

基于株高性状的玉米 EST 序列与水稻基因组的比较研究

严建兵^{1,2} 王毅¹ 汤华¹ 黄益勤¹ 李建生² 郑用琏^{1,*}

(¹华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室和国家作物分子育种中心,湖北武汉 430070;²中国农业大学国家玉米改良中心,北京 100094)

摘要 从已公布的玉米分子标记中,挑选出均匀覆盖玉米全基因组、平均间距小于 10 cM 的 224 个 SSR 和 RFLP 分子标记,从 NCBI 上查找这些标记所在的玉米 EST 或基因的原始序列,逐一与水稻数据库的序列信息进行同源性比较。结果表明:在 $P_N < 1e-5$ 水平上,从水稻数据库中共找到 16 939 段同源序列,平均每段玉米的序列可以在水稻数据库中找到 75.6 段同源序列;在 $P_N < 1e-10$ 水平上,一共找到 7 853 段同源序列,将其中 2 729 段序列与水稻的物理图谱和分子标记连锁图进行比对定位,最终将 896 段同源序列整合在水稻分子标记连锁图上,形成了在序列水平上的玉米和水稻的比较基因组图谱。基于这一图谱,对已定位的玉米和水稻株高 QTL 的分子标记进行了比较基因组的定位分析。10 个玉米株高 QTL 紧密连锁的 18 个分子标记中有 10 个标记在与之同源的水稻染色体区域也定位了控制水稻株高的 QTL 或基因,暗示有相当一部分控制玉米和水稻株高的 QTL 是同源的。但进一步的分析表明,玉米与水稻基因组的连续共线性区域可能低于预期估计;在此基础上提出了一种利用水稻基因组数据进行禾本科植物比较基因组,发掘新分子标记和克隆大基因组植物基因的策略。

关键词 玉米;分子标记;比较基因组;水稻数据库
中图分类号:S513

Comparative Analyses between EST Sequences Concerning Plant Height of Maize and Sequences of Rice Genome Database

YAN Jian-Bing^{1,2}, WANG Yi¹, TANG Hua¹, HUANG Yi-Qin¹, LI Jian-Sheng², ZHENG Yong-Lian^{1,*}

(¹National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and National Center of Crop Molecular Breeding, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei;²National Center of Maize Improvement, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract Homology comparisons were investigated between EST or genetic sequences of maize searched from NCBI, which corresponded to 224 of SSR and RFLP markers covering whole maize genome with average distance about 10 cM, and sequences searched from rice genome database. By BLASTn, 16 939 sequences from rice genome database were found to be homologous with sequences of those maize molecular marker at P_N (P Value Cutoff) $< 1e-5$, i. e. averagely one those maize sequence was corresponding to 75.6 fragment sequences of rice genome database. At $P_N < 1e-10$, 7 853 sequences from rice genome database were searched out to be of correspondance with those maize sequences. Comparing with rice physical map, 2 729 sequences of maize were found to have their relative locations. Moreover, comparing rice physical map with rice molecular marker linkage map, 896 hits of those 2 729 sequences were also found to have their relative locations on rice molecular marker linkage map. Then, a comparative map between rice and maize were developed at sequence level. Based on this map, 11 of 18 molecular markers which were closely linked to 10 QTLs mapped for plant height in maize were corresponded to chromosome regions where were locations of QTLs or genes concerning rice plant height. It indicated that QTLs controlling rice and maize plant height were considerably homologous, though syntenic group could possibly smaller than that expected. Hence it could be proposed that comparative studies of cereal genomes by application of rice genome database could develop new molecular markers and isolate genes from plants with larger genomes.

Key words Maize; Molecular marker; Comparative genome; Rice database

基于 RFLP 分子标记作图的比较基因组研究表明:在玉米、水稻、高粱等禾本科植物间,基因的数目

*基金项目:948 项目(2003Q03)和国家重大基础研究项目(2001CB108801)资助。

作者简介:严建兵(1976-),男,汉,湖北崇阳人,博士。*通讯作者(Author for correspondence):郑用琏, zhyl@mail.hzau.edu.cn

Received (收稿日期):2003-11-17, Accepted (接受日期):2004-02-25.

和排列顺序上表现出高度的保守性^[1],但对同源保守区域序列水平上的比较分析发现,不同植物保守区域之间常发生 DNA 片段的重复、缺失、插入和转换等重组事件^[2~5],表明标记水平上的共线性不足以完全揭示不同植物基因组之间的同源性关系,更不能反映核苷酸序列水平上的微线性。另外标记水平上的比较基因组研究都是建立在 RFLP 标记的分子杂交作图基础之上,而这种通过控制分子杂交的严谨度来获得异源探针杂交信号的方法本身会掩盖许多重要的遗传信息^[1]。特定区域序列水平的比较研究尽管能揭示不同基因组之间局部的异同,但不能反映整个基因组间的同源性水平。水稻全基因组测序的完成^[6,7]为禾本科植物间的比较基因组研究打开了一扇新的窗户^[8],Goff 等利用覆盖玉米 10 条染色体的 600 多个 RFLP 标记的序列与水稻的数据库比较发现,玉米标记的序列与水稻基因组具有广泛的同源性^[6]。Feng 等将玉米 1 794 个标记序列和 114 个标记定位在水稻第 4 条染色体上,结果显示这些被定位的标记与玉米的第 2 和第 10 条染色体存在较高的共线性,但共线性程度没有预期明显^[9]。Ware 等整合了以水稻为主的多个禾本科植物已获得的基因组序列数据,为禾本科植物深入开展比较基因组研究,以及研究基因组结构、基因组进化和新基因的发现与克隆等提供了一个重要的平台^[10]。

株高是玉米、水稻等禾本科作物决定种植密度,保证稳产和高产的重要性状之一。相对于产量等复杂的数量性状而言,株高性状的遗传相对简单,具有较高的遗传力,同时表型值也易于考查,因此株高性状往往成为数量性状遗传规律研究的模式性状而受到重视。目前在玉米^[11~14]和水稻^[15~18]中已分别定位了大量控制株高的基因或 QTL,也克隆了一些与株高相关的基因。比较基因组研究发现,一些控制玉米(*d8*, *d9*)、水稻和小麦(*Rht*)等株高的基因都具有共线性。Peng 等利用水稻和拟南芥的 EST 信息通过比较基因组的策略克隆到一个控制小麦株高的基因^[19]。但对禾本科作物之间其他大量控制株高的基因或 QTL 间的同源性信息还知之甚少。

本文利用同源序列比较的策略,将玉米分子标记(主要是基于玉米 EST 序列或已知功能的基因序列所开发的 SSR 标记)定位在水稻高密度的分子标记连锁图上,构建玉米与水稻的分子标记序列的比较图谱,以玉米和水稻株高为目标性状,进行玉米和水稻在分子标记序列水平上的比较基因组研究,旨

在探讨利用水稻基因组的信息开发新分子标记、克隆大基因组植物基因的策略。

1 材料和方法

1.1 分子标记的选择

以根据 EST 序列或功能基因序列设计的 SSR 标记为主,挑选了覆盖玉米整个基因组,平均间距小于 10cM 的 224 个分子标记,其中 60 个 SSR 标记和 19 个 RFLP 标记从已构建的玉米“综 3/87-1”分子标记连锁图中挑选^[20],其他 145 个 SSR 标记从玉米高密度 SSR 分子标记连锁图上挑选^[21]。

1.2 株高 QTL 定位信息

1.2.1 控制玉米株高的 QTL 利用玉米综 3/87-1 F₂群体,定位了 10 个影响株高的 QTL^[22](表 1)。

1.2.2 控制水稻株高的 QTL 总结了 10 个研究小组利用 17 个水稻群体对株高的定位结果,在 12 条染色体的 32 个区域内共定位的 74 个影响水稻株高的 QTL 或基因(图 1)。

