

水稻 *stunted lemma/palea 1* 突變對偶基因的功能探討¹

侯雅玲²

摘 要

Stunted lemma/palea 1 (*slp1*) 為一水稻突變品系，其外表型呈現矮株、內外穎退化與不稔。前人研究的結果顯示*slp1*突變外表型可能是由於*OsSPL16*蛋白序列中第六個胺基酸發生錯義突變而造成。本研究顯示過量表現正常*OsSPL16*對偶基因於*slp1*突變植株中並無法使*slp1*突變外表型回復正常，然而將突變*OsSPL16*對偶基因導入正常水稻植株中會造成轉殖植株呈現*slp1*突變外表型。此結果證實*OsSPL16*的錯義突變對偶基因確實為*slp1*突變對偶基因，而此突變對偶基因也具有活性，能影響水稻株高及花穗發育。

關鍵詞：水稻、內穎、外穎、*OsSPL16*

前 言

世界糧食作物中單子葉禾本科植物占了極大的比例，包含小麥、玉米、水稻、高粱等，作物產量與穀粒大小具有高度相關性，而穀粒直接受到穎花外表形態所決定。禾本科與雙子葉植物的花器形態具有很大的差異。一個典型的雙子葉花器構造由內向外可分為四環，以模式植物阿拉伯芥為例：雌蕊位於花器中心，雄蕊環繞在雌蕊周圍，接著外圈為花瓣，花萼則是在最外圈底部以支持整個花器構造⁽⁹⁾；禾本科植物以小穗（*spikelet*）為花序的基本單位，以水稻為例：水稻每小穗僅有一朵穎花（*floret*），穎花著生於小穗軸上，穎花是禾本科植物特化的花器構造，沒有花萼及花被，由內而外依次為雌蕊、六枚雄蕊環狀排列、一對鱗被在內穎基部兩側、外穎（*lemma*）及內穎（*palea*）包覆在外⁽⁴⁾。

從阿拉伯芥及金魚草花器突變材料的觀察研究，提出ABC模式來解釋同源基因（*homeotic gene*）的相互作用關係及其如何共同調控花器發育的遺傳機制。在

¹本文為作者碩士論文之一部分

²行政院農業委員會臺東區農業改良場 助理研究員

ABC模式中，將調控花器發育的同源基因分成A、B、C三類功能，A、C基因間為拮抗關係，兩者相互使A基因限制在第一、二輪而C基因限制在第三、四輪分生組織表現，A基因決定花萼（第一輪）形成、C基因決定雌蕊（第四輪）形成；B基因表現在第二、三輪，分別和A基因共同調控花瓣（第二輪）、和C基因共同調控雄蕊（第三輪）花器發育，當同源基因表現異常時，就使花器形態發育發生轉變。隨著同源突變材料的研究增加，已知水稻鱗被是特化的花瓣構造^(1,7,10,16)，但水稻內外穎構造仍沒有定論。其中一種觀點是比較形態差異，認為外穎是苞片而內穎是先出葉⁽²⁾；另一種觀點是基於花器同源基因突變材料研究，認為內穎是形態改變的花萼^(11,15)。

調控花器發生的同源基因大多為具有保守性MADS-box結構區的轉錄因子（transcription factor）^(12,17)，這些基因也受到上游基因—例如SBP-box（*SQUAMOSA* promoter binding protein）等轉錄因子調控。SBP-box基因具有高度保守的鋅指序列（zinc finger motif）及核定位信號區域（NLS, nuclear localization signal）的特徵^(3,14,21)，已有研究顯示SBP-box基因與花穗結構、花器發育有關^(5,6,8,13,18)，藉由更多的突變材料研究，能有助於瞭解調控花器發育的複雜網絡。

本研究中*stunted lemma/palea 1 (slp1)* 突變材料具有內外穎嚴重退化的明顯特徵，異型結合（*Slp1/slp1*）突變材料自交後代依內外穎退化程度可分為三群：野生型、中間型、內外穎退化不稔型，外表型分離比為1:2:1，表示*slp1*由一個半顯性基因控制。*slp1*突變材料經精細遺傳定位結果，發現在*OsSPL16*蛋白質第六個胺基酸發生錯義突變（missense mutation），可能是造成*slp1*突變的原因⁽²⁾。本試驗藉由*OsSPL16*基因轉殖方法來釐清*OsSPL16*與*slp1*突變外表型的關係。

材料與方法

一、質粒種類及構築方法

(一) *pSPL16_{oxc}*

此構築是利用水稻ubiquitin啟動子啟動*OsSPL16* cDNA，使*OsSPL16*基因持續表現，此質粒將分別轉殖到*Slp1/slp1*以及*slp1/slp1*突變材料中，目的為觀察*OsSPL16*持續表現對突變材料外表型態是否造成影響。

