

水稻矮秆多分蘖突变体 CA648 的农艺性状分析及分子验证

刘清^{1a}, 朱允华², 陈靓靓^{1a}, 李海林^{1b}, 史齐^{1a}, 李合松^{1a}, 沈革志³, 彭克勤^{1a}, 萧浪涛^{1a*}

(1.湖南农业大学 a.植物激素与生长发育湖南省重点实验室; b.农学院, 湖南 长沙 410128; 2.南华大学药学与生物科学学院, 湖南 衡阳 421001; 3.上海市农业科学院作物研究所, 上海 201106)

摘要:以 T-DNA 插入引起的水稻矮秆多分蘖突变体丛矮 648 (CA648)及对照中花 11 (ZH11)为材料, 进行农艺性状、F₂ 杂交群体性状分离分析及分子验证。结果显示: CA648 表现出矮化、多分蘖、花期延迟等突变性状; CA648 与 ZH11 杂交后的 F₂ 群体的不同株高统计结果符合单基因控制的 1 : 3 遗传分离比例, F₂ 代材料中所有抗 Basta 株系均表现出矮化多分蘖特性, 且非抗性株系与抗性株系数量之比符合 1 : 3 分离规律; TAIL-PCR 等分子试验结合生物信息学分析结果表明, T-DNA 插在 8^号染色体一个功能未知基因 *LOC_Os08g34258* 的内部, 该基因编码蛋白可能与 Subtilisin inhibitor 家族蛋白具有类似功能。

关键词: 水稻; 矮秆; 多分蘖; 突变体丛矮 648; 农艺性状; 分子验证

中图分类号: S511.01

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2015)05-0455-07

Agronomic traits analysis and molecular verification of a dwarf multi-tillering rice mutant CA648

Liu Qing^{1a}, Zhu Yunhua², Chen Liangliang^{1a}, Li Hailing^{1b}, Shi Qi^{1a}, Li Hesong^{1a},

Shen Gezhi³, Peng Keqin^{1a}, Xiao Langtao^{1a*}

(1.a.Hunan Provincial Key Laboratory of Phytohormones and Growth Development; b. College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2.College of Pharmacy and Biological Sciences, Nanhua University, Hengyang, Hunan 421001, China; 3.Crop Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China)

Abstract: The rice mutant (CA648) with a T-DNA insertion and a wild-type rice of Zhonghua 11 (ZH11) were used to analyze the agronomic and molecular traits in this paper. Compared with ZH11, CA648 displayed a phenotype of dwarfism, multi-tillering and late flowering. In the F₂ population, the ratio of the normal plants to the semi-dwarfing or dwarfing plants was approximately 1 : 3. All of the plants resistant to Basta in F₂ population were short and multi-tillering. Furthermore, the ratio of non-resistant strains to resistant strains in F₂ population is 1 : 3. Thermal asymmetric interlaced (TAIL)-PCR analysis and bioinformatics analysis showed that the T-DNA was inserted in the 8th chromosome of an function unknown gene *LOC_Os08g34258*, which encodes a protein with the function similar to proteins of the subtilisin inhibitor family.

Keywords: rice; dwarfism; multi-tillering; mutant rice CA648; agronomic traits; molecular verification

近年来,“品种设计育种”理念受到了广泛重视, 育种工作者希望通过改良水稻的穗、叶、根来获得“理想株型”, 以尽可能提高群体的光能利用率和干

物质生产能力^[1-3]。水稻的分蘖能力能影响有效穗数、穗长、籽粒充实度、每穗籽粒数等性状, 而且单位面积内的分蘖数还可影响光照条件, 进而改变

收稿日期: 2014-09-10

修回日期: 2015-09-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(91117006, 91317312); 湖南省高校创新平台开放基金项目(12K061, 09K052); 作物种质创新与资源利用重点实验室开放研究项目(12KFXM05)

作者简介: 刘清(1974—), 男, 湖南茶陵人, 博士研究生, 主要从事植物生理与分子生物学研究, lqing2003@163.com; *通信作者, 萧浪涛, 博士, 教授, 主要从事植物生理与分子生物学研究, ltxiao@hunau.net

