

油菜素内酯对水稻根系发育的调控作用

赵雪松[#] 王 倩[#] 闫青地 赵亚林 王凤茹^{*} 董金皋

(河北农业大学生命科学学院, 保定 071001)

摘要 在油菜素甾醇(brassinosteroids, BRs)化合物中, 油菜素内酯(brassinolide, BL)具有活性最高、广谱和无毒等显著特点, 而且具有改良植株型、提高抗逆性等功效。根系是植物吸收水分和矿质元素的主要器官, 因此阐明油菜素内酯调控根系发育的遗传、生理和生化机制, 有利于更有效地利用BRs激素, 实现株型的定向设计。该研究利用叶面喷施的方法分析油菜素内酯对根系侧根、根毛发育的影响; 利用植物显微技术分析油菜素内酯对根系侧根结构及发育的作用; 利用高压液相色谱法检测油菜素内酯对根系内其他植物激素含量的影响; 利用蛋白质组学技术鉴定受油菜素内酯调控的蛋白质, 分析油菜素内酯调控根系发育的生化机制。研究表明, 一定浓度的油菜素内酯促进种子根、侧根、根毛的发生; 提高根系细胞分裂素和赤霉素含量; 可能通过调控逆境相关蛋白质来提高植物的抗逆性。

关键词 油菜素甾醇; 油菜素内酯; 根; 蛋白质组学

Function of Brassinolide in the Regulation of Root Development in Rice

Zhao Xuesong[#], Wang Qian[#], Yan Qingdi, Zhao Yalin, Wang Fengru^{*}, Dong Jingao

(College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract In brassinosteroids (BRs) compounds, brassinolide (BL) has the highest activity, and other significant characteristics of broad spectrum and non-toxic, improving the plant type and resistance, and so on. Root is the main organ of plants absorbing water and nutrients, therefore we will clarify the genetic, physiological and biochemical mechanisms of BRs on the regulation of root development, for the more effective use of BRs hormone, architecture design and implementation of the directional. In present study, we analyze the influence of brassinolide on root development by foliar spraying method. We analyze of effects of brassinolide on root system development by plant microscopy technique. Then, we detect the influence of brassinolide on the other phytohormones content by high pressure liquid chromatography. We also identify proteins regulated by brassinosteroid by proteomics methods and analyze the physiological mechanism of brassinolide on the regulation of root system development. The results show that brassinosteroids of certain concentration can promote seed root and lateral root. Root cytokinin and gibberellin content increased through regulation of growth-related enzymes to improve plant development. BRs can promote the growth of rice seed root and lateral root and root hair. It may enhance the plant resistant through regulation stress related proteins.

Keywords brassinosteroids; brassinolide; root; proteomics

收稿日期: 2016-03-25 接受日期: 2016-08-29

国家自然科学基金(批准号: 31401759)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通讯作者。Tel: 0312-7528246, E-mail: wfr15931945160@126.com

Received: March 25, 2016 Accepted: August 29, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31401759)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-312-7528246, E-mail: wfr15931945160@126.com

网络出版时间: 2016-11-01 10:21:11

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161101.1021.002.html>

植物生长调节剂可对植物的内部生理过程和外部性状进行双重调控,改善植物和环境的互作关系,增强作物的抗逆能力,提高作物的产量,改进农产品品质,使作物农艺性状按人们需要的方向发展。油菜素内酯(brassinolide, BL)高效、广谱、无毒,具有广阔的应用前景。油菜素甾醇(brassinosteroids, BRs)在植物的生长、发育和繁殖过程中都起着非常重要的作用, BRs具有以下优点: (1)BRs对人安全、无毒,甚至有益。研究表明, BRs是哺乳动物帕金森病的有效抗氧化剂和神经保护剂^[1],可改善小鼠的角膜炎^[2]。(2)BRs可调控植物的产量,当水稻中转入玉米、水稻和拟南芥的BRs合成途径中的编码C-22羟基化酶的基因,均可增加水稻的分蘖数、每穗粒数和千粒重的增加,从而提高水稻的产量^[3]。(3)BRs可增强植物的抗逆性、降低农药残留^[4-6]。因此, BRs是具有广阔应用前景的化控激素。

