

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00079

水稻矮秆突变体 *dtl1* 的分离鉴定及其突变基因的精细定位

张帆涛^{1,2,3}, 方军³, 孙昌辉¹, 李润宝¹, 罗向东², 谢建坤², 邓晓建¹, 储成才³

1. 四川农业大学水稻研究所, 成都 611130;
2. 江西师范大学生命科学学院, 南昌 330022;
3. 中国科学院遗传与发育生物学研究所植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101

摘要: 文章通过对所构建的水稻突变体库进行大规模筛选, 获得一个稳定遗传的矮秆突变体, 与野生型日本晴相比, 该突变体表现为植株矮化、叶片卷曲、分蘖减少和不育等性状, 命名为 *dtl1* (*dwarf and twist leaf 1*)。 *dtl1* 属于nl型矮秆, 激素检测表明, 矮秆性状与赤霉素和油菜素内酯无关。遗传分析显示, 突变性状受单一隐性核基因控制。利用 *dtl1* 与籼稻品种 Taichung Native 1 杂交构建 F₂ 群体, 将该突变基因 *DTL1* 定位于水稻第 10 染色体长臂 2 个 SSR 标记 RM25923 和 RM6673 之间约 70.4 kb 区域内, 并与 InDel 标记 Z10-29 共分离, 在该区域预测有 13 个候选基因, 但未见调控水稻株高相关基因的报道, 因此, 认为 *DTL1* 基因是一个新的控制水稻株高的基因。

关键词: 水稻; 矮秆突变体; 赤霉素; 油菜素内酯; 精细定位

Characterisation of a rice *dwarf and twist leaf 1* (*dtl1*) mutant and fine mapping of *DTL1* gene

ZHANG Fan-Tao^{1,2,3}, FANG Jun³, SUN Chang-Hui¹, LI Run-Bao¹, LUO Xiang-Dong², XIE Jian-Kun², DENG Xiao-Jian¹, CHU Cheng-Cai³

1. Rice Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;
2. College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China;
3. State Key Laboratory of Plant Genomics, National Centre for Plant Gene Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Plant height is one of the most important agronomic traits, which determines grain yield. By a largescale screening of our mutant population, we identified a dwarf with twisty leaf mutant (*dwarf and twist leaf 1*, *dtl1*). Besides dwarf with twisty leaf, *dtl1* also showed reduced tiller number and sterile phenotypes. Based on the internode length of *dtl1*,

收稿日期: 2011-08-30; 修回日期: 2011-10-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30871508; 31071402)资助

作者简介: 张帆涛, 博士, 研究方向: 水稻分子生物学。E-mail: zhang84004@yahoo.com.cn

方军, 博士, 副研究员, 研究方向: 植物分子遗传学。E-mail: fangjun@genetics.ac.cn

张帆涛和方军同为第一作者。

通讯作者: 储成才, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 植物分子遗传学。E-mail: ccchu@genetics.ac.cn

邓晓建, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 植物遗传育种。E-mail: xjdeng2006@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2011-10-18 8:50:47

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20111018.0850.004.html>

this mutant belongs to the nl type of dwarfing phenotype. Physiological assay with two phytohormones, gibberellin (GA), and brassinosteroid (BR), suggested that *dt11* was neither deficient nor insensitive to GA and BR. Genetic analysis showed that the phenotype of *dt11* was controlled by a single recessive gene. Using F₂ population derived from a cross between *dt11* and an *indica* cultivar Taichung Native 1, the *DTL1* gene was narrowed down to a 70.4 kb between two SSR markers, RM25923 and RM6673, on the long arm of chromosome 10, and co-segregated with InDel marker Z10-29, where thirteen open reading frames were predicted without known gene involved in controlling plant height. Thus, the *DTL1* gene might be a novel gene which is related to plant height in rice.

Keywords : rice (*Oryza sativa* L.); dwarf; GA; BR; fine mapping

水稻是单子叶模式植物,也是世界上最重要的粮食作物之一。株高是水稻重要的株型组成因子,与抗倒伏性、光合效率及产量密切相关,因此,水稻株高的分子机理一直是研究的热点。至今,已报道的水稻矮秆(包括半矮秆)突变体超过 80 个,根据突变体各节间长度对总节间长度的相对比值, Takeda^[1]将水稻矮秆突变体分为 dn、dm、sh、d6 和 nl 等 5 种类型,其中, dn 型的各节间均匀缩短,伸长模式与野生型相类似; dm 型是倒 2 节特异性缩短; sh 型节间缩短发生在倒 1 节间; d6 型是倒 1 节以下的节间缩短; nl 型是上部节间缩短较多,下部节间缩短较少或不缩短。除了 dn 型外,其余 4 种类型都是由于某一个或几个节间相对缩短造成的。