光能的利用效率^[4]。通常只有主茎和早期发生的几个初生和次生分蘖才具备成穗能力,后期的次生分蘖属于无效分蘖。过多的无效分蘖不仅会造成光合产物浪费,还会引起田间环境恶化和病虫害滋生等导致减产^[5]。

目前,有关水稻分蘖发育相关基因的研究取得了重要进展,其中,*MOC1* 参与了叶腋分生组织、分蘖芽的形成和分蘖伸长过程^[6]; *OsTBI* 则作为负调节因子控制分蘖芽的伸长^[7]; *HTD* 控制分蘖芽形成^[8]; *LAZY1*^[9]、*TAC1*^[10]、*PROGI*^[11-12]控制分蘖角度; *OSHI*^[13]、*DWARF10*^[14]控制分蘖芽萌发; *D5* 负责调控独脚金内酯信号转导,进而影响分蘖^[15-16]; *OsPIN1* 等^[17]均直接影响水稻的分蘖。除上述功能基因外,对植物的生长发育具有重要影响的 microRNA 也参与水稻分蘖调控,过表达 miR156 家族的 *OsMIR156d* 和 *OsMIR156h* 导致株高变矮分蘖增多^[18],减弱或消除 *OsmiR156* 对靶基因 *OsSPL14* 的调控作用后可使分蘖数减少,小穗数和穗长增加^[19-20]。分蘖的形成是一个复杂的发育过程,与其相关的分蘖数量^[21]、分蘖角度^[22]、分蘖成穗能力^[23]等均为受多基因控制的数量性状。已有的

研究还远未阐明分蘖发生的潜在机理,更多水稻分蘖突变体材料的发现及基于这些材料的深入研究将有利于进一步阐明水稻分蘖发生与发育的分子机理。本研究中,以 T-DNA 插入突变体库中筛选到的矮秆多分蘖突变体为材料,对其进行了农艺性状调查及分子检测等,以期克隆该突变体性状相关基因和进一步的功能研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试水稻材料有粳稻品种中花 11(*Oryza sativa japonica* L. Zhonghua 11)、多分蘖突变体丛矮 648(CA648)。其中,CA648 是由载体 pDsBr1300 转化粳稻品种中花 11(ZH11)而引起的多分蘖丛生、矮化突变体。突变体的多分蘖特性不受植物生长调节剂处理影响^[24]。pDsBr1300 载体的 T-DNA 区中携带 Ds 转座子,Ds 的内部插入 *Bar* 基因,能提供对 Basta 除草剂(有效成分为膦丝菌素 PPT)的抗性,且在 Ds 的旁侧插入潮霉素磷酸转移酶基因 *Hpt*,载体 pDsBar1300 中 T-DNA 区间的物理图谱如图 1 所示^[25]。

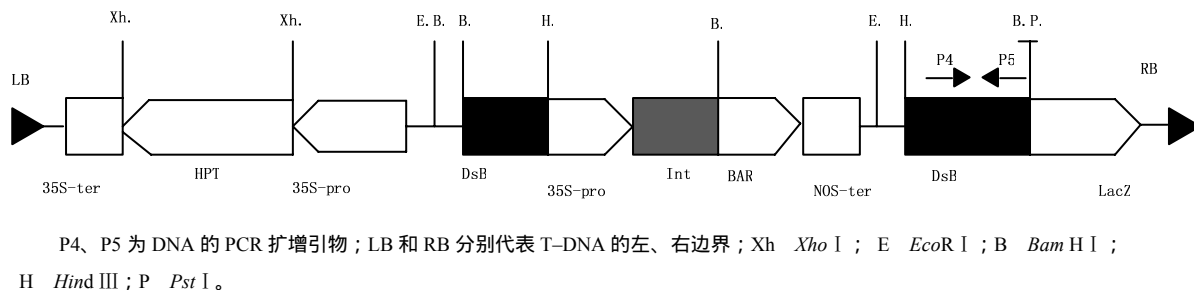


图 1 质粒 pDsBar1300 中 T-DNA 区的物理图谱

Fig. 1 Physical map of T-DNA region in plasmid pDsBar1300

1.2 方法

1.2.1 农艺性状调查

分别于 2006、2008、2009 年在湖南农业大学植物激素生长发育重点实验室网室种植突变体 CA648、对照 ZH11。每种材料种植 10 盆,于每年 4 月中旬播种,5 月上旬移栽,常规管理,保持正常生长。于苗期(4 叶期)、分蘖期及成熟期分别进行株高、分蘖数等相关农艺性状调查。

