

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2023.01.001

# 水稻小粒突变体 *smg2* 的表型鉴定和 候选基因分析

朱洪慧, 李映姿, 王成洋, 高远卓,  
林泓, 晏紫仪, 李云峰

西南大学 水稻研究所/农业科学研究院/转基因植物与安全控制重庆市重点实验室, 重庆 400715

**摘要:** 水稻产量是由单位面积有效穗数、每穗粒数以及千粒质量决定的, 籽粒形态可以决定千粒质量进而影响水稻产量. 报道了一个与水稻籽粒形态发育相关的突变体, 来源于籼稻保持系西大 1B 的甲基磺酸乙酯 (ethyl methane sulfonate, EMS) 诱变群体. 该突变体表现为由细胞扩展和细胞增殖异常导致的籽粒变小, 暂命名为水稻小粒突变体 (small grain 2, *smg2*). 遗传分析表明: *smg2* 突变体性状受 1 对隐性单基因控制, 利用群体分离分析法 (bulk segregation analysis, BSA) 将 *SMG2* 基因定位在第 1 染色体 IN/DEL 标记 A-0.85 和 A-1.05 之间, 物理距离 200 kb, 在定位区间内含注释基因 28 个. PCR 测序发现其中编号为 *LOC\_Os01g02890* 的基因中第 1 个外显子的第 153 位碱基发生了单碱基缺失, 造成编码框移码突变, 从而导致蛋白翻译提前终止. 因此, 将 *LOC\_Os01g02890* 暂定为 *SMG2* 的候选基因.

**关键词:** 水稻; 籽粒; 颖壳发育; 基因定位

中图分类号: S511 文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2023)01-0002-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Identification of Phenotype and Candidate Gene of Small Grain Mutant *smg2* in Rice (*Oryza sativa* L.)

ZHU Honghui, LI Yingzi, WANG Chengyang,  
GAO Yuanzhuo, LIN Hong, YAN Ziyi, LI Yunfeng

Rice Research Institute, Southwest University/Academy of Agricultural Sciences/Chongqing Key Laboratory of  
Transgenic Plant and Safety Control, Chongqing 400715, China

**Abstract:** Rice yield is determined by effective panicles per unit area, number of grains per panicle and

收稿日期: 2022-10-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(32172044).

作者简介: 朱洪慧, 硕士研究生, 主要从事水稻花穗发育分子机制的研究.

通信作者: 李云峰, 教授, 博士研究生导师.

1 000-grain weight. Grain morphology is determined by grain length, width and thickness. It has an impact on rice yield by affecting 1 000-grain weight. In this paper, a mutant related to grain development of rice was reported, which was derived from the EMS (ethyl methane sulfonate) induced mutant population of indica maintainer line XD1B. The mutant is characterized by grain size caused by abnormal cell expansion and proliferation, and is tentatively named as the small grain 2 (*smg2*) mutant. Genetic analysis showed that the *smg2* trait was controlled by a pair of recessive single gene. By population segregation analysis (bulked segregation analysis, BSA), the *SMG2* gene was located between A-0.85 and A-1.05 on chromosome 1, with a physical distance of 200 kb and 28 annotated genes. Subsequent literature review and PCR products sequencing showed that there was a single base deletion at the 153th base of the first exon of the *LOC\_Os01g02890* gene. This frameshift mutation leads to early termination of protein translation, so the *SMG2* candidate gene is tentatively designated as *LOC\_Os01g02890*.

**Key words:** rice (*Oryza sativa* L.); grain; development of glumes; gene mapping

水稻是世界上最重要的粮食作物之一, 其产量与世界粮食安全问题息息相关. 水稻产量由单位面积有效穗数、每穗粒数以及千粒质量决定, 其中, 由籽粒长、宽、厚决定的籽粒形态可以通过影响千粒质量进而影响水稻产量.

近年来, 与水稻籽粒形态发育相关的基因逐渐被克隆, 遗传调控网络也逐渐完善. 在已克隆出的粒型发育基因中, *GW2*, *GW5/GSE5*, *GS5*, *GW8* 和 *TGW2* 等基因主要控制粒宽, 其中 *GW2* 编码一个 RING-like E3 泛素连接酶, 通过将底物锚定到蛋白酶体进行降解, 从而负调节细胞分裂, 突变后增加了颖壳细胞的数目, 导致粒宽和粒质量增加<sup>[1]</sup>. *GW5/GSE5* 编码一个钙调素结合蛋白, 是 BR 信号传导的正调控因子, 通过影响颖壳的细胞数目来控制粒型; 其与 *OsGSK2* 互作, 抑制 *GSK2* 的自磷酸化及 *GSK2* 对 *OsBZR1* 和 *DLT* 的磷酸化, 从而影响细胞核中未磷酸化的 *OsBZR1* 和 *DLT* 蛋白的积累<sup>[2-3]</sup>. *GW8* 编码一个包含 SBP 结构域的转录因子 *OsSPL16*, 该基因的高表达能促进细胞分裂和灌浆从而促进水稻粒宽增加和增产; 进一步发现 *GW8/OsSPL16* 直接与 *GW7* 启动子结合并抑制它的表达, 从而增加横向细胞分裂正向调控水稻粒宽<sup>[4-6]</sup>. *GS3*, *TGW6*, *OsLG3*, *GLW7*, *GL4*, *qGL3/GL3.1*, *qLGY3/Os-LG3b*, *TGW3* 和 *GL6* 等基因主要控制粒长, 其中 *GS3* 编码非典型的 G $\gamma$  亚基, 与 *DEP1* 或 *GGC2* 竞争性结合 G $\beta$  亚基, 负向调控籽粒长度<sup>[7-8]</sup>. *GLW7* 编码 SBP 结构域的转录因子 *OsSPL13*, 正向调控颖壳细胞的扩展, 从而提高了水稻的粒长和产量<sup>[9]</sup>. *OsLG3* 编码 AP2/ERF 类乙烯反应元件结合蛋白, 通过促进细胞增殖正向调控粒长, 且在不影响稻米品质的情况下提高水稻产量<sup>[10]</sup>. *GL2/GS2*, *GL7/GW7*, *GW6a* 和 *GS9* 等基因同时控制粒长和粒宽, 其中 *GL2/GS2* 编码的转录因子 *OsGRF4* 属于 GRF 家族蛋白成员, 主要通过促进细胞扩张和少量细胞增殖正调控籽粒大小<sup>[11-12]</sup>. *GL7/GW7* 编码一个 TONNEAU1 募集基序蛋白, 表达量上调能增加颖壳细胞的纵向分裂并减少横向分裂<sup>[8]</sup>. *GW6a* 编码一个具有组蛋白乙酰转移酶活性的类 GNAT 蛋白 *OsglHAT1*, 通过增加细胞数和增大颖壳, 同时加速籽粒灌浆速率, 正向调控籽粒大小和粒质量<sup>[13]</sup>. 综上, 参与水稻籽粒大小调控的基因较多, 涉及了多种信号转导以及生化代谢途径.

