

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.02.003

冯萍, 刘杨, 杨杰, 等. 水稻Ⅲ类过氧化物酶基因 *IPH1* 调控水稻株高[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(2): 24-33.

水稻Ⅲ类过氧化物酶基因 *IPH1* 调控水稻株高

冯萍, 刘杨, 杨杰, 马宏蕾, 秦诚, 王楠, 沈文强

西南大学 水稻研究所/农业科学研究院/转基因植物与安全控制重庆市重点实验室, 重庆 400715

摘要: 过氧化物酶(peroxidase, PRX)是过氧化物酶体的标志酶,能够保护细胞免受氧化损伤和解除 H_2O_2 的毒害作用,还可以增强自然杀伤细胞的活性,调节细胞的增殖、分化和凋亡等. 其中Ⅲ类过氧化物酶(CⅢ PRXs)是植物中特有的过氧化物酶家族,通过清除活性氧(ROS)在植物免疫中发挥重要作用,然而 CⅢ PRXs 在水稻株型建立中的功能尚不清楚. 通过基因编辑技术 CRISPR/Cas9 获得 CⅢ PRXs 基因(*LOC_Os12g09460*)两种不同形式的敲除突变体 *iph1-1*, *iph1-2*. *iph1* 突变体的株高显著高于野生型,除倒 1 节节长(即第 5 节)外,其他节节长均显著或极显著长于野生型. 农艺性状考察表明,穗长及结实率等主要性状差异无统计学意义;通过 RT-qPCR 技术进行的表达模式分析表明, *IPH1* 在根、茎、叶、鞘、穗中均表达,并在茎和鞘中表达相对较高;亚细胞定位分析表明, *IPH1* 蛋白主要定位于过氧化物酶体中. 进一步通过生理分析,发现突变体中过氧化物酶活性显著降低,同时 H_2O_2 质量分数显著增加. 这些结果初步证实了 *IPH1* 能够通过过氧化氢途径调控水稻株高的形成,可为丰富株高调控网络提供有利的基因资源,进一步为株型相关生物育种奠定基础.

关键词: 水稻; CRISPR/Cas9 技术; Ⅲ类过氧化物酶; 株高

中图分类号: S511 **文献标志码:** A

文章编号: 1673-9868(2024)02-0024-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



The Class Ⅲ Peroxidase Gene *IPH1* Regulates Plant Height in Rice

FENG Ping, LIU Yang, YANG Jie, MA Honglei,
QIN Cheng, WANG Nan, SHEN Wenqiang

Rice Research Institute, Southwest University/ Academy of Agricultural Sciences/ Chongqing Key Laboratory of Transgenic Plant and Safety Control, Chongqing 400715, China

Abstract: Peroxidase (PRX) is a marker enzyme of peroxisome, which can protect cells from oxidative damage and relieve the toxic effect of H_2O_2 . It can also enhance the activity of natural killer cells and regu-

收稿日期: 2023-07-15

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项(CSTB2022TIAD-KPX0014); 重庆市自然科学基金项目(cstc2021jcyj-bshX0076); 西南大学实验技术研究项目(SYJ2022025).

作者简介: 冯萍, 博士, 实验师, 主要从事水稻分子育种研究.

通信作者: 沈文强, 博士.

late cell proliferation, differentiation and apoptosis. The class Ⅲ peroxidase (CⅢ PRXs) is a unique peroxidase family in plants, which plays an important role in plant immunity by scavenging reactive oxygen species (ROS). However, the function of CⅢ PRXs in the establishment of plant architecture remains unclear in rice. In this study, two different forms of knockout homozygous mutants *iph1-1* and *iph1-2* of CⅢ PRXs gene (*LOC_Os12g09460*) were obtained by CRISPR/Cas9. The plant height of the *iph1* mutant was significantly higher than that of the wild type. Except for the length of the last internode, the lengths of other internodes were significantly or extremely significantly longer than that of the wild type. The investigation of agronomic traits showed that there were no significant differences in main traits such as panicle length and seed setting rate. The expression pattern analyzed by RT-qPCR showed that *IPH1* was expressed in roots, stems, leaves, sheaths and panicles, and was relatively highly expressed in stems and sheaths. Subcellular localization analysis showed that *IPH1* was mainly located in peroxisomes. Through further physiological analysis, it was found that the peroxidase activity in *iph1* mutant was significantly reduced, while the H_2O_2 content was increased. These results preliminarily confirmed that *IPH1* regulates the formation of plant height through the hydrogen peroxide pathway in rice, which can provide favorable gene resources for enriching the plant height regulation network and further lay a good foundation for plant architecture related biological breeding.

Key words: rice (*Oryza sativa* L.); CRISPR/Cas9; CⅢ PRXs; plant height

株高是水稻的重要农艺性状之一,也是构建理想株型的一个重要因素。株高与水稻光合效率、抗倒伏以及产量有着密切的联系。20 世纪的绿色革命在矮化株型育种中取得了巨大成功,然培育兼顾产量和抗倒伏的适宜株高仍是水稻、玉米和小麦等大多数作物的首要育种目标,因此水稻株高的遗传及分子机制一直是研究的热点。

