

# 水稻穗顶部颖花退化 T-DNA 插入突变体的分子鉴定及表型特征分析

朴日花<sup>1</sup>, 金永梅<sup>1</sup>, 金京花<sup>1</sup>, 金国光<sup>1</sup>, 赵亚东<sup>1</sup>, Koh Hee-Jong<sup>2</sup>,  
董英山<sup>1\*</sup>, 张 强<sup>1\*</sup>

(1. 吉林省农业科学院, 长春 130033; 2. 韩国首尔大学植物生产科学部, 首尔 00826)

**摘要:**水稻穗部是重要的农艺性状之一, 穗顶部颖花退化会导致水稻产量大幅下降。本研究对水稻穗退化 T-DNA 突变体进行分子鉴定和表型分析, 旨在进一步探明水稻穗发育的调控机制。我们从水稻突变体库 POSTECH RISD (Rice T-DNA Insertion Sequence Database) 中筛选到了 3 个 T-DNA 插入突变体, *paa1*、*paa2* 和 *paa3*。这些突变体中 T-DNA 分别插入到水稻穗顶部颖花退化候选基因 *LOC\_Os04g56160* 的第 1 个内含子、第 8 个外显子和 3' 端非翻译区。分别在 T-DNA 插入位点两侧水稻基因组和 T-DNA 片段上共设计 3 条引物, 利用 PCR 方法鉴定出 *paa1*、*paa2* 和 *paa3* 突变纯合体与杂合体。3 个突变杂合体自交后代 ( $T_3$ ) 植株表型与基因型共分离分析结果显示, *paa1* 及 *paa2* 植株的穗顶部颖花退化表型与基因型相吻合, 而 *paa3* 植株的颖花发育正常。*paa2* 与 *PAA-Hwa* (*LOC\_Os04g56160* 基因点突变体, 表型为穗顶部颖花退化) 杂交,  $F_1$  代植株表现为穗顶部颖花退化。农艺性状调查结果表明, *paa1* 及 *paa2* 与对照品种相比在株高、穗长、单株有效分蘖数等所有农艺性状上存在显著差异, 然而 *paa3* 仅在部分农艺性状上表现差异。以上结果表明 *paa1* 和 *paa2* 为穗顶部颖花退化 T-DNA 插入突变体, *LOC\_Os04g56160* 为水稻穗顶部颖花退化调控基因, 该结果为水稻穗发育研究奠定了理论基础。

**关键词:**水稻; 穗顶部颖花退化; T-DNA 插入突变体

中图分类号: S511

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2019)06-0027-06

## Molecular Characterization and Phenotype Analysis of Panicle Apical Abortion T-DNA Mutants in Rice

PIAO Rihua<sup>1</sup>, JIN Yongmei<sup>1</sup>, JIN Jinghua<sup>1</sup>, JIN Guoguang<sup>1</sup>, ZHAO Yadong<sup>1</sup>, Koh Hee-Jong<sup>2</sup>, DONG Yingshan<sup>1\*</sup>, ZHANG Qiang<sup>1\*</sup>

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China; 2. Department of Plant Science of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Seoul 00826, Korea)

**Abstract:** The architecture of panicles is an important agronomic trait, that the panicle apical abortion can cause significant yield reduction in rice. In the present study, in order to better understand the regulation mechanism of rice panicle development, the molecular characterization and phenotype analysis of panicle apical abortion T-DNA mutants were performed. Three panicle apical abortion (*paa*) mutants, *paa1*, *paa2* and *paa3*, were identified and characterized from POSTECH Rice T-DNA Insertion mutant population. T-DNA insertion sites of these mutants were on the 1<sup>st</sup> intron of *paa1*, 8<sup>th</sup> exon of *paa2* and 3' -UTR of *paa3* at the rice gene of *LOC\_Os04g56160*, respectively. Three primers were designed on both sides of the T-DNA insertion site on *LOC\_Os04g56160* gene and T-DNA fragments, respectively, then homozygotes and heterozygotes of *paa1*, *paa2* and *paa3* were identified by PCR. The genotypic segregation of the *paa1* and *paa2* was tightly linked with the phenotypic segregation of panicle apical abortion (bald tip) in the  $T_3$  progeny of their heterozygotes, while the apical panicle development of *paa3* was normal. All  $F_1$

收稿日期: 2019-04-01

基金项目: 吉林省农业科技创新工程项目 (CXGC2017TD009); 中国农业科技东北创新中心博士后研究项目 (C4207010309); 吉林省农业科技创新工程人才基金 (C6215000216)

