

水稻颖壳发育基因 *AGL1* 的图位克隆与功能分析

冯莆淋 杨绮文 吴佳益 范鸣谦 程艳双 邱忠华 郭然 陈温福 王嘉宇*

(沈阳农业大学 水稻研究所/农业农村部东北水稻生物学与遗传育种重点实验室, 沈阳 110866; *通信联系人, email: wangjiayu@syau.edu.cn)

Map-based Cloning and Functional Characterization of *AGL1*, a Gene Regulating Lemma and Palea Development in Rice

FENG Pulin, YANG Qiwen, WU Jiayi, FAN Mingqian, CHENG Yanshuang, QIU Zhonghua, GUO Ran, CHEN Wenfu, WANG Jiayu*

(Rice Research Institute, Shenyang Agricultural University/Key Laboratory of Northeast Rice Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shenyang 110866, China; *Corresponding author, email: wangjiayu@syau.edu.cn)

Abstract: 【Objective】Rice lemma and palea development directly affects grain shape, pollination efficiency, yield and quality. This study identified mutants related to rice glume development, mapped and cloned the causal genes, and elucidated the molecular mechanisms by which the target genes regulate glume development, providing theoretical references for rice molecular breeding. 【Methods】The *agl1* mutant was obtained by EMS mutagenesis of *japonica* cultivar SN9816. Paraffin sectioning and scanning electron microscopy were used to observe the morphology of glumes and floral organs; pollen viability was assessed by I₂-KI staining. Map-based cloning delimited *AGL1*, candidate genes were sequenced, and conservation and diversity of the target gene were analyzed. A Foss grain analyzer was used to measure brown-rice quality parameters. 【Results】Compared with the wild-type SN9816, *agl1* showed more strongly curved lemmas with unchanged longitudinal length, inwardly sunken paleae, and significantly narrowed lemma and palea; the lemma almost completely enclosed the palea. *agl1* displayed abnormal lodicules, enlarged pistils and disordered stamens. Pollen activity and seed-setting rate were reduced. *AGL1* was fine-mapped to a 68.7-kb interval between Indel4 and Indel5 on chromosome 2. Sequencing seven ORFs in this region revealed a single-nucleotide mutation in *LOC_Os02g56610*, which encodes a DUF640-domain protein. The DUF640 family in rice harbors a conserved ALOG domain and diverse regulatory elements, suggesting roles in both floral morphogenesis and grain quality. Quality analysis showed increased brown-rice protein and free fatty acid content but decreased amylose and total starch content, leading to poorer eating quality. 【Conclusion】The *AGL1* gene functions as a pivotal regulator of rice lemma and palea development and grain quality; its loss-of-function disrupts hull morphogenesis, compromises pollen viability, and likely perturbs the grain-filling process, resulting in the concomitant deterioration of both yield and grain quality.

Keywords: aberrant rice lemma; grain shape; pollen viability; map-based cloning; eating quality; DUF640 family

摘要: 【目的】水稻颖壳发育直接影响籽粒形态、授粉效率、产量与品质。本研究通过鉴定水稻颖壳发育相关突变体,对突变性状基因进行定位克隆,阐明目标基因调控颖壳发育的分子调控机理,可为水稻分子育种提供理论参考。【方法】利用EMS诱变粳稻品种SN9816获得*agl1*突变体。通过石蜡切片、扫描电镜观察颖壳及花器官形态结构,碘-碘化钾染色法测定花粉活力。利用图位克隆技术对*AGL1*进行定位,对候选基因测序,同时分析目标基因的保守性和多样性。采用Foss谷物分析仪测定糙米品质参数。【结果】与野生型SN9816相比,突变体*agl1*的外稃弯曲程度更大,纵向长度没有变化,内稃向内凹陷,内、外稃宽度明显缩小,外稃极大程度包裹住内稃。突变体*agl1*的浆片形态异常,雌蕊增大,雄蕊排列紊乱;通过测定花粉活性发现,*agl1*的花粉活性降低,导致结实率下降。利用图位克隆的方法将*AGL1*定位在2号染色体标记Indel4与Indel5之间,物理距离为68.7 kb。对区间内的7个ORF(open reading frames)测序,发现*LOC_Os02g56610*在突变体中发生一个单碱基突变,该基因编码一个DUF640结构域蛋白。DUF640家族在水稻中具有保守的ALOG结构域和多样的表达调控元件,其突变可

收稿日期: 2025-09-23; 修改稿收到日期: 2025-10-27。

基金项目: 生物育种国家科技重大专项(2023ZD04022); 沈阳市自然科学基金(基础研究)资助项目(23-503-6-20)。

能不仅调控花器官形态建成,在稻米品质中还具有重要作用。米质测定结果表明,糙米蛋白质与游离脂肪酸含量升高,直链淀粉与总淀粉含量降低,导致食味品质下降。【结论】*AGL1* 基因是调控水稻颖壳发育和米质的关键因子,其功能缺失影响了稃壳形态建成,降低花粉活力,并可能干扰了籽粒灌浆过程,导致产量与品质双双劣变。

关键词: 水稻畸形颖壳;籽粒形态;花粉活性;图位克隆;食味品质;DUF640 家族

水稻(*Oryza sativa* L.)作为世界上最重要的粮食作物之一,其产量和品质直接关系到全球粮食安全。水稻的花和穗发育是决定其产量和品质的关键因素,禾本科植物花的结构单位是小穗和小花。在水稻中,小花具有独特的花器官,包括颖片、稃片和稃壳,以及雄蕊和雌蕊。深入研究其分子机制对于提高水稻产量和改良品质具有重要意义。分子遗传学和形态学研究表明,稃壳和雄蕊是与双子叶植物花瓣和雄蕊同源的器官。基于对双子叶植物(如拟南芥)花同源突变体的遗传和分子研究,科学家提出了 ABC 模型和修订的 ABCDE 模型,以解释花器官特异性的分子机制, A、B、C、D 和 E 类基因协同调控五轮花器官发育。ABCDE 模型在很大程度上也适用于水稻。水稻基因组包含四个 A 类基因、三个 B 类基因、两个 C 类基因、两个 D 类基因和至少五个 E 类基因,其中一些基因与拟南芥的 ABCDE 同源基因具有保守功能,例如 A 类基因 *OsMADS14*、*OsMADS15* 和 *OsMADS18*, B 类基因 *OsMADS16*、*OsMADS2* 和 *OsMADS4*, C 类基因 *OsMADS3* 和 *OsMADS58*, D 类基因 *OsMADS13* 和 *OsMADS21*, 以及 E 类基因 *OsMADS1*、*OsMADS7*、*OsMADS8* 和 *OsMADS34*。B 类基因主要与雄蕊发育及外稃的形成有关,并且在单子叶和双子叶植物中都是保守的^[1-6]。由此可知,花器官的特异性可通过 ABCDE 模型以及这五组基因的表达模式和它们编码蛋白的复杂相互作用来解释,这些决定了花器官的形态结构和空间排列模式^[7-9]。