本研究报道了一个与水稻籽粒发育相关的突变体, 主要表现为细胞增殖与细胞扩展异常导致的籽粒变小. 遗传分析表明该突变性状受 1 个单隐性基因控制, 我们将其命名为 small grain 2 (*smg2*). 通过 BSA 法, 我们将 *SMG2* 定位在水稻第 1 染色体上 IN/DEL 标记 A-0.85 和 A-1.05 之间, 物理距离大约为

200 kb. 测序发现定位区间内编号 *LOC\_Os01g02890* 基因的第 1 个外显子上第 153 位碱基胞嘧啶(C)缺失, 从而导致移码突变和蛋白翻译提前终止, 最终将候选基因定为 *LOC\_Os01g02890*. 本研究为 *SMG2* 基因后续调控籽粒形态发育的分子机制解析奠定了基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

水稻 *smg2* 突变体来源于甲基磺酸乙酯(EMS)诱导的西大 1B(XD1B)诱变群体, 经过多代自交进行分离纯化后, 突变性状得到稳定遗传. 选用粳稻品种中花 11(ZH11)与 *smg2* 突变体杂交, 播种杂交产生的  $F_1$  种子,  $F_1$  群体自交, 得到分离群体  $F_2$  的种子并播种, 将  $F_1$  和  $F_2$  群体用作进行遗传分析和基因定位的材料.

### 1.2 形态与组织学分析

挑取野生型和 *smg2* 突变体成熟期的籽粒, 用扫描电镜(日立 SU3500, 日本株式会社)和体视镜(NIKON SM1500, NIKON CORPORATION Shlnagawa Interclty Tower C, 2-15-3, Konan, Minato-ku, Tokyo 108-6290 Japan)观察表型并拍照. 在抽穗期选取野生型和突变体的小穗, 置于 FAA 固定液(50%无水乙醇, 0.9 mol/L 的冰乙酸和 3.7%甲醛)中 4 °C, 16 h 以上固定细胞形态; 后依次使用乙醇进行梯度脱水, 二甲苯进行透明处理并浸蜡, 用石蜡包埋处理. 使用石蜡切片机切出 12  $\mu\text{m}$  厚的蜡带, 轻挑蜡带平放于载玻片上, 经过展片、烘片后, 进行染色并用中性树脂封片, 用光学显微镜(NIKON E600, NIKON CORPORATION Shlnagawa Interclty Tower C, 2-15-3, Konan, Minato-ku, Tokyo 108-6290 Japan)观察制作好的石蜡切片并拍照.

### 1.3 统计分析

统计分析于 2021 年夏的水稻抽穗期与成熟期进行, 随机选取抽穗期的野生型和突变体各 10 个小穗进行石蜡切片观察, 每张切片统计小穗外稃横向细胞数量; 随机选取成熟期的野生型和突变体各 10 个籽粒进行扫描电镜观察, 统计外稃纵向细胞数量; 随机选取 10 株野生型和 10 株突变体, 统计穗长、一次枝梗、二次枝梗、穗粒数、结实率、粒长、粒宽和粒质量等农艺性状.

### 1.4 遗传分析

以 *smg2* 突变体和 ZH11 杂交获得  $F_1$ ,  $F_1$  自交后代种植获得  $F_2$  群体, 观察  $F_1$  表型和  $F_2$  表型的分离情况, 并对  $F_2$  群体中具有突变体表型植株和正常单株进行统计, 对分离比例进行卡方测验.

### 1.5 分子标记定位及连锁图谱构建

在 ZH11/*smg2* 杂交构建的  $F_2$  群体中选取突变单株作为定位群体, 使用 BSA 法进行目标基因的定<sup>[14]</sup>. 根据  $F_2$  植株表型, 分别选取 10 株正常单株和 10 株突变单株, 剪取等量叶片, 构建正常基因池和突变基因池. 用 CTAB 法提取亲本、基因池和定位群体单株的 DNA<sup>[15]</sup>. 定位引物选用 SSR 和 IN/DEL 引物, 由北京擎科生物科技有限公司合成. PCR 总体积为 15.0  $\mu\text{L}$ , 含 2.0  $\mu\text{L}$  10 $\times$ PCR buffer, 0.4  $\mu\text{L}$  2.5 mmol/L dNTPs, 10.3  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O, 10  $\mu\text{mol/L}$  的前后引物各 0.5  $\mu\text{L}$ , 1.0  $\mu\text{L}$  模板 DNA, 0.3  $\mu\text{L}$  5 U/ $\mu\text{L}$  Taq 酶. PCR 程序为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 复性 1 min, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min. PCR 产物经 2.5% 琼脂糖凝胶电泳后观察. 将只呈现 ZH11 带型的单株记为 A, 只呈现 *smg2* 带型的单株记为 B, 同时呈现双亲带型的单株记为 H, 用 Mapmaker3.0 软件分析数据并作图, 根据 Gramene 网站(<http://www.gramene.org/>)的水稻基因组信息构建物理图谱, 基因定位所用引物见表 1.

