

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.92069

## 水稻矮化宽叶突变体 *osdwl1* 的生理特性和基因定位

黄妍<sup>1,\*\*</sup> 贺焕焕<sup>1,\*\*</sup> 谢之耀<sup>1</sup> 李丹莹<sup>1</sup> 赵超越<sup>1</sup> 吴鑫<sup>1</sup>  
黄福灯<sup>2</sup> 程方民<sup>1</sup> 潘刚<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> 浙江大学农业与生物技术学院, 浙江杭州 310058; <sup>2</sup> 浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所, 浙江杭州 310021

**摘要:** 株高是影响水稻倒伏的重要因素之一, 培育适度矮化水稻品种有利于提高其抗倒性, 进而减少产量损失并提高稻米品质, 因此研究矮秆形成的分子生理机制具有重要意义。通过辐射诱变籼稻恢复系自选 1 号获得一个稳定遗传的矮化宽叶突变体 *osdwl1*, 本文对其形态与生理特征、细胞结构差异、遗传分析和基因定位等方面进行了研究。大田条件下, *osdwl1* 矮化宽叶性状始于分蘖期后, 成熟期穗长和各茎节长度均极显著短于对照, 最终导致株高矮化, 究其原因, 是由于突变体茎节细胞变短所致; 而叶片石蜡切片及扫描电镜结果显示, *osdwl1* 的叶片小维管束数及其间距显著增加, 从而导致叶片变宽, 且其上下表皮的小刺毛数也极显著增加。此外, *osdwl1* 的中上部叶片还表现黄化症状, 该性状始于 3~4 叶期幼苗。生理分析和透射电镜观察表明, 与野生型对照相比, 孕穗期 *osdwl1* 的叶绿体类囊体结构松散, 且部分已开始降解, 从而导致其倒二叶和倒三叶的叶绿素总含量、净光合速率以及  $F_v/F_m$  比值均极显著降低, 而其可溶性蛋白、过氧化氢酶及超氧化物歧化酶酶活依次极显著降低, 从而导致叶中  $H_2O_2$  及  $O_2^-$  累积, 促使丙二醛含量急剧增加。遗传分析表明, *osdwl1* 的矮化宽叶表型受单隐性核基因调控, 利用图位克隆技术将该基因定位于 6 号染色体短臂的 SSR 标记 RM19297 与 InDel 标记 ID269-2 之间, 物理距离为 333 kb, 该结果为进一步克隆 *OsDWL1* 基因并研究其功能奠定了基础。

**关键词:** 水稻; *osdwl1*; 矮化宽叶; 生理分析; 基因定位

## Physiological characters and gene mapping of a dwarf and wide-leaf mutant *osdwl1* in rice (*Oryza sativa* L.)

HUANG Yan<sup>1,\*\*</sup>, HE Huan-Huan<sup>1,\*\*</sup>, XIE Zhi-Yao<sup>1</sup>, LI Dan-Ying<sup>1</sup>, ZHAO Chao-Yue<sup>1</sup>, WU Xin<sup>1</sup>, HUANG Fu-Deng<sup>2</sup>, CHENG Fang-Min<sup>1</sup>, and PAN Gang<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang, China; <sup>2</sup> Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, Zhejiang, China

**Abstract:** Plant height is one of the important factors affecting rice lodging. The semi-dwarf rice varieties possess high level of lodging resistance, and could reduce yield loss and improve grain quality. Thus, it is very important to study the molecular and physiological mechanism of dwarf formation in rice. In this study, a stable hereditary dwarf and wider-leaf mutant *osdwl1* was obtained from <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -radiated *indica* restore line Zixuan 1, and its morphological and physiological characteristics, cytological observation, genetic analysis and gene mapping were investigated. Under field condition, the mutant *osdwl1* exhibited dwarf and wider-leaf after the tillering stage due to shorter length of the parenchyma cells, and its panicle length and all internodes length were significantly shorter compared with wild type plants at mature stage. Paraffin sections and scanning electronic microscopy (SEM) observation revealed that the number of small vascular (SV) bundles and the distance between SVs increased significantly, resulting in wider-leaf blade in *osdwl1*. Moreover, the number of microhairs on the abaxial and adaxial epidermis were also

本研究由国家自然科学基金项目(31771688, 31971819)和国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08001-002)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31771688, 31971819) and the National Major Project for Developing New GM Crops (2016ZX08001-002).

\* 通信作者(Corresponding author): 潘刚, E-mail: pangang12@126.com

\*\* 同等贡献(Contributed equally to this work)

第一作者联系方式: 黄妍, E-mail: 869163852@qq.com

Received (收稿日期): 2019-12-22; Accepted (接受日期): 2020-09-13; Published online (网络出版日期): 2020-09-25.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20200925.1613.002.html>

increased significantly in *osdwl1*. In addition, starting at the 3–4 leaf seedling stage, yellowing was visible at the upper middle parts of old leaves in *osdwl1*. Physiological analysis and transmission electron microscopy (TEM) observation indicated that the lamellar structure of chloroplast was distorted and began to collapse in some mesophyll cells, which led to the reduction of total chlorophyll contents, net photosynthetic rate and  $F_v/F_m$  ratio of the second and third leaves from top in *osdwl1* at the heading stage. Relative to the wild type plants, the soluble protein content, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities were significantly decreased, which in turn resulting in the accumulation of  $H_2O_2$  and  $O_2^-$ , and a steady increase of malondialdehyde (MDA) contents in the mutant leaves. Genetic analysis and gene mapping showed that *osdwl1* was controlled by a single recessive nuclear gene, located in a region of 333 kb between SSR marker RM19297 and the InDel marker ID269-2 on the short arm of chromosome 6. The results would further facilitate the cloning and functional analysis of *OsDWL1* gene.

**Keywords:** rice; *osdwl1*; dwarf and wider-leaf; physiological analysis; gene mapping

水稻是我国最重要的粮食作物之一, 对保障我国粮食安全起重要作用。然而, 随着我国人口数量的持续增长、可耕种面积的逐年减少, 粮食安全形势日益严峻<sup>[1-2]</sup>。因此, 培育高产稳产水稻新品种依旧是水稻育种工作者的重要目标之一<sup>[3]</sup>。株高是水稻重要农艺性状之一, 直接影响水稻生物学产量, 与水稻的抗倒伏及抗病虫能力线性相关, 最终影响水稻的丰产性和稳产性<sup>[4-5]</sup>。传统水稻品种一般表现为高秆, 矮秆则是突变性状<sup>[4-5]</sup>。遗传学研究显示, 矮秆性状受主效基因或多个微效基因控制, 同时受内源激素及外源光温水气肥的影响<sup>[4-6]</sup>。利用正向或反向遗传学手段, 迄今已克隆调控水稻株高的基因超过 70 个, 这些基因多数与赤霉素、油菜素内酯、独脚金内酯、生长素等激素生物合成代谢或信号传导有关<sup>[4-5]</sup>。研究表明, 现已克隆的多数矮秆或半矮秆基因表现出“一因多效”的遗传效应, 即引起水稻植株矮化的同时其他农艺性状也发生改变, 如 *d3*<sup>[7]</sup>、*d10*<sup>[8]</sup>、*d14*<sup>[9]</sup>、*fc1*<sup>[10]</sup>和 *hd1*<sup>[11]</sup>具多分蘖特征; *sgd2*<sup>[12]</sup>和 *SRS5*<sup>[13]</sup>与籽粒大小有关; 而 *DNLI*<sup>[14]</sup>则表现为窄叶; *dlt*<sup>[15]</sup>则引起少蘖宽叶。