上世纪 60 年代,与矮秆资源的挖掘和合理利用密切相关的“绿色革命”带来了水稻产量的一次大飞跃^[2]。然而,目前所应用的矮源主要来自半矮秆突变体,系谱分析表明,推广品种的矮生性多由 *sd1* 基因控制^[3]。显然,同一矮秆基因的过度利用潜伏着由遗传单一而带来的风险,综合性状也很难得到超越。因此,发掘和鉴定新的控制水稻株高的基因,具有重要的理论意义和应用价值。随着株高突变体的相继发现,调控植株高度的分子机理也基本探明。

目前发现造成植株高度变化的原因大多与赤霉素(Gibberellin, GA)的合成或信号传导途径受到影响有关。最著名的是引起了“绿色革命”的 *sd1*, *sd1* 突变导致 GA-20 氧化酶(Gibberellin 20-oxidase)的功能缺陷, GA 合成受阻,突变体的基部节间变短,从而造成植株矮化^[4-6]。*d18* 编码一个 GA-3 β 单加氧酶,该基因的突变影响了 GA 的合成,并最终导致矮秆表型^[7]; *d35* 是半矮材料 Tan-Ginbozu 所携带的矮秆基因,其在 20 世纪 50 年代对日本水稻产量的提高

贡献很大,研究也表明, *d35* 突变体中 GA 合成前体减少, GA 合成量降低,造成了植株的矮化^[8]。GA 信号传导途径的相关基因也能影响株高, *d1* 编码一个异源三聚体 GTP 结合蛋白,该基因的突变表现为植株矮化等一系列 GA 缺失表型,但突变体内 GA 含量比野生型显著升高,外源施加 GA 不敏感,说明 *d1* 通过 GA 的信号传导途径影响了植株的株高^[9],该途径已报道的矮秆基因还包括 *str1*^[10]、*gid1*^[11] 和 *gid2*^[12] 等,这些基因的突变均导致植物体对 GA 信号感知或传递过程的不畅,造成矮秆的表型。另一激素油菜素内酯(Brassinosteroid, BR)也被证明是决定株高的一个重要因素,根据 BR 造成植株矮化的方式,也可分为 BR 合成突变体和 BR 信号传导突变体。目前鉴定出的水稻 BR 合成突变体有 *brd1*^[13]、*d2*^[14]、*d11*^[15] 和 *Osdwarf4*^[16] 等,信号传导途径突变体包括 *dlt*^[17]、*d61*^[18] 和 *OsBZR1*^[19] 等。

植物生长发育是一个复杂的过程,通过分离鉴定不同的矮秆突变体并分离基因,对了解植物生长发育的调控过程、揭示植物矮化分子机制都有着非常重要的作用。有鉴于此,本研究通过对所构建的水稻突变体库^[20]进行大规模筛选,获得一稳定遗传的矮秆卷叶突变体 *dt11* (*dwarf and twist leaf 1*), 利用与籼稻品种 Taichung Native 1 构建的遗传群体,已将突变基因精细定位到水稻第 10 染色体长臂 70.4 kb 区域,为进一步克隆该基因,研究基因功能奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 水稻材料

通过对本实验室所构建的水稻突变体库^[20]进行大规模筛选,获得一稳定遗传的矮秆卷叶突变体

dt11(*dwarf and twist leaf 1*)。野生型是粳稻品种日本晴。纯合 *dt11* 表现为不育, 因此, 只能通过杂合体后代分离获得有表型的纯合 *dt11* 突变体。将 *dt11* 与籼稻品种 Taichung Native 1 配制杂交组合, 在北京分别播种亲本、 F_1 和 F_2 代, 成熟期调查主要农艺性状, 株高是从地面到最高一穗穗尖的高度, 叶片宽度从叶片最宽处测量。

1.2 方法

1.2.1 赤霉素敏感性分析

参照王慧等^[21]的方法。取饱满的杂合体种子, 在温度为 35℃ 左右的烘箱中催芽 2 d, 选取萌发一致的种子播于 96 孔 PCR 板(下端剪掉)中, 每孔 1 粒种子, PCR 板置于离心管盒, 分别加入 5、10、20、30 和 40 mg/L 的外源赤霉素(GA_3)溶液 500 μ L, 以等量蒸馏水为对照, 10 d 后测量苗高并记录, 同时一一编号后提取 DNA, 检测出其中的纯合隐性单株和纯合显性单株, 纯合隐性单株是 *dt11* 突变体, 纯合显性单株作为对照, 将统计数据重新归类、比较, 进行 GA 敏感性分析。每个处理 20 苗以上, 3 次重复。

1.2.2 内源赤霉素含量测定

取新鲜叶片在液氮中研磨成粉末状, 称取 200 mg, 加入 4 mL 预冷的 80% 甲醇, 4℃ 提取 4 h, 7 000 r/min 离心 15 min, 取上清, 过 C-18 固相萃取柱纯化后用氮气吹干备用。测定时用含 Tween-20 和明胶的磷酸盐样品稀释液定容(一般 1 g 样品用 8 mL 的样品稀释液定容)。

