

长穗颈温敏核不育水稻穗颈节间伸长与内源激素的关系

肖辉海*

湖南文理学院生命科学系, 湖南常德 415000

摘要: 以水稻品种‘长选3S’为研究对象, 以‘培矮64S’为对照, 检测幼穗不同发育时期水稻穗颈节间中 GA_1 、IAA、Z、ZR和ABA含量变化的结果表明, 从二核期至始花后第3天, ‘长选3S’穗颈节间中的 GA_1 和IAA含量先升后降, 三核期出现峰值, ‘长选3S’穗颈节间中的 GA_1 和IAA含量分别比‘培矮64S’高6.5~10.6倍和9.5~26.9倍。在二核期和三核期, ‘长选3S’穗颈节间中 GA_1/ABA 和 IAA/ABA 比值比‘培矮64S’高, 其 $(Z+ZR)/ABA$ 比值稍高, 而Z+ZR和ABA含量均比其低。这些结果表明水稻长穗颈基因还可能通过调节激素之间平衡而控制水稻的茎伸长生长的。

关键词: 水稻; 温敏核不育水稻; 长穗颈; 节间伸长; 内源植物激素

Relationship between Uppermost Internodes Elongation of TGMS Rice with *eui* Gene and Endogenous Plant Hormones

XIAO Hui-Hai*

Department of Life Sciences, Hunan College of Arts and Science, Changde, Hunan 415000, China

Abstract: In this paper, endogenous gibberellin A_1 (GA_1), indole acetic acid (IAA), zeatin (Z), zeatin riboside (ZR) and abscisic acid (ABA) contents of uppermost internodes were analyzed at different panicle development stages, rice ‘Changxuan 3S’ with *eui* gene was used as materials with a control of ‘Pei’ ai 64S’. The results showed that during binucleate stage to the 3rd day after anthesis, GA_1 and IAA contents of uppermost internodes in ‘Changxuan 3S’ with *eui* gene increased immediately, and then decreased, the content peaks of GA_1 and IAA were observed at trinucleate stage. The significant increasing GA_1 and IAA contents in uppermost internodes were observed in ‘Changxuan 3S’ with *eui* gene, about 6.5–10.6 times and 9.5–26.9 times more than those in the control ‘Pei’ ai 64S’, respectively. During binucleate to trinucleate stage, GA_1/ABA and IAA/ABA ratios were more higher, $(Z+ZR)/ABA$ ratios were less higher, whereas ABA and Z+ZR contents were more lower than those in ‘Pei’ ai 64S’. The results showed that *eui* gene in rice could adjust balance between endogenous hormone and elongated uppermost internodes rapidly.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); thermo-sensitive genic male-sterile (TGMS) rice; elongated uppermost internode (*eui*); internode elongation; endogenous plant hormone

水稻隐性高秆基因 *eui* (elongated uppermost internode) 是能使水稻最上节间(即穗颈节间)明显伸长的隐性单基因, 是 Rutger 和 Carnahan (1981) 最先在粳稻中发现并命名的。*EUI* 基因在育种中的应用, 主要是选育不包穗或少包穗的长穗颈不育系(申宗坦等1987; 何祖华和申宗坦1991; 梁康迳等1992) 和高秆隐性恢复系(Virman等1988), 从而达到种子生产过程中不用或少用赤霉素, 提高种子的产量和质量, 降低成本和减少环境污染的目的。*EUI* 转入籼型雄性核不育系育成穗颈核不育系时, 可以“模拟”外源喷施赤霉素(GA_3)的作用, 促使籼稻不育系穗颈节间的显著伸长, 这从遗传学上基本解除了水稻雄性核不育系中普遍存在的包穗缺陷的问题

(申宗坦等1987; 杨仁崔等2002)。在长穗颈核不育系推广到生产应用的同时, 探索长穗颈核不育水稻穗颈节间伸长生长的生理机制, 将有助于了解长穗颈水稻独特的生物学特性, 从而指导以长穗颈核不育系为基础的种子生产技术和此类水稻的育种技术。