1.3 分析方法

从 NCBI 上查找所选用的 205 个 SSR 和 19 个 RFLP 标记所在的 EST 或基因的原始序列。利用 www.grammene.org 网站的 BLASTn 程序,分别将每个分子标记序列(长度 200~2 000 bp)与水稻数据库(特指 rice. genome. japonica. TIGR)进行同源性比较。

参照 Ware 等^[10]的方法,通过比较水稻物理图谱和分子标记遗传图,将找到的定位于水稻物理图上的同源序列进一步整合到水稻的分子标记连锁图上^[23],在连锁图上用与之同源的玉米分子标记表示。根据这些信息构建玉米和水稻的基因组比较图谱。

2 结果与分析

2.1 玉米与水稻分子标记序列比较图谱

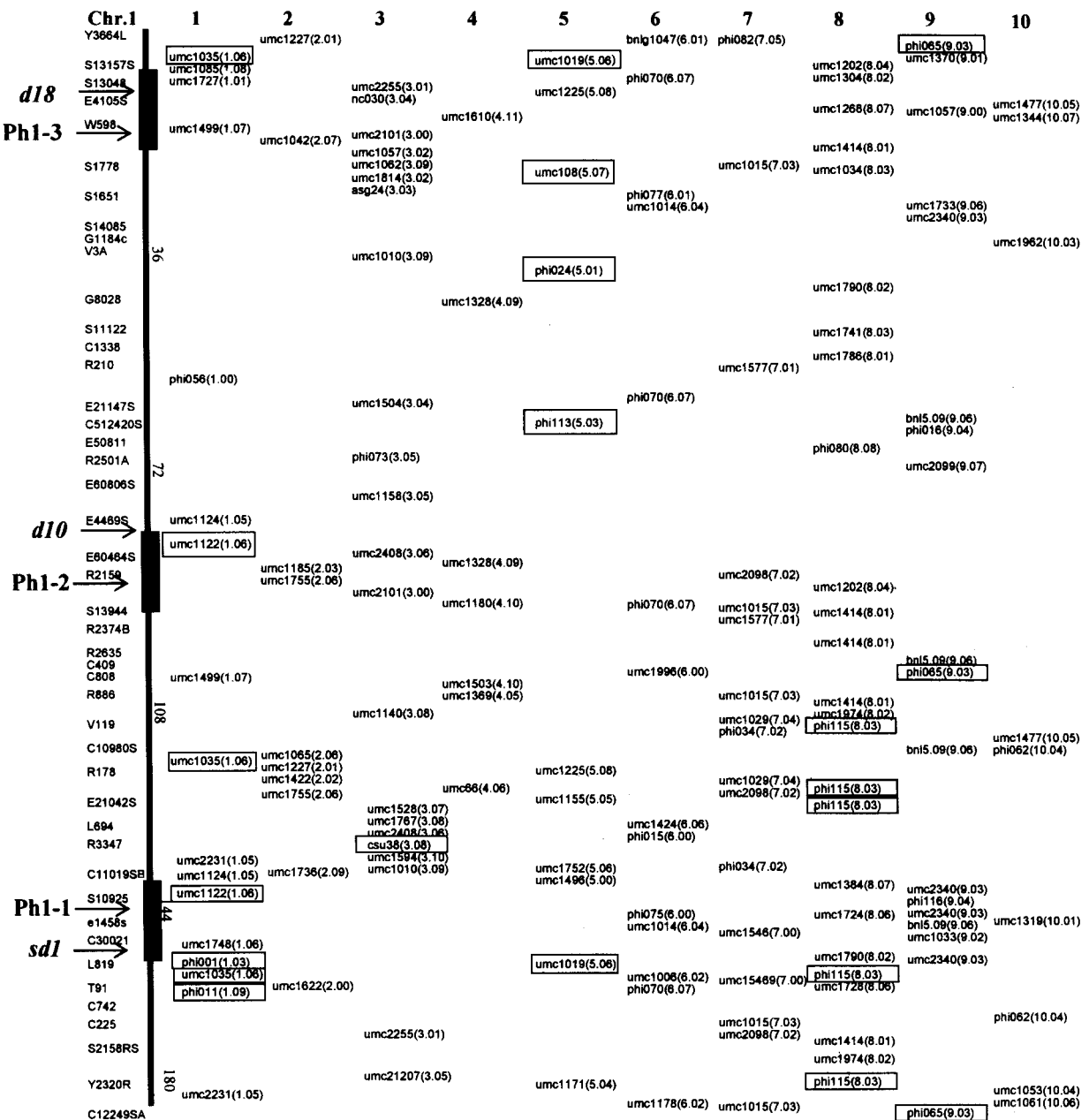
利用玉米分子标记序列在水稻数据库中进行同源比对,和前人研究结果类似^[6],所选择的分子标记序列绝大部分在两条以上的水稻染色体上找到了同源序列,说明玉米与水稻在序列水平上的同源性广泛存在。

在 $P_N^{[24]} < 1e-05$ 水平上,每一个玉米分子标记的序列能在水稻数据库中找到 1~500 段同源的序列,所有 224 段玉米分子标记的序列在水稻数据库中共找到 16 939 段同源序列,平均每个玉米分子标记的

序列可以在水稻数据库中找到 75.6 段同源序列。在 $P_N < 1e-10$ 水平上,224 个玉米分子标记的序列在水稻数据库中共有 7 853 段同源序列。由于真核生物基因组中存在大量重复序列,因此本研究仅将其中 P_N 值较小的 2 729 段同源序列与水稻的物理图谱和分子标记连锁图进行比对定位。这里只计算能精确定位到水稻特定 BAC 的同源序列,定位在同一 BAC 的几段同源序列只按一个位点统计,结果 224 个玉米分子标记的序列有 896 段同源序列被整合在水稻物理图谱上,并利用与该物理图谱对应的高密度分子标记图谱表示(图 1),平均每个玉米分子标

记序列有 4 段同源序列被整合在水稻分子标记连锁图上。在 $P_N < 1e-10$ 水平上,有 39 个玉米分子标记所在的序列在水稻数据库中能找到 100 段以上的同源序列,有 89 个找到的同源序列在 6~99 段之间,96 个找到的同源序列在 5 个以下。

从玉米与水稻分子标记比较图(图 1)可见,局部水平上的比较可以发现水稻 1 至 12 条染色体分别与玉米的 3、8;4、5;1、5、9;2、10;5、8;6、9;2、7;1;2、7;1、5;2、3、4;2、3、4、10 条染色体表现出较高的同源性,但在整体水平上,此规律并不明显。



2.2 以株高为模式性状的比较分析

18 个与玉米株高 QIL 连锁的分子标记序列中,在水稻基因组中找到 100 个以上同源序列的有 6 个,找到 5 个以下同源序列的有 5 个,其他 7 个标记在水稻基因组中的同源序列在 6~99 之间。例如与玉米株高 QIL_{ph8a} 连锁的标记 phi113 所在序列在水稻基因组中可找到 191 段同源序列 ($P_N < 1e-5$),对其中 E 值最小的 20 段同源序列进行比较分析,显示至少能在水稻 9 条染色体上找到同源片段,其中在水稻 5 条染色体 14 处位置找到的同源片段能定位到水稻特定的 BAC 克隆上。这些同源片段拷贝数

