

· 研究报告 ·

## 水稻矮化基因WLD1的图位克隆

王文乐, 冯丹, 吴金霞, 张治国, 路铁刚\*

中国农业科学院生物技术研究所, 农作物基因资源及遗传改良国家重大科学工程, 北京 100081

**摘要** 水稻(*Oryza sativa*)矮化是与光合效率及产量等密切相关的重要农艺性状。发掘更多水稻矮秆资源, 不仅能够进一步加深对水稻株高分子遗传机制的认识, 而且还能为水稻新品种培育提供新的种质资源。在水稻T-DNA插入突变体库中筛选到1个矮化、宽叶小粒突变体(*wld1*)。经图位克隆将WLD1基因定位在第5号染色体长臂, 位于分子标记InDel37与InDel48之间, 基因编号为LOC\_Os05g32270, 属于AP2转录因子家族。该基因第6外显子处胸腺嘧啶缺失, 造成转录提前终止。石蜡切片观察结果显示, 茎部第2节间横向细胞数目增加, 而纵向细胞数目未变。RT-PCR检测结果表明, LOC\_Os05g32270在突变体*wld1*中不表达, 造成功能缺失。该基因与已报道的水稻OsSMOS1 (SMALL ORGAN SIZE1)为等位基因。水稻突变体*wld1*的矮秆遗传效应可直接应用于育种中。该研究结果进一步明确了突变体*wld1*的表型特征与遗传基础, 为解析其参与信号途径提供参考。

**关键词** 水稻, 宽叶矮化突变体, 遗传分析, 图位克隆

王文乐, 冯丹, 吴金霞, 张治国, 路铁刚 (2017). 水稻矮化基因WLD1的图位克隆. 植物学报 52, 54–60.

我国在水稻(*Oryza sativa*)育种史上有3次重要的革命, 其中最为突出的是在利用半矮秆基因*sd1* (Monna et al., 2002; Spielmeyer et al., 2002; Sasaki et al., 2002)的基础上, 通过株型改良, 使南方籼稻矮化育种取得了突破, 粮食产量翻了一番。随着育种进程的推进, 矮秆资源的短缺和遗传基础的狭隘, 限制了水稻产量的进一步提高。迄今为止, 已经鉴定了60多个矮秆材料, 而且大多数矮秆基因已被克隆。如水稻中最早被发现的小粒矮秆突变体*d1* (*dwarf1*) (Ashikari et al., 1999; Fujisawa et al., 1999; Ueguchi-Tanaka et al., 2000; Wang et al., 2006)。*d1*基因编码GA信号转导相关的异源三聚体G蛋白(GTP结合蛋白) $\alpha$ 亚基。*RGA1*基因突变造成G蛋白 $\alpha$ 亚基不能行使功能。控制水稻矮化多分蘖突变体*d10*、*d14*、*d3*、*d27*、*d62*、*d53*、*d4*、*d5*、*d17*和*d33*等基因均已被克隆(Murray and Thompson, 1980; Maekawa et al., 2005; Zou et al., 2005; Yasuno et al., 2007; Lin et al., 2009; Gao et al., 2009; Zhang et al., 2010; Li et al., 2010; Zhou et al., 2013; Yoshikawa et al., 2013), 大大提高了人们对高等植物株型形态建成的认识。但是上述突变体大多农艺性状较差, 直接限制

了它们在实际生产中的应用。目前水稻育种上可利用的矮秆资源十分匮乏。由于矮秆基因的利用单一以及遗传背景狭隘, 很可能导致遗传上的脆弱性。因此, 发掘、鉴定和利用新的矮秆资源, 增加矮秆资源利用的多样性, 避免矮秆品种的遗传单一性, 是目前水稻研究中的一项重点内容。

本实验室前期建立了1个水稻大容量的T-DNA插入突变体库(Wan et al., 2009)。我们从突变体库筛选出大量矮化相关突变体, 较其它矮化突变体, 其中突变体*wld1*具有显著的特点: 茎秆粗壮, 农艺性状优良, 具有较大的育种潜力。经图位克隆获得了控制优良表型的基因, 该基因编号为LOC\_Os05g32270, 属于ANT类基因。本研究通过石蜡切片揭示了形态学的特征, 为进一步解析其参与信号途径奠定了坚实的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

