

文章编号:1000-8551(2011)06-1094-06

OsCRY2 基因抑制表达对水稻主要农艺性状的影响

李 毓^{1,2} 庄春红^{1,3} 庄伟建^{1,3} 王乃元² 戴 飞³ 仇秀丽² 谢娜英¹ 林剑钦¹

(1. 福建农林大学作物科学学院,福建 福州 350002;2 福建农林大学作物遗传育种与综合利用教育部重点实验室,福建 福州 350002;3. 福建省分子与细胞生物学重点实验室,福建 福州 350002)

摘要:利用已公布的水稻 *OsCRY2* 基因序列设计引物,扩增部分基因片段,成功构建了 ihpRNA 植物表达载体 pSC1301-347-*OsCRY2*,并通过农杆菌介导法将 *OsCRY2* 干扰片段导入水稻获得了转基因植株。根据转基因植株主要农艺性状的表现,分析了该基因的功能。结果表明,抑制 *OsCRY2* 基因表达会强烈延迟水稻开花与成熟;转基因植株穗与剑叶变短,结实率下降,粒增长,其他农艺性状未见明显变化。

关键词:水稻; *OsCRY2* 基因; ihpRNA 表达载体; 转化

EFFECTS OF SUPPRESSING *OsCRY2* GENE EXPRESSION ON MAIN AGRONOMIC TRAITS OF RICE

LI Yu^{1,2} ZHUANG Chun-hong^{1,3} ZHUANG Wei-jian³ WANG Nai-yuan² DAI Fei²
QIU Xiu-li² XIE Na-ying¹ LIN Jian-qin¹(1. College of Crop Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002;
2. Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Crops, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002;
3. Key Laboratory of Molecular and Cellular Biology, Fujian Province, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract: According to the published rice *OsCRY2* gene sequence, we designed the related primers to obtain part of the gene by PCR and constructed an ihpRNA plant expression vector named pSC1301-347-*OsCRY2*. The *OsCRY2* gene interference fragment was then introduced into rice by *Agrobacterium*-mediated transformation. The functions of the gene was preliminarily analyzed by the performance of the transformants. The results indicated that the transgenic plants in which the expression of *OsCRY2* gene was suppressed give rise to both retarded flowering and maturing. Moreover, the transgenic plants have short panicles and flag leaves, lower seed-set percent with the grain becoming longer while the other agronomic traits do not change apparently.

Key words: rice; *OsCRY2* gene; ihpRNA expression vector; transformation

光是植物光合作用的能量来源,同时光对植物生长发育具有重要调控作用。植物中的隐花色素主要接受蓝光与紫外光 A^[1~3],并通过信号传导调控植物生长发育的多个途径。目前已知至少存在 5 种光受体:光敏色素、隐花色素(CRY)、向光素、ZTLs 家族和 UV-B 受体^[4]。根据对拟南芥等植物的研究,隐花色素

的主要功能包括抑制拟南芥下胚轴的伸长,促进子叶展开、花青素积累与气孔开张^[5~7],调节开花^[8~10],去黄化^[11~13]等,特别是,光通过其受体传导光信号至基因的转录因子^[11~16]或昼夜节律钟系统^[3,17~22]调控一系列基因的表达,使植物的生长、分化、光形态建成与开花成熟等过程能够有序进行。近年来的研究还发

收稿日期:2011-04-22 接受日期:2011-09-13

基金项目:福建省科技计划重点项目(2008I01021117),国家高技术研究发展计划(“863 计划”)项目(2007AA10Z181)

作者简介:李 毓(1965-),男,甘肃镇原人,博士,副教授,研究方向为植物分子遗传育种。Tel:13405983527;E-mail:YL0934@163.com

通讯作者:庄伟建(1958-),男,福建惠安人,博士,教授,研究方向为植物细胞与分子生物学。Tel:0591-83768226;E-mail:zhuangwj@pub2.fj.cn

