

## 转基因抗虫水稻矮秆突变体的表型鉴定及其对外源赤霉素的反应

崔海瑞<sup>1\*</sup>, 沈希宏<sup>2</sup>, 朱斌<sup>1</sup>, 宋悦<sup>1</sup>, 舒庆尧<sup>1</sup>

<sup>1</sup>浙江大学原子核农业科学研究所, 农业部核农学重点开放实验室, 杭州310029; <sup>2</sup>中国水稻研究所, 杭州311401

**摘要:** 从粳稻品种‘秀水11’导入*cry1Ab*基因的后代获得了一个矮秆突变体。PCR检测结果显示突变体携带着*cry1Ab*基因。对F<sub>2</sub>分离群体的GUS组织化学分析揭示, 矮秆性状与插入的T-DNA不呈现共分离, 是无性系变异引起的。与对照相比, 因少1个节间和各节间均缩短, 突变体的株高显著降低。突变体的农艺性状也发生了变化, 分蘖数显著增多, 但穗长、穗粒数和单株粒重则显著降低。苗期和拔节期赤霉素处理表明该突变体及其野生型亲本均为赤霉素敏感型。

**关键词:** 转基因水稻; 无性系变异; 矮秆突变体; 赤霉素

## Phenotypic Characterization and Response to Gibberellic Acid (GA<sub>3</sub>) of a Dwarf Mutant Derived from Insect-Resistant Transgenic Rice

CUI Hai-Rui<sup>1\*</sup>, SHEN Xi-Hong<sup>2</sup>, ZHU Bin<sup>1</sup>, SONG Yue<sup>1</sup>, SHU Qing-Yao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Nuclear Agricultural Sciences, Ministry of Agriculture, Institute of Nuclear Agricultural Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; <sup>2</sup>China National Rice Research Institute, Hangzhou 311401, China

**Abstract:** A dwarf mutant was obtained from the progeny of *japonica* rice variety ‘Xiushui 11’ transformed with a *cry1Ab* gene mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. PCR detection showed that the mutant still carried the transgene *cry1Ab*. Histochemical GUS assay revealed that the dwarf trait did not co-segregate with T-DNA insertion in F<sub>2</sub> segregating population, suggesting the dwarfism was caused by somaclonal variation. Compared with the wild type, the mutant was significantly decreased in plant height because of less internode number and shorter internode length. Agronomical traits of the mutant were also changed with a significant increase in tiller number, but a significant decrease in spike length, grain number per spike and grain weight per plant. Both the mutant and its wild type were sensitive to exotic GA<sub>3</sub> treatment at seedling and jointing stages.

**Key words:** transgenic rice; somaclonal variation; dwarf mutant; GA<sub>3</sub>

矮化是水稻育种目标中的一个重要农艺性状, 对于提高产量和抗倒伏具有重要作用, 矮秆资源的发现、研究与矮秆品种的推广引发了水稻生产的第一次绿色革命(Zhang等2013; Hedden 2003)。生产上大面积应用的水稻矮秆品种几乎全部与隐性半矮秆基因*sd-1*有关(高奋明等2005; 朱立宏等1980), 但单一遗传资源的利用会导致遗传基础过分狭窄, 也存在潜在的风险(Liang等2004)。大多数植物矮化是由于体内赤霉素(gibberellic acid, GA)和油菜素内酯(brassinolide, BR)合成或信号转导受到影响, 少数植物矮化的发生与生长素(indole acetic acid, IAA)有关(白丽君和尹淑霞2014; 武涛等2005)。GA有着广泛而复杂的生物学功能, 调节植物整个生命周期不同阶段的生长和发育(张迎迎和何祖华2010)。与GA相关的矮化突变体可以分为GA缺陷型及GA不敏感型两种(白丽君和尹淑霞2014; 高润红等2014; 武涛等2005), GA缺陷型突变

体GA合成途径上基因的突变导致GA合成受阻引起植株矮化, 外施GA可以使株高恢复; GA不敏感型矮秆突变体是GA响应途径缺陷, 不能够响应外源GA, 株高不能恢复。研究结果业已表明, 水稻的矮生性状与GA有着密切的关系(黄秀芝等2012; 侯雷等2012; 李晨晨等2013; 刘清等2014; Piao等2014; Sakamoto等2004)。因此, 水稻矮秆新资源的创制、鉴定与应用对于水稻矮化育种具有重要意义, 研究矮秆突变体对GA处理的反应也可以为了解植物生长发育的调控和进一步揭示矮化发生的分子生物学机制奠定基础。