杂交实验在上海农业科学院进行。主要由沈革志研究员带领的课题组完成。2002—2004 年,分别在海南、上海两地利用 CA648 与 ZH11 正反杂交获

得不同 F_1 杂交组合,然后将 F_1 自交获得 F_2 群体;对 F_2 群体采用叶片涂抹处理^[26],并对 Basta 抗性、敏感性分离特性进行分析,并分别统计株高、有效分蘖(有效穗)、千粒重等。

1.2.2 PCR 及 TAIL-PCR 分析

以 CTAB 法提取的水稻材料叶片的 DNA 为模板,分别参考前人方法,以引物 P10 (5'-TCCCGTCC GATTTCGACTTTA-3')和 P5 (5'-AAGCTCAAGCT GCTCTAGCATTCG-3')进行 PCR 分析^[27];采用 TAIL-PCR 法分析 T-DNA 插入位点的旁侧序列^[28]。回收 TAIL-PCR 的第 3 轮产物与克隆载体 PMD-19-T

连接，并采用热激法转化大肠杆菌 DH5α，在含氨苄抗生素的 LB 固体培养基上长出菌落后，挑选单菌落摇菌扩繁后进行 PCR 分析，将阳性菌落提取质粒，送 Invitrogen 公司进行测序。

1.2.3 生物信息学分析

测序结果的序列去除载体对应序列后即可获得 T-DNA 插入片段的旁侧序列。将所获得水稻基因组上的旁侧序列在网络上不同数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/http://rice.plantbiology.msu.edu/index.shtml> 等)进行核酸序列匹配，即 Blast 分析，并针对所获得的高相似性候选基因的序列设计引物，分别与 T-DNA 上的引物进行 PCR 验证，在确定了插入位点后，分别利用生物信息学方法定位 T-DNA 插入的准确位置，并确定候选基因；以候选基因的对应 DNA 序列或推测氨基酸序列为模板，利用 CLUSTALX 等软件分析候选基因的相关

信息。

2 结果与分析

2.1 突变体 CA648 的农艺性状分析

盆栽试验结果表明，与野生型 ZH11 相比，CA648 表现出株高变矮、多分蘖、叶片变短、变窄等突变性状(图 2-A)，但在苗期(4 叶期前)，CA648 的株高、叶片大小等与 ZH11 没有明显差别(图 2-B)。表 1 为苗期与成熟期对两者部分农艺性状的调查结果。虽然苗期株高没有明显差异，但成熟期时 CA648 的株高明显低于对照 ZH11。分蘖期，两者间的分蘖性状出现较明显差异，CA648 形成分蘖的速度比 ZH11 快，CA648 的有效分蘖数比 ZH11 约多 1 倍。虽然 CA648 株系产生的空壳秕谷数量远远多于 ZH11，但两者间饱满籽粒的千粒重无明显差异。



A 分蘖期；B 苗期(4 叶期前)。
图 2 水稻突变体 CA648 与对照 ZH11 的形态特征
Fig. 2 Phenotypes of mutant rice CA648 and wild-type ZH11

表 1 CA648 和 ZH11 的主要农艺性状

Table 1 Comparison of the main agronomic traits between CA648 and ZH11					
水稻材料	苗期株高/cm	成熟期株高/cm	剑叶长/cm	有效分蘖数	千粒重/g
CA648	31.24±1.23	(74.30±2.83)b	(36.54±2.35)b	(22.0±3.6)a	22.1±0.3
ZH11	30.19±1.62	(112.70.29±4.30)a	(48.59±3.25)a	(10.2±1.8)b	22.3±0.5