(二) *pSPL16m*

此構築是以*OsSPL16*基因前2.4kb的啟動子及*OsSPL16* 5'UTR序列啟動點突變的*OsSPL16* cDNA，利用點突變的方法將*OsSPL16*基因第56個鹼基由G變成T，與*slp1*突變材料鹼基相同。將*pSPL16m*質粒轉殖到臺農67號水稻材料，轉殖株代稱為PmD，PmD轉殖株內突變*OsSPL16*對偶基因，預期會造成臺農67號水稻的外表型態改變，藉此來了解此突變對於型態發育的影響。

(三) *pSPL16_{GUS}*

此構築將*OsSPL16*基因前2.4kb的啟動子序列及*OsSPL16* 5'UTR序列接在報導基因GUS (*beta-glucuronidase*) 前面，將*pSPL16_{GUS}* 轉入臺農 67 號水稻材料，成功轉殖株代稱PG，觀察PG轉殖株內*OsSPL16*啟動子作用的生育時期以及組織的專一性，藉此來了解*OsSPL16*在水稻生長時期之表現及如何調控器官發育。

二、組織專一性GUS染色

取各時期的不同水稻組織以GUS染色進行分析，包含根、莖、葉、花穗。試驗進行時，取欲染色的組織加入適量的GUS staining solution，真空抽氣一個小時，再放置於37°C 黑暗培養箱中反應12–16小時。反應完成之植體浸泡於95%酒精中退去葉綠素後，觀察GUS表現的情形並拍照記錄。

三、焦磷酸定序法檢測轉殖株轉入對偶基因拷貝數

為定量轉殖株中*OsSPL16*錯義突變位置上SNP鹼基比例，轉殖株材料DNA以Pyr_F (5'-GCGTCAACACACAGCTCAAG) 及Pyr_R (5'-biotin-CAGCCGATGACGACGATAC) 引子對進行PCR，PCR產物經ExoSAP-IT處理清除引子，反應後產物以PyrSEQ (5'-TGGAGTGGGAYCTCAA) 引子進行焦磷酸定序。

結果與討論

*OsSPL16*基因之組織專一性表現

將野生型*OsSPL16*基因上游2.4kb的序列，預期含有啟動子，接上GUS報導基因以農桿菌轉殖導入臺農67號，以了解*OsSPL16*之組織專一性。三葉齡轉殖株主要於葉尖表現 (圖1A)，而根與葉鞘沒有表現。生殖生長時期ln8——穗軸及分枝快速伸長時期——轉殖株 (圖1B)，*OsSPL16*主要在稻穗基部較年輕的穎花表現，上位較成熟穎花未表現。年輕穎花 (長度1mm) 中雄蕊有偵測到*OsSPL16*表現，並隨著穎花發育，*OsSPL16*表現擴散到內、外穎。

過量表現*OsSPL16*的轉殖株

另外將過量表現*OsSPL16*構築 (*pSPL16_{Ox}*) 分別轉入*Slp1/slp1*及*slp1/slp1*突變株，使*OsSPL16*在突變株中持續表現，成功轉殖株分別代稱為OxH與OxM。OxH外表型與*Slp1/slp1*突變株相似，都因穀粒小且低稔實率使穗型呈現直立，稔實穎果的內外穎退化而無法閉合，唯OxH內外穎及穎果較*Slp1/slp1*突變株略大 (圖2A)。OxM外表型與*slp1/slp1*突變株相似，OxM轉殖株株高矮小，有些矮化嚴重而沒有稻穗 (OxM_09、OxM_16)，OxM稻穗短小，一次與二次分枝數量少，有些稻穗未抽長而包埋在葉鞘中，穎花完全不稔且內外穎嚴重退化 (圖2B)。

利用轉殖方式過量表現*OsSPL16* cDNA所獲得的轉殖株OxH及OxM穎花皆無法恢復正常型態，推測兩個可能的原因為：(1)*slp1*突變不是因為*OsSPL16*發生錯義突變所造成，(2)*slp1*突變是因為*OsSPL16*發生錯義突變所造成，但*slp1*突變是屬於功能獲得型突變（gain of function mutation），轉入*OsSPL16*仍無法回復突變表型。