然而, BRs调控植物生长发育的详细机理尚不清晰。一系列BRs信号转导组分相关突变体的相继被鉴定为BRs调控水稻生长发育机制及其信号转导的研究打开了突破口^[7]。在水稻中, BRs受体基因*OsBR1*(brassinosteroid insensitive 1 in *Oryza sativa*)是BRs信号途径中第一个被克隆的基因。相比野生型, *OsBR1*的突变体*d61-4*表现为植株矮小、叶片直立、种子小和第二节间缩短^[8]。随后,利用BRs信号转导组分突变体,研究者先后克隆得到*OsDWARF*^[9-10]、*OsCYP90D2*^[11-12]、*OsCYP90D3*^[11-12]、*OsCYP724B1*^[13]、*OsCYP90B2*^[14]、*OsBRD2*^[15]、*OsCYP734A2*^[14,16]、*OsCYP734A4*^[14,16]和*OsCYP734A6*^[14,16]这些BRs合成基因。这些BRs合成基因的突变体表现出生长受抑制、株型矮小、叶片直立、叶色暗绿、育性降低或不育等表型。BRs调控植物的生长发育是通过受BRs调控的蛋白质来实现的,因此, BRs调节蛋白的功能研究对阐明BRs调控植物生长发育的机理意义重大。迄今为止,关于BRs调节蛋白的研究还很少,目前在BRs信号转导下游,控制生长发育基因的研究基本上是来自基因芯片的结果,借助基因芯片结果,受BRs调节的基因*OsBLE1*和*OsMPD1*相继被克隆和分析^[17-18], BL处理后, *OsBLE1*的表达量明显增加,反义*OsBLE1*转基因水稻的生长受到抑制,表明*OsBLE1*参与到BRs调控的植物生长发育过程中。*OsMPD1*的表达量被BRs处理所抑制,反义*OsMPD1*转基因植株对外源BRs超敏感,说明, *OsMPD1*基因在BRs信号转导中起负调控作用。

*OsMADS22*和*OsMADS55*是*OsMPD1*的同源基因,现已证明它们也在BRs信号转导中起负调控作用^[19]。此外,关于BRs调节蛋白的功能研究尚未见报道。

本研究以我国主要粮食作物水稻为研究对象,充分利用植物形态学、发育生物学、植物生理生化学、蛋白质组学等多学科的理论及先进技术为手段,旨在阐明BRs调控植物根系生长发育的规律,明确BRs调控根系发育的生化机制。本文研究结果对现代农业模式下大幅度提高粮食产量、提高作物品质和增强作物的抗逆性意义重大。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验品种为粳稻品种日本晴(*Oryza sativa* L. ssp. *japonica* cv. *Nipponbare*)。BRs合成酶相关突变体*brd1-3*, BRs受体不敏感突变体*d61-4*,水稻幼苗的培养条件为30 °C、12 h光照; 25 °C、12 h黑暗;实验所用油菜素内酯为人工合成的24-表油菜素内酯(24-Epicastasterone, 24-eBL)。

1.2 实验方法

1.2.1 油菜素内酯对根系发育的影响 采用叶面喷施的方法,在水稻三叶一心期,叶面喷施不同浓度的24-eBL,每株20 mL,全株均匀喷施。统计种子根、侧根数目,在解剖镜下观察根毛生长状况。

1.2.2 侧根及根毛发生的观察 采用植物显微技术以及石蜡切片的方法。

1.2.3 激素含量的测定 采用高压液相色谱法。在水稻三叶一心期,用含1 000 nmol/L 24-eBL的木村B营养液培养,分别在处理后0、12、24 h取根系为材料,用高压液相色谱法测定总的细胞分裂素(cytokinin, CTK, 又称玉米素, zeatin)、赤霉素3(gibberellin 3, GA3)、生长素(auxin, 结合态和自由态总量)和脱落酸(abscisic acid, ABA)的含量。

1.2.4 BRs调控蛋白的鉴定 采用双向电泳和质谱技术。在水稻三叶一心期,用含1 000 nmol/L 24-eBL的木村B营养液培养,分别在处理后0、6 h取根系为材料,用双向电泳和质谱技术鉴定水稻根系中受BRs调控的蛋白质,具体方法见参考文献[20]。