现,隐花色素在感知磁场、细胞凋亡^[23]与增强植物抗性^[24]等方面也有调节作用。因此对隐花色素基因,特别是具有重要经济价值的作物,水稻隐花色素基因功能的研究,有极其重要的意义。目前国内外对隐花色素基因作用机理的研究已相当深入。但迄今对该基因的研究主要集中于少数物种,植物方面研究最多的是双子叶植物拟南芥,而对单子叶植物的研究甚少^[6]。水稻是我国与世界上十分重要的粮食作物,但对其隐花色素基因的研究则鲜有报道。根据现有资料,水稻中至少存在 3 种隐花色素基因,分别是 *Cryptochrome1a* (*OsCRY1a*)、*Cryptochrome1b* (*OsCRY1b*) 与 *Cryptochrome2* (*OsCRY2*)。本文通过构建 *OsCRY2* ihpRNA 表达载体和遗传转化,对带有 *OsCRY2* 干扰片段的转基因水稻农艺性状进行了观察,初步分析了 *OsCRY2* 对水稻农艺性状的作用,为进一步深入了解该

基因的生物学功能奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究构建 ihpRNA 表达载体的工程载体为 pSC1301-347(T-DNA 区结构如图 1 所示),为本实验室构建并保存的一种工具载体。其启动子与终止子分别为 CaMV35S 与 T-Nos。大肠杆菌菌株 DH5 α 由本实验室保存提供,根癌农杆菌菌株 EHA105 及遗传转化受体材料日本晴稻种由福建农林大学遗传所提供。*Taq* 酶、限制性内切酶、T₄ DNA 连接酶、DNA Marker 等购自宝生物工程(大连)有限公司。质粒提取试剂盒、DNA 凝胶回收试剂盒、Trizol 试剂等购自天根生化科技(北京)有限公司。

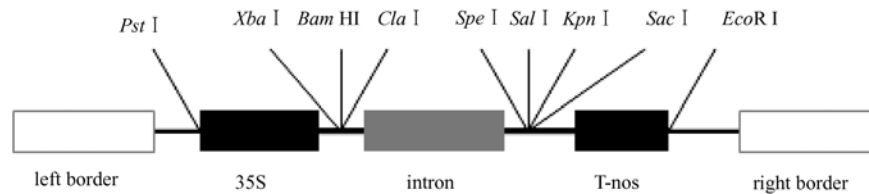


图 1 ihpRNA 工程载体(pSC1301-347)T-DNA 区结构

Fig. 1 T-DNA structure of ihpRNA engineering vector (pSC1301-347)

1.2 引物

载体构建与分子检测用引物共 4 对(见表 1),其中 P1、P2 引物用于载体构建,P3、P4 引物用于转基因植株 PCR 检测。引物均由宝生物工程(大连)有限公司合成。

1.3 载体构建方法

1.3.1 水稻叶片总 RNA 的提取 按 Trizol 试剂说明提取幼嫩水稻叶片总 RNA。

表 1 载体构建与分子检测引物

Table 1 Primers for the vector construction and molecular identification

引物名称 primer name	引物序列 primer sequence
P1 正向 forward	5' - ATAGGGTACCTTCACTTCTTCATGCGGTC
反向 reverse	5' - TCACACTAGTCAGGCAGGCTCCCAGATAT
P2 正向 forward	5' - CACGTCTAGATTCACTTCTTCATGCGGTC
反向 reverse	5' - TAACATCGATCAGGCAGGCTCCCAGATAT
P3 正向 forward	5' - AATTGGAATTTGGTACATTGGTC
反向 reverse	5' - TTACATGCTTAACGTAATTCAACA
P4 正向 forward	5' - TCCACTGACGTAAGGGATGACGC
反向 reverse	5' - GAGGTCGGATTTGCGAGTTACA