采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定赤霉素(GA)含量, 所用试剂盒购自中国农业大学作物化学控制实验室。在已包被好抗原的酶标孔中分别加入标样、待测样和抗体, 将酶标板放入湿盒内, 37℃ 竞争反应 30 min。洗板后加酶标羊抗兔抗体, 37℃ 反应 30 min。洗板 4 次后加底物显色, 显色适当后用 2 mol/L 硫酸终止反应。在酶标免疫分光光度计上依次测定标样和待测样在 490 nm 处的 OD 值。各处理重复 3 次。结果计算公式如下:

$$\text{Logit}(B/B_0) = \ln [B/(B_0 - B)]$$

其中, B_0 是 0 ng/mL 孔的显色值, B 是其他浓度的显色值, 待测样品可根据其显色值的 logit 值从标准曲线中查出其所含激素浓度(ng/mL)的自然对数, 再经过反对数计算出激素的浓度, 最后计算出样品中的

激素含量(ng/g FW)。

1.2.3 α -淀粉酶活性测定

采用碘熏蒸法测定 α -淀粉酶活性^[22]。配制 0.2% 马铃薯淀粉和 2% 琼脂溶液, 含 10 mmol/L 的 NaAc 和 2 mmol/L 的 $CaCl_2$, pH 5.3, 一半加入 1 μ mol/L 的 GA_3 , 另一半不加 GA_3 作对照, 制备琼脂平板。将杂合体种子去壳, 每粒种子分成含胚的和不含胚的两部分, 进行对应编号, 先将含胚的部分发芽后提取 DNA, 检测出其中的纯合隐性单株和纯合显性单株, 纯合隐性单株是 *dt11* 突变体, 纯合显性单株作为对照, 然后将与其对应编号的无胚的部分用 30% 的次氯酸钠表面灭菌 30 min, 灭菌水清洗 6 次, 垂直放在凝固的平板上, 30℃ 黑暗条件下培养 4 d 后取出, 用 I_2 蒸汽熏蒸使培养皿中的琼脂平板染色, 有淀粉酶分泌的半粒种子周围由于淀粉的降解而出现白色的斑圈, 没有淀粉酶分泌的则为蓝紫色。

1.2.4 油菜素内酯敏感性分析

油菜素内酯(BR)处理采用测定叶夹角的方法^[14]。取饱满的杂合体种子, 35℃ 萌发 2 d, 选取萌发一致的种子 30 粒正常光照培养 3 d 左右, 用乙醇溶剂配制 1 000 ng/ μ L 表油菜素内酯(Brassinolide, BL)溶液, 用移液枪取 1 μ L 滴加于第一叶尖, 以 1 μ L 乙醇作为对照, 植物再经过 3 d 的正常培养后, 用量角器测量第一叶与其叶鞘之间的夹角并记录, 同时一一编号后提取 DNA, 检测出其中的纯合隐性单株和纯合显性单株, 纯合隐性单株是突变体 *dt11*, 纯合显性单株作为对照, 将统计数据重新归类、比较, 进行 BR 敏感性分析。每个处理 20 苗以上, 3 次重复。

1.2.5 定位群体的构建和总 DNA 的提取

根据株高调查的结果, 从 *dt11*/Taichung Native 1 的 F_2 代中选取 30 株正常植株和 497 株矮秆植株构成定位群体, 分单株取叶片提取总 DNA。在 F_2 群体内选取正常植株和矮秆植株各 20 株, 每单株取等量叶片, 将正常植株和矮秆植株的单株叶片分别混合, 提取总 DNA 作为正常基因池和突变基因池。以 CTAB 法提取总 DNA^[23]。

1.2.6 分子标记分析和遗传图谱的构建

依据 Gramene 数据库 (<http://www.gramene.org/microsat>) 中的信息获得简单序列重复(SSR)标记, 运

用Primer5.0 软件设计插入/缺失(InDel)标记。由上海英骏生物技术有限公司合成SSR和InDel引物。参照Panaud等^[24]的PCR反应总体系及PCR程序,扩增产物经 3.0%~3.5%琼脂糖凝胶电泳及溴化乙锭染色后在紫外灯下观察拍照。根据标记检测定位群体的分离数据,用MAPMAKER(EXP3.0b)作图软件进行连锁分析,用Kosambi函数将重组率转化为遗传距离(cM),进而构建目标基因所在区域的分子标记连锁图。

2 结果与分析

2.1 突变体 *dtl1* 的表型分析

由图 1 和表 1 可见,突变体植株 *dtl1* 表现出明显的矮化表型,其株高为 41.1 cm,只有野生型对照株高的 39.8%(图 1A)。通过对节间进一步调查发现,*dtl1* 的穗下第 1、2、3 节长度较野生型缩短明显,分别为野生型的 17.6%、26.2%和 48.1%,而第 4 节的长度与野生型相差不大,第 5 节的长度比野生型还有所增加(图 1C)。从节间比例的划分来看,*dtl1* 的上部节间缩短较多,下部节间缩短较少或不缩短,应为 n1 型矮秆类型(图 1D)。除了植株矮化外,*dtl1* 还表现出叶片卷曲(图 1B),穗长、有效分蘖数、剑叶长和剑叶宽与野生型相比都有极显著差异,其中,穗长为对照的 32.9%,有效分蘖数为对照的 48.6%,剑叶长是对照的 37.0%,宽度为 35.2%(表 1)。