同列不同小写字母表示差异达到 0.05 显著水平。

2.2 突变体 CA648 的遗传特性及分子检测

CA648 分别作为父本和母本，与 ZH11 配组进行杂交，获得 F₁ 材料。以 F₁ 材料自交获得 F₂ 群体。对 F₂ 群体进行农艺性状分离特性分析。由于 CA648 突变表型的主要特征是株高变矮，分蘖数增多，在

进行农艺性状统计调查时植物的株高相对于分蘖数更容易区分差异，因此，本试验中选用株高作为 F₂ 群体遗传分析性状。对 F₂ 群体株高的调查结果显示，不同单株按株高可依次划分为正常(大于 100 cm)、半矮秆(80~90 cm)和矮秆(小于 70 cm) 3 个类别。不同株高的统计结果如表 2 所示。不论 CA648

为父本或为母本，正反交所获得的 F_1 自交后的 F_2 群体的株高遗传分离特性符合单基因控制的分离规律，即正常单株数与矮化(半矮秆+矮秆)单株数符合 1 : 3 的比例(两者的 χ^2 均小于 3.84)，且株高正常、半矮、矮秆的单株数符合 1 : 2 : 1 的比例(CA648/ZH11 的结果 170 : 352 : 169 ;ZH11/CA648 的结果 211 : 392 : 189)。由于 CA648 具有对 Basta 抗性特征，因此，可根据对 Basta 抗性或敏感性进

行遗传分离特性检测。 F_2 群体对 Basta 抗性的检测结果表明，抗性单株与敏感单株数之比分别是 170 : (352+169)和 211 : (392+189)，也符合 1 : 3 的分离规律(表 2)。进一步对 F_2 群体中的株高与抗性进行综合分析，结果显示敏感株系的株高均正常，而抗性水稻材料的株高均为半矮或矮秆(表 2)。上述结果表明，CA648 的 T-DNA 插入与突变性状是共线性(连锁)关系。

表 2 CA648 和 ZH11 杂交后的 F_2 群体的遗传特性

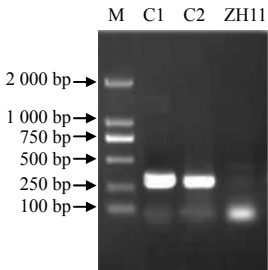
杂交组合	总株数	敏感株数		抗性株数		χ^2
		正常株数		半矮秆株数	矮秆株数	
CA648/ZH11	691	170		352	169	0.270
ZH11/CA648	792	211		392	189	0.723

以 T-DNA 序列设计的引物 P10 和 P5 分别对 CA648 与 ZH11 叶片为材料提取的 DNA 模板进行 PCR 检测，结果显示突变体 CA648 中能够扩增出约 400 bp 的预期片段，而 ZH11 无对应条带(图 3A)，表明 T-DNA 插入了 CA648 的基因组中。以地高辛标记的 T-DNA 插入序列片段为探针，分别对 *EcoR* I 和 *Xba* I 酶切后的结果显示，CA648 为单拷贝

T-DNA 插入突变体(数据未给出)。这些试验结果表明，CA648 的突变性状是由 T-DNA 插入引起的，且该突变是由单基因突变造成的，因此，该突变体材料是开展分子遗传实验的理想材料。