表 1 定位引物序列

引物名称	正向序列(5'-3')	反向序列(5'-3')
A-0.65	GGAGAGGAAATTGGTAACGCCG	CAATCAGAGCCCACGGATCAG
A-0.84	CCAGAACATGCTTTGCAGACTGC	CTTACCTGCAACAAGAGTGACCCG
A-0.85	CTCTGGCATAACCAGCTATGCACT	TACATCGAAAGCCTGGAGCCT
A-1.05	CATGGAGGTCAATGGTCATCAC	GAACACAGATGACCAGGTAACAC
A-1.09	CTGATCTGATACGGCCAGCAGAAT	GCATCTTCAGCCGCCGTAATC
A-1.67	TTGAGGATGGGAGGCGTGAGTAG	GATCATATCGCTGCCTCTGCAC
A-2.35	TGTTATGAGTCGGAGACTCAAGCC	CGGTGAACTCTCAGCACACTTGAT
A-2.40	TGACGACTCCGTCGATTAATCAC	GAGTAACGACCGACTTCAACCAAT
RM10445R	GGGACTACTCGAGCAAGCTAATGC	GTCCAATCTAATCGACCTCCAAGAGC

## 1.6 候选基因分析

注释基因信息从 Gramene 网站(<http://www.gramene.org/>)上查询所得, 根据从网站下载的注释基因序列, 用 PrimerPrimer5.0 软件设计特异性扩增引物<sup>[16]</sup>. 分别以野生型和 *smg2* 突变体 DNA 为模板扩增目标序列, 由测序公司进行测序分析, 扩增引物序列见表 2.

表 2 扩增引物序列

引物名称	正向序列(5'-3')	反向序列(5'-3')
SMG2-1	TCGCTCTACAACCTACCACCAAAG	GGAGACTTTCCGATCAATCGTGG
SMG2-2	TGAACGGCATAGAAGTCCCTGTC	CAACCTCACATGCCAGCAGCTC

## 2 结果与分析

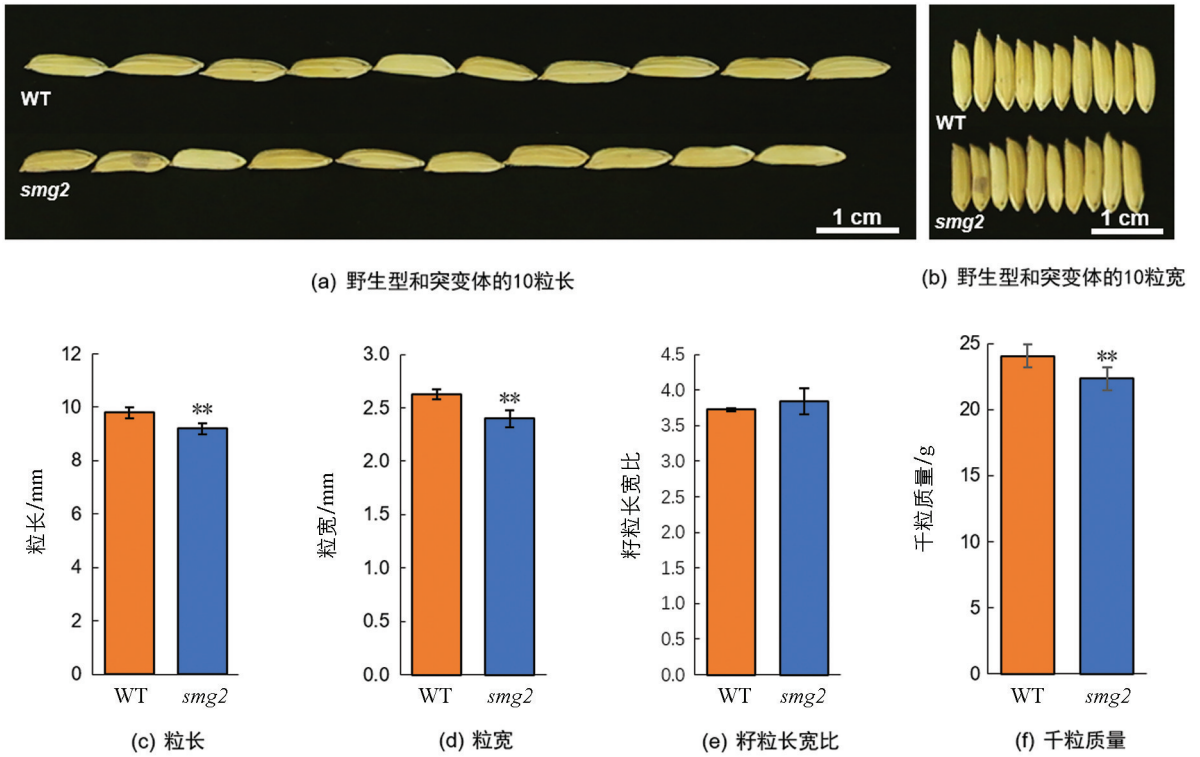
### 2.1 *smg2* 突变体的籽粒表型观察

与野生型(WT)相比, 突变体 *smg2* 籽粒显著变小(图 1a, b), 粒长、粒宽分别只有 9.20 mm 和 2.41 mm, 为野生型的 93.88% 和 91.25%(图 1c, d), 而长宽比差异无统计学意义(图 1e). 由于突变体粒长粒宽均减小, 导致千粒质量也有显著降低, 统计结果表明, *smg2* 突变体千粒质量为 22.22 g, 相较于野生型下降了 7.67%(图 1f).

