水稻半矮秆基因 *sd-g* 的精细定位

梁国华 曹小迎 隋炯明 赵祥强 严长杰 裔传灯 顾铭洪

(扬州大学江苏省植物功能基因组学重点实验室, 扬州 225009. E-mail: ricegb@yzu.edu.cn)

摘要 矮秆基因的发掘、研究和利用是水稻株型改良育种和植物生长发育分子生物学研究的重要基础。利用新桂矮双矮与02428杂交产生的F₂群体对*sd-g*进行了精细定位。*sd-g*基因首先被定位在水稻第5染色体上微卫星标记RM440和RM163之间, 遗传距离分别是0.5和2.5 cM。为了进一步精细定位*sd-g*基因, 利用已经公布的水稻基因组序列, 在*sd-g*基因附近区域寻找微卫星序列并发展新的标记, 在RM440和RM163之间发展了9个微卫星标记。*sd-g*基因被进一步定位在SSR5-1和SSR5-51之间, SSR5-1与*sd-g*之间相距0.1 cM, SSR5-51与*sd-g*之间相距0.3 cM, 而SSR418与*sd-g*表现为共分离。以此为基础, 构建覆盖*sd-g*基因区域的BAC重叠群, *sd-g*基因被定位在AC105319约85 kb的区段上, 这为*sd-g*基因的图位克隆奠定了基础。

关键词 水稻(*Oryza sativa* L) 半矮秆基因 分子标记 基因定位 物理图谱

自20世纪60年代起, 在全世界范围内以作物矮化育种为标志的“绿色革命”使作物的产量得到了较大的提高。“绿色革命”的成功与矮秆资源的挖掘和合理利用是密切相关的^[1]。在水稻中, 被称为“奇迹稻”的IR8(国际水稻研究所)及其衍生品种利用了来源于我国台湾省的矮秆品种低脚乌尖。我国矮化育种所利用的矮秆品种则主要有矮脚南特、矮仔占等。我国水稻矮化育种的成功要比国外早10年左右^[1]。矮秆基因的发掘、研究和利用在“绿色革命”中起到了关键的作用。但在籼稻矮化育种中所利用的矮秆材料主要受一个相同或等位隐性矮秆主基因控制^[1-6]。同一矮秆基因的利用潜伏着由遗传单一而带来的风险, 同时携带半矮秆基因*sd-1*的材料也有一些缺点, 如抗旱性差、光合效应较低等^[1,7,8]。从20世纪70年代开始, 广东省农业科学院黄耀祥等人^[7,8]在矮化育种的基础上, 开展“丛化育种”研究, 选育出一系列高光效、丛化快长株型和叶绿素含量高的光效功能相结合的高产品种, 其中代表品种有桂朝和双桂等, 1985年这2个品种的种植面积近166.67万公顷, 显示出其突出的适应性和丰产性, 也充分显示出这类品种所携带的矮秆基因在水稻育种中具有重要的潜力。顾铭洪等人^[5]研究表明, 这类品种的矮生性主要受一个隐性单基因控制, 并且与*sd-1*不等位, 该基因被定名为*sd-g*; 半矮秆基因*sd-1*和*sd-g*具有累加效应。我们以前利用细胞遗传学的方法把*sd-g*定位在水稻第5染色体上^[9]。Liang等人^[10]找到一个与该基因连锁的分子标记RZ182, 两者相距4.3 cM。然而, *sd-g*在第5

染色体上的具体位置有待进一步研究。宋平等^[11]的研究表明*sd-g*也是一个对赤霉素反应与*sd-1*不同的矮秆基因。因此, *sd-g*基因的精细定位和基因克隆对于水稻的株型育种和水稻生长发育的分子生物学机理研究具有重要意义。

本文应用已经公布的SSR(simple sequence repeats)标记和根据已经测定的水稻基因组序列发展新的SSR标记对*sd-g*基因进行精细定位。

1 材料与方法

() 供试材料。本研究所使用的矮秆材料为新桂矮双矮、系新桂矮和南京11号杂交的F₂代中分离出来的矮秆品系。经多代自交纯化的新桂矮双矮已稳定遗传, 其携带2个矮秆基因, 基因型为*sd-1sd-1sd-gsd-g*。半矮秆材料是02428, 引自江苏省农业科学院, 其基因型为*sd-1sd-1Sd-gSd-g*。

