

# 水稻双剑叶突变体的表型、遗传分析及 BR 应答

祁永斌<sup>1</sup> 杨卫兵<sup>2</sup> 叶胜海<sup>1</sup> 刘合芹<sup>1</sup> 金庆生<sup>1</sup> 何祖华<sup>2</sup> 张小明<sup>1</sup>

(1. 浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所, 浙江 杭州 310021;

2. 中国科学院上海生命科学院植物生理生态研究所, 上海 200032)

**摘要:**从浙江省主栽晚粳稻品种浙粳 22 的辐照突变体库中,发现 1 株分蘖穗颈节上着生 2 片叶片的突变体,多代种植性状稳定,且不受环境条件影响。鉴定结果表明该突变体是由于倒 1 节间显著缩短所致,其籽粒比野生型略短,剑叶净光合速率、气孔导度、胞间 CO<sub>2</sub> 浓度等光合作用参数均低于野生型;突变表型受 1 对隐性基因控制,对外源油菜素内酯(BR)敏感。RT-PCR 结果表明,部分 BR 合成和代谢相关基因在突变体和野生型中的表达量有差异,推测该突变基因与 BR 合成和代谢相关。

**关键词:**水稻;双剑叶;突变体;BR

## PHENOTYPIC, GENETIC ANALYSIS AND BR RESPONSE OF A RICE DOUBLE FLAG LEAF (*df1*) MUTANT

QI Yong-bin<sup>1</sup> YANG Wei-bing<sup>2</sup> YE Sheng-hai<sup>1</sup> LIU He-qin<sup>1</sup>

JIN Qing-sheng<sup>1</sup> HE Zu-hua<sup>2</sup> ZHANG Xiao-ming<sup>1</sup>

(1. Institute of Crop Science and Nuclear Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou, Zhejiang 310021;

2. Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institute for Biological Science, CAS, Shanghai 200032)

**Abstract:** A rice mutant designated as *df1* bearing pseudo-two-flag-leaves on the uppermost internode was found from the irradiation mutant library of var. Zhejing 22 mainly cultivated in the Zhejiang Province. The traits of *df1* were stable after multiple generation of selfcrossing. Our results showed that its second internode from top and seed length were shortened. Net photosynthetic rate, stomata conductance and intercellular CO<sub>2</sub> concentrations were all reduced compared with the wild type ZJ22. The characteristics of *df1* were decided by a pair of recessive gene. *Df1* was sensitive to exogenous brassinosteroid (BR), and the expression of several BR genes related to synthesis and metabolism was different from wild type. Together, we speculated that *df1* mutant was related to synthesis and metabolism of endogenous BR.

**Key words:** rice; double flag leaf; mutant; BR

叶片是水稻进行光合作用的重要场所,其形态和空间分布直接影响水稻光合利用率及光合产物的生成,是构成水稻理想株型育种的重要组成因子<sup>[1,2]</sup>。水稻籽粒灌浆的 70% ~ 80% 物质来自开花后植物上部叶片的光合作用<sup>[3,4]</sup>,尤其以水稻剑叶的贡献最大。

稻谷产量的 40% ~ 60% 直接来源于剑叶的光合作用<sup>[5]</sup>。因此,对水稻叶片发育尤其是剑叶发育的研究较为重要。

近年来,随着分子生物学的不断发展,利用突变体研究水稻相关基因的功能,从而在分子水平上阐释水

收稿日期:2011-12-09 接受日期:2012-05-16

基金项目:浙江省自然科学基金(Y3080361),浙江省科技厅核农学产业科技创新团队(2010R50033),浙江省农科院财政专项

作者简介:祁永斌(1978-),男,甘肃临夏人,硕士,助理研究员,主要从事水稻遗传育种研究。Tel:0571-86404171; E-mail:qi\_yongbin@yahoo.com.cn

通讯作者:张小明(1962-),男,浙江杭州人,研究员,主要从事水稻遗传育种研究。Tel:0571-86404100; E-mail:xmzhang@mail.hz.zj.cn