表現錯義突變*OsSPL16*的轉殖株

為了檢驗錯義突變*OsSPL16*是否屬於功能獲得型突變對偶基因而造成*slp1*突變株外表型。首先構築突變*OsSPL16*質體（*pSPL16m*）：由野生型*OsSPL16*基因上游2.4kb的序列接錯義突變*OsSPL16* cDNA，經由農桿菌轉殖將*pSPL16m*質體轉入臺農67號，獲得15個T₀轉殖株，轉殖株以PmD代稱利用焦磷酸定序法（Pyrosequencing）分析PmD轉殖株轉入突變*OsSPL16*質體的拷貝數。G代表野生型*OsSPL16*對偶基因，而T代表突變型*OsSPL16*對偶基因。結果顯示九個轉殖株（PmD_04、07、08、10、23、29、36、47、50）在*OsSPL16* SNP位點定序之G/T比率為2:1，表示具有野生型*OsSPL16*對偶基因2個拷貝，及突變型*OsSPL16*對偶基因1個拷貝；一個轉殖株（PmD_09）在*OsSPL16* SNP位點定序之G/T比率為2:2，表示PmD_09具有野生型及突變型*OsSPL16*對偶基因各兩個；四個轉殖株（PmD_13、15、20、31）之G/T比率大於10，可以推論這四個轉殖株未成功植入*pSPL16m*質體（表1）。

PmD突變外表型態包含植株矮化、葉片硬質深綠、劍葉尺寸縮小；穗長變短、每穗第一分枝數量減少，有些穗短到無法伸出葉鞘。內外穎外表型態方面，第一類輕微異常：內外穎突變型態為尺寸縮小、稔實率低且穀粒不充實；第二類較嚴重的型態為穎花不稔、內外穎退化，內穎幾乎包埋在外穎裡面；第三類型態：內外穎瘦長且不稔（圖3）。從轉殖株外表型與定序結果相比較，G/T比率大於10的轉殖株外表型態和臺農67外觀相似，而含有一個以上突變型*OsSPL16*對偶基因的轉殖株皆表現異常的外表型態。從結果可以確認*slp1*突變材料中*OsSPL16*發生錯義突變是屬於功能獲得型突變，會造成內外穎退化。

水稻*OsSPL16*與玉米中的同源基因*TGA1*，皆因點突變使基因轉譯過程第六個胺基酸發生錯義突變，造成穀粒發育上的變化。水稻*OsSPL16*及大芻草*TGA1*蛋白在第六個胺基酸為離胺酸（K, lysine）時，水稻內外穎及大芻草穎片（glume）較大，能將穎果包起來；而當第六個胺基酸為天門冬醯胺（N, arspargine）時，水稻內外穎及玉米穎片（glume）縮小，使穎果裸露出來^(18,20)。

儘管*slp1*突變材料過量表現*OsSPL16*無法使退化的內外穎恢復至正常大小，但過量表現使OxH穀粒較*Slp1/slp1*較大；PmD轉殖株造成內外穎無法閉合且穎果難以充實，表示野生型*OsSPL16*對偶基因能影響穀粒大小並促進穀粒充實。在Wang等（2012）的研究中也有相同的結果，其利用RNAi轉殖方式降低*OsSPL16*表現量的轉殖株——相較於未轉殖植株——具有較窄的穀粒寬度；Amol3水稻品系因為帶有*OsSPL16*表現量高的對偶基因，使穀粒較寬且千粒重較重，產量高⁽¹⁹⁾。根據此概念，選拔*OsSPL16*表現量高的對偶基因能作為提高水稻產量的育種參考。

結 論

將突變 *OsSPL16* ($G^{56} \rightarrow T^{56}$) 導入臺農67號水稻中，獲得和 *slp1* 突變株相似的轉植株：穎果內外穎退化而無法閉合，且植株矮小；而在 *slp1* 突變株中過量表現 *OsSPL16* 無法回復 *slp1* 突變表型。另外藉 *OsSPL16* 組織專一性表現結果得知 *OsSPL16* 作用於營養生長期之葉片與生殖生長期之內外穎及花藥，為突變株外表型異常之位置。總結以上結果，*slp1* 突變為 *OsSPL16* 單一點突變所造成，*slp1* 突變對偶基因具有活性，參與植株生長與花穗發育之調控，使株高矮小、花穗變短、分枝減少、內外穎退化及不稔。