较多的序列可能与水稻基因组中的高拷贝基因家族有关。

比较研究发现,在 18 个玉米株高的分子标记中有 10 个在水稻相应的同源序列位置上也定位了影响水稻株高的 QIL (表 1)。如在玉米第 1 染色体上与株高 QIL_{ph1c} 连锁的分子标记 phi011,在玉米第 5 染色体上与株高 QIL_{ph5a} 连锁的分子标记 phi024 均在水稻第 3 染色体长臂的同一区域找到同源序列,同时在该区域也定位了一个影响水稻株高的 QIL_{ph3-1}。

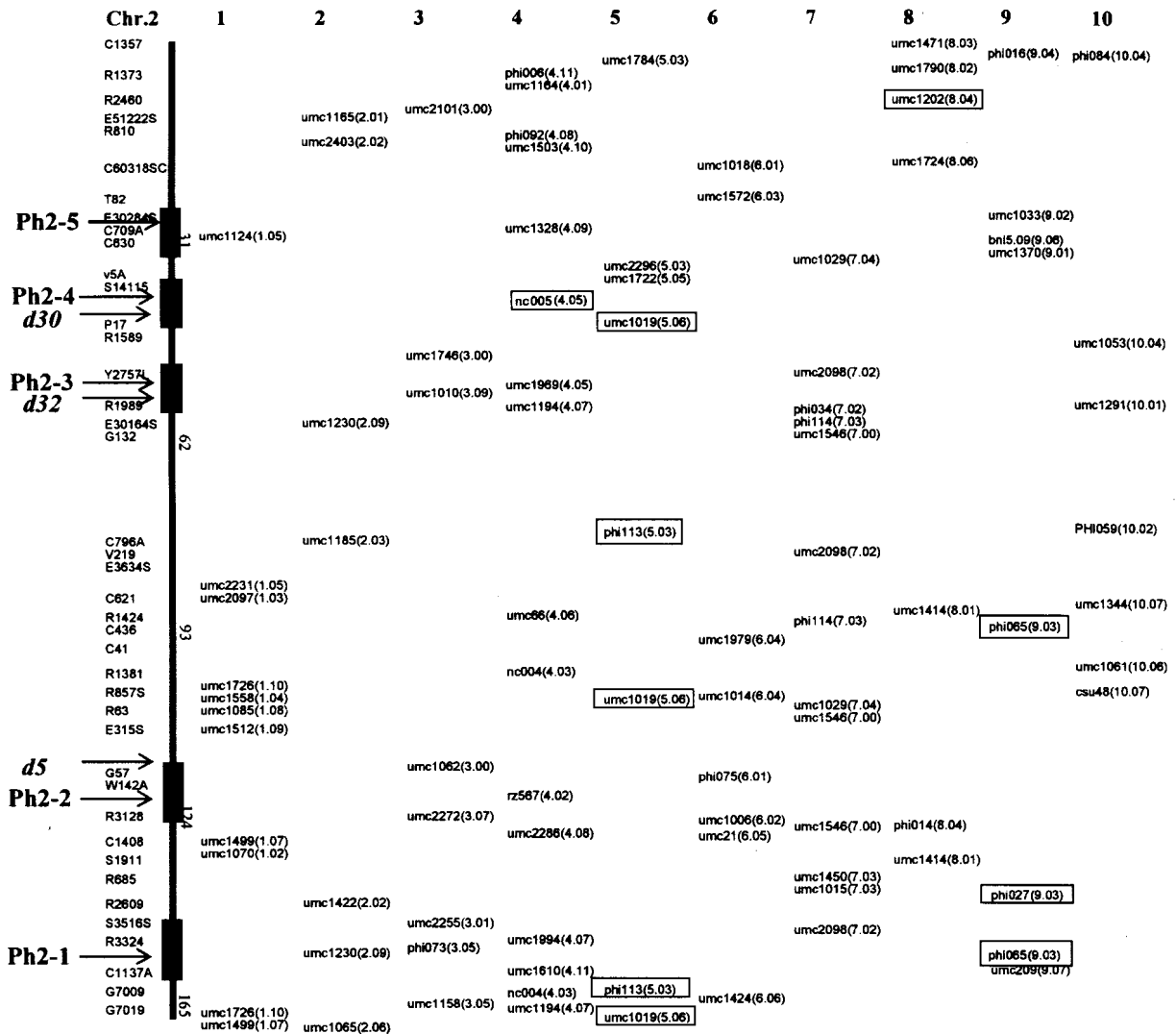
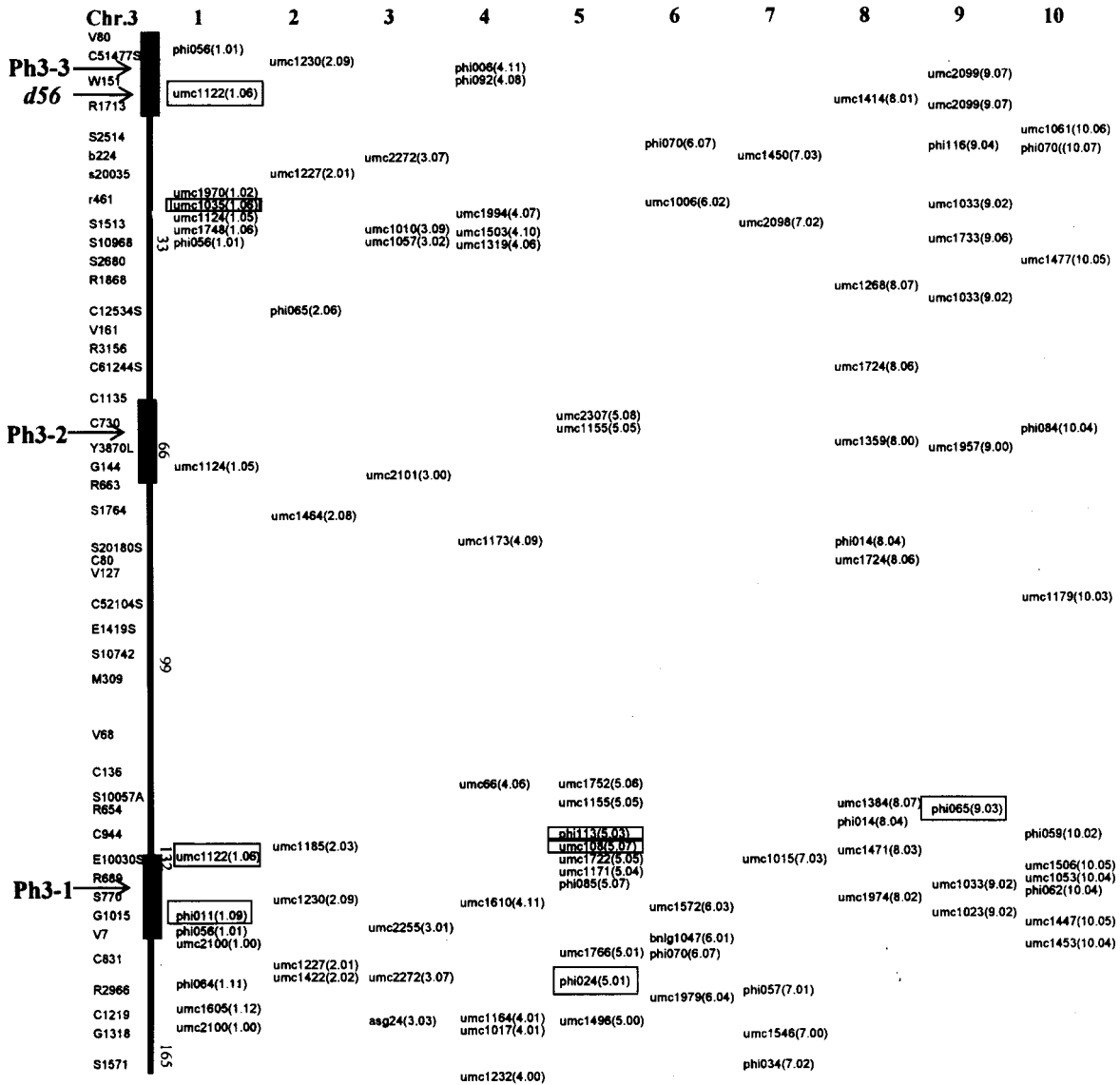
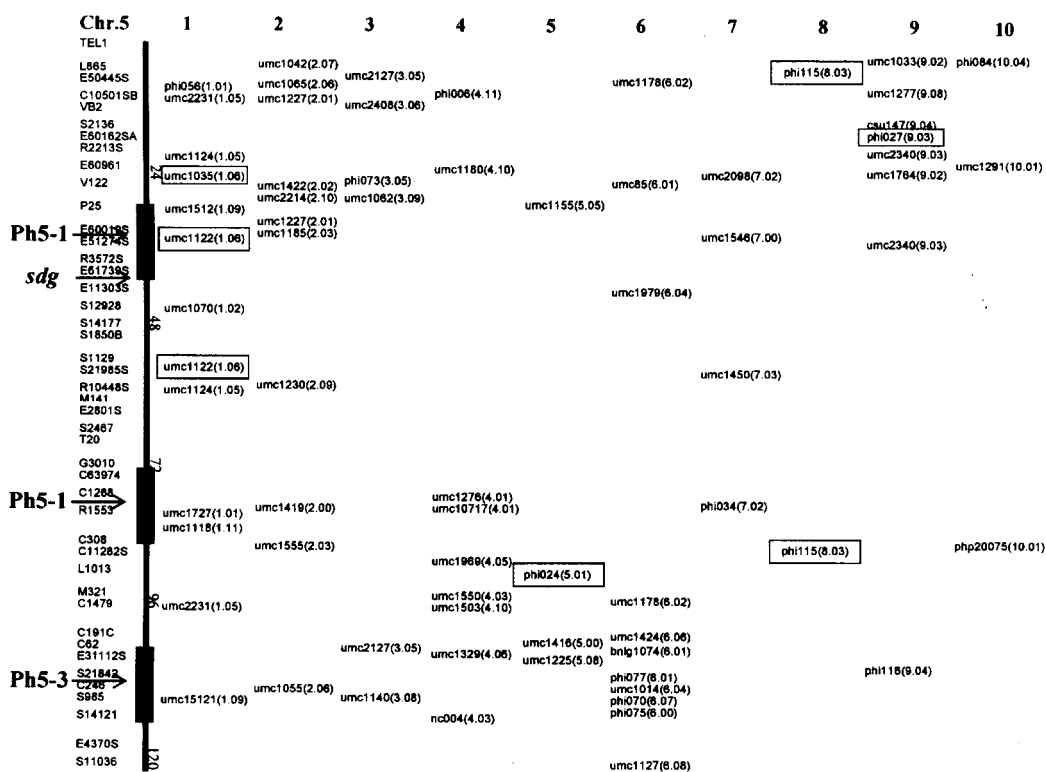
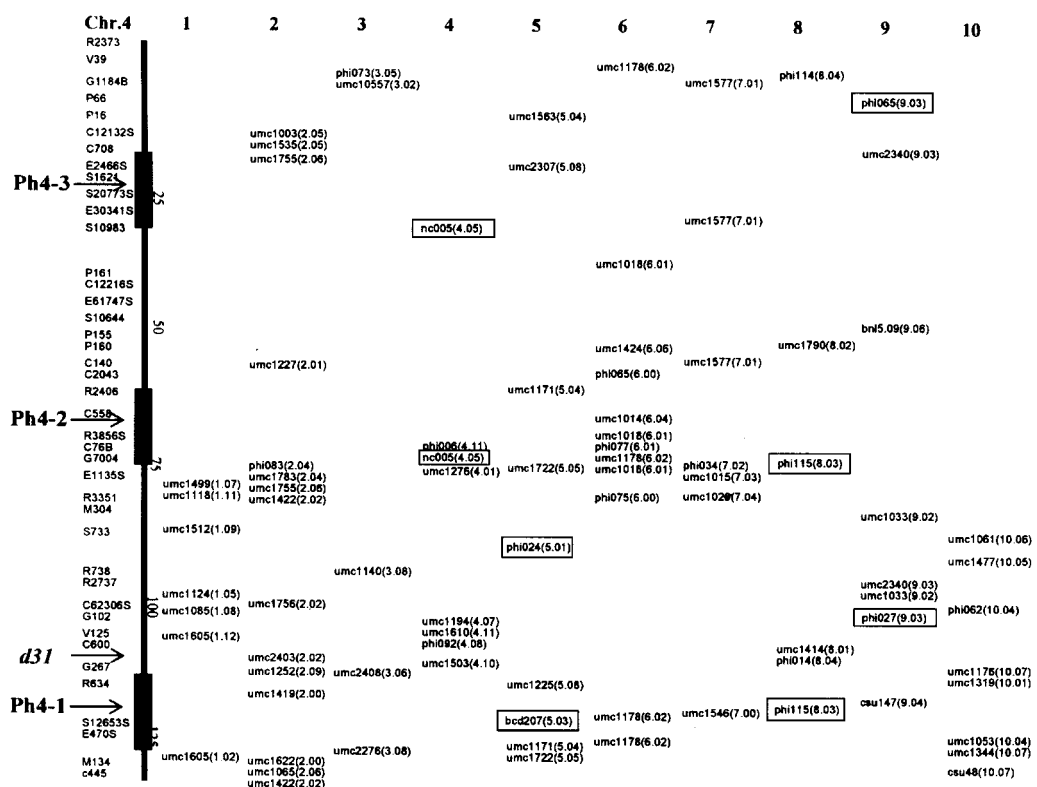