作者简介: 朴日花 (1978-), 女, 副研究员, 博士, 研究方向: 水稻分子育种。

通讯作者: 董英山, 男, 博士, 研究员, E-mail: ysdong@cjaas.com

张 强, 男, 博士, 研究员, E-mail: zhqiang73@163.com

progeny of the cross between *paa1* and *PAA-Hwa* (panicle apical abortion mutant which point mutation of *LOC\_Os04g56160*) displayed panicle apical abortion phenotype. Agronomic traits of the *paa1* and *paa2* homozygotes was significantly reduced compared to wild type such as plant height, spike length, number of tillers and spike number per panicle. However, *paa3* was reduced only in plant height, spike length and spike number. All these results indicated that *paa1* and *paa2* were panicle apical abortion mutants, and *LOC\_Os04g56160* confers panicle apical abortion characters. This study laid a theoretical foundation for the research on rice spike development.

**Key word:** Rice; Panicle apical abortion; T-DNA insertion mutant.

水稻产量是由单位面积有效穗数、每穗颖花数、结实率和千粒重四个因素构成。每穗颖花数的多少取决于幼穗分化前期颖花的分化数和后期颖花的退化数两个方面,水稻颖花退化是指抽穗后顶部或基部颖花发育停滞,逐渐衰退的现象。水稻穗顶部颖花退化(秃尖或秃顶)现象在水稻生产中普遍存在,由此带来穗粒数减少,单株产量降低,从而影响水稻产量潜力的发挥。因此,利用水稻颖花退化突变体材料进行相关的发育、遗传学等研究对揭示水稻颖花退化机理和通过技术手段减少颖花退化具有十分重要的意义。

水稻穗部退化包括穗顶部退化和基部退化两种情况,因其遗传基础复杂,且由多基因控制,受环境影响较大,对穗部退化的研究较少,特别是对穗顶部退化性状基因的报道更少,而且主要集中在数量性状位点(QTLs)。*TUT1*基因是首个被克隆的与穗顶部退化相关联的多效基因,编码cAMP类受体蛋白抑制因子,该基因发生突变将导致分蘖减少、叶尖退化、叶片细胞死亡、株高变矮、穗顶部的小穗退化、花药和花粉发育缺陷等<sup>[1-2]</sup>。*OsALMT7*基因编码一个具有转运苹果酸功能的质膜蛋白,该基因突变后功能缺失,小穗中苹果酸呈梯度减少,导致穗顶部小穗发生严重退化,外源补充苹果酸能恢复突变体顶部小穗的正常表型<sup>[3]</sup>。*SPL6*是水稻SBP-box家族转录因子,该基因功能缺失会引起细胞内质网胁迫感应因子过度表达,造成细胞内质网胁迫信号输出失控和下游基因过激表达,导致顶端小穗细胞衰老退化和穗“秃顶”性状产生<sup>[4]</sup>。除了克隆的基因外,还有一些调控穗顶端退化基因的功能有待于进一步研究。邱杨<sup>[5]</sup>将突变体*ap*的调控基因定位于4号染色体上,通过分析推测该突变可能与调节果胶质甲基酯酶活性的*OsPME*基因突变有关。李红平<sup>[6]</sup>利用穗顶退化突变体*tsr*在3号染色体筛选到了候选基因*Os03g0320000*,功能尚不明确。侯飞雪<sup>[7]</sup>得到穗顶端严重退化突变体*paa1331*,通过定位和测序推测*LOC\_Os04g40720*为候选基因。

在前期研究中 Akter<sup>[8]</sup>将穗顶部颖花退化基因定位于水稻第四染色体,通过测序把功能基因*LOC\_Os04g56160*锁定为候选基因。该基因是一个质膜H<sup>+</sup>-ATP酶参与耦合离子跨膜转运和磷酸化机制,与细胞死亡、气孔运动调节、气孔张开有关<sup>[9]</sup>。

本研究从水稻突变体库POSTECH RISD (Rice T-DNA Insertion Sequence Database)中筛选到3个*LOC\_Os04g56160*基因的T-DNA插入突变体,对其进行分子鉴定、表型鉴定和农艺性状调查,旨在为研究该基因的功能奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