近年来,随着分子生物学技术的不断发展,越来越多的基因被鉴定和克隆,这些基因在水稻花和穗发育中发挥着重要作用。例如 *DDF1* (*DWARF AND DEFORMED FLOWER 1*)基因编码一个 F-box 蛋白,其在水稻的营养生长和生殖生长中具有重要功能。*DDF1* 通过正向调控 B 类基因 *OsMADS4* 和 *OsMADS16* 的表达,以及负向调控雌蕊特化基因 *DL*(*DROOPINGLEAF*)的表达,来影响水稻花器官的类型特化和数量。除此之外,一些调控拟南芥中 ABC 基因表达的基因也被鉴定出来,包括 *UFO* (*Unusual Floral Organs*)和 *ASK1*(*Skp1-like 1*)。 *UFO* 编码一个 F-box 蛋白,主要调控 B 类基因^[10-13]。 *UFO* 功能丧失会导致第二和第三轮花器官的同源

异形转化,而对第一和第四轮的影响不大^[14-15]。 *ASK1* 在花器官规格方面与 *UFO* 表现出类似的效果。这两个基因编码的蛋白质相互作用,共同调控第二和第三轮的花器官身份。除了 ABCDE 模型外,转录因子等也能调控花器官结构,例如 *MFS2* (*MULTI FLORET SPIKELET2*)基因编码一个 MYB 转录因子,在 *mfs2* 突变体中,稃壳(palea)的结构特异性受到严重干扰,表现为退化或转化为类似颖壳(lemma)的器官,同时,所有花器官的数量均在不同程度上有所增加。由于花器官数量的增加以及额外形成的外稃样器官及内稃边缘区发育,部分 *mfs2* 小穗产生两朵小花。这些缺陷表明, *MFS2* 突变导致了稃壳结构的异常和小穗分生组织的部分丧失。 *MFS2* 作为一个转录抑制子,通过 C 端 EAR (Ethylene-Responsive Element Binding Factor-Associated Amphiphilic Repression)基序与水稻 TPL (TOPLESS)/TPR (TOPLESS-related proteins)共抑制子结合形成抑制复合体,在调控水稻花器官结构和小穗分生组织确定性方面发挥重要作用。尽管目前已鉴定出许多与水稻花和穗发育相关的基因,但其调控网络和分子机制仍需进一步探索^[16-17]。

尽管已有研究揭示了 *OsMADS1* 等 ABCDE 模型核心因子在花器官身份决定中的作用,但颖壳形态建成与籽粒灌浆、品质形成之间的协同调控机制仍不清晰。本研究在 SN9816 突变体库中获得了一个稳定遗传的畸形颖壳突变体 *agl1*。其功能缺失引起颖壳结构缺陷与花粉活力下降,最终造成产量与品质同时劣变。通过图位克隆鉴定到一个编码 DUF640 结构域蛋白的基因 *AGL1*。生物信息学分析结果进一步显示, DUF640 家族可能不仅调控花器官形态建成,在稻米品质中还具有重要作用。该结果明确了 *AGL1* 作为颖壳发育和稻米品质关键调控因子的生物学功能,可为高产优质水稻的分子设计提供新的理论靶点。

1 材料与方法

1.1 试验材料

利用甲基磺酸乙酯(ethylmethylsulfone, EMS)诱变粳稻品种 SN9816(SN9816)得到水稻畸形颖壳

突变体 *agll*。利用突变体 *agll* 与籼稻 IR36 进行杂交,构建 F₂ 代分离群体,材料种植于沈阳农业大学卡力玛实验站。

1.2 石蜡切片

将水稻颖壳在 FAA(50%乙醇,5%冰醋酸,5%甲醛)中于 4℃ 固定过夜,并在梯度酒精溶液中脱水。用二甲苯固定后,样品包埋在石蜡包埋剂(Sigma-Aldrich)中,并用旋转切片器(Leica)切成 8 μm 厚的切片。将制备好的组织切片染色,并在光学显微镜(Leica)下观察^[18]。

1.3 扫描电子显微镜

在开花期,分别选取突变体和野生型长势均匀的单株,将颖壳中的浆片放入固定液(固定液为 70%FAA 固定液,需添加少量甘油)中固定,利用扫描电子显微镜进行观察^[19-20]。

1.4 花粉活力测定

本研究采用碘-碘化钾法^[21-22]观察并记录单位视野下的染色率,根据染色情况算出花粉活力率。花粉活力分析参照冯九焕的方法^[23]。

1.5 产量及品质性状测定

成熟期按照平均有效穗数每个材料取 12 穴考种,计算结实率和千粒重。

收获剩余植株,脱粒后自然风干 3 个月,待含水量稳定后稻谷去壳,利用 Foss 谷物品质测定仪测定糙米的品质性状,3 次重复。

1.6 基因定位

根据 BSA 基因定位方法,在 F₂ 群体中选取正常颖壳和畸形颖壳各 15 株分别构建混池,选用均匀分布在 12 条染色体上的 232 对(包含 SSR、Indel)引物进行多态性筛选,找到与目的基因紧密连锁的标记后,利用 F₂ 群体进行基因定位。

1.7 家族基因分析

为鉴定水稻基因组中的 DUF640 家族基因,利用 EnsemblPlants 数据库(<https://plants.ensembl.org/index.html>)下载水稻 DUF640 家族基因的基因组序列、蛋白质序列和 CDS 序列。利用 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)、InterPro(<https://www.ebi.ac.uk/interpro>)数据库进行同源蛋白鉴定、进化及结构域分析。利用 MEME (<http://meme-suite.org>)数据库分析水稻 DUF640 蛋白的保守基序。提取水稻 DUF640 家族基因起始密码子(ATG)上游 2000 bp 的启动子序列,通过 PlantCARE(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html>)数据库预测顺式作用元件。通过 TBtools 软件鉴定分析水稻 DUF 家族基因成员。

1.8 数据分析

利用软件 Excel 2010 对以上测定的数据进行处理;运用 SPSS(Version 20.0 for Windows)进行统计检验分析, $P<0.05$ 时记为显著, $P<0.01$ 时记为极显著。

2 结果与分析

2.1 *agll* 突变体表型分析

与野生型 SN9816 相比,*agll* 突变体在营养生长阶段差异不显著,进入生殖生长后表现为植株略矮、穗长缩短和颖壳结构异常(图 1-A~C)。*agll* 突变体的颖壳外稃呈镰刀状外弯,内稃退化并向内凹陷(图 1-D~E)。成熟期突变体籽粒表面常呈开放状,颖壳不能有效包裹籽粒,导致颖壳无法正常闭合。剥除颖壳后,突变体籽粒明显小于野生型,形态趋于椭圆且不规则(图 1-F~I)。

