

油菜素类固醇相关基因调控植株矮化研究进展

王东磊¹, 王志权¹, 李青¹, 欧阳素影¹, 杨博智¹, 张志硕², 刘峰³, 胡博文¹, 邹学校¹

(¹ 湖南农业大学园艺学院/园艺作物种质创新与新品种选育教育部工程研究中心/蔬菜生物学湖南省重点实验室, 长沙 410128;

² 南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ³ 湖南省农业科学院蔬菜研究所, 长沙 410125)

摘要: 株高是作物中的一种重要的农艺性状, 通过矮化育种可减少倒伏, 增强抗逆性并提高产量。油菜素类固醇是一种重要的新型植物激素, 在植物生长发育过程中调控植物的株高。导致油菜素类固醇水平降低或油菜素类固醇信号传导受损的突变都会产生矮化。本文重点综述了各途径中导致矮化表型出现的突变基因。这些基因的发现, 拓展了矮化作物育种的种质和遗传基础, 为矮化种质资源创制和矮化新品种快速选育提供理论依据。

关键词: 矮化; 油菜素类固醇; 油菜素类固醇合成; 油菜素类固醇信号传导; 矮化基因

Research Progress of Brassinosteroid-related Genes Regulating Plant Dwarfing

WANG Dong-lei¹, WANG Zhi-quan¹, LI Qing¹, OU YANG Su-ying¹, YANG Bo-zhi¹,
ZHANG Zhi-shuo², LIU Feng³, HU Bo-wen¹, ZOU Xue-xiao¹

(¹ College of Horticulture, Hunan Agricultural University/Engineering Research Center for Horticultural Crop Germplasm Creation and New Variety Breeding, Ministry of Education/Key Laboratory for Vegetable Biology of Hunan Province, Changsha 410128;

² College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095; ³ Vegetable Research Institute of Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125)

Abstract: Dwarfing is an important agronomic trait in crops, which can reduce lodging, enhance stress resistance and increase yield. Brassinosteroid is an important new plant hormone that regulates plant height during plant growth and development. Mutations that cause a decrease in Brassinosteroid level or impair Brassinosteroid signaling will produce a dwarf phenotype. This article focuses on the mutated genes that induce the dwarf phenotype in each pathway. The discovery of these genes has expanded the germplasm and genetic basis of dwarf crop breeding, and provides a theoretical basis for the creation of dwarf germplasm resources and rapid breeding of new dwarf varieties.

Key words: dwarfing; brassinosteroid; brassinosteroid synthesis; brassinosteroid signal transduction; dwarfing genes

油菜素类固醇(BR, brassinosteroids)是一类甾醇激素, 在作物的生长发育中具有重要作用。BR调控许多重要的农艺性状, 包括株高、叶片角度、开花、植物育性、衰老和对环境的适应性。BR在作

物适应机械化作业和提高生产率方面也有巨大潜力^[1]。因此, 对BR在农作物中的功能机理的后续研究及在作物生产上的应用具有特别重要的意义。

在已知的天然BRs中, 油菜素甾酮(CS, castas-

收稿日期: 2021-01-02 修回日期: 2021-04-19 网络出版日期: 2021-01-28

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200828002>

第一作者研究方向为辣椒株型相关基因的研究, E-mail: Wangdl10@163.com

通信作者: 邹学校, 研究方向为辣椒育种, E-mail: zouxuexiao428@163.com

胡博文, 研究方向为辣椒分子植物育种, E-mail: hubowen.solab@gmail.com

基金项目: 辣椒果实形态建成关键基因挖掘及遗传功能解析(U19A2028)

Foundation project: Key Gene Mining and Genetic Function Analysis of Capsicum Fruit Formation(U19A2028)

terone)分布最广泛,其次是油菜素内酯(BL/BR, brassinolide)、茶甾酮(TE, teasterone)、香蒲甾醇(TY, typhasterol)。植物上油菜素类固醇是在1970年首次分离并鉴定的,此后对其在植物生长中的功能进行了研究^[2]。通过对拟南芥(*Arabidopsis thaliana*(L.) Heynh.)分子遗传学研究发现了与BR生物合成和信号转导有关的许多基因,这些基因在其他植物中也有发现,例如水稻(*Oryza sativa*L.)、番茄(*Solanum lycopersicum*L.)、小麦(*Triticum aestivum*L.)等^[3]。在小麦上,经过EMS诱变产生的W98突变体,表型发生严重的矮化。通过使用BR溶液对W98叶片的处理发现,W98为BR敏感型突变体^[4]。

与油菜素类固醇相关的矮化突变体分为两类,BR激素敏感型突变体,BR激素不敏感型突变体。BR激素敏感型突变体主要由于BR合成途径中相关基因的突变引起的。BR激素不敏感型突变体主要是由于BR信号转导相关基因产生了突变。经典的BR信号转导途径的主要成分已通过多种遗传和生化筛选得到鉴定^[5-6]。BR感知发生在膜定位受体BRI1,下游的胞质调节剂将BR介导的信号转导至细胞核,在核中它们激活BR靶基因的转录,从而驱动细胞生长^[7-8]。因此,编码BR合成和信号转导途径的主要基因突变会导致矮化,器官生长和发育受损以及植物的育性和产量也会受到影响^[9-10]。

矮化突变在育种上具有重大意义,矮化可以提高植株的抗逆性,相应的提高产量,矮化突变的发现可以丰富育种资源,甚至推动产业的发展,例如绿色革命就是由于矮化品种应用到育种中而推动的。矮化突变相关基因的发现不仅丰富了种质资源库,还可以通过分子标记辅助育种和由CRISPR-Cas介导的基因编辑技术快速应用到育种中,培育出株型良好、更高产、抗逆性更强的新品种。

1 矮化在遗传育种中的应用

19世纪60年代,由于在小麦和水稻育种中引入了矮秆品种,使作物产量大幅度提升,掀起了一场“绿色革命”^[11]。

在水稻中,矮秆品种DGWG与高秆品种PETA杂交,产生高产半矮化品种IR8。IR8最初被称为“奇迹大米”,是国际水稻研究所(IRRI)发布的第1个品种^[12]。IR8的产量为9.4 t/hm²,是当时菲律宾水稻平均产量的10倍。后来的研究表明DGWG矮秆表型的突变,是SD1中的383 bp缺失引起的,

