

一个新的水稻 *D17/HTD1* 基因等位突变体的分子鉴定

李丛丛¹, 马小定², 马建³

(¹北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心 / 农业基因资源与生物技术北京市重点实验室, 北京 100097;

²中国农业科学院作物科学研究所 / 农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081;

³北京市农林科学院蔬菜研究中心 / 农业农村部华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 北京 100097)

摘要:株高和分蘖是水稻重要的农艺性状,直接影响到产量。本研究从粳稻品种日本晴的组培苗后代中分离出一个可稳定遗传的半矮化多分蘖突变体 *t489*,相比野生型,突变体株高明显下降、分蘖能力明显增强。遗传分析表明该性状受 1 对隐性基因控制。进一步基因鉴定发现,突变体中编码植物激素独脚金内酯(SLs, Strigolactones)合成途径中的类胡萝卜素裂解双加氧酶 7 即 *D17/HTD1* 基因编码区第 916 bp 位置的碱基由 G 突变为 T,导致蛋白翻译提前终止,仅编码 305 个氨基酸组成的蛋白,但此突变并未造成该基因转录水平的改变。基于此突变位点开发的 dCAPS-D17 标记与突变体和日本晴构建的 BC₁F₂ 群体中的矮化多分蘖植株共分离,这表明 G916T 突变与表型相关,*t489* 可能是一个新的 *D17/HTD1* 等位突变体。

关键词:水稻;矮秆;多分蘖;独脚金内酯;*D17/HTD1*

Molecular Identification of a New *D17/HTD1*-allelic Mutant in Rice

LI Cong-cong¹, MA Xiao-ding², MA Jian³

(¹Beijing Agro-Biotechnology Research Center, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences/ Beijing Key Laboratory of Agricultural Genetic Resources and Biotechnology, Beijing 100097; ²Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081; ³Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (North China), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100097)

Abstract: Plant height and tillering, which served as two of important agronomic characters of rice, can determine the final yield. In this study, one genetically stable and high-tillering dwarf mutant *t489* was identified from the tissue culture seedlings of 'Nipponbare', a japonica rice variety. Compared to the wild type, the mutant *t489* showed semi-dwarf and high-tillering. The genetic analysis indicated that this phenotype was controlled by one single recessive gene. Sequence analysis of *D17/HTD1* allele in the *t489* mutant showed G-to-T substitution at the 916' of the coding sequence, which caused premature termination of the *D17/HTD1* encoded protein. *D17/HTD1* encodes the carotenoid cleavage dioxygenase 7 (CCD7), which is one of the key enzymes in the biosynthesis pathway of plant hormone strigolactones (SLs). *d17* allele encodes for a truncated protein containing 305 amino acids, while no difference on the expression level was detected in the *t489* mutant. Furthermore, a molecular marker dCAPS-D17 based on the G916T mutation site was developed. By tests in BC₁F₂ population derived from the *t489* mutant and 'Nipponbare', this marker was co-separated with the dwarf and high-tillering plant. Taken together, these results suggested a new *d17/htd1*-allelic mutant in mutant *t489*.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); dwarf; high-tillering; strigolactones; *D17/HTD1*

收稿日期: 2018-12-22 修回日期: 2019-01-22 网络出版日期: 2019-02-14

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20181222001>

第一作者研究方向为植物分子遗传育种, E-mail: cong861109@163.com

通信作者: 马建, 研究方向为甜瓜遗传育种, E-mail: majian@nercv.org

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程

Foundation project: Agricultural Science and Technology Innovation Program of CAAS

水稻是世界上重要的粮食作物之一,也是进行功能基因组学研究的模式作物^[1]。水稻株高与光合效率、抗倒伏性等密切相关,分蘖决定水稻的有效穗数,二者均可直接影响水稻产量,是构成水稻株型的两个重要农艺性状^[2]。近年来育种家相继提出水稻理想株型的概念,适当的株高和分蘖数是其核心内容^[3]。

20 世纪 60 年代,*sd1* 基因在育种上的成功应用使得水稻单产获得巨大突破,引起第一次“绿色革命”^[4]。在我国,由于优良水稻矮秆资源匮乏,生产上应用的品种普遍携带 *sd1* 基因,发掘尽可能多的矮秆材料,可增加生产上矮秆基因资源的多样性,对水稻品种遗传改良具有重要意义^[5-6]。目前,已发现和鉴定了 90 多个水稻矮化相关突变体/基因 (<http://shigen.lab.nig.ac.jp/rice/oryzabase/genes>),如 *sd1*、*d1*、*d2*、*d3*、*d61*、*OsDWARF4* 等,这些基因多涉及到植物激素如赤霉素 (GA, Gibberellin)、油菜素内酯 (BR, Brassinosteroids)、独脚金内酯 (SLs, Strigolactones) 等的生物合成或信号转导途径^[7-13]。