水稻株高主要由节间细胞的数目和大小决定。节间细胞的增殖及扩张受多重因素的影响,包括植物激素、细胞周期、细胞壁合成、表观遗传学及转录因子等,同时也受到外界环境因素的影响,如光照、温度、物种间竞争等。植物激素作为植物中重要的调节因子,参与植物的整个生长发育过程,其中赤霉素(GA)和油菜素内酯(BR)是水稻株高的重要决定因子^[1-2]。*SD1* 编码赤霉素生物合成的关键酶 GA20ox,突变后导致 GA20ox 失活,造成株高降低^[3-4]。*EUI1* 编码细胞色素 P450 单加氧酶 CYP714D1, *eui1* 突变体及 *eui1* RNAi 植株赤霉素含量升高,倒 1 节显著伸长,株高增加,而过表达植株中赤霉素含量降低,导致株高降低,因此 *EUI1* 负调控赤霉素介导的细胞伸长^[5-6]。*D35/OsKO2* 编码贝壳杉烯氧化酶,参与催化赤霉素生物合成的早期步骤,其功能缺失导致 *d35* 株高严重降低^[7]。*SLR1* 编码 1 个 DELLA 蛋白,是赤霉素信号传导的负调控因子,其功能是导致突变体株高降低。*GID1* 编码 1 个可溶的赤霉素受体,类似于激素敏感脂肪酶,并且对具有生物活性的 GAs 具有高度的亲和性,*GID1* 过量表达表现出 GA 高敏感性表型。*GID1* 与 *SLR1* 相互作用,从而形成 GID1-GA-SLR1 复合体,阻止赤霉素信号向下传递^[8-11]。

油菜素内酯能够促进植物生长,在细胞伸长及分裂中也具有重要作用。*BRD1*, *BRD2* 和 *D2* 均参与油菜素内酯的生物合成,分别编码 C-6 氧化酶、氧化还原酶和细胞色素 P450,这些基因的突变导致油菜素内酯生物合成受阻,突变体中油菜素内酯含量降低,表现出严重矮化^[12-14]。*BRI1* 和 *BZR1* 参与油菜素内酯信号转导,分别编码油菜素内酯受体激酶和下游信号分子。*bril* 第 2 节不伸长,株高矮化,并且对外源油菜素内酯不敏感;*BZR1* 能够调控下游油菜素内酯响应基因,干涉植株表现为矮秆^[15-16]。

过氧化物酶是一大类催化各种底物发生氧化的生物体保护酶类家族,在植物的生长发育中具有重要作用。根据功能不同,将过氧化物酶分为 3 类:Ⅰ类(抗坏血酸)过氧化物酶、Ⅱ类(木质素)过氧化物酶和Ⅲ类(分泌型)过氧化物酶^[17]。Ⅲ类过氧化物酶(CⅢ PRXs)广泛分布于植物界并且是植物中特有的一类过氧化物酶,参与植物激素分解代谢、木质素生物合成、种子萌发、细胞伸长和防御病原

体等多种生物生理过程。CⅢ PRXs 基因编码含血红素的酶,接受来自不同分子供体的电子,催化 H_2O_2 的代谢,产生活性氧(ROS,即 OH^- 或 O^{2-})。这些特性使得 CⅢ PRXs 能够在过氧化循环过程中调控损伤植物细胞的 ROS 产生^[18]。CⅢ PRXs 酶活性由 ROS 触发,ROS 的产生由不同的环境刺激诱导,以抵御潜在的威胁^[19]。

Ⅲ类 PRX 家族较为庞大,在水稻和拟南芥中分别包含 138 个和 73 个成员,其中大部分的生物学功能并不清楚^[20-21]。拟南芥中研究表明过氧化物酶与植物生长呈负调控, *AtPRX71* 通过在外质体中积累 H_2O_2 抑制细胞扩张, *atprx71* 突变体莲座叶变大、生物量显著增加,而过表达植株生长缓慢莲座叶变小、生物量显著下降,并且 *AtPRX71* 表达水平的升高会促进 ROS 的积累导致细胞壁成分变化^[22]。 *AtPRX37* 过表达植株生长迟缓,表现为矮化^[23],因此 *AtPRX71* 和 *AtPRX37* 均是拟南芥生长的负调控因子。 *AtPRX72*, *AtPRX52* 和 *AtPRX4* 参与拟南芥木质素的生物合成, *atprx72* 生长缓慢,叶片形态及角果数减少等。 *AtPRX52* 参与木质化过程中微管纤维的合成,突变体中木质素含量降低,木质素生物合成相关基因的表达下调^[24-25]。 *OsPRX38* 在拟南芥中过表达后激活不同抗氧化系统信号网络,促进木质素生物合成,增强根部的木质化程度,导致过表达植株中砷积累减少^[26]。 *AtPRX17* 调控木质化组织的形成,在营养生长向生殖生长的转变过程中受到 AGL15 的调控^[27]。在水稻中, *OsPRX30* 通过调节过氧化物酶体(POD)的活性与 ROS 的含量来调节白叶枯病抗性,而 *OsPRX30* 的表达又受到含有 AT-hook 结构域的转录调节因子 Os-ATH1 的调控,进一步的研究揭示了 OsATH1 通过调节 *OsPRX30* 启动子区内的组蛋白 H3 乙酰化水平进而影响 *OsPRX30* 表达以调控白叶枯病抗性^[28]。目前为止,仅有少数Ⅲ类 PRX 基因生物学功能被揭示,还有大部分尚未报道,尤其在水稻中还未见Ⅲ类 PRX 基因参与调控株高的相关报道。

本研究通过 CRISPR/Cas9 基因编辑技术,在梗稻中花 11 背景下创制的Ⅲ类过氧化物酶家族敲除突变体库中鉴定到 1 个株高变高的突变体,将其命名为 *iph1* (increaseing plant height 1)。与野生型相比, *iph1* 的节明显变长,导致株高增加。本研究通过表型分析、农艺性状考察、表达模式分析、过氧化物酶活性分析、亚细胞定位等对 *IPH1* 进行功能分析,探究 *IPH1* 在调控水稻株高发育及株型形态建成中的作用,为利用该基因进行水稻株型分子设计育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻突变体 *iph1* 来源于以中花 11 为背景的敲除突变体库,经过多代自交,性状能够稳定遗传。所有试验材料均种植于西南大学水稻研究所。