2.2 突变体 *dtl1* 对 GA 和 BR 的反应

用不同浓度的GA₃处理*dtl1* 突变体和野生型,其苗高与未施加GA₃处理的对照相比,差异均达显

著水平,说明*dtl1* 和野生型都对外源GA敏感,但是苗高的增加并不与GA₃的浓度成正比,施加GA₃后,*dtl1* 并没有完全恢复到野生型的苗高(图 2A)。同时,我们对*dtl1* 突变体和野生型进行了内源GA含量的测定,从图 2B可知,*dtl1* 和野生型在GA含量上没有明显差异,表明*dtl1* 不属于GA合成缺陷型突变体。为进一步检测*dtl1* 的突变表型是否是由于GA信号传导出现异常造成的,继续分析了GA对水稻种子 α -淀粉酶的诱导反应。结果表明,*dtl1* 突变体和野生型的培养基在没有施加GA₃的条件下均染成蓝色,而添加GA₃的另一组处理在种子周围均形成一个白色斑圈(图 3),说明*dtl1* 突变体和野生型一样,在GA₃诱导下能合成 α -淀粉酶,由此推断*dtl1* 的矮化并非由于GA的信号传导出现异常所致。

由于植株的矮化也可能与 BR 有关,我们通过测量叶夹角分析了 *dtl1* 突变体对 BR 的反应。当用 1 000 ng/ μ L 的 BL 处理时, *dtl1* 突变体和野生型的叶夹角变化几乎没有差异(图 4A),另外,典型的 BR 突变体具有黑暗条件下的去黄化表型,而 *dtl1* 突变体在黑暗条件下表现黄化(图 4B),因此,认为 *dtl1* 突变体的矮秆表型与 BR 无关。

2.3 突变体 *dtl1* 的遗传分析

突变体 *dtl1* 与正常表型的籼稻品种 Taichung Native 1 杂交,其F₁代植株的株高与 Taichung Native 1 相近,表现为正常, F₂代植株可明显的区分为正常株高植株与矮秆植株两组,在 1 936 株的植株里,有正常株高植株 1 439 株,矮秆植株 497 株,经卡方(χ^2)测验,其分离比符合 3:1(表 2),表明*dtl1* 的突变性状由单隐性核基因控制,将该基因命名为 *DTL1*。

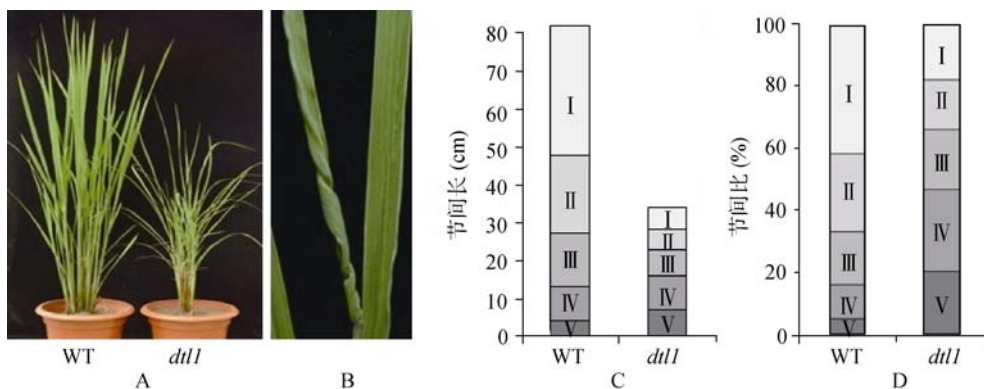


图 1 野生型和 *dtl1* 突变体的表型

A: 野生型和 *dtl1* 突变体; B: *dtl1* 的叶片表型; C: 各节间长; D: 各节间比; 、 、 、 、 分别表示穗下第 1、2、3、4、5 节间。

表 1 野生型和 *d1l1* 突变体的主要农艺性状比较

性状	WT	<i>d1l1</i>
株高(cm)	103.32±2.61	41.13±2.59**
穗长(cm)	21.39±1.29	7.05±0.81**
有效分蘖数	17.90±1.73	8.70±1.33**
剑叶长(cm)	34.94±4.77	12.94±1.51**
剑叶宽(cm)	1.45±0.07	0.51±0.06**

注: **表示显著水平 $P<0.01$ 。

2.4 *D1L1* 基因的精细定位

以 *d1l1*/Taichung Native 1 的 F_2 群体作为定位群体, 用 240 对较均匀分布于水稻 12 条染色体上的微卫星引物扩增 *d1l1* 和 Taichung Native 1 的 DNA, 然后在两亲本间表现出多态的引物扩增正常株高植株与矮秆植株的近等基因池, 再用在池中检测到多态的引物扩增 F_2 群体, 结果发现位于水稻第 10 染色体上的微卫星标记 RM4477 和 RM4771 与 *D1L1* 有连锁关系。为了进一步定位目标基因, 继续寻找到了具有亲本多态性的微卫星标记 RM591、RM25923 和 RM6673, 并新开发了 1 个插入/缺失(InDel)标记 Z10-29(表 3), 用这 4 个标记对 F_2 定位群体进行扩增, 结果表明它们也与 *D1L1* 连锁。