() 试验设计与性状调查。常规水稻品种一般均携带半矮秆基因*sd-1*。为了排除*sd-1*的影响, 根据以往研究的试验设计, 在本研究中选用新桂矮和南京11号杂交后代中双矮植株的自交系新桂矮双矮作为矮秆材料, 选用半矮秆材料02428作为高秆材料。新桂矮双矮和02428之间在控制株高上仅有一个*sd-g*位点差异。2000年夏在扬州以新桂矮双矮为母本与02428进行杂交, 2001年于扬州种植F₁。2002年夏于扬州种植亲本、杂交F₁和F₂群体, 在成熟期分别对亲本、杂交F₁和F₂群体的株高作系统调查, 亲本和杂交F₁各调查10株, F₂调查436株。2003年继续扩大种植新桂矮双矮和02428杂交F₂群体, 共种植6500株

株。株高为植株从茎基部到穗顶的高度(不包括芒)。亲本和各世代均是单本种植,为避免高秆植株对矮秆植株荫蔽而造成误差,栽秧时将 F_2 秧苗初步分级,分高秆群和矮秆群分别栽于相邻小区。田间管理与一般大田相同。

() DNA的提取。在成熟期分别对亲本和群体的株高进行调查后,在再生植株上分单株收获 F_2 和亲本植株的叶片,*sd-g*定位的群体共收获 101 株矮秆株和 14 株高秆株的叶片。*sd-g*的精细定位共提取 1498 株矮秆植株DNA用于分析。水稻基因组DNA提取采用CTAB法^[12]。

() *sd-g*基因的初步定位。Liang等人^[10]用RFLP标记将*sd-g*基因定位在标记RZ182附近,因而选择已经公布的位于该区域附近的微卫星标记,利用新桂矮双矮和 02428 杂交 F_2 中 101 株矮秆株进行*sd-g*基因初步定位。SSR分析中所用到的引物序列引自<http://www.gramene.org/>。引物由上海生工公司合成,25 μ L反应体系包括 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3), 50 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L $MgCl_2$, 1 U Taq酶, 4 nmol/L dNTP, 10 pmol/L引物, 20 ng模板DNA。在Biometra PCR仪上进行PCR扩增,反应条件为: 94 预变性 5 min; 94 , 1 min, 55 , 1 min, 72 , 1.5 min, 35 个循环; 72 延伸 10 min。反应产物首先在 3%琼脂糖凝胶上电泳,经溴化乙锭染色后于紫外灯下观察,并在BIORAD凝胶成像仪上成像。如果在 3%琼脂糖凝胶上电泳没有多态,则在 6%垂直平板聚丙烯酰胺凝胶上电泳,经 0.1%硝酸银染色后观测。根据初步定位的结果,利用已经公布的水稻品种 9311 和日本晴全基因组序列与<http://www.gramene.org/>上提供的软件,在水稻第 5 染色体上半矮秆基因*sd-g*所在附近区域的BAC序列上寻找微卫星序列,并设计了 50 个新的微卫星标记。利用合成的微卫星标记对*sd-g*进行进一步定位。

() *sd-g* 基因的精细定位。2003 年继续提取 1397 株矮秆植株的DNA用于*sd-g*的精细定位。同时,根据 *sd-g* 初步的定位结果,利用已经公布水稻基因组序列在目标基因附近的区域继续设计新的微卫星对 *sd-g* 进行精细定位。引物合成、PCR 分析和电泳分析等条件同上。