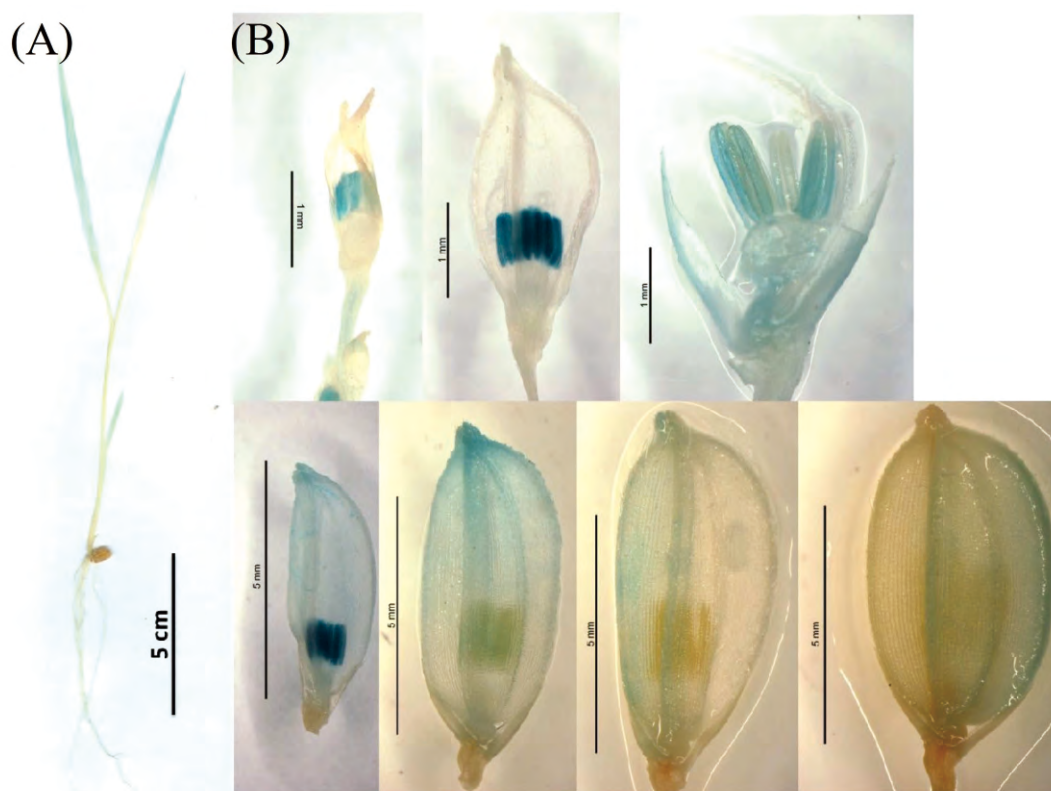


圖1. *OsSPL16* 啟動子之組織專一性表現

(A) 三葉齡植株，在葉部有觀察到GUS報導基因之表現，以葉尖表現量較高。

(B) 水稻ln8時期，在穎花雄蕊、內穎、外穎有觀察到GUS報導基因之表現。

Fig. 1. Expression activity of *pSPL16::GUS* in different tissues and organs.

(A) Three-leaf stage. GUS was detected in leaves concentrated at tip of leaves.

(B) Different florets collected at the ln8 stage. GUS was detected in stamens, lemma and palea.