SD1编码赤霉素(GA, gibberellic acids)合成中的关键酶GA20oxo^[13]。60年代以来,由于各国在小麦(*Triticum aestivum*L.)育种中引进了小麦矮秆基因,小麦产量直线上升。Rht1和Rht2是小麦“绿色革命”的矮秆基因,来源于日本“农林10号”,Rht1和Rht2蛋白GA响应功能域发生突变,不能感应GA信号,从而阻遏植物生长发育,抑制茎秆的伸长,导致小麦矮化^[14]。

Jiao等^[15]在水稻中克隆出了理想株型基因Ideal Plant Architecture 1(IPA1),IPA1是一种功能性转录激活因子,相应的提高IPA1表达量具有增产的潜力。IPA1的克隆促进了理想株型的育种,培育的理想株型新品种已经表现出巨大的增产潜力。在油菜中,通过CRISPR/Cas9技术敲除2个参与独脚金内酯(SL, strigolactone)生物合成的BnaMAX1同源物,会产生分枝增多、长角果数和单株产量增加的半矮化植株^[16]。BnaMAX1基因突变的SI-8和SI-11品系表现出半矮化表型。与野生型相比SI-8和SI-11每株产量增加了29.9%~31.3%。

在番茄中有研究通过CRISPR基因编辑技术,对番茄的3种基因——Self pruning(SP)基因、Self pruning 5G(SP5G)基因和SiErecta(SIER)基因进行了编辑^[17]。3种基因中,SP基因可调控植株的生长成熟期,SP5G基因能控制植株的开花时间,SIER基因则能调控植株茎秆的长度^[18]。通过设计了性状叠加策略,将3种修饰后的突变基因结合起来,最终培育出的新品种番茄植株矮化,株型紧凑,束状花序,结出的小番茄就像葡萄一样串在一起。相比其他番茄品种,通过基因编辑产生的番茄新品种更早开花结果,生育期更短。在育种和生产上有很强的应用价值。

2 BR与植物矮化的关系

油菜素类固醇是一种植物激素,最初是在油菜中因具有促进生长的能力而被发现的^[2]。随后的研究发现油菜素类固醇在整个植物生命周期中控制着各类细胞的分裂和分化。

早期研究主要通过对多种植物及细胞培养系统外源施加标记的中间产物,及化学检测分析代谢产物来证明BR合成途径。研究表明由角鲨烯(squalene)到油菜素内酯(BL, Brassinolide)转化过程中有多个反应步骤^[19]。角鲨烯还原到油菜甾醇 campesterol(CR)后,经过至少3条途径合成BL,即早期C-6氧化途径、晚期C-6氧化途径

及早期 C-22 和 C-23 羟化途径^[20]。在前 2 个途径, CR 首先经过多步催化形成菜油甾烷醇(CN, campestanol), CN 可通过 6 步催化形成前体 CS。在早期 C-22 和 C-23 羟化途径中 CR 直接通过 8 步催化反应形成 BL, 中间不经过 CN 的形成。在该途径中, CR 经过 Dwarf4 (DWF4)、Continuing professional development (CPD)、De-etiolated-2 (DET2)、Rotundifolia3 (ROT3)/CYP90D1、BR6ox1/2 等多种酶的催化最终形成 BL。对于模式植物拟南芥, 早期 C-22 和 C-23 羟化途径是 BL 生物合成的主要途径。在 BR 合成途径中有基因产生突变, 就会引起植株矮化。

BR 合成之后, BR 感知发生在膜定位受体处, 下游胞质调节剂将 BR 介导的信号转导至细胞核, 在细胞核中它们激活 BR 应答基因的转录, 从而驱动细胞生长^[21]。因此, 编码 BR 合成和信号传导途径主要成分的基因突变会导致严重的侏儒症, 器官生长和发育受损以及植物的育性和产量也会降低。

BR 信号转导途径, 包括细胞表面 BR insensitive1 (BRI1) 受体激酶对 BR 的感知, 转磷酸作用激活 BRI1/BAK1 激酶复合物, BRassinosteroid-signaling kinase (BSK) 激酶随后发生磷酸化, BRI1 suppressor1 (BSU1) 磷酸酶激活, 脱磷酸作用使 BR assinosteroidinsensitive2 (BIN2) 激酶失活^[22]。最终导致去磷酸化的转录因子 BR-insensitive ems suppressor1/BR assinazole resistant1 (BES1/BZR1) 转移至细胞核修饰其他基因的表达。如图 1 所示在 BR 信号转导途径中产生突变的植株会表现出矮化或半矮化表型, BR 合成和信号转导途径产生突变, 植株会产生矮化表型。



图 1 油菜素类固醇相关矮化突变图

Fig.1 Diagram of Brassinosteroid-related dwarfing mutations

BR 不仅参与植物株高的调控, 逆境时控制植物生长与胁迫响应之间的平衡^[23], 在逆境胁迫下也起到重要的作用。BR 和应激信号传导途径通过其受体, 下游激酶 BIN2 和转录因子(例如 BZR1/BES1)表现出多级串扰。BR 信号传导还调节植物对不同温度胁迫的适应性, BR 通过调节乙烯的生物合成和信号传导调节植物的耐盐性^[24]。现已发现有许多关于 BR 合成和信号转导的突变体, 在拟南芥中最为全面。

3 BR 生物合成中与植物矮化突变相关基因

3.1 DET2

DET2 隐性突变表现为典型的 BR 缺失表型, 出现严重矮化、深绿色、开花延迟、雄性可育性降低等(图 1)突变特征^[25]。实验研究表明, *det2* 参与了[[(24r)-ergost-4-en-3-one(4-en-3-one)] 到 [(24r)5- α -ergost-3-one(3-one)] 的转化, 这是 BR 生物合成途径的第 2 步^[26]。在豌豆、番茄和牵牛花等其他植物中也发现了 DET2 突变体, 都表现出了矮化^[27-29]。

3.2 DWF4

拟南芥 *Dwarf4* (*Dwf4*) 突变体表现出矮化的表型(图 1), 外源施用 BR 可以拯救 *Dwf4* 突变体矮化表型。*Dwf4* 编码细胞色素 P450 (CYP90B1), CYP90B1 催化油菜素内酯的 22(S) 羟基化反应, 是 BR 生物合成途径中的第 1 个限速酶^[30-31]。在早期的 C-22 氧化途径中, DWF4 被发现催化 CR 到 (22S)-22-羟基油菜甾醇, 4-en-3-one 到 22-OH-4-en-3-one 和 3-one 到 22-OH-3-one^[32]。在番茄中, DWF4 催化的步骤是由 CYP724B2 和 CYP90B3 催化的^[33]。DWF4 优先选择 CR 而不是 CN 作为底物, 因为 BR 生物合成中 C-22 羟基化的主要途径是 CR 到 (22S)-22-羟基油菜甾醇^[34]。

