

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.00629

## 水稻颖壳和浆片异常突变体 *ahl* 的基因定位

王 增 李云峰\*\* 马 娇 任德勇 王德仲 游小庆 桑贤春  
何光华\*

西南大学水稻研究所 / 转基因植物与安全控制重庆市重点实验室, 重庆 400716

**摘 要:** 研究水稻花发育基因对于水稻相关性状的分子育种具有十分重要的意义。本研究报道了一个水稻颖壳和浆片异常突变体 *ahl* (*abnormal hull and lodicule*), 来源于优良恢系缙恢 10 号的 EMS 诱变群体。该突变体内外稃变小并发生严重扭曲, 浆片顶端伸长。内外稃异常导致灌浆后米粒变小、畸形, 千粒重下降。该性状遗传稳定, 受 1 对隐性基因控制, 利用群体分离分析法 (bulked segregation analysis, BSA) 将 *AHL* 基因定位在第 2 染色体上的 SSR 标记 RM14153 与 RM14167 之间, 遗传距离分别为 1.19 cM 和 1.34 cM, 物理距离为 226 kb。研究结果为 *AHL* 基因的图位克隆和功能研究奠定了基础。

**关键词:** 水稻; 颖壳和浆片异常突变体; 遗传分析; 基因定位

## Gene Mapping of a Novel Mutant *ahl* in Rice

WANG Zeng, LI Yun-Feng\*\*, MA Jiao, REN De-Yong, WANG De-Zhong, YOU Xiao-Qing, SANG Xian-Chun, and HE Guang-Hua\*

Rice Research Institute, Chongqing Key Laboratory of Application and Safety Control of Genetically Modified Crops, Southwest University, Chongqing 400716, China

**Abstract:** Researches on rice flower development gene are very important in molecular breeding of rice for related traits. A rice flower mutant *abnormal hull and lodicule* (*ahl*) was identified from Jinhui 10 (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) treated by EMS. In *ahl* mutant, lemma and palea minished and significantly twisted along with the apparently elongated apical lodicules. This minished lemma and palea led to abnormal kernels after grain filling, meanwhile, the 1000-grain weight decreased. The trait was steadily inherited, and controlled by a pair of recessive gene. Using bulked segregation analysis method *AHL* was restricted between SSR markers RM14153 and RM14167, with genetic distances of 1.34 cM and 1.19 cM, respectively, which covered an approximate 226 kb region on the chromosome 2. The result is useful for further map-based cloning and functional analysis of *AHL* gene.

**Keywords:** Rice (*Oryza sativa* L.); *abnormal hull and lodicule*; Genetic analysis; Gene mapping

花器官发育的分子遗传机制是近年来植物发育生物学的研究热点。基于双子叶模式植物拟南芥、金鱼草的研究, 提出了经典的 ABC 模型, 认为花器官的特征发育主要受 A、B 和 C 三类花器官特征基因(同源异型基因)的组合调控, 4 轮结构花萼、花瓣、雄蕊及心皮分别由 A、A+B、B+C 及 C 四组基因决定, 每一类基因都调控两轮以上的花器官, 其中任何一类基因的突变都会引起相应轮次器官的同源异型转变<sup>[1-2]</sup>。在拟南芥中已分离鉴定了 A 类基因 *APETALA*(*API*)和 *AP2*、B 类基因 *AP3* 和 *PISTILLATA* (*PI*)、C 类基因 *AGAMOUS*(*AG*)<sup>[1-3]</sup>。

水稻等单子叶植物早在 1.2~1.8 亿年前就与双子叶植物分开各自独立进化<sup>[4]</sup>, 其花器官的许多特征明显不同于双子叶植物。水稻小花从外到内依次由外稃/内稃、2 个浆片、6 个雄蕊和由 2 个心皮融合而成的雌蕊(1 个子房和 2 个柱头)等组成, 其中雄蕊和雌蕊与双子叶植物类似, 但外稃/内稃与花萼、浆片与花瓣都有明显的差异。近年来研究发现, 雄蕊和雌蕊发育调控的分子机制在水稻和拟南芥之间十分类似。在水稻中, B 功能基因 *OsMADS4* 和 *OsMADS16* (也称 *SUPERWOMAN1*, *SPW1*)分别是拟南芥 B 类基因 *PI* 和 *AP3* 的直系同源基因, 都负责特