1.2 生物信息学分析

通过 NCBI 数据库的 Blast 工具获取 *IPH1* 的结构域信息和同源蛋白序列,下载同源蛋白序列,并将其保存为 FASTA 文件格式,将 FASTA 文件导入 MEGA5 软件,根据贝叶斯最低分准则利用 Neighbor-joining 方法构建进化树,对 *IPH1* 进行进化分析。

1.3 RNA 提取及 RT-qPCR 分析

利用天根 RNA 提取试剂盒(TIANGEN 生物公司)提取野生型和 *iph1* 突变体总 RNA,并用宝生物 PrimeScript 试剂盒(TaKaRa)将 RNA 反转录成 cDNA。以水稻 ACTIN 为内参基因,使用 PrimerPrimer5.0 软件设计引物(表 1)^[28],用 Bio-Rad 实时荧光定量 PCR 仪(CFX Connect Realtime Reaction System)进行扩增,每个样品设置 3 个重复。基因相对表达量计算用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法,并用 *t* 检验进行差异显著性分析。

1.4 亚细胞定位

为了确定 *IPH1* 的亚细胞定位,使用引物 pAN580-*IPH1*-F 和 pAN580-*IPH1*-R(表 1)从野生型中扩增不含终止密码子的 *IPH1* 编码序列,将该片段克隆到瞬时表达载体 pAN580 的 Xba I /Bam H I 位点上,构建 *IPH1*-GFP 载体。经序列分析验证后,通过 PEG 介导法将 pAN580-GFP 和 *IPH1*-GFP 质粒转化水稻原生质体。28 ℃ 孵育 12~16 h 后,用激光共聚焦显微镜(LSM800, Zeiss, 德国蔡司)观察荧光信号并拍照。

表 1 引物序列

引物名称	序列(5'-3')
RT- <i>IPH1</i> -F	GGGCCATATGGCGATCTATAAG
RT- <i>IPH1</i> -R	CAGGTGTGCAACGTAAATATGTG
pAN580- <i>IPH1</i> -F	AGTCCGGAGCTAGCTCTAGAATGCCCGCTCCAGCTCCACATAT
pAN580- <i>IPH1</i> -R	CTCACCATGGATCCCCGGGCATGTTTCATGATGAGTTCACCTCGCCG
ACTIN-F	TGCTATGTACGTCGCCATCCAG
ACTIN-R	AATGAGTAACCACGCTCCGTCA

1.5 过氧化物酶活性分析

取 8 周龄水稻幼苗的新鲜叶片(300 mg), 在液氮中研磨成粉, 并与 4 mL 0.05 mol/L PBS(pH 值为 7.8)混合在 5 mL 试管中. 快速解冻后, 将试管 7 500 r/min 离心 15 min, 收集上清液(含 POD). 以愈创木酚为供氢体, 采用分光光度计在 405 nm 处测定 OD 值, 根据公式计算过氧化物酶活性^[29].

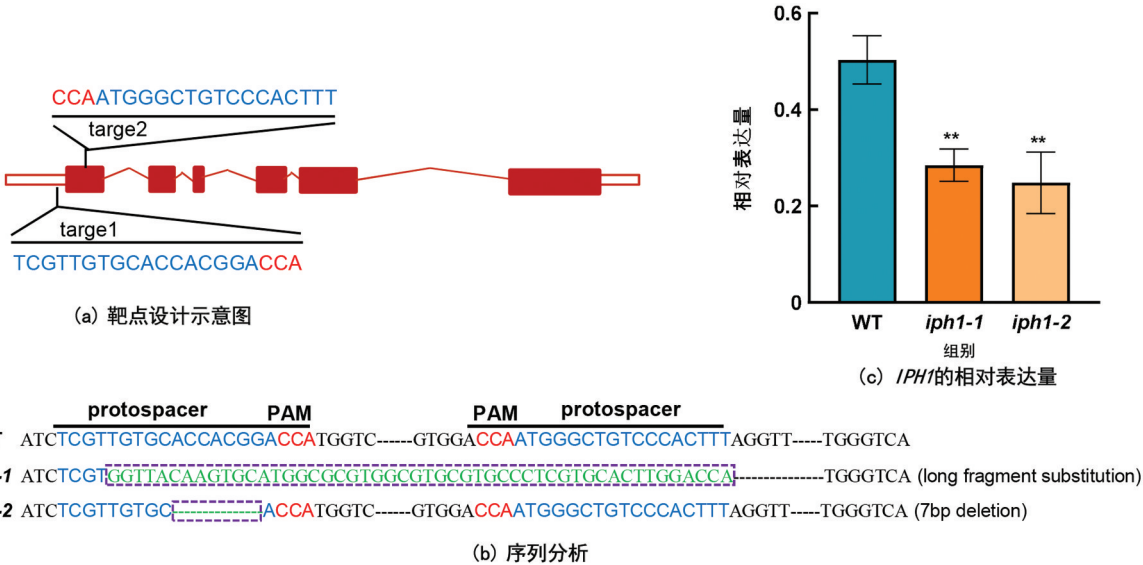
1.6 过氧化氢(H₂O₂)质量分数测定

将野生型和 *iph1* 突变体新鲜组织于液氮中充分研磨, 加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 1 200 r/min 离心 10 min, 取上清液待测. 每个样本设置 3 个重复, 采用南京建成生物工程研究所的 H₂O₂ 试剂盒测定 H₂O₂ 质量分数.