此外, 何祖华和李德葆(1994)的研究表明, 带

收稿 2008-04-09 修定 2008-05-29

资助 湖南省自然科学基金(06JJ5042)和湖南省教育厅科研项目(04C417)。

致谢 植物激素的提取和测定得到湖南农业大学植物激素重点实验室萧浪涛先生的指导。

* E-mail: xhh-07@126.com; Tel: 0736-7186128

有长节间 *eui* 基因的‘珍长A’, 不论在苗期还是抽穗期, 其对 GA_3 的敏感性均高于‘珍汕97A’, 含有 *eui* 基因的水稻苗期至抽穗期 GA_3 含量逐步上升, 且高于含有其他株高基因的水稻, IAA 含量也以 *eui* 稻株为最高, 而 ABA 含量则低。季兰等(2005)的研究表明, 在抽穗期, 含 *eui* 基因的‘协青早’保持系(‘XeB1’和‘XeB2’)幼穗和剑叶中的 GA_1 含量显著增加, 分别约为对照‘协青早B’的16倍和3.4倍。通过对光温敏核不育系‘培矮64S’进行辐射诱变筛选得到的长穗颈光温敏核不育突变株(周广洽等2000, 后命名为‘长选3S’), 是育性更稳定、不育临界温度低的新株系(徐孟亮等1999)。此种不育系的长穗颈性状由一对隐性 *eui* 基因控制, 不育临界温度为22℃左右(梁满中等2004)。有关此种长穗颈光温敏核不育水稻中 *eui* 基因表达的温度条件、时空规律以及穗颈节间伸长的细胞学机制已有较深入的研究(肖辉海等2005; 钟卫华等2005; 肖辉海2007), 但关于此种不育系穗颈节间伸长过程中的内源激素含量变化尚未见报道。本文以长穗颈光温敏核不育水稻品种‘长选3S’为材料, 以其亲本光温敏核不育水稻‘培矮64S’为对照, 检测两者幼穗不同发育时期的穗颈节间(即最上节间)中 GA_1 、IAA、ZR、Z、ABA 的含量变化, 阐明长穗颈光温敏核不育水稻穗颈节间伸长生长与内源植物激素之间的关系, 以揭示长穗颈光温敏核不育水稻穗颈节间伸长的生理机制。

材料与方 法

水稻(*Oryza sativa* L.)长穗颈光温敏核不育系‘长选3S’和光温敏核不育系‘培矮64S’均由湖南师范大学生命科学学院提供。

水稻‘长选3S’和‘培矮64S’于2007年5月15日播种, 6月12日移栽于盆栽桶中, 每桶12株, 水肥、防治病虫害按常规管理。按丁颖(1961)、杨文钰和屠乃美(2003)书中的划分方法确定幼穗分化时期。材料于幼穗分化的花粉母细胞形成期置入人工控温冷水池中(陈良碧等2002), 自然长日照(每天照光14.3~14.1 h), 水温为25℃, 连续处理10 d后移回自然条件下。在幼穗分化的二核期、三核期、始花期和始花后第3天, 用2%碘-碘化钾溶液染色, 在显微镜下检查花粉育性, 分别取‘长选3S’和‘培矮64S’花粉败育率达99%的单株各30

个测量穗颈节间长度, 然后进行统计学分析。

为避免因花粉育性波动对穗颈节间激素水平的影响, 在幼穗分化的二核期、三核期、始花期和始花后第3天, 取花粉败育率达99%的单株穗颈节间经液氮冷冻和真空冷冻干燥后放入-80℃超低温冰箱中保存备用。

内源激素的提取和测定采用王若仲等(2002)文中改进的高效液相色谱法。准确称取冻干样品0.5 g左右(精确到0.1 mg), 分4次(分别为5 mL、2 mL、2 mL和2 mL)加入预冷的80%甲醇, 累计为11 mL, 在弱光下冰浴中研磨成匀浆, 4℃冷藏箱中浸提过夜(约15 h, 注意避光), 并不断搅拌。于4

下以3 000×g离心10 min, 取上清液, 沉淀加入2 mL预冷的80%甲醇后旋涡振荡5 min, 再离心(3 000×g, 10 min, 4℃), 取上清液, 沉淀重复上述操作一次后丢弃, 合并上清液, 然后将其真空冷冻、离心、浓缩除去甲醇, 加入8 mL醋酸铵(0.1 mol·L⁻¹, pH 9.0)复溶, 离心(16 000×g, 20 min), 上清液经过聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)柱和二乙基氨基乙基交联葡聚糖凝胶(DEAE sephadex A-25)柱, 以Sep-PakC₁₈小柱(Classical, Waters公司生产)分别收集细胞分裂素类激素和酸性激素, 再以50% (体积分数)甲醇水溶液洗脱后进行高效液相色谱分析。所用液相色谱仪型号为Agillon1100, 色谱条件为Waters C₁₈反相柱(4.6 mm i.d.×250 mm, 5 μm), 柱温35℃, 流动相为甲醇-水-乙酸(体积比为45:54.2:0.8)溶液, 流速1.0 mL·min⁻¹, 进样量20 μL, 检测波长254 nm, 采用外标法定性, 峰面积法定量, 测定重复3次。