本研究由国家自然科学基金项目(31071390), 重庆市杰出青年基金项目(2008BA1033)和重庆市良种创新工程项目(CSTC, 2010AA1013)资助。

\* 通讯作者(Corresponding author): 何光华, E-mail: hegh@swu.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: wz\_1225@yahoo.com.cn \*\*共同第一作者

Received(收稿日期): 2010-09-17; Accepted(接受日期): 2011-01-06.

化浆片和雄蕊的特征<sup>[5-8]</sup>。水稻中也存在2个拟南芥C功能基因 *AG* 的直系同源基因 *OsMADS3* 和 *OsMADS58*, 它们共同承担部分C功能基因的角色<sup>[9]</sup>。然而, 到目前为止还没有在水稻等禾本科植物中鉴定出典型的A功能基因, 虽然水稻中有3个拟南芥A功能基因的同源基因 *OsMADS14*<sup>[10]</sup>、*OsMADS15*<sup>[11]</sup>和 *OsMADS18*<sup>[12]</sup>, 但是它们似乎并不参与颖壳和浆片的发育调控。所以, 水稻等禾本科的外轮花器官, 特别是颖壳的发育调控机制与双子叶植物应该存在较大的差异, 然而目前鉴定的基因还太少, 主要是缺乏相应的突变体。本研究报道一个水稻颖壳和浆片异常突变体, 命名为 *ahl* (*abnormal hull and lodicule*), 我们对其表型变异、遗传特性和基因位置进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

*ahl* 来自 EMS 化学诱变自育恢复系缙恢10号 (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*)。2008年, 用花器官表型正常的不育系材料西农1A与突变体 *ahl* 杂交, 同年8月在海南种植  $F_1$ , 并收获  $F_2$  种子, 2009年在西南大学水稻研究所分别种植亲本、 $F_1$  和  $F_2$  群体, 抽穗期调查每个单株的籽粒特性。

### 1.2 表型分析

在开花期分别选取10株 *ahl* 和野生型植株的小穗, 在成熟期分别收取10株 *ahl* 和野生型植株的籽粒, 分别在体视镜(NIKON SMZ1500)下观察其表型; 另外, 在开花期分别剪去10株 *ahl* 和野生型植株的颖壳, 于种子成熟时对比观察籽粒灌浆充实情况。

### 1.3 基因定位

采用BSA法定位目标基因, 即根据  $F_2$  植株表型, 分别选取10株正常单株和10株突变单株, 剪取等量叶片, 构成正常基因池和突变基因池。按CTAB法<sup>[13]</sup>提取亲本和基因池DNA, 按碱煮法提取群体DNA<sup>[14]</sup>。SSR引物序列参照网站(<http://www.gramene.org/microsat/>), 由上海生工生物工程技术有限公司合成。同罗远章等<sup>[15]</sup>的PCR总体系及PCR程序。PCR产物经10%的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 快速银染后观察<sup>[16]</sup>。

### 1.4 图谱的构建

用Mapmaker 3.0进行数据分析和作图。用Kosambi函数将重组率转化为遗传距离。根据Gramene网站(<http://www.gramene.org/>)提供的水稻序列信息构建物理图谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 *ahl* 突变体的表型

*ahl* 突变体在营养生长期与野生型相比没有明显的变化, 突变表型主要表现在生殖生长期。

开花期野生型水稻的小花包括4轮花器官, 第1轮是锁在一起的外稃和内稃, 外稃有5条维管束, 内稃有3条维管束, 外稃略大于内稃; 第2轮是2枚浆片, 着生在靠近外稃的一侧; 第3轮是6枚雄蕊; 第4轮是1枚雌蕊, 雌蕊位于小花的中心, 雄蕊着生在其周围(图1-A, B)。

