种技术体系, 育成的 *e*-杂交稻(封面图) 已开始进入生产应用^[13~15]。

1 水稻节间伸长高秆隐性的形态多型性与遗传多样性

1.1 水稻 *eui* 种质的形态多型性

水稻高秆性状一般是显性遗传。水稻高秆隐性

遗传种质在 Rutger 的发现之前, Okuno 和 Kawai 有过报道^[16,17]; 之后国内又见多次报道^[2~4,18]。这些种质的形态, 虽都表现高秆, 并隐性遗传, 但各节间伸长有别, 呈现表型的多样性, 可分为如表 1 所示的 5 种形态类型。

这些种质的发现多数来自诱变, 包括化学或物理诱变; 也有来自杂交, 特别是籼粳远缘杂交的分离世代; 也有来自体细胞突变。

1.2 *eui1* 及 *eui2* 基因的遗传多样性

有关遗传的报道认为大多数的节间伸长高秆隐性遗传表现单基因控制, 也认为有二对基因遗传模式存在^[18,19]。*eui1* 定位在第 5 染色体上^[12,20,21], *eui2* 定位在第 10 染色体上^[10,11,22]。

以协青早 eB2, eB1 为材料, 用借助基因组序列信息的图位克隆法, 朱宏波、马洪丽先后克隆分离出 *eui2*, *eui1* 突变的野生型基因 *eui2*, *Eui1*^[11,12]。两个候选基因在 Genebank 的登记号分别是 AY319965 和 AY324654。

EUI2 基因在基因组中的碱基序列为 1 576

[收稿日期] 2004-11-03

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30070470), 国家“九五”攻关课题资助项目(96-002-02-03B), 国家“八六三”计划资助项目(Z16-03-12)

[作者简介] 杨仁崔(1943-), 男, 福建晋江市人, 福建农林大学研究员, 博士生导师。先后参加该项目研究的博士生有杨蜀岚, 张书标, 季兰, 黄荣华, 章清杞, 朱宏波, 马洪丽; 硕士生吴爽, 王忠安, 王江闽

表 1 水稻节间伸长高秆隐性突变种质类型

Table 1 The mutant types of rice tall recessive germplasm

突变型名称	野生型名称	表型类型*	基因型	选育方法	作者	年份
LM-6, -8	Norin8 (粳)	Ⅲ		化学诱变	Okuno 等	1978
LM-1, -2, -7	Norin8 (粳)	Ⅳ		化学诱变	Okuno 等	1978
LM-4, -5	Norin8 (粳)	Ⅴ		化学诱变	Okuno 等	1978
76: 4512	(粳)	Ⅰ	<i>eui1</i>	籼粳杂交	Rutger 等	1981
Mh-1	桂朝 2 号 (籼)	Ⅲ	<i>eui1</i>	物理诱变	吴世弼等	1988
Grlc	ZE178/密阳 22 (F2) (籼)	Ⅲ	<i>eui1</i>	籼粳杂交	廖昌礼等	1988
02428h	02428 (粳)	Ⅰ	<i>eui1</i>	体细胞突变	孙立华等	1992
协青早 eB1	协青早 (籼)	Ⅰ	<i>eui1</i>	物理诱变	杨仁崔等	1999
协青早 eB2	协青早 (籼)	Ⅱ	<i>eui2</i>	物理诱变	杨仁崔等	1999

* Ⅰ—上部节间 (最上 3 个节间) 显著伸长型; Ⅱ—仅最上节间显著伸长型; Ⅲ—地上部各节间 (4~5) 全部显著伸长型; Ⅳ—基部节间显著伸长型; Ⅴ—节间数增加型

bp, 包含 5 个外显子, 4 个内含子; 读码框 (ORF) 长为 933 bp, 编码 311 个氨基酸。同源性分析初步认为与环氧化物酶有关。*EUI1* 基因的碱基序列为 9 607 bp, 由 2 个外显子和 1 个内含子组成, ORF 为 1 734 bp, 编码一个含有 577 个氨基酸的细胞色素 P450。

检测 4 个不同来源的 *eui2* 突变体 (协青早 eB2、龙特浦 eB2、D297eB2 和珍汕 97eB2) 和他们相应的野生型亲本, 结果发现, 4 个突变型同野生型比较都在外显子区域产生碱基缺失, 其中协青早 eB2 在第 3 个外显子区缺失 6 个碱基, 其他 3 个突变型各缺失 1 个碱基; 龙特浦 eB2 和 D297eB2 都发生在第 2 外显子区, 而珍汕 97eB2 发生在第 4 外显子区。