独脚金内酯是 2008 年被发现的一类新的植物激素,该激素可以抑制植物分枝/分蘖的伸长生长^[14-15]。目前,通过对一系列水稻矮化多分蘖突变体的研究,已克隆独脚金内酯生物合成和信号途径相关的矮秆基因 *D3*、*D10*、*D14*、*D17*、*D27*、*D53*、*OsMAX1* 等^[16]。其中,*D10* 编码类胡萝卜素裂解双加氧酶 8 (CCD8, Carotenoid Cleaving Dioxygenase 8)^[17],*D17/HTD1* 编码 CCD7^[18],*D27* 编码一种 β -胡萝卜素异构酶 (β -carotene isomerase)^[19],*OsMAX1* 编码细胞色素氧化酶 P450 家族蛋白^[20],它们均参与从类胡萝卜素到独脚金内酯的合成途径^[16]; *D3* 编码富含亮氨酸重复序列的 F-box/LRR 蛋白^[15]、*D14* 编码一种 α/β 水解酶家族成员蛋白^[21],*D53* 编码高等植物特有的与 I 类 Clp ATPase 家族蛋白相似结构域蛋白^[22],它们均参与独脚金内酯的信号转导过程^[17]。尽管人们对于独脚金内酯调控水稻分蘖进行了深入研究,但其功能还没有被完全揭示出来,发掘更多的水稻分蘖相关的突变体对于深入了解植物分蘖形成的分子机制具有重要意义。

本研究从粳稻品种日本晴的组织培养后代中鉴定到一个稳定遗传的矮化多分蘖突变体 *t489*,表型鉴定、遗传分析、基因鉴定和基因表达分析等确认该突变体是由于参与独脚金内酯合成的 *D17/HTD1*

基因发生点突变导致翻译蛋白提前终止所致,可能是一个新的 *D17/HTD1* 等位突变体。为深入研究独脚金内酯调控水稻分蘖的分子机理提供了新材料。

1 材料与方法

1.1 供试水稻材料

矮化多分蘖突变体 *t489* 源自于粳稻品种日本晴组织培养后代,经多代自交,矮化多分蘖性状稳定遗传。利用该突变体与日本晴回交并自交获得 BC₁F₁ 和 BC₁F₂ 植株,突变体与粳稻品种 93-11 杂交并自交获得 F₂ 植株群体。所有材料在北京正季种植,于成熟期采用 5 点取样法分别选取 15 株长势一致的野生型和突变体单株考察株高、分蘖性状,并调查统计杂交后代群体中正常植株和矮化多分蘖植株的数目。

1.2 分子标记开发及序列分析

根据水稻基因组数据库 (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) 公布的日本晴的基因组注释及序列信息,利用 NCBI 网站在线软件 Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) 设计基因扩增用引物,利用在线软件 dCAPS Finder2.0 (<http://helix.wustl.edu/dcaps/dcaps.html>) 设计 dCAPS 标记,引物合成及 PCR 产物测序交由北京博迈德科技发展有限公司完成,测序结果用 DNAMAN 软件拼接比对,确定突变位点。利用 SMART 网站 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 进行蛋白质结构域预测。引物序列见表 1。

1.3 DNA 提取、PCR 扩增及扩增产物检测

采用 CTAB 法提取水稻叶片基因组 DNA^[23]。利用 KOD FX 酶进行 PCR 扩增,PCR 反应体系如下: 2 × PCR Buffer for KOD FX 25 μ L, 10 μ L dNTPs (2 mmol/L each), 2 μ L 引物 (10 pmol, F+R), 1 μ L KOD FX 酶 (1 U/ μ L; TOYOBO; Japan), 2 μ L 基因组 DNA (100 ng/ μ L), 加 ddH₂O 至 50 μ L。扩增反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 98 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 59 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 68 $^{\circ}$ C 依片段大小延伸 (1 kb/min), 35 个循环; 68 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 16 $^{\circ}$ C 保存。扩增产物用 1.2% 琼脂糖胶检测,经凝胶成像系统观察、拍照。酶切反应体系为 20 μ L,包括 16 μ L PCR 扩增产物、2 μ L 10 × *FastDigest*[®] buffer、2 μ L 的 *SacI* 内切酶 (Thermo Scientific, USA), 于 37 $^{\circ}$ C 酶切 2 h。酶切产物经 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,硝酸银染色后在观片机上拍照、记录试验结果。