3.3 CPD

CPD 突变体表现为矮化, 雄性不育(图 1), 突变表型可以通过外源施加 C-23 羟基类固醇(TE) 及下游化合物来恢复。已有细胞色素 P450 单加氧酶 CYP90A1/CPD 的功能的研究, 最初推测 CPD 编码 C-23 类固醇羟化酶^[35]。CYP90A1/CPD 催化早期 BR 中间体 (22S)-22-羟基樟脑醇和 (22R, 23R)-22 的 C-3 氧化, 23-二羟基菜油甾醇以及 6-脱氧卡萘酮和 6-脱氧戊甾酮^[36]。

3.4 ROT3 (CYP90C1) 和 CYP90D1

ROT3 及其同源物 CYP90D1 催化 BR 生物合成

途径中的不同步骤,研究发现 *ROT3* 和 *CYP90D1* 的双突变体具有严重的矮化表型(图 1),而 *CYP90D1* 单基因敲除的突变体则没有表现出矮化,这些突变体的 BR 分析表明 *CYP90D1* 也参与 BR 生物合成途径^[37]。*Cyp90c1cyp90d1* 突变体缺少 23-羟基化的 BR,在使用外源中间体进行的回补实验中,只有 23-羟基化的 BR 可以挽救 *cyp90c1cyp90d1* 双突变体的生长缺陷。因此,*CYP90C1* 和 *CYP90D1* 是 BR 的 C-23 羟化酶^[38]。

3.5 *BR6ox1, 2 (CYP85A1, A2)*

番茄 DWARF 酶催化油菜素类固醇生物合成中的 C-6 氧化,番茄 dwarf 突变体,表现出极端矮化的表型(图 1),DWARF 参与 BR 生物合成中的 C-6 氧化。因此结果表明,DWARF 充当 C-6 氧化酶,催化多个 C-6 氧化反应,包括 6-deoxoTE 转化为 TE,6-deoxo3DT 转化为 3DT,6-deoxoTY 转化为 TY 和 6-deoxoCS 转化为 CS^[39-40]。有研究从拟南芥中分离并鉴定了第 2 个 *CYP85A* 基因,该基因与先前分离的 *BR6ox/CYP85A1* 基因和番茄 *Dwarf* 基因同源。*BR6ox/Dwarf* 酶通过 6-OHCS 催化 BR6-DeoxoCS 到 CS 的重要生物合成步骤。对于已知的基因和酶,此步骤是 BR 生物合成中的末端步骤^[41]。

内源 BR 的功能已经通过拟南芥、番茄、水稻和豌豆的 BR 合成突变体的表征被阐明。BR 合成受损的突变体表现出明显的生长缺陷,严重矮化^[42]。矮化不仅可能由于 BR 的合成缺陷而引起,还可能由于 BR 的降解而引起。几种细胞色素基因 *P450CYP734A2*、*CYP734A4* 和 *CYP734A6* 的过表达也会导致矮化或半矮化表型^[43]。在谷子 (*Setaria italica* (L.) Beauv.) 中, *BSL1* 突变体表现出半矮化,小穗和花发育的明显缺陷,用丙环唑 (PCZ, propiconazole) 处理并表现严重矮化。*BSL1* 是 *OsD11* 同源基因,编码参与 BR 生物合成的细胞色素 *P450CYB724B1*^[44]。

4 BR 信号途径中与植物矮化相关的基因

4.1 *BRI1*

BR 调控植物生长和发育,主要通过 *BRI1* 来感知^[45]。*BRI1* 在细胞中主要起到促进生长的作用^[46]。*BRI1* 受体是通过基于 BR 缺陷型矮化植物的遗传筛选首次发现。BR 与位于 BR 受体胞外域的疏水基团结合^[46-47]。并促使 *BRI1* 受体与共受体 *BRI1-associated kinase 1 (BAK1)* 结合形成跨膜分子结构^[48]。BR 与 *BRI1* 和共受体 *BAK1* 结合以引

发一系列信号转导,这些信号转导最终激活 *BES1/BZR1* 转录因子。

cnu3、*cnu4* 矮化突变体,表现出生长缺陷是由于 *BRI1* 编码序列发生了突变(图 1),通过在 *BRI1* 的 5' 序列下表达 GFP 标签来补充 *cnu3* 和 *cnu4* 的 *BRI1* 表达。转基因 *BRI1-GFP* 的表达导致矮化表型得以恢复^[49]。番茄 *BRI1* 的原始 *cu3* 等位基因是无效的等位基因,具有极端矮化的表型,在 *cu3-abs1* 突变体中表达野生型 *SIBRI1-Flag* 的基因,该突变体矮化和卷曲,暗绿色,皱纹叶表型得以恢复^[50]。在辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 中, *CaBRI1* 的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶催化域的变化削弱了其激酶活性,进而引起 BR 信号转导途径发生改变,引起辣椒 E29 的矮化突变^[51]。

BSK 家族蛋白 (*BSK3* 和 *BSK1*) 与 *BRI1* 受体激酶, *BSU1* 磷酸酶和 *BIN2* 激酶直接相互作用。*BSK3* 上调 *BSU1* 转录和蛋白水平以激活 BR 信号传导。*BSK3* 广泛表达,并在 BR 介导的根生长、枝条生长和器官分离中起重要作用^[52]。即 35S 启动子的 *BSK3* 过表达部分抑制了 *bri1-116* 的矮化表型, *BSK3* 启动子 *BSK3-HA* 表达也部分抑制了 *bri1-801* 的矮化表型。这些结果表明 *BSK3* 可以激活 BR 信号并且不需要功能性 *BRI1* 受体参与, *BSK3* 是调节 *BRI1* 介导的植物生长和发育过程的重要因子。