Akter等<sup>[8]</sup>在研究中所用的*LOC\_Os04g56160*基因点突变水稻穗顶部颖花退化突变体*PAA-Hwa*及其野生型水稻材料Hwacheong由韩国首尔大学水稻育种实验室提供。*LOC\_Os04g56160*基因的T-DNA插入突变体(T<sub>2</sub>代)PFG\_3A-06739、PFG\_2C-50175、PFG\_2D-31273及其野生型材料由韩国水稻突变体数据库POSTECH RISD (Rice T-DNA Insertion Sequence Database)提供,本研究将3个T-DNA突变体分别命名为*paa1*、*paa2*和*paa3*。所有材料2012~2014年种植于韩国首尔大学试验田,进行常规栽培管理。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 T-DNA插入突变体的基因型鉴定

采用CTAB法<sup>[10-11]</sup>并做改进提取T-DNA插入突变体(T<sub>2</sub>)叶片基因组DNA。利用3引物PCR法<sup>[12]</sup>对插入突变体基因型进行鉴定,3条引物分别是GSP-F、GSP-R和TSP(表1、图1A)。引物GSP-F、GSP-R为T-DNA插入位点两侧的、可特异性结合*LOC\_Os04g56160*基因的序列,TSP则特异结合于T-DNA插入序列。PCR总反应体系为20μL,包括40 ng DNA,2.0μL 10× buffer (Mg<sup>2+</sup>),1.0μL 10 mM dNTP,浓度为10μM的上下游引物各1μL,1U Tag DNA聚合酶。循环参数设置为:94℃预变性5

min;接着进行35个循环反应,每个循环包括94℃变性30 s、55℃退火30 s、72℃延伸10 min;最后72℃下延伸10 min。PCR产物用1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测。

表1 T-DNA插入突变体PCR鉴定引物

插入突变体	引物序列(5'-3')
	GSP-F1:GGCTGGTTTTGTTCCCTTC
PFG_3A-06739	GSP-R1:CAACAAAAGCCACAACCACA
	TSP1:ACGCTGATCAATTCACAG
	GSP-F2:CTATCCGGAAGGCTCTCCAT
PFG_2C-50175	GSP-R2:AGCACAATGTCGGAAGCACT
	TSP2:ATGGCAGTGAATTAACATAGC
	GSP-F3:GCATGCACCACAAGAAACAC
PFG_2D-31273	GSP-R3:CTCGGCATTCAACGAGAGA
	TSP3:ACGCTGATCAATTCACAG

### 1.2.2 基因型与表型共分离分析

T-DNA杂合体自交后代( $T_3$ )种植于水稻试验田,分蘖期提取叶片DNA,利用3引物PCR法鉴定基因型,抽穗期调查穗顶部表型,每株观察5穗,共调查200株,进行卡方检验。

$$\chi^2 = \sum (A-T)^2/T \text{ (式中A为实际数,T为理论数)}$$

### 1.2.3 T-DNA突变纯合体与点突变体人工杂交

T-DNA纯合体 $paa2$ 和点突变体 $PAA-Hwa$ 进行人工杂交, $F_1$ 代进行表型鉴定。

### 1.2.4 农艺性状调查

调查T-DNA纯合体的农艺性状,包括株高、穗长、穗粒数、千粒重等。利用SPSS 17进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 $LOC\_Os04g56160$ 基因T-DNA插入突变体的获得及纯合体筛选

利用韩国postech中心植物功能基因组实验室构建的水稻T-DNA突变体数据库,POSTECH RISD (Rice T-DNA Insertion Sequence Database),在 $LOC\_Os04g56160$ 基因中共筛选到3个T-DNA插入突变体,PFG\_3A-06739、PFG\_2C-50175、PFG\_2D-31273,分别命名为 $paa1$ 、 $paa2$ 和 $paa3$ 。其中, $paa1$ 和 $paa2$ 的T-DNA插入位点分别为第1个内含子和第8个外显子, $paa3$ 的T-DNA插入位点为3'端非翻译区(图1A)。