与野生型小花相比, *ahl* 小花表现出显著的突变。首先, 内、外稃变小并严重扭曲(图1-G, H)。外稃面积野生型为31.08 mm<sup>2</sup>, *ahl* 是野生型的75.1%, 差异极显著; 内稃面积野生型为15.4 mm<sup>2</sup>, *ahl* 是野生型的87.3%, 差异显著。其次, *ahl* 浆片与野生型相比明显变大和伸长(图1-H, I), 浆片面积野生型为0.61 mm<sup>2</sup>, *ahl* 是野生型的214.8%, 达到极显著差异。*ahl* 第3轮雄蕊的形态特征没有明显的变化, 但是花粉管发生扭曲(图1-H), 这可能是内、外稃变小扭曲后空间压缩所致。第4轮雌蕊与野生型相比基本没有变化。

成熟时, *ahl* 籽粒表现出显著的变化。*ahl* 米粒变小, 畸形(图1-J, K), 粒长、粒宽、粒厚分别是野生型的81.1%、83.3%和94.7% (表1)。野生型千粒重27.4 g, *ahl* 千粒重22.8 g, 差异极显著。籽粒变小可能存在两方面的原因, 一是 *AHL* 基因的突变; 二是颖壳的变化。为进一步解析籽粒变小的原因, 我们在花期授粉后分别剪去野生型和 *ahl* 突变体小花的颖壳, 在灌浆充实后测量籽粒性状, 发现在剪去颖壳后的种子中, *ahl* 突变体和野生型的米粒在粒长、粒宽和粒厚方面差异并不明显(图1-F, L; 表1)。表明籽粒变小是颖壳变异而被压迫所致。

### 2.2 *AHL* 基因的遗传分析

用表型正常的不育系西农1A与 *ahl* 杂交,  $F_1$  表现正常, 说明该突变体由隐性基因控制。 $F_2$  群体中出现明显分离, 分别表现双亲性状, 其中正常单株2107株, *ahl* 表型的单株673株。经卡方测验, 正常株: 突变株符合3:1分离比( $\chi^2 = 0.8868 < \chi^2_{0.05} = 3.84$ )。表明 *ahl* 突变体受一对隐性基因控制。

### 2.3 *AHL* 基因的分子定位

选用西农1A×*ahl* 杂交的  $F_2$  群体作为定位群体, 共获得673个突变单株, 用于基因定位。在  $F_2$  代中分别选取10株正常株和10株颖壳突变株构建正常



图 1 野生型水稻与 *ahl* 的花器官及籽粒表型

Fig. 1 Phenotype of flower and their kernels of wild type and *ahl* mutant

A: 野生型小穗; B: 剥去外稃的野生型小穗; C: 野生型浆片; D: 野生型籽粒; E: 野生型去壳米粒; F: 开花期剪去颖壳后的野生型米粒; G: *ahl* 小穗, 箭头示弯曲的颖壳; H: 剥去外稃的 *ahl* 小穗, 箭头示伸长的浆片, 三角形图标示弯曲的花丝; I: *ahl* 浆片; J: *ahl* 籽粒; K: *ahl* 去壳米粒; L: 开花期剪去颖壳后的 *ahl* 米粒。le: 外稃; pa: 内稃; lo: 浆片; st: 雄蕊。Bar = 2 000  $\mu$ m

A: wild-type spikelet; B: wild-type spikelet without lemma; C: wild-type lodicule; D: wild-type grain; E: wild-type grain without hull; F: wild-type grain cut the hull in flowering stage; G: *ahl* spikelet, arrow indicates the twisted hull; H: *ahl* spikelet without lemma. Arrow indicates the elongated lodicule, triangle indicates the curved filament; I: *ahl* lodicule; J: *ahl* grain; K: *ahl* grain without hull; L: *ahl* grain cut the hull in flowering stage. le: lemma; pa: palea; lo: lodicule; st: stamen. Bar = 2 000  $\mu$ m.