### 2.2 *smg2* 突变体颖壳的细胞学观察

为了探究籽粒变小的具体原因, 我们对 *smg2* 突变体成熟籽粒的颖壳进行了细胞学分析(图 2).

首先, 通过扫描电镜观察发现, 在相同范围内 *smg2* 突变体内、外稃上的纵向硅化细胞数量显著多于野生型(图 2c, d, e, f, k), 这说明突变体颖壳纵向细胞长度变短, 但整个外稃纵向上硅化细胞的总数量在野生型与突变体间差异无统计学意义(图 2i). 两方面的数据综合表明, *smg2* 突变体籽粒变短的主要原因是颖壳细胞纵向扩展不足. 通过石蜡切片分析开花期小穗的颖壳横向细胞数目和特征, 统计发现野生型的细胞数量为 396 个, 突变体的细胞数量为 362 个, 突变体相对于野生型减少了 8.59%(图 2g, h, j), 表明 *smg2* 突变体颖壳横向细胞增殖受到了抑制. 统计切片中相同视野范围内的横向细胞数量, 发现突变体的细胞数量显著多于野生型, 增加了 22.60%(图 2l), 这说明 *smg2* 突变体颖壳横向细胞的扩展也受到了抑制. 以上分析表明, SMG2 基因一方面通过调控细胞扩展影响籽粒长度的发育, 另一方面通过调控细胞增殖和细胞扩展影响籽粒宽度的发育.



\*\* 表示  $p < 0.01$ , 差异有统计学意义。

图 1 野生型和 *smg2* 突变体的籽粒表型

### 2.3 *smg2* 突变体的植株形态观察

*smg2* 突变体表现为半矮化性状(图 3a), 其茎秆倒 1 节和倒 2 节明显短于野生型(图 3b). 由于倒 1 节变短, 突变体还表现出明显的包穗性状, 大部分分化后发育成熟的穗被包裹于剑叶内, 无法正常抽穗(图 3c). 突变体穗长仅为 19.53 cm, 极显著短于野生型(图 3d); 一次枝梗数量减少 26.17%, 极显著低于野生型(图 3e); 二次枝梗数量极显著高于野生型, 增加了 46.30%(图 3f); 每穗颖花数和每穗粒数均极显著低于野生型, 分别降低了 26.30% 和 41.40%(图 3g, h); 突变体结实率仅为 65.80%, 极显著低于野生型(图 3i).