当然, 叶片是水稻进行光合作用的主要场所, 是最重要的源器官, 其形态直接影响植株形态并最终关系到稻谷产量与品质。而叶片的长、宽、面积、厚、倾角、披垂度、卷曲度等是界定叶形态及空间姿态的重要因素<sup>[16]</sup>, 因此增加叶宽将影响有效光合叶面积, 从而影响单个叶片的光合产物。研究认为, 叶片是沿基-顶轴、近-远轴以及中-边轴 3 个轴向生长发育, 其中中-边轴调控叶宽<sup>[17]</sup>。因此, 可以利用窄叶或宽叶突变体研究水稻叶宽调控分子机理, 迄今已克隆诸如 *NALI*<sup>[18]</sup>和 *DNL3*<sup>[19]</sup>等窄叶基因, 但有关宽叶突变体却仅有 *Wl*<sup>[20]</sup>和 *dlt*<sup>[15]</sup>等少量报道。

本课题组前期利用 <sup>60</sup>Co 辐射诱变中籼恢复系自选 1 号, 获得一个矮化宽叶突变体, 暂名为 *osdwl1*

(*Oryza sativa* dwarf and wider-leaf 1, *osdwl1*)。该突变体在苗期(约 3~4 片期)就表现为宽叶, 且除上部一片完整展开叶及心叶外, 其他叶片的中上部均表现为黄叶。之后随着叶龄的增加, 除叶片形态发生变化外, 植株还明显矮化。本文对突变体 *osdwl1* 的基本表型、生理细胞变化及基因定位等方面进行了研究, 为进一步克隆该基因并揭示其矮化宽叶的分子细胞生理机理奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

矮化宽叶突变体 *osdwl1* 来源于籼稻恢复系自选 1 号(来源于湖北省恩施市农业科学院水稻研究所)的 <sup>60</sup>Co 辐射诱变后代, 经杭州和海南连续多代回交和自交, 突变性状已稳定遗传。之后利用突变体 *osdwl1* 分别与原始对照自选 1 号、籼稻恢复系 93-11 以及常规粳稻 02428 杂交, 获得 *osdwl1*/自选 1 号、*osdwl1*/93-11 和 *osdwl1*/02428 三个 F<sub>1</sub> 并自交获得相应 F<sub>2</sub> 群体, 用于突变性状的遗传分析和基因定位。所有材料均种植于浙江大学紫金港农业试验站, 常规肥水管理。水稻幼苗期和抽穗开花期, 分别调查 20 个单株的幼叶和剑叶宽度。水稻成熟后, 随机选取 *osdwl1* 及自选 1 号各 20 株, 考查其株高、茎节长、穗长、有效穗数、每穗粒数、结实率和千粒重等主要农艺性状。

### 1.2 生理指标测定

随机选取 *osdwl1* 及自选 1 号处于孕穗期(剑叶叶枕与倒二叶叶枕重合的分蘖)的剑叶、倒二叶和倒三叶的上部叶片, 根据 Gong 等<sup>[21]</sup>的方法分别测定叶绿素、可溶性蛋白、 $H_2O_2$ 、 $O_2^-$  和 MDA 含量、以及 CAT 和 SOD 酶活。同时, 利用 Li-6400XT 光合仪以及 PAM-2000 叶绿素荧光仪分别测定剑叶、倒二叶和倒三叶相应部位的净光合速率及  $F_v/F_m$ <sup>[22-23]</sup>。每个生理指标测定 5 个生物学重复。

### 1.3 叶片及茎节细胞学观察

取抽穗当天 *osdwll* 及自选 1 号剑叶的上部边缘叶片, 用刀片切成  $1\text{ mm} \times 2\text{ mm}$  的样品, 立即放入预冷的 2.5% 戊二醛固定液中并抽真空至样品完全浸没,  $4^\circ\text{C}$  固定过夜, 根据 Yang 等<sup>[24]</sup>的方法制片, 于扫描电镜(Hitachi TM-1000)和透射电镜(JEM-1230)下分别观察叶片表皮细胞和叶肉细胞显微结构并拍照。同时, 选取抽穗当天 *osdwll* 及自选 1 号相同部位剑叶, 将叶片横剪成 2 mm 宽的小片段, 立即放入 70% FAA 固定液并抽真空至样品完全浸没,  $4^\circ\text{C}$  固定 3 d, 而后依次进行乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片以及番红固绿染色, 最后用 1:1 的二甲苯和中性树胶封片, 置于  $42^\circ\text{C}$  恒温箱处理 48 h, 后于 NIKON E6000 显微镜下观察并拍照。此外, 根据曹剑波等<sup>[25]</sup>的方法, 选取抽穗当天 *osdwll* 及自选 1 号相同部位倒二节茎段进行树脂半薄切片, 于倒置显微镜(Nikon TE2000-U)下观察细胞形态并照相。

### 1.4 基因遗传分析与定位

大田栽培条件下, 首先观察 *osdwll*/自选 1 号及 *osdwll*/93-11 的杂种  $F_1$  的株高及叶片表型, 确定控制 *osdwll* 矮化宽叶的显隐性; 其次, 根据 *osdwll*/自选 1 号及 *osdwll*/93-11 的  $F_2$  群体中具有野生型表型的单株数与具有突变体表型的单株数比例, 确定控制 *osdwll* 矮化宽叶的基因数。同时, 剪取 *osdwll*/02428 的  $F_2$  定位群体中具有突变体性状和野生型性状的各 10 个单株、及其亲本 *osdwll* 和 02428 的叶片, 采用 CTAB 法提取基因组总 DNA。选取 SSR (<http://www.gramene.org/>)及 InDel 分子标记, 利用 BSA 法进行基因定位。

## 2 结果与分析

### 2.1 突变体 *osdwll* 的表型及主要农艺性状

*osdwll* 的叶片从苗期(三至四叶期)开始, 除上部 1 片完整展开叶及心叶外, 其他叶片在完整展开 3~4 d 后, 叶尖开始变黄并逐步扩展至叶片中上部(图 1-A~C)。之后随着叶龄增长, *osdwll* 植株高度也逐渐矮于野生型对照, 到水稻成熟期(图 1-D, E), *osdwll* 株高仅有野生型对照的 64.18% (表 1)。进一步分析植株每一个茎节长度, 结果显示 *osdwll* 倒一节、倒二节、倒三节、倒四节和倒五节分别仅有野生型对照的 62.86%、75.42%、79.24%、79.93% 和 77.03% (图 1-E, F)。倒二茎节纵切面的树脂半薄切片结果显示, 突变体的细胞长度明显变短, 但细胞

数目显著增加(图 1-G, H)。由于叶片出现黄化症状, 导致突变体 *osdwll* 的主要农艺性状, 如穗长、每穗粒数和结实率分别比野生型对照下降 35.60%、37.35% 和 42.15%, 而突变体千粒重则极显著高于对照(表 1)。

### 2.2 突变体 *osdwll* 叶片表型特征

图 1-C 及图 2-A 显示突变体 *osdwll* 幼苗期叶片及抽穗开花早期剑叶极显著宽于对照, 分别增宽 16.17% 和 12.88%。剑叶石蜡切片(图 2-B)结果显示, *osdwll* 与野生型对照之间的大维管束数无显著性差异, 但突变体的小维管束数及小维管束之间距均极显著增加, 分别增加 10.98% 和 27.95% (图 2-C, D); 而且, 与对照相比, 突变体小维管束间的表皮细胞数显著增加(图 2-E), 而其宽度无明显变化(图 2-F)。同时, 利用 SEM 分析突变体剑叶表皮细胞结构特征, 进一步证实突变体小维管束之间的间距极显著增加(图 2-G), 此外, 与对照相比, *osdwll* 剑叶下表皮的刺毛数也极显著增加, 达 3384.85% (图 2-G, H); 而其上表皮的大刺毛和小刺毛数则分别增加 36.70% 和 211.08% (图 2-G, I)。