2 结果

2.1 BRs对水稻根系发育的影响

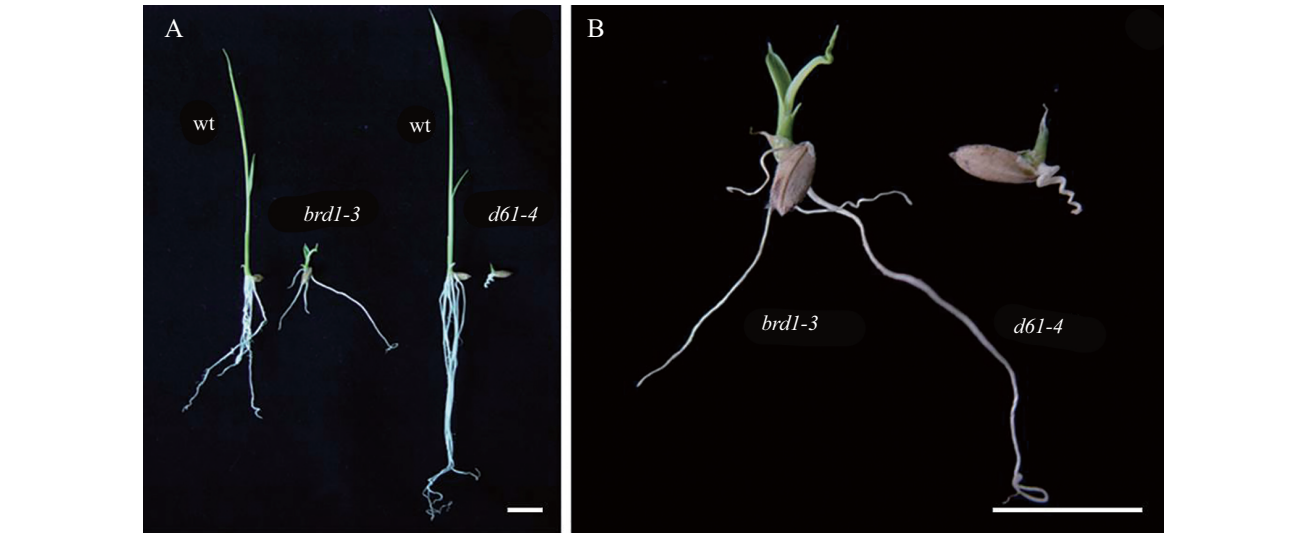
2.1.1 水稻内源BRs合成受阻或BRs信号转导受阻

对根系生长发育的影响 本研究比较了BRs合成酶相关突变体(*brd1-3*)、BRs受体突变体(*d61-4*)和野生型水稻(wt)根系的形态特征,结果表明, BRs合成受阻造成根系生长受到抑制,当植物不能感受BRs信号时,根系受抑制程度加重(图1)。此结果表明, BRs受体在根系发育过程中具有重要的功能。

2.1.2 外源施加BRs对水稻根系发育的影响 在水稻三叶一心期喷施24-eBL, 喷施7 d后,对根系生长情况进行观察(图2), 每个处理统计50株(表1)。结果

表明, 0.1、1 nmol/L的低浓度24-eBL可促进根系的发育, 当24-eBL浓度升高到10 nmol/L时, 根系的伸长生长受到抑制, 但侧根增多; 当24-eBL浓度升高到100 nmol/L时, 水稻主根生长明显被抑制, 但侧根生长明显被促进(图2和表1)。此结果说明, 在一定浓度范围内, BRs可促进侧根的发育。

2.1.3 外源施加24-eBL对侧根发生的影响 在水稻种子萌发后, 用10 nmol/L 24-eBL处理, 2 d后, 种子根长至4 cm, 取近基部1 cm的一段, 进行显微观察,



A: BRs合成酶相关突变体(*brd1-3*)及BRs不敏感突变体(*d61-4*)与各自野生型水稻(wt)的形态比较; B: BRs合成酶相关突变体(*brd1-3*)及BR不敏感突变体(*d61-4*)的放大图。标尺=2 cm。

A: BRs synthetic enzyme mutant (*brd1-3*) and BRs insensitive mutant (*d61-4*) and their wild type (wt) of rice; B: BRs synthetic enzyme mutant (*brd1-3*) and BRs insensitive mutant (*d61-4*) enlarge figure. Scale bars=2 cm.

图1 BRs突变体的根系形态
Fig.1 Root morphology of the BRs mutants



从左到右喷施24-eBL的浓度分别为0、0.1、1、10、100、1 000 nmol/L。标尺=1 cm。
From left to right, the concentration of the spraying 0, 0.1, 1, 10, 100, 1 000 nmol/L 24-eBL, respectively. Scale bar=1 cm.