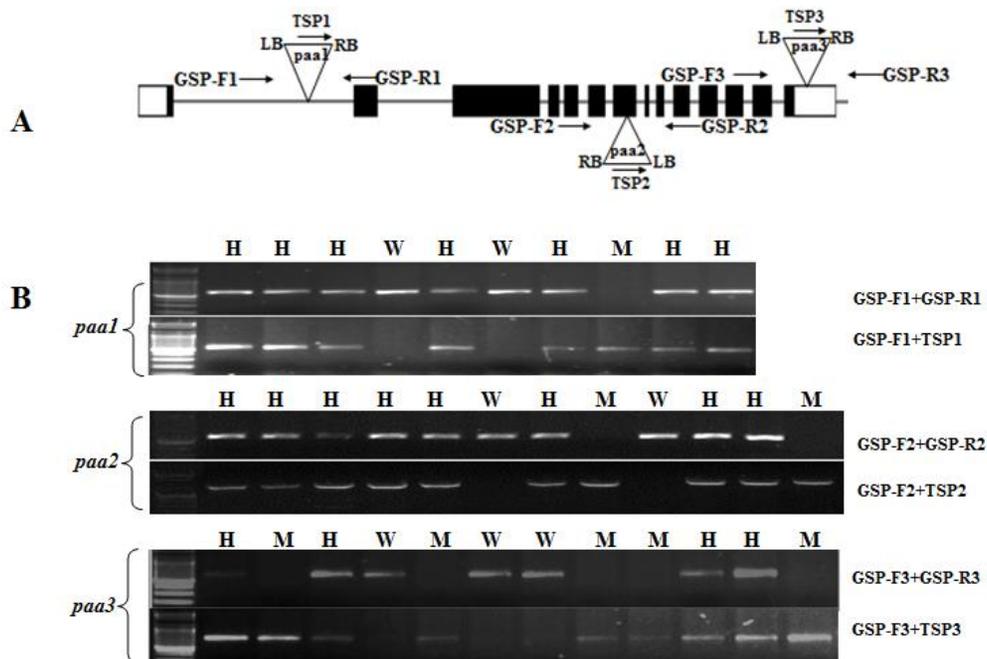


图1  $LOC\_Os04g56160$ 基因突变体的T-DNA插入位点及基因型鉴定

A,  $LOC\_Os04g56160$ 基因示意图及T-DNA插入位点及PCR位点;B,  $T_2$ 世代分子鉴定(H为杂合体,W为野生型,M为纯合突变型)

为了筛选纯合突变体,根据 $LOC\_Os04g56160$ 基因和T-DNA序列采用3引物扩增法<sup>[11]</sup>,每个突变体分别设计3条引物,包括两条插入位点两侧的基因特异性引物GSP-F和GSP-R、T-DNA特异

性引物TSP。在3个突变体的 $T_2$ 后代中,利用此引物通过PCR检测可以鉴定出野生型、杂合型和纯合突变型个体:在野生型植株中GSP-F和GSP-R可扩增出 $LOC\_Os04g56160$ 基因片段;杂合突变植

株为模板, GSP-F和GSP-R、GSP-F和TSP都能扩增条带; 纯合突变植株为模板, GSP-F和TSP扩增出条带。通过3引物PCR, *paa1*、*paa2*和*paa3*中, 分别筛选到了1、2和2个纯合突变体(图1B。)

### 2.2 T-DNA插入突变体的基因型与表型共分离分析

与野生型相比, T-DNA插入突变体根据插入位点的不同呈现不同表型特征。插入功能区段的纯合突变体*paa1*、*paa2*穗顶部颖花退化, 植株叶片呈深绿色、叶尖黄化(图2B箭头所指)、植株矮

化, 而插入3'端非翻译区纯合突变体*paa3*只有在株高上表现出矮化现象, 叶色和穗形正常(图2)。

T-DNA侧翼序列是否与突变性状共分离是本研究的关键。从T<sub>2</sub>代中筛选出杂合体自交后观察后代表型, 检测正常表型与突变表型分离比, 并进行突变性状与T-DNA插入标签的共分离检测。结果发现, *paa1*和*paa2*的分离世代野生型和突变型以3:1分离, 并且基因型与表型共分离, 而*paa3*所有的分离后代都表现为野生型(表2)。

表2 T-DNA插入突变杂合体后代表型分离比

T-DNA	基因型	植株数	表型	表型卡方检验(3:1)
<i>paa1</i>	W	39	野生型穗形	3.23
	H	108	野生型穗形	
	M	53	顶端退化穗形	
<i>paa2</i>	W	42	野生型穗形	1.71
	H	103	野生型穗形	
	M	55	顶端退化穗形	
<i>paa3</i>	W	45	野生型穗形	66.67**
	H	104	野生型穗形	
	M	51	野生型穗形	

\*\*表示差异极显著(P<0.01)