结果与讨论

1 ‘长选3S’穗颈节间的伸长生长

在幼穗分化的二核期, ‘长选3S’与‘培矮64S’穗颈节间长度差异不明显, *t* 检验没有达到显著水平。从二核期开始, ‘长选3S’穗颈节间伸长的速度快于‘培矮64S’, 而由三核期至始花期, ‘长选3S’穗颈节间伸长的速度显著快于‘培矮64S’, 此时期‘长选3S’穗颈节间伸长20.1 cm, 伸长的长度占定长(即始花后第3天的穗颈节间长度)后穗颈节间总长度的55.22%。而对照‘培矮64S’穗颈节间仅伸长8.1 cm, 伸长的长度占定长后穗颈节间总长度的43.78%, 从幼穗分化的三核期至始花期, ‘长选3S’穗颈节间伸长的长度是‘培矮64S’的约2.5倍, 从

始花期至始花后第3天两者节间伸长速度基本上一致(表1)。由此可知,从二核期开始‘长选3S’穗颈节间伸长快于‘培矮64S’,此后伸长速度不断加快,由三核期至始花期穗颈节间的伸长速度达到最大。这种长穗颈 *eui* 基因的表达体现为最上节间(即穗颈节间)的伸长,从遗传学上解除了水稻不育系的包颈,不育系的穗和颖花即可以抽出剑叶叶鞘,不育系开花时的异交特性得到改善,柱头外露率有所提高。这有利于提高杂交制种的产量和降低制种成本,种子质量提高,又可减少喷施 GA_3 对环境的污染。

表1 不同发育时期幼穗的穗颈节间长度比较

Table 1 Lengths of the uppermost internodes at different development stages of rice panicle

幼穗发育时期	穗颈节间长/cm	
	‘长选3S’	‘培矮64S’
二核期	2.5±0.12	2.0±0.13
三核期	13.7±0.85*	8.7±0.47
始花期	33.8±2.16**	16.8±1.57
始花后第3天	36.4±2.25**	18.5±1.98

* 和 ** 分别为 *t* 检验达 0.05 和 0.01 显著水平。

2 ‘长选3S’穗颈节间的内源激素含量变化

(1)从幼穗分化的二核期至始花后第3天,长穗颈光温敏核不育水稻‘长选3S’与对照‘培矮64S’穗颈节间中的 GA_1 含量变化趋势基本上一致,均表现为先升后降,其中以三核期含量为最高。但在二核期、三核期、始花期和始花后第3天,‘长选3S’穗颈节间中的 GA_1 含量均明显高于对照‘培矮64S’(图1)。 GA_1 是植物体内促进茎伸长的赤霉素。有些水稻高、矮秆突变体的突变表型即源于体内 GA_1 水平的变化。如 Choi 等(1995)报道,具有 *dy* 基因或 *dx* 基因的粳稻矮秆品种‘Waito-C’和‘Tanginbozu’体内 GA_1 水平较低,5叶期两者的幼嫩叶鞘中 GA_1 仅为常规品种的10%;而具有隐性高秆 *eui* 基因的水稻‘高秆珍汕97’,抽穗期的穗颈节间中 GA_1 含量明显高于高秆‘二九丰’以及带矮秆和半矮秆基因型的水稻(何祖华和李德葆 1994)。从二核期至始花后第3天,长穗颈 *eui* 水稻‘长选3S’穗颈节间伸长的长度约是对照‘培矮64S’的2.1倍(表1),其穗颈节间中的 GA_1 含量则是其6.5~10.6倍,说明