突变体粒宽、粒厚和千粒重分别减少 25.7%、27.1%和 55.7%,结实率下降至 22.92%,每穴产量降低 74.8%(图 2)。

2.2 颖壳与花器官组织学观察

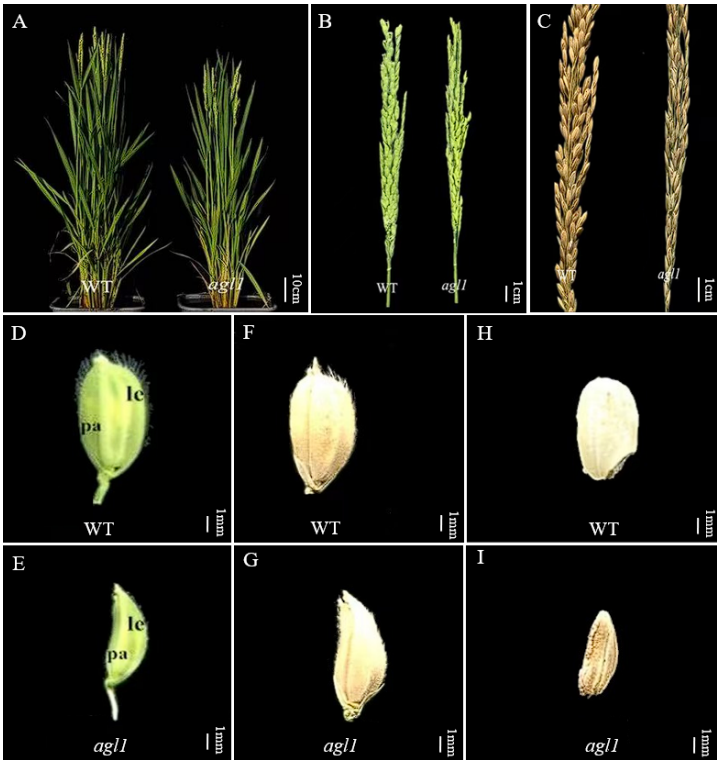
石蜡切片结果显示,*agll* 外稃纤维厚壁细胞层数显著增加,内稃细胞排列紊乱且厚度减小;雌蕊体积增大,雄蕊数目正常但排列无序(图 3)。扫描电镜观察发现,与野生型相比,突变体浆片基部较窄,形态异常(图 4)。

2.3 花粉活力与授粉效率

野生型的花粉饱满、染色率高,活性达 96.4%,突变体花粉染色率降至 88.5%,且花粉粒皱缩、着色不均(图 5)。结合颖壳张角减小与花药外露度降低,推断花粉活力下降与颖壳机械障碍共同导致授粉效率低下,进而引起结实率急剧下降。

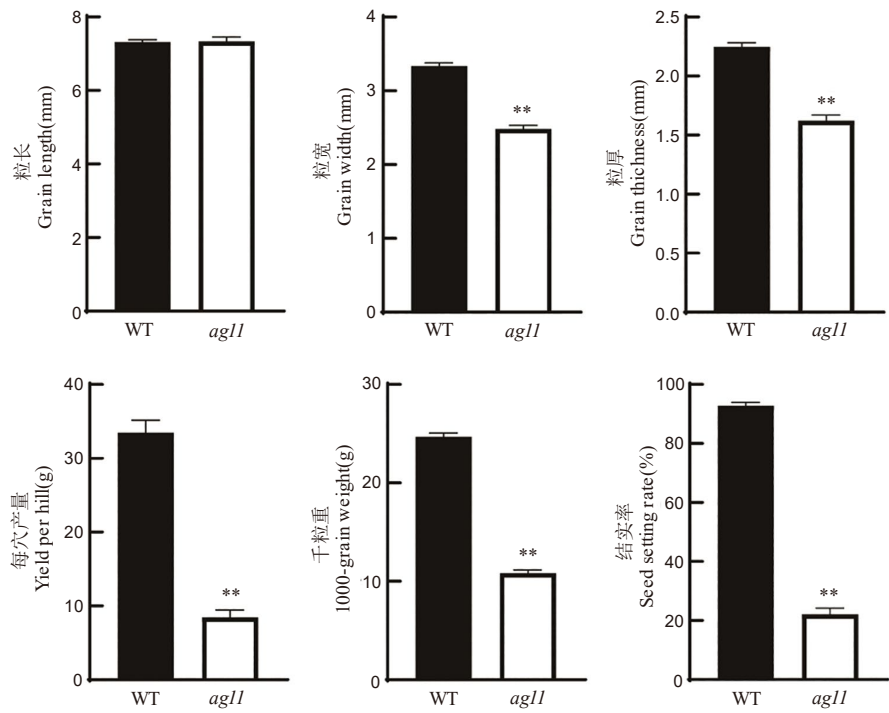
2.4 基因定位与克隆

采用混合群体分离分析法,从 F₂ 群体中分别选取 15 株表型一致的畸形颖壳突变体与 15 株野生型个体,构建两个 DNA 混池。利用覆盖水稻 12 条染色体的 232 对 SSR 与 Indel 标记进行多态性筛选,发现位于 2 号染色体的标记 B1 与 B2 在两个混池间表现出显著差异,初步锁定目标区段。进一步以 400 个 F₂ 突变单株为材料,在上述区间内加密分子标记,最终将基因精细定位于 Indel4 与 Indel5 之间约 68.7 kb 的物理区间内(图 6)。该区间共包含 7 个预测基因,对这些预测基因进行测序分析,发现 *LOC_Os02g56610* 外显子存在一处 C→T 的单碱基替换,导致甘氨酸(Gly)突变为谷氨酸(Glu)。其他预



A: 抽穗期的植株表型; B: 抽穗期穗部表型; C: 成熟期穗部表型; D和E: 抽穗期颖壳; F和G: 成熟期籽粒; H和I: 成熟期糙米; le: 外稃; pa: 内稃。
A, Plant phenotype at the heading stage; B, Panicle phenotype during heading stage; C, Phenotype of the mature panicle; D and E, Glumes at heading stage; F and G, Mature grains; H and I, Mature brown rice; le, Lemma; pa, Palea.

图1 SN9816和 *agl1* 突变体的表型和粒型
Fig. 1. Phenotype and grain type of SN9816 and *agl1*



误差线为平均值±标准差; ** $P < 0.01$ 。下同
The error line is the mean ± standard deviation. ** $P < 0.01$. The same below

图2 SN9816与突变体 *agl1* 的穗部性状
Fig. 2. Panicle traits of SN9816 and mutant *agl1*

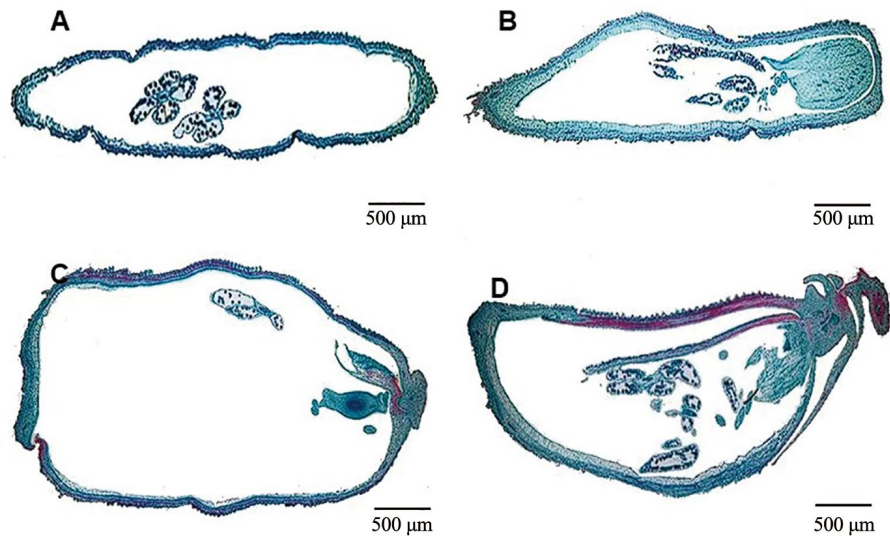


图 3 SN9816(A、C)与突变体 *agl1*(B、D)的石蜡切片观察
Fig. 3. Paraffin section observation of SN9816(A、C) and mutant *agl1*(B、D)