() 连锁分析。根据SSR分析的结果,利用MAPMAKER(EXP3.0b)^[13]作图软件,构建目标基因区域的分子标记连锁图谱。

2 结果与分析

2.1 新桂矮双矮与 02428 之间的株高遗传

新桂矮双矮的平均株高为 49.5 ± 1.9 cm(平均数 $\pm$ 标准差), 02428 的平均株高为 95.1 ± 2.3 cm, 新桂矮双矮和 02428 杂交 F_1 的平均株高为 98.6 ± 2.6 cm。新桂矮双矮和 02428 杂交 F_2 的株高分离有 2 个峰,高秆和矮秆植株分别为 335 和 101 株,其分离比例符合 $3:1$ ($\chi^2 = 0.7828$),高秆对矮秆呈完全显性。可以推断出新桂矮双矮和 02428 之间的株高差异与一对基因分离有关(图 1)。已有的研究表明,在半矮秆基因 *sd-1* 和 *sd-g* 单独存在时,植株表现为半矮秆,同时存在时植株表现为特矮。本研究中的新桂矮双矮携带 2 个半矮秆基因,基因型为 *sd-lsd-lsd-gsd-g*, 表现为特矮^[9]; 02428 携带 1 个半矮秆基因,基因型为 *sd-lsd-lsd-gSd-g*, 表现为半矮。因此,新桂矮双矮和 02428 杂交 F_2 群体中的株高分离就是由 *sd-g* 引起的。这说明利用新桂矮双矮作为矮秆材料与半矮秆材料杂交可以简化半矮秆基因 *sd-g* 的遗传分析。

图 1 新桂矮双矮和 02428 杂交 F_2 群体的株高分离

2.2 矮秆基因 *sd-g* 的初步定位

1994 年, Liang等人^[10]利用RFLP标记将半矮秆基因*sd-g*定位在第 5 染色体上,与RZ182相距 4.3 cM。为了明确半矮秆基因*sd-g*与水稻第 5 染色体上SSR标记的连锁关系,选择位于第 5 染色体上的 20 个SSR标记对 2 个亲本新桂矮双矮和 02428 进行多态性分析,结果表明有 6 个SSR标记在这 2 个亲本之间表现出多态。利用这些在 2 个亲本间表现出多态的标记对 14 株高秆株和 14 株矮秆株的小群体进行分析,发现RM440, RM459 和RM430 等与*sd-g*表现出共分离,这说明半矮秆基因*sd-g*可能位于这几个标记的附近。利用第 5 染色体上在 2 个亲本间表现出多态的 6 个SSR 标记RM430, RM163, RM440, RM459, RM161 和

RM305 对 101 株矮秆植株进行分析. 用MAPMAKER (EXP3.0b)软件对这些SSR标记分析的结果进行统计分析, 把半矮秆基因*sd-g*初步定位在SSR标记RM440和RM163 之间, 与RM440 相距 0.5 cM, 与RM163 相距 2.5 cM.

进而利用已经公布的水稻品种 9311 和日本晴全基因组序列与 <http://www.gramene.org/>上提供的软件, 在水稻第 5 染色体上半矮秆基因 *sd-g* 所在附近区域的 BAC 序列上找到了多个微卫星序列, 并设计了 50 个新的微卫星标记. 用这些 SSR 标记对亲本进行多态性分析, 共有 35 个能扩增出单条带, 其中 6 个有多态(表 1). 同时, 利用新近公布的位于半矮秆基因 *sd-g* 所在附近区域 7 个 SSR 标记对亲本进行多态性分析, 有 2 个表现出多态. 利用这些多态性标记对 *sd-g* 进行定位. 在这 8 个微卫星标记中, SSR357, SSR120, SSR121 和 SSR276 距离 *sd-g* 较远, 分别相距 12.6, 21.5, 24.4 和 37.5 cM. SSR371, SSR418, RM5329, RM1386 与 *sd-g* 相距较近, 分别为 0.5, 0.0, 2.0 和 2.0 cM(图 2). 这样在这个分析群体内找到一个与 *sd-g* 发生零交换的微卫星标记, 但 *sd-g* 基因位于 RM440 与 SSR418 之间, 还是位于 SSR418 与 SSR371 之间, 还需进一步扩大群体来确定.