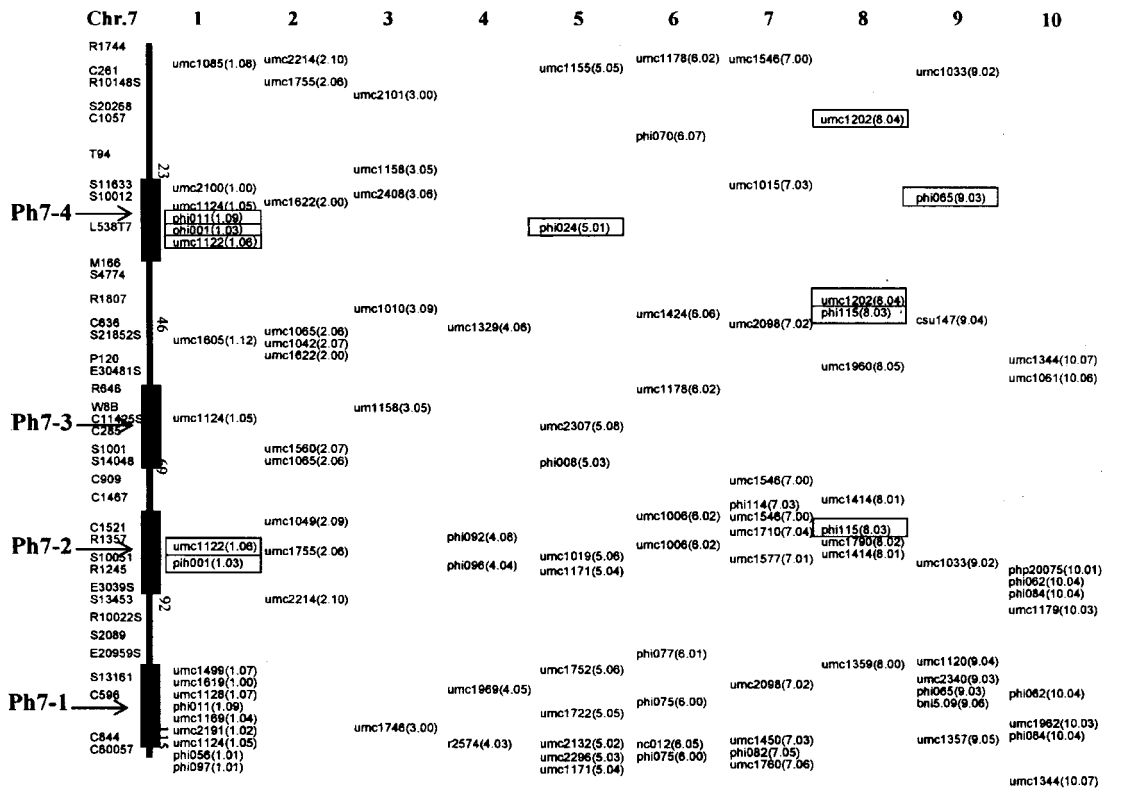
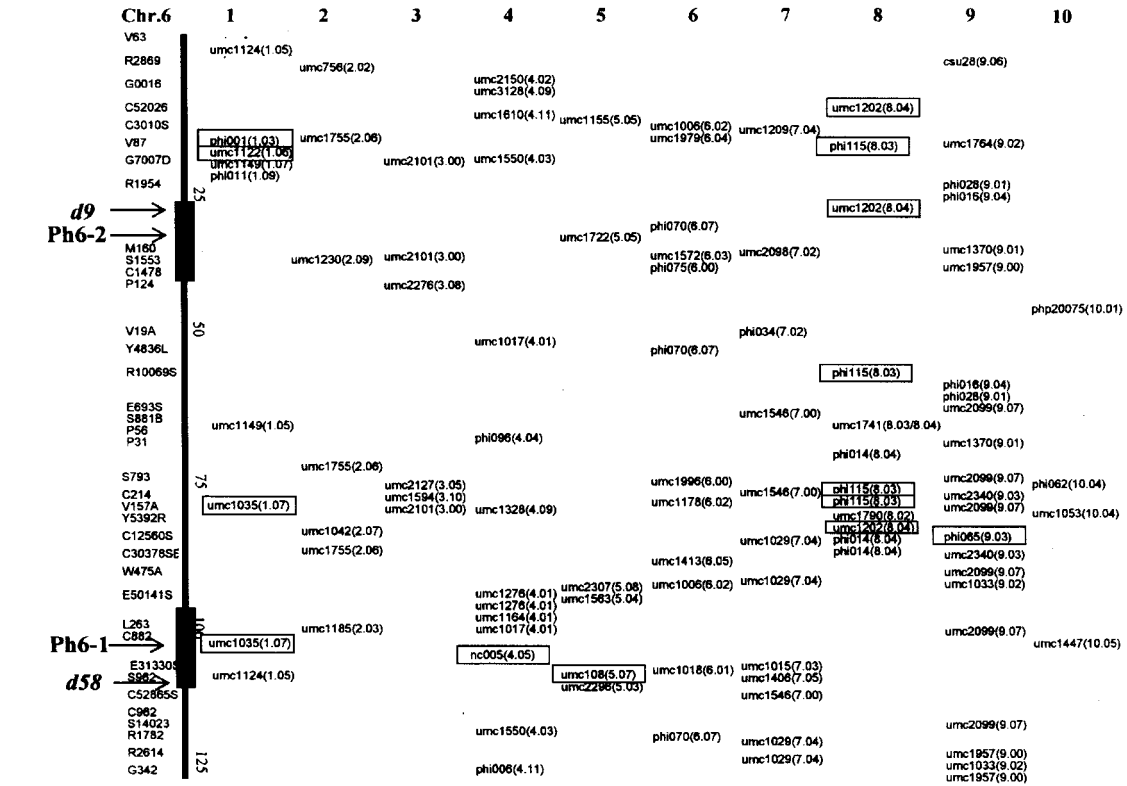
表 1 基于标记水平比较结果影响玉米和水稻株高 QIL 的同源性比较