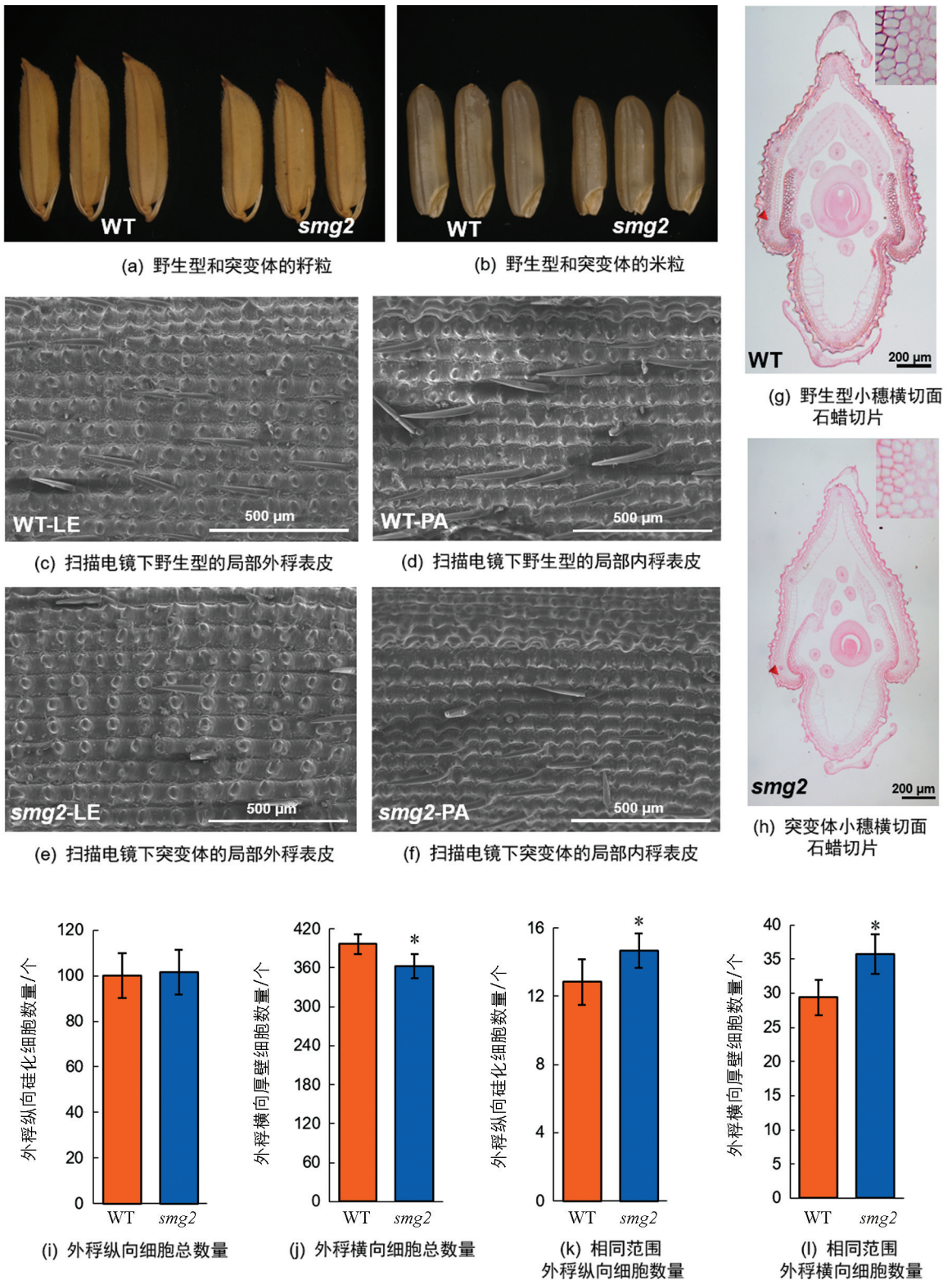
### 2.4 *smg2* 突变体的遗传分析

*smg2* 突变体与 ZH11 杂交  $F_1$  与野生型的表型一致, 而  $F_2$  出现性状分离. 对  $F_2$  群体进行统计, 其中正常表型植株 140 株, *smg2* 突变表型植株 44 株, 分离比为 3.18 : 1, 经卡方测验其分离比符合 3 : 1 ( $\chi^2 = 0.045 < \chi_{0.05}^2 = 3.84$ ), 结果表明 *smg2* 突变性状受 1 对隐性单基因控制.

### 2.5 *SMG2* 基因的定位

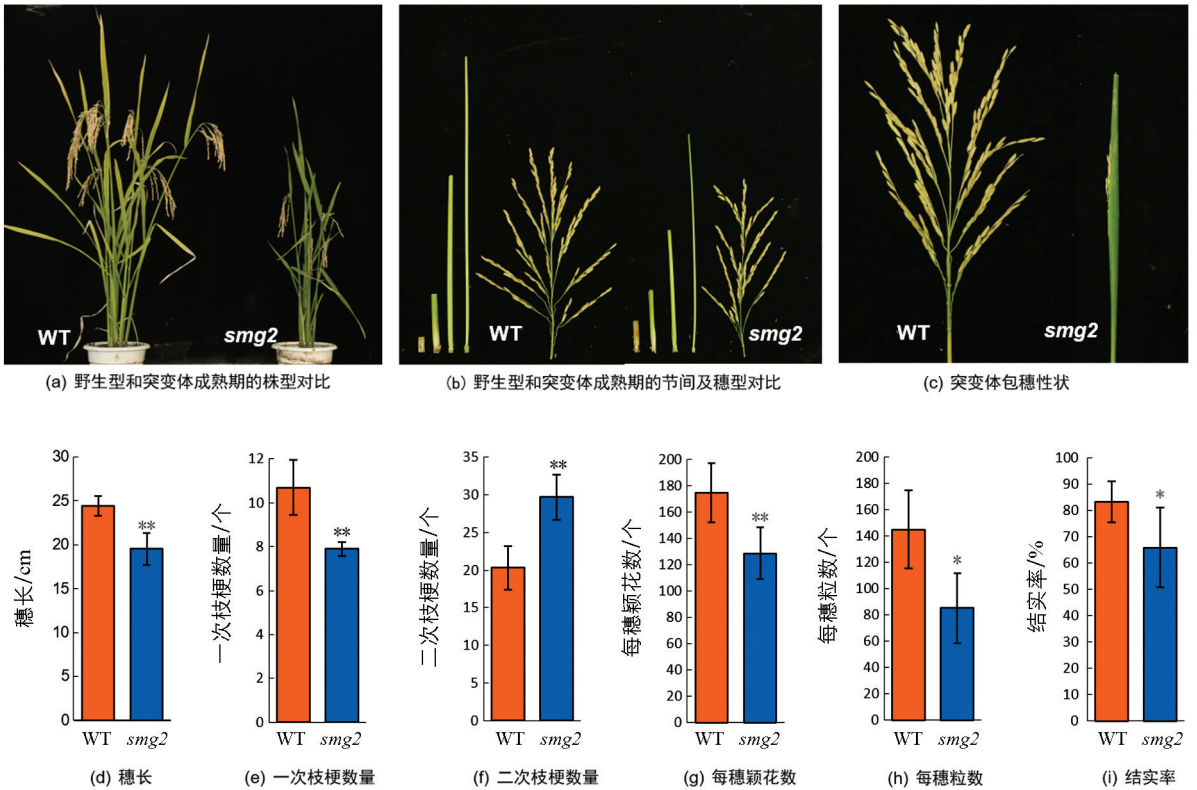
定位群体选择  $F_2$  分离群体中表现出突变体性状的植株. 随机选取  $F_2$  群体中野生型和突变体各 10 株, 提取 DNA 构建基因池. 以父本 ZH11 和母本 *smg2* 为模板, 选用 200 对平均分布于水稻所有染色上的 SSR 引物和 IN/DEL 引物, 对亲本进行多态性分析, 发现位于第 1 染色体长臂端的 IN/DEL 标记 A-0.65, A-1.09, A-1.67, A-2.35, A-2.40 以及 SSR 标记 RM10445R 在两个基因池中具有多态性, 用这 6 对标记分析  $F_2$  中的 44 株突变单株, 重组子个数分别为 3, 2, 6, 9, 10, 25, 初步将 *smg2* 定位在 A-0.65 和 A-1.09 之间; 在这两个引物之间进行区间缩进, 发展了 3 对 IN/DEL 引物筛选 66 株突变单株, 重组子个

数分别为 2, 1, 1. 根据重组子数目和相互关系, 最终将 *SMG2* 基因定位在 IN/DEL 标记 A-0.85 和 A-1.05 之间, 物理距离 200 kb(图 4).