1.3.2 ihpRNA 表达载体构建 根据 GenBank 中 *OsCRY2* mRNA (登录号为 AB103094.1) 序列,选取其中一段 366bp 长的序列为干扰片段,用引物设计软件 Primer Premier 5 设计正、反向插入序列引物 P1 与 P2。先以 P1 为引物,水稻叶片总 RNA 为模板,RT-PCR 扩增获得正向插入 *OsCRY2* 片段。该片段及工程载体分别用 *Spe* I + *Kpn* I 双酶切,用 T₄ DNA 连接酶将目标基因片段正向连接于工程载体的 *Spe* I 与 *Kpn* I 位点之间,得到插入了正向基因片段的中间载体。用该中间载体转化 DH5 α ,以 P1 为引物 PCR 筛选出转化子中的阳性克隆。然后以该中间载体为模板,P2 为引物,PCR 扩增获得反向插入片段。该片段与中间载体分别用 *Xba* I + *Cla* I 双酶切,用 T₄ 连接酶将此反向片段连接于中间载体的 *Xba* I 与 *Cla* I 位点即得 ihpRNA 植物表达载体,命名为 pSC1301-347-*OsCRY2*。最后以表达载体转化 DH5 α ,转化子克隆用 *Pst* I + *EcoR* I 双酶切(以中间载体作对照)。根据酶切片段的长度筛选出转化子中正、反向片段均插入的阳性克隆。阳性克隆进一步测序验证插入序列的正确性。测序由宝生物工程(大连)有限公司完成。

P1、P2 引物 PCR 条件均为 94℃ 预变性 2min (第一次循环), 94℃ 变性 30s, 52℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 30s, 循环 5 次后, 再转入下一个梯度即 94℃ 变性 30s, 56℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 30s, 循环 32 次。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳后用 DNA 凝胶回收试剂盒回收纯化。

1.4 组织培养与遗传转化

表达载体经测序验证正确后, 用冻融法转化农杆菌 EHA105, 以 P1 为引物, 对转化子克隆进行菌落 PCR, 筛选出阳性克隆。诱导培养梗稻日本晴种子胚性愈伤组织, 通过农杆菌介导法进行遗传转化。组织培养、遗传转化与分化培养的方法步骤详见文献 [25]。

1.5 转基因植株的组织化学及分子检测

转基因苗先通过 β -葡萄糖苷酸酶基因 (*GUS*) 检测筛选出 *GUS* 阳性植株^[25]: 取少量幼嫩叶片, 剪成长约 2~3mm, 宽约 1~1.5mm 的小块, 每个 PCR 管放入 1~3 片, 然后加入 10~20 μ l *GUS* 染色液, 37℃ 保温 2~12h。同时以日本晴叶片为阴性对照依据组织化学染色结果初步鉴定分化苗是否为转基因苗。

选取 *GUS* 染色阳性株提取叶片基因组 DNA, 利用 PCR 分子检测进一步确认正反向干扰片段是否已正确插入水稻基因组。且检测内容包括正、反两个插入片段。PCR 分子检测的引物为 P3、P4 (表 1), 分别用于检测正向和反向插入序列。

P3、P4 引物 PCR 反应条件相同, 均为 94℃ 变性 2min (第一次循环), 94℃ 变性 30s, 52℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 1min, 35 次循环。

1.6 转基因后代的管理

通过分化培养获得的幼苗移栽于温室中。参考大田栽培管理方法进行施肥、浇水与病虫害防治。T₀ 代经 *GUS* 检测与 PCR 分子检测均呈阳性的植株成熟时按单株收种, 下一代种成株系进行后代繁殖。对每代进行 *GUS* 检测, 筛选出阳性植株, 单株收获并保存种子。T₃ 代 *GUS* 检测均呈阳性且不再分离的株系即为纯合系。对纯合转基因植株繁种, 下一代进行农艺性状观察与分析。

1.7 转基因植株 *OsCRY2* 基因表达水平检测

采用半定量 RT-PCR 法检测转基因植株 *OsCRY2* 表达水平。提取转基因水稻及对照日本晴水稻幼嫩叶片总 RNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计进行核酸质量分析。将提取的 RNA 逆转录 (M-MLV RTase cDNA Synthesis Kit) 为 cDNA, 并通过精密分光光度计 (NANODROP 2000C, Thermo) 将转基因水稻与对照样品 cDNA 浓度调整为一致。以 cDNA 为模板,