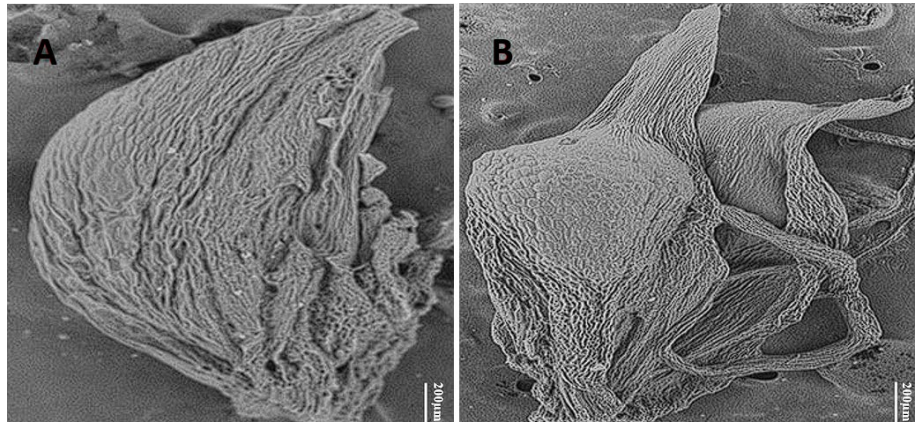


图 4 SN9816(A)与突变体 *agl1*(B)的扫描电子显微镜观察
Fig. 4. Scanning electron microscopic observation of SN9816(A) and mutant *agl1*(B)

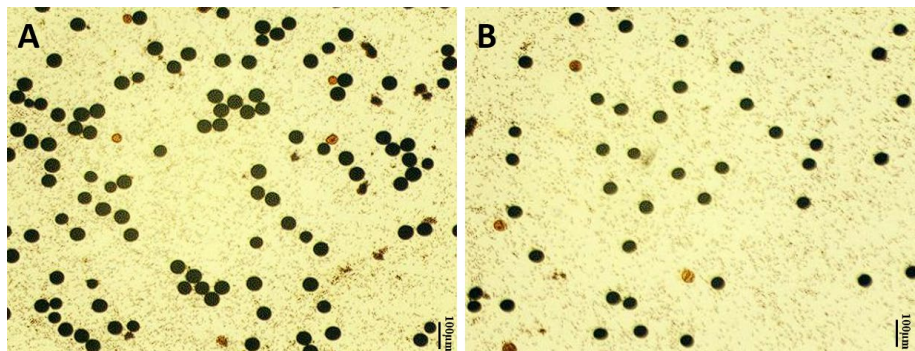


图 5 野生型 SN9816(A)和突变体 *agl1*(B)的花粉活力
Fig. 5. Pollen viability of wild type SN9816(A) and mutant *agl1*(B)

测基因测序结果显示突变体和野生型之间均无碱基差异。通过分析该基因发现，该位点位于 DUF640 结构域的保守区域，提示该突变可能影响蛋白功能或稳定性。

2.5 DUF640 家族基因分析

为系统鉴定并解析水稻中 DUF640 家族基因的特征，利用 BLAST 和 HMMER 工具，在 Ensembl Plants 数据库中以水稻、拟南芥、玉米、小麦、高

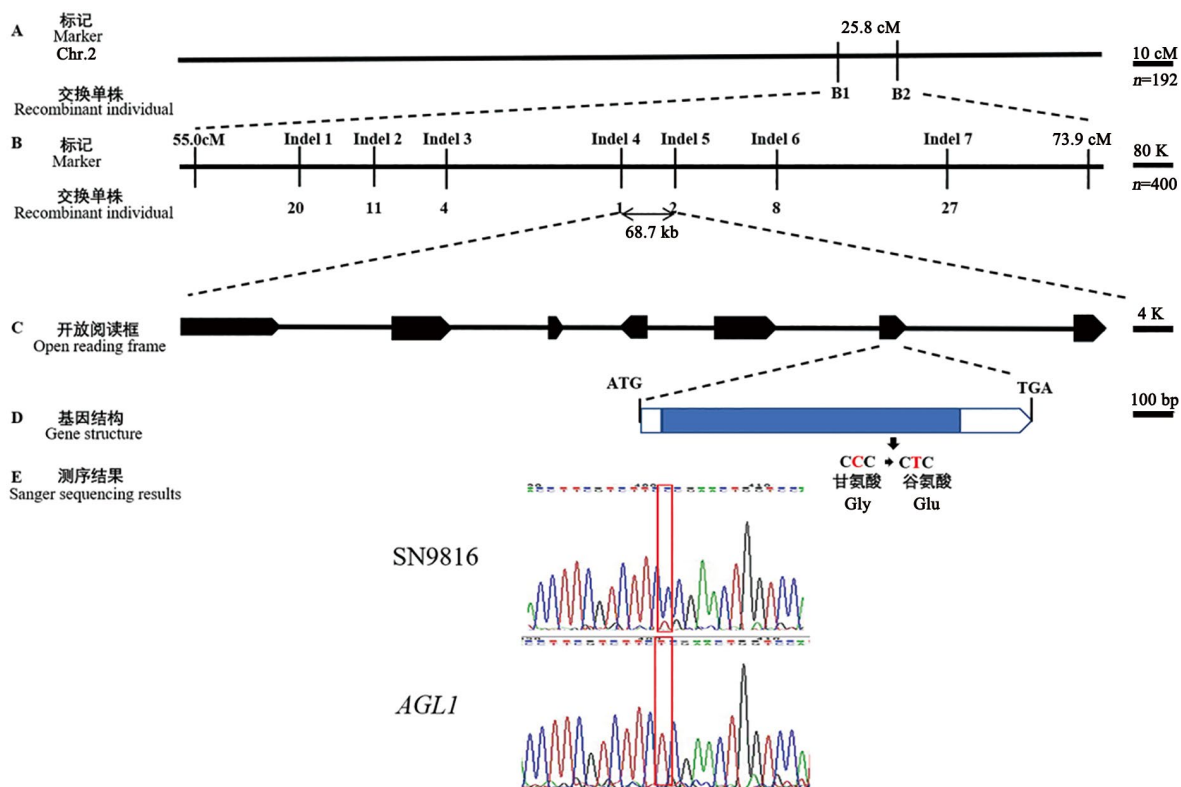


图 6 水稻 *AGL1* 基因的定位和克隆
Fig. 6. Localization and cloning of the *AGL1* gene in rice