“克螟稻”(KMD)系通过农杆菌介导法将苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的杀虫晶体蛋白质基

收稿 2015-07-25 修定 2015-09-01

资助 农业部农业公益性行业科研专项(201103007)。

\* 通讯作者(E-mail: hrcui@zju.edu.cn; Tel: 0571-86971405)。

因*cry1Ab*导入粳稻品种‘秀水11’而培育出的转基因抗虫水稻(舒庆尧等1998; Shu等2000)。在导入*cry1Ab*基因再生植株的后代中, 转基因植株除表现导入目的基因控制的性状外, 还出现了包括矮秆等多种性状的变异(Shu等2002), 从中选育到了一个稳定的矮秆突变体, 其稻米营养成分和淀粉食用品质与对照无显著差异(崔海瑞等2005)。本研究对该突变体进行了表型鉴定, 研究了其矮秆性状与T-DNA插入的关系及其在苗期和拔节期对外源GA处理的反应, 为其育种应用和进一步揭示矮秆突变发生的机理提供参考。

## 材料与方法

### 1 材料

粳稻(*Oryza sativa* L. subsp. *japonica*)品种‘秀水11’及其导入*cry1Ab*基因的矮秆突变体。

### 2 方法

#### 2.1 突变体的培育

利用农杆菌介导法将苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的杀虫晶体蛋白质基因*cry1Ab*导入粳稻品种‘秀水11’(舒庆尧等1998; 项友斌等1999), 观察T<sub>1</sub>和T<sub>2</sub>代转基因植株的性状变化(Shu等2002), 选择其中的矮秆变异株, 经过连续自交获得矮秆性状表现稳定的突变体。

#### 2.2 突变体的表型鉴定

在杭州和海南两地种植, 单本插秧, 种植密度为15 cm×15 cm, 按常规方法管理。杭州田间种植时, 在分蘖末期考查分蘖数; 在抽穗期测量上三叶长度; 在成熟期测量株高后收回, 室内考查节间长度、穗长、粒数、结实率、千粒重和单株粒重。海南种植时, 分别在苗期、分蘖期、成熟期考查苗(株)高。各考查30株, 取平均值。

#### 2.3 苗期GA<sub>3</sub>点滴处理

突变体和‘秀水11’的种子经升汞消毒, 催芽至第一叶鞘长度约2 mm时移至石英砂上培养, 在一叶一心期挑选均匀一致的幼苗分成5组, 每组20株, 设3个重复。在刚出现的第二叶和第一叶之间, 用微量注射器分别滴加2 μL不同浓度的GA<sub>3</sub>溶液, 5种处理浓度分别为0.08、0.4、2、10和50 mg·L<sup>-1</sup>。处理后继续培养至二叶一心期, 测量第二叶鞘长度(Mitsunaga等1994)。

#### 2.4 拔节期GA<sub>3</sub>喷洒处理

对海南种植的矮秆突变体和‘秀水11’, 在拔节期用50 mg·L<sup>-1</sup>的GA<sub>3</sub>溶液进行整株均匀喷雾, 于完熟期测量穗下第一、第二和第三节间的长度及株高。每个处理30株, 3次重复。

#### 2.5 PCR检测

随机抽取20株矮秆突变体不同植株, 在分蘖期取叶片提取DNA进行PCR(王忠华等2001), 扩增产物用1.5%琼脂糖凝胶电泳分离和溴化乙锭染色检测, 以明确突变体在变矮的同时是否携带*cry1Ab*基因。

#### 2.6 F<sub>2</sub>群体的GUS组织化学检测

用矮秆突变体与‘秀水11’进行正反交配组, 将F<sub>1</sub>代自交后的种子种植形成F<sub>2</sub>群体。鉴于KMD中*gus*基因与*cry1Ab*基因紧密连锁遗传(王忠华等2001), 在分蘖期对各单株取叶片进行了GUS组织化学检测(Wu等2000; Jefferson 1987), 以明确矮秆性状与转基因是否关联。显色的记为GUS<sup>+</sup>, 未显色的记为GUS<sup>-</sup>, 在完熟期测量株高, 根据不同高度植株的GUS组织化学检测结果判断矮秆性状与T-DNA插入是否共分离。