同样检测分别来自两个不同来源突变体的 *eui1* 候选基因的外显子, 发现他们虽然都在外显子 II 产生碱基突变, 但突变的碱基数目不同, 其中协青早 eB1 缺失 8 个碱基, 培矮 64eS1 缺失 2 个碱基 (表 2)。

在育种诱变过程中, 已分别获得各几十个 *eui1* 和 *eui2* 的突变系。从理论上说, 在这些突变体中出现相同碱基位点突变的突变体是一小概率, 即不可能事件, 因此, *eui1*, *eui2* 突变基因的这种遗传多样性为育种应用和基因功能研究提供了十分丰富的材料。

2 *eui* 基因突变与水稻生长

2.1 *eui* 基因突变与生长激素

表 2 *eui1* 及 *eui2* 表现的碱基缺失分子水平的遗传多样性Table 2 The molecular genetic diversity of *eui1* and *eui2* gene

基因	突变体	缺失部位	缺失碱基*	缺失碱基数
<i>eui1</i>	协青早 eB1	外显子 II	GGGAGATCTTc	8
<i>eui1</i>	培矮 64eS1	外显子 II	gtgATatcgc	2
<i>eui2</i>	协青早 eB2	外显子 III	acATACACaga	6
<i>eui2</i>	龙特浦 eB2	外显子 II	acaAgaga	1
<i>eui2</i>	D297eB2	外显子 II	gcCagatt	1
<i>eui2</i>	珍汕 97eB2	外显子 IV	acCagat	1

* 大写字母为缺失的碱基

比较 *eui1*, *eui2* 突变型同野生型各生育期的生长素 GA_1 含量^[23], 结果发现, *eui1*, *eui2* 的存在使植物体大量产生 GA_1 。*eui1* 突变型稻株在倒数第三节间伸长期, 即幼穗分化 IV 期, GA_1 含量开始显著增加, 至抽穗期为最高值, 可比野生型高出 7 倍以上; *eui2* 突变型一直至抽穗始期, GA_1 含量才显著提高, 是野生型的 2 倍多。不育系由于雄性不育, GA_1 含量显著减少, 但突变型仍比野生型高出 1~2 倍 (表 3)。对于 *eui1* 植物体, GA_1 表达部位主要在幼穗, 次之是剑叶; 而对于 *eui2* 主要在剑叶。这些研究结果能很好地解释以下事实:

- 1) 不育系因 GA_1 含量低, 穗颈节明显缩短;
- 2) 突变型不育系能解除包穗得益于抽穗期间生长素含量提高;

3) *eui1* 对节间伸长作用的时期长, 力度大, 因此最上3个节间都显著伸长, *eui2* 仅表现最上节间伸长;

4) *eui1* 的作用覆盖 *eui2* 的作用, 累加效应不明显。

表3 协青早6个同型系始穗期幼穗中 GA₁ 含量

Table 3 The GA₁ contents in the panicle of 6 Xieqingzao lines in heading stage

不育系 GA ₁ 含量 / pmol·g ⁻¹			保持系 GA ₁ 含量 / pmol·g ⁻¹		
A	eA1	eA2	B	eB1	eB2
204	500	271	609	5 009	1 275

不育系 eA、保持系 eB 后的数据 1 和 2 分别表示带有 *eui1* 和 *eui2* 基因; GA₁ 含量为鲜重样品

2.2 *eui* 基因突变体茎秆伸长的原因

测量协青早 B、协青早 eB1、协青早 eB2 最上

表4 培矮 64*Seui1* 突变体和野生型最上节间的薄壁细胞数和细胞长度

Table 4 The parenchyma cell number and length of uppermost internode of Peiai 64S and its *eui1* mutant

基因型	最上节间长度 / mm	细胞数		细胞长度 / μm	
		外层细胞	内层细胞	外层细胞	内层细胞
<i>eui1</i>	369	3 816 (17.9%)	5 442 (31.75%)	96.7 (65.6%)	75.8 (39.0%)
EUI1 (野生型)	189	3 236 (0%)	3 894 (0%)	58.4 (0%)	54.5 (0%)