稻叶片的发育和形态成为新的研究热点。Sumiyo等<sup>[6]</sup>发现1个水稻矮化突变体 *d11*,其叶片在水稻成熟期仍直立,并将 *D11* 基因克隆,该基因编码一个细胞色素 P450 加氧酶(CYP724B1),该酶与水稻内源 BR 合成酶同源。Sakamoto 等<sup>[7]</sup>利用直立叶 BR 合成缺陷突变体 *osdwarf4-1*,克隆了 *OsDWARF4* 基因,该基因编码一个拟南芥细胞色素 P450 加氧酶(CYP90B1)的同源类似物(CYP90B2),与 CYP724B1/*D11* 相同,两种酶都可以将 C-22 羟基化。Mori 等<sup>[8]</sup>利用一个水稻茎、叶伸长受阻突变体 *brd1*,克隆水稻 BR 的 C-6 氧化酶基因 *OsDWARF*,该基因与番茄 C-6 氧化酶基因序列高度相似。Zhi 等<sup>[9]</sup>研究发现突变体 *brd2* 与 *d11* 和 *d2* 表型相似,其内源 BR 水平显著降低,突变位点位于 *Dim/dwf1* 的编码区,是拟南芥 DIMINUTO/DWARF1 (DIM/DWF1) 的同源类似物。Zhi 等<sup>[10]</sup>利用突变体 *d2*,克隆了1个新的细胞色素 P450 加氧酶(CYP90D 类)基因 *D2*,该酶与水稻内源 BR 合成酶高度相似。Yamamuro 等<sup>[11]</sup>发现2个矮化突变体 *d61-1* 和 *d61-2*,该突变体穗颈节伸长、叶片直立,外源 BR 处理不敏感,图位克隆 *OsBRI1* 基因,该基因与拟南芥 *BRI* 基因序列高度相似,编码1个 BR 受体激酶。Luo 等<sup>[12]</sup>从保持系 II-32B 中发现1个叶片高度卷曲的自然突变体,将该突变基因 *RL10* 定位于第9号染色体,该基因编码一个 Myb 类转录因子。Yan 等<sup>[13]</sup>利用1个水稻卷叶突变体,利用图位克隆法克隆了 *RL9* 基因,该基因编码 GARP 家族转录因子。Hibara 等<sup>[14]</sup>从1个叶片外卷的突变体中克隆了 *ADL1* 基因,该基因编码1个植物特异的半胱氨酸蛋白酶,在植物叶片的形态建成中起着重要作用。Wu 等<sup>[15]</sup>和 Hu 等<sup>[16]</sup>分别利用2个不同的窄、卷叶突变体,将 *NRL1* 基因克隆,该基因编码1个水稻纤维素合成酶,在水稻叶片的形态建成和营养生长过程中起关键作用。Shi 等<sup>[17]</sup>利用1个卷叶突变体,将 *RL11* 基因定位于水稻第7号染色体的短臂上。汪德凯等<sup>[18]</sup>利用1个窄叶突变体,将 *NAL3* 基因定位于水稻第12号染色体的2个 STS 标记之间。朱丽等<sup>[19]</sup>根据水稻卷窄叶突变相关基因 *OsCSLD4* RNAi 研究表明,*OsCSLD4* 基因在水稻叶片形态发育过程中起着非常重要的作用。Farooq 等<sup>[20]</sup>将2个控制剑叶叶长的 QTL: *qFLLnpt-2* 和 *qFLLnpt-4*,分别定位于水稻第2和第4染色体;1个控制剑叶叶宽的 QTL: *qFLWnpt-4*,定位于水稻第4染色体 RM17483 附近;另1个控制剑叶叶宽的 QTL: *qFLWnpt-1*,定位于第1染色体 RM3252 附近。童汉华等<sup>[21]</sup>将控制剑叶形态的 QTL 定位于水稻第1和第

4 染色体上。李仕贵等<sup>[22]</sup>在水稻第4和第8染色体上检测到控制水稻剑叶长的2个 QTL;在第1、3、8和12染色体上分别检测到4个与剑叶叶宽相关的 QTL;影响剑叶长宽比的5个 QTLs 分别定位于第1、3和7染色体上。这些基因的定位和克隆,有利于进一步阐明水稻叶片发育的分子机理。

