

# 耐旱基因 PC2300 AF1 在寒地粳稻上的功能验证

王秋菊

(黑龙江省农科院 耕作栽培研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:** 对转入耐旱基因 PC2300 AF1 水稻的 T<sub>1</sub> 代和 T<sub>2</sub> 代材料进行干旱胁迫试验, 验证寒地转基因水稻是否具有耐旱节水功能。结果表明: 供试 52 份材料耐旱性不同, 水稻有效穗、穗粒数、千粒质量均表现不同, 与对照相比, 有 3 份材料未结实, 有 20 份材料产量高于对照, 29 份材料产量下降, 不同材料间产量差异达到显著水平。

**关键词:** PC2300 AF1 基因; 水稻; 耐旱性; 功能验证

中图分类号: S511.034 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)03-0434-05

## Functional Verification of Drought Tolerance Gene PC2300 AF1 in Japonica Rice in Cold Regions

WANG Qiu-ju

(Institute of Tillage and Cultivation, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

**Abstract:** The T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> generations of rice with transferred PC2300 AF1 were stressed with drought to verify whether the transgenic rice in cold regions had drought resistance and water saving function. The results showed that the drought tolerance of the 52 trial transgenic materials was different, their effective spikes, grain number per spike, grain weight were different, compared with the CK. Three materials did not set seeds, The yields of 20 materials were higher than that of the CK, and those of 29 materials were lower than that of the CK. The yield difference among the materials reached a significant level.

**Keywords:** PC2300 AF1 gene; rice; drought tolerance; function verification

水资源短缺是目前全球公认的焦点问题之一, 我国人均水资源占有量(2 300 m<sup>3</sup>) 仅为世界人均量的四分之一, 是世界 13 个最贫水国家之一<sup>[1-2]</sup>。水资源地理分配不均、季节性分布不均, 加剧了干旱对作物造成的灾害, 采用各种栽培、育种措施减少干旱对作物造成的灾害是目前亟待解决的问题。抗旱育种是减少作物用水、抵御旱灾的有效途径, 基因工程手段推动了抗旱品种选育及选育进程, 为育种工作做出了巨大贡献<sup>[3-5]</sup>。本研究以寒地稻区水稻为受体, 由中科院遗传与生物研究所谢旗课题组转入抗旱基因<sup>[6]</sup>, 采用农杆菌介导法进行了水稻的遗传转化, 在分子检测证明 PC2300 AF1 基因已整合到水稻基因组中并表达的基础上, 对转基因后代材料进行了干旱胁迫试验。研究是否由于 PC2300 AF1 基因的导入而提高了水稻的耐旱能力, 为通过转基因手段培育抗旱品种提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

转基因受体材料为松粳 9 的 T<sub>1</sub> 代材料 34 份, T<sub>2</sub> 代材料 2 份; 转基因受体为哈 04-29 的 T<sub>1</sub> 代材料 16 份。转基因株系具体编号如表 1。

收稿日期: 2012-02-01 修回日期: 2012-02-23

基金项目: 黑龙江省省长基金(2009HSJ-A-2)和哈尔滨市创新工程项目(2010RFQYN112)