### 2.3 突变体 *osdwll* 的生理分析

**2.3.1 叶绿素含量及其光合作用效率** 图 3-A~D 结果显示, 孕穗期 *osdwll* 除叶绿素 *a/b* 比值(图 3-D)及剑叶叶绿素含量(图 3-A~C)外, 其倒二叶、倒三叶的叶绿素 *a* (图 3-A)、叶绿素 *b* (图 3-B)及叶绿素总含量(图 3-C)依次极显著下降且极显著低于野生型对照。与野生型对照相比, *osdwll* 倒二叶和倒三叶的总叶绿素含量分别下降 13.48% 和 26.59%。尽管 *osdwll* 剑叶叶绿素含量无显著性变化, 但 TEM 结果(图 3-E~H)显示突变体剑叶叶肉细胞的部分叶绿体类囊体结构松散(图 3-H), 部分已开始降解(图 3-G), 这势必影响突变体叶片的净光合速率(图 3-I)及 PSII 光化学效率( $F_v/F_m$ ) (图 3-J)。结果显示, 突变体剑叶、倒二叶和倒三叶的净光合速率和  $F_v/F_m$  明显低于野生型对照, 净光合速率分别下降 27.22%、28.31% 和 22.25% (图 3-I), 而其  $F_v/F_m$  的变化趋势与净光合速率基本一致, 分别下降 13.34%、10.78% 和 20.40% (图 3-J)。

**2.3.2 ROS 含量及其抗氧化酶活性分析** 图 4-A 显示, 野生型对照和 *osdwll* 的剑叶、倒二叶和倒三叶间的  $\text{O}_2^-$  含量均极显著增加, 但后者显著高于前者, 分别增加 11.77%、21.16% 和 25.88%。图 4-B 显示, 野生型对照的剑叶、倒二叶和倒三叶间的  $\text{H}_2\text{O}_2$

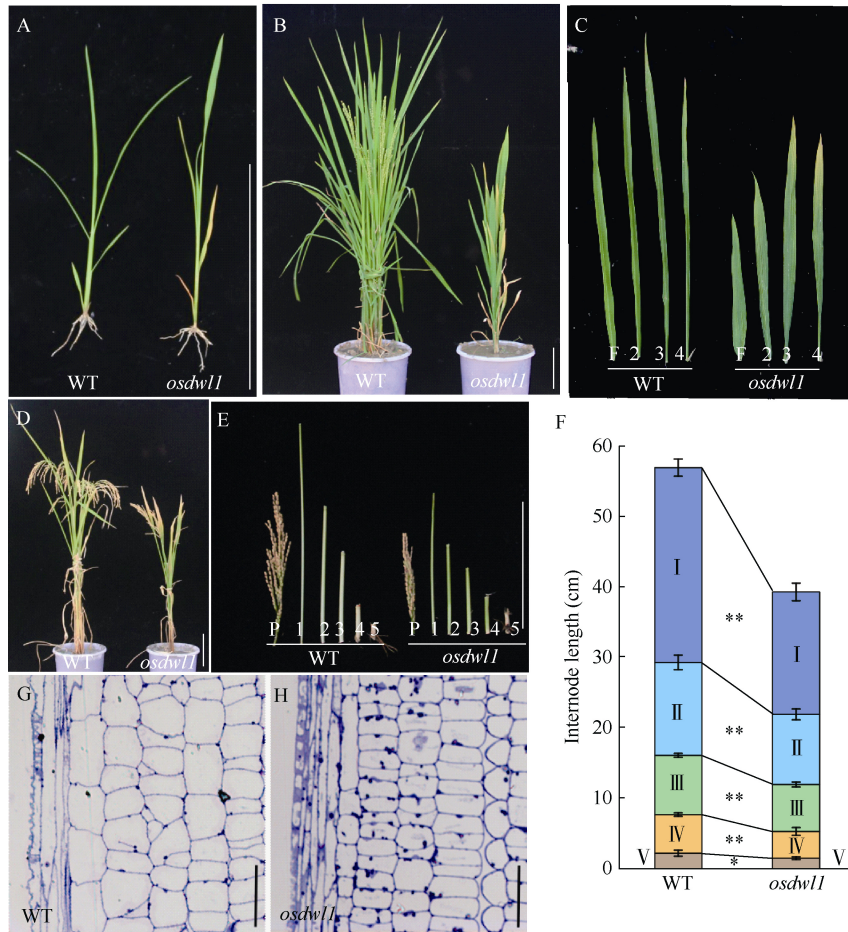


图 1 突变体及其野生型的表型

Fig. 1 Phenotypes of *osdw11* and its wild-type (WT) plants at the different growth stages

A: 幼苗期; B: 开花初期; C: 开花初期叶片, 其中 F 代表剑叶, 2~4 分别为倒二叶至倒四叶; D: 成熟期; E: 成熟期穗及茎节, P 代表小穗, 1~5 分别为倒一节至倒五节; F: 2019 年成熟期各茎节长度; G~H: 野生型对照(G)和突变体(H)倒二茎节的纵切面。A~F 的标尺为 20 cm, G~H 的标尺为 20  $\mu$ m。\* 表示在 0.05 水平上差异显著; \*\* 表示在 0.01 水平上差异显著(*t*-test)。

A: seedling stage; B: early-flowering stage; C: leaves at the early-flowering stage, and F means flag leaf and 2–4 means 2nd to 4th leaf from top in order, respectively; D: mature stage; E: panicle and the internodes at the mature stage, P means panicle, 1–4 means the 1st to 5th internode from top, respectively; F: the length of different internodes at the mature stage in 2019; G–H: longitudinal sections of the 2nd internode from top in wild-type plants (G) and *osdw11* (H); Bar = 20 cm in A–F; Bar = 20  $\mu$ m in G–H. Values marked with \* and \*\* indicate significant differences at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$  by Student's *t*-test, respectively.

表 1 突变体及其野生型的主要农艺性状

Table 1 Main agronomic traits of *osdw11* and its wild-type plants

性状 Trait	2018		2019	
	野生型 WT	突变体 <i>osdw11</i>	野生型 WT	突变体 <i>osdw11</i>
株高 Plant height (cm)	110.74±2.16	65.90±3.62**	82.91±4.96	58.40±2.38**
穗长 Panicle length (cm)	24.35±0.31	14.87±1.26**	23.07±0.82	15.67±1.25**
有效穗数 Effective panicle number	6.20±1.64	3.60±1.55**	11.80±3.56	5.20±2.49**
每穗粒数 Grain number per panicle	165.96±7.64	97.56±12.67**	177.72±10.51	117.74±21.21**
结实率 Seed-setting rate (%)	90.92±3.19	55.07±1.97**	79.57±3.01	43.57±8.01**
千粒重 1000-grain weight (g)	23.17±1.04	26.91±1.31**	22.42±0.67	26.06±1.06**
单株产量 Yield per plant (g)	19.44±1.34	3.27±0.91**	20.89±2.13	4.76±1.00**

\*\* 表示在 0.01 水平上差异显著(*t*-test)。Values marked with \*\* indicate significant differences at  $P < 0.01$  by Student's *t*-test.