根据 F_2 定位群体的表型和分子标记的分离数据构建分子连锁图, 可知 *D1L1* 位于第 10 染色体 RM4477、RM591、RM25923、RM6673 和 RM4771 之间, 与它们的遗传距离分别为 4.53、0.80、0.31、0.10 和 0.15 cM, 并与 Z10-29 标记共分离(图 5)。最终, *D1L1* 被定位到 RM25923 和 RM6673 标记之间、

物理距离约 70.4 kb 的区域内。

根据禾本科植物基因组自动注释系统(<http://www.gramene.org/>)对该区域的基因组序列进行预测, 得到 13 个候选基因, 其中 1 个编码糖基水解酶家族成员蛋白(LOC_Os10g42670), 1 个编码包含 jmjC 结构域的蛋白(LOC_Os10g42690), 1 个编码包含 CS 结构域的蛋白(LOC_Os10g42700), 1 个编码 RCD1 蛋白(LOC_Os10g42710), 1 个编码酰基转移酶蛋白(LOC_Os10g42720), 1 个编码包含 VHS 和 GAT 结构域的蛋白(LOC_Os10g42724), 1 个编码纤维素合酶相似家族 D 蛋白(LOC_Os10g42750), 1 个编码包含 PPR 重复结构域的蛋白(LOC_Os10g42760), 1 个编码 A_IG002N01.7 蛋白(LOC_Os10g42770), 1 个编码 IrgB 相似家族蛋白(LOC_Os10g42780), 1 个编码包含胞苷酸转移酶结构域的蛋白(LOC_Os10g42790), 另有 2 个编码未知蛋白(LOC_Os10g42730; LOC_Os10g42754)。在这些候选基因中, 未见已报道的株高相关基因, 这意味着 *D1L1* 可能是一个新的调控水稻株高的基因。

3 讨论

迄今发现的矮秆突变体大多与内源植物激素 GA 和 BR 的合成或信号传导途径相关, 但在前人的研究中也报道了一些非 GA 和 BR 原因导致的矮秆突变体: *glu1* 是一个由 T-DNA 插入得到的水稻矮秆突变体, 突变基因编码一个内切-1,4- β -D-葡聚糖酶, 显微观察发现突变体的初生细胞壁合成受阻, 使细胞的伸长受到限制, 从而导致了矮化现象的发生^[25],

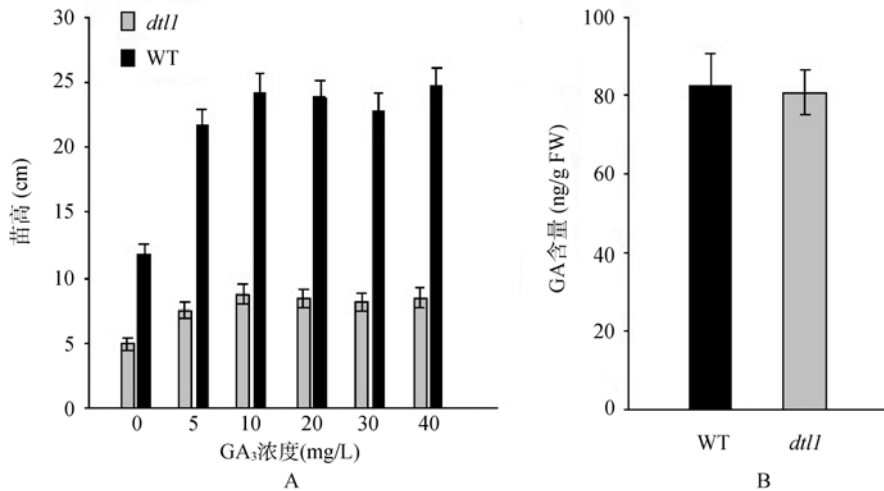


图 2 野生型和 *d1l1* 突变体施加 GA_3 后的苗高(A)与内源 GA 含量的测定(B)