作者简介: 王秋菊(1978—), 女, 助理研究员, 博士生, 主要从事水稻耕作栽培研究, E-mail: bqjwang@126.com。

表 1 转基因后代材料编号  
Tab.1 Numbers of genetically modified offspring materials

试验编号 Tested numbers	转基因株系 Genetically modified strain	试验编号 Tested numbers	转基因株系 Genetically modified strain
1	PC2300 AF1 松 T1-1	27	PC2300 AF1 松 T1-61
2	PC2300 AF1 松 T1-2	28	PC2300 AF1 松 T1-65
3	PC2300 AF1 松 T1-3	29	PC2300 AF1 松 T1-69
4	PC2300 AF1 松 T1-4	30	PC2300 AF1 松 T1-70
5	PC2300 AF1 松 T1-12	31	PC2300 AF1 松 T1-71
6	PC2300 AF1 松 T1-15	32	PC2300 AF1 松 T1-72
7	PC2300 AF1 松 T1-18	33	PC2300 AF1 松 T1-73
8	PC2300 AF1 松 T1-19	34	PC2300 AF1 松 T1-74
9	PC2300 AF1 松 T1-20	35	PC2300 AF1 哈 T1-9
10	PC2300 AF1 松 T1-22	36	PC2300 AF1 哈 T1-10
11	PC2300 AF1 松 T1-23	37	PC2300 AF1 哈 T1-12
12	PC2300 AF1 松 T1-26	38	PC2300 AF1 哈 T1-14
13	PC2300 AF1 松 T1-27	39	PC2300 AF1 哈 T1-15
14	PC2300 AF1 松 T1-30	40	PC2300 AF1 哈 T1-16
15	PC2300 AF1 松 T1-37	41	PC2300 AF1 哈 T1-18
16	PC2300 AF1 松 T1-39	42	PC2300 AF1 哈 T1-19
17	PC2300 AF1 松 T1-43	43	PC2300 AF1 哈 T1-20
18	PC2300 AF1 松 T1-45	44	PC2300 AF1 哈 T1-23
19	PC2300 AF1 松 T1-48	45	PC2300 AF1 哈 T1-24
20	PC2300 AF1 松 T1-51	46	PC2300 AF1 哈 T1-26
21	PC2300 AF1 松 T1-53	47	PC2300 AF1 哈 T1-27
22	PC2300 AF1 松 T1-54	48	PC2300 AF1 哈 T1-30
23	PC2300 AF1 松 T1-55	49	PC2300 AF1 哈 T1-32
24	PC2300 AF1 松 T1-56	50	PC2300 AF1 哈 T1-33
25	PC2300 AF1 松 T1-57	51	PC2300 AF1 松 T2 1-1
26	PC2300 AF1 松 T1-58	52	PC2300 AF1 松 T2 3-1

1.2 试验方法

转基因植株耐旱性功能验证在黑龙江省农科院栽培所实验场抗旱池中进行，4月25日播种，5月30日插秧于抗旱池中，每个材料插秧10株，插秧规格30cm×10cm，每个材料设3次重复。于返青后开始抗旱胁迫处理，处理方法采用全生育期不灌水，直至成熟，如遇降雨则以抗旱棚遮挡，以受体材料松粳9和哈04-29为对照材料。