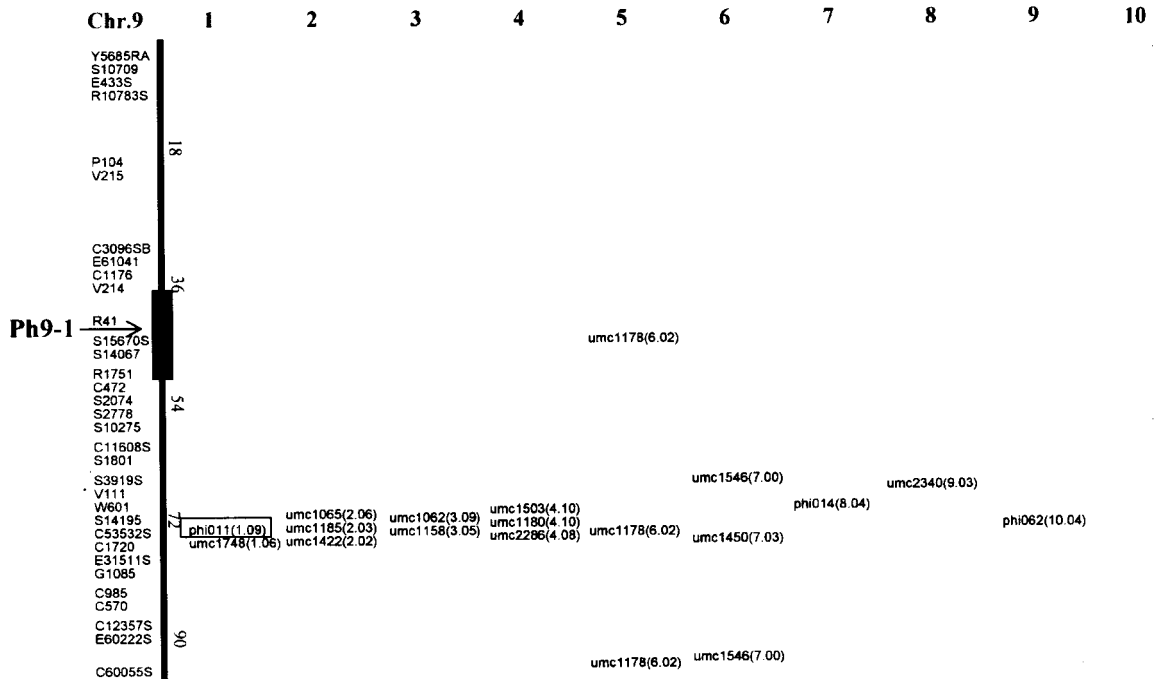
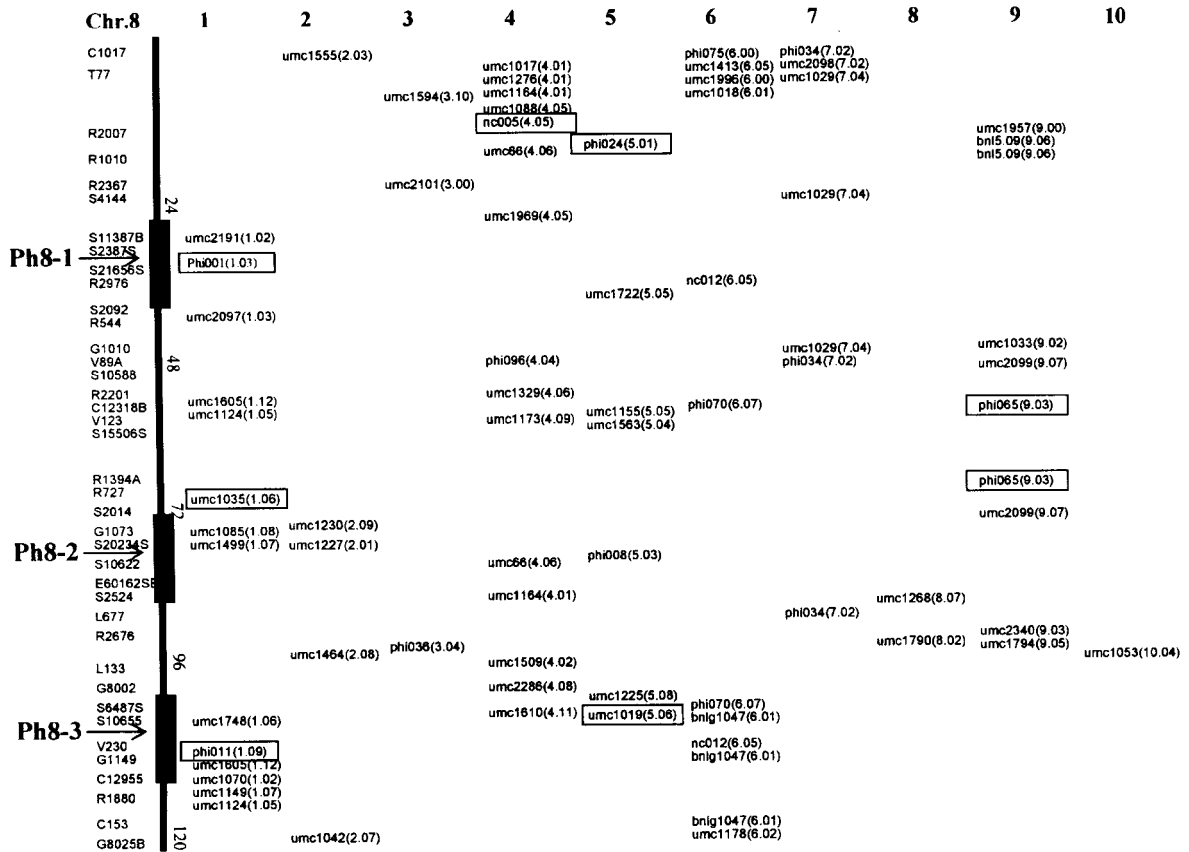
Table 1 Homologic comparisons between QILs of plant height in maize and rice at the sequence level