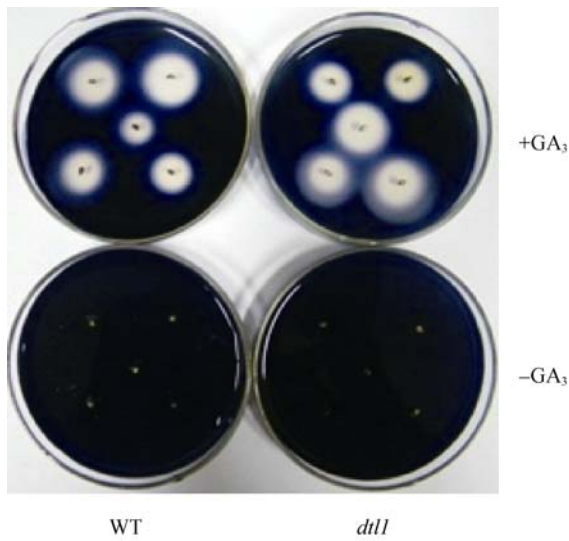


图 3 α -淀粉酶诱导反应

+GA₃表示添加GA₃; -GA₃表示没有添加GA₃。

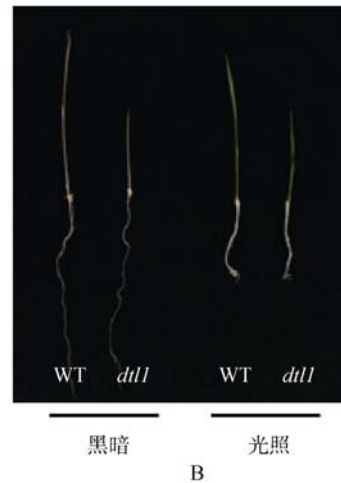
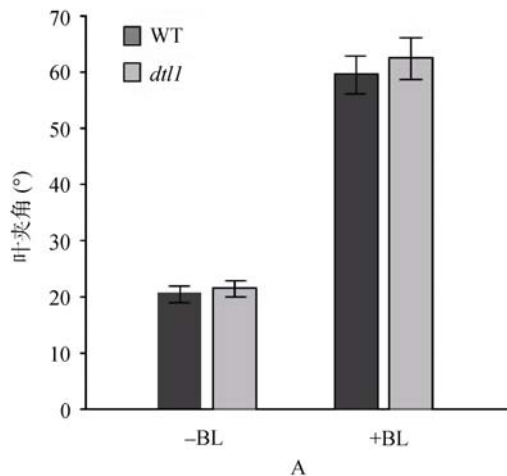


图 4 野生型和 *dtl1* 突变体对 BR 的反应

A: BL 对野生型和 *dtl1* 突变体叶夹角的影响, -BL 表示没有施加 BL, +BL 表示施加 BL; B: 黑暗和光照条件下野生型和 *dtl1* 突变体的幼苗。

表 2 突变体 *dtl1* 与 Taichung Native 1 杂交 F₂ 代的表型分离

组合	总株数	正常株高植株数	矮秆植株数	理论比	χ^2	<i>P</i>
<i>dtl1</i> /Taichung Native 1	1 936	1 439	497	3:1	0.061	0.75 ~ 0.90

注: $P_{0.05, 1} = 3.84$ 。

表 3 本实验所用的多态性引物

标记	引物序列(5'→3')		所属 BAC
RM4477	F: AGTAAACATGTCTTCGGGAT	R: CAGTGCATATTCCACTGGTA	AC051633
RM591	F: CTAGCTAGCTGGCACCAGTG	R: TGGAGTCCGTGTTGTAGTCG	AC018929
RM25923	F: GCAAGTCGTTCTCCTGTGC	R: TCGTTGCTTGTAACAAAGCTTGC	AC027037
Z10-29	F: GGGGCAACTGTTGAAATG	R: ATGCGACTCCAAGATAAGGT	AC027037
RM6673	F: CATCGCATCGTATCGTATCG	R: GCTTCAAACACGCCTTCTTC	AC018727
RM4771	F: ACGTTGATTCATTCAGGTC	R: ACGCTAACTGAGAAACATGG	AC018727

在水稻 Tos17 插入系中, Sato 等^[26]分离出水稻同源异型基因 *OSH15*, 该基因的突变引起节间分生组织在细胞分裂和分化上的障碍, 从而造成了植株矮化的外在表型; 通过图位克隆的方法, Ishikawa 等^[27]鉴定并克隆出水稻 *D3* 基因, 该基因编码一个 F-box 和富含亮氨酸重复结构域蛋白, *D3* 突变导致水稻多蘖矮化; *DGL1* 编码一个负责切割微管的类剑蛋白, 该基因突变导致植株矮化、叶片变短、叶尖略呈圆状和育性降低等表型, 研究表明它对水稻细胞的伸长非常重要^[28]; *TID1* 编码一个 α -微管蛋白, 该基因与细胞的伸长和细胞分裂有关, 突变体表现为植株矮化、茎和叶呈右手螺旋扭曲生长的特征^[29]。