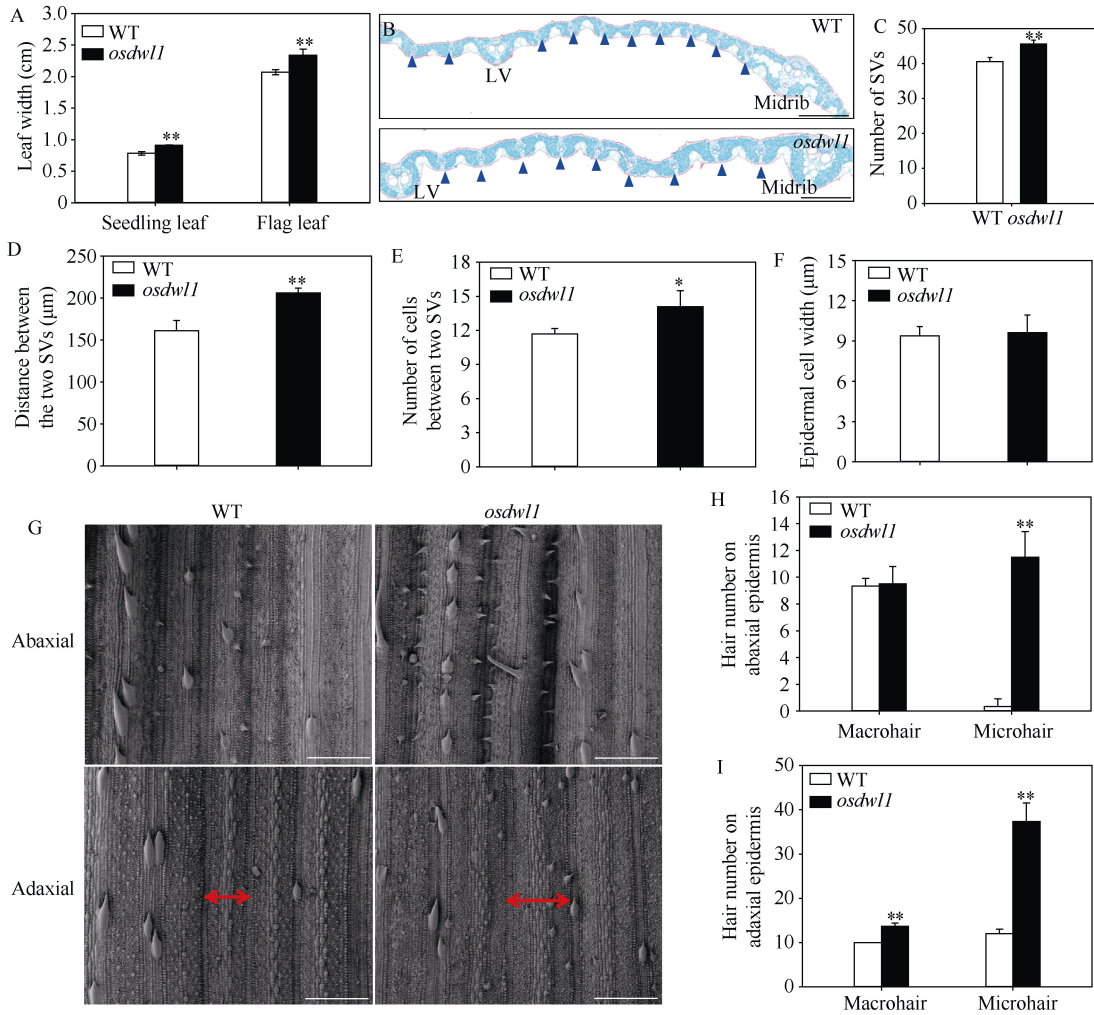


图 2 突变体 *osdw11* 及其对照叶片的表型特征

Fig. 2 Phenotypic characteristics of leaf blade in *osdw11* and its wild-type plants

A: 突变体及其对照幼叶及剑叶叶宽; B: 突变体及其对照剑叶石蜡切片, 蓝色三角形指示的是小维管束, LV 代表大维管束; C: 突变体及其对照整个剑叶的小维管束数, SV 代表小维管束; D: 突变体及其对照剑叶的小维管束之间的间距; E, F: 维管束之间的上表皮细胞数(E)及其宽度(F); G: 突变体及其对照剑叶上下表皮的扫描电镜观察, 双向箭头显示两个 SV 之间间距; H, I: 突变体及其对照剑叶下表皮(H)和上表皮(I)的刺毛数。标尺为 200 μm。\* 表示在 0.05 水平上差异显著; \*\* 表示在 0.01 水平上差异显著(*t*-test)。

A: leaf blade width of the *osdw11* and its WT plants; B: transverse cross-sections of the flag leaf blade of the *osdw11* and its WT plants, blue triangles indicate small vascular bundles (SV), and LV means large vascular bundle; C: number of SVs in the whole flag leaves of *osdw11* and its WT plants; D: the distance between the two SVs in the *osdw11* and its WT plants; E: adaxial epidermal cell numbers between two SVs; F: adaxial epidermal cell width; G: SEM analysis of the abaxial and adaxial epidermis of the flag leaf blade in the *osdw11* and its WT plants, double arrow means the distance between two SVs; H, I: number of macrohairs and microhairs on the abaxial (H) and adaxial epidermis (I) of the flag leaf in the *osdw11* and its wild-type plants. Bar = 200 μm. Values marked with \* and \*\* indicate significant differences by Student's *t*-test at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively.

含量无显著性差异, 而 *osdw11* 则依次升高且倒二叶和倒三叶显著高于剑叶, 分别增加 11.44% 和 24.72%。为了平衡植物细胞内的活性氧含量, 如  $H_2O_2$  和  $O_2^-$ , 防止其对细胞造成损伤, 植物细胞会表达多种保护酶, 如 SOD 和 CAT 等抗氧化酶。因此, 进一步测定了叶片的 CAT (图 4-C) 和 SOD (图 4-D) 酶活。结果显示, 野生型剑叶、倒二叶和倒三叶间的 SOD 和 CAT 酶活无显著性差异, 而突变体 *osdw11*

则依次极显著下降。与 *osdw11* 剑叶相比, 其倒二叶和倒三叶的 SOD 酶活分别下降 8.00% 和 20.08%, CAT 酶活则分别减少 39.84% 和 51.32%。

2.3.3 MDA 和可溶性蛋白含量 图 5 显示, 野生型对照的剑叶、倒二叶和倒三叶间的 MDA 含量(图 5-A) 和可溶性蛋白含量(图 5-B) 均无显著性差异。而 *osdw11* 的剑叶、倒二叶和倒三叶间的 MDA 含量则依次显著升高, 除剑叶外, 倒二叶和倒三叶含量显著