玉米 QIL QILs in maize	邻近标记 Near marker	标记位置 Position of marker	与水稻同源位置 Homologous position in rice	标记是否同源 Homology	水稻株高 QIL QILs for plant height in rice
ph1a	phi001	1.03	8L	+	ph8-1
ph1b	umc1035	1.06	10L	+	ph10-2
	umc1122	1.06	10L	-	
	umc128	1.08	10L	+	ph10-2
ph1c	phi011	1.09	3L	+	ph3-1
ph3a	umc1539	3.06	1L	-	
	csu38	3.06	1L	-	
ph4a	nc005	4.05	2L	+	ph2-4/ d30
ph5a	phi024	5.01	3L	-	
ph5b	phi113	5.03	10L	-	
	bcd207	5.03	10L	+	ph10-2
ph5c	umc1019	5.06	2L	+	ph2-2/ d5
	umc108	5.07	2L	-	
ph8a	phi115	8.03	1L	+	ph1-1/ sd1
	umc1460	8.04	1L	-	
	umc1202	8.04	1L	-	
ph9a	phi027	9.03	2L	+	ph2-1
	phi065	9.03	2L	+	ph2-1









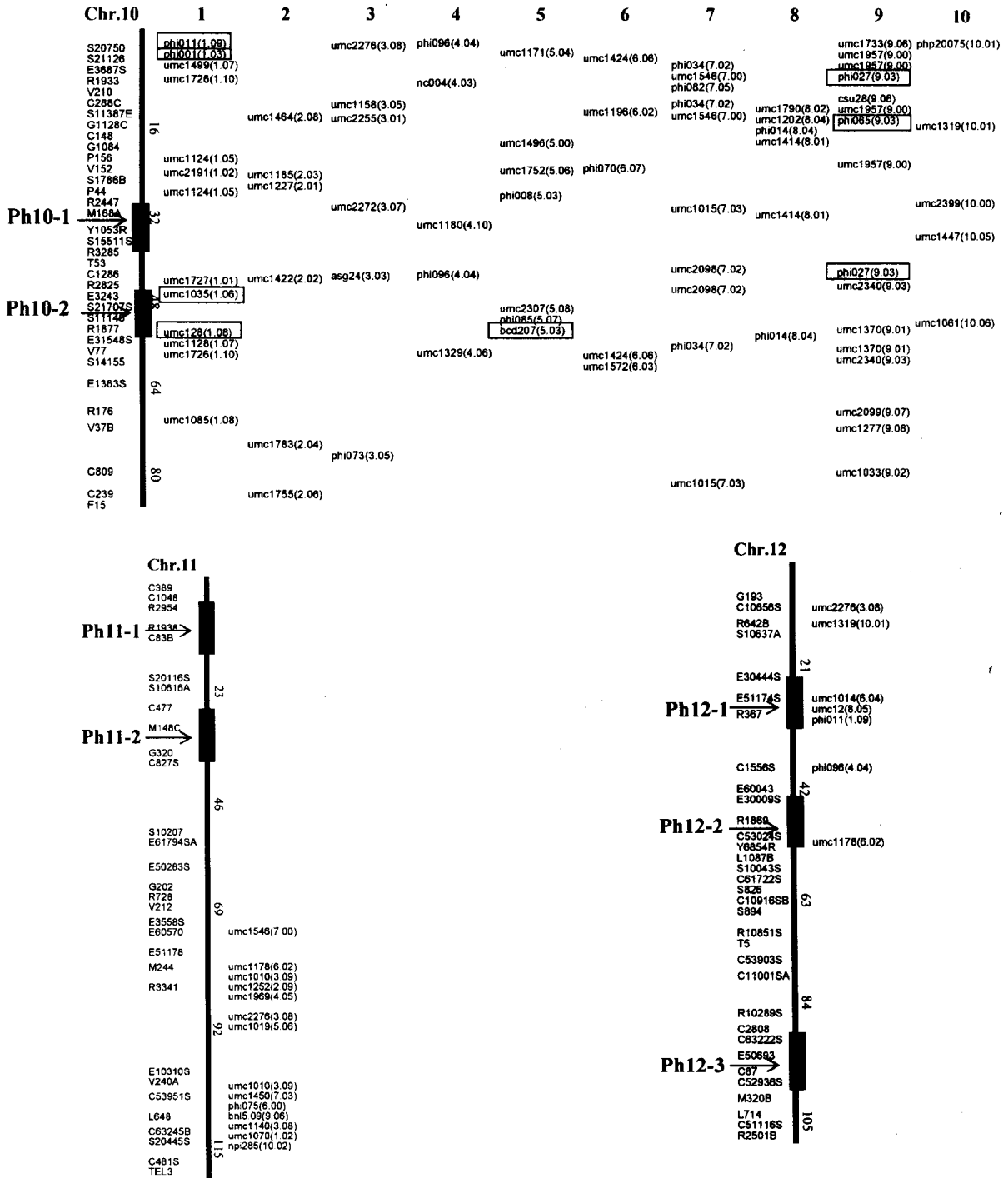


图 1 利用同源性比较构建的玉米和水稻比较图谱

Fig. 1 The comparative map between maize and rice constructed by homologous analyses