表 1 本研究采用的 PCR 引物序列
Table 1 PCR primer used in this study

| 引物名称 | 正向引物 | 反向引物 | 用途 |
|-------------|--------------------------|--------------------------------|--------|
| Primer name | Forward primer (5'-3') | Reverse primer (5'-3') | Usage |
| D17 | CACGAGAAACGAGCCAACGA | GGTCCCCTGATAATTCCTCTCC | 基因扩增 |
| qD17 | CTGCTGCGCCCTGTTCTTAG | AACTCACGCTTCTGGACGAG | 基因表达分析 |
| S4-11-3 | GAAGAGGAGGGGGAACAGC | ATTCCCGTCTGTTGTGATGG | 基因定位 |
| C4-C5 | TCCTCCGTGTGTCGATAGCAT | GCAGACATCGATAATGAGCT | 基因定位 |
| C4-C2 | AGTCGTACCACCAATCTGGA | AGCTCCCAAGAGCTGAGAGA | 基因定位 |
| C4-C4 | TTTGCTGTCCCTTCCCTGT | TGATGGACCTCAGCACAGTG | 基因定位 |
| ID4-12 | CGTGGCAATATGTTTCCTTT | TCGGATACGTAAAACGGAAAA | 基因定位 |
| S4-12-1 | TCAGGATCAGGACAAAGCTG | TTGCTTTGAATTCATCTGTCG | 基因定位 |
| dCAPS-D17 | ACCACGCATTTTCCATTCGC | GGATCATGAGGTGGTCCGGCACGACGAGCT | 连锁分析 |
| ubiquitin | ACCCTGGCTGACTACAACATC | AGTTGACAGCCCTAGGGTG | 内参基因 |

1.4 RNA 提取和基因表达分析

利用 ZR Plant RNA MiniPrep Kit (ZYMO, USA) 提取水稻幼苗总 RNA, 用 DNase I (TaKaRa, 大连) 消化基因组 DNA 30 min。取 5 μg 总 RNA 利用 TransScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix (北京全式金生物技术有限公司) 合成第 1 链 cDNA。基因表达分析采用实时定量荧光 PCR 方法, 利用 SYBR Premix Ex Taq™ II 试剂盒 (TaKaRa, 大连), 选用 Applied Bio systems 公司的 96 孔 PCR 板在 ABI PRISM 7500 实时定量 PCR 仪上运行。以水稻的 ubiquitin (*LOC_Os03g13170*) 基因作为内参, 反应程序: 95 ℃ 预变性 15 s; 95 ℃ 变性 5 s, 60 ℃ 延伸 34 s, 40 个循环。每个反应重复 3 次, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 算法分析结果^[24]。引物序列见表 1。

2 结果与分析

2.1 矮化多分蘖突变体 *t489* 的表型鉴定及遗传分析

将突变体 *t489* 及野生型日本晴在相同条件下种植管理, 相比野生型, 突变体在整个生育期都表现出过度分蘖和矮化的表型。至成熟期, 日本晴株高 102.6 ± 1.11 cm, *t489* 株高 48.8 ± 1.44 cm, 为野生型的 47.56%; 日本晴平均分蘖数 12 ± 1.5 个, *t489* 平均分蘖数 140 ± 15.4 个, 为野生型的 11.7 倍, *t489* 表现为典型的半矮化多分蘖突变体 (图 1)。

为了解突变体的遗传机制, 以突变体 *t489* 为母本, 野生型日本晴为父本进行回交, BC₁F₁ 植株表现同日本晴, 表明 *t489* 矮化多分蘖表型受隐形核基因控制。进一步将 300 株 BC₁F₂ 植株种植于田

间, 在分蘖盛期对群体进行表型调查, 其中正常表型植株 228 株, 矮化多分蘖植株 72 株, 经卡方测验数据接近 3 : 1 ($\chi^2_{0.05} = 0.11 < \chi^2_{0.05} = 3.84, P=0.73$)。在 *t489* 与籼稻品种 93-11 配制的 F₂ 群体中, 正常植株 1090 株, 矮化多分蘖植株 320 株, 也符合 3 : 1 分离比例 ($\chi^2_{0.05} = 1.88 < \chi^2_{0.05} = 3.84, P=0.17$), 这些数据表明突变体 *t489* 的矮化多分蘖性状受 1 对隐性核基因控制。

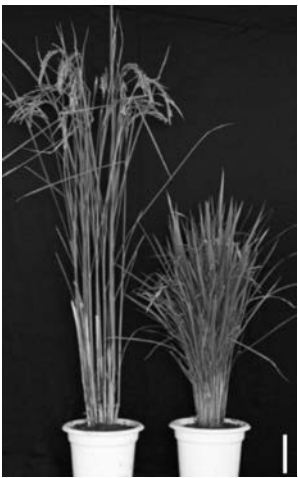


图 1 野生型日本晴 (左) 和突变体 *t489* (右) 成熟期表型 (标尺 5 cm)