本实验通过对所构建的水稻突变体库进行大规模筛选, 获得一个稳定遗传矮秆突变体 *dtl1*, 外源 GA₃ 处理、内源 GA 含量测定、 α -淀粉酶活性检测以

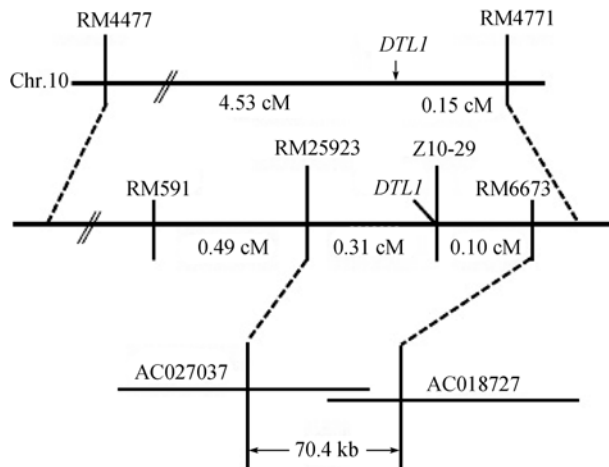


图 5 *DTL1* 基因在水稻第 10 染色体长臂上的分子连锁图

及 BR 敏感性检测等实验表明, *dtl1* 与 GA 和 BR 无关, 所以认为突变体 *dtl1* 的表型可能受不同的分子机制调控。通过精细定位将突变基因 *DTL1* 定位到水稻第 10 染色体 SSR 标记 RM25923 和 RM6673 之间约 70.4 kb 的染色体区域, 并与 InDel 标记 Z10-29 共分离, 该区域有 13 个候选基因, 但未见已报道的株高相关的基因, 故认为 *DTL1* 基因是一个新的控制水稻株高的基因。

已发现的矮秆基因一般具有“一因多效”的遗传性状表现, 使得植株矮化的同时也会伴随其他性状的变化, 如叶色深、分蘖数增加或减少、脆秆、卷叶、小粒和不育等, 依据这些伴随性状, 矮秆突变体又可分为小粒矮秆(*d1*, *d7*, *d11*, *d13*, *d28*, *d30*, *d58*)、畸形矮秆(*d2*, *d6*, *d20*, *d21*, *d23*, *d26*, *d29*, *d31*, *d32*, *d42*, *d51*, *d52*, *d53*, *d54*, *d56*, *d57*)和多蘖矮秆(*htd1*, *tdr1*, *tdr2*)等(<http://shigen.lab.nig.ac.jp/rice/oryzabase/genes>)。同样, *dtl1* 突变体除了株高降低外, 还伴随有叶片卷曲、有效分蘖数减少、不育等表型。其中, 有效分蘖数也是决定水稻产量的重要农艺性状, 研究控制水稻分蘖的分子机理, 其结果对于水稻的生产具有重要的指导意义。植物的生长发育是个非常复杂的过程, 牵涉到很多方面的因素, 任何方面的不正常都会造成生长发育障碍并形成突变表型, 突变体 *dtl1* 所表现出的多种表型, 可能是由于基因的多效性造成的, 引起这些突变表型的原因还有待进一步研究, 对 *DTL1* 基因的克隆及功能鉴定, 对进一步理解水稻生长发育的分子机制具有重要意义。

参考文献(References) :

- [1] Takeda K. Internode elongation and dwarfism in some gramineous plants. *Gamma Field Symp*, 1977, 16: 1–18. [DOI](#)
- [2] Silverstone AL, Sun TP. Gibberellins and the green revolution. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(1): 1–2. [DOI](#)
- [3] Nagano H, Onishi K, Ogasawara M, Horiuchi Y, Sano Y. Genealogy of the "Green Revolution" gene in rice. *Genes Genet Syst*, 2005, 80(5): 351–356. [DOI](#)
- [4] Monna L, Kitazawa N, Yoshino R, Suzuki J, Masuda H, Maehara Y, Tanji M, Sato M, Nasu S, Minobe Y. Positional cloning of rice semidwarfing gene, *sd-1*: rice "green revolution gene" encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. *DNA Res*, 2002, 9(1): 11–17. [DOI](#)
- [5] Sasaki A, Ashikari M, Ueguchi-Tanaka M, Itoh H, Nishimura A, Swapan D, Ishiyama K, Saito T, Kobayashi M, Khush GS, Kitano H, Matsuoka M. Green revolution: a mutant gibberellin-synthesis gene in rice. *Nature*, 2002, 416(6882): 701–702. [DOI](#)
- [6] Spielmeyer W, Ellis MH, Chandler PM. Semidwarf (*sd-1*), "green revolution" rice, contains a defective gibberellin 20-oxidase gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(13): 9043–9048. [DOI](#)
- [7] Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sentoku N, Kitano H, Matsuoka M, Kobayashi M. 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](#)
- [8] Itoh H, Tatsumi T, Sakamoto T, Otomo K, Toyomasu T, Kitano H, Ashikari M, Ichihara S, Matsuoka M. A rice semi-dwarf gene, *Tan-Ginbozu (D35)*, encodes the gibberellin biosynthesis enzyme, *ent-kaurene oxidase*. *Plant Mol Biol*, 2004, 54(4): 533–547. [DOI](#)
- [9] Ueguchi-Tanaka M, Fujisawa Y, Kobayashi M, Ashikari M, Iwasaki Y, Kitano H, Matsuoka M. Rice dwarf mutant *d1*, 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](#)
- [10] Ikeda A, Ueguchi-Tanaka M, Sonoda Y, Kitano H, Koshioka M, Futsuhara Y, Matsuoka M, Yamaguchi J. *Slender rice*, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the *SLR1* gene, an ortholog of the height-regulating gene *GAI/RGA/RHT/D8*. *Plant Cell*, 2001, 13(5): 999–1010. [DOI](#)
- [11] Griffiths J, Murase K, Rieu I, Zentella R, Zhang ZL, Powers SJ, Gong F, Phillips AL, Hedden P, Sun TP, Thomas SG. Genetic characterization and functional