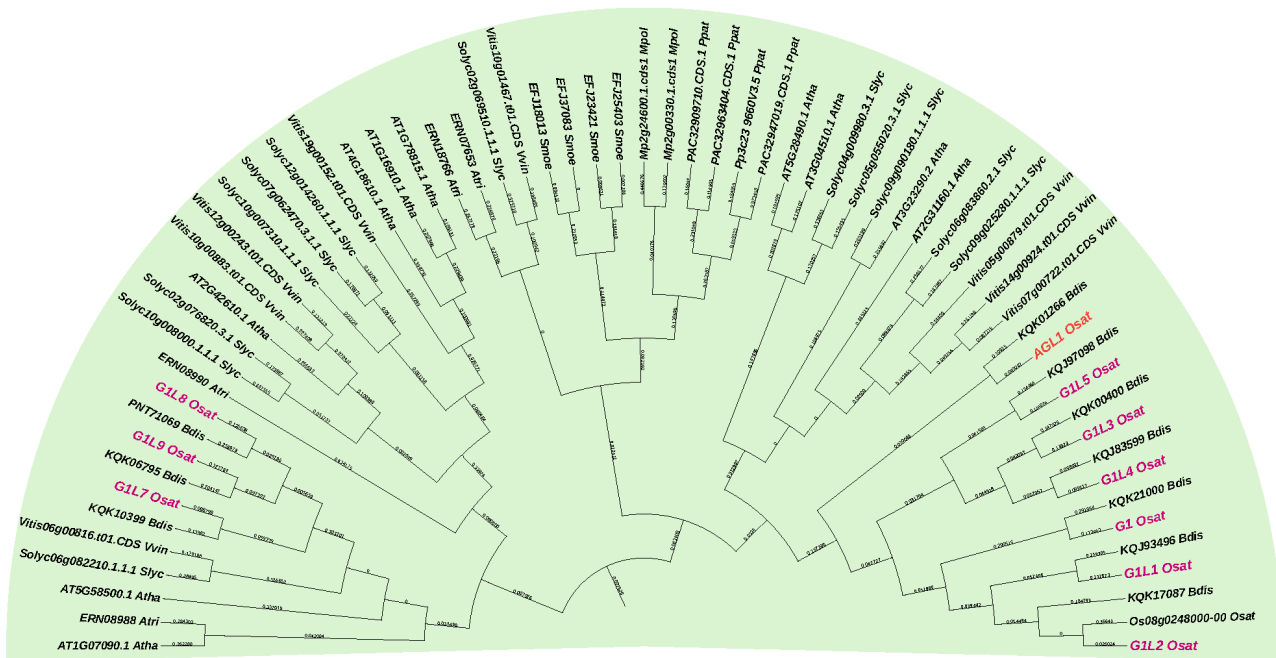
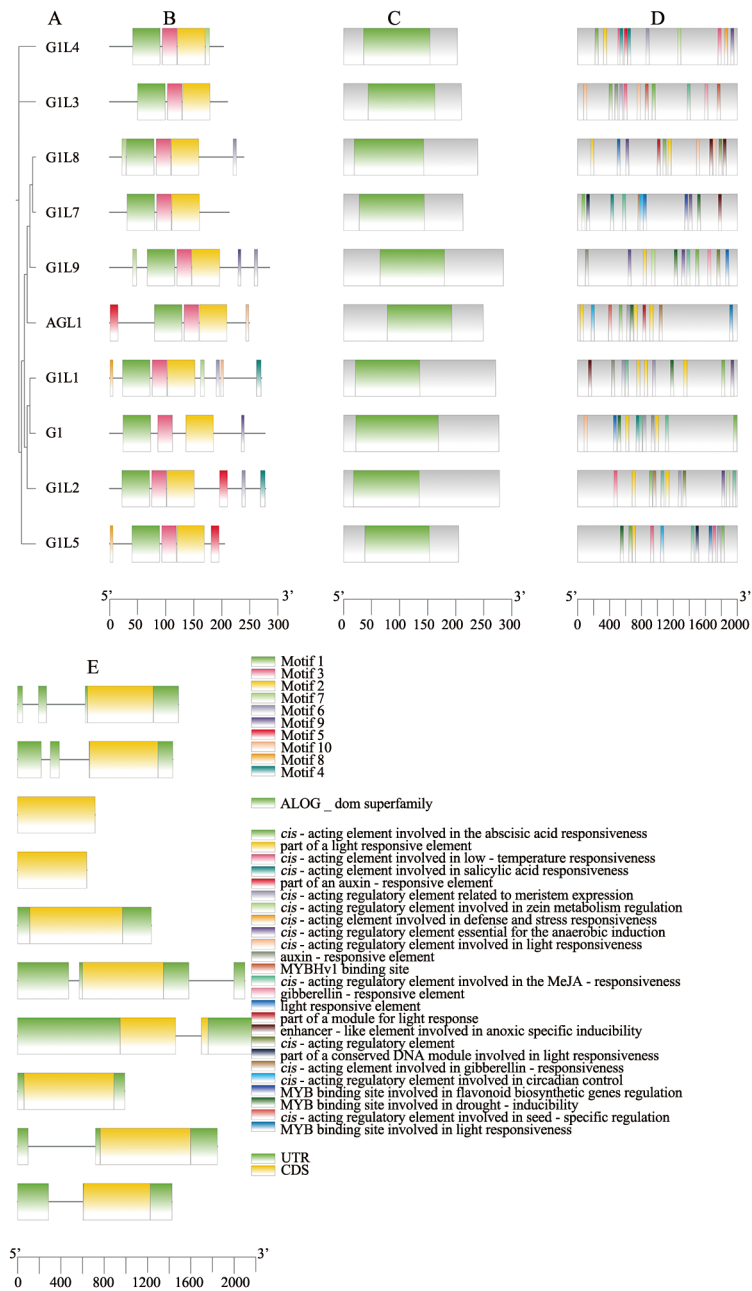


图 7 DUF640 不同物种间系统进化树
Fig. 7. Phylogenetic tree among different species of DUF640

梁、大豆、花生、向日葵、棉花、大麦、烟草等 11 个物种为参考，共鉴定出 65 个 DUF640 同源蛋白。进一步聚焦水稻基因组，共鉴定出 10 个 DUF640 家

族成员，分别命名为 *AGL1*、*G1*、*GIL1*、*GIL2*、*GIL3*、*GIL4*、*GIL5*、*GIL7*、*GIL8*、*GIL9*(图 7)。

水稻 DUF640 家族可分为两个主要分支(图 8-



A: *DUF640* 水稻系统进化树; B: *DUF640* 的保守基序; C: *DUF640* 的保守结构域; D: *DUF640* 启动子顺式作用元件; E: *DUF640* 的基因结构。
A, Rice phylogenetic tree of *DUF640*; B, *DUF640* conservative motif; C, Conservative domain of *DUF640*; D, Starter cis-acting element of *DUF640*; E, *DUF640* gene structure.