4.2 *BSU1*

最初研究认为 *BSU1* 磷酸酶是介导 *BZR2/BES1* 的去磷酸化。*BSU1* 是通过激活标签筛选弱 *bri1-5* 等位基因的抑制剂而鉴定的^[53]。*BSU1* 的过表达抑制了突变体并引起去磷酸化的 *BZR2/BES1* 的积累。RNAi 对 *BSU1* 同源物的抑制作用导致半矮化表型(图 1)。*BSU1* 过表达抑制 *bri1* 无效等位基因,但不抑制纯合子 *bin2-1*,尽管它部分抑制了杂合 *bin-2* 的矮化表型。这些结果表明 *BSU1* 在 *BRI1* 下游和 *BIN2* 上游起作用^[54]。

BSU1 通过保守的 pTyr 200 使 *BIN2* 去磷酸化,从而导致 *BIN2* 激酶失活^[55]。*BIN2* 的失活和蛋白磷酸酶 2A (*PP2A*) 的作用导致 *BES1/BZR1* 家族转录因子的去磷酸化^[56]。去磷酸化的 *BES1/BZR1* 从细胞质转移到细胞核,在这里它们与一系列转录因子和辅因子共同起作用,以调节数千种 BR 调控基因的表达^[57-59]。当在转基因拟南芥中过表达时, Tyr200-Phe 消除了 *BIN2* 和 *bin2-1* 引起的矮化表型,这表明 Tyr200 的磷酸化对于 *BIN2* 在体内的

功能至关重要,BSU1 介导的 Tyr200 的去磷酸化是 BR 信号使 BIN2 失活的主要机制^[54]。

基于细胞外 BR 结合结构域,在膜上定位出 3 个 *BRII* 同源物,称为 *BRL1*、*BRL2* 和 *BRL3*。*BRL1* 和 *BRL3* 是功能性 BR 受体,就像 *BRI1* 一样,可以高亲和力结合类固醇分子,而 *BRL2* 似乎不是功能性 BR 受体^[60]。此外,虽然 *BRII* 在根中普遍表达,但 *BRL* 仅在某些特定的组织中发现。例如,*BRL1* 和 *BRL3* 位于细胞中,在那里它们控制细胞特异性的 BR 反应途径^[60]。在自然条件下,*BRL1* 和 *BRL3* 均可与 *BAK1* 共受体结合形成异二聚体,但无法与 *BRI1* 结合形成异二聚体复合物。这些研究表明,*BRI1* 和 *BRLs* 能够在不同的细胞类型中形成不同的受体复合物,从而发挥不同的信号传导作用。*bri* 突变体可以通过过表达 *bsu1* 恢复矮化表型,例如过表达 *BSU1-YFP* 的转基因 *bri1-5* 系,比较它们的表型发现 *bri1-5* 突变体的矮化表型被 *BSU1-YFP* 的过表达抑制了^[61]。

4.3 BIN2

BIN2 是拟南芥中的 GSK3 激酶之一,*BIN2* 与许多其他转录因子相互作用并使其磷酸化,这些转录因子与 *BZR1/BES1* 协同作用或独立发挥作用^[62]。磷酸化 *BIN2* 与总 *BIN2* 之比可控制 BR 信号在受体下游传导,*BIN2* 通过使 *BES1* 和 *BZR1* 磷酸化而失活,在 BR 的信号传导途径中起负调控作用^[63-64]。

弱矮化表型的 *gBIN2:GFP* 系,外源施用油菜素内酯 (EBL, 24-epibrassinolide) 能够抑制其半矮化表型 (图 1),而相同的 EBL 处理对严重的 *gbin2-1:GFP* 转基因品系几乎没有影响。该实验表明 *BIN2:GFP* 融合蛋白仍然对植物类固醇激素有反应。*BIN2:GFP* 转基因系响应于 BL 治疗,而强烈矮化 *gbin2-1:GFP* 系对 BL 不敏感。BR 处理显著提高了 *BIN2:GFP* 的稳态水平,但对 *bin2-1:GFP* 的影响很小。外源施用 BR 生物合成抑制剂和活性 BR 分别增加和减少 *BIN2* 蛋白的表达量。*HY5* 可以增强油菜素类固醇信号转导的关键抑制因子 GSK3 样激酶 (*BIN2*) 的活性,以抑制下胚轴伸长^[65]。

4.4 BES1 和 BZR1 与其他转录调节因子共同作用调控生长

BZR1 和 *BES1* 是油菜素类固醇 (BR) 信号传导的关键转录因子,也是众多信号传导的关键节点。*BZR1/BES1* 还通过直接的蛋白质-蛋白质相互作用调控多种生长和发育过程^[59,61,66]。例如, *DELLA*、*PIF*、*ARF6* 和 *PKL* 都直接与 *BZR1/BES1* 相互作用,

形成一个以 *BZR1/BES1* 为中心的调节网络,以协调细胞伸长,进而调控植物的生长发育^[67]。

BZR1/BES1 在 BR 信号通路中有着非常重要的作用,*BZR1/BES1* 活性和稳定性的动态对于调节植物的正常生长和发育至关重要^[68]。实际上,*BZR1/BES1* 通过其磷酸化状态的敏感调节受到上游 BR 信号的严格调控。在 BR 的存在下,*BZR1/BES1* 被磷酸酶 *PP2A* 迅速去磷酸化。在没有 BR 或 BR 痕量存在的情况下,*BZR1/BES1* 被 *BIN2* 直接磷酸化,并产生具有矮化表型的 *bin2* 突变体 (图 1)^[69-72]。

H_2O_2 对于多种 BR 介导的植物生长、发育过程必不可少,并且在 BR 信号转导中起重要作用。 H_2O_2 通过靶向 *BZR1* 促进 BR 信号传导,进而调控 BR 和 *BZR1* 促进细胞伸长^[73]。*WRKY46/54/70* 三重突变体 *w54t* 表现出矮化表型,在 *w54t* 中 *BES1* 蛋白水平显著降低,尽管通过 BL 浸泡治疗恢复 *BES1* 水平,但 *w54t* 下胚轴仍比野生型较短,表明 *WRKY46/54/70* 可能在 BR 信号传导中起到关键作用^[74]。

5 BR-GA 互作调控植株高度

BR 和 GA 是调节植物细胞伸长的 2 种主要激素,缺少任何一种激素都会导致植物生长受阻和植株矮化^[75]。在 BR 和 GA 对矮化的研究中,拟南芥中 GA 信号通路核心负调控子 *DELLA* 蛋白可直接与 BR 信号通路转录因子 *BZR1* 相互作用^[76],BR 通过抑制负调控子 *BIN2* 激酶诱导 *BZR1* 从细胞质进入细胞核作为转录因子发挥功能促进生长,而 GA 通过抑制负调控子 *DELLA* 核蛋白来激活 *BZR1* 转录因子的活性以促进生长。