2.3 半矮秆基因 *sd-g* 的精细定位

目标基因的精细定位是基因图位克隆的关键步骤, 与目标基因紧密连锁分子标记的确定将为构建

图 2 *sd-g* 基因在水稻第 5 染色体上的初步定位

覆盖该基因的物理图谱奠定基础. 为了精细定位半矮秆基因*sd-g*, 一方面继续扩大种植新桂矮双矮和 02428 杂交F₂群体, 共种植 6500 株单株, 其中矮秆植

表 1 新发展的在 2 个亲本间表现多态的 SSR 标记

标记	引物序列	所属 BAC
SSR120	5'-GCGTATTGTCGTGTTTTTGT-3'	AC093919
	5'-TGTTGATGTGGCTTCTTTGA-3'	
SSR121	5'-TATTTGGTAGTAAGTGGCAT-3'	AC093919
	5'-GTTCTCGTGAGGTTTCTTGA-3'	
SSR276	5'-GGAGAGAGTGTGTGTTTTGC-3'	AC130603
	5'-CTGTACCCATTACGTCGTGA-3'	
SSR357	5'-CAGTTCGATTCACTAGGTTGTCCCT-3'	AC135419
	5'-TCCGGTCCACGAGAAATTGTTAC-3'	
SSR371	5'-TGCGATGAGATTACGAGACC-3'	AC104708
	5'-ACAGATTATTTGCTCACGCTAT-3'	
SSR418	5'-AGAAGGCAACGAACAGGGAGA-3'	AC105319
	5'-GCAGCAAACAAGTTAATCATCATCAG-3'	
SSR5-1	5'- GTTGACAGACGCTCCAAATAG-3'	AC105319
	5'-GTGGCAGAAGTCTCCCGATA-3'	
SSR5-17	5'-ATCTTGCTCTGAGGCGTGTG-3'	AC105319
	5'-TGGGCTATTGGCTCTGTTCTTAC-3'	
SSR5-51	5'-GAAGCAAACAGCCCATACGA-3'	AC105319
	5'-TATATGCGACCCGACAAATC-3'	

株为 1397 株, 提取这些矮秆植株的 DNA 用于 *sd-g* 的精细定位, 另一方面, 根据已经水稻基因组序列, 在水稻第 5 染色体上 SSR371 和 RM440 之间的 BAC 序列上寻找微卫星序列, 共设计了 57 个新的微卫星标记. 用这些 SSR 标记对亲本进行多态性分析, 共有 41 个能扩增出单条带, 其中 3 个有多态(表 1). 利用这 3 个标记以及 SSR371, SSR418 和 RM440 对 1498 株矮秆植株进行分析, 结果表明水稻半矮秆基因 *sd-g* 位于微卫星标记 SSR5-1 和 SSR5-51 之间, 与 SSR5-1 相距 0.1 cM, 与 SSR5-51 相距 0.3 cM(图 3).

2.4 覆盖半矮秆基因 *sd-g* 的物理图谱的构建

通过对半矮秆基因 *sd-g* 的精细定位, 找到了 6 个与 *sd-g* 紧密连锁的第 5 染色体上的微卫星标记. 根据水稻第 5 染色体的测序信息和物理图谱, 推断出标记 SSR371 位于 BAC 克隆 AC104708 上, SSR5-1, SSR5-51 和 SSR418 位于 AC105319 上, SSR5-17 位于 AC137928 上, RM1386 位于 AC130729 上; 但 RM440 所在的 BAC 尚还不确定. 根据这些结果, 可以构建覆盖半矮秆基因 *sd-g* 的物理图谱(图 4). 这个物理图谱所涉及的 AC104708, AC105319, AC137828 和 AC130729 等 4 个 BAC 都已经测序, 不过, 在这几个 BAC 上都还有一些间隙(gaps)尚未测序, 这也可能与不能确定 RM440 所在的 BAC 有关. 但 *sd-g* 基因被精确定位在 SSR5-1 和 SSR5-51 之间, SSR5-1 与 *sd-g* 之间相距 0.1 cM, SSR5-51 与 *sd-g* 之间相距 0.3 cM, 而 SSR418 与 *sd-g* 表现为共分离. 这 3 个标记均位于

图 3 *sd-g* 基因在第 5 染色体上的精细定位结果

BAC 克隆 AC105319 上. AC105319 的全序列测定已经完成, SSR5-1 和 SSR5-51 之间的距离约为 85 kb, *sd-g* 基因就位于这个区段上, 这为 *sd-g* 基因的图位克隆奠定了基础. 利用更大群体对 *sd-g* 的精细定位正在进行中.