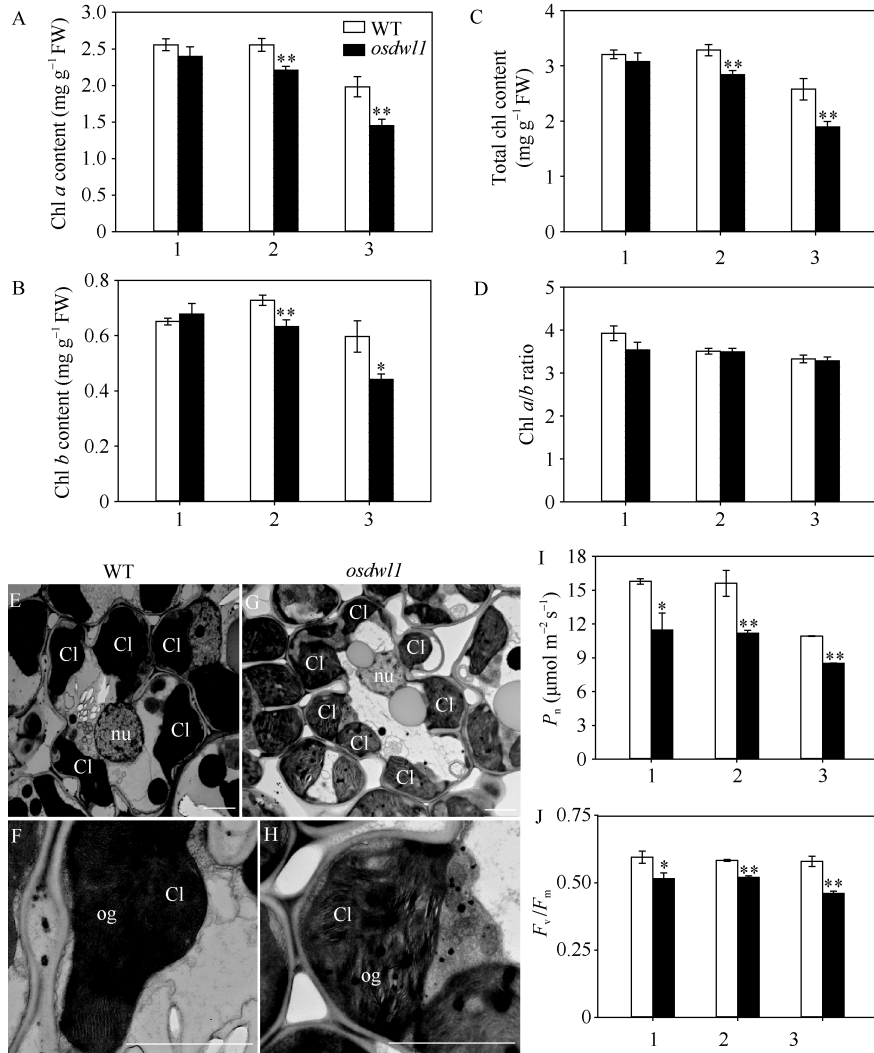
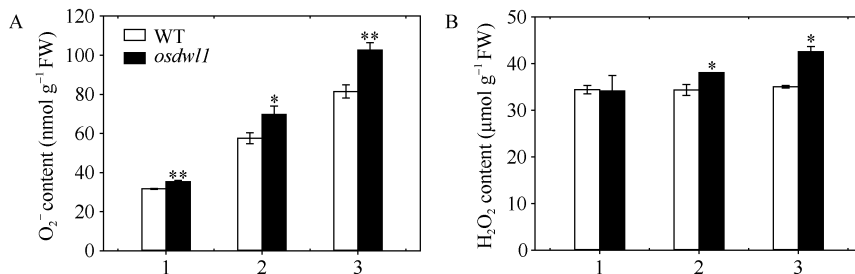


图 3 孕穗期突变体及其野生型叶片的光合特性及叶绿体超微结构

Fig. 3 Photosynthetic characteristics and chloroplast ultrastructure of leaves in the *osdw11* and wild-type plants at the booting stage

A~D: 突变体及其野生型叶片的叶绿素 a (A)、叶绿素 b (B)、总叶绿素含量(C)及叶绿素 a/b 比值(D); E~H: 突变体(G, H)及其野生型(E, F)剑叶叶肉细胞超微结构, nu 代表细胞核; Cl 代表叶绿体; og 代表嗜锻颗粒; I~J: 突变体及其野生型叶片的净光合速率(I)及  $F_v/F_m$  值(J)。1: 剑叶; 2: 倒二叶; 3: 倒三叶。\* 表示在 0.05 水平上差异显著; \*\* 表示在 0.01 水平上差异显著(t-test)。

A~D: Chl a (A), Chl b (B) and total Chl contents (C), and Chl a/b ratio (D) of leaves in *osdw11* and wild-type plants; E~H: ultrastructure of chloroplast in *osdw11* (G, H) and wild-type plants (E, F), nu means nucleus, Cl means chloroplast, og means osmiophilic granule; I, J: Net photosynthesis rate (I) and  $F_v/F_m$  ratio (J) of leaves in *osdw11* and wild-type plants. 1: flag leaves; 2: 2nd leaves from top; 3: 3rd leaves from top. Values marked with \* and \*\* indicate significant differences by Student's *t*-test at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively.



(图 4)

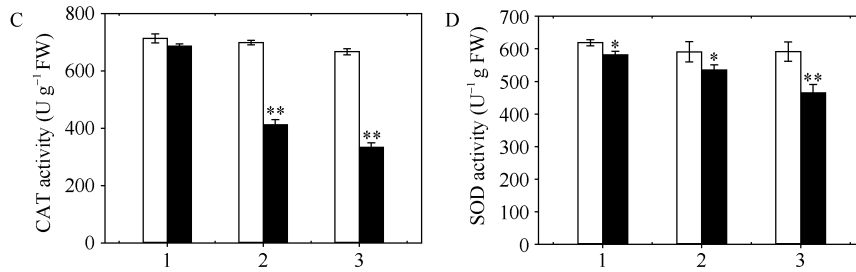


图 4 孕穗期突变体 *osdwl1* 及其野生型叶片的  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  累积以及 CAT 和 SOD 的酶活

Fig. 4 Accumulation analysis of  $O_2^-$  and  $H_2O_2$  contents, and CAT and SOD activities in the *osdwl1* and its wild-type plants at booting stage

1: 剑叶; 2: 倒二叶; 3: 倒三叶。\* 表示在 0.05 水平上差异显著; \*\* 表示在 0.01 水平上差异显著 (*t*-test)。

1: flag leaves; 2: 2nd leaves from top; 3: 3rd leaves from top. Values marked with \* and \*\* indicate significant differences by Student's *t*-test at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively.

高于野生型对照(图5-A); 与突变体*osdwl1*剑叶相比, 其倒二叶和倒三叶的MDA含量分别增加50.29%和79.87% (图5-A)。*osdwl1*的剑叶、倒二叶和倒三叶间

的可溶性蛋白含量依次降低且均极显著低于野生型对照, 尤其是其倒三叶的含量极显著低于剑叶和倒二叶, 分别下降31.93%和28.53% (图5-B)。

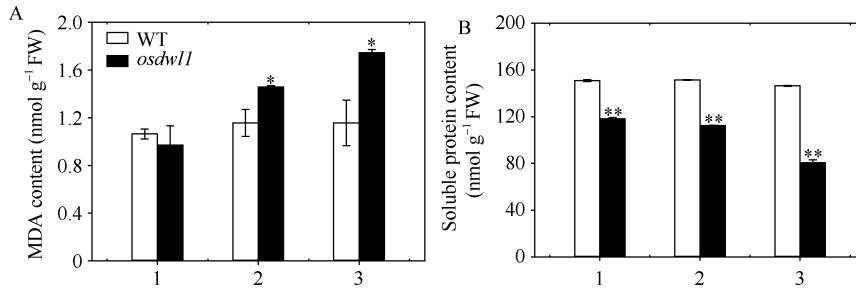


图 5 孕穗期突变体 *osdwl1* 及其野生型叶片的 MDA 和可溶性蛋白含量

Fig. 5 MDA and soluble protein contents of *osdwl1* and the wild-type plants at booting stage

1: 剑叶; 2: 倒二叶; 3: 倒三叶。\* 表示在 0.05 水平上差异显著; \*\* 表示在 0.01 水平上差异显著 (*t*-test)。

1: flag leaves; 2: 2nd leaves from top; 3: 3rd leaves from top. Values marked with \* and \*\* indicate significant differences by Student's *t*-test at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively.