本研究从水稻品种浙粳22经<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 射线辐照处理后的突变体库中,发现1个分蘖穗的穗颈节上着生2片叶片的突变体,似有2张剑叶,因此,将该突变体命名为双剑叶突变体 *dfl1* (double flag leaf 1)。本研究对该突变体进行了表型鉴定、遗传分析,光合特性分析,同时对其作相关的 BR 处理试验以及与 BR 合成及代谢有关的基因的 RT-PCR 分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 突变体及遗传分析

2006年夏季在杭州以浙粳22为材料,干种子经300Gy <sup>60</sup>Co  $\gamma$ 射线辐照处理,从 M<sub>2</sub>代中发现1株变异材料,其表型在杭州和海南两地连续5年的种植表现稳定,不受环境条件的影响,其显著特征是分蘖穗的穗颈节上着生了2片叶片(图1)。为分析其遗传特性,以突变体为母本,野生型浙粳22为父本杂交,观察 F<sub>1</sub> 性状表现,并统计 F<sub>2</sub> 群体中突变体和野生型的表型分离情况。

### 1.2 突变体表型鉴定

突变体和野生型各种植24株,随机取10株,在成熟期测量突变体和野生型的节间及籽粒长度。籽粒长度的测量在种子收获并37℃烘干后进行,每株取10个籽粒测量。

### 1.3 光合作用测定

利用便携式气体交换系统 Li-6400(美国 LI-COR 公司)及其蓝红光源叶室,测定时光合作用有效光强度设置为 1500  $\mu\text{mol photons}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  (饱和光),温度控制在 35℃ 左右(与测定时大气温度接近),CO<sub>2</sub> 浓度为 360  $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ,在水稻灌浆期晴天的上午 10:00 ~ 12:00 之间进行,选择野生型剑叶及突变体穗颈节上的2片叶片。测量叶片中部的(饱和光)最大净光合速率 ( $P_N$ ),胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 ( $C_i$ ) 和气孔导度 ( $g_s$ )。突变体和野生型各测定10株,在灌浆期每隔7d测定1次,共测定3次。

### 1.4 BR 处理

为确定突变体是 BR 合成缺乏还是对 BR 不敏感,根据 Fujioka 等<sup>[23]</sup>的方法用不同浓度的 BR 分别对突



图 1 突变体与野生型表型比较

Fig. 1 Phenotypic comparison of mutant and wild type

注: *df1*: 突变体, ZJ22: 野生型。A: 株型; B: 剑叶表型; C: 倒二节间表型。Note: *df1*: mutant, ZJ22: wild type. A: plant; B: flag leaf; C: second internodes from top.

变体和野生型幼苗进行 BR 处理。种子经 20% 的次氯酸钠消毒后, 置于添加不同浓度 BR (10、100 和 1000 nmol/L) 的 1/2MS 培养基中, 于种子发芽 7d 后观察根系生长情况。每次处理 20~30 粒种子。

### 1.5 RT-PCR

利用植物 RNA 专用提取试剂盒 RNARose Reagent (大连宝生物有限公司) 提取突变体和野生型苗期叶片 RNA。各取 20ng RNA, 用 cDNA 反转录试剂盒合成 cDNA。以水稻 *UBI* 基因为内标, 作为样品上样量的对照标准。根据 BR 合成和代谢相关基因的 DNA 序列,

利用 Primer Premier 5.0 软件设计引物 (表 1)。

*UBI* 基因的 PCR 扩增方法: 20 μl PCR 反应体系包括 10 × buffer 缓冲液 (含 MgCl<sub>2</sub>) 2.0 μl, dNTPs (2.5 mmol/L) 1 μl, 引物 (5 mmol/L) 各 1 μl, *Taq* 酶 (2 U/μl) 0.5 μl, cDNA (100 ng/μl) 2 μl, 无菌水 12.5 μl。反应条件为: 95℃ 预变性 3 min; 95℃ 30 s, 56℃ 30 s, 72℃ 30 s, 28 个循环; 72℃ 延伸 5 min。反应产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。BR 合成及其相关代谢基因的 PCR 扩增体系与 *UBI* 基因的 PCR 扩增体系相同, 反应条件中除退火温度根据各自引物的序列不同外, 其余均与 *UBI* 基因的 PCR 反应条件相同。