2.3 T-DNA 插入位点分析

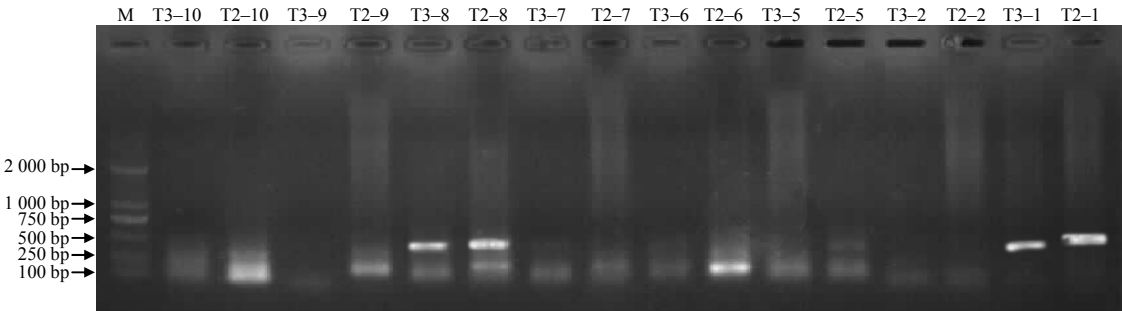
采用 TAIL-PCR 方法对 CA648 中的 T-DNA 插入位点进行分析。分别以 5 条随机引物与 T-DNA 插入序列的 Ds 右边界引物配对进行 TAIL-PCR 反应，以从 CA648 材料提取的 DNA 为模板，先后进行 3 轮 PCR 反应，代号为 1[#]、3[#]、4[#]、8[#]的染色体获得了约 300 bp 的产物，其中第 2、3 轮反应后的部分产物凝胶电泳结果如图 3 所示。根据 TAIL-PCR 实验原理，图 4 中第 3 轮的 PCR 产物条带略小于第 2 轮产物大小的仅有 1[#](T2-1，T3-1)和 8[#](T2-8，T3-8)。



PCR 分析显示 CA648 中存在 T-DNA 序列对应的 PCR 片段；
M DNA Marker DL2000；C1,C2 为 CA648 不同株系。

图 3 突变体材料中 T-DNA 序列的 PCR 结果

Fig. 3 Detecting the sequence of T-DNA by PCR analysis

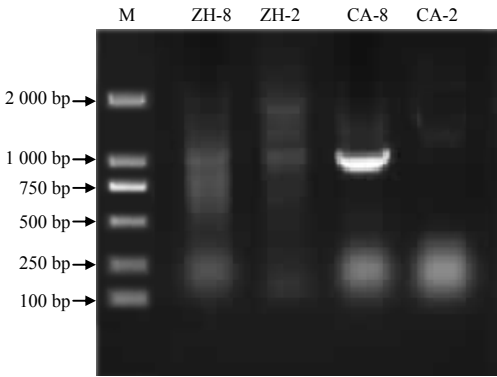


部分 TAIL-PCR 后第 2 轮(代号为 T2)、第 3 轮(代号为 T3)产物的电泳结果，其中以随机引物 LAD1(T2-1、T3-1)和 LAD3(T2-8、T3-8)获得了较明显的条带；M DNA Marker DL2000。

图 4 TAIL-PCR 分析结果

Fig. 4 Results of TAIL-PCR

参照分子实验步骤,将 PCR 产物回收后连接到克隆载体并送测序,将测序结果去除载体与 T-DNA 上对应部分片段后的碱基序列(旁侧序列),在 NCBI 上进行 Blast 分析(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>),得到了一些相匹配水稻 PAC (Plant artificial chromosome)信息,如 8[#]染色体的 AP0082414、AP004703、AP004702 等。进一步以旁侧序列在 TIGR 数据库(rice genome annotation project, <http://rice.plantbiology.msu.edu/>)中搜索,发现序列与 8[#]染色体的 Loc_os08g34249.1、Loc_os08g34258.1, 2[#]染色体的 Loc_os02g3150.1, 11[#]染色体的 Loc_os11g17790.1, 7[#]染色体的 Loc_os7g39630.1 等具有较高的相似性。为进一步确定 T-DNA 插入位点,以上述 Blast 结果中的相似性高的 8[#]、2[#]染色体上的可能插入位点附近相关序列分别设计引物,与 Ds 上的 1 条引物(5'- GAGGTATTTTACCGAC CGTTACCG-3')进行 PCR 验证分析,如能够与 Ds 序列上的引物扩增出大小相符的特异序列,就表明该区域为 T-DNA 插入位点,PCR 验证结果见图 5。其中以 2[#]染色体上的引物的扩增没有出现特异条带,而 8[#]染色体上的引物能够与 Ds 上的引物配对,从 CA648 的 DNA 模板上扩增出特异条带,且产物大小与预期相符,表明 T-DNA 插在水稻的 8[#]染色体上。