图2 外源施加24-eBL对水稻根系发育的影响
Fig.2 Exogenous 24-eBL effects on development of rice root system

表1 外源施加24-eBL对水稻根系生长发育的影响

Table 1 Exogenous 24-eBL influence on development of rice root system

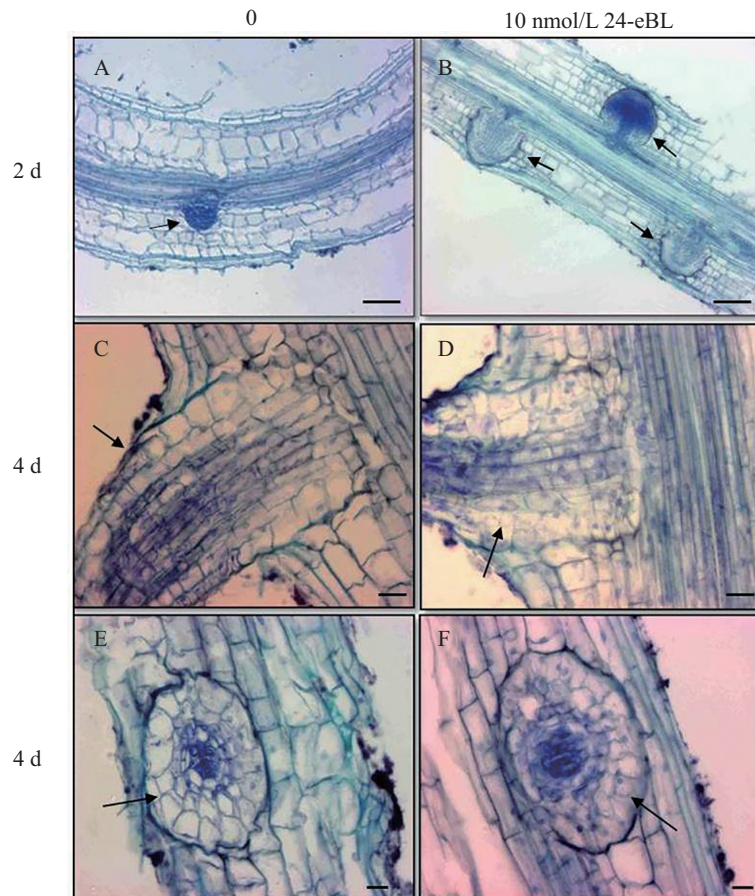
24-eBL浓度(nmol/L)	主根的长度(cm)	侧根的数目
The 24-eBL concentration (nmol/L)	The taproot length (cm)	Lateral root number
0	2.5±0.2	0
0.1	16.0±0.1*	0
1	14.8±0.1	0
10	9.4±0.2*	6
100	4.8±0.1*	9
1 000	4.3±0.3*	7

表中数据为平均值±标准误, 数据是通过对50株幼苗的统计分析得到, *表示方差分析差异水平为显著, 侧根数目统计的是长度大于1 cm的侧根。
The data in the table are means±S.E.M., data is obtained by statistical analysis of 50 seedling, * says variance analysis for significant difference level, lateral root number statistic is greater than 1 cm length of lateral root.

统计结果表明, BRs可促进侧根的发生(图3A和图3B)。取侧根进行纵切(图3C和图3D)和横切(图3E和图3F), 发现BRs不影响侧根的结构。

2.1.4 24-eBL对根毛发生的影响 在解剖镜下, 观察BRs对根毛发育的影响, 结果表明, 在正常生长条件下, 根毛正常发育(图4A), 在BRs合成抑制剂BRZ

处理后, 根毛生长受到明显抑制(图4B)。0.1 nmol/L 24-eBL处理后, 经处理的植株的根毛(图4D)明显比对照(图4C)长。10和100 nmol/L 24-eBL处理后(图4E和图4F), 经处理植株的根毛长度虽然低于0.1 nmol/L 24-eBL处理组, 但依然比对照长(图4C~图4F)。这说明BRs在根毛发育过程中具有重要的调控作用。



A、B: 箭头示侧根原基; C、D: 箭头示侧根纵切面; E、F: 箭头示侧根横切面。标尺=50 μm。

A,B: arrow lateral root primordia; C,D: arrow lateral root longitudinal section; E,F: arrow lateral root transverse section. Scale bars=50 μm.