表 1 RT-PCR 相关基因引物序列

Table 1 Primer sequences for RT-PCR

基因 gene	正向引物 forward primer	反向引物 reverse primer
<i>UBI</i>	5'-GACGGACGCACCCTGGCTGACTAC-3'	5'-TGCTGCCAATTACCATATACCACGAC-3
<i>BRD1</i>	5'-GGAGAAGAACATGGAATCAC-3'	5'-GTAATCTTGAACGCGGATATG-3'
<i>D11</i>	5'-TCACTGCCATGATACTTGAAGA-3'	5'-TTCCTGACTAATCCTCTCAGT-3'
<i>DWARF4</i>	5'-AGTCGCGTGCTGCCATTCTCGGAGTAATAG-3	5'-AGCAAGCTCAGCAAGAGGTCCAGGATTTGC-3'
<i>D61</i>	5'-CTCGGCAGCGTCGAGGTGC-3'	5'-AGGAATTGTGTGCTGAGCTTC-3'
<i>XTR1</i>	5'-CAACATGGCGACGACGACGG-3'	5'-TCGATCTCGTCGTGCTCCGA-3'

## 2 结果与分析

### 2.1 突变体表型鉴定

2.1.1 突变体节间长度分析 根据水稻茎的生长发育特性, 分析双剑叶突变体与野生型材料在水稻分蘖穗的穗颈伸长情况。结果表明: 双剑叶突变体的茎和节在发育中出现变化, 倒 2 节间与野生型相比发生了

极度紧缩,突变体倒 2 节间长度仅为 0.39cm,而野生型倒 2 节间长度为 17.05cm,这是造成突变体具有双剑叶表型的主要原因。同时,突变体其他节间长度与

野生型并无明显差异(表 2)。突变体表型在杭州与海南两地种植均表现一致,不受环境条件影响。

表 2 突变体和野生型不同节间长度

Table 2 Length of different internodes for the mutant and wide type (cm)

名称 name	穗下节间 internodes under spike	倒 2 节间 second internodes from top	倒 3 节间 third internodes from top	倒 4 节间 fourth internodes from top
突变体 mutant	24.47 ± 1.70	0.39 ± 0.12	13.64 ± 2.06	12.90 ± 1.23
野生型 wild type	27.59 ± 3.08	17.05 ± 1.65	14.91 ± 1.14	12.57 ± 2.95

2.1.2 突变体籽粒长度分析 突变体籽粒长度分析结果表明:野生型的籽粒长度为 0.804cm ± 0.054cm, *dfl1* 的籽粒长度为 0.692cm ± 0.048cm,籽粒长度有明显差异(图 2)。根据 sumivo 等<sup>[24]</sup>报道,水稻籽粒发育中,其长度与水稻中内源 BR 的合成相关,缺乏内源 BR 会导致水稻籽粒长度降低,因此,推测该突变体与水稻内源 BR 的合成代谢相关。

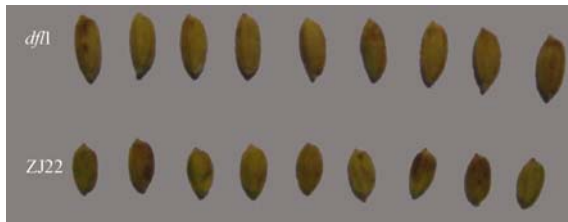


图 2 突变体和野生型粒型

Fig. 2 Seed phenotype of mutant and wild type

*dfl1*: 突变体; ZJ22: 野生型

*dfl1*: mutant; ZJ22: wild type

## 2.2 突变体遗传分析

以突变体材料为母本,野生型浙粳 22 为父本杂交,  $F_1$  与野生型浙粳 22 表型一致,无突变表型。  $F_1$  经自交一代后得  $F_2$  分离群体,统计结果表明:  $F_2$  群体中具有突变体表型的共有 140 株,野生型表型的共有 494 株。经卡平方测验,  $\chi^2_c = 2.725 < \chi^2_{0.05} = 3.84$ , 突变基因符合孟德尔 3:1 遗传分离比,说明该突变体性状是由单隐性基因控制的。