- analysis of the GID1 gibberellin receptors in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18(12): 3399–3414. [DOI](#)
- [12] Gomi K, Sasaki A, Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M. GID2, an F-box subunit of the SCF E3 complex, specifically interacts with phosphorylated SLR1 protein and regulates the gibberellin-dependent degradation of SLR1 in rice. *Plant J*, 2004, 37(4): 626–634. [DOI](#)
- [13] Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Shimizu-Sato S, Inukai Y, Fujioka S, Shimada Y, Takatsuto S, Agetsuma M, Yoshida S, Watanabe Y, Uozu S, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka 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. *Plant J*, 2002, 32(4): 495–508. [DOI](#)
- [14] Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Umemura K, Uozu S, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M. 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](#)
- [15] 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. *Plant Cell*, 2005, 17(3): 776–790. [DOI](#)
- [16] 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. *Nat Biotechnol*, 2006, 24(1): 105–109. [DOI](#)
- [17] Tong HN, Jin Y, Liu WB, Li F, Fang J, Yin YH, Qian Q, Zhu LH, Chu CC. DWARF AND LOW-TILLERING, a new member of the GRAS family, plays positive roles in brassinosteroid signaling in rice. *Plant J*, 2009, 58(5): 803–816. [DOI](#)
- [18] 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 insensitive1* homolog prevents internode elongation and bending of the lamina joint. *Plant Cell*, 2000, 12(9): 1591–1606. [DOI](#)
- [19] Bai MY, Zhang LY, Gampala SS, Zhu SW, Song WY, Chong K, Wang ZY. Functions of OsBZR1 and 14-3-3 proteins in brassinosteroid signaling in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(34): 13839–13844. [DOI](#)
- [20] Ma YM, Liu L, Zhu CG, Sun CH, Xu B, Fang J, Tang JY, Luo AD, Cao SY, Li GP, Qian Q, Xue YB, Chu CC. Molecular analysis of rice plants harboring a multi-functional T-DNA tagging system. *J Genet Genomics*, 2009, 36(5): 267–276. [DOI](#)
- [21] 王慧, 刘永柱, 张建国, 陈志强. 空间诱变水稻矮秆突变体CHA-1 对赤霉素的反应及其遗传分析. *中国水稻科学*, 2004, 18(5): 391–395. [DOI](#)
- [22] Lanahan MB, Ho T H D. Slender barley: A constitutive gibberellin-response mutant. *Planta*, 1988, 175(1): 107–114. [DOI](#)
- [23] McCouch SR, Kochert G, Yu ZH, Wang ZY, Khush GS, Coffman WR, Tanksley SD. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor Appl Genet*, 1988, 76(6): 815–829. [DOI](#)
- [24] Panaud O, Chen X, McCouch SR. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Gen Genet*, 1996, 252(5): 597–607. [DOI](#)
- [25] Zhou HL, He SJ, Cao YR, Chen T, Du BX, Chu CC, Zhang JS, Chen SY. OsGLU1, a putative membrane-bound endo-1,4-β-D-glucanase from rice, affects plant internode elongation. *Plant Mol Biol*, 2006, 60(1): 137–151. [DOI](#)
- [26] Sato Y, Sentoku N, Miura Y, Hirochika H, Kitano H, Matsuoka M. Loss-of-function mutations in the rice homeobox gene *OSH15* affect the architecture of internodes resulting in dwarf plants. *EMBO J*, 1999, 18(4): 992–1002. [DOI](#)
- [27] Ishikawa S, Maekawa M, Arite T, Onishi K, Takamura I, Kyozuka J. Suppression of tiller bud activity in tillering dwarf mutants of rice. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46(1): 79–86. [DOI](#)
- [28] Komorisono M, Ueguchi-Tanaka M, Aichi I, Hasegawa Y, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M, Sazuka T. Analysis of the rice mutant *dwarf and gladius leaf 1*. Aberrant katanin-mediated microtubule organization causes up-regulation of gibberellin biosynthetic genes independently of gibberellin signaling. *Plant Physiol*, 2005, 138(4): 1982–1993. [DOI](#)
- [29] Sunohara H, Kawai T, Shimizu-Sato S, Sato Y, Sato K, Kitano H. A dominant mutation of *TWISTED DWARF 1* encoding an α-tubulin protein causes severe dwarfism and right helical growth in rice. *Genes Genet Syst*, 2009, 84(3): 209–218. [DOI](#)