竖线左边的是水稻连锁图上的分子标记 (Harushima *et al.*, 1998); 右边是玉米分子标记在水稻染色体上的同源位置, 按标记所在的染色体分别排列, 标记后面括号的数字表示该标记在玉米染色体上的位置, 如 1.02 表示该标记在玉米第 1 染色体的第 2 个染色体框 (bin), 带有方框的标记是与玉米株高 QIL 连锁的分子标记; 表示水稻控制株高的 QIL 或基因在水稻染色体上的位置。

Rice markers lay on the left of the vertical line (Harushima *et al.*, 1998); Maize markers lay on the right of the vertical line. All of maize markers were arranged based on the maize chromosome. The numbers after the maize marker meant the locations of the marker on the maize chromosome, e. g. 1.02 meant the marker was located in the 2nd bin of maize chromosome 1. The markers with a pane were linked to the QIL of maize plant height. meant the location of QIL or genes of rice plant height in rice chromosomes.

从图1中可以看出,与10个玉米株高QTL连锁的18个分子标记集中分布在水稻7条染色体的14个区域(每区域3个标记以上)。比如在水稻第1染色体144 cM左右的区域定位了一个影响水稻株高的QTL *ph1-1* 和一个与水稻株高有关的基因 *sd1*,比较研究又发现在这个区域集中了与玉米5个不同株高QTL连锁的分子标记,它们分别是 *phi001* (*ph1a*), *umc1122* (*ph1b*), *phi011* (*ph1c*), *umc1019* (*ph5c*), *phi115* (*ph8a*),暗示这些玉米标记所处的染色体区域可能源由同一段水稻染色体进化而来。

Gale等研究发现包括玉米在内的7种主要的禾本科植物,其染色体数目为5~12条,核基因组的大小从400~6 000 Mb,但基于RFLP作图结果发现用25个水稻连锁群上的分子标记就可以一一描述这些禾本科作物的共线性关系^[1]。Wilson绘制的玉米与水稻分子标记比较图谱也进一步证实了这一结果^[25]。基于这一研究结论,如果以水稻分子标记连锁图谱长度为1 520 cM计算^[21],则可预测水稻25个分子标记连锁群与玉米的同源区域平均大小为60 cM。但本研究基于分子标记序列的比较研究发现,玉米与水稻在染色体范围内几乎不存在完整的共线性关系,即使在一个区域(bin)内的分子标记与水稻某一特定位置的同源性也往往被各种形式的插入、缺失或重复所破坏。比如在玉米连锁图bin9.03区域内定位了与玉米株高QTL *ph9a*连锁的两个标记 *phi065* 和 *phi027*,它们之间的图距是8.1 cM,这两个标记序列在 $P_N < 1e-5$ 水平上分别在水稻数据库中找到500和148段同源序列,对其中40段进行比对分析,发现这两个标记序列很少同时与水稻基因组的一个区段同源,即便将两个标记同时定位于水稻第10染色体中间隔5 cM左右的区域内,但在这两个标记之间又发现插入了多个其他染色体上的标记。这也暗示着玉米和水稻的连续性同源区域可能要比预想的低。

3 讨论

3.1 利用水稻数据库进行水稻和玉米比较研究的策略

前人的比较基因组研究已经清楚地揭示了不同禾本科植物间基因组具有高度的共线性现象^[1]。但是在不同植物间基于相同RFLP分子标记作图的比较方式,常常因探针的靶序列或内切酶酶切位点的点突变,导致多态性的改变,以及这种通过控制分子杂交的严谨度来获得异缘探针杂交信号的方法本身也会掩盖许多重要的同源性信息。本文利用水稻基因组计划的研究成果,通过玉米分子标记序列与水稻基因组序列进行同源性比较,直接将玉米的分子标记整合到水稻的高密度连锁图上,进行标记序列

水平上的比较研究,不仅克服了基于RFLP技术的比较基因组研究的不足,而且从理论上可以将任何物种的分子标记连锁图与水稻的分子标记连锁图进行整合,构建比较连锁图,进而发掘新的分子标记,增加目标物种目标区域的分子标记密度。最近,就有人基于这种策略比较了小麦4 485段EST序列与水稻基因组的同源对应关系^[26]。

3.2 新基因的发现与克隆

通过禾本科植物间分子标记序列的比较研究为利用水稻数据库发现和克隆大基因组作物(比如玉米)的基因提供了可能。例如玉米株高的QTL *Ph1-b* 和 *Ph5-b* 被紧密连锁的两个低拷贝分子标记 *umc128* 和 *bcd207* 分别定位在玉米的连锁群1.08bin和5.03bin上(表1),但通过序列比较发现他们都与水稻位于第10染色体的一个BAC克隆(AC068924)上的序列具有高度同源性,这为进一步精细定位和克隆该株高QTL提供了有益信息。如果玉米的某目标QTL已经被精细定位,就可以通过多个标记的同源性搜索,将该QTL限定在水稻基因组中一个较小的区段内,然后可以利用这个区段内特定功能基因的序列对玉米数据库检索,寻找可能的同源序列并定位到玉米的物理图谱上,通过比较物理图谱和标记图谱可以确定目标QTL的候选克隆,即使不能准确定位到玉米的物理图谱,也可以从中开发一些新的分子标记供进一步精细定位。通过此策略Yan等人最近克隆到一个控制小麦春化的基因^[27]。

目前QTL定位的置信区间一般在10~20 cM之间,因此采用比较基因组的策略进行的QTL定位,其结果不一定能正确反应QTL在染色体上的真实位置;即使能确定QTL的位置,而1 cM在水稻染色体上大约相当于300 kb的距离,在玉米染色体则大约相当于1 800 kb的距离,在10~20 cM范围内可能存在数以百计的基因,要试图通过比较基因组的办法来克隆基因,必须对目标基因或QTL进行精细定位,同时要求目标基因是一个质量性状基因或对表型值贡献较大的数量性状位点。另一方面选择那些低拷贝的标记进行QTL定位和同源性比较更有助于目标基因或QTL的克隆。

References

- [1] Gale MD, Devos KM. Comparative genetics in the grasses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 1 971 - 1 974
- [2] Alexander P Tikhonov, Phillip J. SanMiguel, Yuko Nakajima, Nina M Gorenstein, Jeffrey L Bennetzen, and Zoya Avramova. Colinearity and its exceptions in orthologous *adh* regions of maize and sorghum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 7 409 - 7 414
- [3] Tarchini R, Biddle P, Wineland R, Tingey S, Rafalski A. The complete sequence of 340 kb of DNA around the rice *Adh1-Adh2* region