Actin 为内参, RT-PCR 扩增检测 *OsCRY2* 表达水平。预期 *OsCRY2* 与 *Actin* RT-PCR 片段大小均为 750bp 左右。具体方法详见文献 [26]。

RT-PCR 所用引物:

OsCRY2 基因为: 5'-gaacttgatacctgaactag-3' 和: 5'-cttagttgagtacacctcac-3'; *Actin* 基因为: 5'-gatgcctatgttgatgag-3' 和 5'-cttctgatatccacatcacac-3'。

RT-PCR 条件均为: 94℃ 变性 5 min (第一次循环), 94℃ 变性 30s, 58℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 1.5min, 循环 30 次。

1.8 转基因植株农艺性状鉴定

按大田生产模式, 2010 年早季于福州育种基地将 T₄ 代纯合转基因材料种成小区, 小区面积 2m², 设置野生型日本晴作为对照。株行距均为 22cm。生长发育期间田间观察记载抽穗开花与成熟日期。成熟后每小区随机取样 5 株, 分别对主茎高、穗长、结实率等主要农艺性状进行观测。开花期以整个小区 80% 以上的植株已开花为标准, 生育期按开花期加 30d 作为估计值。

1.9 数据处理

农艺性状数据用 SAS 软件进行平均数间差异显著性分析。

2 结果

2.1 目的基因片段的 PCR 扩增

以水稻叶片总 RNA 为模板, P1 为引物, PCR 扩增 *OsCRY2* 拟插入载体 *SpeI* 与 *KpnI* 克隆位点的正向插入片段, PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳, 在 300bp 与 400bp 之间出现目的条带 (图 2), 与预期 (366bp) 大小吻合。然后以插入了正向片段的载体 (中间载体) 为模板, 以 P2 为引物, PCR 扩增获得拟反向插入的基因片段。

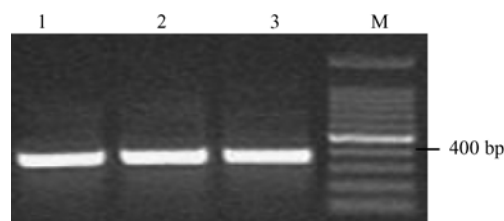


图 2 基因片段 RT-PCR 扩增

Fig. 2 RT-PCR product of the gene fragment

1~3: 目的片段 PCR 产物; M: DNA marker 100

1~3: PCR product of target gene fragment; M: DNA marker 100

2.2 表达载体的分子鉴定

将载体转化大肠杆菌后获得的 2 个克隆进行了双酶切 (*Pst* I + *EcoR* I) 鉴定, 预期目的片段大小为 2230bp (包括正反向两个插入片段和工程载体核心序列), 以中间载体为对照的双酶切目的片段约为 1900bp。电泳检测结果表明, 2 个克隆均在 2000bp 以上出现相同大小的目的片段, 对照在 2000bp 稍下方出现酶切目的片段, 均与预期一致 (图 3)。对构建的表达载体的插入序列分别进行了测序, 结果与 NCBI 公布的序列一致。酶切鉴定与测序结果证明, 目的基因片段均已正确连接于工程载体上。

表达载体核心序列结构如图 4 所示。

2.3 转基因植株的 PCR 检测

以 P3、P4 为引物, 对转基因 T₀ 代植株正、反向插入序列进行 PCR 鉴定, 结果如图 5 所示。根据工程载体表达盒序列、引物序列与插入基因片段的序列, 预期 2 个插入片段 PCR 产物的大小分别为 499bp (反向插入) 与 565bp (正向插入)。所有被测转基因植株均获得相同的结果。转基因苗均检测到 2 个插入片段的存