## 2.4 遗传分析与基因定位

*osdwl1*/自选 1 号和 *osdwl1*/93-11 杂交  $F_1$  植株形态均正常, 说明突变性状是由隐性位点控制。而 *osdwl1*/自选 1 号的 1105 个  $F_2$  群体中,  $\chi^2$  检验正常植株数(836)与具矮化及宽黄叶的植株数(269)的分离比符合 3 : 1 [ $\chi^2 = 0.25 < 3.84 (\chi^2_{(0.05,1)})$ ]; 而 *osdwl1*/93-11 的 612 个  $F_2$  定位群体中, 正常单株数(455)与矮化及宽黄叶单株数(157)的分离比亦符合 3 : 1 [ $\chi^2 = 0.46 < 3.84 (\chi^2_{(0.05,1)})$ ]的孟德尔遗传定律。这些结果表明 *osdwl1* 的矮化及宽黄叶性状由单隐性核基因控制。

利用 *osdwl1*/02428 的  $F_2$  群体中具有矮化及宽黄叶性状的 673 个单株作为基因定位群体。为了定位 *OsDWL1* 基因, 首先分别提取 *osdwl1*/02428  $F_2$  群体中的 10 株野生型表型和 10 株具有矮化宽叶性状的单株基因组 DNA, 分别等量混合成正常基因池和突

变基因池。合成水稻 12 条染色体上的 500 对 SSR 标记及 50 对 InDel 标记, 逐条对 02428 和突变体 *osdwl1* 进行多态性分析, 而后选用均匀分布于 12 条染色体上的多态性分子标记, 利用 BSA 法分析其与 *OsDWL1* 基因间的连锁性关系。结果发现水稻 6 号染色体短臂上的 SSR 标记 RM7399、RM19288、RM3805 和 RM19549 与 *OsDWL1* 紧密连锁。利用这 4 个标记对 *osdwl1*/02428 的  $F_2$  群体中的 673 个矮化宽叶单株进行基因型分析, 发现 RM7399、RM19288、RM3805 和 RM19549 的交换单株分别是 80、23、19 和 121 株, 初步将 *OsDWL1* 基因定位在 RM19288 和 RM3805 之间。为进一步精细定位 *OsDWL1* 基因, 继续合成位于 RM19288 和 RM3805 之间的 10 对 SSR 和 InDel 标记(附表 1), 其中 2 对标记在 02428 和突变体 *osdwl1* 间存在多态性, 利用这 2 对标记将 *OsDWL1* 基因限定在 RM19297 与

ID269-2 之间, 物理距离约 333 kb, 横跨 AP001168、AP002838、AP000391 和 AP000559 四个 BAC (图 6), 其间有 EST 支持的 ORF 为 37 个(<http://rapdb.dna.affrc.go.jp/viewer/gbrowse/irgsp1/>) (表 2)。

表 2 定位区间内的基因及功能注释

Table 2 Gene names and their functional annotations in the target interval

基因号 Locus identifier	功能注释 Functional annotation
LOC_Os06g03390	Expressed protein
LOC_Os06g03486.1	Expressed protein
LOC_Os06g03514.1	Expressed protein
LOC_Os06g03520.1	DUF581 domain containing protein, expressed
LOC_Os06g03530.1	Pentatricopeptide, putative, expressed
LOC_Os06g03540.1	Oligopeptide transporter, putative, expressed
LOC_Os06g03560.1	Oligopeptide transporter, putative, expressed
LOC_Os06g03570.1	Pentatricopeptide, putative, expressed
LOC_Os06g03580.1	Zinc RING finger protein, putative, expressed
LOC_Os06g03600.1	Transcriptional corepressor SEUSS, putative, expressed
LOC_Os06g03610.1	The CrRLK1L-1 subfamily has homology to the CrRLK1L homolog, expressed
LOC_Os06g03640.1	BAG domain containing protein, expressed
LOC_Os06g03660.1	Peroxisomal biogenesis factor 11, putative, expressed
LOC_Os06g03670.1	Dehydration-responsive element-binding protein, putative, expressed
LOC_Os06g03676.1	CAMK includes calcium/calmodulin dependent protein kinases, expressed
LOC_Os06g03682.1	Calcium-dependent protein kinase isoform AK1, putative, expressed
LOC_Os06g03690.1	RNA recognition motif containing protein, putative, expressed
LOC_Os06g03700.1	Oligopeptide transporter, putative, expressed
LOC_Os06g03710.1	DELLA protein SLR1, putative, expressed
LOC_Os06g03720.1	Ribonucleoside-diphosphate reductase small chain, putative, expressed
LOC_Os06g03750.1	Dehydration response related protein, putative, expressed
LOC_Os06g03760.1	LMBR1 integral membrane protein, putative, expressed
LOC_Os06g03770.1	ABC transporter, putative, expressed
LOC_Os06g03780.1	NUC153 domain containing protein, expressed
LOC_Os06g03790.1	39S ribosomal protein L47, mitochondrial precursor, putative, expressed
LOC_Os06g03800.1	Pollen ankyrin, putative, expressed
LOC_Os06g03810.1	Expressed protein
LOC_Os06g03820.1	Expressed protein
LOC_Os06g03830.1	Retinol dehydrogenase, putative, expressed
LOC_Os06g03840.1	Bric-a-Brac, Tramtrack, Broad Complex BTB domain with H family conserved sequence, expressed
LOC_Os06g03850.1	Impaired sucrose induction 1, putative, expressed
LOC_Os06g03860.4	Uncharacterized membrane protein, putative, expressed
LOC_Os06g03890.1	Alpha-L-fucosidase 3 precursor, putative, expressed
LOC_Os06g03910.1	Hydrolase, NUDIX family, domain containing protein, expressed
LOC_Os06g03920.1	Expressed protein
LOC_Os06g03930.1	Cytochrome P450 86A1, putative, expressed
LOC_Os06g03940.1	Spastin, putative, expressed



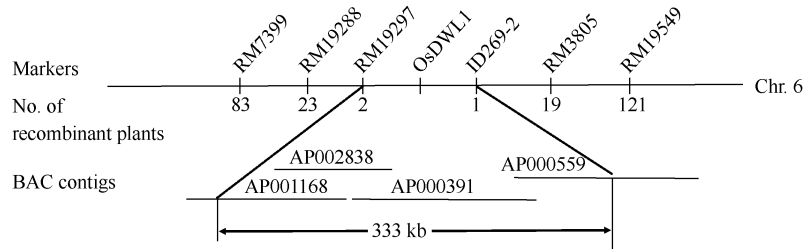


图 6 水稻矮化宽叶基因 *OsDWL1* 在 6 号染色体上的分子定位

Fig. 6 Molecular mapping of *OsDWL1* gene on the short arm of chromosome 6

### 3 讨论

株高是影响农作物株型、生物量、抗倒性及机械收割的重要因素<sup>[4-5]</sup>。研究表明,植株过高是引起水稻倒伏的最主要原因<sup>[4-5]</sup>;而植株过矮,会造成水稻生长量不足,故适当增加株高,不仅可以降低叶面积密度(叶面积指数与株高的比值),还有利于CO<sub>2</sub>扩散及中下部叶片吸收利用太阳光能,增加光合速率,进而提高植株生物量<sup>[26]</sup>。影响水稻株高的因素包括穗长、节间数和节间长度,除少部分因穗长和节间数量发育缺陷的突变体外,大多数矮秆水稻是由于节间长度变短造成的<sup>[4-5]</sup>。本研究中 *osdwl1* 的节间长度均极显著比野生型对照缩短,导致 *osdwl1* 株高显著低于野生型对照(图 1-E, F),茎节的树脂半薄切片证实节间缩短的根本原因在于突变体细胞长度更小(图 1-H)。

植物株高既受诸如光温水气肥等外界环境的影响,也受植物内源激素及基因的调控,但归根结底受内源基因网络的精细调控<sup>[4-6]</sup>。大量研究结果证实,水稻株高一般受1~3对主效基因控制,但也受微效基因调控<sup>[4-5]</sup>。迄今已证实,调控株高的基因包括GA代谢途径的DELLA蛋白基因、参与油菜素内酯和独脚金内酯合成代谢的细胞色素P450基因与钙调蛋白、RNA编辑相关的PPR (pentatricopeptide repeat) 蛋白基因以及核糖体蛋白基因等<sup>[4-5]</sup>。如水稻编码PPR蛋白的*OGR1*基因的功能缺失突变体*ogr1*表现为矮化及不育等特性<sup>[27]</sup>;与油菜素内酯合成代谢相关的水稻P450基因*CYP90D2/D2*的缺失突变<sup>[28]</sup>、拟南芥钙调蛋白基因*DWL1*的部分缺失过表达转基因后代均表现矮化症状<sup>[29]</sup>;参与GA信号通路的水稻DELLA蛋白基因*SLR1*的功能缺失也导致水稻矮化<sup>[30]</sup>;此外,拟南芥编码核糖体蛋白L10基因*SAC52*的突变可以恢复*acl5-1*突变体的矮化症状<sup>[31]</sup>。在本研究的*OsDWL1*基因的定位区间内(图6),已克隆了一个矮化基因,即LOC\_Os06g03710,该基因*DLT/OsG*