## 2.3 光合作用特性

在水稻灌浆期测量野生型剑叶和突变体穗颈节上 2 片叶片的光合特性。突变体穗颈节上 2 片叶片在饱和光下净光合速率 ( $P_N$ ) 为  $25.09 \pm 4.38 \text{ molCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ,野生型剑叶净光合速率 ( $P_N$ ) 为  $30.81 \pm 3.99 \text{ molCO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ,突变体叶片净光合速率略低于野生型;突变体穗颈节上 2 片叶片的气孔导度 ( $g_s$ ) 为  $0.558 \pm$

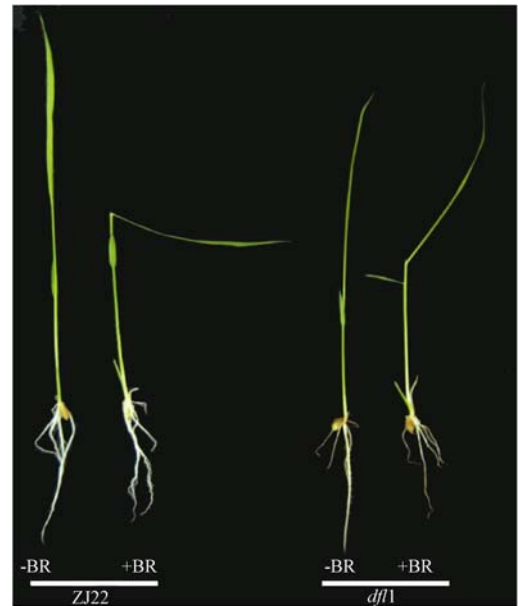


图 3 突变体和野生型 BR 处理结果

Fig. 3 Mutant and wide type plant after BR treatment

+ BR: 经过 BR 处理; - BR: 未经过 BR 处理;

*dfl1*: 突变体; ZJ22: 野生型

+ BR: BR treatment; - BR: no BR treatment;

*dfl1*: mutant; ZJ22: wild type

$0.209 \text{ molH}_2\text{O}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ,野生型剑叶的气孔导度 ( $g_s$ ) 为  $0.744 \pm 0.134 \text{ molH}_2\text{O}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ ,气孔导度也有所下降;突变体穗颈节上 2 片叶片胞间  $\text{CO}_2$  浓度为  $288 \pm 6.11 \text{ molCO}_2/\text{mol}$ ,野生型剑叶胞间  $\text{CO}_2$  浓度为  $281 \pm 15.99 \text{ molCO}_2/\text{mol}$ ,胞间  $\text{CO}_2$  浓度也低于野生型。表明突变体穗颈节上 2 片叶片的光合作用性能低于野生型剑叶。

## 2.4 BR 处理结果

经 BR 处理后,突变体和野生型幼苗的叶片夹角都变大,野生型效果比突变体更为明显;同时,突变体

和野生型的主根生长都受到抑制,侧根伸长(图3)。这一结果表明,突变体与野生型一致,都对 BR 敏感。

## 2.5 RT-PCR 分析

根据文献报道,选择水稻中部分与 BR 合成及代谢相关的基因,分别为 *D11*<sup>[6]</sup>、*DWARF4*<sup>[7]</sup>、*BRD1*<sup>[9]</sup>、*D61*<sup>[25]</sup> 和 *XTR1*<sup>[26]</sup>。根据各自的 DNA 和 EST 序列信息设计引物,通过 RT-PCR 检测不同基因在突变体和野生型中的表达情况。结果显示,*D61* 和 *XTR1* 在突变体中的表达量低于野生型,而 *DWARF4*、*D11* 以及 *BRD1* 在突变体和野生型中的表达量基本无差异(图4)。这一结果表明,突变体中有关水稻内源 BR 合成或代谢调控基因的表达受到影响。