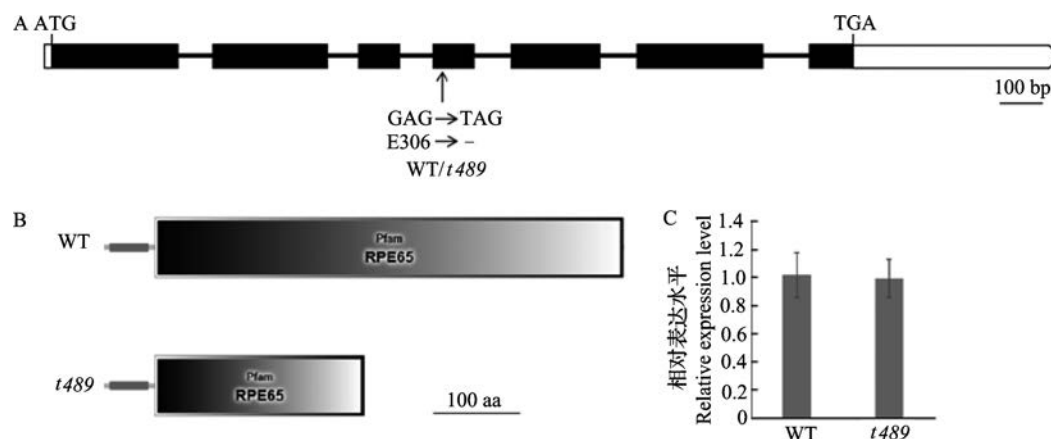
Fig.1 Phenotype of the wild type Nipponbare (left) and *t489* (right) mutant at maturing stage (Scale bars, 5 cm)

2.2 突变体 *t489* 突变位点的分子鉴定

因为突变体 *t489* 具有半矮化多分蘖的表型, 故优先对独角金内酯合成及信号途径相关的已克隆基因 *D3*、*D10*、*D14*、*D17*、*D27*、*D53* 进行了测序分析。结果表明: 除 *D17* 外, 突变体中其余 5 个基因的

编码区序列均与日本晴一致。日本晴中 *D17* (*LOC_Os04g46470*) 的基因组注释显示基因 DNA 全长为 3103 bp, 包括 7 个外显子和 6 个内含子, 编码区全长为 1830 bp (图 2A), 在 *t489* 中该基因编码区第 916 bp 位置处由 G 突变成 T, 密码子由 GAG 变为终止密码子 TAG, 造成翻译蛋白的提前终止 (图 2A)。 *D17* 基因编码由 609 个氨基酸组成的类胡萝卜素裂解双

加氧酶 7 蛋白, 其中第 60~609 个氨基酸为 RPE65 (retinal pigment epithelial) 结构域。突变体中该基因发生突变后仅编码 305 个氨基酸的蛋白, 造成 RPE65 结构域缺失 304 个氨基酸 (图 2B)。故推测编码区 G916T 突变可能导致了突变体 *t489* 产生矮化多分蘖的表型。另外, 荧光定量 PCR 检测显示, 突变体中 *D17* 发生点突变后并不影响其基因表达水平 (图 2C)。



A: *D17* 基因结构及突变位点; B: *D17* 蛋白功能结构域预测; C: *D17* 基因相对表达水平
A: Structure and mutation sites of the *D17* gene, B: The predicted function domains of *D17* protein,
C: Expression analysis of *D17* in WT and mutant *t489*

图 2 *D17* 基因结构、氨基酸结构域及基因表达分析

Fig.2 Gene structure, protein functional domain and gene expression levels of *D17* in WT and mutant *t489*

2.3 *t489* 中矮化多分蘖基因的定位

为验证 *t489* 矮化多分蘖表型是否与 *D17* 基因发生突变有关, 首先选取 *t489* 与 93-11 杂交后获得的 F_2 群体中的 320 株矮化多分蘖单株用于该基因的遗传定位。随后, 在 *D17* 基因所在的 4 号染色体上开发了 6 对在 *t489* 和 93-11 中表现多态性的分子标记, 并利用这些分子标记对 320 株单株进行基因型分析, 最终将 *D17* 基因定位于标记 C4-C2 和 C4-C4 之间约 300 kb 物理区间内, 该区间内仅包含一个已知的与矮化多分蘖相关的 *D17* 基因 (图 3A)。