括号中数据为相对值

eA, eS 系在雄性不育状态下较之它们的 A, S 同型系, 生育期、生长发育特性及主要农艺性状都无显著差异, 但株高及相应的器官长度都有明显伸长, 并由此改良了异交特性^[13,15,24], 表现为:

株高增加 15~20 cm, 其中最上节间增长 5~15 cm;

穗颈节间露出增加 3~10 cm;

对外施 GA₃ 更为敏感;

穗长度、颖花长度、颖花长宽比值也都明显增加。

eui 对上述性状的影响, 特别是穗颈节间的伸长、穗伸出度取决于以下因素:

1) 雄性不育发生得愈早, 不育愈彻底, 伸长愈少; *eui1* 的作用大于 *eui2*; 抽穗期高温, 伴随良好的肥水条件促进伸长。

2) eA、eS 系用于种子生产, 赤霉素的用量只需原 A、S 系的 10%~50%, 就能达到种子产量不低于原不育系在赤霉素常规用量条件下的产量水平^[15,25]。

节间中部的薄壁细胞, 细胞长度分别是 56.0, 70.4 和 67.0 μm, 说明节间伸长的原因同细胞长度的增加有关。湖南师范大学钟卫华等就培矮 64*Seui1* 突变体的研究结果认为, 突变体节间伸长是细胞数目增多和长度增加双重作用的结果且长度的增加是主要的 (表 4)。这同促进细胞伸长的 GA₁ 含量增加的事实是相符的。

3 *eui* 基因的育种应用

3.1 长穗颈不育系的选育

利用直接诱变杂交稻保持系 (B 系) 获 *eui* 突变 (称 eB 系) 后, 再用突变体同相应的原保持系的不育系 (CMS-A) 杂交、回交而育成 CMS-A 的 *eui* 同型系, 称 eA 系。直接诱变光温敏核不育系 (S 系) 获 *eui* 突变体, 经筛选即育成原不育系的 *eui* 同型系, 称 eS 系^[14]。

3.2 e-杂交稻选育

称带有 *eui* 的杂交稻为 e-杂交稻。同非 *eui* 杂交稻比较, e-杂交稻有以下共性^[14,26~29]:

生长繁茂, 萌发快而整齐, 分蘖、生长快, 叶面积大, 抽穗早 2~3 d;

叶色较淡;

植株较高, *eui1*、*eui2* 的杂交稻分别增高 5~8 cm 和 2~3 cm, 且主要是最上节间和穗的增长所致;

穗增长, 谷粒增长, 长宽比加大;

构成产量因素, 穗数减少, 穗粒数增加, 千粒重加大, 结实率下降。

显而易见, e-杂交稻的上述诸性状表现呈高秆稻性状在半矮秆稻上的部份“恢复”。

eui 基因所表现的对杂种诸性状的影响大小排列趋势是 $eui1 + eui2 \approx eui1 > eui2 > EUI$ 。这里 $eui1 + eui2$ 是杂交稻的父母本分别带有 *eui1* 和 *eui2* 基因。

绝大多数情况下这些株形的差异都达不到统计

学上的显著水平。*e*-杂交稻和它的非 *eui* 杂交稻同型系株形十分相近, 最后的产量也在同一个水平上。统计5点共52个组合成对对比重复产量试验, 结果 *e*-杂交稻的平均亩产量为490.96 kg, 相应的非 *eui* 杂交稻的平均亩产量为483.69 kg, *e*-杂交稻比非 *eui* 杂交稻增产1.50%。由于 *e*-杂交稻生长较快, 栽培上可适当减少氮肥的用量。

4 讨论与展望

4.1 把杂交稻技术与应用推向新水平

e-杂交稻的育种是遗传学理论实践的典范: 隐性基因纯合状态时, 性状(节间伸长)可发育表达, 获得高秆的父本(保持系或恢复系)可提高授粉潜势和育成穗颈节间伸长遗传解除包穗的不育系, 显著改善异交特性, 从而减少种子生产的赤霉素用量, 并提高种子产量和质量; 同时, 在杂种中该隐性基因呈杂合状态, 其隐性性状基本不表现, 不改变原杂种半矮秆株型和产量潜力水平。