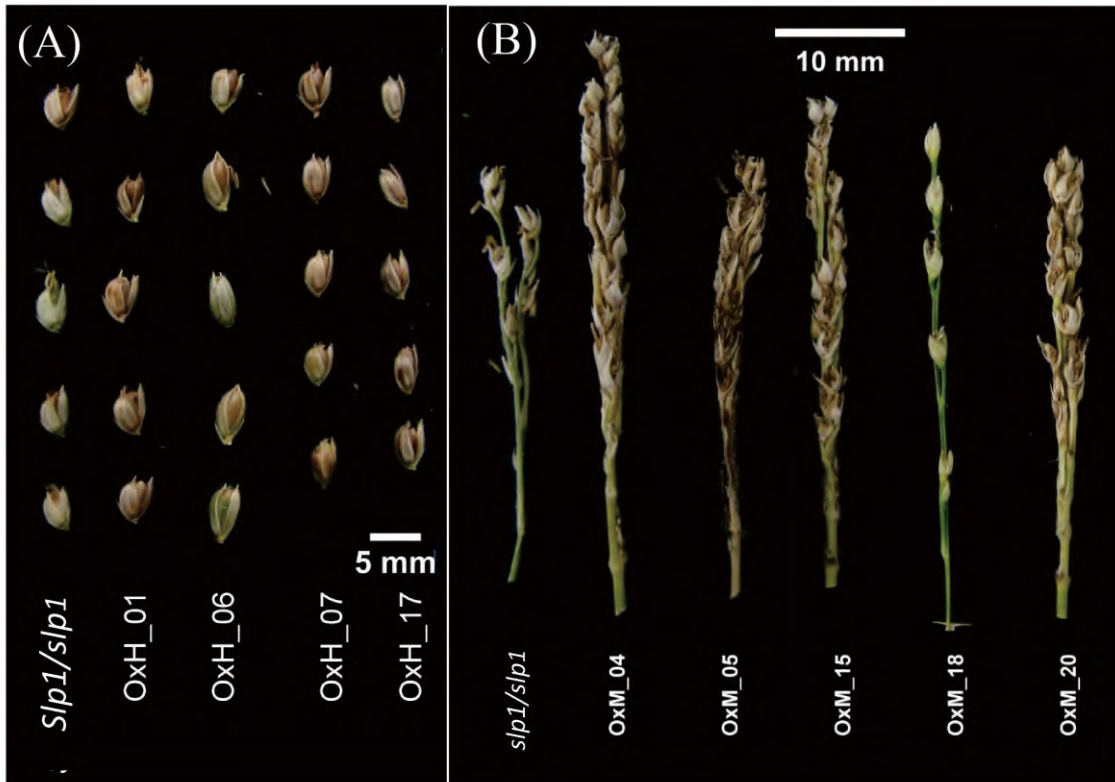


圖2. OxC及OxC T₀轉殖株穀粒外表型態

- (A) OxC轉殖株及 $Slp1/slp1$ 突變株。將過量表現野生型 $OsSPL16$ cDNA質粒 ($pSPL16_{oxc}$) 轉入 $Slp1/slp1$ 突變材料中，獲得四個OxC轉殖株。OxC轉殖株及 $Slp1/slp1$ 突變株的穀粒外表型態相似，其穀粒內外穎皆縮小且無法閉合。
- (B) OxC轉殖株及 $slp1/slp1$ 突變株。將 $pSPL16_{oxc}$ 質粒轉入 $slp1/slp1$ 突變材料中，獲得五個OxC轉殖株。OxC轉殖株與 $slp1/slp1$ 突變株外表型態相似。

Fig. 2. Grain morphology of OxC and OxC T₀ transgenic plants.

- (A) Four OxC transgenic lines and $Slp1/slp1$ mutant. All the lemma and palea were degenerate and unclosed. The OxC transgenic lines were generated by introducing the $pSPL16_{oxc}$ plasmid into the $Slp1/slp1$ mutant. The $pSPL16_{oxc}$ plasmid contains wild-type $OsSPL16$ cDNA, which is driven by the rice ubiquitin promoter. The OxC transgenic plants showed similar phenotypes to the $Slp1/slp1$ mutant.
- (B) Five OxC transgenic lines and $slp1/slp1$ mutant. The OxC transgenic lines were generated by introducing the $pSPL16_{oxc}$ plasmid into the $slp1/slp1$ mutant. The OxC transgenic plants showed similar morphology to the $slp1/slp1$. Scale bar = 5 mm (A); 10 mm (B).