## 实验结果

### 1 突变体株高性状与T-DNA插入的关系

为确认KMD矮秆突变体是否携带外源杀虫晶体蛋白基因*cry1Ab*, 对矮秆突变体进行了PCR检测。结果(图1)表明随机抽取的不同植株均能扩增出预期大小为559 bp的片段, 说明矮秆突变体携带着杀虫晶体蛋白基因*cry1Ab*, 而且已经纯合。

若矮秆性状是由于T-DNA插入特定基因导致的, 那么矮秆与导入的外源基因间应存在共分离现象。对突变体与‘秀水11’正反交组合的519个F<sub>2</sub>单株进行GUS活性的检测, 结果见表1。GUS<sup>+</sup>有348株, GUS<sup>-</sup>有171株, 分离比符合3:1分离, 与KMD

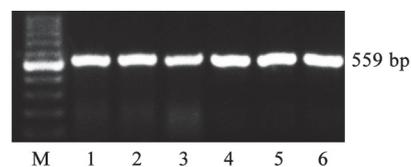


图1 矮秆突变体*cry1Ab*基因的PCR扩增

Fig.1 PCR products of *cry1Ab* gene in dwarf mutant plants  
M: 100 bp Maker; 1~6: 矮秆突变体不同植株。

表1 F<sub>2</sub>群体中不同高度植株的GUS组织化学分析Table 1 Histochemical GUS assay of plants with different heights in F<sub>2</sub> population

GUS活性	矮株	半矮株	正常株	总数
GUS <sup>+</sup>	30	132	186	348
GUS <sup>-</sup>	3	54	114	171

中T-DNA单位点插入的结果一致。矮秆植株中有3株为GUS<sup>-</sup>, 而正常植株中有186株为GUS<sup>+</sup>, 说明矮秆性状与GUS<sup>+</sup>不呈现共分离。显然, 矮秆突变不是由于T-DNA插入引起的, 而是来自转基因植株再生过程中的体细胞变异, 即矮秆性状是无性系变异造成的。

## 2 突变体的表型分析

矮秆突变体在杭州和海南两地的株高均比对照‘秀水11’显著降低。在杭州种植时, 矮秆突变体的植株高度在20~40 cm之间, 平均比对照降低59.27%。进一步检测节间的数目和长度时发现, 突变体少1个节间, 各节间长度也明显变短, 其中以中下部节间缩短比例较大(表2)。在海南短日照条件下, 尽管矮秆突变体的株高比在杭州种植时增加45%左右, 但在不同发育时期的株高仍显著低于对照‘秀水11’, 而且其矮秆特性在幼苗期就表现明显(表3)。

突变体的农艺性状也发生了变化(表4)。在杭州常规种植条件下, 矮秆突变体播始历期83 d左

表2 突变体与‘秀水11’的株高及节间长度的比较(杭州)

Table 2 Comparison of plant height and internode length between the mutant and ‘Xiushui 11’ (Hangzhou)

水稻	株高/cm	第一节间长/cm	第二节间长/cm	第三节间长/cm	第四节间长/cm	第五节间长/cm
矮秆突变体	29.99±4.89**	9.87±2.17**	3.92±1.05**	3.66±0.94**	1.68±0.86**	0**
‘秀水11’	73.63±5.94	22.25±3.36	13.76±2.46	11.77±1.48	6.33±1.56	1.86±1.12

\*代表5%水平上的显著性, \*\*表示1%水平上的显著性, 下表同此。

表3 不同发育时期的突变体株高变化(海南)

Table 3 Changes in plant height of the mutant at different developmental stages (Hainan)

水稻	株高/cm			
	二叶一心期	分蘖期	拔节期	成熟期
矮秆突变体	5.35±0.49**	10.90±0.93**	25.98±1.33**	42.67±3.02**
‘秀水11’	10.63±0.74	20.93±1.03	46.06±2.08	74.20±2.04

表4 矮秆突变体与‘秀水11’的主要农艺性状比较

Table 4 Comparison of agronomic traits between dwarf mutant and ‘Xiushui 11’

水稻	分蘖数/个	穗长/cm	穗粒数	结实率/%	千粒重/g	单株粒重/g	剑叶长/cm	倒二叶长/cm	倒三叶长/cm
矮秆突变体	11.5±1.92*	12.4±0.88**	47.0±5.03**	83.4±5.42	21.6±2.16	9.8±2.79*	14.8±1.56**	20.0±1.90*	22.2±1.53**
‘秀水11’	9.8±1.68	18.4±1.47	98.9±8.42	83.8±6.85	22.9±2.54	14.9±2.86	25.2±2.58	26.7±2.78	31.4±2.62