CA 为以 CA648 的 DNA 为模板 ZH 为以 ZH11 的 DNA 为模板; 8 为 8[#]染色体对应序列设计的引物; 2 为 2[#]染色体对应序列设计的引物分别与 Ds 对应引物配对进行 PCR 跑胶后的条带; M 为 DNA Marker DL2000。

图 5 PCR 验证 T-DNA 插入位点

Fig. 5 Verifying the T-DNA inserted site by PCR

2.4 T-DNA 插入区间序列相关基因分析

以 T-DNA 旁侧序列为索引,将 8[#]染色体上的 AP004703, AP004702 对应区间碱基序列在 TIGR 数据库进行基因功能注释查找。结果表明,T-DNA 插入在 LOC_Os08g34258 中,该候选基因的功能还未确定,是一个具有推测功能的蛋白,属于抑制蛋白家族(inhibitor I family protein)。将该候选基因序列在 NR 蛋白数据库进行 Blast 比对检索,相似度高的 11 个同源蛋白如表 3 所示。

表 3 候选基因的同源蛋白

Table 3 The homologous proteins of putative gene

序号	物种	蛋白功能	同源性/%	gi 编号	简写
1	<i>Aegilops tauschii</i>	Subtilisin inhibitor 1	58	475595133	AgtSI1
2	<i>Aegilops tauschii</i>	Subtilisin-chymotrypsin inhibitor WSCI	49	475563779	AgtWSCI
3	<i>Aegilops tauschii</i>	Subtilisin-chymotrypsin inhibitor-2A	52	475563780	Agt2A
4	<i>Arabidopsis thaliana</i>	PR-6 proteinase inhibitor family protein	47	18404883	AtPI
5	<i>Medicago truncatula</i>	Inhibitor of trypsin and hageman factor	48	357441047	MtI
6	<i>Medicago truncatula</i>	protease inhibitor	46	357494051	MtPI
7	<i>Medicago truncatula</i>	Subtilisin inhibitor	46	357457017	MtSI
8	<i>Morus notabilis</i>	Glu S.griseus protease inhibitor	44	587866050	MnPI
9	<i>Theobroma cacao</i>	Serine protease inhibitor	46	590565204	TcSPI
10	<i>Triticum urartu</i>	Subtilisin inhibitor 1	52	474340271	TuSI1
11	<i>Zea mays</i>	Subtilisin-chymotrypsin inhibitor CI-1C	49	226529998	ZmSI

使用 CLUSTALX 软件对目标序列产物蛋白及上一步所得同源蛋白序列进行多重序列比对,比对结果见图 6。候选基因编码的预测蛋白与其他蛋白

之间存在相似度很高的保守序列区间,暗示 LOC_Os08g34258 基因编码的蛋白产物可能与 subtilisin inhibitor 家族蛋白具有类似功能。

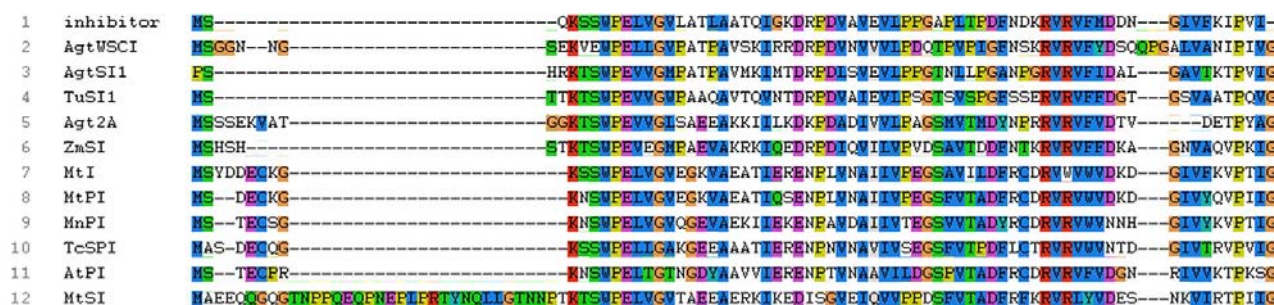


图 6 采用 CLUSTALX 软件对候选基因编码的预测蛋白(inhibitor)进行同源蛋白序列多重序列比对的结果

Fig. 6 Multiple sequence alignment of homologous protein sequences of protein (inhibitor) encoded by the putative gene using CLUSTALX program