*RAS-32*编码一个GRAS蛋白(GAI-RGA-SCR),其双碱基缺失突变体*d62*表现为矮化少蘖、宽叶浓绿等特征<sup>[32]</sup>。本研究中的*osdwl1*则表现为矮化少蘖、宽叶黄化(图1),因此与*d62*性状不完全一样。进一步通过测序分析*osdwl1*中的*DLT*基因,证实其序列与野生型对照一致。而与报道相关的导致水稻矮化相关的基因分别为PPR蛋白基因(LOC\_Os06g03530和LOC\_Os06g03570)、细胞色素P450基因(LOC\_Os06g03930)、钙调蛋白基因(LOC\_Os06g03676)、以及核糖体蛋白基因(LOC\_Os06g03790)(表2)。当然,候选基因的最终确定要依赖于这些基因的测序分析及遗传互补验证。

大量研究表明,矮化基因一般具有“一因多效”的特点,即矮化突变体除植株矮化外,还伴随分蘖、叶片和籽粒等组织器官的变化<sup>[4-5]</sup>。本研究中*osdwl1*除表现矮化少蘖外,叶片从苗期开始就表现为黄化宽叶特性(图1和图2)。研究表明,叶片黄化是叶片衰老的重要外在表现,而其内在表现则为程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),并由此带来叶绿体降解、蛋白质降解、ROS (reactive oxygen species) 累积、膜脂过氧化以及光合速率下降等生理生化变化<sup>[32]</sup>。因此,叶绿素含量和叶片净光合速率是衡量叶片衰老的重要生理指标<sup>[33]</sup>。本研究结果显示,突变体*osdwl1*的倒二叶和倒三叶的总叶绿素含量及其光合速率均极显著低于其野生型自选1号(图3),预示其叶片已开始衰老(图1)。伴随叶片衰老,突变体叶绿体也开始降解(图3),进而造成叶绿体中的电子传递链受到抑制,致使H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>等ROS急剧增加<sup>[34-35]</sup>(图4-A, B)。同时,过量ROS将作用于细胞膜脂质,使其过氧化而产生大量MDA<sup>[34-35]</sup>(图5-A)。与此同时,为了清除细胞内的过多ROS并保护细胞膜系统,正常植物细胞会及时启动属于可溶性蛋白的抗氧化酶,如SOD和CAT的表达<sup>[36-37]</sup>。其中,SOD是O<sub>2</sub><sup>-</sup>的专一作用酶<sup>[36-37]</sup>,突变体*osdwl1*的剑叶、倒二

叶和倒三叶的SOD酶活极显著低于野生型自选1号(图4-D), 从而导致突变体叶片中的 $O_2^-$ 含量显著增加(图4-A)。而CAT是作用于 $H_2O_2$ 的保护酶<sup>[36-37]</sup>, 突变体*osdwl1*的倒二叶和倒三叶之间的CAT酶活显著低于野生型(图4-C), 致使其倒二叶和倒三叶中的 $H_2O_2$ 显著增加(图4-B)。

#### 4 结论

*osdwl1* 是一个新鉴定到的矮化少蘖、宽叶黄化的突变体, 其宽叶黄化症状始于三至四叶期幼苗。与野生型对照相比, *osdwl1* 的剑叶、倒二叶和倒三叶的叶绿素含量极显著降低, 从而导致其净光合速率极显著下降。*osdwl1* 倒二叶和倒三叶CAT、SOD活性极显著下降, 降低其清除 $H_2O_2$ 的能力, 导致ROS明显增加并促使细胞膜脂过氧化, 致使MDA含量极显著升高。遗传分析表明, *osdwl1* 的矮化宽叶性状由一对隐性核基因控制, 进一步利用图位克隆技术将*OsDWL1* 定位于6号染色体短臂的RM19297与ID269-2之间, 其间物理距离约333 kb, 这为进一步克隆该基因并揭示其矮化宽黄叶分子生理机理奠定基础。

#### References

- [1] 刘兴舟, 张建, 庄晓林, 陈瑞信, 付华, 马桂美, 李猛. 中国粮食安全现状与应对策略. 农业工程, 2019, 9(7): 61–64.  
Liu X Z, Zhang J, Zhuang X L, Chen R J, Fu H, Ma G M, Li M. Current situation and countermeasures of Chinese food security. *Agric Eng*, 2019, 9(7): 61–64 (in Chinese with English abstract).
- [2] 成升魁, 徐增让, 谢高地, 甄霖, 王灵恩, 郭金花, 侯鹏, 何中虎. 中国粮食安全百年变化历程. 农学学报, 2018, 8(1): 186–192.  
Cheng S K, Xu Z R, Xie G D, Zhen L, Wang L E, Guo J H, Hou P, He Z H. The history of China's food security in the past hundred years. *J Agric*, 2018, 8(1): 186–192 (in Chinese with English abstract).
- [3] 张永恩, 褚庆全, 王宏广. 发展高产农业保障粮食安全的探索和实践. 中国农业科技导报, 2012, 14(2): 17–21.  
Zhang Y E, Chu Q Q, Wang H G. Exploration and practice of developing high-yielding agriculture to ensure food security. *J Agric Sci Technol*, 2012, 14(2): 17–21 (in Chinese with English abstract).
- [4] Liu F, Wang P, Zhang X, Li X, Yan X, Fu D, Wu G. The genetic and molecular basis of crop height based on a rice model. *Planta*, 2018, 247: 1–26.
- [5] Hirano K, Ordonio R L, Matsuoka M. Engineering the lodging resistance mechanism of post-green revolution rice to meet future demands. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2017, 93: 220–233.
- [6] Wang Y, Li J. The plant architecture of rice (*Oryza sativa*). *Plant Mol Biol*, 2005, 59: 75–84.
- [7] Ishikawa S, Maekawa M, Arite T, Onishi K, Takamura I, Kyojuka J. Suppression of tiller bud activity in tillering dwarf mutants of rice. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46: 79–86.
- [8] Tomotsugu A, Hirota I, Kenji O, Masahiko M, Masatoshi N, Mikiko K, Hitoshi S, Junko K. *DWARF10*, an *RMS1/MAX4/DAD1* ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice. *Plant J*, 2007, 51: 1019–1029.
- [9] Tomotsugu A, Mikiyama U, Shinji I, Atsushi H, Masahiko M, Shinjiro Y, Junko K. *d14*, a strigolactone-insensitive mutant of rice, shows an accelerated outgrowth of tillers. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50: 1416–1424.
- [10] Taito T, Yuko S, Makoto S, Hidemi K, Miyako U, Motoyuki A, Makoto M, Chiharu U. The *OsTBI* gene negatively regulates lateral branching in rice. *Plant J*, 2003, 33: 513–520.
- [11] Zou J, Zhang S, Zhang W, Li G, Chen Z, Zhai W, Zhao X, Pan X, Xie Q, Zhu L. The rice *HIGH-TILLERING DWARF1* encoding an ortholog of *Arabidopsis* MAX3 is required for negative regulation of the outgrowth of axillary buds. *Plant J*, 2006, 48: 687–698.
- [12] Chen W, Cheng Z, Liu L, Wang M, You X, Wang J, Zhang F, Zhou C, Zhang Z, Zhang H, You S, Wang Y, Luo S, Zhang J, Wang J, Wang J, Zhao Z, Guo X, Lei C, Zhang X, Lin Q, Ren Y, Zhu S, Wan J. *Small grain and Dwarf 2*, encoding an HD-Zip II family transcription factor, regulates plant development by modulating gibberellin biosynthesis in rice. *Plant Sci*, 2019, 288: 110208.
- [13] Semami S, Takehara K, Yamamoto T, Kido S, Kondo S, Iwasaki Y, Miura K. Overexpression of *SRS5* improves grain size of brassinosteroid-related dwarf mutants in rice (*Oryza sativa* L.). *Breed Sci*, 2017, 67: 393–397.
- [14] Ding Z, Lin Z, Li Q, Wu H, Xiang C, Wang J. *DNLI*, encodes cellulose synthase-like D4, is a major QTL for plant height and leaf width in rice (*Oryza sativa* L.). *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457: 133–140.
- [15] Tong H, Jin Y, Liu W, Li F, Fang J, Yin Y, Qian Q, Zhu L, Chu C. *DWARF AND LOW-TILLERING*, a new member of the GRAS family, plays positive roles in brassinosteroid signaling in rice. *Plant J*, 2009, 58: 803–816.
- [16] 徐静, 王莉, 钱前, 张光恒. 水稻叶片形态建成分子调控机制研究进展. 作物学报, 2013, 39: 767–774.  
Xu J, Wang L, Qian Q, Zhang G H. Research advance in molecule regulation mechanism of leaf morphogenesis in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agron Sin*, 2013, 39: 767–774 (in Chinese with English abstract).
- [17] Byne M E. Networks in leaf development. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8: 59–66.
- [18] Qi J, Qian Q, Bu Q, Li S, Chen Q, Sun J, Liang W, Zhou Y, Chu C, Li X, Ren F, Palme K, Zhao B, Chen J, Chen M, Li C. Mutation of the rice *Narrow Leaf1* gene, which encodes a novel protein, affects vein patterning and polar auxin transport. *Plant Physiol*, 2008, 147: 1947–1959.
- [19] Shi L, Wei X, Adedze Y M, Sheng Z, Tang S, Hu P, Wang J. Characterization and gene cloning of the rice (*Oryza sativa* L.) dwarf and narrow-leaf mutant *dn13*. *Genet Mol Res*, 2016, 15: 15038731.
- [20] Wang L, Chen Y. Characterization of a wide leaf mutant of rice *Oryza sativa* L. with high yield potential in field. *Pat J Bot*, 2013,