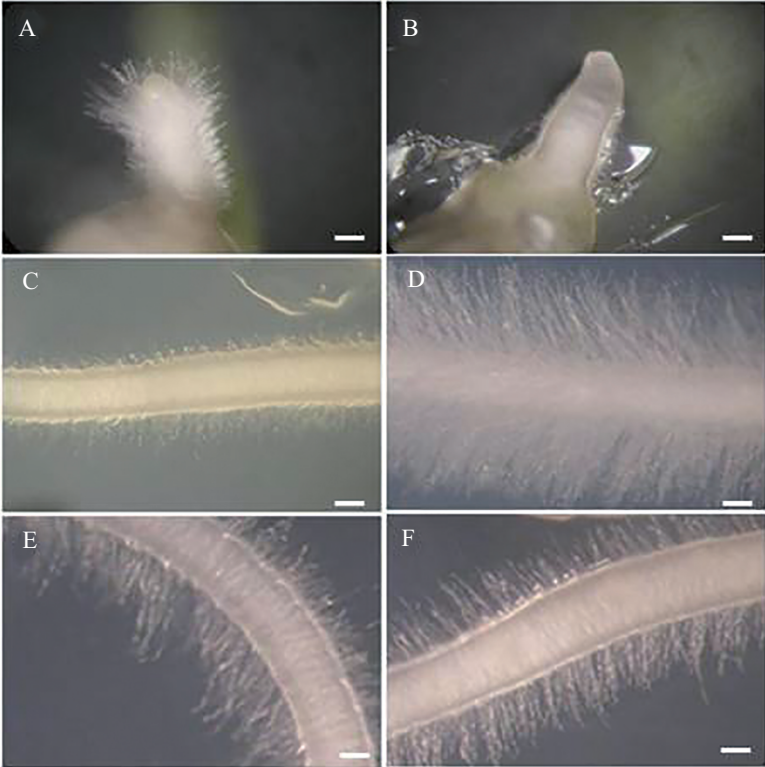
图3 24-eBL对侧根发生和结构的影响

Fig.3 The effects of 24-eBL on the initiation and structure of lateral root

2.2 外源施加24-eBL对植物激素含量的影响

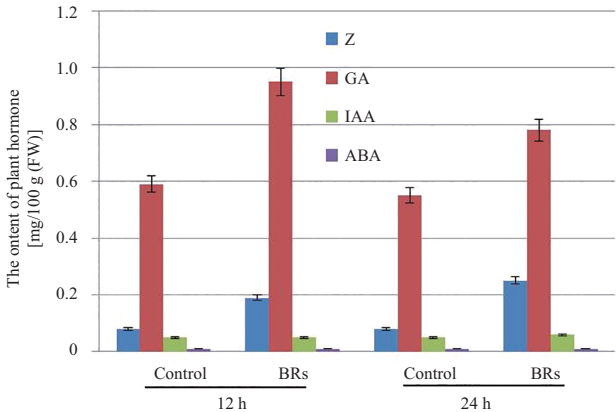
植物激素如生长素、GA3、BRs、CTK、ABA和乙烯(ethyne, ETH), 它们都是些简单的小分子有机化合物, 但它们的生理效应却非常复杂、多样。这些激素协同作用, 调控细胞的分裂、伸长、分化, 进一步影响植物生根、发芽、开花、性别决定、结实、果实脱落和休眠等。激素间的交互作用一直是

生物学家研究的热点, 本研究通过高压液相色谱分析了BRs处理后对根系内部其他激素含量的影响。由于1 000 nmol/L 24-eBL处理后水稻根系的表型很明显(图2), 因此我们选用了此浓度处理, 结果表明, 1 000 nmol/L 24-eBL处理后12 h和24 h后, 细胞分裂素和赤霉素的含量明显上升, 而生长素和脱落酸含量没有明显的变化(图5)。



A、B: 正常生长条件和BRs合成抑制剂BRZ处理后的水稻根毛; C~F: 0、0.1、10和100 nmol/L 24-eBL处理后的水稻根毛。标尺=1 μm。
A,B: the rice root hair after normal growth conditions and BRs synthesis inhibitors BRZ treatment; C-F: the rice root hair after 0, 0.1, 10 and 100 nmol/L 24-eBL treatment. Scale bars=1 μm.