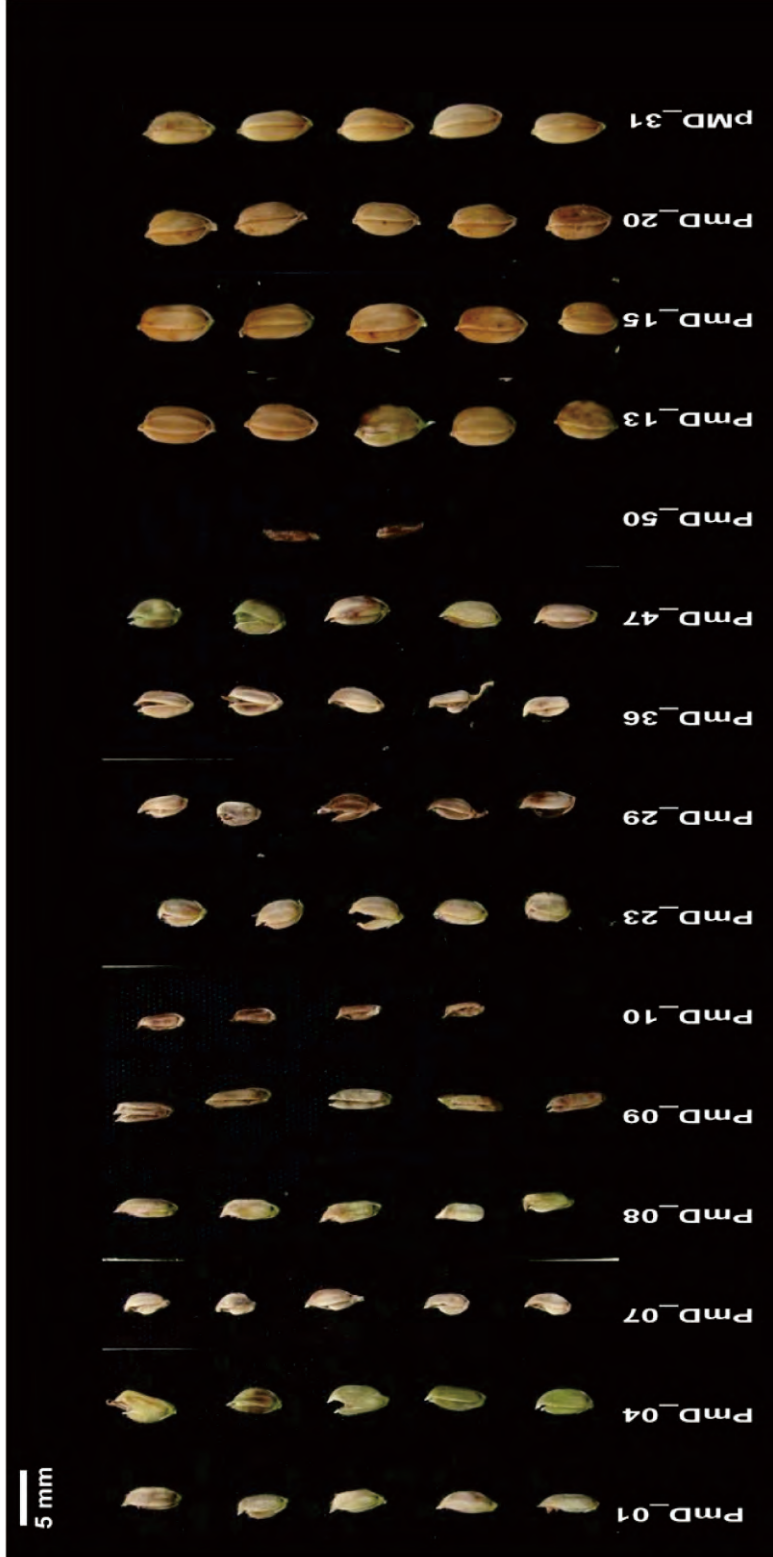


圖3. PmD T₀ 轉殖株穀粒外表型態

左側11個PmD (PmD_01、04、07—10、23、29、36、47) 品系成功獲得至少一個*OsSPL16*突變對偶基因，而右側四個轉殖株 (PmD_13、PmD_15、PmD20及 PmD_31) 未獲得*OsSPL16*突變對偶基因。成功的PmD轉殖株穎花皆不稔、內外穎退化，相反的，未獲得*OsSPL16*突變對偶基因的轉殖株，穀粒外觀及稔實率正常。

Fig. 3. Grain morphology in the PmD T₀ transgenic plants.

Eleven PmD transgenic lines (PmD_01, 04, 07-10, 23, 29, 36 and 47) on the left successfully received at least one mutated *OsSPL16* allele; the four PmD transgenic lines on the right (PmD_13, PmD_15, PmD20 and PmD_31) failed to gain the mutant transgenic allele in the plants. The florets in all of the successful transgenic plants were sterile and showed degenerated lemma and palea. In contrast, the florets in all of the failed transgenic plants were fertile and formed normal grains. The scale bar is equal to 5 mm.

表1. PmD T₀轉殖株外表型與基因型
Table 1. The phenotypes and genotypes of the T₀ PmD transgenic lines.

| PmD Line | T ₀ phenotype | | | | T ₀ genotype (pyro-sequencing) | | | assigned genotype | |
|----------|---------------------------------|--------------------|--------------|-------------------|---|-----------------------|------------------|-------------------|------------------|
| | T ₀ Hyg ⁺ | Lemma/palea | Grain number | Plant height (cm) | 2 nd branch | note | G(<i>Slp1</i>) | | T(<i>slp1</i>) |
| PmD01 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 34.6 | NO | | 22.72 | 77.28 | |
| PmD04 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 45 & 28.3 | NO | | 61.47 | 38.53 | AAa |
| PmD05 | yes | | ND | 27.6 | ND | not heading yet | | | |
| PmD06 | yes | | ND | 19.5 | ND | not heading yet | | | |
| PmD07 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 28 | NO | short inflorescence | 60.44 | 39.56 | AAa |
| PmD08 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 41 | NO | slender palea/lemma | 62.19 | 37.81 | AAa |
| PmD09 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 51 | NO | slender palea/lemma | 49.85 | 50.15 | AAaa |
| PmD10 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 34 | NO | slender palea/lemma | 62.42 | 37.58 | AAa |
| PmD13 | yes | as wide type | | 77 | YES | | 95.15 | 4.85 | AA |
| PmD15 | yes | as wide type | | 61 | YES | | 93.75 | 6.25 | AA |
| PmD20 | yes | as wide type | | 86 | YES | | 93.97 | 6.03 | AA |
| PmD23 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 46 | NO | round ,small spikelet | 59.49 | 40.51 | AAa |
| PmD29 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 39 | NO | round ,small spikelet | 61.08 | 38.92 | AAa |
| PmD31 | yes | as wide type | as wide type | 58 | YES | | 93.80 | 6.20 | AA |
| PmD36 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 31 & 57 | NO | round ,small spikelet | 60.91 | 39.09 | AAa |
| PmD47 | yes | P. smaller than L. | less than 15 | 43 | NO | slender palea/lemma | 59.40 | 40.60 | AAa |
| PmD50 | yes | | ND | 30.8 | ND | not heading yet | 61.33 | 38.67 | Aaa |