- 45: 927–932.
- [21] Gong P, Luo Y, Huang F, Chen Y, Zhao C, Wu X, Li K, Yang X, Cheng F, Xiang X, Wu C, Pan G. Disruption of a Upf1-like helicase-encoding gene *OsPLS2* triggers light-dependent premature leaf senescence in rice. *Plant Mol Biol*, 2019, 100: 133–149.
- [22] Pan G, Si P, Yu Q, Tu J, Powles S. Non-target site mechanism of metribuzin tolerance in induced tolerant mutants of narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Crop Pasture Sci*, 2012, 63: 452–458.
- [23] Wang F, Liu J, Chen M, Zhou L, Li Z, Zhao Q, Pan G, Zaidi S, Cheng F. Involvement of abscisic acid in PSII photodamage and D1 protein turnover for light-induced premature senescence of rice flag leaves. *PLoS One*, 2016, 11: e0161203.
- [24] Yang X, Gong P, Li K, Huang F, Cheng F, Pan G. A single cytosine deletion in the *OsPLS1* gene encoding vacuolar-type H<sup>+</sup>-ATPase subunit A1 leads to premature leaf senescence and seed dormancy in rice. *J Exp Bot*, 2016, 67: 2761–2776.
- [25] 曹剑波, 程珂, 袁猛. 水稻组织半薄切片法. *Bio-101*, 2018 [2020-07-24]. <https://bio-protocol.org/bio101/e1010142>.  
Cao J B, Cheng K, Yuan M. Observation of rice tissue with semi-thin section. *Bio-101*, 2018 [2020-07-24]. <https://bio-protocol.org/bio101/e1010142>.
- [26] 杨守仁, 张龙步, 陈温福, 徐正进, 王进民. 水稻超高产育种的理论与方法. *中国水稻科学*, 1996, 10: 115–120.  
Yang S R, Zhang L B, Chen W F, Xu Z J, Wang J M. Theories and methods of rice breeding for maximum yield. *Chin J Rice Sci*, 1996, 10: 115–120.
- [27] Kim S R, Yang J I, Moon S, Ryu C H, An K, Kim K M, Yim J, An G. Rice *OGR1* encodes a pentatricopeptide repeat-DYW protein and is essential for RNA editing in mitochondria. *Plant J*, 2009, 59: 738–749.
- [28] Li H, Jiang L, Youn J, Sun W, Cheng Z, Jin T, Ma X, Guo X, Wang J, Zhang X, Wu F, Wu C, Kim S K, Wan J. A comprehensive genetic study reveals a crucial role of *CYP90D2/D2* in regulation plant architecture in rice (*Oryza sativa*). *New Phytol*, 2013, 200: 1076–1088.
- [29] Du L, Poovaiah B W. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin is critical for brassinosteroid biosynthesis and plant growth. *Nature*, 2005, 437: 741–745.
- [30] Liao Z, Yu H, Duan J, Yuan K, Yu C, Meng X, Kou L, Chen M, Jing Y, Liu G, Smith S, Li J. SLR1 inhibits MOC1 degradation to coordinate tiller number and plant height in rice. *Nat Commun*, 2019, 10: 2738.
- [31] Imai A, Komura M, Kawano E, Kuwashiro Y, Takahashi T. A semi-dominant mutation in the ribosomal protein L10 gene suppresses the dwarf phenotype of the *acl5* mutant in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2008, 56: 881–890.
- [32] Li W, Wu J, Weng S, Zhang Y, Zhang D, Shi C. Identification and characterization of *dwarf62*, a loss-of-function mutation in *DLT/OsGRAS-32* affecting gibberellin metabolism in rice. *Planta*, 2010, 232: 1383–1396.
- [33] Lim P O, Kim H J, Nam H G. Leaf senescence. *Annu Rev Plant Biol*, 2007, 58: 115–136.
- [34] Jajic I, Sarna T, Strzalka K. Senescence, stress, and reactive oxygen species. *Plants*, 2015, 4: 393–411.
- [35] Rogers H, Munne-Bosch S. Production and scavenging of reactive oxygen species and redox signaling during leaf and flower senescence: similar but different. *Plant Physiol*, 2016, 17: 1560–1568.
- [36] Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*, 2003, 91: 179–194.
- [37] You J, Chan Z. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 1092.

附表 1 用于 *OsDWL1* 基因定位的分子标记Table S1 Molecular markers used for *OsDWL1* gene mapping

标记 Marker	正向引物 Forward primer (5'–3')	反向引物 Reverse primer (5'–3')
RM7399	CAGATATGATGTTCTTGCCCTTGC	GCTTGCCAGATCACCTACCTACC
RM19288	CGGAGCTGTTGCCGTTCTGC	CGATGTGCCATGTCAGGATGACC
RM19297	ATTTGCTCCGCTTCCAAATCACC	AGCGGCCAACAGAGACAACCTGG
ID269-2	AGGGTGTGTTTAGTTCACGA	AAAATTTGTTCATGGCTGTTG
RM3805	ACACCACCATCAACGTACCAACC	AAGTCGAGAGGAAGAAGCCAAGG
RM19549	CCTGGTACTAACCATGTGATTGAGC	AACGTCAGAGTCTCACCACAAGC