图4 24-eBL对根毛发育的影响
Fig.4 The effects of 24-eBL on root hair growth



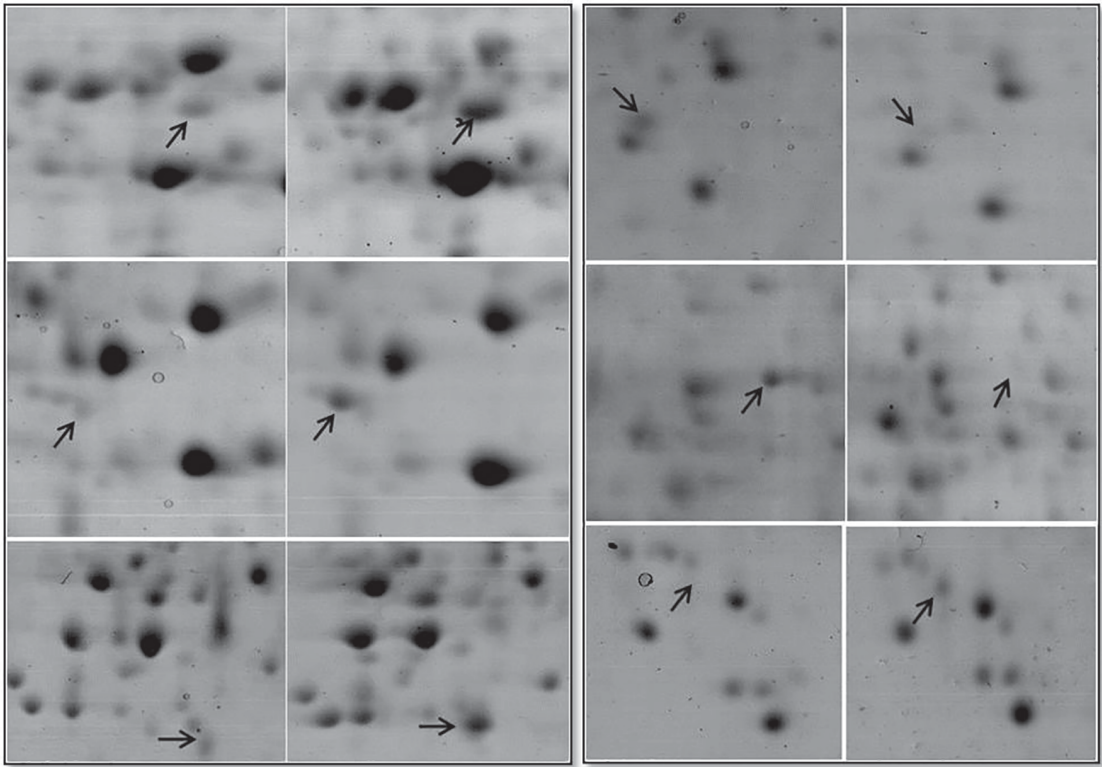
Z: 细胞分裂素/玉米素; GA3: 赤霉素3; IAA: 生长素3-吲哚丁酸; ABA: 脱落酸。
Z: cytokinin/zeatin; GA3: gibberellin 3; IAA: auxin 3-indolebutyric acid; ABA: abscisic acid .

图5 24-eBL对根系内部其他激素含量的影响
Fig.5 Effects of 24-eBL on other hormones content in the root

2.3 根系中受BRs调控的蛋白质的鉴定

上述结果表明, 1 000 nmol/L 24-eBL处理可明显促进水稻侧根的发育。受BRs调控的蛋白质的鉴定有利于揭示BRs调控根系发育的分子机制。本项目选用1 000 nmol/L 24-eBL处理6 h后的根系为研究对象, 通过双向电泳和质谱分析鉴定受BRs调控的蛋白质, 鉴定到6个受BRs调控的蛋白质(图6和表2), 为揭示BRs调控根系发育的潜在机制提供了重要线索。

从上述结果可以看出, 油菜素内酯可以上调细胞骨架蛋白、葡萄糖代谢相关酶类和具有抗病功能的延伸因子4A的表达量, 降低1,4-苯醌还原酶(1,4-benzoquinone reductase)和生长素酰胺水解酶(IAA amidohydrolase)的表达量, 说明BRs可调控上述蛋白质参与代谢和抗病的调控。生长素酰胺水解酶可以催化结合态的生长素水解成自由态的生长素, 生长素在调控植物生长发育方面具有重要的作用, 这是BRs和生长素交互作用的又一强有力的证据。



箭头示受BRs调控的蛋白质。
Arrows lateral BRs regulated proteins.