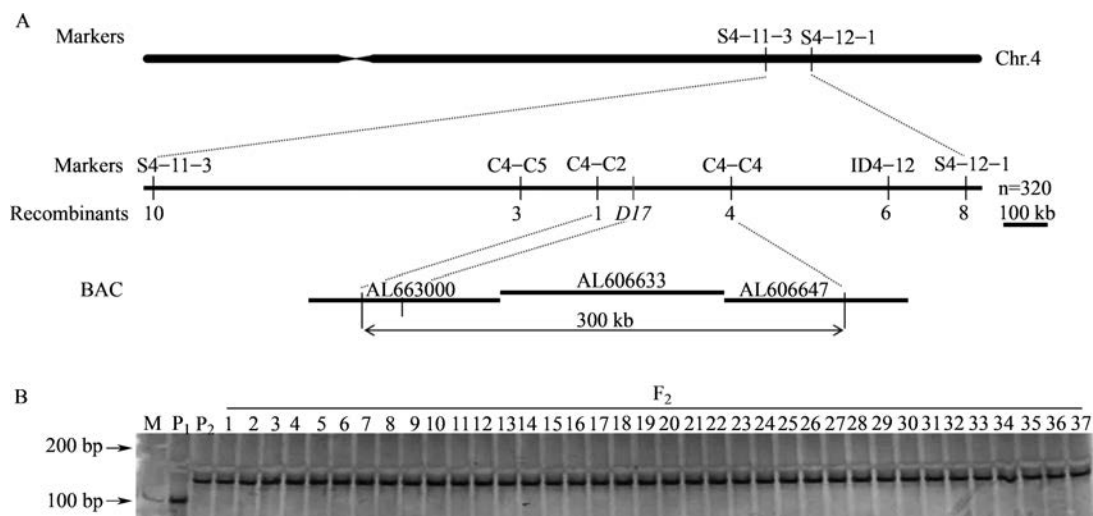
为确定 *t489* 表型是否与 *D17* 基因编码区第 916 bp 位置突变有关, 根据这个单碱基突变开发了一对 dCAPS 标记 (dCAPS-*D17*)。通过引入一个突变碱基, 使野生型中扩增片段产生限制性内切酶 *SacI* 的酶切位点, 可特异剪切掉 30 bp 而产生片段多态性。首先, 利用这对标记检测了野生型和突变体的多态性, 酶切前目的条带 130 bp, 经酶切后野生型变为 100 bp, 而突变体不能被切开, 证明该标记可以很好地区分突变体和野生型的基因型 (图 3)。随后, 利用该标记分析了 BC_1F_2 群体中 72 株矮化多

分蘖单株的基因型, 结果显示所有单株的目的条带与突变体一致均不能被 *SacI* 酶切开, 为突变体带型 (部分结果如图 3 所示), 这表明标记 dCAPS-*D17* 与突变体表型共分离。因此, 从遗传上验证了突变体 *t489* 的表型与 *D17* 基因发生突变有关。

3 讨论

近年来, 水稻中已发现了许多与株高和分蘖相关的突变体, 控制这些突变体的基因也已被部分克隆, 对于研究水稻株型形成的分子机理并定向设计、改良水稻株型具有重要的理论意义和实用价值。本研究从基因水平上证实突变体 *t489* 由于 *D17* 基因发生点突变导致翻译蛋白提前终止, 最终可能导致独脚金内酯无法合成而表现出矮化多分蘖的表型。

独脚金内酯是一类以类异戊二烯为基本单位的倍半萜烯化合物, 主要在植物根部合成。它的作用很广泛, 可诱导丛枝真菌菌丝分枝和苔藓菌落的生长、抑制植物分枝生长、调控植物根的发育等, 为一类新型植物激素^[14-15]。水稻中独脚金内酯普遍认为由类胡萝卜素进一步合成而来, 由 D27 催化反



A: *D17* 基因在水稻第 4 号染色体上的定位; B: 标记 dCAPS-D17 对 BC_1F_2 中突变单株的连锁分析;

M: 100 bp DNA ladder; P₁: 野生型日本晴; P₂: *t489* 突变体; 1~37: BC_1F_2 突变单株

A: Physical map of the *D17* locus on rice chromosome 4, B: The linkage analysis between marker dCAPS-D17 and *D17* locus among the mutant individuals of BC_1F_2 population, M: 100 bp DNA ladder, P₁: Nipponbare, P₂: *t489* mutant, 1-37: mutant individuals of BC_1F_2 population

图 3 *D17* 基因的定位

Fig.3 Mapping of the *D17* gene

式 9-反式- β -胡萝卜素成为 9-顺式- β -胡萝卜素,随后被 *D17* 裂解为 9-顺式- β -apo-10'-胡萝卜醛, *D10* 整合 3 个氧原子进入 9-顺式- β -apo-10'-胡萝卜醛并进行分子重排,产生与独脚金内酯生物活性类似的化合物 carlactone,最终可能经过两个 OsMAX1 蛋白催化反应合成独脚金内酯及其衍生物^[16,20,25]。*D17/HTD1* 基因最早由 Zou 等^[18,26]报道并克隆,该基因编码类胡萝卜素裂解双加氧酶 7,与拟南芥的 MAX3^[27]、豌豆 RMS5^[28]、矮牵牛 DAD3^[29] 等基因同源,参与独脚金内酯的生物合成途径。除 *htd1* 外,目前,已经报道了 *htd(t)*、*cl2*、*f2-132*、*sc64*、*S1-40*、*htd1-2* 等 7 个不同 *d17* 等位突变体^[30-34]。其中, *htd1*、*htd(t)*、*cl2*、*f2-132*、*sc64* 突变体为单碱基突变造成单个氨基酸的改变, *S1-40* 为单碱基突变造成 mRNA 产生错误剪接, *htd1-2* 为单碱基突变以及随后单碱基的缺失造成移码突变^[31-34]。本研究所用的 *t489* 突变体由于 *D17* 基因编码区第 916 bp 位置处由 G 突变成 T,密码子由 GAG 变为终止密码子 TAG,仅编码 305 个氨基酸的蛋白,造成 RPE65 结构域缺失 304 个氨基酸。连锁分析表明该突变位点与矮化多分蘖的表型共分离,突变后可能导致 *D17* 蛋白功能的丧失而产生矮化多分蘖的表型。本研究获得的 *t489* 突变体与其他已报道的 *d17* 等位突变体突变位点均不一致,表明这可能是一个新的 *d17* 等位突变体,在将来,进一步通过 *D17* 基因的遗