图 4 覆盖水稻第 *sd-g* 基因区域的重叠群

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb2004-49-8-778>

3 讨论

水稻矮秆基因是株型改良的重要遗传基础。矮秆基因按照其矮化效应不同,一般分为2种:矮秆基因和半矮秆基因。矮秆是指成熟时植株高度等于或低于原正常植株高度一半的矮秆突变系,定名为*d*系统;半矮秆则是指株高介于矮秆和正常植株高度之间的类型,定名为*sd*系统。目前以*d*-命名的矮秆基因已有60多个,*sd*-命名的矮秆基因已有13个。已有28个(半)矮秆基因定位到染色体上,它们涉及到除第8、9和10染色体以外的其他9条染色体,其中部分矮秆基因是相同或等位的,如*d-12*与*d-50*,*sd-1*与*d-47*^[14]。不过,这些矮秆基因大多分布在粳稻中。目前生产上利用的矮源,在籼稻中均为半矮秆基因,并且主要是*sd-1*,*sd-g*是除了*sd-1*之外有一定育种利用的矮秆基因,携带这个矮秆基因的品种具有丛生快长和高光效的特性,因而具有较重要的利用价值。然而,不同矮秆基因之间表现为积加作用,在选育携带非*sd-1*矮秆基因新品种时需要排除*sd-1*的作用。利用常规育种方法很难消除*sd-1*的影响。*sd-g*的精细定位将为利用分子标记辅助选择具有丛生快长和高光效特性的新品种奠定基础。

高等植物的矮生性与植物体的内源激素(如GAs和BRs)及其受体的合成受阻有关。通过一些与植物激素GAs和BRs合成及其信号传导相关的矮秆基因克隆和功能的研究,高等植物矮生性及其这两类激素合成和信号传导的分子生物学机理已经初现端倪。在拟南芥中已克隆出5个参与赤霉素合成的基因(*ga1*,*ga2*,*ga3*,*ga4*和*ga5*)和1个与赤霉素受体合成相关的基因*GAI*^[15-20],在豌豆中也克隆出2个与赤霉素合成相关基因*ls*和*le*^[21,22],其中*ls*与*ga1*具有相同的功能,而*le*则是1个3-羟化酶基因。在玉米上已克隆出*D8*,在小麦中来源于农林10的*Rht1*也已被克隆,它们和*GAI*是同根基因(orthologous gene)^[23]。在水稻中,也克隆出1个与G蛋白 α 亚基合成相关的矮秆基因*d1*,这些基因的克隆也证明了G蛋白与赤霉素信号传导有关^[24,25]。在油菜素内酯上,在拟南芥中与其合成相关的矮秆基因*det2*,*cpd*,*dwarf1*和*dwarf4*已经克隆^[26-28]。在豌豆和番茄中,分别克隆出2个参与油菜素内酯合成的基因^[29,30];在拟南芥中鉴定并克隆出一个与BRs传导有关的基因*bril*,它编码一个富含亮氨酸的蛋白激酶^[26]。在水稻中克隆出一个与油菜素内

酯信号传导相关的矮秆基因*d61*^[31]。然而,目前在植物中与这2种激素相关的基因已经克隆的仍很少;同时在拟南芥中已克隆的与矮生性相关的基因较多,而在农作物中克隆的基因则较少。特别是在水稻中已经报道的(半)矮秆基因有70多个,但只有矮秆基因*d1*^[24,25],*d2*^[32],*d18*^[34]和*d61*^[31],半矮秆基因*sd-1*^[35,36]以及一个高秆基因*SLENDER*^[37]已经克隆,水稻大部分的矮秆基因尚未克隆。水稻是禾本科作物基因组研究的模式植物,水稻矮秆基因的克隆对研究禾本科作物的矮生性分子生物学机理和株型育种都具有重要的意义。因此,无论是从矮生性的分子生物学机理研究还是作物遗传育种的实践来说,水稻矮生性基因的克隆和功能分析都显得迫切和重要。