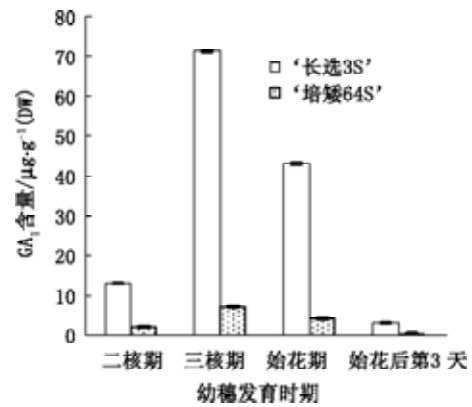


图1 不同发育时期幼穗的穗颈节间中 GA_1 含量变化

Fig.1 Changes of GA_1 contents in uppermost internodes at different development stages of rice panicle

长穗颈光温敏核不育系在穗颈节间伸长生长过程中, *eui* 基因可能是通过调节穗颈节间中的 GA_1 含量而促进节间伸长的。

(2)从二核期至三核期,长穗颈光温敏核不育水稻‘长选3S’与对照‘培矮64S’穗颈节间中的 IAA 含量呈逐步上升趋势,始花后逐步下降,两者的变化趋势基本上一致。但在二核期、三核期、始花期和始花后第3天的长穗颈光温敏核不育水稻‘长选3S’穗颈节间中的 IAA 含量则是对照‘培矮64S’的9.5~26.9倍(图2)。这些结果表明,从二核期至始花后第3天,IAA 的变化与 GA_1 的相似,显示两者之间可能有一定的交互作用。因此可以认为,在穗颈节间伸长生长过程中,长穗颈光温敏核不育水稻的 *eui* 基因可能是同时调节 GA_1 和 IAA 而

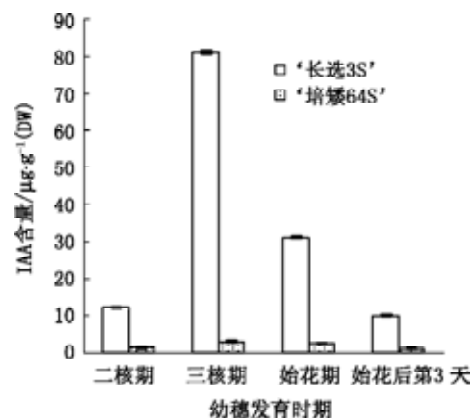


图2 不同发育时期幼穗的穗颈节间中 IAA 含量变化

Fig.2 Changes of IAA contents in uppermost internodes at different development stages of rice panicle

促进穗颈节间伸长的。

(3) ‘长选3S’和‘培矮64S’穗颈节间中的Z+ZR含量变化趋势基本上一致, 且与GA₁和IAA的含量变化规律相似。但在二核期、三核期、始花期和始花后第3天, ‘长选3S’穗颈节间中的Z+ZR含量均稍低于对照(图3)。一般来说, Z和ZR主要是促进细胞分裂的, 从二核期至始花后第3天, ‘长选3S’穗颈节间伸长生长的速度快于对照‘培矮64S’(表1), 表明此时期‘长选3S’穗颈节间细胞分裂的速度比较快, 但其穗颈节间中的Z+ZR含量却低, 其原因尚待进一步研究。

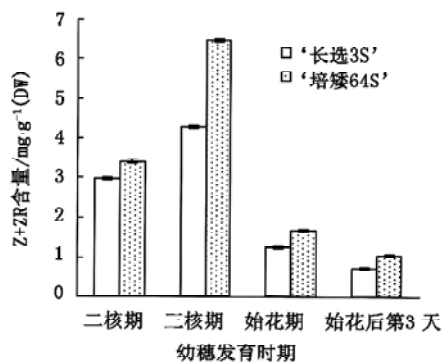


图3 不同发育时期幼穗的穗颈节间中Z+ZR含量变化
Fig.3 Changes of Z+ZR contents in uppermost internodes at different development stages of rice panicle

(4)从二核期至始花期‘长选3S’和‘培矮64S’穗颈节间中的ABA含量逐步下降, 从始花期至始花后第3天逐步上升。但在二核期、三核期、始花期和始花后第3天, ‘长选3S’穗颈节间中的ABA含量均低于对照水稻‘培矮64S’(图4)。通常认为, ABA对水稻的茎节间伸长有抑制作用。宋平等(1998)报道, 携有半矮秆基因的水稻品种其内源ABA含量显著高于高秆品种, 且水稻的株高、苗高与ABA含量呈显著负相关; ABA可抑制GA₁诱导的深水稻茎节间伸长, ABA浓度达100 μmol·L⁻¹时, GA₁诱导节间伸长的效应即完全被抑制(Hoffmann-Benning和Kende 1992)。本文中含*eui*基因的光温敏核不育水稻‘长选3S’穗颈节间中的ABA含量低于对照‘培矮64S’, 表明在长穗颈光温敏核不育水稻穗颈节间伸长生长过程中, *eui*基因可通过调节穗颈节间中GA₁和IAA水平, 提高节间的GA₁和IAA含量, 以及同时调节穗颈节间的ABA水平, 降低节