表 1 突变体与野生型浆片和籽粒的大小  
Table 1 Size of lodicules and grains in *ahl* and wild type (cm)

材料 Material	突变体 Mutant	野生型 Wild type
未剪颖壳米粒长 Length of grain with hull	0.60*	0.74
未剪颖壳米粒宽 Width of grain with hull	0.20*	0.24
未剪颖壳米粒厚 Thickness of grain with hull	0.18	0.19
剪去颖壳后米粒长 Length of grain without hull	0.75	0.76
剪去颖壳后米粒宽 Width of grain without hull	0.20	0.22
剪去颖壳后米粒厚 Thickness of grain without hull	0.19	0.20

\* 和 \*\* 分别表示突变体与野生型相比在  $P = 0.05$  和  $P = 0.01$  水平上差异显著。

\*, \*\* significantly different between *ahl* and wild type at  $P = 0.05$  and  $P = 0.01$ , respectively.

基因池和突变基因池。选用 400 对均匀分布于 12 条染色体上的微卫星标记对亲本西农 1A 和 *ahl* 进行多

态性分析, 具有多态性的标记 110 对, 多态性频率 27.5%。进一步利用在两亲本间表现出多态性的引物, 扩增正常基因池和突变基因池, 并用在基因池间检测到的多态性引物进行  $F_2$  代单株验证, 结果位于第 2 染色体的 SSR 标记 RM5460 和 RM207 与 *ahl* 表现连锁, 其中 RM5460 有 37 个单交换株, RM207 有 56 个单交换株。在两标记间进一步设计 15 对引物(表 2), 其中 RM14153 和 RM14167 在亲本间存在多态性, 继续对隐性群体进行分析, RM14153 有 16 个单交换株, RM14167 有 18 个单交换株。最终将 *AHL* 定位于 SSR 标记 RM14153 和 RM14167 之间, 分别相距 1.19 cM 和 1.34 cM, 该区间跨越 AP005303、AP005691 和 AP004120 三个 BAC 克隆(图 2), 在日本晴基因组序列上的物理距离大约为 226 kb。根据 gramene 网站提供的基因注释信息([http://www.gramene.org/Oryza\\_sativa/Location/](http://www.gramene.org/Oryza_sativa/Location/)), 在定位的 226 kb 区域内共有预测基因 46 个, 其中有 5 个转座子和反转座子基

因, 2 个假定蛋白基因, 8 个 F-box 蛋白基因, 1 个谷胱甘肽转移酶 C 端盒基因, 1 个丝氨酸类蛋白酶基因, 2 个核糖体蛋白基因, 4 个 CCR(肉桂酰辅酶 A)还原酶基因, 2 个谷胱甘肽还原酶基因, 2 个核糖体结合蛋白基因, 1 个 eIF-2B 转录启动基因, 1 个拟南芥花发育转录因子 *LEUNIG* 同源基因, 1 个硫氧还蛋白基因, 1 个卵磷脂胆固醇酰基转移酶基因, 1 个酮脂酰辅酶 A 合酶基因, 1 个防卫素基因, 1 个富含半胱氨酸前体蛋白基因, 1 个 *ECERIFERUM 1* 基因, 1 个胞苷酸转移酶基因, 1 个白喉酰胺合成酶基因, 以及 4 个表达蛋白和 5 个未知功能基因等。