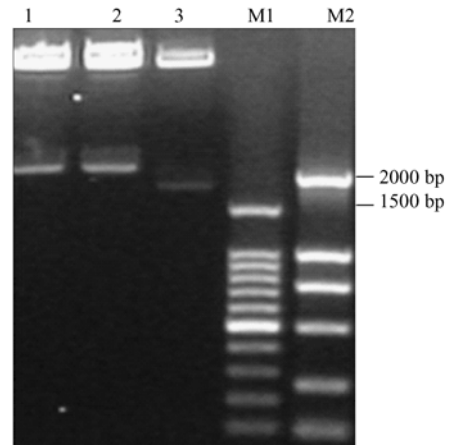


图 3 表达载体的分子检测

Fig. 3 Molecular check of expression vectors
1, 2: 两个表达载体酶切产物; 3: 中间载体 (对照) 酶切产物;
M1: DNA marker 100; M2: DNA marker 2000
1, 2: restriction enzyme products of two expression vectors;
3: restriction enzyme products of the intermediate vector (CK);
M1: DNA marker 100; M2: DNA marker 2000

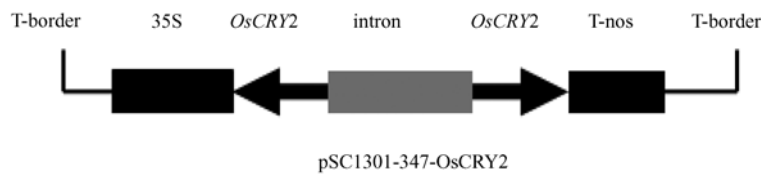


图 4 表达载体核心序列结构图

Fig. 4 The core sequence structure map of the expression vector

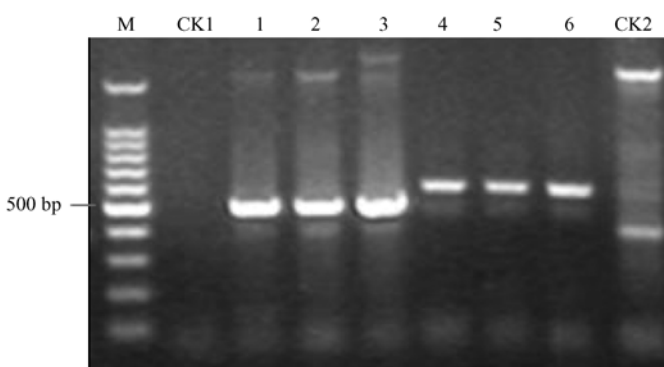


图 5 转基因植株的 PCR 检测

Fig. 5 PCR identification of transgenic plants
M: DNA marker 100; CK1: 反向插入对照; 1~3: 反向插入 PCR 产物; 4~6: 正向插入 PCR 产物; CK2: 正向插入对照
M: DNA marker 100; CK1: reverse insert control;
1~3: reverse insert PCR products; 4~6: forward insert PCR products; CK2: forward insert control

在, 其大小与预期一致。用相应引物对对照日本晴的检测均未出现目的带, 表明 *OsCRY2* 两个 RNA 干扰片

段均已正确插入受体品种基因组。

2.4 *OsCRY2* 表达水平检测

半定量 RT-PCR 结果如图 6 所示。结果表明, 转

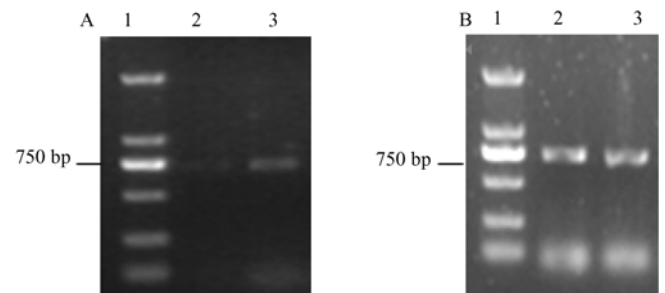


图 6 目标基因在转基因植株中的表达

Fig. 6 Target gene expression in transgenic plants
A: *OsCRY2* 表达水平检测; 1: DNA marker 2000; 2: 转基因植株; 3: 对照。
B: *Actin* 表达水平检测; 1: DNA marker 2000; 2: 转基因植株; 3: 对照
A: expression level check for *OsCRY2*; 1: DNA marker 2000;
2: transgenic plant; 3: CK.
B: expression level check for *Actin*;
1: DNA marker 2000; 2: transgenic plant; 3: CK