传转化或与其他 *d17* 等位突变体进行等位性测验,可对 *t489* 中的 *d17* 基因功能进行确认。

研究表明,独脚金内酯作为一种植物激素,在其合成或者信号转导途径中会受到反馈调节。例如:信号途径中的 *D3* 和 *D14* 基因突变后会导致合成基因 *D17* 和 *D10* 表达量提高,而 *D17* 突变后会导致 *D3* 表达量提高^[17-18,35]。鉴于 Zou 等^[18]、王涛等^[31]已在 *htd1/cl2* 突变体中检测过 *D3*、*D10*、*D14*、*D27* 等基因的 mRNA 表达分析,本研究未重复相关试验,仅在 *t489* 突变体检测了 *D17* 基因的表达水平,结果表明野生型和突变体中该基因的表达并未有显著性差异,这与 Zou 等^[18]的研究结果一致,而王涛等^[31]未使用突变体 *cl2* 对应的野生型作对照,与选用的对照籼稻品种 93-11 和 Indica9 相比,突变体 *cl2* 中 *D17* 基因表达量显著上调,这可能与遗传背景和突变位点的差异有关。

水稻作为研究独脚金内酯调控分枝机制的模式植物,矮化多分蘖突变体的鉴定和研究对阐明独脚金内酯参与合成和调控途径的分子机理起到关键作用。虽然独脚金内酯的研究取得了重要进展,但关于独脚金内酯合成和信号途径的许多步骤还有待完善。*t489* 功能突变基因的分子鉴定,为深入探讨水稻 OsCCD7 蛋白的功能提供了新材料,同时该基因的鉴定不仅丰富了植物矮秆基因资源,也为该突变体的合理利用奠定了分子基础。