- reveals interrupted colinearity with maize chromosome 4. *Plant Cell*, 2000, **12**: 381 - 391
- [4] Dubcovsky J, Ramakrishna W, San Miguel P J, Busso C S, Yan L, Shiloff B A, Bennetzen J L. Comparative sequence analysis of collinear barley and rice bacterial artificial chromosomes. *Plant Physiol*, 2001, **125**: 1 342 - 1 353
- [5] Li W L, Gill B S. The colinearity of the Sh2/ A1 orthologous region in rice, sorghum and maize is interrupted and accompanied by genome expansion in the triticeae. *Genetics*, 2002, **160**: 1 153 - 1 162
- [6] Giff S A, Ricke D, Lan T H, Presting G, Wang R, Dunn M, Gazebrook J, Sessions A, Oeller P, Varma H, Hadley D, Hutchison D, Martin C, Katagiri F, Lange B M, Moughamer T, Xia Y, Budworth P, Zhong J, Miguel T, Paszkowski U, Zhang S, Colbert M, Sun W, Chen L, Cooper B, Park S, Wood T C, Mao L, Quail P, Wing R, Dean R, Yu Y, Zharkikh A, Shen R, Sahasrabudhe S, Thomas A, Cannings R, Gutin A, Pruss D, Reid J, Tavtigian S, Mitchell J, Eldredge G, Scholl T, Miller R M, Bhatnaga S, Adey N, Rubano T, Tusneem N, Robinson R, Feldhaus J, Macalima T, Oliphant A, Briggs S. A draft sequence of the rice genome *Oryza sativa* L. ssp. *japonica*. *Science*, 2002, **296**: 92 - 100
- [7] Yu J, Hu S, Wang J, Wong G K S, Li S, Liu B, Deng Y, Dai L, Zhou Y, Zhang X, Cao M, Liu J, Sun J, Tang J, Chen Y, Huang X, Lin W, Ye C, Tong W, Cong L, Ceng J, Han Y, Li L, Li W, Hu G, Huang X, Li W, Li J, Liu Z, Li L, Liu J, Q Q, Liu J, Li L, Li T, Wang X, Lu H, Wu T, Zhu M, Ni P, Han H, Dong W, Ren X, Feng X, Cui P, Li X, Wang H, Xu X, Zhai W, Xu Z, Zhang J, He S, Zhang J, Xu J, Zhang K, Zheng X, Dong J, Zeng W, Tao L, Ye J, Tan J, Ren X, Chen X, He J, Liu D, Tian W, Tian C, Xia H, Bao Q, Li G, Gao H, Cao T, Wang J, Zhao W, Li P, Chen W, Wang X, Zhang Y, Hu J, Wang J, Liu S, Yang J, Zhang G, Xiong Y, Li Z, Mao L, Zhou C, Zhu Z, Chen R, Hao B, Zheng W, Chen S, Guo W, Li G, Liu S, Tao M, Wang J, Zhu L, Yuan L, Yang H. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*, 2002, **296**: 79 - 92
- [8] Bennetzen J. Opening the door to comparative plant biology. *Science*, 2002, **296**: 60 - 63
- [9] Feng Q, Zhang Y, Hao P, Wang S, Fu G, Huang Y, Li Y, Zhu J, Liu Y, Hu X, Jia P, Zhang Y, Zhao Q, Ying K, Yu S, Tang Y, Weng Q, Zhang L, Lu Y, Mu J, Lu Y. Sequence and analysis of rice chromosome 4. *Nature*, **420**: 316 - 320
- [10] Ware D H, Jaiswal P, Ni J, Yap I V, Pan X, Ken Y. Clark, Teytelman L, Schmidt S C, Zhao W, Chang K, Cartinhour S, Stein L D, McCouch S R. Gramene, a tool for grass genomics. *Plant Physiol*, 2002, **130**: 1 606 - 1 613
- [11] Coe E H, Pblacco M. Gene list and working maps. *Maize Genet Coop Newslett*, 1995, **694**: 157 - 191
- [12] Spray C R, Kobayashi M, Suzuki Y, Bernard O, Phinney, Gaskin P, MacMillan J. The *dwarf1* (d1) mutant of *Zea mays* blocks three steps in the gibberellin-biosynthetic pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**: 10 515 - 10 518
- [13] Winkler R G, Helentjaris T. The maize *Dwarf3* gene encodes a cytochrome P450-mediated early step in gibberellin biosynthesis. *Plant Cell*, 1995, **7**: 1 307 - 1 317
- [14] Bensen R J, Johal G S, Crane V C, Tossberg J T, Schnable P S, Meeley R B, Briggs S P. Cloning and characterization of the maize *An1* gene. *Plant Cell*, 1995, **7**: 75 - 84
- [15] Kinoshita T. Report of the committee on gene symbolization. *Rice Genet Newl*, 1998, **15**: 13 - 75
- [16] Ashikari M, Wu J, Yano M, Sasaki T, Yoshimura A. Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene *Dwarf 1* encodes the α -subunit of GIP-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 10 284 - 10 289
- [17] 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. A mutant gibberellin synthesis gene in rice. *Nature*, 2002, **416**: 701 - 702
- [18] Monna L, Kitazawa N, Yoshino R, Suzuki J, Masuda H, Maehara Y, Tanji M, Sato M, Nasu S, Minobe Y. Positional cloning of rice semi-dwarfing gene, *sd1*: rice "green revolution gene" encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. *DNA Research*, 2002, **9**: 11 - 17
- [19] Peng J, Richard E D, Hartley M N, George P, Murphy, 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**: 256 - 261
- [20] Yan J-B (严建兵), Tang H (汤华), Huang Y-Q (黄益勤), Zheng Y-L (郑用璉), Li J-S (李建生). Genetic analysis of segregation distortion of molecular markers in maize F₂ population. *Acta Genetica Sinica (遗传学报)*, 2003, **30**: 913 - 918
- [21] Natalya S, McMullen M D, Schultz L, Schroeder S, Sanchez-Villeda H, Gardiner J, Bergstrom D, Houchins K, Melia-Hancock S, Musket T, Duru N, Pblacco M, Edwards K, Ruff T, Register J C, Brouwer C, Thompson R, Velasco R, Chin E, Lee M, Woodman-Cliekman W, Long M J, Liscum E, Cone K, Davis G, Coe E H. Development and mapping of SSR markers for maize. *Plant Mol Bio*, 2002, **48**: 463 - 481
- [22] Yan J-B, Tang H, Huang Y-Q, Shi Y-G, Zheng Y-L, Li J-S. Genomic analysis of plant height in maize through molecular marker. *Agricultural Sciences in China*, 2003, **2**(10): 1 069 - 1 075
- [23] Harushima Y, Yano M, Shomura A, Sato M, Shimano T, Kuboki Y, Yamamoto T, Yang L S, Antonio B A, Parco A, Kajija H, Huang N, Yamamoto K, Nagamura Y, Kurata N, Khush G S, Sasaki T. A high density rice genetic linkage map with 2 275 markers using a single F₂ population. *Genetics*, 1998, **148**: 479 - 494
- [24] Altschul S F, Madden T L, Schaffer A A, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman D J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, 1997, **25**: 3 389 - 3 402
- [25] Wilson W A, Harrington S E, Woodman W L, Lee M, Sorrells M E, McCouch S R. Inferences on the genome structure of progenitor maize through comparative analysis of rice, maize and the domesticated panicoide. *Genetics*, 1999, **153**: 453 - 473
- [26] Sorrells M E, La Rota M, Bermudez-Kandianis C E, Greene R A, Kantety R, Munkvold J D, Miftahudin, Mahmoud A, Ma X, Gustafson P J, Qi L L, Echalié B, Gill B S, Matthews D E, Lazo G R, Chao S, Anderson O D, Edwards H, Linkiewicz A M, Dubcovsky J, Akhunov E D, Dvorak J, Zhang D, Nguyen H T, Peng J, Lapitan N L, Gonzalez-Hernandez J L, Anderson J A, Hossain K, Kalavacharla V, Kianian S F, Choi D W, Close T J, Dilbirli M, Gill K S, Steber C, Walker-Simmons M K, McGuire P E, Qualset C O. Comparative DNA sequence analysis of wheat and rice genomes. *Genome Res*, 2003, **13**: 1 818 - 1 827
- [27] Yan L, Loukoianov A, Tranquilli G, Helguera M, Fahima T, Dubcovsky J. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 6 263 - 6 268