基因水稻 *OsCRY2* 扩增带明显弱于对照日本晴(图 6A),而对应的 *Actin* 扩增带的亮度无明显差异(图 6B),因此 *OsCRY2* 基因的表达在转基因水稻中受到抑制,表明 RNA 干扰达到了抑制 *OsCRY2* 基因表达的目的^[26]。

2.5 转基因植株农艺性状鉴定

从表 2 可知,转基因植株的开花期为 7 月 31 日,对照则为 7 月 14 日,推迟 17 天,生育期延长 17 天,差异明显。转基因植株剑叶长为 32.52cm,比对照(47.07cm)缩短约 15cm,仅为对照长的 69%,差异显著;穗长为 18.36cm,比对照(20.30cm)减小约 2cm,差异显著;粒长为 7.22mm,比对照(6.86mm)增长 0.36mm,增长幅度约为 5.2%,差异达显著。其余性状与对照相比均无显著差异。

表 2 转基因植株主要农艺性状表现

Table 2 Main agronomic-trait performances of transgenic plants

材料 material	株高 plant height (cm)	剑叶长 flag leaf length(cm)	剑叶宽 flag leaf width (cm)	穗长 panicle length (cm)	结实率 seed-set percent (%)	粒长 grain length (mm)	粒宽 grain width (mm)	粒长宽比 ratio of grain length and width	开花期 heading time	全生育期 growing days (d)
日本晴 Nipponbare	76.06 ± 3.25a	47.06 ± 6.13a	1.50 ± 0.12a	20.30 ± 1.14a	89.5 ± 4.52a	6.86 ± 0.11 b	3.18 ± 0.11a	2.18 ± 0.08a	07-14	128
转基因植株 transgenic plant	71.66 ± 4.21a	32.52 ± 2.82b	1.36 ± 0.05a	18.36 ± 1.05b	73.38 ± 5.36b	7.22 ± 0.19a	3.18 ± 0.04a	2.28 ± 0.08a	07-31	145

注:同一列数字带有相同字母表示差异不显著。

Note: Date with the same letter in the same column means no significant difference at 0.05 level.

类似。但在蕃茄中,无论在长日照或短日照下, *Cry2* 的过量表达均导致蕃茄开花推迟^[30]。推测在蕃茄中 *Cry2* 的作用是抑制开花,这与水稻和拟南芥中 *Cry2* 的作用恰好相反。因此,虽然 *CRY2* 基因对植物开花的调控具有普遍性,但不同植物间因遗传背景的巨大差异,同一类型的隐花色素基因的作用方向有可能不同。

本研究中,转基因植株的剑叶长与对照相比减小约 15cm,差异显著,表明在水稻中 *OsCRY2* 基因的存在有利于叶片的伸长生长;而另一种水稻隐花色素基因 *OsCRY1a* 对水稻剑叶长却无明显作用^[31]。在拟南芥遗传背景下,过量表达水稻另一种隐花色素基因 *OsCRY1b* 的拟南芥叶片会缩短^[29],但作用方向与 *OsCRY2* 相反,这是水稻隐花色素基因与叶长有关的又一证据。Fumiaki Hirose 等^[29] 针对过量表达水稻 *CRY1a* 与 *CRY1b* 的转基因水稻幼苗第二与第三叶的研究认为,水稻 *Oscry1* 蛋白可能对叶鞘与叶片的伸长有抑制作用。而根据本研究 *OsCRY2* 有促进水稻剑叶伸长的效应,因此 *OsCRY2* 对水稻基部叶片与剑叶的效应也存在一定差异。