水稻(*Oryza sativa* L.)宽叶矮化突变体*wld1*来自本实验室构建的日本晴大容量T-DNA插入标签突变体库。经

收稿日期: 2016-01-15; 接受日期: 2016-04-29  
基金项目: 农业部重大转基因专项(No.2014Ex08001-003)  
\* 通讯作者。E-mail: lutiegang@caas.cn

过多次自交, 突变体 *wld1* 性状稳定, 后代无性状分离。

## 1.2 遗传规律和表型性状统计

将突变体 *wld1* 种植于廊坊市实验基地, 观察表型。待水稻成熟后统计其农艺性状, 如株高、有效分蘖数、剑叶长和宽及千粒重。同时将突变体 *wld1* 与野生型进行正反交, 统计  $F_2$  代的遗传规律。

## 1.3 石蜡切片观察

在成熟期, 取突变体 *wld1* 与野生型第2节间, 用 Carnoy 固定液(无水乙醇:氯仿:冰醋酸=6:3:1, 现用现配)进行固定, 然后用不同浓度梯度的乙醇(20%、50%、70%、83%、95%和100%)依次脱水, 再用一系列浓度梯度的二甲苯对材料进行透明, 之后浸蜡包埋, 用RM2155型切片机切片, 再经熔蜡、复水、染色、脱水后封片。具体步骤参照侯春春和徐水(2009)的方法。在ZESIS蔡司荧光显微镜下观察并拍照。

## 1.4 图位克隆群体的构建

将突变体 *wld1* 与籼稻广亲和亲本 Dular 进行正反交, 收获  $F_1$  和  $F_2$  种子, 将  $F_2$  种于大田, 取隐性单株进行遗传定位和基因克隆。定位群体、日本晴及 Dular 的叶片 DNA 提取参照改进的 CTAB 法(Liu and Chen, 2007)。初定位用2个混池, 每个混池由4个隐性单株组成, 同时提取745份隐性表型单株DNA用于精细定位。

## 1.5 分子标记设计及PCR体系

基于不同水稻品种产生的基因组插入与缺失差异, 应用已公布的粳稻日本晴与籼稻9311全基因组序列的比对结果(Gramene: <http://www.gramene.org>), 寻找具有差异的基因组片段来设计引物。用软件 DNA-MAN VERSION 6.0 设计引物。用日本晴和 Dular 基因组DNA进行PCR扩增, 通过琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶电泳检测引物的可用性。据此设计了初定位引物共293对, 实际检测可用引物173对, 12条染色体中平均3 Mb设计1对引物。

PCR扩增体系(10  $\mu$ L): 1  $\mu$ L 10 $\times$ buffer, 0.5  $\mu$ L 25 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0.5  $\mu$ L 2.5 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> dNTPs, 1  $\mu$ L 20 pmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> 引物(正向+反向), 1  $\mu$ L 模板DNA (20 ng), 1  $\mu$ L 5U *Taq* DNA聚合酶, 用ddH<sub>2</sub>O补足至10

$\mu$ L。PCR反应程序: 94 $^{\circ}$ C预变性5分钟; 94 $^{\circ}$ C变性30秒, 58 $^{\circ}$ C复性30秒, 72 $^{\circ}$ C延伸30秒, 30个循环; 72 $^{\circ}$ C总延伸5分钟。根据PCR产物片段差异的大小选择4%琼脂糖凝胶电泳(插入或缺失片段16 bp以上)或10%聚丙烯酰胺凝胶电泳(插入或缺失片段5 bp以上)检测, 结果用凝胶成像仪或扫描仪记录。

## 1.6 初定位和精细定位

应用图位克隆(Liu and Chen, 2007)技术, 利用初定位引物对2个DNA混池、日本晴及Dular进行PCR扩增和凝胶电泳, 确定连锁关系。得到共分离引物后, 在区间内设计精细定位引物, 扩大定位群体, 逐渐缩小定位区间。

根据凝胶电泳检测结果, 将与隐性亲本带型一致的标为1型带; 与显性亲本带型一致的标为2型带; 同时具有双亲本带型的标为3型带。统计各带型的数量和分布规律。

## 1.7 突变基因分析

对精细定位区段内的候选基因进行测序, 找到突变基因, 并对该基因和突变位点进行生物信息学分析, 进一步阐明表型与基因的对应关系。

## 1.8 RNA的提取及半定量检测

利用RNA提取试剂盒(北京博迈德科技发展有限公司)提取日本晴及 *wld1* 抽穗期的叶片RNA, 反转录获得cDNA, 并以其为模板扩增内参基因 *Actin* 和 *LOC\_Os05g32270* (*QAP*)基因。所用引物序列如下: *Actin* F, 5'-GACCTTGCTGGGCGTGATCTC-3', *Actin* R, 5'-GATGGGCCAGACTCGTCGTAC-3'; *QAP* F, 5'-TCCTTGATCAAATCGGGAAA-3', *QAP* R, 5'-GGAG-AATCCCACGCAGTAGA-3'。