2 结果与分析

2.1 *iph1* 敲除突变体的获得及鉴定

CRISPR/Cas9 表达载体构建的靶点选择如图 1a, 在基因(*LOC_Os12g09460*)的 5'-UTR 及编码区前端设计了 2 个靶点. 通过农杆菌介导转化中花 11 愈伤, 对转基因植株靶点测序, 比对发现 2 个独立的转基因株系在 PAM(protospacer adjacent motif)附近发生了 2 种方式的编辑: *iph1-1* 靶点 1 处发生了大片段替换, 导致 IPH1 蛋白翻译的起始密码子缺失, 无法正常翻译; *iph1-2* 在目标位置缺失了 7 个碱基 (ACCACGG)(图 1b). 进一步通过 qRT-PCR 分析, *IPH1* 在两种编辑方式的突变体中表达均极显著下调(图 1c). 以上结果表明所构建的 *iph1* 突变材料为过氧化物酶基因(*LOC_Os12g09460*)敲除突变体, 可用于后续的表型及生理生化等分析.



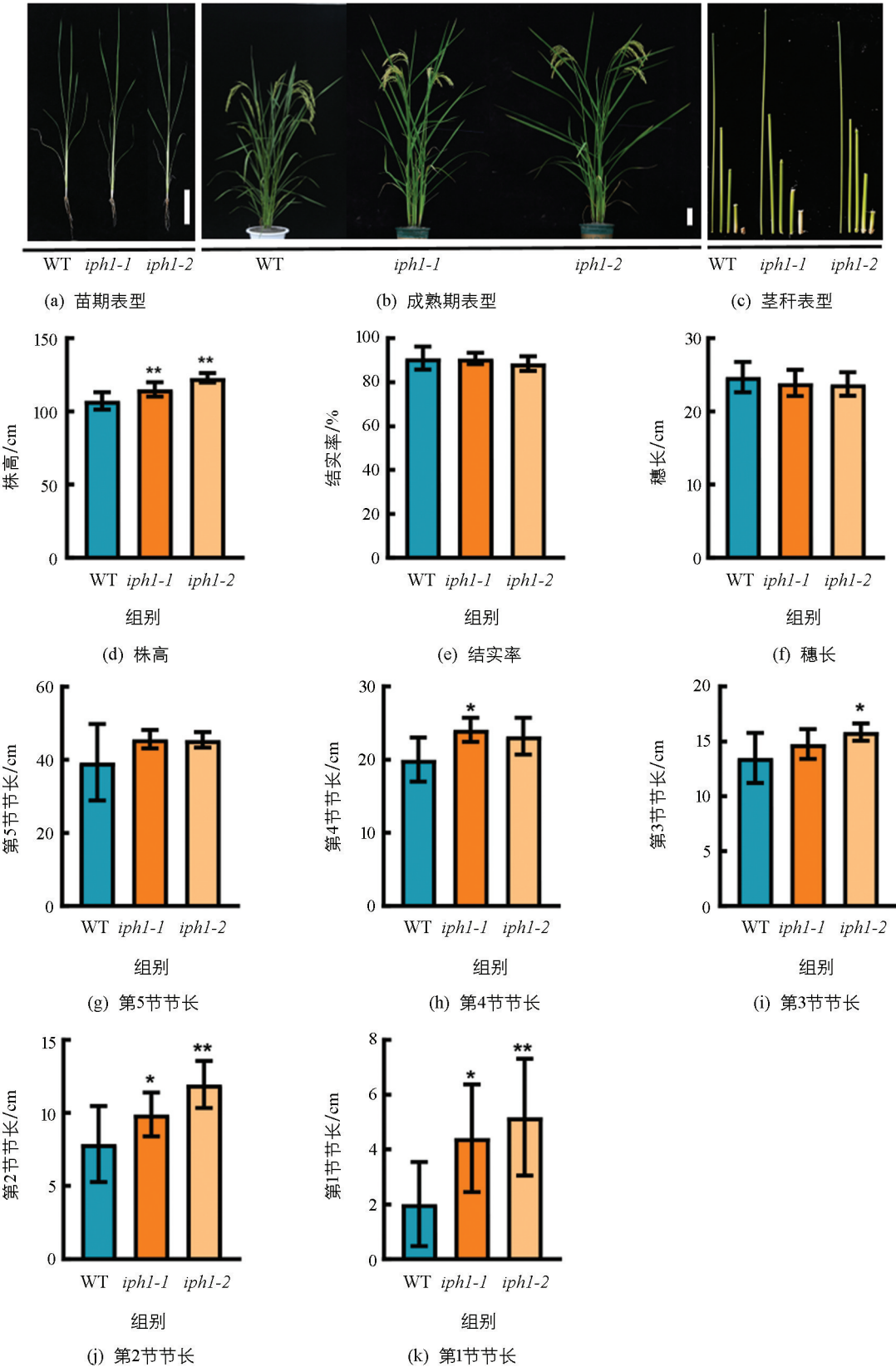
* * 表示 $p < 0.01$, 差异有统计学意义.

图 1 *iph1* 突变体的创制与鉴定

2.2 表型鉴定

对 *iph1* 突变体植株经过多代全生育期的田间观察和统计, 发现 *iph1* 突变株在苗期较野生型差异无统计学意义(图 2a), 在抽穗期至成熟期阶段株高出现差异, 成熟期 *iph1* 突变体的株高显著高于野生型(图

2b), *iph1-1* 和 *iph1-2* 的株高分别增加了 7.4%, 14.6%(图 2d). 结果表明 *IPH1* 基因功能缺失主要影响株高, 且遗传性状稳定.



* 表示 $p < 0.05$, ** 表示 $p < 0.01$, 差异有统计学意义.

图 2 野生型(WT)及 *iph1* 突变体的表型

成熟期时,对野生型和 *iph1-1*, *iph1-2* 突变体的结实率、穗长和各节间长度进行了详细统计. 结果发现, *iph1-1*, *iph1-2* 突变体的结实率、穗长以及倒 1 节(即第 5 节)节长较野生型差异无统计学意义(图 2e 至 2g), *iph1-1* 突变体的第 4 节节长较野生型显著增加, *iph1-2* 突变体的第 3 节节长较野生型显著增加, *iph1-1* 和 *iph1-2* 突变体位于茎基部的第 1 节和第 2 节节长较野生型均显著增加(图 2c, 2h 至 2k). 该结果表明突变体株高变高主要由茎基部节长变化所致.