根据先前对 *OsCRY1a* 的研究^[31], *OsCRY1a* 有促

3 讨论

在植物中, *OsCRY2* 基因调控光周期开花早有报道。被光活化的 *OsCRY2* (蛋白)与一种 CIB1 蛋白相互作用,可调节拟南芥相关基因的转录与花芽分化^[27],说明 *OsCRY2* 的功能是多方面的,自身的表达不仅可直接影响开花,而且可以间接影响其他基因的表达。拟南芥的 *Cry2* 突变体(*Cry2* 功能缺失)在长日照下推迟开花,短日照下则正常开花;但在短日照下该基因的过量表达导致提早开花,长日照下则正常开花^[28]。 *OsCRY2* 反义转基因水稻在长日照与短日照下均推迟开花^[29]。本研究中, *OsCRY2* 表达受到抑制时,水稻开花时间明显推迟,与上述拟南芥 *Cry2* 作用

进株高生长的效应,而本研究结果显示 *OsCRY2* 对株高无显著影响,即二者虽然同为水稻隐花色素基因,但对水稻株高的效应也不同。在结实率方面, *OsCRY1a* 与 *OsCRY2* 的作用也有差别, *OsCRY1a* 表达受到抑制的转基因水稻,结实率与对照相比无明显差异,而在本研究中 *OsCRY2* 表达受到抑制的转基因水稻结实率明显低于对照株,显示 *OsCRY2* 与水稻结实率关系更为密切。 *OsCRY1a* 对水稻穗长无明显作用,而本研究结果显示 *OsCRY2* 可显著促进水稻穗伸长。然而 *OsCRY1a* 与 *OsCRY2* 对水稻粒型的效应却相当一致,当两者的表达分别受到抑制时,转基因水稻谷粒均显著增长。而在其他植物中,尚未见隐花色素基因与株高、结实率、穗长与粒型关系的报道。

结果表明, *OsCRY2* 的生物学功能主要表现在促进水稻开花,促进穗与剑叶伸长,促进水稻结实及抑制谷粒变长。

参考文献:

- [1] Banerjee R, Batschauer A. Plant blue-light receptors[J]. *Planta*, 2005, 220(3): 498-502