图6 双向电泳技术鉴定水稻根系中受BRs调控的蛋白质

Fig.6 The BRs regulated proteins were identified by two-dimensional electrophoresis technology in rice roots

表2 水稻根系中受BRs调控的蛋白质
Table 2 Proteins regulated by BRs in rice roots

编号 Code	蛋白质名称 Protein name	作用 Function	BRs调控效应 BRs regulation
gi 50946591	Putative activator of 90 kDa heat shock protein	Stress related protein	Up-regulated
gi 295885	Actin	Cytoskeleton protein	Up-regulated
gi 34897872	Phosphogluconate dehydrogenase	Glucose metabolism	Up-regulated
gi 303844	Eukaryotic initiation factor 4A	Antiviral, disease resistance	Up-regulated
gi 53749369	1,4-benzoquinone reductase	Quinone metabolic reactions	Down-regulated
gi 50919967	IAA amidohydrolase	Catalytic combination state auxin into free	Down-regulated

3 讨论

IAA是一种调控植物细胞伸长和分化的信号分子^[21]。植物体内的自由态IAA很少,大部分IAA结合在氨基酸、多肽、糖上。这些结合态的生长素可以储存、运输IAA,防止IAA被氧化分解^[22]。植物体内有活性的IAA来自于两个途径,一条途径是新合成,另一条途径是水解结合态的IAA^[23]。而IAA水解酶可以从结合态释放自由态IAA,因此这种水解酶可能在调节自由态IAA的水平上起着非常重要的作用。已有实验表明,无论野生稻还是栽培稻都含有非常显著的IAA乙酰胺水解酶,而且水稻的各个器官也含有IAA乙酰胺水解酶^[24]。研究发现,这种酶不仅具有酰胺酶的活性还具有酯酶的活性,因此,水稻中的酰胺水解酶可能通过水解结合态IAA调控体内自由态IAA的水平^[25]。本研究中蛋白质组学实验结果表明,外源BRs处理可以改变IAA酰胺水解酶的积累水平。这些结果表明,BRs可以通过调控IAA酰胺水解酶的积累而调节水稻体内自由态IAA的水平。

已有很多激素之间相互影响的报道,乙烯不敏感突变体*wei2*和*wei7*中auxin合成的限速酶AS(anthranilate synthase)的形成受到明显的影响。进一步的auxin含量测定证实乙烯确实影响了auxin的合成,*TAA1*发生突变的乙烯不敏感突变体*wei8*也影响了auxin的合成^[26]。本研究中,利用高压液相色谱分析外源1 $\mu\text{mol/L}$ 24-eBL处理0、12和24 h后的水稻根系中总生长素的量,结果表明,没有明显的变化;但双向电泳结果表明,外源1 $\mu\text{mol/L}$ 24-eBL处理6 h后,IAA酰胺水解酶的积累受到了明显的抑制,说明由IAA酰胺水解酶催化的由结合态生长素转化为游离态生长素的过程可能受到抑制,因而造成根尖顶端优势的丧失,促进了侧根的发育。可见,BRs可能同乙烯调控auxin合成的机制相类似,也影响了水稻体内IAA的积累。因此,BRs可能影响具有生物活性的IAA的水平而调控水稻的生长发育。

参考文献 (References)