\* 表示  $p < 0.05$ , 差异有统计学意义.

图 2 野生型和 *smg2* 突变体的细胞学观察和统计分析



\* 表示  $p < 0.05$ , \*\* 表示  $p < 0.01$ , 差异有统计学意义。

图 3 野生型和 *smg2* 突变体植株的形态观察和农艺性状统计

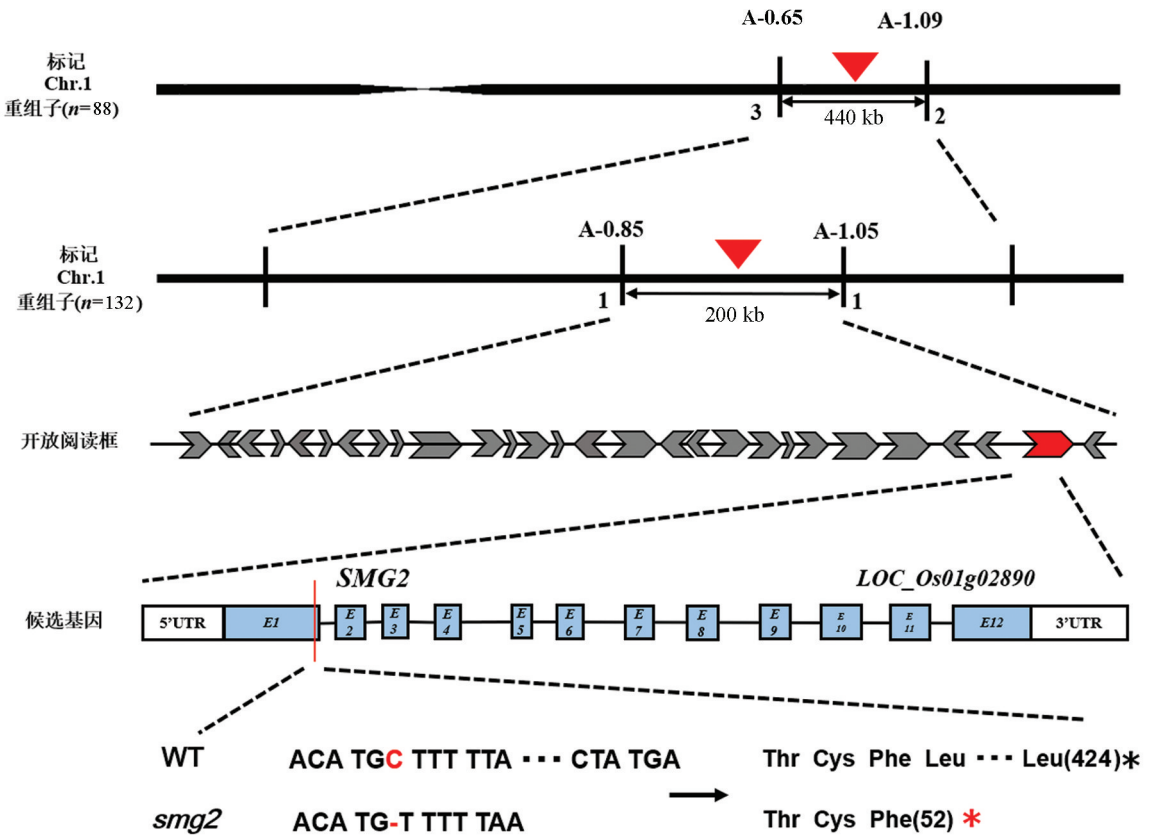


图 4 *SMG2* 基因在水稻第 1 染色体上的连锁图谱

## 2.6 SMG2 候选基因的分析

根据测序品种日本晴的序列和基因注释信息(<http://www.gramene.org/>和 <http://rice.plantbiology.msu.edu/>), 在定位区间内(物理距离约 200 kb)共有 28 个注释基因(表 3). 在这些注释基因中, 有 5 个编码具有蛋白激酶结构域的蛋白质, 5 个编码逆转录转座子蛋白, 4 个基因编码抗性相关的受体蛋白, 3 个基因编码激酶相关的受体蛋白, 其余 11 个基因编码一些不同类型的蛋白质(表 3), 其中 *LOC\_Os01g02890* 基因编码 1 个磷脂酰丝氨酸合酶. 先前有报道该基因发生突变后穗颈节极度缩短从而产生包穗性状<sup>[17]</sup>, 这与本研究中 *smg2* 突变体表型类似, 猜测 *LOC\_Os01g02890* 可能是 *SMG2* 的候选基因. 对该基因进行 PCR 测序分析, *LOC\_Os01g02890* 包含 12 个外显子, 编码框基因组全长 6 563 bp, CDS 全长 1 275 bp, 编码包含 424 个氨基酸的蛋白质. 测序结果表明, 在突变体中, *LOC\_Os01g02890* 基因的第 1 个外显子的第 153 位碱基发生了单碱基缺失, 相比野生型缺失 1 个胞嘧啶(C), 移码突变后导致第 52 位氨基酸由亮氨酸变成终止密码子, 蛋白翻译提前终止, 因此将 *LOC\_Os01g02890* 基因暂定为 *SMG2* 基因的候选基因(图 4).