1.3 调查指标与方法

从水稻返青后开始水份胁迫处理，排除土壤表面水层，并进行土壤水势的测定，土壤水势采用全程电脑监测，监测时间为每天14:00。

于水稻成熟期取样，每份材料两边各去掉2株，取中间连续6株，3次重复共18株带回室内考种，调查株高、有效穗数、穗粒数、千粒质量、空瘪率及单株产量。

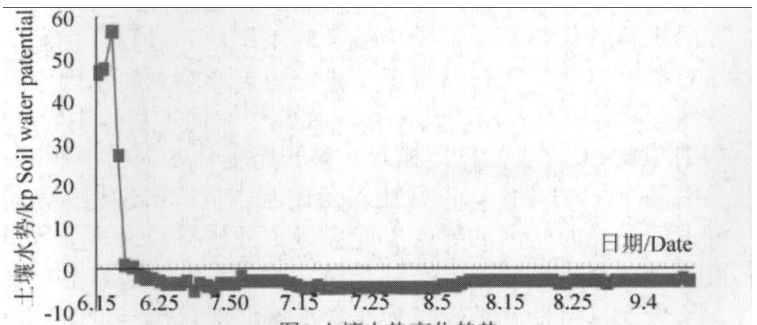


图1 土壤水势变化趋势  
Fig.1 Change trend of soil water potential

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤水份调查分析

从图1中看出,6月15日胁迫开始后,土壤水势迅速下降,在6月20日土壤水势降为0,之后土壤水势一直保持在-5kp左右,保证了土壤处于干旱状态,直至水稻成熟。

### 2.2 各株系产量与产量性状调查分析

供试的52份T1、T2代株系材料有3份未结实,结实的各株系及对照材料间在株高、有效穗数、实粒数、千粒质量、空瘪率和单株产量间差异达到极显著水平(表2)。

### 2.3 农艺性状变异幅度分析

干旱胁迫抑制了水稻的整体生长发育,与正常灌水条件下受体材料的各项指标表现均下降。但同样在干旱胁迫下,各株系材料与对照间各项指标表现各不相同。

从株高来看,各株系材料与对照材料相比,株高有增有减,增高幅度在0%~5%有24份,增高幅度在5%以上有6份。

单株有效穗数与对照相比也有增有减,增加幅度在0%~10%有12份,增加幅度在10%~20%的有8份,增加幅度在20%~30%和30%以上各有6份。

水稻实粒数与对照相比在不同幅度间均有,变化幅度在15%以上和5%~10%各有1份,在10%~15%、0~5%各有6份。

与对照相比,空瘪率降低的株系较多,共30份,空瘪率比对照降低50%以上的有5份,下降幅度在50%~30%、30%~10%分别为9份和10份,下降幅度在10%以下为6份。

各株系在干旱胁迫下千粒质量差异达显著水平,但与对照相比,变化幅度不大,与对照相比千粒重增加幅度在0%~1%、1%~2%和2%以上的份数分别为12、4、11份。

与上述各项指标相比,水稻产量的高低应是判断水稻抗旱性的主要指标。与对照相比,有20份株系材料产量高于对照,有29份材料产量下降。增产幅度在20%以上的有6份,增产幅度在10%~15%、15%~20%的各有4份,增产幅度在0~5%、5%~10%之间也各有3份,具体试验材料见表3。

水稻耐旱性强弱主要看其产量的高低,其它农艺性状在水稻全生育期干旱胁迫条件下的表现也是不容忽视的衡量指标,只有进行各项指标的综合评价,才能更精确的验证各株系材料的抗旱性。从上面分析中看出,在产量提高的前提下,各株系的株高、有效穗数、穗粒数、千粒质量均表现升高、空瘪率表现下降趋势的材料共有10份,试验编号分别为2、7、9、12、13、16、31、37、40、43。

## 3 结论与讨论

转基因水稻不同株系间耐旱性不同,供试的材料中T1代表了一定的耐旱性,与姜静等<sup>[7]</sup>研究的在烟草上表现代数一致。以松粳9为受体材料的株系有20.5%与对照相比具有耐旱性,以哈04-29为受体材料的株系有18.75%与对照材料比具有耐旱性。与传统的杂交育种相比,转基因育种具有育种目的明确、时空限制少、育种年限短等突出优点<sup>[8-9]</sup>,耐旱基因PC2300 AF1在寒地粳稻上的功能已得到初步验证。但也有一部分材料未结实和产量下降,可能有以下几方面原因,第一是转基因方法农杆菌介导的水稻转化体系需要一个漫长的组织培养过程,在培养过程中可能会发生体细胞变异,嵌合体等,这将影响早期世代材料形态变异,也会影响到转基因水稻产量<sup>[10-12]</sup>;第二作物产量性状是一个复杂的数量性状,由许多基因协同作用控制<sup>[13]</sup>,而本实验中农杆菌介导的T-DNA转化体系实质是将带有靶基因的T-DNA片段随机地插入、整合至受体基因组中(ictal.1994;Wuctai.2003)。在这个过程中就难免会有某个(些)T-DNA正好插入到控制产量或产量相关基因之中,导致这些基因失活进而引起产量的变异;第三外源基因的导入可能会导致受体材料遗传上的不平衡性<sup>[14-15]</sup>,引起一系列的生理生化代谢紊乱,进而影响包括控制产量及相关性状在内的基因正常表达,这必将对产量性状造成影响。

作物抗旱性就是指作物在缺水条件下获得产量的能力<sup>[16]</sup>。在本研究中,笔者以绝对单株产量及结实率作为衡量作物抗旱性的指标,筛选出在干旱胁迫条件下产量明显优于对照的转基因材料,为利用转基因手段进行寒地粳稻抗旱育种提供借鉴依据。