2.3 生物信息学分析

通过 NCBI 数据库获取 *IPH1* 的结构域信息,发现 *IPH1* 是一个过氧化物酶基因,在氨基酸第 36~120 区间内含有 1 个分泌型过氧化物酶(secretory peroxidase)结构域,属于第Ⅲ类过氧化物酶家族(图 3a);同时也获得了 *IPH1* 蛋白在其他物种的同源蛋白序列,将其保存为 FASTA 文件格式,根据贝叶斯最低分准则,利用 MEGA5 软件的 Neighbor-joining 方法构建进化树,分析发现 *IPH1* 编码的蛋白独立于一个分支,具有高度保守性(图 3b).

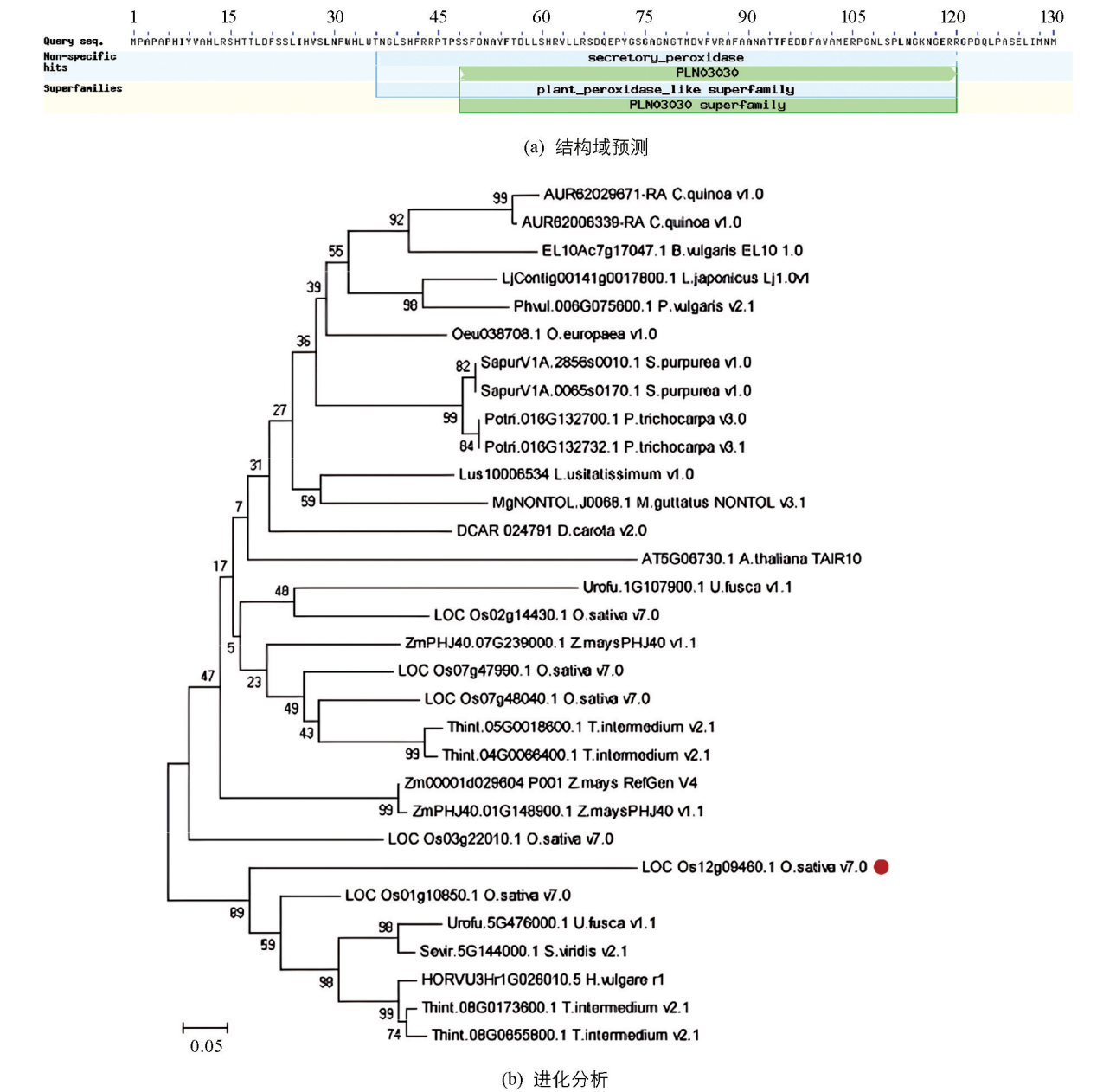


图 3 *IPH1* 结构域及进化分析

2.4 表达模式及亚细胞定位分析

为了确定 *IPH1* 基因在水稻各组织中的表达情况,我们以野生型根、茎、叶、鞘和穗的 cDNA 作为模板,进行实时荧光定量表达分析.结果显示 *IPH1* 转录本在不同部位均有表达(图 4a),其中在茎和鞘中有较高表达.

IPH1 蛋白属于第Ⅲ类过氧化物酶家族蛋白,为了探究 *IPH1* 在细胞内部细胞器的定位情况,将 CaMV35S-*IPH1*-GFP 融合蛋白及过氧化物酶体 CaMV35S-PTS1-mCherry 融合蛋白共同转化水稻原生质体,同时将转化含 CaMV35S-GFP 的空载体 pAN580 作为对照,28 ℃ 避光过夜培养 18 h,利用激光共聚焦显微镜观察荧光信号.结果发现大部分绿色荧光都能与红色荧光重叠(图 4b),表明 *IPH1* 主要定位于过氧化物酶体中.