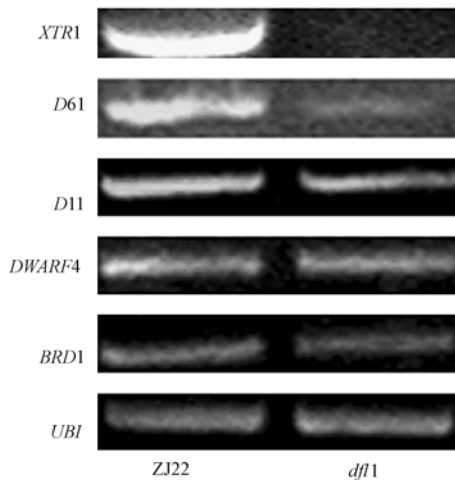


图4 BR合成及代谢相关基因 RT-PCR

Fig. 4 RT-PCR of genes related to BR synthesis and metabolism

## 3 讨论

植物中最早发现的一类甾醇类激素是油菜素甾醇(brassinosteroid, BR)。20世纪70年代从油菜(*Brassica napus*)的花粉中提取出一种新的植物生长调节物质芸苔素,其主要有效成分即为具类固醇结构的BR,在种子和花粉中含量最高,BR对于植物的形态建成、细胞伸长生长、光形态发育等方面具有重要影响<sup>[27]</sup>。Yamamuro等<sup>[11]</sup>首次报道BR有助于单子叶植物茎的伸长生长,进一步研究BR不敏感突变体*d61*、BR合成突变体*brd1*和*d2*突变体后发现,BR对于水稻倒一节间的伸长、叶片夹角的变化和暗形态建成具有重要作用,而且不管是BR不敏感突变体还是BR合成受阻突变体,其作用都是一致的。Nakamura等<sup>[28]</sup>研究表明,C-22羟基化BR通过1个新的信号途径

参与生长素的传导,从而调控突变体表型。Nakamura等<sup>[29]</sup>研究还发现,突变体植株细胞的伸长生长发生缺陷,有丝分裂受到干扰,进而使突变体的株型发育出现异常。Je等<sup>[30]</sup>研究表明,*RAVL1*基因调控BR受体蛋白的表达,是*D2*、*D11*和*BRD1*等BR合成基因表达所必须,*RAVL1*基因同时也调控细胞内BR的动态平衡,介导了细胞内涉及BR信号传导与合成基因的表达。Tanaka等<sup>[31]</sup>发现1个新的BR诱导基因*BU1*,*BU1*蛋白正向调控BR反应,控制水稻叶片夹角的变化,通过调控*OsBR1*基因和*RGA1*基因参与BR的信号途径。因此,BR作为一种重要的植物激素,在水稻株型发育和叶片形态建成等方面具有非常重要的作用,通过调控BR合成基因的表达,BR的信号传导来维持细胞内BR的动态平衡,从而保证水稻的正常发育。

本研究所用的双剑叶突变体其表型与*d61*、*d2*等BR合成突变体表型类似,都具有水稻倒一节间和籽粒缩短等表型特点,BR处理和RT-PCR试验结果也表明,双剑叶突变体对BR敏感;同时,相关BR合成和代谢途径中有关基因的表达量发生变化,推测该突变体的表型与BR的内源生成或代谢相关。遗传分析表明,该突变体的表型受1对隐性基因控制。通过基因克隆,分析该基因的功能将有助于研究BR在水稻株型调控方面的作用。

本研究中突变体材料在水稻灌浆期间的光合作用性能低于野生型,可能是由于基因突变使突变体的光合作用受到影响,从而减少光合产物的生成及转运,进一步导致突变体的籽粒长度明显低于野生型。突变体中光合产物的生成、转运以及籽粒的灌浆和发育与BR的相关关系还需进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 杨守仁,张龙步,王进民. 水稻理想株型育种的理论和方法初论[J]. 中国农业科学,1984,17(3):6-13
- [2] 曾勇军,石庆华,潘晓华,李木英. 水稻理想株型研究进展[J]. 中国稻米,2006,(1):10-13
- [3] Yoshidq S, Cook J H. Growth performance of and improved rice variety on the tropics [J]. Int Rice Comm Newsl, 1971,20: 1-15
- [4] 贺再新. 水稻理想株型研究进展与育种策略[J]. 湖南农业科学, 2005,(1):11-13
- [5] 欧志英,彭长连,阳成伟,林桂珠,段俊,温学. 超高产水稻剑叶的高效光合特性[J]. 热带亚热带植物学报,2003,11(1):126
- [6] Sumiyo T, Motoyuki A, Shozo F, Suguru T, Shigeo Y, Masahiro Y, Atsushi Y, Hidemi K, Makoto M, Yukiko F, Hisaharu K, Yukimoto I. A novel cytochrome P450 is implicated in brassinosteroid biosynthesis via the characterization of a rice dwarf mutant, dwarf11, with reduced seed length [J]. Plant Cell, 2005, 17: 776-790