表2 转基因水稻产量及产量性状分析

Tab.2 Analysis on yield and yield characters of genetically modified rice

序号 NO.	株高/cm Plant height	有效穗/(个·株 <sup>-1</sup> ) Effective ears	千粒质量/g 1000 seed weight	实粒数/个 Grain number	空瘪粒/个 Empty grain	单株产量/g Yield per plant
1	69.7	4.3	23.7	50.8	11.8	5.516
2	72.1	6.3	23.8	83.2	8.8	14.441
3	69.2	5.2	23.3	68.4	21	9.226
4	70.8	7.2	24.1	84.4	12.4	15.288
5	69.5	5.8	23.3	56.2	7.4	11.606
6	71.6	6.1	23.1	60.8	12.6	12.572
7	74.5	7.9	24.3	97.6	12.4	17.577
8	74.3	8.2	24.2	81.4	18.4	15.316
9	74.2	8.3	24.3	88.6	7.8	17.556
10	72.4	5.8	23.3	79.8	8	9.121
11	72.6	8.1	24.1	79.2	8.8	16.31
12	73.9	7.9	24.3	96	6.8	16.87
13	74.6	8.2	24.3	91.6	6.4	18.438
14	70.4	6.4	23.8	63.6	16	9.387
15	71.3	6.3	23.7	78.4	12.2	10.626
16	72.6	7.8	24.2	100.8	6.8	15.925
17	72.1	7.1	23.8	71.8	19.4	12.523
18	71.8	7.4	23.9	76	13.8	13.867
19	68.5	6.2	23.1	54.4	8	5.579
20	67.6	4.5	23.2	83	13.2	8.225
21	69.8	6.1	23.6	56.6	8.6	11.837
22	70.1	6.8	23.9	65.6	11.4	13.692
23	69.3	4.6	23.3	61.6	9.2	7.726
24	68.8	5.3	23.2	57.4	10.2	10.15
25	71.7	7.8	23.2	72.2	4	14.539
26	69.2	5.8	23.1	77.4	14.6	9.261
27	69.9	6.4	23.2	69.4	7.6	12.663
28	69.2	6.5	23.1	66.2	11.4	12.481
29	71.4	7.1	24.1	86.6	4.2	14.252
30	69.2	6.5	23.4	70.6	22.6	12.915
31	71.8	7.3	24.2	97.2	6.6	16.261
32	69.9	5.1	23.2	72.8	9.2	9.317
33	72.2	7.4	24.1	89.2	5	16.737
34	69.43	5.7	23.3	65.8	10	10.367
松粳 9(CK)	70.1	6.2	23.6	87.3	13.2	13.986
F	24.85**	36.69**	153.73**	41.06**	8.59**	118.52**
35	69.68	6.1	22.3	75	4.6	12.831
36	70.11	6.7	22.4	61.4	6.4	13.65
37	69.33	8.2	23.4	92.8	6.8	16.037
38	65.41	6.8	22.4	65	19.6	11.949
39	69.42	8.1	23.3	86	8.4	18.494
40	69.11	7.9	23.3	85.3	3.4	15.365
41	67.54	6.6	23	76.8	10.2	13.615
42	67.32	5.9	22.9	81.2	6.4	11.816
43	69.04	6.7	23.3	95.2	9.4	15.295
44	63.13	6.1	22.9	68	9.4	11.76
45	64.54	5.4	22.6	77.2	7.6	8.834
46	69.89	7.9	23.3	84.6	19	15.876
48	68.35	7.8	23.4	96.4	10.2	17.689
49	68.21	8.3	23.3	82	11.2	15.862
50	65.35	6.1	22.8	44	19.6	10.486
哈 04-29(CK)	71.3	6.4	22.4	86.7	11.9	14.084
F	25.58**	19.69**	13.25**	20.29**	19.39**	31.7**

\*表示差异达显著水平, \*\*表示差异达极显著水平。

\*mean significant difference, \*\*mean extremely significant difference.