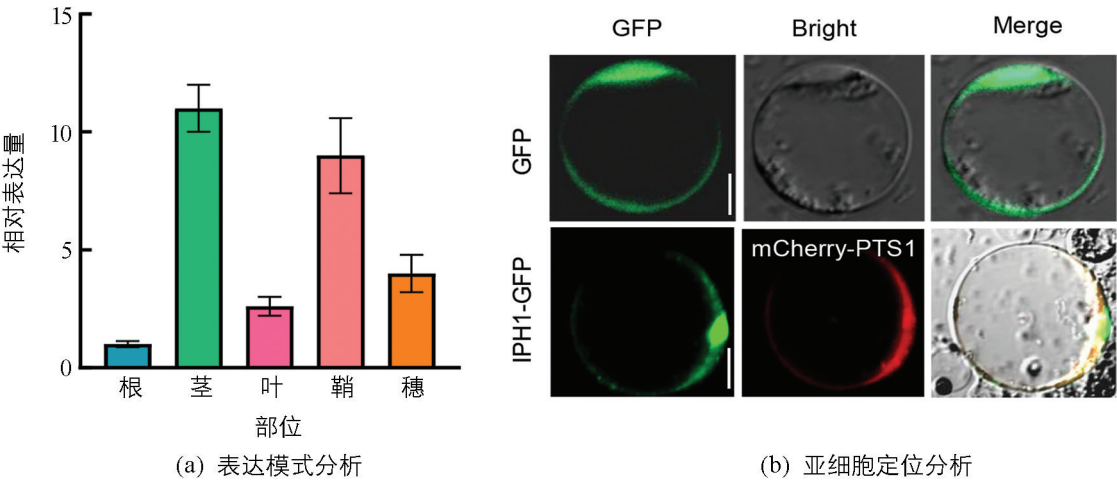
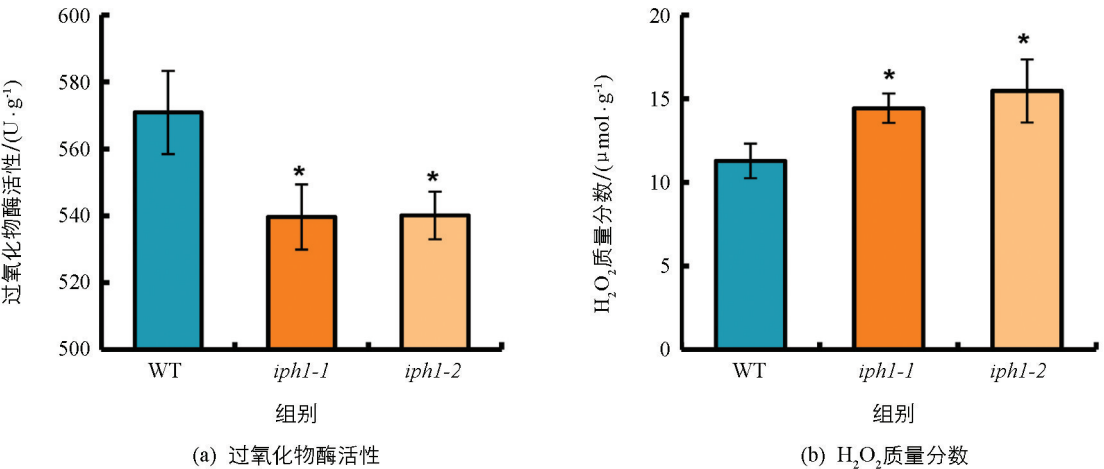


图 4 表达模式和亚细胞定位

2.5 过氧化物酶活性及 H₂O₂ 质量分数分析

IPH1 编码 1 个Ⅲ类过氧化物酶,但 *IPH1* 是否影响过氧化物酶的活性和 H₂O₂ 质量分数尚不清楚,因此,采用分光光度法测定野生型及 *iph1* 突变体植株中的过氧化物酶活性和 H₂O₂ 质量分数.结果显示, *iph1* 突变体的过氧化物酶活性显著降低, H₂O₂ 质量分数显著增加(图 5).



* 表示 $p < 0.05$, 差异有统计学意义.

图 5 过氧化物酶活性及 H₂O₂ 质量分数测定

3 讨论

3.1 *IPH1* 编码 1 个含有分泌型过氧化物酶结构域的新基因

IPH1 是位于水稻第 12 染色体上的一个新基因,目前还未见其生物学功能的相关报道. 蛋白序列分析发现 *IPH1* 包含 1 个分泌型过氧化物酶结构域,属于第Ⅲ类过氧化物酶(Class Ⅲ peroxidases, CⅢ PRXs)家族. CⅢ PRXs 作为一类植物特异性氧化还原酶参与植物激素的分解代谢、木质素的生物合成、细胞伸长和病原菌防御等多种生物学过程^[18], 水稻和拟南芥中 CⅢ PRXs 家族成员分别有 138 个和 73 个^[21]. 目前在水稻中对 CⅢ PRXs 家族基因的功能研究较少,仅有 1 个家族基因 *OsPRX30* 被报道. 该基因编码 1 个主要定位于内质网的过氧化物酶前体蛋白,对细菌性黄单胞菌有反应,过表达 *OsPRX30* 会维持高水平的过氧化物酶(POD)活性和降低过氧化氢质量分数,从而增强植物对白叶枯病的敏感性. 进一步研究揭示含有 AT-hook 结构域的转录因子 *OsATH1* 通过调节 *OsPRX30* 启动子区内的组蛋白 H3 乙酰化水平进而调节 *OsPRX30* 表达,通过调控过氧化物酶体活性与 ROS 量调控白叶枯病抗性^[30]. 本研究中, *IPH1* 蛋白主要定位于过氧化物酶体内,在根、茎、叶、鞘、穗中均有表达,且在茎和鞘中表达相对较高.