在水稻中 BR 缺陷突变体对 GA 的反应正常,水稻与拟南芥中 BR 和 GA 两者的关系可能具有完全不同的机制。进一步研究表明,BR 诱导 GA 生物合成,抑制 GA 失活,并刺激自我生物合成以促进细胞伸长。作为一种反馈方式,GA 抑制 BR 反应和生物合成。BR 还具有其他促进细胞伸长或其他特定作用的分支。高水平 BR 会促进 GA 失活并抑制自身生物合成,从而抑制细胞伸长。而高水平 GA 有助于通过 BR 信号传导促进伸长细胞。

在拟南芥中 GA 生物合成受 BR 调控。在 BR 突变体中,生物活性 GA 的生产受到严重损害,并且编码 *GA20ox* 和 *GA3ox* 家族酶的基因表达降低。在 BR 信号缺陷突变体 *bri1-301* 中应用 GA 以及重组 *GA20ox* 表达可挽救其多个发育缺陷。我

们揭示 BES1 结合存在于 GA 生物合成基因(包括 *GA20ox1* 和 *GA3ox1*) 的启动子中的调控基序, 并以 BR 促进的方式诱导其表达。研究表明 BR 调控 GA 的生物合成, 与维管植物的生长和发育具有重大关系, 也证实 BR 通过促进 GA 合成调控植物生长^[77]。

Jungbrunnen1 (JUB1) 作为拟南芥中 GA 和 BR 信号转导的转录调节因子。JUB1 直接抑制激素生物合成基因 *GA3ox1* 和 *DWARF4*, 导致 GA 和 BR 水平降低, 表现出胚轴短, 矮化, 开花晚和雄性不育。过表达 *JUB1* 的转基因植物表现出 GA 和 BR 缺失突变体的表型, 表现出严重的矮化^[78]。

研究发现, 在水稻中 *OsMIR396d* 的过表达导致半矮化和叶角增加。*OsmiR396d* 参与了 BR 和 GA 信号传导的相互作用网络。植物在 *OsMIR396d* 过度表达时, BR 信号增强; 相反, GA 的信号传导和生物合成均受抑制。*OsMIR396d* 被 OsBZR1 激活, OsBZR1 是 BR 信号传导的关键调节因子转录因子, *OsmiR396d* 通过调节 *OsGRF6* 的表达来参与了 GA 信号传导和生物合成, 从而控制水稻的株高^[78]。在水稻中还发现 BR 抑制了 *OsmiR159d* 的水平, *OsmiR159d* 编码 *OsGAMYBL2* 基因。*OsmiR159d-OsGAMYBL2* 可作为早期 BR 响应途径, 该响应途径在 BR 和 GA 途径中起着重要的作用, 它们连接 BR 信号传导和 GA 生物合成, 从而协调 BR 和 GA 在植物生长发育中的调控, *OsGAMYBL2* 过表达表现出半矮化表型^[79]。

6 展望

株型在植物生长发育中非常重要, 唐纳德提出了设计小麦最佳植物结构或表型的概念。随后, 国际水稻研究所提出了一种“理想株型”, 理想株型是指农作物个体间竞争最小的株型, 其特征是分蘖较少, 而每穗粒数增加和茎秆较粗的植物^[80]。这些复杂的农艺性状受多个 QTL 的调控。其中对与 BR 相关的矮化性状进行基因定位, 了解其在植物发育中如何行使功能, 进而利用遗传变异引入理想的性状。是“理想株型”育种的重要一环。现在通过分子标记辅助育种和由 CRISPR-Cas 介导的基因敲除, 基因敲入, 单碱基编辑等基因编辑技术为加快农作物的育种进程, 提供了强有力的支持。利用分子标记与决定目标性状基因紧密连锁的特点, 通过检测分子标记, 即可检测到目的基因的存在, 达到选择目标性状的目的, 相较于传统育种, 加快了育种进

程。基因编辑技术一方面可以在特定的种质内定向进行遗传物质修改, 避免了传统育种的杂交过程; 另一方面通过基因编辑可以定性定量的产生新的变异。通过基因组编辑, 理想的性状可以直接导入到优良系中, 而不会影响其他特性^[81]。在 BR 的合成和信号转导中, 关键的基因在育种上具有很大的意义, 可以通过对关键基因 (*DET2*、*DWF4*、*CPD*、*ROT3*、*BR6ox1*、*BR6ox 2*、*BRI1*、*BSU1*、*BIN2*、*BES1* 及 *BZR1*) 的编辑和定点突变培育出具有理想株型的新品种, 在生产上具有重大的意义。

总之, 现有的对植物的 BR 激素水平、BR 合成机制及 BR 信号转导机制的研究, 极大地增进了我们对农作物中 BR 作用的了解。然而, 目前还有许多问题没有解决, 比如, 在拟南芥和水稻上 BR 的合成和信号转导途径虽已研究得较透彻, 但在其他作物上的研究比较薄弱, 还有待加强。BR 转录因子和受体形成的复合物对其他信号转导通路有何意义? BR 和 GA 相互作用如何影响植株的高度, BR 与 SL 相互作用如何调控植物株高和分枝的。BR 会不会和其他激素相互作用参与植物高度的调控等问题还未得到解决。因此, 继续深入研究 BR 在作物生长发育过程中发挥的作用, 将为植物生长调节剂在农业上的应用以及未来的生物技术育种提供理论基础, 促进农业可持续发展。

参考文献

- [1] Divi U K, Krishna P.Brassinosteroid: a biotechnological target for enhancing crop yield and stress tolerance. *New Biotechnology*, 2009, 26(3-4): 131-136
- [2] Mitchell J W, Mandava N, Worley J F, Plimmer J R, Smith M V.Brassinins-a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature*, 1970, 225(5237): 1065-1066
- [3] Oh M H, Honey S H, Tax F E.The control of cell expansion, cell division, and vascular development by brassinosteroids: a historical perspective.*International Journal Molecular Sciences*, 2020, 21(5): 1743
- [4] 陆燕, 赵天祥, 刘国祥, 贾继增, 孔秀英. 小麦矮秆圆粒突变体的鉴定与分析. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(1): 160-164
Lu Y, Zhao T X, Liu G X, Jia J Z, Kong X Y.Identification and analysis of the dwarf-spherical grain mutant w98.*Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(1): 160-164
- [5] Zhu J Y, Sae-Seaw J, Wang Z Y.Brassinosteroid signalling. *Development*, 2013, 140(8): 1615-1620
- [6] Wang Z Y, Wang Q, Chong K, Wang F R, Wang L, Bai M Y, Jia C G.The brassinosteroid signal transduction pathway.*Cell Research*, 2006, 16(5): 427-434
- [7] Belkhadir Y, Jaillais Y.The molecular circuitry of brassinosteroid signaling.*The New Phytologist*, 2015, 206(2): 522-450
- [8] Zhao B L, Li J.Regulation of brassinosteroid biosynthesis and inactivation.*Journal of Integrative Plant Biology*, 2012, 54