## 2 结果与讨论

### 2.1 突变体 *wld1* 表型分析

在成熟期, 与野生型相比, 突变体 *wld1* 有如下特征: 株高矮化, 为野生型的75% (图1A; 表1); 叶片明显变宽(图1B; 表1), 为野生型的1.6倍。此外, *wld1* 穗长略变短(图1C; 表1), 种子比野生型种子长度变小而宽度增加(图1D), 千粒重也有所降低(表1)。

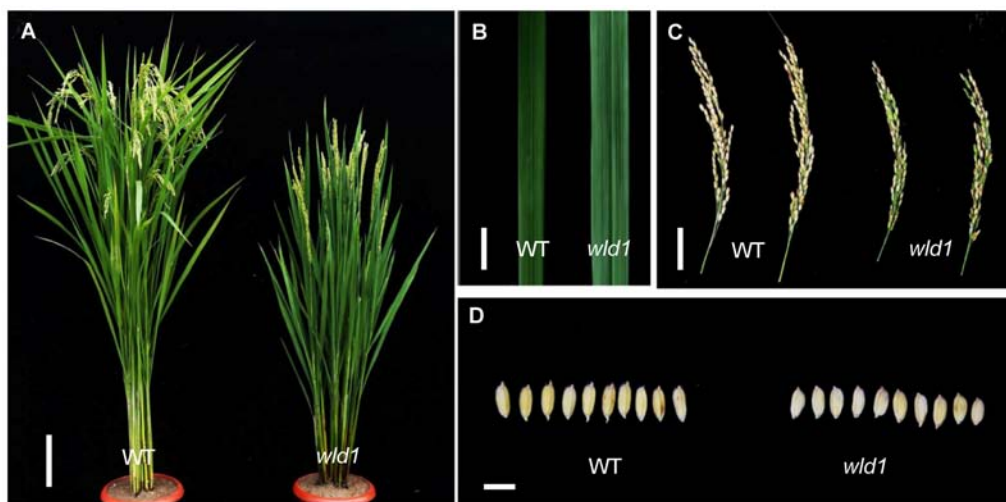


图1 水稻野生型(WT)与突变体*wld1*成熟期表型

(A) 野生型与突变体*wld1*成熟期植株形态比较(Bar=20 cm); (B) 野生型与突变体*wld1*叶宽比较(Bar=0.8 cm); (C) 野生型与突变体*wld1*穗型比较(Bar=4 cm); (D) 野生型与突变体*wld1*种子大小比较(Bar=0.5 mm)

Figure 1 Phenotype comparison between wild type (WT) and the mutant *wld1* of rice at mature stage

(A) The morphology comparison between wild type and *wld1* mutant at mature stage (Bar=20 cm); (B) The leaf blade comparison between wild type and *wld1* mutant (Bar=0.8 cm); (C) Panicle comparison between wild type and *wld1* mutant (Bar=4 cm); (D) Kernel comparison between wild type and *wld1* mutant (Bar=0.5 mm)

表1 水稻突变体*wld1*与野生型的农艺性状比较

Table 1 The agronomic traits comparison between the mutant *wld1* and wild type of rice

Agronomic trait	Wild type	Mutant <i>wld1</i>
Plant height (cm)	103.47±0.89	78±1.38**
Leaf blade (cm)	1.32±0.33	2.12±0.46**
Panicle length (cm)	18.79±0.68	14.87±0.33**
No. of effective tillers per plant	25.65±1.79	24.08±1.76
Seed setting percentage (%)	90.01±1.78	88.03±2.34
1000-grain weight (g)	24.86±0.16	22.89±0.27**

\* 表示在0.05水平差异显著; \*\* 表示在0.01水平差异显著。

\* Significant at  $P<0.05$ ; \*\* Significant at  $P<0.01$ .