表 3 定位区间内的注释基因

序号	基因名称	基因注释
1	<i>LOC_Os01g02610</i>	蛋白激酶结构域包含蛋白, 表达
2	<i>LOC_Os01g02629</i>	逆转录转座子蛋白, 推测, 未分类, 表达
3	<i>LOC_Os01g02650</i>	逆转录转座子蛋白, 推测, 未分类, 表达
4	<i>LOC_Os01g02660</i>	逆转录转座子蛋白, 推测, 未分类, 表达
5	<i>LOC_Os01g02670</i>	逆转录转座子蛋白, 推测, ty1-复制亚类, 表达
6	<i>LOC_Os01g02680</i>	蛋白激酶结构域包含蛋白, 表达
7	<i>LOC_Os01g02690</i>	耐药相关受体样激酶, 推测, 表达
8	<i>LOC_Os01g02700</i>	蛋白激酶结构域包含蛋白, 表达
9	<i>LOC_Os01g02710</i>	LRk 型蛋白, 推测, 表达
10	<i>LOC_Os01g02720</i>	类 eEF1A 蛋白
11	<i>LOC_Os01g02730</i>	TAK14, 推测, 表达
12	<i>LOC_Os01g02740</i>	逆转录转座子蛋白, 推测, 未分类, 表达
13	<i>LOC_Os01g02750</i>	蛋白激酶结构域包含蛋白, 表达
14	<i>LOC_Os01g02760</i>	受体样激酶, 推测, 表达
15	<i>LOC_Os01g027700</i>	耐药相关受体样激酶, 推测, 表达
16	<i>LOC_Os01g02780</i>	TAK33, 推测, 表达
17	<i>LOC_Os01g02790</i>	蛋白激酶结构域包含蛋白, 表达
18	<i>LOC_Os01g02800</i>	受体样激酶 ARK1AS, 推测, 表达
19	<i>LOC_Os01g02810</i>	耐药相关受体样激酶, 推测, 表达
20	<i>LOC_Os01g02830</i>	受体样激酶 ARK1AS, 推测, 表达
21	<i>LOC_Os01g02840</i>	耐药相关受体样激酶, 推测, 表达
22	<i>LOC_Os01g02850</i>	表达蛋白
23	<i>LOC_Os01g02860</i>	表达蛋白
24	<i>LOC_Os01g02870</i>	生长素诱导蛋白 5NG4, 推测, 表达
25	<i>LOC_Os01g02880</i>	果糖二磷酸醛缩酶同工酶, 推测, 表达
26	<i>LOC_Os01g02884</i>	依赖 ATP 的 RNA 解旋酶 DHX36, 推测, 表达
27	<i>LOC_Os01g02890</i>	磷脂酰丝氨酸合酶
28	<i>LOC_Os01g02900</i>	糖基转移酶, 推测, 表达



## 3 讨论

### 3.1 *smg2* 是突变体 *sui1* 的等位突变体

籽粒形态是水稻产量和稻米外观品质的主要影响因素之一,因此水稻粒型发育基因的克隆与分子机制研究对于水稻高产育种研究具有重要意义.然而影响籽粒形态的基因涉及多个调控途径且数量庞大,为了深入研究水稻籽粒形态发育调控机制,本研究从籼稻保持系 XD1B 诱变群体中鉴定了一个小粒突变体 *smg2*,通过图位克隆将候选基因暂定为 *LOC\_Os01g02890*.该基因先前报道了多个等位突变体,其中 *sui1-1*, *sui1-2*, *sui1-4* 等位突变体性状均表现为抽穗期最上部节间显著缩短,导致整穗或者部分穗被剑叶包裹而不能正常发育<sup>[17-19]</sup>.在本研究中, *smg2* 突变体除了表现出矮化包穗外,还具有粒长、粒宽、结实率均显著降低等性状,因此我们推测 *smg2* 应为 *LOC\_Os01g02890* 的一个强等位突变体.在以前的研究中, Yin 等<sup>[18]</sup> 研究表明突变体节间缩短是由于节间中 Intercalary meristem(IM)未启动发育,认为 *SUI1* 家族基因通过调控水稻节间 IM 的发育和穗茎轴的细胞扩张来影响水稻的节间发育; Ma 等<sup>[19]</sup> 研究认为 *SUI1* 基因通过调控细胞壁成分的分泌来控制水稻特别是穗颈节间的细胞伸长.本研究中我们详细分析了 *smg2* 突变体颖壳的发育特征,发现 *SMG2* 基因通过调控细胞扩展来影响颖壳的纵向和横向发育,这与先前的研究是一致的.我们还发现 *SMG2* 也作用于细胞增殖来影响颖壳的宽度发育,这暗示其在籽粒形态发育中的功能与其在上部节间发育中的功能可能并不完全一致.

### 3.2 *SMG2* 通过调控颖壳细胞发育控制籽粒大小

水稻籽粒的粒型和粒质量一方面由颖壳大小和形状限制,另一方面与其内部组织,尤其是胚乳生长发育密切相关.水稻籽粒最外层被一层坚硬的颖壳包裹,由外稃和内稃组成的颖壳在很大程度上限制了籽粒的生长能力,因此颖壳细胞的数量、大小能够影响水稻粒长、粒宽和粒厚,进而决定水稻籽粒大小.近年来,人们鉴定了许多与水稻籽粒大小发育相关的基因,它们中绝大多数都是通过调控颖壳的细胞增殖或(和)扩展,进而决定籽粒形态,最终在水稻的产量和品质构成中发挥重要作用,但其中大部分基因都是单独通过影响细胞扩展或细胞增殖来影响籽粒形态发育,如 *RGAI1*, *RGB1* 基因均通过控制细胞增殖对水稻籽粒大小进行正向调控<sup>[20-22]</sup>; *GSK2*, *SRS5* 控制细胞伸长,对籽粒长度负向调控<sup>[23-24]</sup>.在本研究中,通过细胞学观察分析发现, *smg2* 突变体纵向上细胞总数量与野生型差异无统计学意义,而相同视野范围内纵向细胞数量显著增多,表明 *SMG2* 基因在纵向上通过影响细胞扩展调控籽粒长度.在横向上突变体细胞总数量显著低于野生型,同时相同视野范围内细胞数量多于野生型,说明 *SMG2* 基因通过影响细胞增殖和细胞扩展调控籽粒宽度,因此 *SMG2* 基因能同时通过两种方式调控籽粒的形态发育.结果表明,进一步克隆 *SMG2* 基因,并进行功能分析,阐述 *SMG2* 基因的分子机制,对于完善水稻粒型调控网络具有重要意义.