- (10): 746-759
- [9] Singh A P, Savaldi-Goldstein S. Growth control: brassinosteroid activity gets context. *Journal Experimental Botany*, 2015, 66 (4): 1123-1132
- [10] Li J, Chory J. A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction. *Cell*, 1997, 90 (5): 929-938
- [11] Hedden P. The genes of the green revolution. *Trends Genet*, 2003, 19 (1): 5-9
- [12] Ferrero-Serrano A, Cantos C, Assmann S M. The role of dwarfing traits in historical and modern agriculture with a focus on rice. *Cold Spring Harbor Perspectives Biology*, 2019, 11 (11): a034645
- [13] 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
- [14] Peng J, Richards D E, Hartley N M, Murphy G P, Devos K M, Flintham J E, Beales J, Fish L J, Worland A J, Pelica F, Sudhakar D, Christou P, Snape J W, Gale M D, Harberd N P. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 1999, 400 (6741): 256-261
- [15] Jiao Y, Wang Y, Xue D, Wang J, Yan M, Liu G, Dong G, Zeng D, Lu Z, Zhu X, Qian Q, Li J. Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. *Nature Genetics*, 2010, 42 (6): 541-544
- [16] Zheng M, Zhang L, Tang M, Liu J, Liu H, Yang H, Fan S, Terzaghi W, Wang H, Hua W. Knockout of two BnaMAX1 homologs by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis improves plant architecture and increases yield in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plant Biotechnol Journal*, 2020, 18 (3): 644-654
- [17] Kwon C T, Heo J, Lemmon Z H, Capua Y, Hutton S F, Van Eck J, Park S J, Lippman Z B. Rapid customization of Solanaceae fruit crops for urban agriculture. *Nature Biotechnology*, 2020, 38 (2): 182-188
- [18] Eshed Y, Lippman Z B. Revolutions in agriculture chart a course for targeted breeding of old and new crops. *Science*, 2019, 366: 6466
- [19] Vriet C, Russinova E, Reuzeau C. From squalene to brassinolide: the steroid metabolic and signaling pathways across the plant kingdom. *Molecular Plant*, 2013, 6 (6): 1738-1757
- [20] Chung Y, Choe S. The regulation of brassinosteroid biosynthesis in Arabidopsis. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2013, 32 (6): 396-410
- [21] Planas-Riverola A, Gupta A, Betegón-Putze I, Bosch N, Ibañes M, Caño-Delgado A I. Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development*, 2019, 146 (5): 1-11, DOI: 10.1242/dev.151894
- [22] Kim T W, Wang Z Y. Brassinosteroid signal transduction from receptor kinases to transcription factors. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61: 681-704
- [23] Guo W, Chen L, Herrera-Estrella L, Cao D, Tran L P. Altering plant architecture to improve performance and resistance. *Trends in Plant Science*, 2020, 25 (11): 1154-1170
- [24] Nolan T M, Vukasinovic N, Liu D, Russinova E, Yin Y. Brassinosteroids: multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. *Plant Cell*, 2020, 32 (2): 295-318
- [25] Li J, Nagpal P, Vitart V, Memorris T C, Chory J. A role for brassinosteroids in light-dependent development of Arabidopsis. *Science*, 1996, 272 (5260): 398-401
- [26] Fujioka S, Li J, Choi Y H, Seto H, Takatsuto S, Noguchi T, Watanabe T, Kuriyama H, Yokota T, Chory J, Sakurai A. The Arabidopsis deetiolated2 mutant is blocked early in brassinosteroid biosynthesis. *The Plant Cell*, 1997, 9 (11): 1951-1962
- [27] Rosati F, Bardazzi I, Blasi P D, Simi L, Scarpi D, Guarna A, Serio M, Racchi M L, Danza G. 5 α -Reductase activity in *Lycopersicon esculentum*; cloning and functional characterization of LeDET2 and evidence of the presence of two isoenzymes. *The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2005, 96 (3-4): 287-299
- [28] Nomura T, Jager C E, Kitasaka Y, Takeuchi K, Fukami M, Yoneyama K, Matsushita Y, Nyunoya H, Takatsuto S, Fujioka S, Smith J J, Kerckhoffs L H, Reid J B, Yokota T. Brassinosteroid deficiency due to truncated steroid 5 α -reductase causes dwarfism in the lk mutant of pea. *Plant Physiology*, 2004, 135 (4): 2220-2229
- [29] Suzuki Y, Saso K, Fujioka S, Yoshida S, Nitasaka E, Nagata S, Nagasawa H, Takatsuto S, Yamaguchi I. A dwarf mutant strain of *Pharbitis nil*, Uzukobito (kobito), has defective brassinosteroid biosynthesis. *The Plant Journal*, 2003, 36 (3): 401-410
- [30] Fujiyama K, Hino T, Kanadani M, Watanabe B, Jae Lee H, Mizutani M, Nagano S. Structural insights into a key step of brassinosteroid biosynthesis and its inhibition. *Nature Plants*, 2019, 5 (6): 589-594
- [31] Choe S, Dilkes B P, Fujioka S, Takatsuto S, Sakurai A, Feldmann K A. The DWF4 gene of Arabidopsis encodes a cytochrome P450 that mediates multiple 22 α -hydroxylation steps in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Cell*, 1998, 10 (2): 231-243
- [32] Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S. An early C-22 oxidation branch in the brassinosteroid biosynthetic pathway. *Plant Physiology*, 2002, 130 (2): 930-939
- [33] Ohnishi T, Watanabe B, Sakata K, Mizutani M. CYP724B2 and CYP90B3 function in the early C-22 hydroxylation steps of brassinosteroid biosynthetic pathway in tomato. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2006, 70 (9): 2071-2080
- [34] Fujita S, Ohnishi T, Watanabe B, Yokota T, Takatsuto S, Fujioka S, Yoshida S, Sakata K, Mizutani M. Arabidopsis CYP90B1 catalyses the early C-22 hydroxylation of C27, C28 and C29 sterols. *The Plant Journal*, 2006, 45 (5): 765-774
- [35] Szekeres M, Németh K, Koncz-Kálmán Z, Mathur J, Kauschmann A, Altmann T, Rédei G P, Nagy F, Schell J, Koncz C. Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in Arabidopsis. *Cell*, 1996, 85 (2): 171-182
- [36] Ohnishi T, Godza B, Watanabe B, Fujioka S, Hategan L, Ide K, Shibata K, Yokota T, Szekeres M, Mizutani M. CYP90A1/CPD, a brassinosteroid biosynthetic cytochrome P450 of Arabidopsis, catalyzes C-3 oxidation. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287 (37): 31551-31560
- [37] Kim G T, Fujioka S, Kozuka T, Tax F E, Takatsuto S, Yoshida