## 2.2 突变体*wld1*与野生型的细胞形态鉴定

在成熟期,取野生型和突变体*wld1*的第2茎节部位制作石蜡切片,进行横向和纵向细胞观察。结果表明,与野生型相比,突变体*wld1*茎节的横向薄壁细胞数目显著增加(图2A, B),这可以解释突变体*wld1*茎秆粗壮的原因。突变体*wld1*茎节的纵向薄壁细胞数目没有显著变化,而纵向薄壁细胞大小显著变小,有的仅为野生型的1/2(图2C, D),这可能是突变体*wld1*株高达野生型75%的主要原因。

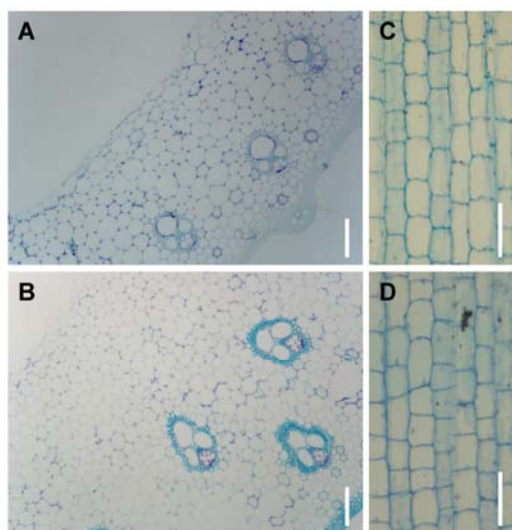
## 2.3 突变体*wld1*遗传分析

为了研究突变体*wld1*的遗传规律,我们进行突变体与野生型的正反交,  $F_1$ 代株高等表型恢复到与野生型水平,表明该表型由隐性核基因控制。同时统计了 $F_2$ 代植株的分离比,结果表明,  $F_2$ 代植株表型分离比(突变体表型:野生型表型)卡方值小于 $\chi^2_{0.05}(1)=3.841$ ,表明差异显著,符合孟德尔1:3的分离规律(表2),表明突变体表型由1对单隐性核基因控制。

## 2.4 突变体*wld1*的精细定位

经检测,突变体*wld1*没有T-DNA插入,可能是在组培过程中体细胞变异的突变体,因此我们利用图位克隆的方法首先进行初定位。用均匀分布于全基因组的173对初定位引物对2个混池、日本晴和Dular进行PCR扩增及凝胶电泳检测,发现2个混池和5号染色体长臂上的5-4分子标记连锁;再用22株 $F_2$ 代单株对5-4分子标记进行连锁分析,结果表明该分子标记确实与突变位点连锁。

之后在分子标记5-4的上下游设计新的Indel标记,用22个 $F_2$ 单株将突变位点锁定在分子标记5-4与



**图2** 水稻野生型和突变体 *wld1* 成熟期茎节石蜡切片对比  
(A) 野生型第2节间石蜡横截面(Bar=80  $\mu\text{m}$ ); (B) 突变体 *wld1* 第2节间石蜡横截面(Bar=80  $\mu\text{m}$ ); (C) 野生型第2节间石蜡纵截面(Bar=20  $\mu\text{m}$ ); (D) 突变体 *wld1* 第2节间石蜡纵截面(Bar=20  $\mu\text{m}$ )

**Figure 2** The paraffin section comparison of stem between the mutant *wld1* and wild type in rice at mature stage

(A) Cross-section of second internode in wild type (Bar=80  $\mu\text{m}$ ); (B) Cross-section of second internode in *wld1* mutant (Bar=80  $\mu\text{m}$ ); (C) Longitudinal section of second internode in wild type (Bar=20  $\mu\text{m}$ ); (D) Longitudinal section of second internode in *wld1* mutant (Bar=20  $\mu\text{m}$ )

**表2**  $F_2$ 代分离群体统计结果

**Table 2** The statistics of the phenotype of  $F_2$  segregating population

Cross combination	Nipponbare $\times$ Mutant	Mutant $\times$ Nipponbare
Number of plants	1691	1304
Number of normal plants	1264	986
Number of dwarf plants	427	318
Segregation of ratio	3:1	1:3
$\chi^2_{0.05}(1)=3.841$	0.057	0.261

5-30之间。在此区间再次设计新的分子标记(表3), 用745个 $F_2$ 单株最终将突变位点限定在分子标记Indel37与Indel48之间的91 kb区间内。该区间经水稻基因组比较分析, 发现覆盖了已报道的3个BAC (细菌人工染色体)克隆, 分别为OSJNBa0073E05、OJ1562H01和OJ1057G07 (图3)。