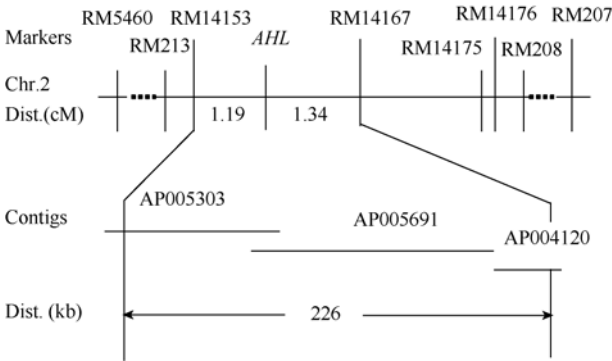


图 2 *AHL* 基因在第 2 染色体上的连锁图谱  
Fig. 2 Linkage map of *AHL* on chromosome 2 of rice

表 2 *AHL* 连锁的 SSR 引物序列  
Table 2 Sequences of SSR markers interlocked with *AHL*

标记 Marker	正向引物 Forward sequence (5'-3')	反向引物 Reverse sequence (5'-3')
RM5460	ACAACCACAGCTGCTTGAATTGC	AGAGGAACCCACTGCCCTTGC
RM213	ACAAGCAGATACTGACTGATGC	CTTCTTTGCATCCAGACTTCC
RM14153	GGGAGTGACGGATTCTTTGTTTACG	CCCATGTGGAACATCTGTGTATGG
RM14167	CGTGCTTCACGTGTACTGATCG	CTGCCCTTGCTGCTTAATGTCC
RM14175	GCCTCACCTCATCATCACAACG	TGGTCCTTCCTACTGTTGGTTCG
RM14176	AGCTCTCCATCAGATCATCAAAGG	ACTCCACCACTGAGGAGTTCTCG
RM208	AGTACCACCACATTCTCTGCAAGC	TCGATTGGCCATGAGTTCTCG
RM207	ATCCTAGTGGATAAGGCACAGACTGG	CCCTTGCTCTCCACCTCATCC

3 讨论

*AHL* 影响了水稻花器官第 1 轮内外稃的发育, 使内外稃变窄、变小、弯曲, 表明 *AHL* 基因负责调控内外稃的发育。在水稻中, 最先鉴定的影响内外稃发育的基因是 *LHS1/OsMADS1*, 其功能缺失导致内外稃呈叶状伸长<sup>[17-18]</sup>, 与拟南芥 E 功能基因 *SEP4* 的功能相似。另外还有几个基因只调控内稃的发育, 而不影响外稃的发育。 *RETARDED PALEA1(REP1)* 属于 TCP 基因家族。在 *rep1* 突变体中, 内稃的发育显著延缓, 且内稃维管束由 3 个变为 5 个, 与野生型外稃的维管束分布十分类似<sup>[19]</sup>。在 *palealess1(pal1)* 突变体的小花中, 内稃被 2 个叶状颖片所替代, 但是目前还未见该基因克隆的报道<sup>[20]</sup>。 *AGL6-like* 基因 *OsMADS6/MFO1* 也调控内稃的发育, *mfo1* 突变体的内稃获得了外稃的部分特征<sup>[21]</sup>。与 *LHS1*、*REP1*、*PAL1* 和 *MFO1* 基因作用于颖壳发育早期的特征发育不一样, *AHL* 可能主要表现在颖壳发育后期的形态建成阶段。从突变表型看, *AHL* 基因的功能缺失可能导致内外稃后期的细胞分化和生长受到影响, 从而颖壳变窄、变小及弯曲。这种作用模式可能和最

近报道的一个突变体 *stamenless1(sll)*<sup>[22]</sup>相似, *sll* 外稃和内稃也表现变窄, 且外稃弯曲呈月牙形, 但是 *sll* 突变体的内外稃表现开裂, 这与 *ahl* 完全不同。

除了内、外稃外, *ahl* 的浆片也表现出稳定的突变表型, 即浆片顶端延长, 暗示 *AHL* 基因对浆片的发育有一定的调控功能。水稻浆片的发育主要受到 B 功能基因的调控, 包括 *OsMADS2*、*OsMADS4*<sup>[23]</sup> 和 *OsMADS16/SPW1*<sup>[24]</sup>。在 *spw1* 突变体和表达反义 *OsMADS4* cDNA 序列的植株中, 浆片伸长并转变为类似内稃的器官。在 *OsMADS2* 的 RNA 干涉植株中, 浆片的基部与野生型没有明显的变化, 但其顶部伸长, 并呈现类似于内稃的形态, 进一步扫描电镜观察表明, 转基因植物的浆片底部区域细胞具有两种不同的形态, 一种是伸长的纤维状, 一种是典型的浆片细胞, 而顶部细胞则呈现与护颖或内稃边界细胞完全相同的形态<sup>[25]</sup>。另外, 最近鉴定的 *OsMADS6/MFO1* 基因<sup>[21]</sup>也调控浆片的发育, *mfo1* 突变体的浆片也表现出伸长并类似内稃的形态。从外观上看, *ahl* 突变体浆片的表型与 *OsMADS2* 的 RNA 干涉植株最相似, 即基部与野生型相比变化不大, 主要是顶部延长。