图 8 水稻 *DUF640* 家族基因及编码蛋白的系统发育与结构分析

Fig. 8. Phylogenetic and structural analysis of the *DUF640* family genes and encoded proteins in rice

A)。其中 *AGL1* 与 *Os07g0139300(G1)*、*Os02g0166800(GIL1)*、*Os06g0672400(GIL2)*、*Os02g0623400(GIL3)*、*Os04g0516200(GIL4)*、*Os10g0478000(GIL5)* 聚类于同一分支, 表明其进化关系较近; 而 *Os01g0828900(GIL7)*、*Os05g0472000(GIL8)*、*Os05g0347400(GIL9)* 则形成另一个独立分支, 提示其可能具有功能分化。保守基序(motif)分析显示, 10 个 *DUF640* 蛋白均含有保守的 *ALOG* 结构域

(Pfam: PF04858), 且基序排列顺序一致, 表明该结构域在功能上的高度保守性(图 8-B)。结构域分析进一步证实, 所有成员均仅包含一个 *ALOG_dom* superfamily 结构域, 未发现其他已知功能域(图 8-C), 暗示其可能通过蛋白-蛋白互作发挥调控作用。启动子顺式作用元件预测结果显示, *DUF640* 家族基因启动子区域富含与植物激素响应(如 *ABRE*、*AuxRE*)、光响应(如 *G-box*、*GT1-motif*)、胁迫响应

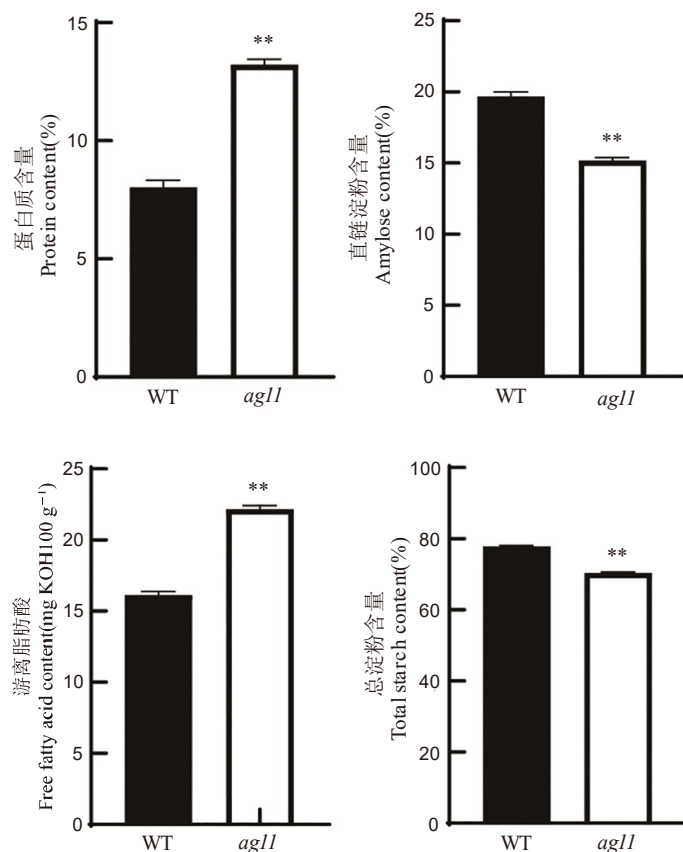


图9 野生型 SN9816 和突变体 *agl1* 糙米的谷物分析比较

Fig. 9. Analysis and comparison of brown rice between wild type SN9816 and mutant *agl1*

(如 TC-rich repeats、MYB 结合位点)等相关的调控元件(图 8-D)。已知赤霉素响应顺式作用元件、分生组织表达相关顺式调控元件和光响应型 MYB 结合位点等参与粒型形成;种子特异性调控顺式作用元件、脱落酸响应顺式作用元件以及茉莉酸甲酯(MeJA)响应顺式调控元件等调控籽粒成熟、脱水及贮藏物质(淀粉、蛋白)积累,是品质形成关键开关。这表明 DUF640 家族可能参与调控水稻粒型和品质形成过程。基因结构分析显示,除 *GIL1* 外,其余 9 个成员均仅包含一段连续的 CDS 序列,无内含子(图 8-E),这种结构特征有利于简化其表达调控机制。综上,DUF640 家族在水稻中具有保守的 ALOG 结构域和多样的表达调控元件,*AGL1* 作为其中的关键成员,其突变可能不仅调控花器官形态建成,在稻米品质中还具有重要作用。

2.6 籽粒品质分析

突变体糙米蛋白质含量和游离脂肪酸含量显著升高,而直链淀粉及总淀粉含量显著下降(图 9)。依据优质稻米评价标准,上述变化将导致米饭硬度增加、黏度降低、食味值下降。因此,*AGL1* 突变不仅降低产量,亦对稻米品质造成负面影响。

3 讨论

颖壳作为花器官的最外层结构,不仅在籽粒灌浆过程中起到保护作用,还通过调控颖壳与籽粒的贴合程度影响籽粒大小、饱满度和商品性^[24]。颖壳发育异常在水稻中广泛存在,严重影响种子质量与产量^[25]。水稻畸形颖壳的形成是其花器官发育程序紊乱的最终表现,其成因可系统地归纳为遗传、分子调控及环境互作三大层面。在遗传层面上,多个关键基因的功能缺失或突变是直接诱因。例如,编码转录因子基因的突变会破坏外稃和内稃的边界确定与细胞特性,导致器官融合、萎缩或同源异型转化。在分子调控层面,植物激素的动态平衡至关重要^[26]。生长素极性运输建立的浓度梯度决定了颖壳细胞的命运和器官的轴向发育,而赤霉素则调控细胞伸长和分裂。任何干扰这些激素合成、信号转导或分布的过程均可能导致形态发生错误,出现扭曲、不对称或退化的颖壳^[27]。此外,环境胁迫是不可忽视的诱发因素。孕穗期遭遇低温、高温或水分胁迫可干扰激素稳态并诱发氧化应激,破坏细胞分

裂和扩展过程,放大遗传背景中的微弱缺陷,最终导致颖壳畸形。因此,水稻颖壳的正常发育依赖于精确的遗传程序、严谨的分子调控与稳定的环境条件三者之间的协调,任一环节的异常都可能触发发育缺陷。

在水稻花器官的分子机制研究中,ABCDE 模型为理解稃壳和雄蕊等花器官的命运提供了理论框架,诸如 *OsMADS1*、*OsMADS2*、*OsMADS4*、*OsMADS16* 等经典基因均被证实调控稃壳和雄蕊的结构与功能^[28-29]。其中 *SG2(Split Glume 2)* 编码的 *OsMADS1* 由 8 个外显子和 7 个内含子组成,属于植物 MIKC 型 MADS-box 基因,具有 E 类基因的功能,与水稻花器官发育和稻米品质的形成密切相关,主要参与调控水稻颖花内稃和外稃等花器官特异性细胞类型的分化以及籽粒中淀粉和蛋白质的合成。除了 ABCDE 模型外,转录因子等也能调控花器官结构。已知 *MFS2* 编码的 MYB 转录因子通过 C 端 EAR 基序与水稻 TPL/TPR 共抑制子结合形成抑制复合体,抑制下游基因如 *SNB(SUPERNUMERARY BRACT)*、*OsIDS1(OsIDS1)* 的表达,从而调控稃壳特化和小穗分生组织命运,其突变体表现出稃壳结构异常甚至退化为颖壳样器官^[17]。植物激素对水稻颖壳发育也有一定影响,潘孝武等^[30]从籼稻品种湘早籼 6 号突变体库中筛选出一个裂颖突变体 *sh1(split husk 1)*,该基因编码丙二烯氧化合酶。*SH1* 突变导致花器官中的 JA(jasmonic acid)含量显著下降,影响茉莉酸的合成和信号转导,从而调控水稻闭颖。这些突变体不仅揭示了颖壳发育的关键调控节点,也为解析其分子机制提供了重要线索。值得注意的是,不同突变体间表型差异显著,提示颖壳形态建成可能涉及多条调控通路及基因间的冗余与互作^[31]。尽管已有研究在拟南芥等模式植物中对花器官发育机制进行了系统解析,但水稻作为单子叶植物,其颖壳结构复杂、发育阶段特殊,相关调控网络仍不完善。因此,挖掘新的颖壳发育相关突变体、鉴定关键调控基因并解析其功能,对于深入理解水稻花器官发育机制、提高籽粒产量和品质具有重要意义^[32-33]。