## 2.5 候选基因的克隆及表达分析

我们对该区间的9个候选基因进行引物设计, PCR扩增后测序, 发现OSJNBa0073E05中的1个AP2转录因子家族基因发生了1个碱基T的缺失(ORF中第6外显子, 第193个氨基酸由异亮氨酸变为苏氨酸), 导致移码突变, 后续氨基酸序列改变并提前终止(由原来的314个氨基酸变为232个氨基酸), 编码的蛋白质结构被破坏, 功能缺失。生物信息学分析结果表明, 该基因属于AP2基因家族中的ANT类, 具有典型的AP2结构域(图4A)。

为了进一步揭示该基因的表达情况, 我们提取了野生型和突变体成熟期叶片的RNA, 利用反转录所获得的cDNA进行半定量检测。结果(图4B)表明, 基因 *Actin* 的PCR条带亮度调为一致后, 在突变体 *wld1* 中, *LOC\_Os05g32270* 基因不表达, 是功能完全失活突变体。

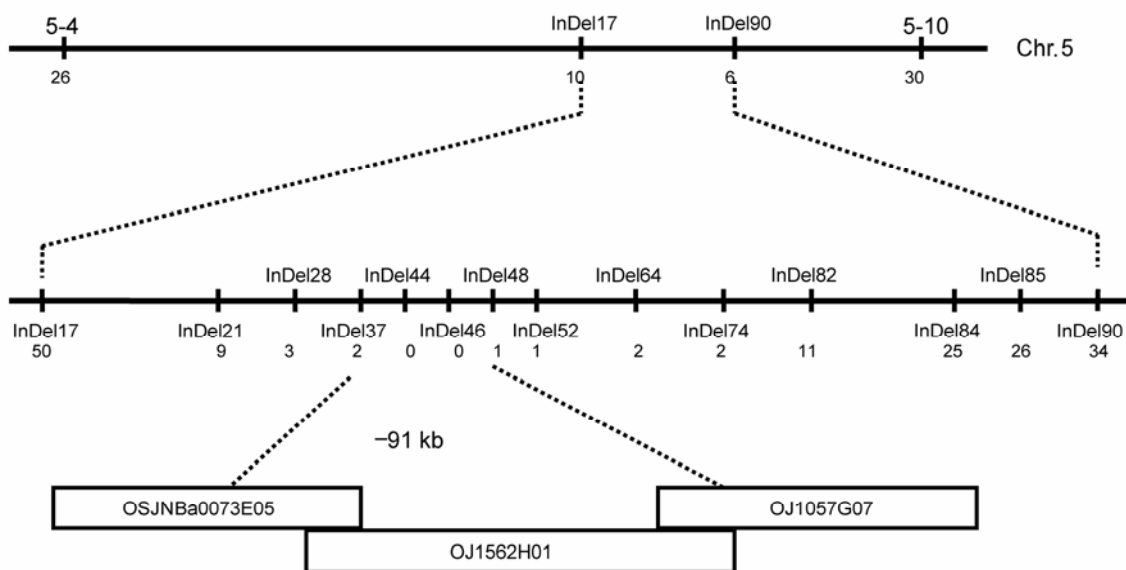
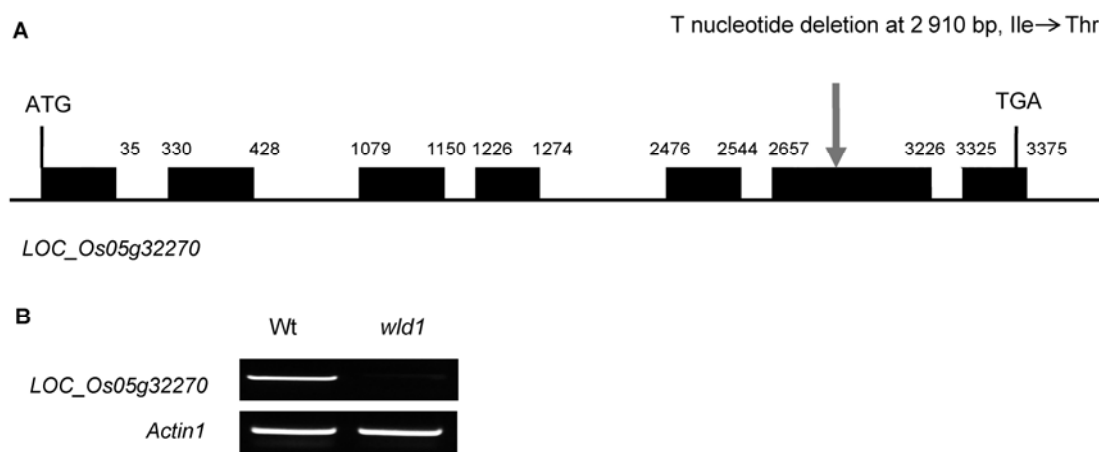
## 2.6 讨论