本研究中, *AHL* 被定位在第 2 染色体上 SSR 标

记 RM14153 和 RM14167 之间, 物理距离 226 kb。在预测的 46 个基因中, 发现存在一个拟南芥花发育转录因子 *LEUNIG* 的同源基因 *Os02g56880*, *LEUNIG* 转录抑制花器官确定性基因 *AG* 的表达, 在拟南芥中调控花瓣的细胞增殖、维管束发育和极性发育。与野生型相比, *ag* 的花瓣发育正常; 而在 *seu* 和 *ag* 双突变体中, 其花瓣变细、变小, 维管束减少, 细胞数目减少<sup>[26]</sup>。在 *ahl* 突变中, 花瓣的对应器官浆片也发生了严重的突变, 初步推测 *Os02g56880* 可能是 *AHL* 候选基因, 目前正在进一步鉴定。鉴于 *AHL* 基因作用的器官与经典的 A 功能基因相似, 以及水稻中 A 功能基因缺失的事实, *AHL* 进一步的克隆和功能分析具有重要意义。

#### 4 结论

*ahl* 内外稃变小并发生严重扭曲, 浆片顶端伸长。灌浆后米粒变小、畸形, 千粒重下降。该性状受 1 对隐性基因控制。该基因被定位在第 2 染色体 SSR 标记 RM14153 与 RM14167 之间, 物理距离 226 kb。本研究结果为 *AHL* 基因的进一步克隆和功能分析等工作奠定了基础, 也将为水稻内外稃和浆片的发育研究做出一定的贡献。