- Carange J, Longpré F, Daoust B, Martinoli MG. 24-Epibrassinolide, a phytosterol from the brassinosteroid family, protects dopaminergic cells against MPP⁺-induced oxidative stress and apoptosis. *J Toxicol* 2011; 2011: 392859.
- Michelini FM, Berra A, Alché LE. The *in vitro* immunomodulatory activity of a synthetic brassinosteroid analogue would account for the improvement of herpetic stromal keratitis in mice. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008; 108(1): 164-70.
- Wu CY, Trieu A, Radhakrishnan P, Kwok SF, Harris S, Zhang K, *et al.* Brassinosteroids regulate grain filling in rice. *Plant Cell* 2008; 20(8): 2130-45.
- Deng XG, Zhu T, Zhang DW, Lin HH. The alternative respiratory pathway is involved in brassinosteroid-induced environmental stress tolerance in *Nicotiana benthamiana*. *J Exp Bot* 2015; 66(20): 6219-32.
- Wei LJ, Deng XG, Zhu T, Zheng T, Li PX, Wu JQ, *et al.* Ethylene is involved in brassinosteroids induced alternative respiratory pathway in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings response to abiotic stress. *Front Plant Sci* 2015; 10(6): 982.
- Deng XG, Zhu T, Peng XJ, Xi DH, Guo H, Yin Y, *et al.* Role of brassinosteroid signaling in modulating tobacco mosaic virus resistance in *Nicotiana benthamiana*. *Sci Rep* 2016; 3(6): 20579.
- 李辉, 左钦月, 涂升斌. 油菜素内酯生物合成和代谢研究进展. *植物生理学报*(Li Hui, Zuo Qinyue, Tu Shengbin. Advances in brassinosteroid biosynthesis and metabolism. *Plant Physiol J*) 2015; 51(11): 1787-98.
- Yamamuro C, Ihara Y, Wu X, Noguchi T, Fujioka S, Takatsuto S, *et al.* Loss of function of a rice brassinosteroid insensitive1 homolog prevents internode elongation and bending of the lamina joint. *Plant Cell* 2000; 12: 1591-605.
- Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Shimizu-Sato S, Inukai Y, Fujioka S, Shimada Y, *et al.* Loss-of-function of a rice brassinosteroid biosynthetic enzyme, C-6 oxidase, prevents the organized arrangement and polar elongation of cells in the leaves and stem. *Plant J* 2002; 32(4): 495-508.
- Mori M, Nomura T, Ooka H, Ishizaka M, Yokota T, Sugimoto K, *et al.* Isolation and characterization of a rice dwarf mutant with a defect in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Physiol* 2002; 130(3): 1152-61.
- Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Umemura K, Uozu S, Fujioka S, Takatsuto S, *et al.* A rice brassinosteroid-deficient mutant, ebisu dwarf (d2), is caused by a loss of function of a new member of cytochrome P450. *Plant Cell* 2003; 15(12): 2900-10.
- Li H, Jiang L, Youn JH, Sun W, Cheng ZJ, Jin TY, *et al.* A comprehensive genetic study reveals a crucial role of CYP90D2/D2 in regulating plant architecture in rice (*Oryza sativa*). *New Phytol* 2013; 200(4): 1076-88.
- Tanabe S, Ashikari M, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Yano M, *et al.* A novel cytochrome P450 is implicated in brassinosteroid biosynthesis via the characterization of a rice dwarf mutant, dwarf11, with reduced seed length. *Plant Cell* 2005; 17(3): 776-90.
- Sakamoto T, Kawabe A, Tokida-Segawa A, Shimizu B, Takatsuto S, Shimada Y, *et al.* Rice CYP734As function as multisubstrate and multifunctional enzymes in brassinosteroid catabolism. *Plant J* 2011; 67(1): 1-12.
- Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Hasegawa Y, *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. *Plant Cell* 2005; 17(8): 2243-54.
- Park W, Kim HB, Kim WT, Park PB, An G, Choe S. Rice bending lamina 2 (bla2) mutants are defective in a cytochrome P450 (CYP734A6) gene predicted to mediate brassinosteroid catabolism.

- sm. *J Plant Biol* 2006; 49(6): 469-76.
- 17 Yang GX, Setsuko Komatsu. Molecular cloning and characterization of a novel brassinolide enhanced gene OsBLE1 in *Oryza sativa* seedlings. *Plant Physiol Biochem* 2004; 42: 1-6.
- 18 Duan K, Li L, Hu P, Xu SP, Xu ZH, Xue HW. A brassinolide-suppressed rice MADS-box transcription factor, OsMDP1, has a negative regulatory role in BR signaling. *Plant J* 2006; 47(4): 519-31.
- 19 Shinyoung Lee, Sang Chul Choi, Gynheung An. Rice SVP-group MADS-box proteins, OsMADS22 and OsMADS55, are negative regulators of brassinosteroid responses. *Plant J* 2008; 54(1): 93-105.
- 20 高 静, 张 昊, 高梦竹, 张海丽, 李生辉, 邢继红, 等. 受油菜素内酯调控的水稻幼苗地上部膜蛋白的鉴定及功能分析. *中国细胞生物学学报*(Gao Jing, Zhang Hao, Gao Mengzhu, Zhang Haili, Lishenghui, Xing Jihong, *et al.* Identification and functional analysis of rice seedling shoot membrane protein regulated by brassinosteroids. *Chinese Journal of Cell Biology* 2015; 37(1): 16-23.
- 21 Davies PJ. *Plant hormones*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995, 23-30.
- 22 Bandurski RS, Cohen JD, Slovin JP, Reinecke DM. *Plant Hormones*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995, 75-9.
- 23 Bartel B. Auxin biosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1997; 48: 51-66.
- 24 Yoshitaka A, Masayoshi K, Kunihiro S, Akira I. Partial purification of an enzyme hydrolyzing indole-3-acetamide from rice cells. *J Plant Res* 2004; 117: 191-8.
- 25 Kawaguchi M, Kobayashi M, Sakurai A, Syono K. The presence of an enzyme that converts indole-3-acetamide into IAA in wild and cultivated rice. *Plant Cell Physiol* 1991; 32: 143-9.
- 26 Stepanova AN, Robertson-Hoyt J, Yun J, Benavente LM, Xie DY, Dolezal K. TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell* 2008; 133(1): 177-91.