右, 生育期与‘秀水11’相仿, 结实率和千粒重也无显著差异, 但穗长、穗粒数和单株粒重均比对照明显减少, 分蘖数则比‘秀水11’显著增多, 上部3片叶长度显著或极显著变短, 成熟时叶色比‘秀水11’浓绿。

## 3 突变体对外源GA<sub>3</sub>处理的反应

在苗期进行了不同浓度GA<sub>3</sub>处理, 矮秆突变体

和‘秀水11’均表现敏感(表5)。总体来说, 随着GA<sub>3</sub>处理剂量的增加, 第二叶鞘长度也逐渐增加, 而且矮秆突变体对GA<sub>3</sub>的敏感性要比‘秀水11’高。

在拔节期喷洒GA<sub>3</sub>处理主要是促进穗下第二、第三节间增长, 而第一节间长度则无显著变化(表6)。矮秆突变体第二、第三节间长度分别增长了65.68%和311.81%; ‘秀水11’则分别增长了

表5 GA<sub>3</sub>浓度对第二叶鞘长度的影响  
Table 5 Effect of GA<sub>3</sub> concentration on the length of second sheath

GA <sub>3</sub> 浓度/mg·L <sup>-1</sup>	第二叶鞘长度/cm	
	矮秆突变体	‘秀水11’
0	1.38±0.19	5.18±0.48
0.08	1.46±0.08	5.50±0.39
0.4	1.56±0.29	5.34±0.55
2	2.14±0.22**	5.72±0.61*
10	3.12±0.70**	7.32±0.83**
50	3.72±0.80**	7.08±0.61**

29.51%和361.99%, 均已达到显著或极显著水平, 说明矮秆突变体和‘秀水11’均为GA敏感型。

## 讨 论

在水稻育种和生产上广泛应用的矮源主要是 *s-d1* 及其衍生资源, 为防止遗传资源单一化带来的风险, 水稻非 *s-d1* 矮生基因的发掘和利用也受到了遗传育种学家的重视。矮化是由节间长度或节间数减少所致, 也可能是共同作用的结果, 可通过多种不同途径获得矮化突变体(白丽君和尹淑霞

表6 GA<sub>3</sub>处理对拔节期株高和节间长度的影响

Table 6 Effects of GA<sub>3</sub> treatment on the plant height and internode length at tillering stage

水稻	处理	株高/cm	第一节间/cm	第二节间/cm	第三节间/cm
矮秆突变体	对照	42.67±3.02	5.72±0.94	2.36±2.17	1.44±0.64
	GA <sub>3</sub> 处理	54.54±4.39**	5.83±2.65	3.91±2.01*	5.93±0.85**
‘秀水11’	对照	74.20±2.04	14.79±2.12	8.71±2.83	2.92±1.65
	GA <sub>3</sub> 处理	97.87±2.86**	15.80±5.29	11.28±4.70*	13.49±2.32**

2014; 李西明等2005)。本研究中的突变体矮秆性状不与T-DNA共分离, 是体细胞无性系变异造成的, 不但节间减少1个, 而且各节间都显著缩短, 显然是节间长度变短和节间数减少的综合结果。目前发掘的水稻矮秆、半矮秆资源已达60多个(Piao等2013), 但许多矮秆突变体常伴随其它性状的变化, 诸如分蘖减少或增多、脆秆、小粒、不育、卷叶、窄叶、叶色深等(胡江等2009), 大多数无明显利用价值。本研究中的矮秆突变体产量性状大多比‘秀水11’表现差, 也无直接利用价值, 但其籽粒大小和结实率与对照相当, 更可贵的是它携带抗虫基因 *cry1Ab*, 兼具矮秆和抗鳞翅目害虫两大特性, 对水稻育种来说是一份宝贵的资源。