- [ 7 ] Sakamoto T, Morinaka Y, Ohnishi T, Sunohara H, Fujioka S, Ueguchi-Tanaka M, Mizutani M, Sakata K, Takatsuto S, Yoshida S, Tanaka H, Kitano H, Matsuoka M. Erect leaves caused by brassinosteroid deficiency increase biomass production and grain yield in rice[J]. Nat Biotechnol, 2006, 24(1):105-109
- [ 8 ] Mori M, Nomura T, Ooka H, Ishizaka M, Yokota T, Sugimoto K, Okabe K, Kajiwara H, Satoh K, Yamamoto K, Hirochika H, Kikuchi S. Isolation and characterization of a rice dwarf mutant with a defect in brassinosteroid biosynthesis[J]. Plant Physiol, 2002, 130(3):1152-61
- [ 9 ] Zhi H, Miyako U T, Sae S S, Yoshiaki I, Shozo F, Yukihisa S, Suguru T, Masakazu A, Shigeo Y, Yoshihisa W, Sakurako U, Hidemi K, Motoyuki A, Makoto M. Loss-of-function of a rice brassinosteroid biosynthetic enzyme, C-6 oxidase, prevents the organized arrangement and polar elongation of cells in the leaves and stem[J]. Plant J, 2002, 32:495-508
- [ 10 ] Zhi H, Miyako U T, Kazuto U, Sakurako U, Shozo F, Suguru T, Shigeo Y, Motoyuki A, Hidemi K, Makoto M. A rice brassinosteroid-deficient mutant, *ebisu dwarf* (*d2*) is caused by a loss of function of a new member of cytochrome P450 [J]. Plant Cell, 2003, 15:2900-2910
- [ 11 ] Yamamuro C, Ihara Y, Wu X, Noguchi T, Fujioka S, Takatsuto S, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M. Loss of function of a rice brassinosteroid insensitive homolog prevents internode elongation and bending of the lamina joint [J]. The Plant Cell, 2000, 12:1591-1606
- [ 12 ] Luo Z, Yang Z, Zhong B, Li Y, Xie R, Zhao F, Ling Y, He G. Genetic analysis and fine mapping of a dynamic rolled leaf gene, RL10(1), in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Genome, 2007, 50(9):811-817
- [ 13 ] Yan S, Yan C J, Zeng X H, Yang Y C, Fang Y W, Tian C Y, Sun Y W, Cheng Z K, Gu M H. ROLLED LEAF 9, encoding a GARP protein, regulates the leaf abaxial cell fate in rice [J]. Plant Mol Biol, 2008, 68(3):239-250
- [ 14 ] Hibara K, Obara M, Hayashida E, Abe M, Ishimaru T, Satoh H, Itoh J, Nagato Y. The ADAXIALIZED LEAF1 gene functions in leaf and embryonic pattern formation in rice [J]. Dev Biol, 2009, 334(2):345-354
- [ 15 ] Wu C, Fu Y, Hu G, Si H, Cheng S, Liu W. Isolation and characterization of a rice mutant with narrow and rolled leaves [J]. Planta, 2010, 232(2):313-324
- [ 16 ] Hu J, Zhu L, Zeng D, Gao Z, Guo L, Fang Y, Zhang G, Dong G, Yan M, Liu J, Qian Q. Identification and characterization of NARROW AND ROLLED LEAF 1, a novel gene regulating leaf morphology and plant architecture in rice [J]. Plant Mol Biol, 2010, 73(3):283-292
- [ 17 ] Shi Y, Chen J, Liu W, Huang Q, Shen B, Leung H, Wu J. Genetic analysis and gene mapping of a new rolled-leaf mutant in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Sci China C Life Sci, 2009, 52(9):885-890