本研究在 EMS 诱变粳稻品种 SN9816 得到的突变体库中鉴定并分离出一个遗传稳定的畸形颖壳突变体 *agl1*,该突变体浆片基部较窄,形态异常,花粉活力下降,籽粒结实率和千粒重显著降低。浆片是控制水稻开放和闭合最关键的器官,颖花的开合依赖于浆片的水分调控。浆片吸水后体积增大,推动外稃外展、内稃内压,使两者嵌合结构松脱,颖壳随之张

开;此时雄蕊迅速伸长,花药外露并裂开释放花粉,完成授粉过程^[34]。而 *OsMADS2* 基因突变导致水稻浆片近轴端细胞转化为外稃边缘组织,远轴端过度生长并木质化,失去原有肉质感和杯状结构,最终造成颖壳无法开闭^[4]。由此推断, *AGL1* 基因突变导致的浆片形态异常使其无法正常肿胀和收缩,进而导致颖壳张角减小,花药外露度降低无法伸出进行授粉。颖壳开闭障碍与花粉活力下降共同导致授粉效率低下,进而引起籽粒结实率降低。

AGL1 编码 DUF640 家族蛋白,该家族成员普遍具有较为保守的 ALOG 结构域,表明其可能具有相对保守的生物学功能。启动子顺式元件分析显示,不同成员启动子区域顺式作用元件组成存在差异,说明其在发育过程中的调控方式可能具有一定的功能分化。结合 *agl1* 突变体表现出的颖壳形态异常、花粉活力下降以及籽粒产量和品质劣变等表型,推测 *AGL1* 不仅参与水稻花器官形态建成,还可能通过影响颖壳发育及后续籽粒形成过程,对产量和品质产生协同效应。

DUF640 是一类编码未知功能结构域的蛋白家族,近年来在植物发育调控中被发现具有重要功能。已有研究表明, DUF640 类基因广泛参与调控植物器官的形态建成、细胞分裂与扩展、花器官发育及籽粒大小等关键农艺性状,但其分子机制尚不完全明确。迄今,已鉴定出多个 DUF640 类基因参与调控花器官发育及籽粒大小基因,如 *OsAFD1*、*OsBSG1*、*OsTH1* 等^[7,35]。前人研究显示, Ren 等^[7]通过 EMS 诱变中花 11 最终得到 *afd1(abnormal flower and dwarf1)* 突变体, *OsAFD1* 调控与细胞增殖和扩展相关的基因表达,并通过调节颖壳中的细胞大小和数量来控制籽粒的大小和重量; Yan 等^[35]通过 ⁶⁰Co γ 射线处理浙粳 22 的 M₂ 群体得到 *bsg1(beak-shaped grain 1)* 突变体, *bsg1* 突变体通过调控细胞周期相关基因和 MADS-box 花器官身份基因影响颖壳细胞分裂与扩展,进而控制籽粒形态与产量,但其是否影响稻米品质仍未知。本研究中, *AGL1* 是 *OsAFD1* 的等位基因,突变体 *agl1* 不仅调控籽粒的大小和重量,还影响了稻米的品质,研究结果不仅深化了对 *AGL1* 功能多样性的理解,也进一步丰富了水稻分子育种的理论依据。

参考文献:

- [1] Xiao H, Wang Y, Liu D, Wang W, Li X, Zhao X, Xu J, Zhai W, Zhu L. Functional analysis of the rice AP3 homologue *OsMADS16* by RNA interference[J]. *Plant Molecular*

- Biology*, 2003, 52(5): 957-966.
- [2] Whipple C J, Ciceri P, Padilla C M, Ambrose B A, Bandong S L, Schmidt R J. Conservation of B-class floral homeotic gene function between maize and *Arabidopsis*[J]. *Development*, 2004, 131(24): 6083-6091.
 - [3] Yamaguchi T, Lee D Y, Miyao A, Hirochika H, An G, Hirano H Y. Functional diversification of the two C-class *MADS* box genes *OSMADS3* and *OSMADS58* in *Oryza sativa*[J]. *The Plant Cell*, 2005, 18(1): 15-28.
 - [4] Yadav S R, Prasad K, Vijayraghavan U. Divergent regulatory *OsMADS2* functions control size, shape and differentiation of the highly derived rice floret second-whorl organ[J]. *Genetics*, 2007, 176(1): 283-294.
 - [5] Yao S G, Ohmori S, Kimizu M, Yoshida H. Unequal genetic redundancy of rice *PISTILLATA* orthologs, *OsMADS2* and *OsMADS4*, in lodicule and stamen development[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2008, 49(5): 853-857.
 - [6] Li H, Liang W, Hu Y, Zhu L, Yin C, Xu J, Dreni L, Kater M M, Zhang D. Rice *MADS6* interacts with the floral homeotic genes *SUPERWOMAN1* *MADS3* *MADS58* *MADS13* and *DROOPING LEAF* in specifying floral organ identities and meristem fate[J]. *The Plant Cell*, 2011, 23(7): 2536-2552.
 - [7] Ren D, Rao Y, Wu L, Xu Q, Li Z, Yu H, Zhang Y, Leng Y, Hu J, Zhu L, Gao Z, Dong G, Zhang G, Guo L, Zeng D, Qian Q. The *pleiotropic abnormal flower and dwarf1* affects plant height, floral development and grain yield in rice[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2016, 58(6): 529-539.
 - [8] Ohmori S, Kimizu M, Sugita M, Miyao A, Hirochika H, Uchida E, Nagato Y, Yoshida H. *MOSAIC FLORAL ORGANS1*, an *AGL6*-like *MADS* box gene, regulates floral organ identity and meristem fate in rice[J]. *The Plant Cell*, 2009, 21(10): 3008-3025.
 - [9] Sang X, Li Y, Luo Z, Ren D, Fang L, Wang N, Zhao F, Ling Y, Yang Z, Liu Y, He G. *CHIMERIC FLORAL ORGANS1*, encoding a monocot-specific *MADS* box protein, regulates floral organ identity in rice[J]. *Plant Physiology*, 2012, 160(2): 788-807.
 - [10] Duan Y, Li S, Chen Z, Zheng L, Diaio Z, Zhou Y, Lan T, Guan H, Pan R, Xue Y, Wu W. Dwarf and deformed flower 1, encoding an F-box protein, is critical for vegetative and floral development in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *The Plant Journal*, 2012, 72(5): 829-842.
 - [11] 秦鹏. 水稻颖壳发育基因 *hzp* 和 *ug1* 的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021.
Qin P. The study on genes *hzp* and *ug1* controlling rice glume development[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021. (in Chinese with English abstract)
 - [12] Bowman J L, Sakai H, Jack T, Weigel D, Mayer U, Meyerowitz E M. *Superman*, a regulator of floral homeotic genes in *Arabidopsis*[J]. *Development*, 1992, 114(3): 599-615.
 - [13] Sakai H, Medrano L J, Meyerowitz E M. Role of *SUPERMAN* in maintaining *Arabidopsis* floral whorl boundaries[J]. *Nature*, 1995, 378(6553): 199-203.
 - [14] Levin J Z, Meyerowitz E M. *UFO* an *Arabidopsis* gene involved in both floral meristem and floral organ development[J]. *The Plant Cell*, 1995, 7(5): 529-548.
 - [15] Wilkinson M D, Haughn G W. *UNUSUAL FLORAL ORGANS* controls meristem identity and organ primordia fate in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 1995: 1485-1499.
 - [16] 任德勇. 水稻小穗发育相关基因 *MFS1* 的图位克隆与功能分析[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
Ren D Y. Mapping cloning and functional analysis of rice spikelet development related gene *MFS1*[D]. Chongqing: Southwest University, 2013. (in Chinese with English abstract)
 - [17] Li Y F, Zeng X Q, Li Y, Wang L, Zhuang H, Wang Y, Tang J, Wang H L, Xiong M, Yang F Y, Yuan X Z, He G H. *MULTI-FLORET SPIKELET 2*, a MYB transcription factor, determines spikelet meristem fate and floral organ identity in rice[J]. *Plant Physiology*, 2020, 184(2): 988-1003.
 - [18] Guo T, Chen K, Dong N Q, Shi C L, Ye W W, Gao J P, Shan J X, Lin H X. *GRAIN SIZE AND NUMBER1* negatively regulates the *OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6* cascade to coordinate the trade-off between grain number per panicle and grain size in rice[J]. *The Plant Cell*, 2018, 30(4): 871-888.
 - [19] 吴淑敏, 李娟玲. 植物解剖学研究进展[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(30): 3-6.
Wu S M, Li J L. Advances in Plant Anatomy[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45(30): 3-6. (in Chinese with English abstract)
 - [20] Yoshida H, Nagato Y. Flower development in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(14): 4719-4730.
 - [21] 张桂莲, 蔡志欢, 李波, 廖斌, 唐文帮, 肖应辉, 陈立云. 水稻对减数分裂期高温胁迫的生理响应[J]. 杂交水稻, 2016, 31(3): 64-67.
Zhang G L, Cai Z H, Li B, Liao B, Tang W B, Xiao Y H, Chen L Y. Physiological responses of rice to high temperature stress during meiosis stage[J]. *Hybrid Rice*, 2016, 31(3): 64-67. (in Chinese with English abstract)
 - [22] 张彬, 芮雯奕, 郑建初, 周博, 杨飞, 张卫建. 水稻开花期花粉活力和结实率对高温的响应特征[J]. 作物学报, 2007, 33(7): 1177-1181.
Zhang B, Rui W Y, Zheng J C, Zhou B, Yang F, Zhang W J. Responses of pollen activity and seed setting of rice to high temperature of heading period[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(7): 1177-1181. (in Chinese)
 - [23] 冯九焕, 卢永根, 刘向东, 徐雪宾. 水稻花粉发育过程