ND代表未收集到轉殖株的稻穗

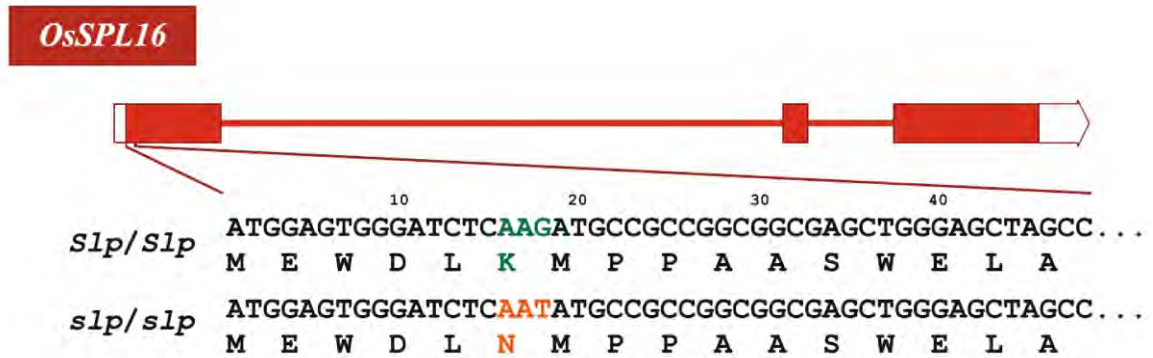
“P. smaller than L.”表示內穎退化程度較外穎嚴重。

焦磷酸定序分析中，以*Slp1*野生型、*Slp1/Slp1*突變型、*slp1/slp1*突變型作為對照組，G/T比例在對照組中分別為：*Slp1*野生型（G: 92.09%; T: 7.91%）、*slp1/slp1*突變型（G: 8.21%; T: 91.79%）及*Slp1/slp1*突變型（G: 49.15%; T: 50.85%）。

ND indicated no panicle was collected.

“P. smaller than L.” means palea is degenerated seriously than lemma.

For pyrosequencing, the *Slp1/Slp1*, *slp1/slp1*, *Slp1/slp1* samples were analyzed as control. The percentages of G and T in the three controls were *Slp1/Slp1* (G: 92.09%; T: 7.91%), *slp1/slp1* (G: 8.21%; T: 91.79%), and *Slp1/slp1* (G: 49.15%; T: 50.85%).



附錄. *Slp1/Slp1*及*slp1/slp1*基因型水稻之*OsSPL16*基因序列差異。

比對*Slp1*及*slp1*突變材料序列，發現位於*OsSPL16*基因有單核苷酸多態性（single nucleotide poly morphism, SNP），序列由G⁵⁶變成T⁵⁶，造成*OsSPL16*蛋白第六個胺基酸轉譯發生錯義突變，由離胺酸變成天門冬醯胺。

Appendix. Sequence comparison of *OsSPL16* gene between the *Slp1/Slp1* and *slp1/slp1* genotypes.

The SNP in *OsSPL16* gene resulted in a missense mutation lysine to asparagine at the sixth amino acid of *OsSPL16* protein.

參 考 文 獻

1. Ambrose, B. A., D. R. Lerner, P. Ciceri, C. M. Padilla, M. F. Yanofsky, and R. J. Schmidt. 2000. Molecular and genetic analyses of the *Silky1* gene reveal conservation in floral organ specification between eudicots and monocots. *Molecular Cell* 5(3): 569-579.
2. Bell, A. D. and A. Bryan. 2008. *Plant form: an illustrated guide to flowering plant morphology*. Timber Press.
3. Birkenbihl, R. P., G. Jach, H. Saedler, and P. Huijser. 2005. Functional dissection of the plant-specific SBP-domain: overlap of the DNA-binding and nuclear localization domains. *J. Mol. Biol.* 352(3): 585-596.
4. Bommert, P., N. Satoh Nagasawa, D. Jackson, and H. Y. Hirano. 2005. Genetics and evolution of inflorescence and flower development in grasses. *Plant Cell Physiol.* 46(1): 69-78.
5. Cardon, G., S. Höhmann, J. Klein, K. Nettlesheim, H. Saedler, and P. Huijser. 1999. Molecular characterisation of the Arabidopsis SBP-box genes. *Gene* 237(1): 91-104.
6. Jiao, Y., Y. Wang, D. Xue, J. Wang, M. Yan, G. Liu, G. Dong, D. Zeng, Z. Lu, and X. Zhu. 2010. Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. *Nat. Genet.* 42(6): 541-544.
7. Kang, H. G., J. S. Jeon, S. Lee, and G. An. 1998. Identification of class B and class C floral organ identity genes from rice plants. *Plant Mol Biol* 38(6): 1021-1029.
8. Klein, J., H. Saedler, and P. Huijser. 1996. A new family of DNA binding proteins includes putative transcriptional regulators of the *Antirrhinum majus* floral meristem identity gene *SQUAMOSA*. *Mol. Gen. Genet.* 250(1): 7-16.
9. Krizek, B. A. and J. C. Fletcher. 2005. Molecular mechanisms of flower development : an armchair guide. *Nat. Rev. Genet.* 6(9): 688-698.
10. Kyozuka, J., T. Kobayashi, M. Morita, and K. Shimamoto. 2000. Spatially and temporally regulated expression of rice MADS box genes with similarity to Arabidopsis class A, B and C genes. *Plant Cell Physiol.* 41(6): 710-718.
11. Luo, Q., K. Zhou, X. Zhao, Q. Zeng, H. Xia, W. Zhai, J. Xu, X. Wu, H. Yang, and L. Zhu. 2005. Identification and fine mapping of a mutant gene for palealess spikelet in rice. *Planta* 221(2): 222-230.
12. Ma, H., M. F. Yanofsky, and E. M. Meyerowitz. 1991. AGL1-AGL6, an Arabidopsis gene family with similarity to floral homeotic and transcription factor genes. *Genes Dev.* 5(3): 484-495.