本研究通过筛选水稻T-DNA突变体库, 获得了1个株高变矮的突变体 *wld1*, 与其它矮化突变体相比, 具有茎秆粗壮、叶片较宽和抗倒伏等特点, 是一个良好的种质资源。我们通过图位克隆方法克隆到该基因, 其编码1个新的AP2型转录因子。在突变体 *wld1* 中, 突变位点位于第6外显子中, 发生胸腺嘧啶(T)的缺失, 因而基因提前终止, 造成基因失活。对成熟期茎秆通过石蜡切片进行比较, 发现突变体 *wld1* 横向薄壁细胞数目增多, 造成茎秆变粗; 纵向细胞长度变短, 可能是使植物高度变矮、种子变短的原因。本研究结果明确了突变体 *wld1* 的表型特征与遗传基础。

水稻基因符号命名和连锁群委员会将矮秆基因统一定名, 将具有强矮化效应、植株表现为矮秆(狭义)类型的基因定名为d系统; 而把具有较弱矮化效应、植株表现为半矮秆类型的基因定名为sd系统。根据被鉴定的时间顺序, 已分别注册到d-62和sd-8, 其中部分矮秆(半矮秆)基因是相同的或等位的, 如d-6和d-34、d-10和d-16、d-11和d-8、d-12和d-50、d-14和d-10及sd-1和d-47分别互为等位基因。目前, 已筛选出一大批矮化突变体且基因功能明确, 如gid1、gid2、Sd1、D1、D2、D3、D4、D6、D10、D11、D14、D17、D27、D53、D61和D62(不完全统计)。它们的

**表3** 本实验开发的多态性InDel标记**Table 3** Polymorphic InDel markers developed in this study

Marker	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
rm5-4	CAGAAGCCTTCTTACGAAGCTT	TAATCTTTGAGCGAGCAATT
rm5-30	CCATGCATGATTGAAAGCAT	TTCTCCCATCTCTTGATGTGG
InDel48	TGCAGCAAATGTATGCAGTG	TGGTGATGTCCTTTGGTTGA
InDel82	GCCGCAAACCGAGTATAGA	CGGTGTCACGTCAATCAAAA
InDel46	CGTGACAGTTTTGACCATGC	TAACAAGGCCCAAGATCACC
InDel37	GAAGAAGGCGAGGGAAACC	ACCTGGGCTAGTTGATCTGC

**图3** 水稻*OsWLD1*基因的初定位和精细定位**Figure 3** The rough and fine mapping of *OsWLD1* gene in rice**图4** 水稻候选基因的克隆及表达**(A)** *LOC\_Os05g32270*基因在突变体*wld1*的序列分析; **(B)** *LOC\_Os05g32270*基因在野生型和突变体的半定量分析**Figure 4** Cloning and expression analysis of candidate gene in rice**(A)** *LOC\_Os05g32270* sequence analysis of *wld1*; **(B)** The *LOC\_Os05g32270* RT-PCR analysis in *wld1* mutant and wild type

作用机理按6大激素分类, 可以分为4类。其中, 参与GA信号途径或合成途径的有*D1* (编码G蛋白 $\alpha$ 亚基)和*Sd1* (编码GA3-20氧化酶基因)等; 参与BR信号或合成途径的有*D2* (细胞色素P450)、*D11* (细胞色素P450)和*D61* (受体激酶)等; 参与独脚金内酯(SLs)信号或合成途径的有*D3* (F-box和富含亮氨酸重复序列的蛋白)、*D53* (I类Clp ATP酶类似的蛋白)、*D14* ( $\alpha/\beta$ 水解酶)和*D10* (编码类胡萝卜素裂解双加氧酶); 参与细胞分裂素信号或合成途径的有*D6* (*OSH15*基因, *KNOX*一员)。突变体*wld1*各节均较短, 是一个典型的dn类突变体, 可能参与GA<sub>3</sub>途径。此外, 突变体*wld1*叶片直立、叶色深, 也符合BR的途径特征。据最新的研究表明, *WLD1*基因参与BR的信号途径, 位于*GSK1*的上游(未发表数据)。这些特征为进一步解析其参与的信号途径奠定了重要基础。