图位克隆是基于遗传作图和物理作图分离基因的一种方法,这一方法的关键步骤是目的基因的精细定位。通过精细定位将目的基因界定在一个较小的范围内,然后构建覆盖目的基因区域的物理图谱,筛选和鉴定候选基因克隆。在本研究中,*sd-g*基因定位在水稻第5染色体SSR5-1和SSR5-51之间,与SSR5-1相距0.1 cM,与SSR5-51相距0.3 cM,而与SSR418表现为共分离。以此为基础,构建覆盖*sd-g*基因区域的BAC重叠群,*sd-g*基因被定位在AC105319约85 kb的区段上,这为*sd-g*基因的图位克隆奠定了基础。

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号:39900086和30270705)和国家重点基础发展规划(批准号:G1999011606和2003CB114303)资助项目。

参 考 文 献

- 1 熊振民, 闵绍楷, 程式华. 我国水稻矮源的研究与利用. 水稻文摘, 1988, 7(4): 1~5
- 2 顾铭洪. 矮源及其在水稻育种上的利用. 江苏农学院学报, 1980, 1(1): 40~44
- 3 顾铭洪, 朱立宏. 几个矮秆籼稻矮秆基因等位关系的初步分析. 遗传, 1979, 1(6): 10~13
- 4 朱立宏, 顾铭洪. 籼稻矮秆基因及其利用. 南京农学院学报, 1980, 12(1): 33~40
- 5 顾铭洪, 潘学彪, 李欣, 等. 一种籼稻新矮源的分离和遗传鉴定. 中国农业科学, 1988, 21(1): 33~40
- 6 Chang T T. 水稻种质库中的半矮生基因. 国外农学——水稻, 1985, (5): 53
- 7 黄耀祥. 半矮秆、早生根深、超高产、特优质中国超级稻生态育种工程. 广东农业科学, 2001, 3: 2~6
- 8 黄耀祥. 水稻生态育种体系的构建及新进展. 广东农业科学, 1999, 5: 2~6