- S, Tsukaya H. CYP90C1 and CYP90D1 are involved in different steps in the brassinosteroid biosynthesis pathway in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 2005, 41 (5): 710-721
- [38] Bishop G J. Refining the plant steroid hormone biosynthesis pathway. *Trends in Plant Science*, 2007, 12 (9): 377-780
- [39] Bishop G J, Nomura T, Yokota T, Harrison K, Noguchi T, Fujioka S, Takatsuto S, Jones J D, Kamiya Y. The tomato DWARF enzyme catalyses C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America*, 1999, 96 (4): 1761-1766
- [40] Shimada Y, Fujioka S, Miyauchi N, Kushiro M, Takatsuto S, Nomura T, Yokota T, Kamiya Y, Bishop G J, Yoshida S. Brassinosteroid-6-oxidases from *Arabidopsis* and tomato catalyze multiple C-6 oxidations in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Physiology*, 2001, 126 (2): 770-779
- [41] Shimada Y, Goda H, Nakamura A, Takatsuto S, Fujioka S, Yoshida S. Organ-specific expression of brassinosteroid-biosynthetic genes and distribution of endogenous brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2003, 131 (1): 287-297
- [42] Oh K, Yamada K, Asami T, Yoshizawa Y. Synthesis of novel brassinosteroid biosynthesis inhibitors based on the ketoconazole scaffold. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22 (4): 1625-1628
- [43] Sakamoto T, Kawabe A, Tokida-Segawa A, Shimizu B, Takatsuto S, Shimada Y, Fujioka S, Mizutani M. Rice CYP734As function as multisubstrate and multifunctional enzymes in brassinosteroid catabolism. *The Plant Journal*, 2011, 67 (1): 1-12
- [44] Yang J, Thames S, Best N B, Jiang H, Huang P, Dilkes B P, Eveland A L. Brassinosteroids modulate meristem fate and differentiation of unique inflorescence morphology in *setaria viridis*. *The Plant Cell*, 2018, 30 (1): 48-66
- [45] Wang Z Y, Seto H, Fujioka S, Yoshida S, Chory J. BRI1 is a critical component of a plasma-membrane receptor for plant steroids. *Nature*, 2001, 410 (6826): 380-383
- [46] Kinoshita T, Caño-Delgado A, Seto H, Hiranuma S, Fujioka S, Yoshida S, Chory J. Binding of brassinosteroids to the extracellular domain of plant receptor kinase BRI1. *Nature*, 2005, 433 (7022): 164-167
- [47] She J, Han Z, Kim T W, Wang J, Cheng W, Chang J, Shi S, Wang J, Yang M, Wang Z Y, Chai J. Structural insight into brassinosteroid perception by BRI1. *Nature*, 2011, 474 (7352): 472-476
- [48] Santiago J, Henzler C, Hothorn M. Molecular mechanism for plant steroid receptor activation by somatic embryogenesis co-receptor kinases. *Science*, 2013, 341 (6148): 889-892
- [49] Holzwardt E, Wanke F, Glöckner N, Höfte H, Harter K, Wolf S. A mutant allele uncouples the brassinosteroid-dependent and independent functions of BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1. *Plant Physiology*, 2020, 182 (1): 669-678
- [50] Bajwa V S, Wang X, Blackburn R K, Goshe M B, Mitra S K, Williams E L, Bishop G J, Krasnyanski S, Allen G, Huber S C, Clouse S D. Identification and functional analysis of tomato BRI1 and BAK1 receptor kinase phosphorylation sites. *Plant Physiology*, 2013, 163 (1): 30-42
- [51] Yang B, Zhou S, Ou L, Liu F, Yang L, Zheng J, Chen W, Zhang Z, Yang S, Ma Y, Zou X. A novel single-base mutation in CaBRI1 confers dwarf phenotype and brassinosteroid accumulation in pepper. *Molecular Genetics and Genomics*, 2020, 295 (2): 343-356
- [52] Ren H, Willige B C, Jaillais Y, Geng S, Park M Y, Gray W M, Chory J. BRASSINOSTEROID-SIGNALING KINASE 3, a plasma membrane-associated scaffold protein involved in early brassinosteroid signaling. *PLoS Genetics*, 2019, 15 (1): e1007904
- [53] Jiang J, Zhang C, Wang X. A recently evolved isoform of the transcription factor BES1 promotes brassinosteroid signaling and development in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 2015, 27 (2): 361-374
- [54] Kim T W, Guan S, Sun Y, Deng Z, Tang W, Shang J X, Sun Y, Burlingame A L, Wang Z Y. Brassinosteroid signal transduction from cell-surface receptor kinases to nuclear transcription factors. *Nature Cell Biology*, 2009, 11 (10): 1254-1260
- [55] Zhu J Y, Li Y, Cao D M, Yang H, Oh E, Bi Y, Zhu S, Wang Z Y. The F-box protein KIB1 mediates brassinosteroid-induced inactivation and degradation of GSK3-like Kinases in *Arabidopsis*. *Molecular Cell*, 2017, 66 (5): 648-657
- [56] Tang W, Yuan M, Wang R, Yang Y, Wang C, Osés-Prieto J A, Kim T W, Zhou H W, Deng Z, Gampala S S, Gendron J M, Jonassen E M, Lillo C, DeLong A, Burlingame A L, Sun Y, Wang Z Y. PP2A activates brassinosteroid-responsive gene expression and plant growth by dephosphorylating BZR1. *Nature Cell Biology*, 2011, 13 (2): 124-131
- [57] Yin Y, Vafeados D, Tao Y, Yoshida S, Asami T, Chory J. A new class of transcription factors mediates brassinosteroid-regulated gene expression in *Arabidopsis*. *Cell*, 2005, 120 (2): 249-259
- [58] Yin Y, Wang Z Y, Mora-García S, Li J, Yoshida S, Asami T, Chory J. BES1 accumulates in the nucleus in response to brassinosteroids to regulate gene expression and promote stem elongation. *Cell*, 2002, 109 (2): 181-191
- [59] Yu X, Li L, Zola J, Aluru M, Ye H, Foudree A, Guo H, Anderson S, Aluru S, Liu P, Rodermel S, Yin Y. A brassinosteroid transcriptional network revealed by genome-wide identification of BES1 target genes in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 2011, 65 (4): 634-646
- [60] Caño-Delgado A, Yin Y, Yu C, Vafeados D, Mora-García S, Cheng J C, Nam K H, Li J, Chory J. BRL1 and BRL3 are novel brassinosteroid receptors that function in vascular differentiation in *Arabidopsis*. *Development*, 2004, 131 (21): 5341-5351
- [61] Kim E J, Youn J H, Park C H, Kim T W, Guan S, Xu S, Burlingame A L, Kim Y P, Kim S K, Wang Z Y, Kim T W. Oligomerization between BSU1 family members potentiates brassinosteroid signaling in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 2016, 9 (1): 178-181
- [62] Ye H, Li L, Guo H, Yin Y. MYBL2 is a substrate of GSK3-like kinase BIN2 and acts as a corepressor of BES1 in brassinosteroid signaling pathway in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America*, 2012, 109 (49): 20142-20147
- [63] Peng P, Yan Z, Zhu Y, Li J. Regulation of the *Arabidopsis* GSK3-like kinase BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE 2 through proteasome-mediated protein degradation. *Molecular Plant*, 2008, 1 (2): 338-346