3 结论与讨论

农杆菌介导 T-DNA 插入方法被广泛应用于功能基因组研究。当 T-DNA 序列插入到某个具有功能的基因或转录子的编码区或调控区域内时就可能导致突变表型产生。本研究中的 T-DNA 插入引起的矮秆多分蘖突变体 CA648 与野生型 ZH11 相比,两者在苗期表型无明显差异,而进入分蘖期后,CA648 产生的分蘖数远多于 ZH11。该突变体的株高受不同生长调节剂处理而显著改变,但其多分蘖特性非常稳定^[24]。这些特征表明 CA648 基因组中一个可能与分蘖相关的基因受到了 T-DNA 插入的影响。

F₂ 群体对株高与 Basta 抗性的调查分析结果表明 2 种性状的遗传分离比均接近 1:3 暗示 CA648 的突变性状是由单基因突变造成的。同时, F₂ 群体中的正常株高株系都对 Basta 处理敏感,而具有矮化突变性状的株系(含半矮秆与矮秆)却均表现出抗性,这一结果暗示 CA648 的突变性状与 T-DNA 插入连锁,即 T-DNA 插入造成了 CA648 的突变表型。

对于由外源 T-DNA 或转座子随机插入产生的突变体材料可通过借助 T-DNA 或转座子上的已知序列,利用 Inverse-PCR^[29]或 TAIL-PCR^[28]等方法获得与插入位点相对应的旁侧序列。遗传与分子试验表明,CA648 是由单 T-DNA 插入引起的突变体, T-DNA 插入在 8th 染色体一个功能未知基因 *LOC_Os08g34258* 的内部。进一步的检索分析表明,除在水稻花药中存在与 *LOC_Os08g34258* 的 mRNA 外,水稻的其他部位(器官)在公共数据库中未检测到其相应的芯片或 RNA-seq 数据,暗示该基因所编码蛋白的功能目前还知之甚少,因此, CA648 的

突变性状是否是由于 *LOC_Os08g34258* 基因表达紊乱造成的还有待进一步验证。

参考文献:

- [1] 袁隆平. 超级杂交水稻育种研究的进展[J]. 中国稻米, 2008(1): 1-3.
- [2] 杨守仁, 张龙步, 陈温福, 等. 水稻超高产育种的理论和方法[J]. 中国水稻科学, 1996, 10(2): 115-120.
- [3] Wang F, Cheng F, Zhang G. Difference in grain yield and quality among tillers in rice genotypes differing in tillering capacity[J]. Rice Science, 2007, 14(2): 135-140.
- [4] 朱满山, 符福鸿, 黄慧君, 等. 水稻分蘖成穗率遗传育种研究进展与展望[J]. 广东农业科学, 2006(9): 88-91.
- [5] 赵祥强, 杨学明, 王军, 等. 转基因技术改良水稻株型研究进展[J]. 江苏农业科学, 2005(6): 5-8.
- [6] Li X, Qian Q, Fu Z, et al. Control of tillering in rice[J]. Nature, 2003(422): 618-621.
- [7] Takeda T, Suwa Y, Suzuki M, et al. The *OsTBI* gene negatively regulates lateral branching in rice[J]. Plant Journal, 2003, 33(3): 513-520.
- [8] Zou J, Zhang S, Zhang W, et al. The rice *HIGH-TILLERING DWARF1* encoding an ortholog of *Arabidopsis* MAX3 is required for negative regulation of the outgrowth of axillary buds[J]. Plant Journal, 2006, 48(5): 687-696.
- [9] Li P, Wang Y, Qian Q, et al. *LZY1* controls rice shoot gravitropism through regulating polar auxin transport[J]. Cell Research, 2007, 17(5): 402-410.
- [10] Yu B, Lin Z, Li H, et al. TAC1, a major quantitative trait locus controlling tiller angle in rice[J]. Plant Journal, 2007, 52(5): 891-898.
- [11] Jin J, Huang W, Gao J, et al. Genetic control of rice plant architecture under domestication[J]. Nature Genetics, 2008, 40(11): 1365-1369.
- [12] Tan L, Li X, Liu F, et al. Control of a key transition from