3.2 *IPH1* 可能通过过氧化氢途径调控水稻株高

水稻株高是非常重要的一个农艺性状,对抗倒伏及生物量的产生具有重要意义. 株高受到植物激素、细胞周期、细胞壁合成、表观遗传学、转录因子以及光照、温度等多重因素的影响. 如 *SD1*, *EUI1*, *D35/OsKO2*, *SLR1*, *GID1* 等通过调控赤霉素的合成及信号传导等调控细胞分裂或细胞伸长^[3-6, 8-9]. *BRD1*, *BRD2*, *D2*, *BRI1* 和 *BZR1* 通过参与油菜素内酯的生物合成及信号转导调控水稻株高^[12-16]. 此外,一些基因的异常表达也会影响株高, *OsCD1*, *BC12*, *OsGLP1* 等影响水稻细胞伸长或分裂的基因异常表达,导致产生矮化或半矮化表型^[31-33]. 本研究中,鉴定到 1 个编码Ⅲ类过氧化物酶的基因 *IPH1* 影响水稻株高. 有关 CⅢ PRXs 调节植物株高的报道相对有限,小麦新型矮秆突变体 *Rht-B13b* 中 CⅢ PRXs 在扩张组织中表达显著上调, CⅢ PRXs 可以使用 H_2O_2 增加细胞壁交联,从而导致细胞扩增和生长减少,最终使得植株表现为矮化表型^[34]. 本研究中, CⅢ PRXs 家族基因 *IPH1* 不同方式的突变均导致植株高度增加;进一步研究发现, *iph1* 突变体中过氧化物酶活性降低,而 H_2O_2 的质量分数显著增加,因此 *IPH1* 可能通过过氧化氢途径调控水稻株高的形成,但是具体的分子作用机理仍需进一步研究.

4 结论

本研究鉴定了 1 个在粳稻中花 11 背景下敲除的第Ⅲ类过氧化物酶家族突变体 *iph1*. 与野生型相比,两种突变方式的 *iph1* 突变体株高变高的表型能够稳定遗传;进一步统计也发现 *iph1* 突变体的第 1 节和第 2 节节长较野生型显著增加. 生物信息学分析表明, *IPH1* 基因包含 1 个分泌型过氧化物酶结构域,利用同源蛋白序列进行进化树分析,结果显示 *IPH1* 独立于 1 个分枝,具有高度保守性. *IPH1* 基因在各个组织中均有表达且在茎秆中表达相对较高,可能基因在表达水平上会影响表型,亚细胞定位表明该蛋白主要定位于过氧化物酶体中. 生理分析发现突变体过氧化物酶活性降低, H_2O_2 质量分数增加. 本研究为深入了解水稻株高遗传调控网络提供了基因资源,并进一步丰富了株高相关的生物育种材料.

致谢:感谢西南大学徐凡老师在材料创制上给予的帮助.

参考文献:

- [1] YAMAGUCHI S. Gibberellin Metabolism and its Regulation [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 225-251.
- [2] FUJIOKA S, SAKURAI A. Biosynthesis and Metabolism of Brassinosteroids [J]. Physiologia Plantarum, 1997, 100(3): 710-715.
- [3] SASAKI A, ASHIKARI M, UEGUCHI-TANAKA M, et al. A Mutant Gibberellin-synthesis Gene in Rice [J]. Nature, 2002, 416(6882): 701-702.