## 4 结论

本研究从籼稻保持系 XD1B 的 EMS 诱变群体中鉴定了 1 个小粒突变体 *smg2*.相比野生型, *smg2* 突变体粒长、粒宽和千粒质量均降低,同时具有植株矮化、短穗、一次枝梗减少、二次枝梗增多、每穗粒数减少和结实率降低等表型.遗传分析结果表明,该突变体性状受隐性单基因控制,被精细定位在第 1 染色体上 A-0.85 和 A-1.05 之间,物理距离约为 200 kb 的范围内,测序发现定位区间内 *LOC\_Os01g02890* 基因第 1 个外显子上第 153 位碱基缺失,相较于野生型缺失了 1 个胞嘧啶(C),导致移码突变,最终将候选基因定为 *LOC\_Os01g02890*.本研究进一步丰富了与籽粒形态相关的突变体材料,为深入理解水稻粒形遗传调控网络提供了基因资源.

### 参考文献:

- [1] 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.
- [2] LIU J, CHEN J, ZHENG X, et al. *GW5* Acts in the Brassinosteroid Signalling Pathway to Regulate Grain Width and Weight in Rice [J]. *Nature Plants*, 2017, 3: 17043.

- [3] DUAN P, XU J, ZENG D, et al. Natural Variation in the Promoter of *GSE5* Contributes to Grain Size Diversity in Rice [J]. *Molecular Plant*, 2017, 10(5): 685-694.
- [4] 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.
- [5] WANG Y, XIONG G, HU J, et al. Copy Number Variation at the *GL7* Locus Contributes to Grain Size Diversity in Rice [J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(8): 944-948.
- [6] WANG S, 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.
- [7] MAO H, SUN S, YAO J, 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.
- [8] SUN S, WANG L, MAO H, et al. A G-Protein Pathway Determines Grain Size in Rice [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 851.
- [9] SI L, CHEN J, HUANG X, et al. *OsSPL13* Controls Grain Size in Cultivated Rice [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(4): 447-456.
- [10] YU J, XIONG H, ZHU X, et al. *OsLG3* Contributing to Rice Grain Length and Yield was Mined by Ho-LAMap [J]. *BMC Biol*, 2017, 15(1): 28.
- [11] HU J, WANG Y, FANG Y, et al. A Rare Allele of *GS2* Enhances Grain Size and Grain Yield in Rice [J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(10): 1455-1465.
- [12] CHE R, TONG H, SHI B, et al. Control of Grain Size and Rice Yield by *GL2*-Mediated Brassinosteroid Responses [J]. *Nature Plants*, 2015, 2: 15195.
- [13] SONG X J, TAKESHI K, MADOKA A, et al. Rare Allele of a Previously Unidentified Histone H4 Acetyltransferase Enhances Grain Weight, Yield, and Plant Biomass in Rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(1): 76-81.
- [14] MICHELMORE R W, PARAN I, KESSELI R V. Identification of Markers Linked to Disease-Resistance Genes by Bulk Segregant Analysis: a Rapid Method to Detect Markers in Specific Genomic Regions by Using Segregating Populations [J]. *The Journal of Endocrinology*, 1991, 88(21): 9828-9832.
- [15] MURRAY M G, THOMPSON W F. Rapid Isolation of High Molecular Weight Plant DNA [J]. *Chemistry Open*, 1980, 8(19): 4321-4325.
- [16] 方小梅, 罗近瑜, 黄科慧, 等. 甜荞 *FePG1* 基因克隆及表达分析 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2021, 43(12): 49-56.
- [17] ZHU L, HU J, ZHU K M, et al. Identification and Characterization of *Shortened Uppermost Internode 1*, a Gene Negatively Regulating Uppermost Internode Elongation in Rice [J]. *Plant Molecular Biology*, 2011, 77(4-5): 475-487.
- [18] YIN H F, GAO P, LIU C W, et al. SUI-Family Genes Encode Phosphatidylserine Synthases and Regulate Stem Development in Rice [J]. *Planta*, 2013, 237(1): 15-27.
- [19] MA J, CHENG Z, CHEN J, et al. Phosphatidylserine Synthase Controls Cell Elongation Especially in the Uppermost Internode in Rice by Regulation of Exocytosis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153119.
- [20] 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): 10284-10289.
- [21] OKI K, KITAGAWA K, FUJISAWA Y, et al. Function of Alpha Subunit of Heterotrimeric G Protein in Brassinosteroid Response of Rice Plants [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, 4(2): 126-128.
- [22] ZHANG D, ZHANG M, LIANG J. *RGB1* Regulates Grain Development and Starch Accumulation through Its Effect on *OsYUC11*-Mediated Auxin Biosynthesis in Rice Endosperm Cells [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 585174.
- [23] LYU J, WANG D, DUAN P, et al. Control of Grain Size and Weight by the *GSK2-LARGE1/OML4* Pathway in Rice [J]. *The Plant Cell*, 2020, 32(6): 1905-1918.
- [24] SEGAMI S, KONO I, ANDO T, et al. Small and round Seed 5 Gene Encodes Alpha-Tubulin Regulating Seed Cell Elongation in Rice [J]. *Rice*, 2012, 5(1): 4.