参考文献

- [1] Izawa T, Shimamoto K. Becoming a model plant: the importance of rice to plant science. *Trends in Plant Science*, 1996, 1(3): 95-99
- [2] 赵芳明, 刘桂富, 朱海涛, 丁效华, 曾瑞珍, 张泽民, 李文涛, 张桂权. 用单片段代换系对不同时期水稻分蘖数 QTL 的非条件和条件定位. *中国农业科学*, 2008, 41(2): 322-330
Zhao F M, Liu G F, Zhu H T, Ding X H, Zeng R Z, Zhang Z M, Li W T, Zhang G Q. Unconditional and conditional QTL mapping by using single segment substitution lines for tiller number at various stages in rice (*Oryza sativa* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(2): 322-330
- [3] Zhang Q F. Strategies for developing green super rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104: 16402-16409
- [4] Hedden P. The genes of the green revolution. *Trends Genetics*, 2003, 19(1): 5-9
- [5] 谷福林, 黄胜东, 翟虎渠, 万建民. 水稻新矮源的诱变、鉴定和遗传研究. *植物遗传资源学报*, 2004, 5(3): 205-209
Gu F L, Huang S D, Zhai H Q, Wan J M. Genetic analysis of new dwarfism in rice. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2004, 5(3): 205-209
- [6] Nagano H, Onishi K, Ogasawara M, Horiuchi Y, Sano Y. Genealogy of the "Green Revolution" gene in rice. *Genes & Genetic Systems*, 2005, 80(5): 1-6
- [7] 于永红, 斯华敏. 水稻矮化相关基因的研究进展. *植物遗传资源学报*, 2005, 6(3): 344-347
Yu Y H, Si H M. Research progress on the dwarf-related gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Genetic Resources*, 2005, 6(3): 344-347
- [8] Sasaki A, Ashikari M, Ueguchi-Tanaka M, Itoh H, Nishimura A, Swapan D, Ishiyama K, Saito T, Kobayashi M, Khush G S, Kitano H, Matsuoka M. Green revolution: a mutant gibberellin-synthesis gene in rice. *Nature*, 2002, 416(6882): 701-702
- [9] Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Hasegawa Y, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M, Makoto M. The Rice *brassinosteroid-deficient dwarf2* mutant, defective in the rice homolog of Arabidopsis *DIMINUTO/DWARF1*, is rescued by the endogenously accumulated alternative bioactive brassinosteroid, dolichosterone. *The Plant Cell*, 2005, 17(8): 2243-2254
- [10] 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. *The Plant Cell*, 2003, 15(12): 2900-2910
- [11] Ishikawa S, Maekawa M, Arite T, Onishi K, Takamure I, Kyojuka J. Suppression of tiller bud activity in tillering dwarf mutants of rice. *Plant Cell Physiology*, 2005, 46: 79-86
- [12] 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. *Nature Biotechnology*, 2006, 24(1): 105-109
- [13] 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. *The Plant Cell*, 2000, 12(9): 1591-1605
- [14] Gomez-Roldan V, Fermas S, Brewer P B, Puech-Pagès V, Dun E A, Pillot J P, Letisse F, Matusova R, Danoun S, Portais J C, Bouwmeester H, Bécard G, Beveridge C A, Rameau C, Rochange S F. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*, 2008, 455: 189-194
- [15] Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyojuka J, Yamaguchi S. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*, 2008, 455: 195-200
- [16] 黎舒佳, 高谨, 李家洋, 王永红. 独脚金内酯调控水稻分蘖的研究进展. *植物学报*, 2015, 50(5): 539-548
Li S J, Gao J, Li J Y, Wang Y H. Advances in regulating rice tillers by strigolactones. *Chinese Bulletin of Botany*, 2015, 50(5): 539-548
- [17] Arite T, Iwata H, Ohshima K, Maekawa M, Nakajima M, Kojima M, Sakakibara H, Kyojuka J. *DWARF10*, an RMS1/MAX4/DAD1 ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice. *The Plant Journal*, 2007, 51: 1019-1029
- [18] Zou J H, Zhang S Y, Zhang W P, Li G, Chen Z X, Zhai W X, Zhao X F, Pan X B, Xie Q, Zhu L H. The rice *HIGH-TILLERING DWARF1* encoding an ortholog of Arabidopsis MAX3 is required for negative regulation of the outgrowth of axillary buds. *The Plant Journal*, 2006, 48: 687-698
- [19] Lin H, Wang R X, Qian Q, Yan M X, Meng X B, Fu Z M, Yan C Y, Jiang B, Su Z, Li J Y, Wang Y H. *DWARF27*, an iron-containing protein required for the biosynthesis of strigolactones, regulates rice tiller bud outgrowth. *The Plant Cell*, 2009, 21: 1512-1525
- [20] Zhang Y X, van Dijk A D J, Scaffidi A, Flematti G R, Hofmann M, Charnikhova T, Verstappen F, Hepworth J, van der Krol S, Leyser O, Smith S M, Zwanenburg B, Al-Babili S, Ruyter-Spira C, Bouwmeester H J. Rice cytochrome P450 MAX1 homologs catalyze distinct steps in strigolactone biosynthesis. *Nature Chemical Biology*, 2014, 10(12): 1028-1033
- [21] Arite T, Umehara M, Ishikawa S, Hanada A, Maekawa M, Yamaguchi S, Kyojuka J. *d14*, a strigolactone-insensitive mutant of rice, shows an accelerated outgrowth of tillers. *Plant Cell Physiology*, 2009, 50: 1416-1424
- [22] Zhou F, Lin Q B, Zhu L H, Ren Y L, Zhou K N, Shabek N, Wu F Q, Mao H B, Dong W, Gan L, Ma W W, Gao H, Chen J, Yang C, Wang D, Tan J J, Zhang X, Guo X P, Wang J L, Jiang L, Liu X, Chen W Q, Chu J F, Yan C Y, Ueno K, Ito S, Asami T, Cheng Z J, Wan J M. D14-SCF^{D3}-dependent degradation of D53 regulates strigolactone signaling. *Nature*, 2013, 504: 406-410
- [23] Murray M G, Thompson W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 1980, 8: 4321-4325
- [24] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nature Protocols*, 2008, 3(6): 1101-1108
- [25] Cardoso C, Zhang Y X, Jamil M, Hepworth J, Charnikhova T, Dimkpa S O N, Meharg C, Wright M H, Liu J W, Meng X B, Wang Y H, Li J Y, McCouch S R, Leyser O, Price A H,