- prostrate to erect growth in rice domestication[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(11): 1360–1364.
- [13] Sato Y, Hong S, Tagiri A, et al. A rice homeobox gene, *OSHI*, is expressed before organ differentiation in a specific region during early embryogenesis[J]. *PNAS*, 1996, 93(15): 8117–8122.
- [14] Arite T, Iwata H, Ohshima K, et al. *DWARF10*, an *RMS1/MAX4/DAD1* ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice[J]. *Plant Journal*, 2007, 51(6): 1019–1029.
- [15] Jiang L, Liu X, Xiong G, et al. *DWARF 53* acts as a repressor of strigolactone signalling in rice[J]. *Nature*, 2013, 504: 401–405.
- [16] Zhou F, Lin Q, Zhu L, et al. D14-SCF^{D3}-dependent degradation of D53 regulates strigolactone signalling[J]. *Nature*, 2013, 504: 406–610.
- [17] Xu M, Zhu L, Shou H, et al. A PIN1 family gene, *OsPIN1*, involved in auxin-dependent adventitious root emergence and tillering in rice[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2005, 46(10): 1674–1681.
- [18] Xie K, Wu C, Xiong L. Genomic organization, differential expression, and interaction of *SQUAMOSA* promoter-binding-like transcription factors and microRNA156 in rice[J]. *Plant Physiology*, 2006, 142(1): 280–293.
- [19] Miura K, Ikeda M, Matsubara A, et al. *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice[J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(6): 545–549.
- [20] Jiao Y, Wang Y, Xue D, et al. Regulation of *OsSPL14* by *OsmiR156* defines ideal plant architecture in rice[J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(6): 541–544.
- [21] 孙佩, 才宏伟, 卫晓轶. 水稻最高分蘖数和有效分蘖数的 QTL 分析[J]. *河南农业科学*, 2014, 43(3): 12–15.
- [22] 赵春芳, 周丽慧, 于新, 等. 基于 CSSL 的高密度物理图谱定位水稻分蘖角度 QTL[J]. *植物学报*, 2012, 47(6): 594–601.
- [23] 梁永书, 李艳萍, 孙海波, 等. 籼粳交组合培矮 64S/日本晴 F₂、F₃ 及 F₆ 代主要农艺性状分析[J]. *植物学通报*, 2008, 25(1): 59–66.
- [24] 刘清, 童建华, 史齐, 等. 一个矮秆多分蘖水稻突变体的植物激素动态特性分析[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(13): 2519–2528.
- [25] 王江, 李琳, 宛新杉, 等. 插入玉米 Ds 转座因子的水稻转化群体及其分子分析[J]. *植物生理学报*, 2000, 26(6): 501–506.
- [26] 陈游, 程世军, 王江, 等. 检测转基因水稻中 PPT 抗性表达的快速简便方法[J]. *植物生理学通讯*, 2000, 36(1): 50–52.
- [27] 刘芳, 张向前, 张泽民, 等. 水稻 Ac/Ds 系统的 Ds 转座行为[J]. *科学通报*, 2007, 52(14): 1649–1655.
- [28] Liu Y G, Chen Y. High-efficiency thermal asymmetric interlaced PCR for amplification of unknown flanking sequences[J]. *BioTechniques*, 2007, 43(5): 649–656.
- [29] Ochman H, Gerber A S, Hart D L. Genetic applications of an inverse polymerase chain reaction [J]. *Genetics*, 1988, 120(3): 621–623.

责任编辑: 苏爱华

英文编辑: 梁 和