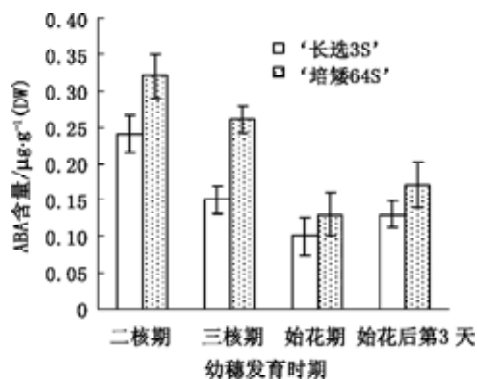


图4 不同发育时期幼穗的穗颈节间中ABA含量变化
Fig.4 Changes of ABA contents in uppermost internodes at different development stages of rice panicle

间的ABA含量, 三者协同作用促进节间伸长。

(5)在幼穗分化的二核期至始花后第3天, 长穗颈光温敏核不育水稻‘长选3S’穗颈节间中的GA₁/ABA、IAA/ABA比值变化趋势分别与GA₁和IAA含量变化趋势基本上一致, 且均明显比对照‘培矮64S’的高。尽管在幼穗分化的二核期至始花后第3天长穗颈光温敏核不育系‘长选3S’穗颈节间中的Z+ZR含量均比对照水稻低, 但在穗颈节间伸长生长的关键时期(即二核期至三核期)却比对照水稻的(Z+ZR)/ABA比值高(图5~7), 这可能是激素之间交互作用的结果。

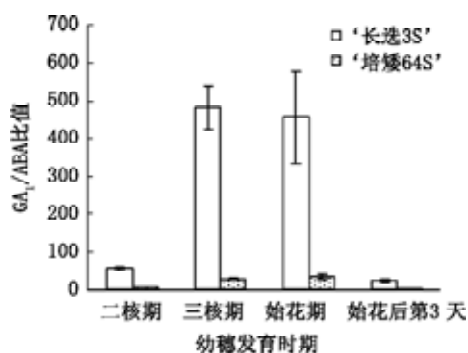


图5 不同发育时期幼穗的穗颈节间中GA₁/ABA比值变化
Fig.5 Changes of GA₁/ABA ratio in uppermost internode at different panicle development stages of rice panicle

Hoffmann-Benning和Kende(1992)报道, 深水稻最上节间伸长源于乙烯调节的GA₁/ABA比率的增加。季兰等(2005)也报道, 抽穗期间含*eui*基因的‘协青早’保持系的最上节间平均长度比不含*eui*基因的水稻增长20~25 cm, 而其剑叶中的ABA含

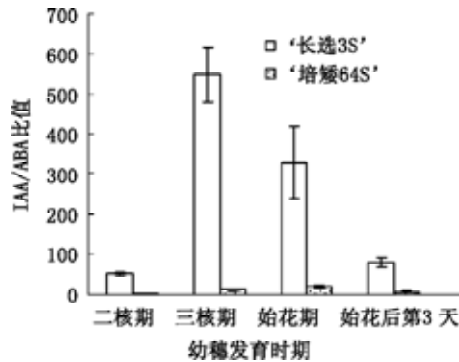


图6 不同发育时期幼穗的穗颈节间中 IAA/ABA 比值变化
Fig.6 Changes of IAA/ABA ratio in uppermost internodes at different development stages of rice panicle

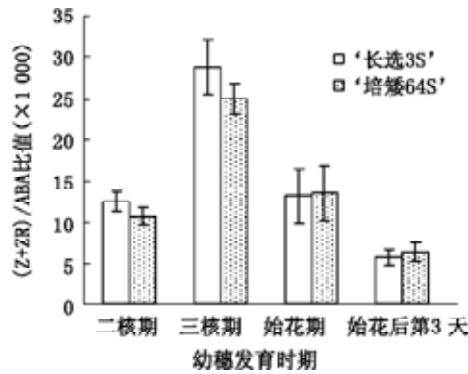


图7 不同发育时期幼穗的穗颈节间中
(Z+ZR)/ABA 比值变化

Fig.7 Changes of (Z+ZR)/ABA ratio in uppermost internodes at different development stages of rice panicle