- 9 梁国华, 顾铭洪, 潘学彪, 等. 水稻半矮秆基因 *sd-g* 的染色体定位研究. 遗传学报, 1994, 21(4): 297~304
- 10 Liang C Z, Gu M H, Pan X B, et al. RFLP tagging of a new semidwarf gene in rice. Theor Appl Genet, 1994, 88: 898~900
- 11 宋平, 曹显祖, 吴永宏, 等. 赤霉素结合蛋白对水稻矮生性的调控. 作物学报, 1996, 22(6): 652~656
- 12 钱前, 李云海, 曾大力, 等. 水稻脆性突变体的分离及其基因定位. 科学通报, 2001, 46(15): 1273~1276[摘要][PDF]
- 13 Lander E S, Green P, Abrahamson J, et al. Mapmaker: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. Genomics, 1987, 1: 174~181
- 14 Kinoshita T. Report of committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. Rice Genet Newsl, 1995, 12: 9~97
- 15 Sun T P, Goodman H M, Ausubel F M. Cloning the *Arabidopsis* *GA₁* locus by genomic subtraction. Plant Cell, 1992, 4(2): 119~128[DOI]
- 16 Yamaguchi S, Sun T P, Kawaide H, et al. The *GA₂* locus of *Arabidopsis thaliana* encodes ent-kaurene synthase of gibberellin biosynthesis. Plant Physiol, 1998, 116(4): 1271~1278[DOI]
- 17 Helliwell C A, Sheldon C C, Olive M R, et al. Cloning of the *Arabidopsis* ent-kaurene oxidase gene *GA₃*. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(15): 9019~9024[DOI]
- 18 Chang H, Hwang I, Goodman H M. Isolation of the *Arabidopsis* *GA₄* locus. Plant Cell, 1995, 7(2): 195~201[DOI]
- 19 Xu Y, Li L, Wu K, et al. The *GA₅* locus of *Arabidopsis thaliana* encodes a multifunctional gibberellin 20-oxidase: Molecular cloning and functional expression. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(14): 6640~6644
- 20 Peng J R, Carol P, Richards D E, et al. The *Arabidopsis* *GAI* gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses. Genes Dev, 1997, 11(23): 3194~3205
- 21 Ait-Ali T, Swain S M, Reid J B, et al. The *LS* locus of pea encodes the gibberellin biosynthesis enzyme ent-kaurenesynthase A. Plant J, 1997, 11(3): 442~454
- 22 Martin D N, Proebsting W M, Hedden P. Mendel's dwarfing gene: cDNAs from the *Le* alleles and the function of the expressed proteins. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(16): 8907~8911[DOI]
- 23 Peng J R, Richards D E, Hartly N M, et al. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. Nature, 1999, 400(6741): 256~261[DOI]
- 24 Tanaka M, Fujisawa Y, Kobayashi M, et al. Rice dwarf mutant *dl*, which is defective in the α subunit of the heterotrimeric G protein, affects gibberellin signal transduction. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(21): 11638~11643[DOI]
- 25 Ashikari M, Wu J, Yano M, et al. Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene *Dwarf 1* encodes the subunit of GTP-binding protein. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(18): 10284~10289[DOI]
- 26 Noguchi T, Fujioka S, Choe S, et al. Brassinosteroid-insensitive dwarf mutants of *Arabidopsis* accumulate brassinosteroids. Plant Physiol, 1999, 121(3): 743~752[DOI]
- 27 Noguchi T, Fujioka S, Choe S, et al. Biosynthetic pathways of brassinolide in *Arabidopsis*. Plant Physiol, 2000, 124(1): 201~210[DOI]
- 28 Yokota T. The structure, biosynthesis and function of brassinosteroids. Trends Plant Sci 1997, 2(4): 137~143[DOI]
- 29 Koka C, Cerny R E, Gardner R G, et al. Putative role for the tomato genes *DUMPY* and *CURL-3* in brassinosteroid biosynthesis and response. Plant Physiol, 2000, 122(1): 85~98[DOI]
- 30 Bishop G J, Nomura T, Yokota T, et al. The tomato *DWARF* enzyme catalyzes C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(13): 1761~1766[DOI]
- 31 Yamamuro C, Ihara Y, Wu X, et al. Loss of function of a rice *brassinosteroid insensitive1* homolog prevents internode elongation and bending of the Lamina joint. Plant Cell, 2000, 12(19): 1591~1606[DOI]
- 32 Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Umemura K, et al. A rice brassinosteroid-deficient mutant, *ebisu dwarf* (*d2*), is caused by a loss of function of a new member of cytochrome P450. Plant Cell, 2003, 15(12): 2900~2910[DOI]
- 33 Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Yutaka S, et al. Cloning and functional analysis of two gibberellin 3 β -hydroxylase genes that are differently expressed during the growth of rice. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(15): 8909~8914[DOI]
- 34 Sato Y, Sentoku N, Miura Y, et al. Loss of function mutations in the rice homeobox gene *OSH15* affect the architecture of internodes resulting in dwarf plants. EMBO J, 1999, 18(15): 992~1002[DOI]
- 35 Monna L, Kitazawa N, Yoshino R, et al. Positional cloning of rice semidwarfing gene, *sd-1*: Rice "green revolution gene" encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. DNA Research, 2002, 9: 11~17
- 36 Sasaki A, Ashikari M, Ueguchi-Tanaka M, et al. A mutant gibberellin-synthesis gene in rice. Nature, 2002, 416(6882): 701~702[DOI]
- 37 Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sato Y, et al. The gibberellin signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of SLENDER RICE1 in nuclei. Plant Cell, 2002, 14(1): 57~70[DOI]

(2004-02-19 收稿, 2004-03-25 收修改稿)