- [64] Youn J H, Kim T W. Functional insights of plant GSK3-like kinases: multi-taskers in diverse cellular signal transduction pathways. *Molecular Plant*, 2015, 8(4): 552-565
- [65] Li J, Terzaghi W, Gong Y, Li C, Ling J J, Fan Y, Qin N, Gong X, Zhu D, Deng X W. Modulation of BIN2 kinase activity by HY5 controls hypocotyl elongation in the light. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1592
- [66] Yu X, Li L, Li L, Guo M, Chory J, Yin Y. Modulation of brassinosteroid-regulated gene expression by Jumonji domain-containing proteins ELF6 and REF6 in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State America*, 2008, 105(21): 7618-7623
- [67] Li Q F, Lu J, Yu J W, Zhang C Q, He J X, Liu Q Q. The brassinosteroid-regulated transcription factors BZR1/BES1 function as a coordinator in multisignal-regulated plant growth. *Biochimica et Biophysica Acta Gene Regulatory Mechanisms*, 2018, 1861(6): 561-571
- [68] Li J. Regulation of the nuclear activities of brassinosteroid signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, 13(5): 540-547
- [69] Yang M, Wang X. Multiple ways of BES1/BZR1 degradation to decode distinct developmental and environmental cues in plants. *Molecular Plant*, 2017, 10(7): 915-917
- [70] He G, Liu J, Dong H, Sun J. The blue-light receptor CRY1 interacts with BZR1 and BIN2 to modulate the phosphorylation and nuclear function of BZR1 in repressing BR signaling in Arabidopsis. *Molecular Plant*, 2019, 12(5): 689-703
- [71] Li J, Nam K H, Vafeados D, Chory J. BIN2, a new brassinosteroid-insensitive locus in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 2001, 127(1): 14-22
- [72] Yan Z, Zhao J, Peng P, Chihara R K, Li J. BIN2 functions redundantly with other Arabidopsis GSK3-like kinases to regulate brassinosteroid signaling. *Plant Physiology*, 2009, 150(2): 710-721
- [73] Tian Y, Fan M, Qin Z, Lyu H, Wang M, Zhang Z, Zhou W, Zhao N, Li X, Han C, Ding Z, Wang W, Wang Z Y, Bai M Y. Hydrogen peroxide positively regulates brassinosteroid signaling through oxidation of the BRASSINAZOLE-RESISTANT1 transcription factor. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 1063
- [74] Chen J, Nolan T M, Ye H, Zhang M, Tong H, Xin P, Chu J, Chu C, Li Z, Yin Y. Arabidopsis WRKY46, WRKY54, and WRKY70 transcription factors are involved in brassinosteroid-regulated plant growth and drought responses. *The Plant Cell*, 2017, 29(6): 1425-1439
- [75] Tong H, Xiao Y, Liu D, Gao S, Liu L, Yin Y, Jin Y, Qian Q, Chu C. Brassinosteroid regulates cell elongation by modulating gibberellin metabolism in rice. *The Plant Cell*, 2014, 26(11): 4376-4393
- [76] De Bruyne L, Höfte M, De Vleeschauwer D. Connecting growth and defense: the emerging roles of brassinosteroids and gibberellins in plant innate immunity. *Molecular Plant*, 2014, 7(6): 943-959
- [77] Unterholzner S J, Rozhon W, Papacek M, Ciomas J, Lange T, Kugler K G, Mayer K F, Sieberer T, Poppenberger B. Brassinosteroids are master regulators of gibberellin biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 2015, 27(8): 2261-2272
- [78] Shahnejat-Bushehri S, Tarkowska D, Sakuraba Y, Balazadeh S. Arabidopsis NAC transcription factor JUB1 regulates GA/BR metabolism and signalling. *Nature Plants*, 2016, 2: 16013
- [79] Gao J, Chen H, Yang H, He Y, Tian Z, Li J. A brassinosteroid responsive miRNA-target module regulates gibberellin biosynthesis and plant development. *The New Phytology*, 2018, 220(2): 488-501
- [80] Wang B, Smith S M, Li J. Genetic regulation of shoot architecture. *Annual Review of Plant Biology*, 2018, 69: 437-468
- [81] Xu J, Hua K, Lang Z. Genome editing for horticultural crop improvement. *Horticulture Research*, 2019, 6: 113