- [ 18 ] 汪德凯,刘合芹,李克磊,李素娟,陶跃之. 一个水稻窄叶突变体的鉴定和基因定位[J]. 科学通报, 2009, 54(3):360-365
- [ 19 ] 朱丽,胡江,颜美仙,高振宇,刘坚,钱前,郭龙彪. 水稻卷窄叶突变相关基因 *OsCSLD4* 的 RNAi 研究及表达分析[J]. 核农学报, 2010, 24(5):873-880
- [ 20 ] Farooq M, Tagle A G, Santos R E, Ebron L A, Fujita D, Kobayashi N. Quantitative trait loci mapping for leaf length and leaf width in rice cv. IR64 derived lines [J]. J Integr Plant Biol, 2010, 52(6):578-584
- [ 21 ] 童汉华,梅捍卫,邢永忠,曹一平,余新桥,章善庆,罗利军. 水稻生育后期剑叶形态和生理特性的 QTL 定位[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(5):493-499
- [ 22 ] 李仕贵,何平,王玉平,黎汉云,陈英,周开达,朱立煌. 水稻剑叶性状的遗传分析和基因定位[J]. 作物学报, 2000, 26(3):261-265
- [ 23 ] Fujioka S, Noguchi T, Takatsuto S, Yoshida S. Activity of brassinosteroid in the dwarf rice lamina inclination bioassay [J]. Phytochemistry, 1998, 49:1841-1848
- [ 24 ] Tanabe S, Ashikari M, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Yano M, Yoshimura A, Kitano H, Matsuoka M, Fujisawa Y, Kato H, Iwasaki Y. A novel cytochrome P450 is implicated in brassinosteroid biosynthesis via the characterization of a rice dwarf mutant, *dwarf11*, with reduced seed length[J]. Plant Cell, 2005, 17(3):776-790
- [ 25 ] Morinaka Y, Sakamoto T, Inukai Y, Agetsuma M, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M. Morphological alteration caused by brassinosteroid insensitivity increases the biomass and grain production of rice[J]. Plant Physiol, 2006, 141(3):924-931
- [ 26 ] Uozu S, Tanaka-Ueguchi M, Kitano H, Hattori K, Matsuoka M. Characterization of XET-related genes of rice [J]. Plant Physiol, 2000, 122(3):853-859
- [ 27 ] 储昭庆,李李,宋丽,薛红卫. 油菜素内酯生物合成与功能的研究进展[J]. 植物学通报, 2006, 23(5):543-555
- [ 28 ] Nakamura A, Fujioka S, Takatsuto S, Tsujimoto M, Kitano H, Yoshida S, Asami T, Nakano T. Involvement of C-22-hydroxylated brassinosteroids in auxin-induced lamina joint bending in rice[J]. Plant Cell Physiol, 2009, 50(9):1627-35
- [ 29 ] Nakamura A, Fujioka S, Sunohara H, Kamiya N, Hong Z, Inukai Y, Miura K, Takatsuto S, Yoshida S, Ueguchi-Tanaka M, Hasegawa Y, Kitano H, Matsuoka M. The role of OsBRII and its homologous genes, OsBRL1 and OsBRL3, in rice [J]. Plant Physiol, 2006, 140(2):580-590
- [ 30 ] Je B I, Piao H L, Park S J, Park S H, Kim C M, Xuan Y H, Park S H, Huang J, Do Choi Y, An G, Wong H L, Fujioka S, Kim M C, Shimamoto K, Han C D. RAV-Like1 maintains brassinosteroid homeostasis via the coordinated activation of BRII and biosynthetic genes in rice [J]. Plant Cell, 2010, 22(6):1777-791
- [ 31 ] Tanaka A, Nakagawa H, Tomita C, Shimatani Z, Ohtake M, Nomura T, Jiang C J, Dubouzet J G, Kikuchi S, Sekimoto H, Yokota T, Asami T, Kamakura T, Mori M. BRASSINOSTEROID UPREGULATED1, encoding a helix-loop-helix protein, is a novel gene involved in brassinosteroid signaling and controls bending of the lamina joint in rice[J]. Plant Physiol, 2009, 151(2):669-680

(责任编辑 王媛媛)