实践中可发现, *eui* 基因呈杂合状态的 *e*-杂交稻, 同非 *eui* 杂交稻比较仍表现若干“高秆品种性状”影响的存在。如生长较快, 叶色较淡, 繁茂, 叶面积较大, 植株增高, 对氮肥反应更敏感, 穗加长、千粒重加大等。这些差异多数情况下虽然达不到统计学上的显著水准, 但在保留半矮秆株型的前提下, 对这些性状的修饰作用可让育种家视为传统高秆品种优良性状在 *e*-杂交稻中得到一定程度的“恢复”, 成为新类型品种的特性和优良性状。

近期的 *e*-杂交稻育种和应用有望达到的目标是: 减少杂交稻种子生产赤霉素用量的50%~90%; 种子增产一成; 提高杂交稻产量5%; 减少化肥用量一成。兼得社会效益、经济效益和生态效益, 促进杂交稻技术水平的提高和可持续发展。

要达此目标, 育种策略是进一步发掘和利用 *eui* 种质和 *eui* 基因的遗传多样性, 包括:

- 1) 依据杂交稻的不同遗传背景和具体组合的育种目标, 对B, S, R系选用合适的 *eui* 基因;
- 2) 建立分子水平的 *eui* 基因评价体系, 选用最优突变系。诱变育种、杂交育种和分子育种技术配合应用, 提高育种效率;
- 3) 研究、构建和发展 *e*-杂交稻理想株型概念和指标, 指导育种实践;
- 4) 研究和发展 *e*-杂交稻相应的少用赤霉素的制种技术、减少氮肥用量的杂种栽培技术。

4.2 可降低两系杂交稻生产应用的风险

带有 *eui* 基因的光温敏核不育系在雄性表现可育或部分可育的状态下, 上部节间在抽穗期强烈伸长, 使稻株长成高株, 极易在群体中辨认, 制种过程能及时准确剔除自交植株从而提高杂交种纯度, 以及杂种冬季在海南精确验杂都有了可靠的技术保证。针对两系杂交稻存在育性遗传漂变和赤霉素不得不超量使用的这二大难点, *eui* 种质的利用不仅显著降低了生产成本, 而且有望大大降低两系杂交稻生产应用的风险。

4.3 有助于若干基础理论的研究与发展

eui 基因业已克隆分离。由于 *eui* 的多型性, 以及分子水平多样性的诸多突变系的获得, 在研究基因功能的同时将促进植物遗传和生理方面的基础及应用基础研究, 包括: 植物复等位基因的分子水平意义; 植物GA代谢的有关分子机理; 植物基因诱变的分子机理; 生长激素和植物杂种优势; 植物节间伸长新模式植物(*eui*水稻)的确定; 同 *eui* 基因相关的植物基因工程; *eui* 水稻的理论与实践在其它禾本科作物的比较研究。

参考文献

- [1] Rutger J N, Inheritance of semidwarf and other useful mutant genes in rice[A]. Rice Genetics[C]. IRRI. Manila, 1986. 261~271
- [2] 吴世弼, 张琦华. 水稻诱变获得隐性高秆基因[J]. 福建省农科院学报, 1988, 3(1): 41~45
- [3] 廖昌礼, 倪克鱼, 刘远坤, 等. 高秆隐性水稻 *Grlc* 的遗传与利用研究: I. *Grlc* 及其测交 F1 的株高特征和秆型[J]. 西南农业学报, 1988, 1(1): 43~46
- [4] 孙立华, 王月芳, 蒋宁, 等. 具广亲和性的的水稻隐性高秆细胞突变体[J]. 遗传学报, 1994, 21(1): 67~73
- [5] 申宗坦, 杨长登, 何祖华. 消除籼型野败不育系包颈现象的研究[J]. 中国水稻科学, 1987, 1(2): 95~99
- [6] 何祖华, 申宗坦. 水稻长节间基因对 GA_3 敏感性和不育系改良[J]. 作物学报, 1994, 20(2): 161~167
- [7] Virmani S S, Dalmacio R D, Lopez M T. *eui* gene for elongated uppermost internode transferred to indica rice [J]. IRRN, 1988, 13(6): 6
- [8] 梁康迳, 王乃元, 杨仁崔. 水稻穗伸出度的遗传及其在育种上的应用[J]. 福建农学院学报, 1992, 21(4): 380~385
- [9] Yang Rencui, Yang Shulan, Huang Honghua, et al. A new gene for elongated uppermost internode [J]. RGN, 1999, 16: 41~43