根据矮化植株对GA响应的不同, 可将矮秆突变体划分为GA敏感型和GA钝感型。本研究中, 在幼苗期和拔节期的GA<sub>3</sub>处理实验均表明该突变体为GA敏感型, 在添加外源GA<sub>3</sub>情况下, 植株高度显著增加, 说明其GA信号传导途径正常, 推测其内源GA合成可能受阻或GA合成量极低, 造成GA欠缺, 这尚需通过内源GA的测定来验证。Mitsunaga等(1994)分析了携带不同矮秆基因的水稻品种对外源GA的反应, 发现带有 *sd-1* 的籼稻品种对GA反应敏感, 而带有与 *sd-1* 非等位基因的品种则反应不敏

感, 认为对GA的敏感性可作为不同矮秆基因的快速鉴定方法。国内许多研究也有类似结果, 还发现不同的矮秆基因对GA处理的敏感性也有差异(董凤高等1992; 何祖华等1993; 李西明等2005; 林鸿宣等1991)。若按此推论, 本研究中的突变体所携带的矮秆基因应与 *sd-1* 等位。然而, 这种快速鉴定方法并非适用于所有水稻矮源, 例如, 非 *sd-1* 的矮源同样对GA反应敏感(刘建昌等1997; 钱前等1997), 与 *sd-1* 等位的矮秆突变体既有敏感型也有不敏感型(金卫和孙淑蓁1995)。因此, 本研究中的突变体所携带的矮秆基因与其它矮秆基因的等位关系需做进一步遗传分析才能确认。另外, 该突变体其它性状的变化是否是由于GA的一因多效所引起也尚待研究。

## 参考文献

- 白丽君, 尹淑霞(2014). 植物矮化突变体的来源及矮化机理研究进展. 生物技术通报, 27 (6): 34-39
- 崔海瑞, 卢美贞, 沈希宏, 吴殿星, 张明龙, 沈圣泉, 舒庆尧(2005). 转基因抗虫水稻矮秆突变体的品质性状分析. 核农学报, 19 (5): 336-339
- 董凤高, 熊振民, 闵绍楷, 王建林, 林鸿宣(1992). 应用赤霉素对水稻矮秆资源进行苗期鉴别的研究. 南京农业大学学报, 15 (3): 13-19
- 高奋明, 姜勇, 孔德伟, 李仕贵(2005). 水稻株高的遗传控制及其在