- 及其分期[J]. 中国水稻科学, 2001, 15(1): 21-28.
- Feng J H, Lu Y G, Liu X D, Xu X B. Pollen development and its stages in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2001, 15(1): 21-28. (in Chinese with English abstract)
- [24] 曾跃辉, 邹文广, 赵福铭, 肖长春, 黄建鸿, 马彬林, 杨旺兴, 韦新宇, 许旭明. 一个新的水稻颖花开裂基因 *OsSG2* 的图位克隆与功能验证[J]. 中国农业科学, 2025, 58(11): 2062-2080.
- Zeng Y H, Zou W G, Zhao F M, Xiao C C, Huang J H, Ma B L, Yang W X, Wei X Y, Xu X M. Map-based cloning and functional verification of a novel split glume gene *OsSG2* in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2025, 58(11): 2062-2080. (in Chinese with English abstract)
- [25] 张必东, 李云峰. 水稻颖壳异常突变体 *ahl* 的鉴定与候选基因分析[J]. 中国农业科学, 2024, 57(3): 429-441.
- Zhang B D, Li Y F. Characterization and candidate gene analysis of an abnormal hull mutant *ahl* in rice[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(3): 429-441. (in Chinese with English abstract)
- [26] Yuan Z, Gao S, Xue D W, Luo D, Li L T, Ding S Y, Yao X, Wilson Z A, Qian Q, Zhang D B. *RETARDED PALEA1* controls palea development and floral zygomorphy in rice[J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(1): 235-244.
- [27] Zhang D, Yuan Z. Molecular control of grass inflorescence development[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 65: 553-578.
- [28] Prasad K, Parameswaran S, Vijayraghavan U. *OsMADS1*, a rice MADS-box factor, controls differentiation of specific cell types in the lemma and palea and is an early-acting regulator of inner floral organs[J]. *The Plant Journal*, 2005, 43(6): 915-928.
- [29] Ren D, Cui Y, Hu H, Xu Q, Rao Y, Yu X, Zhang Y, Wang Y, Peng Y, Zeng D, Hu J, Zhang G, Gao Z, Zhu L, Chen G, Shen L, Zhang Q, Guo L, Qian Q. *AH2* encodes a MYB domain protein that determines hull fate and affects grain yield and quality in rice[J]. *The Plant Journal*, 2019, 100(4): 813-824.
- [30] 潘孝武, 刘文强, 黎用朝, 熊海波, 盛新年, 段永红, 余亚莹, 赵文锦, 魏秀彩, 李小湘. 水稻裂颖突变体 *sh1* 的鉴定及基因定位[J]. 中国水稻科学, 2019(4): 323-330.
- Pan X W, Liu W Q, Li Y C, Xiong H B, Sheng X N, Duan Y H, Yu Y Y, Zhao W J, Wei X C, Li X X. Identification and genetic analysis of split husk mutant *sh1* in rice[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2019(4): 323-330. (in Chinese with English abstract)
- [31] Long J A, Ohno C, Smith Z R, Meyerowitz E M. *TOPLESS* regulates apical embryonic fate in *Arabidopsis*[J]. *Science*, 2006, 312(5779): 1520-1523.
- [32] Long J A, Woody S, Poethig S, Meyerowitz E M, Barton M K. Transformation of shoots into roots in *Arabidopsis* embryos mutant at the *TOPLESS* locus[J]. *Development*, 2002, 129(12): 2797-2806.
- [33] Ren D, Hu J, Xu Q, Qiu Z, Li Y, Zhao F, Qian Q. Interactions between *FLORAL ORGAN NUMBER4* and floral homeotic genes in regulating rice flower development[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(12): 2853-2866.
- [34] 苟亚军, 朱薪宇, 王海洋, 沈荣鑫. 水稻花时调控机理与育种应用[J]. 华南农业大学学报, 2022(6): 48-59.
- Gou Y J, Zhu X Y, Wang H Y, Shen R X. Regulation mechanism and breeding application of rice floret-opening-time[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2022(6): 48-59. (in Chinese with English abstract)
- [35] Yan D, Zhou Y, Ye S, Zeng L, Zhang X, He Z. Beak-shaped grain 1/triangular hull 1, a DUF640 gene, is associated with grain shape, size and weight in rice[J]. *Science China Life Sciences*, 2013, 56(3): 275-283.