- [10] 杨蜀岚, 杨仁崔, 曲雪萍, 等. 水稻长穗颈高秆隐性基因 *eui2* 的遗传及其微卫星分析[J]. 植物学报, 2001, 43(1): 67~71
- [11] 朱宏波. 水稻穗颈伸长基因 *EUI2* 的精细定位与克隆[D]. 福建农林大学博士学位论文, 2003
- [12] 马洪丽. 水稻穗颈伸长基因 *eui1* 的精细定位与候选基因的克隆[D]. 福建农林大学博士学位论文, 2004
- [13] 黄荣华, 章清杞, 张书标, 等. 辐射诱变选育水稻长穗颈不育系的初步研究[J]. 福建农业大学学报(自然科学版), 2001, 30(2): 133~137.
- [14] 杨仁崔, 张书标, 黄荣华, 等. 高秆隐性杂交稻(*e*-杂交稻)的育种技术[J]. 中国农业科学, 2002, 35(3): 233~237
- [15] 张书标, 杨仁崔, 黄荣华, 等. 水稻长穗颈光温敏核不育系培矮 64eS(1)的选育[J]. 核农学报, 2001, 15(4): 193~198
- [16] Okuno K, Kawai T. Genetic analysis of induce long-internode mutants in rice[J]. Japan J Breed, 1978, 28(4): 336~342
- [17] Okuno K, Kawai T. Variation of internode and other characters in induced long-internode mutants of rice [J], Japan J Breed, 1978, 28(3): 243~250
- [18] 张毅, 何光华, 杨光伟, 等. 水稻长穗颈性状的一种新遗传行为的发现和分析[J]. 中国水稻科学, 2003, 18(3): 213~217
- [18] 朱旭东, 张晓惠, 钱前, 等. 高秆隐性突变体 Mh-1 的株高遗传研究[J]. 遗传学报, 2000, 27(4): 311~316
- [20] 马洪丽, 张书标, 卢勤, 等. 水稻长穗颈高秆隐性突变体协青早 eB1 的遗传分析及其 *eui1(t)* 定位[J]. 农业生物技术学报, 2004, 12(1): 43~47
- [21] 吴玉良, 何祖华, 董继新, 等. 水稻株高基因 *eui* 的初步定位[J]. 中国水稻科学, 1998, 12(2): 119~120
- [22] 杨蜀岚. 水稻 *eui2* 基因的发现、遗传及其分子标记和定位[D]. 福建农林大学博士学位论文, 2000
- [23] 季兰. 水稻长穗颈基因 *eui* 的作用机理[D]. 福建农林大学博士学位论文, 2001
- [24] 周广治, 陈良碧, 梁满中, 等. 长穗颈双低温敏核不育水稻的选育[J]. 生命科学研究, 2000, 4(4): 290~294
- [25] 张瑞祥, 李土明, 张红林, 等. 高秆隐性杂交稻制种技术的研究[J]. 江西农业学报, 2000, 12(3): 11~14
- [26] 张书标, 杨仁崔. *e*-杂交稻株形及产量构成[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2002, 31(3): 273~278
- [27] 张书标, 杨仁崔. *e*-杂交稻若干生物学特性的研究[J], 作物学报, 2003, 29(6): 919~924
- [28] 章清杞, 杨仁崔. 水稻 *eui* 基因对 *e*-杂交稻若干生物学特性的影响[J]. 中国农业科学, 2003, 36(7): 735~739
- [29] 张书标. 高秆隐性杂交稻的遗传评价[D]. 福建农林大学博士学位论文, 2001

Genetic Evaluation and Breeding Utilization of Rice *eui*-Germplasm

Yang Rencui

(Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

[Abstract] The *eui* gene of rice and the diversity of tall recessive germplasm of rice were newly identified. Male sterile lines with elongated uppermost internode, and their corresponding hybrids (*eui*-hybrids) possessing *eui* gene were developed and released. The goals and the target of *eui*-hybrid rice research and development are: to cut short dosage of GA₃ used in hybrid rice seed production by 50%~90% with increasing seed yield and improving seed quality; to increase hybrid rice yield with decreasing N-fertilizer applied to rice.

The *EUI1*, *EUI2* were isolated, and the diversity showing nucleotide deletion of *eui1* and *eui2* were also identified. This will provide the materials to enhance the studies on following area: plant growth and development, GA metabolism, growth hormones and heterosis, molecular mechanism of mutation, as well as gene engineering.

[Key words] rice; *eui*; *e*-hybrid rice; genetic evaluation; breeding