13. Miura, K., M. Ikeda, A. Matsubara, X.-J. Song, M. Ito, K. Asano, M. Matsuoka, H. Kitano, and M. Ashikari. 2010. OsSPL14 promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. *Nat. Genet.* 42(6): 545-549.
14. Moreno, M. A., L. C. Harper, R. W. Krueger, S. L. Dellaporta, and M. Freeling. 1997. *Liguleless1* encodes a nuclear-localized protein required for induction of ligules and auricles during maize leaf organogenesis. *Genes Dev.* 11(5): 616-628.
15. Nagasawa, N., M. Miyoshi, Y. Sano, H. Satoh, H. Hirano, H. Sakai, and Y. Nagato. 2003. SUPERWOMAN1 and DROOPING LEAF genes control floral organ identity in rice. *Development* 130(4): 705-718.
16. Shinozuka, Y., S. Kojima, A. Shomura, H. Ichimura, M. Yano, K. Yamamoto, and T. Sasaki. 1999. Isolation and characterization of rice MADS box gene homologues and their RFLP mapping. *DNA Research* 6(2): 123-129.
17. Theissen, G., A. Becker, A. Di Rosa, A. Kanno, J. T. Kim, T. Münster, K. U. Winter, and H. Saedler. 2000. A short history of MADS-box genes in plants. In "Plant Molecular Evolution", 115-149. Springer.
18. Wang, H., T. Nussbaum-Wagler, B. L. Li, Q. Zhao, Y. Vigouroux, M. Faller, K. Bomblies, L. Lukens, and J. F. Doebley. 2005. The origin of the naked grains of maize. *Nature* 436(7051): 714-719.
19. Wang, S., K. Wu, Q. Yuan, X. Liu, Z. Liu, X. Lin, R. Zeng, H. Zhu, G. Dong, and Q. Qian. 2012. Control of grain size, shape and quality by OsSPL16 in rice. *Nat. Genet.* 44(8): 950-954.
20. Wang, S. S., C. S. Wang, T. H. Tseng, Y. L. Hou, and K. Y. Chen. 2011. High-resolution genetic mapping and candidate gene identification of the SLP1 locus that controls glume development in rice. *Theor. Appl. Genet.* 122(8): 1489-1496.
21. Yamasaki, K., T. Kigawa, M. Inoue, M. Tateno, T. Yamasaki, T. Yabuki, M. Aoki, E. Seki, T. Matsuda, and E. Nunokawa. 2004. A novel zinc-binding motif revealed by solution structures of DNA-binding domains of Arabidopsis SBP-family transcription factors. *J. Mol. Biol.* 337(1): 49-63.

Functional Characterization of the *stunted lemma/palea 1* Mutant Allele in Rice¹

Ya-Ling Hou²

Abstract

The rice *stunted lemma/palea 1* (*slp1*) mutant displays dwarf, shorten panicle length, seriously degenerated lemma/palea, and sterility. Previous study suggested that a missense mutation at the sixth amino acid of the *OsSPL16* protein was likely responsible for the *slp1* mutant phenotypes. The current study showed that overexpression of the wild-type *OsSPL16* allele in the *slp1/slp1* and *Slp1/slp1* mutants were unable to convert the *slp1* mutant phenotype to normal. However, introduction of the mutant *OsSPL16* allele into a normal rice cultivar resulted in the *slp1* mutant phenotypes displayed in the transgenic plants. These results concluded the missense mutation of *OsSPL16* is the *slp1* mutant allele and a neomorph allele which affects plant height and development of inflorescence and spikelet.

Key words : *Oryza sativa*, Lemma, Palea, *OsSPL16*.

¹The research bulletin is a part of the master thesis of the author.

²Assistant Researcher of Taitung DARES, COA.