表3 转基因水稻农艺性状变化幅度

项目 Item	变化幅度 Change range	试验编号 Tested numbers	份数 Copys
株高 Plant height	0~5%	2、4、6、10、11、14、15、16、17、18、22、25、29、31、 33、36、37、39、40、41、42、43、48、49	24
	5%以上	7、8、9、12、13、46	6
有效穗 Effective eras	0%~10%	2、14、15、19、22、27、28、30、36、41、43、44	12
	10%~20%	4、12、17、18、29、31、33、38	8
	20%~30%	7、16、25、40、46、48	6
	30%以上	8、9、11、13、37、49	6
实粒数 Grain number	0%~5%	9、13、33、39、40、46	6
	5%~10%	12	1
	10%~15%	7、31、37、43、48	5
空瘪率 Empty grain	15%以上	16	1
	-50%以上	13、25、29、35、40	5
	-50%~30%	2、5、9、12、16、19、21、27、31	9
	-30%~10%	1、2、22、23、24、28、34、37、39、45	10
千粒质量 1000 seed weight	-10%~0%	4、6、7、15、43、44	6
	0%~1%	1、2、14、15、17、21、36、39、40、43、46、49	12
	1%~2%	18、22、37、48	4
产量 Yield	2%以上	4、7、8、9、11、12、13、16、29、31、33	11
	0%~5%	2、25、29	3
	5%~10%	4、8、43	3
	10%~15%	16、40、46、49	4
	15%~20%	11、31、33、37	4
	20%以上	7、9、12、13、39、48	6

## 参考文献

- [1] 刘愿英,代世伟,范永贵,等.我国灌区农业水资源可持续利用问题探讨[J].干旱地区农业研究,2007,11,25(6):157-162.
- [2] 戴春胜,张明,魏延久.关于黑龙江省水资源配置总体布局问题的思考[J].黑龙江水利科技,2006,34(2):15-18.
- [3] Dubouzet J G, Sakuma Y, Ito Y, et al. OsDREB genes in rice, *Oryza sativa* L. encode transcription activators that function in drought, high salt and cold responsive gene expression[J]. Plant Journal, 2003, 33(4):751-763.
- [4] 刘华玲,马欣荣.植物抗旱分子机理研究进展[J].世界科技研究与发展,2006,28(6):33-40.
- [5] Schramm F, Larkindale J, Kiehlmann E, et al. A cascade of transcription factor DR EB2A and heat stress transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response of *Arabidopsis* [J]. Plant Journal, 2008, 53(2):264-274.
- [6] Ting G, Yao R W, Qi X, et al. OsSDIR1 overexpression greatly improves drought tolerance in transgenic rice [J]. Plant Mol Biol, 2011(76):145-156.
- [7] 姜静,于影,赵鑫.转 LEA 基因烟草的耐盐性分析[J].生物技术,2006,2,16(1):16-20.
- [8] Roldán A, Díaz-Vivancos P, Hernández JA, et al. Superoxide dismutase and total peroxidase activities in relation to drought recovery performance of mycorrhizal shrub seedlings grown in an amended semiarid soil [J]. Plant Physiology, 2008, 165(7):715-722.
- [9] 石运庆,牟秋焕,李鹏. DNA 分子标记及其在作物遗传育种中的应用[J].山东科学,2005,6,18(2):22-28.
- [10] Stam M, Mol J N, Kooter J M. The silence of gene transgenic Plants. Ann Bot, 1997, 79:3-12.
- [11] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 1998, 10:1391-1400.
- [12] Chen H, Tang W, Xu C, et al. Transgenic indica rice plants harboring a synthetic cry2A\* gene of *Bacillus thuringiensis* exhibit enhanced resistance against lepidopteran rice pest [J]. Theor Appl Genet, 2005, 111:1330-1337.
- [13] Yoon D B, Kang K H, Kim H J, et al. Mapping quantitative trait loci for yield components and morphological traits in an advanced back cross population between *Oryza grandiglumis* and the *O. sativa japonica* cultivar Hwaseonghyeo [J]. Theor Appl Genet, 2006, 112:1052-1066.
- [14] Stempak J M, Solm K J, Chiang E P. Cell and stage of transformation-specific effects of folate deficiency on methionine cycle intermediates and DNA methylation in an in vitro model [J]. Carcinogenesis, 2005, 26:981-990.
- [15] 肖泽本.抗旱候选基因和启动子的水稻遗传转化分析和田间抗旱性鉴定[D].武汉:华中农业大学,2007:85-90.
- [16] Tumer N C. Further progress in crop water relations [J]. Adv Agron, 1997, 58:293-339.