- [4] MONNAL, KITAZAWAN, YOSHINOR, et al. Positional Cloning of Rice Semidwarfing Gene, *Sd-1*: Rice “Green Revolution Gene” Encodes a Mutant Enzyme Involved in Gibberellin Synthesis [J]. DNA Research, 2002, 9(1): 11-17.
- [5] ZHU Y Y, NOMURA T, XU Y H, et al. *ELONGATED UPPERMOST INTERNODE* Encodes a Cytochrome P450 Monooxygenase that Epoxidizes Gibberellins in a Novel Deactivation Reaction in Rice [J]. The Plant Cell, 2006, 18(2): 442-456.
- [6] LUO A D, QIAN Q, YIN H F, et al. *EUI1*, Encoding a Putative Cytochrome P450 Monooxygenase, Regulates Internode Elongation by Modulating Gibberellin Responses in Rice [J]. Plant and Cell Physiology, 2006, 47(2): 181-191.
- [7] ITOH H, TATSUMI T, SAKAMOTO T, et al. A Rice Semi-dwarf Gene, *Tan-ginbozu (D35)*, Encodes the Gibberellin Biosynthesis Enzyme, Ent-kaurene Oxidase [J]. Plant Molecular Biology, 2004, 54(4): 533-547.
- [8] UEGUCHI-TANAKA M, ASHIKARI M, NAKAJIMA M, et al. *GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1* Encodes a Soluble Receptor for Gibberellin [J]. Nature, 2005, 437(7059): 693-698.
- [9] UEGUCHI-TANAKA M, NAKAJIMA M, KATOH E, et al. Molecular Interactions of a Soluble Gibberellin Receptor, *GID1*, with a Rice DELLA Protein, *SLR1*, and Gibberellin [J]. The Plant Cell, 2007, 19(7): 2140-2155.
- [10] ASANO K, HIRANO K, UEGUCHI-TANAKA M, et al. Isolation and Characterization of Dominant Dwarf Mutants, *Slr1-d*, in Rice [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2009, 281(2): 223-231.
- [11] IKEDA A, UEGUCHI-TANAKA M, SONODA Y, et al. *Slender rice*, a Constitutive Gibberellin Response Mutant, is Caused by a Null Mutation of the *SLR1* Gene, an Ortholog of the Height-Regulating Gene *GAI/RGA/RHT/D8* [J]. The Plant Cell, 2001, 13(5): 999-1010.
- [12] MORI M, NOMURA T, OOKA H, et al. Isolation and Characterization of a Rice Dwarf Mutant with a Defect in Brassinosteroid Biosynthesis [J]. Plant Physiology, 2002, 130(3): 1152-1161.
- [13] HONG Z, UEGUCHI-TANAKA M, FUJIOKA S, et al. 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 [J]. The Plant Cell, 2005, 17(8): 2243-2254.
- [14] HONG Z, UEGUCHI-TANAKA M, UMEMURA K, et al. A Rice Brassinosteroid-deficient Mutant, *Ebisudwarf (d2)*, is Caused by a Loss of Function of a New Member of Cytochrome P450 [J]. The Plant Cell, 2003, 15(12): 2900-2910.
- [15] BAI M Y, ZHANG L Y, GAMPALA S S, et al. Functions of OsBZR1 and 14-3-3 Proteins in Brassinosteroid Signaling in Rice [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(34): 13839-13844.
- [16] YAMAMURO C, IHARA Y, WU X, et al. Loss of Function of a Rice Brassinosteroid Insensitive1 Homolog Prevents Internode Elongation and Bending of the Lamina Joint [J]. The Plant Cell, 2000, 12(9): 1591-1606.
- [17] BHATT I, TRIPATHI B N. Plant Peroxiredoxins: Catalytic Mechanisms, Functional Significance and Future Perspectives [J]. Biotechnology Advances, 2011, 29(6): 850-859.
- [18] ALMAGRO L, GÓMEZROS L V, BELCHI-NAVARRO S, et al. Class III Peroxidases in Plant Defence Reactions [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(2): 377-390.
- [19] HOSSAIN M A, BHATTACHARJEE S, ARMIN S M, et al. Hydrogen Peroxide Priming Modulates Abiotic Oxidative Stress Tolerance: Insights from ROS Detoxification and Scavenging [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6(1): 420.
- [20] HIRAGAS, SASAKI K, ITOH, et al. A Large Family of Class III Plant Peroxidases [J]. Plant and Cell Physiology, 2001, 42(5): 462-468.
- [21] PASSARDI F, LONGET D, PENEL C, et al. The Class III Peroxidase Multigenic Family in Rice and Its Evolution in Land Plants [J]. Phytochemistry, 2004, 65(13): 1879-1893.
- [22] RAGGI S, FERRARINI A, DELLEDONNE M, et al. The Arabidopsis Thaliana Class III Peroxidase *AtPRX71* Negatively Regulates Growth under Physiological Conditions and in Response to Cell Wall Damage [J]. Plant Physiology, 2015, 169: 2513-2525.
- [23] PEDREIRA J, HERRERAMT, ZARRA I, et al. The Overexpression of *AtPrx37*, an Apoplastic Peroxidase, Reduces

- Growth in *Arabidopsis* [J]. *Physiologia Plantarum*, 2011, 141(2): 177-187.
- [24] FERNÁNDEZ-PÉREZF, POMAR F, PEDREÑO M A, et al. The Suppression of *AtPrx52* Affects Fibers but not Xylem Lignification in *Arabidopsis* by Altering the Proportion of Syringyl Units [J]. *Physiologia Plantarum*, 2015, 154(3): 395-406.
- [25] HERRERO J, FERNÁNDEZ-PÉREZ F, YEBRA T, et al. Bioinformatic and Functional Characterization of the Basic Peroxidase 72 from *Arabidopsis Thaliana* Involved in Lignin Biosynthesis [J]. *Planta*, 2013, 237(6): 1599-1612.
- [26] KIDWAI M, DHAR Y V, GAUTAM N, et al. *Oryza Sativa* Class Ⅲ Peroxidase (*OsPRX38*) Overexpression in *Arabidopsis Thaliana* Reduces Arsenic Accumulation Due to Apoplastic Lignification [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 362: 383-393.
- [27] COSIO C, RANOCHA P, FRANCOZ E, et al. The Class Ⅲ Peroxidase PRX17 is a Direct Target of the MADS-box Transcription Factor AGAMOUS-LIKE15 (*AGL15*) and Participates in Lignified Tissue Formation [J]. *The New Phytologist*, 2017, 213(1): 250-263.
- [28] 朱洪慧, 李映姿, 王成洋, 等. 水稻小粒突变体 *smg2* 的表型鉴定和候选基因分析 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2023, 45(1): 2-11.
- [29] LIU H, DONG S Y, LI M, et al. The Class Ⅲ Peroxidase Gene *OsPrx30*, Transcriptionally Modulated by the AT-hook Protein *OsATH1*, Mediates Rice Bacterial Blight-induced ROS Accumulation [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, 63(2): 393-408.
- [30] CAI K Z, GAO D, LUO S M, et al. Physiological and Cytological Mechanisms of Silicon-induced Resistance in Rice Against Blast Disease [J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 134(2): 324-333.
- [31] KIM Y S, PARK S, KANG K, et al. Tyramine Accumulation in Rice Cells Caused a Dwarf Phenotype via Reduced Cell Division [J]. *Planta*, 2011, 233(2): 251-260.
- [32] LUAN W J, LIU Y Q, ZHANG F X, et al. *OsCD1* Encodes a Putative Member of the Cellulose Synthase-like D Subfamily and is Essential for Rice Plant Architecture and Growth [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2011, 9(4): 513-524.
- [33] ZHANG M, ZHANG B C, QIAN Q A, et al. Brittle Culm 12, a Dual-targeting Kinesin-4 Protein, Controls Cell-Cycle Progression and Wall Properties in Rice [J]. *The Plant Journal*, 2010, 63(2): 312-328.
- [34] BORRILL P, MAGO R, XU T Y, et al. An Autoactive *NB-LRR* Gene Causes *Rht13* Dwarfism in Wheat [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(48): e2085092177.

责任编辑 周仁惠