量并不比对照水稻那样下降, 其节间和稻穗中的 ABA 含量甚至比不含 *eui* 基因的高, 剑叶和稻穗中的 GA_1/ABA 也比其有增加。这些结果均表明水稻株高基因还可能是通过调节激素之间平衡而控制水稻的茎伸长生长的。

参考文献

陈良碧, 梁满中, 姜维民, 徐孟亮(2002). 光温敏核不育水稻繁殖和鉴定设备. 中国专利: CN01257528.3
丁颖(1961). 中国水稻栽培学. 北京: 中国农业出版社
何祖华, 李德葆(1994). 不同生育期水稻株高基因对 GA_3 敏感性

及对内源激素含量的调节. 植物生理学通讯, 30 (3): 170~174
何祖华, 申宗坦(1991). 水稻穗伸出度的遗传和不育系改良. 中国水稻科学, 5 (1): 1~6
季兰, 杨淑琴, 马洪丽, 杨仁崔(2005). 长穗颈(*eui*)水稻上部节间伸长与植物激素的关系. 应用与环境生物学报, 11 (6): 660~664
梁康逢, 王乃元, 杨仁崔(1992). 水稻穗颈伸出度的遗传及其在育种上的应用. 福建农学院学报, 21 (4): 380~385
梁满中, 钟卫华, 徐孟亮, 陈良碧(2004). 长穗颈温敏核不育水稻双低培 *eS* 遗传特性的研究. 作物学报, 30 (8): 811~815
申宗坦, 杨长登, 何祖华(1987). 消除籼型野败不育系包颈现象的研究. 中国水稻科学, 1 (2): 95~99
宋平, 高红胜, 曹显祖, 谢迎兰(1998). 不同籼稻品种的矮生性与内源 ABA 水平及其结合蛋白的关系. 西北植物学报, 18 (3): 380~385
王若仲, 萧浪涛, 简万煌, 曹庸, 卜晓英(2002). 亚种间杂交稻内源激素的高效液相色谱测定法. 色谱, 20 (2): 148~150
肖辉海(2007). 长穗颈温敏核不育水稻穗颈节间长度及细胞学观察. 热带亚热带植物学报, 15 (3): 224~228
肖辉海, 钟卫华, 梁满中, 徐孟亮, 陈良碧(2005). 温度对隐性长穗颈温敏核不育水稻 *eui* 基因表达的影响. 中国农业科学, 38 (2): 222~227
徐孟亮, 陈良碧, 周广洽(1999). 培矮 64S 中不育临界温度低的新株系筛选. 生命科学研究, 3 (2): 170~174
杨仁崔, 张书标, 黄荣华, 杨蜀岚, 章清杞(2002). 高秆隐性杂交水稻(*e*-杂交水稻)的育种技术. 中国农业科学, 35 (3): 233~237
杨文钰, 屠乃美(2003). 作物栽培学各论. 北京: 中国农业出版社
钟卫华, 肖辉海, 梁满中, 陈良碧(2005). 隐性长穗颈温敏核不育水稻穗颈节间的细胞学观察. 作物学报, 31 (5): 592~595
周广洽, 陈良碧, 梁满中, 徐孟亮(2000). 长穗颈双低温敏核不育水稻的选育. 生命科学研究, 4 (4): 290~294
Choi YH, Yoshizawa K, Kobayashi M, Sakuri A (1995). Distribution of endogenous gibberellins in vegetative shoots of rice. Plant Cell Physiol, 36 (6): 997~1001
Hoffmann-Benning S, Kende H (1992). On the role of abscisic acid and gibberellin in the regulation of growth in rice. Plant Physiol, 99: 1156~1161
Rutger JN, Carnahan HL (1981). A fourth element to facilitate hybrid cereal production — a recessive tall in rice. Crop Sci, 21: 373~376
Virmani SS, Dalmacio RD, Lopez MT (1988). *eui* gene for elongated uppermost internode transferred to *indica* rice. Internat Rice Res Newsl, 13 (6): 6