Aya等(2014)也筛选了与*wld1*等位的*smos1*突变体, 并图位克隆了该基因。通过CHIP等实验明确了其下游靶基因为*OsPHI-1*, *SMOS1*基因是生长素信号途径下游成员之一。通过在*smos1*突变体中进行microarray分析, 发现与微管正常运动及DNA复制相关基因的表达受到抑制。*smos1*的突变位点在第6外显子内, 与*wld1*的突变位点在同一外显子区域, 而这一区域是AP2型转录因子的保守区域, 表明其功能的重要性。此外, 与前人研究结果不同, 我们筛选的*wld1*突变体明显地表现出茎秆粗壮、叶片宽大, 优于突变体*smos1*。由于材料本身为非转基因材料, *wld1*突变体遗传背景清晰, 因此可以通过回交转育到优良的恢复系中, 用于创制优异的恢复系。

## 参考文献

- 侯春春, 徐水 (2009). 浅析影响石蜡切片质量的关键因素. 中国农学通报 25(23), 94–98.
- Ashikari M, Wu J, Yano M (1999). Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene *Dwarf 1* encodes the subunit of GTP-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 10284–10289.
- Aya K, Hobo T, Sato-Izawa K, Ueguchi-Tanaka M, Kitano H, Matsuoka M (2014). A novel AP2-type transcription factor, SMALL ORGAN SIZE1, controls organ size downstream of an auxin signaling pathway. *Plant Cell Physiol* 55, 897–912.
- Fujisawa Y, Kato T, Ohki S, Ishikawa A, Kitano H, Sasaki T, Asahi T, Iwasaki Y (1999). Suppression of the heterotrimeric G protein causes abnormal morphology, including dwarfism, in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 7575–7580.
- Gao ZY, Qian Q, Liu XH, Yan M, Feng Q, Dong G, Liu J, Han B (2009). *Dwarf 88*, a novel putative esterase gene affecting architecture of rice plant. *Plant Mol Biol* 71, 265–276.
- Li W, Wu J, Weng S, Zhang Y, Zhang D, Shi C (2010). Identification and characterization of *dwarf 62*, a loss-of-function mutation in *DLT1/OSGRAS-32* affecting gibberellin metabolism in rice. *Planta* 232, 1383–1396.
- Lin H, Wang RX, Qian Q, Yan M, Meng X, Fu Z, Yan C, Jiang B, Su Z, Li J, Wang Y (2009). DWARF27, an iron-containing protein required for the biosynthesis of strigolactones, regulates rice tiller bud outgrowth. *Plant Cell* 21, 1512–1525.
- Liu YG, Chen YL (2007). High-efficiency thermal asymmetric interlaced PCR for amplification of unknown flanking sequences. *Biotechniques* 43, 649–656.
- Maekawa M, Takamura I, Ahmed N, Kyozuka J (2005). Bunketsu-waito one of the tillering dwarfs, is controlled by a single recessive gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Breed Sci* 55, 193–196.
- Monna L, Kitazawa N, Yoshino R, Suzuki J, Masuda H, Maehara Y, Tanji M, Sato M, Nasu S, Minobe Y (2002). Positional cloning of rice semi-dwarfing gene, *sd-1*: rice “green revolution gene” encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. *DNA Res* 9, 11–17.
- Murray MG, Thompson WF (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* 8, 4321–4325.
- Sasaki A, Ashikari M, Ueguchi-Tanaka M, Ueguchi-Tanaka M, Itoh H, Nishimura A, Swapan D, Ishiyama K, Saito T, Kobayashi M, Khush GS, Kitano H, Matsuoka M (2002). A mutant gibberellin-synthesis gene in rice. *Nature* 416, 701–702.
- Spielmeyer W, Ellis MH, Chandler PM (2002). Semidwarf (*sd-1*), “green revolution” rice, contains a defective gibberellin 20-oxidase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 9043–9048.
- Ueguchi-Tanaka M, Fujisawa Y, Kobayashi M, Ashikari M, Iwasaki Y, Kitano H, Matsuoka M (2000). Rice dwarf mutant *d1*, which is defective in the  $\alpha$  subunit of the heterotrimeric G protein, affects gibberellin signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 97, 11638–11643.
- Wan SY, Wu JX, Zhang ZG, Sun XH, Lv YC, Gao C, Ning YD, Ma J, Guo YP, Zhang Q, Zheng X, Zhang CY, Ma