#### References

- [1] Coen E S, Meyerowitz E M. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 1991, 353: 31–37
- [2] Weigel D, Meyerowitz E M. The ABCs of floral homeotic genes. *Cell*, 1994, 78: 203–209
- [3] Bowman J L, Drews G N, Meyerowitz E M. Expression of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *AGAMOUS* is restricted to specific cell-types late in flower development. *Plant Cell*, 1991, 3: 749–758
- [4] Wolfe K H, Gouy M, Yang Y W, Sharp P M, Li W H. Date of the monocot-dicot divergence estimated from chloroplast DNA sequence data. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 6201–6205
- [5] Kang H G, Jeon J S, Lee S, An G. Identification of class B and class C floral organ identity genes from rice plants. *Plant Mol Biol*, 1998, 38: 1021–1029
- [6] Lee S, Jeon J S, An K, Moon Y H, Lee S, Chung Y Y, An G. Alteration of floral organ identity in rice through ectopic expression of *OsMADS16*. *Planta*, 2003, 217: 904–911
- [7] Nagasawa N, Miyoshi M, Sano Y, Satoh H, Hirano H, Sakai H, Nagato Y. *SUPERWOMANI*, *DROOPING LEAF* genes control floral organ identity in rice. *Development*, 2003, 130: 705–718
- [8] Xiao H, Wang Y, Liu D F, Wang W M, Li X B, Zhao X F, Xu J C, Zhai W X, Zhu L H. Functional analysis of the rice *AP3* homologue *OsMADS16* by RNA interference. *Plant Mol Biol*, 2003, 52: 957–966
- [9] Yamaguchi T, Lee D Y, Miyao A, Hirochika H, An G, Hirano H Y. Functional diversification of the two C-class MADS box genes *OsMADS3* and *OsMADS58* in *Oryza sativa*. *Plant Cell*, 2006, 18: 15–28
- [10] Pelucchi N, Fornara F, Favalli C, Masiero S, Lago C, Pe M E. Comparative analysis of rice MADS-box genes expressed during flower development. *Sex Plant Reprod*, 2002, 15: 113–122
- [11] Kyoizuka J, Kobayashi T, Morita M, Shimamoto K. Spatially and temporally regulated expression of rice MADS box genes with similarity to *Arabidopsis* class A, B and C genes. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41: 710–718
- [12] Greco R, Stagi L, Colombo L, Angenent G C, Sari-Gorla M, Pè M E. MADS-box genes expressed in developing inflorescences of rice and sorghum. *Mol Gen Genet*, 1997, 253: 615–623
- [13] Rogers S O, Bendich A J. Extraction of DNA from plant tissues. In: Gelvin S B, Schilperoort R A, eds. *Plant Molecular Biology Manual*. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers, 1988. pp A6: 1–10
- [14] Sang X-C(桑贤春), He G-H(何光华), Zhang Y(张毅), Yang Z-L(杨正林), Pei Y(裴炎). The simple gain of templates of rice genomes DNA for PCR. *Hereditas* (遗传), 2003, 25(6): 705–707 (in Chinese with English abstract)
- [15] Luo Y-Z(罗远章), Zhao F-M(赵芳明), Sang X-C(桑贤春), Ling Y-H(凌英华), Yang Z-L(杨正林), He G-H(何光华). Genetic analysis and gene mapping of a novel rolled leaf mutant *rl12(t)* in rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2009, 35(11): 1967–1972 (in Chinese with English abstract)
- [16] Panaud O, Chen X, McCouch S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Gen Genet*, 1996, 259: 297–607
- [17] Kim C, Jeong D H, An G. Molecular cloning and characterization of *OsLRK1* encoding a putative receptor-like protein kinase from *Oryza sativa*. *Plant Sci*, 2000, 152: 17–26
- [18] Agrawal G K, Abe K, Yamazaki M, Miyao A, Hirochika H. Conservation of the E-function for floral organ identity in rice revealed by the analysis of tissue culture-induced loss-of-function mutants of the *OsMADS1* gene. *Plant Mol Biol*, 2005, 59: 125–135
- [19] Yuan Z, Gao S, Xue D W, Luo D, Li L T, Ding S Y, Yao X, Wilson Z A, Qian Q, Zhang D B. *RETARDED PALEA1* controls palea development and floral zygomorphy in rice. *Plant Physiol*, 2009, 149: 235–244
- [20] Luo Q, Zhou K D, Zhao X F, Zeng Q C, Xia H G, Zhai W X, Xu J C, Wu X J, Yang H S, Zhu L H. Identification and fine mapping of a mutant gene for palealess spikelet in rice. *Planta*, 2005, 221: 222–230
- [21] Ohmori S, Kimizu M, Sugita M, Miyao A, Hirochika H, Uchida E, Nagato Y, Yoshida H. *MOSAIC FLORAL ORGANS1*, an AGL6-like MADS box gene, regulates floral organ identity and

- meristem fate in rice. *Plant Cell*, 2009, 21: 3008–3025
- [22] Xiao H, Tang J F, Li Y F, Wang W M, Li X B, Jin L, Xie R, Luo H F, Zhao X F, Meng Z, He G H, Zhu L H. *STAMENLESS 1*, encoding a single C2H2 zinc finger protein, regulates floral organ identity in rice. *Plant J*, 2009, 59: 789–801
- [23] Kyoizuka J, Kobayashi T, Morita M, Shimamoto K. Spatially and temporally regulated expression of rice MADS box genes with similarity to *Arabidopsis* class A, B and C genes. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41: 710–718
- [24] Moon S, Jung K H, Lee D E, Lee D Y, Lee J, An K, Kang H G, An G. The rice FON1 gene controls vegetative and reproductive development by regulating shoot apical meristem size. *Mol Cells*, 2006, 21: 147–152
- [25] Prasad K, Vijayraghavan U. Double-stranded RNA interference of a rice *PI/GLO* paralog, *OsMADS2*, uncovers its second-whorl-specific function in floral organ patterning. *Genetics*, 2003, 165: 2301–2305
- [26] Franks R G, Liu Z C, Fischer R L. SEUSS and LEUNIG regulate cell proliferation, vascular development and organ polarity in *Arabidopsis* petals. *Planta*, 2006, 224: 801–811