- Bouwmeester H J, Ruyter-Spira C. Natural variation of rice strigolactone biosynthesis is associated with the deletion of two MAX1 orthologs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111: 2379-2384
- [26] Zou J H, Chen Z X, Zhang S Y, Zhang W P, Jiang G H, Zhao X F, Zhai W X, Pan X B, Zhu L H. Characterizations and fine mapping of a mutant gene for high tillering and dwarf in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta*, 2005, 222: 604-612
- [27] Bainbridge K, Sorefan K, Ward S, Leyser O. Hormonally controlled expression of the Arabidopsis *MAX4* shoot branching regulatory gene. *The Plant Journal*, 2005, 44: 569-580
- [28] Foo E, Bullier E, Goussot M, Foucher F, Rameau C, Beveridge C A. The branching gene *RAMOSUS1* mediates interactions among two novel signals and auxin in pea. *The Plant Cell*, 2005, 17: 464-474
- [29] Snowden K, Simkin A, Janssen B, Templeton K, Loucas H, Simons J, Karunaretnam S, Gleave A, Clark D, Klee H. The *Decreased apical dominance1/Petunia hybrida CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE8* gene affects branch production and plays a role in leaf senescence, root growth, and flower development. *The Plant Cell*, 2005, 17: 746-759
- [30] 张丹, 潘银林, 毛毕刚, 陈东, 吴天昊, 孙远涛, 胡远艺, 韶也, 彭彦, 刘春林, 赵炳然. 水稻矮秆多分蘖突变体 *htd(t)* 的遗传分析与基因定位. *杂交水稻*, 2018, 3(34): 71-75
- Zhang D, Pan Y L, Mao B G, Chen D, Wu T H, Sun Y T, Hu Y Z, Shao Y, Peng Y, Liu C L, Zhao B R. Genetic analysis and gene mapping of a high-tillering and dwarf mutant *htd(t)* in rice. *Hybrid Rice*, 2018, 3(34): 71-75
- [31] 王涛, 袁守江, 尹亮, 赵金凤, 万建民, 李学勇. 水稻 DUS 测试标准品种丛矮 2 号矮化多分蘖表型的遗传基础. *作物学报*, 2012, 38(10): 1766-1774
- Wang T, Yuan S J, Yin L, Zhao J F, Wan J M, Li X Y. Genetic basis of high-tillering dwarf trait in rice DUS test standard variety Cong' ai 2. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(10): 1766-1774
- [32] 张艳培, 孙伟, 尹亮, 赵金凤, 袁守江, 于元杰, 李学勇. 水稻半矮化多分蘖突变体 *f2-132* 的表型分析和基因定位. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(1): 165-170
- Zhang Y P, Sun W, Yin L, Zhao J F, Yuan S J, Yu Y J, Li X Y. Phenotypic analysis and gene mapping of the semi-dwarf high-tillering mutant *f2-132* in rice. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(1): 165-170
- [33] 陈丹. 水稻多分蘖突变体 *sc64* 和 *sc312* 的图位克隆及早花突变体 *s61* 的 MutMap 克隆. 成都: 四川农业大学, 2016
- Chen D. Map-based cloning of two tillering mutants *sc64* and *sc312* and MutMap cloning of an early flowering mutant in Rice. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2016
- [34] 江海湃, 张淑英, 包劲松, 王伯伦, 王术. 水稻多分蘖矮秆突变体 *htd1-2* 的遗传分析和基因定位. *遗传*, 2009, 31(5): 531-539
- Jiang H P, Zhang S Y, Bao J S, Wang B L, Wang S. Genetic analysis and mapping of high-tillering and dwarf mutant *htd1-2* in rice. *Heredity (Beijing)*, 2009, 31(5): 531-539
- [35] Mashiguchi K, Sasaki E, Shimada Y, Nagae M, Ueno K, Nakano T, Yoneyama K, Suzuki Y, Asami T. Feedback-regulation of strigolactone biosynthetic genes and strigolactone-regulated genes in Arabidopsis. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 2009, 73(11): 2460-2465

欢迎订阅 2020 年《草地学报》

《草地学报》是中国科协主管、中国草学会主办、中国农业大学承办的学术刊物,是了解草地科学前沿科技、创新成果和草业发展的重要窗口。主要刊登国内外草地科学研究及相关领域的新成果、新理论、新进展,以研究论文为主,兼发少量专稿、综述、简报和硕博论文精要,主要面向从事草地科学、草地生态、草地畜牧业和草业及相关领域的高校师生和科研院、所、站的科研人员。本刊从 2012 年 6 月 20 正式开始在线投稿和审稿,欢迎各位审稿专家、作者和读者通过本刊网站 (<http://www.cdxb.org>) 进行审稿、投稿和查阅。

本刊为中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国农业核心期刊、RCCSE 中国权威学术期刊,并被美国 CA 及 Thomson Reuters Master Journal List、英国 CABI 及 ZR、波兰 IC 等检索机构收录。同时为《中国科学引文数据库 (CSCD)》、《中国学术期刊综合评价数据库 (CAJCED)》、《中国学术期刊文摘》及其英文版源期刊,并被《中国核心期刊 (遴选) 数据库》、《万方数据 - 数字化期刊群》、《中国期刊全文数据库 (CJFD)》、《中国生物学文摘》、《中国生物学文献数据库》、台湾《CEPS 中文电子期刊》收录,并荣获首届《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊奖。2011 年影响因子为 1.268 (据中信所 2012 版《中国科技期刊引证报告》核心版); 复合影响因子提升为 1.905 (据《中国学术期刊影响因子年报 (2012)》),在所属畜牧、兽医学科中排名第 2 位。2012 年《草地学报》进入中国科协精品科技期刊项目。

双月刊,全铜版印刷,彩色四封,逢单月月末出版,国内外公开发行 (国内邮发代号: 80-135; 国外代号: Q1949),从 2020 年起每期定价将调整至 55 元,全年 330 元。若错过邮订时间,可直接向本刊编辑部订购 (中国草学会会员订阅可优惠 30%)。

地址: 北京市海淀区圆明园西路 2 号中国农业大学动科大楼 152 室

邮编: 100193

电话: 010-62733894

<http://www.cdxb.org>

E-mail: cdxb@cau.edu.cn