- ZY, Lu TG (2009). Activation tagging, an efficient tool for functional analysis of the rice genome. *Plant Mol Biol* **69**, 69–80.
- Wang L, Xu YY, Ma QB, Li D, Xu ZH, Chong K (2006). Heterotrimeric G protein subunit is involved in rice brassinosteroid response. *Cell Res* **16**, 916–922.
- Yasuno N, Yuta Y, Itsuro T, Kato K (2007). Genetic interaction between 2 tillering genes, reduced culm number 1 (*rcn1*) and tillering dwarf gene *d3*, in rice. *J Hered* **98**, 169–172.
- Yoshikawa T, Eiguchi M, Hibara K, Ito J, Nagato Y (2013). Rice *SLENDER LEAF 1* gene encodes cellulose synthase-like D4 and is specifically expressed in M-phase cells to regulate cell proliferation. *J Exp Bot* **64**, 2049–2061.
- Zhang SY, Li G, Fang J, Chen W, Jiang H, Zou J, Liu X, Zhao X, Li X, Chu C, Xie Q, Jiang X, Zhu L (2010). The interactions among DWARF10, auxin and cytokinin underlie lateral bud outgrowth in rice. *J Integr Plant Biol* **52**, 626–638.
- Zhou F, Lin Q, Zhu L, Ren Y, Zhou K, Shabek N, Wu F, Mao H, Dong W, Gan L, Ma W, Gao H, Chen J, Yang C, Wang D, Tan J, Zhang X, Guo X, Wang J, Jiang L, Liu X, Chen W, Chu J, Yan C, Ueno K, Ito S, Asami T, Cheng Z, Wang J, Lei C, Zhai H, Wu C, Wang H, Zheng N, Wan J (2013). D14—SCF<sup>D3</sup>-dependent degradation of D53 regulates strigolactone signaling. *Nature* **504**, 406–410.
- Zou J, Chen Z, Zhang S, Zhang W, Jiang G, Zhao X, Zhai W, Pan X, Zhu L (2005). Characterizations and fine mapping of a mutant gene for high tillering and dwarf in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta* **222**, 604–612.

## Gene Mapping of a Dwarf Gene *WLD1* in Rice

Wenle Wang, Dan Feng, Jinxia Wu, Zhiguo Zhang, Tiegang Lu\*

Biotechnology Research Institute/National Key Facility for Genetic Resources and Gene Improvement, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

**Abstract** Dwarf rice (*Oryza sativa*) is the most important agronomic trait closely related to photosynthetic efficiency and yield. Exploring more dwarf resources can deepen our understanding of the genetic mechanisms of plant height and provide new germplasm for cultivating new varieties. A wide-leaf, wide-stem, small-kernel and dwarf mutant, *wld1*, was identified from the rice T-DNA insertion mutant library. We used map-based cloning to locate the gene on rice chromosome 5 between the markers InDel37 and InDel48, with 91 kb physical distance. The mutant *wld1* resulted from deletion of the base T in *LOC\_Os05g32270*, which causes a reading error and early termination of the peptide chain encoding. We used microscopy to observe the top-second internal structure of vegetative organs of the mutant and the wild type in paraffin sections. In the *wld1*, cells were significantly increased in size in cross-sections but reduced in size in longitudinal sections. The expression of *LOC\_Os05g32270* was completely inactivated. The gene is an allele of the reported rice gene *OsSMOS1* (*SMALL ORGAN SIZE1*). The agronomic properties of *wld1* are good (lodging) and it can be directly applied to practice. In this study, we defined the inheritance and phenotype characteristics of this mutant, which lays the foundation for further analysis of the signaling pathway.

**Key words** rice, wide-leaf and dwarf mutant, genetic analysis, map-based cloning

Wang WL, Feng D, Wu JX, Zhang ZG, Lu TG (2017). Gene mapping of a dwarf gene *WLD1* in rice. *Chin Bull Bot* **52**, 54–60.

\* Author for correspondence. E-mail: lutiegang@caas.cn

(责任编辑: 白羽红)