- 育种上的应用. 分子植物育种, 3 (1): 87~93
- 高润红, 郭桂梅, 徐红卫, 陈志伟, 刘成洪, 黄亦辰, 何婷, 李颖波, 陆瑞菊, 黄剑华(2014). 大麦DH矮秆突变体的表型分析及其对外源赤霉素的响应. 植物生理学报, 50 (12): 1785~1790
- 何祖华, Etoh Kossi, 石春海, 申宗坦(1993). 水稻株高基因对GA<sub>3</sub>敏感性及其与酶的关系. 中国水稻科学, 7 (3): 243~247
- 侯雷, 袁守江, 尹亮, 赵金凤, 万国峰, 张文会, 李学勇(2012). 两个新水稻*dwarf18*基因强等位突变体的表型分析及分子鉴定. 作物学报, 38 (8): 1416~1424
- 胡江, 曾大力, 张光恒, 郭龙彪, 董国军, 高振宇, 胡兴明, 朱丽, 刘坚, 钱前(2009). 水稻矮化突变体*ddu1*的遗传分析和分子定位. 中国水稻科学, 23 (3): 252~256
- 黄秀芝, 丁海东, 梁建生(2012). 籼稻矮秆突变体Tm049的表型分析及其对外源赤霉素的响应. 玉林师范学院学报, 33 (5): 12~18
- 金卫, 孙淑芝(1995). 赤霉素对筛选水稻非等位矮秆突变体作用的探讨. 浙江农业科学, (4): 167~168
- 李晨晨, 侯雷, 尹亮, 赵金凤, 袁守江, 张文会, 李学勇(2013). 水稻极矮突变体*s2-47*对赤霉素的响应及基因定位研究. 作物学报, 39 (10): 1766~1774
- 李西明, 马良勇, 朱旭东, 杨长登(2005). 不同矮源基因水稻对赤霉素和多效唑的敏感性. 福建农林大学学报(自然科学版), 34 (1): 5~10
- 林鸿宣, 熊振民, 闵绍楷, 俞桂林, 朱旭东(1991). 矮生性水稻对赤霉素反应的初步研究. 中国水稻科学, 5 (1): 13~18
- 刘建昌, 蒋志谦, 严宗卜(1997). 赤霉素(GA<sub>3</sub>)鉴定水稻新矮源效果研究. 贵州农业科学, 25 (6): 3~7
- 刘清, 童建华, 史齐, 彭克勤, 王若仲, 蔺万煌, Mohammed Humayun Kabir, 沈革志, 萧浪涛(2014). 一个矮秆多分蘖水稻突变体的植物激素动态特性分析. 中国农业科学, 47 (13): 2519~2528
- 钱前, 朱旭东, 张小惠, 曾大力, 严学强, 熊振民(1997). 矮秆水稻江苏矮对赤霉素的敏感性及其矮生性的遗传分析. 江苏农业学报, 13 (2): 126~128
- 舒庆尧, 叶恭银, 崔海瑞, 项友斌, 高明尉(1998). Bt转基因抗虫水稻“克螟稻”的培育. 浙江农业大学学报, 24 (6): 579~580
- 王忠华, 吴刚, 崔海瑞, Illimar Altosaar, 夏英武, 舒庆尧(2001). Bt水稻中*cry1ab*基因的遗传分析. 遗传学报, 28 (9): 846~851
- 武涛, 曹家树, 虞慧芳(2005). 赤霉素合成基因的克隆及其相关矮化突变体. 中国细胞生物学学报, 27 (2): 157~164
- 项友斌, 梁竹青, 高明尉, 舒庆尧, 叶恭银, 成雄鹰, Altosaar I (1999). 农杆菌介导的苏云金杆菌抗虫基因*cry1a(b)*和*cry1a(c)*在水稻中的遗传转化及蛋白表达. 生物工程学报, 7 (4): 494~500
- 张迎迎, 何祖华(2010). 高等植物赤霉素的代谢与信号转导. 植物生理学通讯, 46 (7): 623~630
- 朱立宏, 顾铭洪, 薛元龙(1980). 籼稻矮秆遗传及其利用. 南京农学院学报, (2): 1~7
- Hedden P (2003). The genes of the Green Revolution. Trends Genet, 19 (1): 5~9
- Jefferson RA (1987). Assaying chimeric genes in plants: the *gus* gene fusion system. Plant Mol Biol Rep, 5 (4): 387~405
- Liang G, Cao X, Sui J, Zhao X, Yan C, Yi C, Gu M (2004). Fine mapping of a semidwarf gene *sd-g* in *indica* rice (*Oryza sativa* L.). Chin Sci Bull, 49 (9): 900~904
- Mitsunaga S, Tashiro T, Yamaguchi J (1994). Identification and characterization of gibberellin-insensitive mutants selected from among dwarf mutants of rice. Theor Appl Genet, 87 (6): 705~712
- Piao R, Chu S, Jiang W, Yu Y, Jin Y, Woo MO, Lee J, Kim S, Koh HJ (2014). Isolation and characterization of a dominant dwarf gene, *D-h*, in rice. PLoS ONE, 9 (2): e86210
- Sakamoto T, Miura K, Itoh H, Tatsumi T, Ueguchi-Tanaka M, Ishiyama K, Kobayashi M, Agrawal GK, Takeda S, Abe K et al (2004). An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice. Plant Physiol, 134 (4): 1642~1653
- Shu Q, Cui H, Ye G, Wu D, Xia Y, Gao M, Illimar A (2002). Agronomic and morphological characterization of *Agrobacterium*-transformed *Bt* rice plants. Euphytica, 127 (3): 345~352
- Shu Q, Ye G, Cui H, Cheng X, Xiang Y, Wu D, Gao M, Xia Y, Hu C, Sardana R, Illimar A (2000). Transgenic rice plants with a synthetic *cry1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* were highly resistant to eight *Lepidopteran* rice pest species. Mol Breed, 6 (4): 433~439
- Wu G, Cui H, Shu Q, Xia Y, Xiang Y, Gao M, Cheng X, Altosaar I (2000). GUS histochemical assay: a rapid way to screen striped stem borer (*Chilo suppressalis*) resistant transgenic rice with a *cry1Ab* gene from *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) and its rapid screening. J Zhejiang Uni, 19 (2): 15~18
- Zhang F, Jiang Y, Yu S, Ali J, Paterson A, Khush G, Xu J, Gao Y, Fu B, Lafitte R et al (2013). Three genetic systems controlling growth, development and productivity of rice (*Oryza sativa* L.): a reevaluation of the 'Green Revolution'. Theor Appl Genet, 126 (4): 1011~1024