- [2] Cashmore A R. Cryptochromes: enabling plants and animals to determine circadian time[J]. Cell, 2003,114(5):537-543
- [3] Gyula P, Schäfer E, Nagy F. Light perception and signaling in higher plants[J]. Curr Opin Plant Biol, 2003, 6(5):446-452
- [4] 倪俊霞, 严学兵, 王成章, 吴鹏举. 植物光受体分子生物学研究进展[J]. 草业科学, 2010, (7):94-104
- [5] Zhang Y C, Gong S F, Li Q H, et al. Functional and signaling mechanism analysis of rice CRYPTOCHROME 1[J]. Plant J, 2006, 46(6):971-983
- [6] 陈福祿, 李宏宇, 林辰涛, 傅永福. 拟南芥隐花色素突变体抑制子的筛选及其表型分析[J]. 中国农业科技导报, 2009, (3):93-97
- [7] 朱春利, 张桂荣, 邵淑慧, 彭小红, 杜金友. 玉米隐花色素基因的电子克隆及其生物信息学分析[J]. 玉米科学, 2010, (2):30-36
- [8] Bagnall D J, King R W, Hangarter R P. Blue-light promotion of flowering is absent in hy4 mutants of Arabidopsis[J]. Planta, 1996, 200: 278-280
- [9] Exner V, Alexandre C M, Rosenfeldt G, et al. A gain-of-function mutation of Arabidopsis CRYPTOCHROME 1 promotes flowering [J]. Plant Physiol, 2010, 154:1633-1645
- [10] Kleine T, Kindgren P, Benedict C, et al. Genome-wide gene expression analysis reveals a critical role for CRYPTOCHROME1 in the response of Arabidopsis to high irradiance[J]. Plant Physiol., 144(3):1391-406
- [11] Yu X, Sayegh R, Maymon M, et al. Formation of nuclear bodies of Arabidopsis OSCRY2 in response to blue light is associated with its blue light-dependent degradation[J]. Plant Cell, 2009, 21(1):118-130
- [12] Von Arnim A G, Deng X W. Light inactivation of Arabidopsis photomorphogenic repressor COPI involves a cell-specific regulation of its nucleocytoplasmic partitioning[J]. Cell, 1994, 79(6):1035-1045
- [13] 高苏娟, 谢修志, 陈兆平, 黄志刚, 赵琦, 王小菁. 蓝光调节高粱突变体 har1 幼苗的去黄化反应[J]. 植物学报, 2009, (1):69-78
- [14] Martínez-García J F, Huq E, Quail P H. Direct targeting of light signals to a promoter element-bound transcription factor [J]. Science, 2000, 288(5467):859-863.
- [15] 闫海芳, 周波, 李玉花. 光受体及光信号转导[J]. 植物学通报, 2004, (2):235-246
- [16] 庄伟建. 隐光敏素及其信号传导研究进展[J]. 遗传. 20005, 27(2):325-334
- [17] Lin C, Shalitin D. Cryptochrome structure and signal transduction [J]. Annu Rev Plant Biol, 2003, 54:469-96
- [18] Tóth R, Kevei E, Hall A, et al. Circadian clock-regulated expression of phytochrome and cryptochrome genes in Arabidopsis [J]. Plant Physiol, 2001, 127(4):1607-1616
- [19] arillo J A, Capel J, Tang R H, et al. An Arabidopsis circadian clock component interacts with both CRY1 and phyB[J]. Nature, 2001, 410(6827):487-490
- [20] Devlin P F, Kay S A. Cryptochromes are required for phytochrome signaling to the circadian clock but not for rhythmicity[J]. Plant Cell, 2000, 12(12):2499-2510
- [21] Bognár L K, Hall A, Adám E, et al. The circadian clock controls the expression pattern of the circadian input photoreceptor, phytochrome B[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(25):14652-14657
- [22] Millar A J. Input signals to the plant circadian clock[J]. J Exp Bot, 2004, 55(395):277-283
- [23] 朱春利, 张桂荣, 蔡爱军, 杜金友. 植物隐花色素结构与功能研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2009, (1):174-178
- [24] Wu L, Yang H Q. CRYPTOCHROME 1 Is Implicated in Promoting R Protein-Mediated Plant Resistance to Pseudomonas syringae in Arabidopsis[J]. Mol Plant, 2010, 3(3):539-548
- [25] 李毓, 洪国琴, 庄伟建, 王乃元, 戴非, 张国林, 张燕云, 仇秀丽. 水稻胚性愈伤诱导及其遗传转化的几个技术参数研究[J]. 核农学报, 2008, (4):394-398
- [26] 戴飞. 水稻隐花色素基因调控生长发育的功能研究[D]. 福建农林大学硕士学位论文, 2010:30-36
- [27] Liu H, Yu X, Li K, et al. Photoexcited OSCRY2 interacts with CIB1 to regulate transcription and floral initiation in Arabidopsis [M]. Science, 2008, 322(5907):1535-1539
- [28] Leonardo Giliberto, Gaetano Perrotta, Patrizia Pallara, et al. Manipulation of the Blue Light Photoreceptor Cryptochrome 2 in Tomato Affects Vegetative Development, Flowering Time, and Fruit Antioxidant Content[M]. Plant Physiology, 2005, (137):199-208
- [29] Fumiaki Hirose, Tomoko Shinomura, Takanari Tanabata, et al. Involvement of Rice Cryptochromes in De-etiolation Responses and Flowering[M]. Plant Cell Physiol, 2006, 47(7):915-925
- [30] Leonardo Giliberto, Gaetano Perrotta, Patrizia Pallara, James L. Weller, Paul D. Fraser, Peter M. Bramley, Alessia Fiore, Mario Tavazza, and Giovanni Giuliano, Manipulation of the Blue Light Photoreceptor Cryptochrome 2 in Tomato Affects Vegetative Development, Flowering Time, and Fruit Antioxidant Content[J]. Plant Physiology, 2005, (137):199-208
- [31] 李毓, 庄伟建, 王乃元, 洪国琴, 戴飞. 抑制水稻隐花色素基因 OsCRY1a 表达对水稻农艺性状的效应[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(6):575-579

(责任编辑 王媛媛)