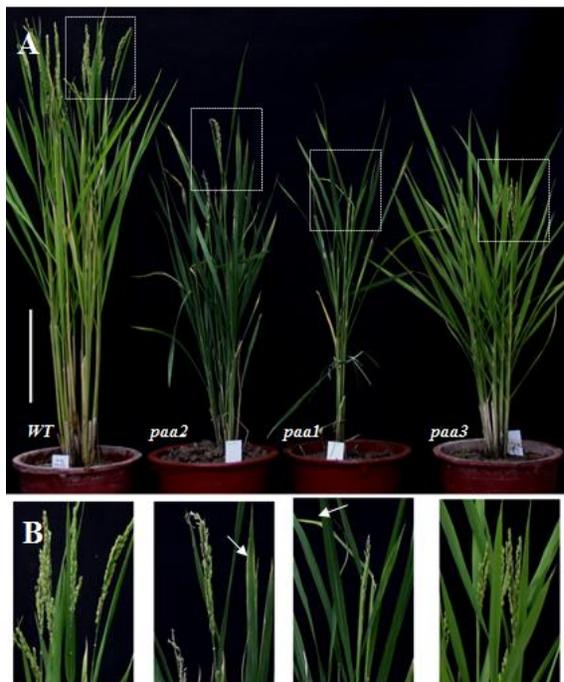


图2 T-DNA突变纯合体与对照品种表型比较

A, 突变体与对照品种整株表型; B, 突变体与对照品种穗顶部颖花表型与叶尖表型

### 2.3 PAA-Hwa与paa2杂交F<sub>1</sub>代基因型与表型鉴定

在之前的研究中, Akter<sup>[8]</sup>等利用穗顶部颖花

退化EMS(甲基磺酸乙酯, Ethyl methyl sulfonic acid)突变体PAA-Hwa筛选到了候选基因LOC\_Os04g56160, 认为候选基因LOC\_Os04g56160的第659个氨基酸甘氨酸突变为谷氨酸导致

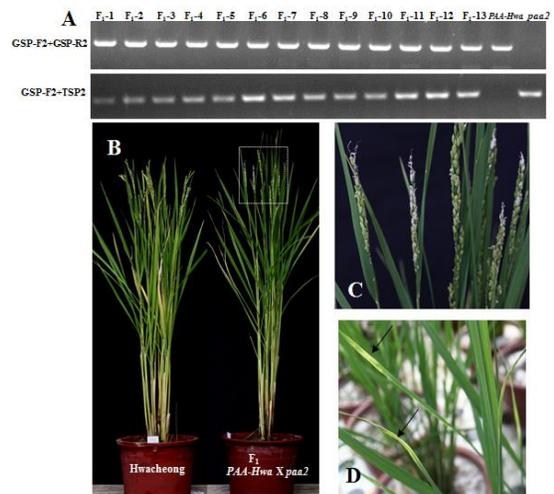


图3 突变体*paa2*与PAA-Hwa杂交F<sub>1</sub>代的基因型与表型鉴定

A, 突变体*paa2*与PAA-Hwa杂交F<sub>1</sub>代的基因型PCR鉴定, F<sub>1</sub>-1~F<sub>1</sub>-13为F<sub>1</sub>代不同植株, PAA-Hwa为点突变体, *paa2*为T-DNA插入突变体; B, F<sub>1</sub>代表型鉴定, Hwacheong为对照品种, PAA-Hwa×*paa2*为F<sub>1</sub>代植株; C, F<sub>1</sub>代穗顶部颖花退化表型; D, F<sub>1</sub>代叶尖黄化表型

*PAA-Hwa*的穗顶部颖花退化突变表型。

为了进一步证明 *paa2* 的穗顶部颖花退化现象是因 *LOC\_Os04g56160* 基因的T-DNA插入突变引起,与 *LOC\_Os04g56160* 基因点突变体 *PAA-Hwa* 进行杂交,共获得杂交种 13 株  $F_1$  植株,对所有  $F_1$  植株进行基因型与表型鉴定。所有  $F_1$  植株表型与穗顶部颖花突变体 *PAA-Hwa* 相似,穗顶部颖花退化,并且叶尖同样呈现黄化现象(图 3)。表明 *paa2* 的穗顶部颖花现象是因 *LOC\_Os04g56160* 基因的T-DNA插入突变引起,*LOC\_Os04g56160* 基因为穗顶部颖花退化调控基因。

## 2.4 插入突变体的农艺性状

纯合突变植株  $T_3$  代种植于水稻试验田,常规栽培管理条件下进行农艺性状考察。与野生型相比,插入功能区域的突变体 *paa1*、*paa2* 的株高、穗长、单株有效分蘖数、穗粒数、结实率、千粒重等都极显著降低,而插入 3' 端非翻译区突变体 *paa3* 只在株高、穗长、穗粒数上表现出差异极显著,单株有效分蘖数和结实率恢复到野生型水平。由此可见,尽管 3 个 T-DNA 突变体都插入同一个基因,但是农艺性状根据插入位点的不同而异(图 2A、表 3)。

表 3 插入突变体的主要农艺性状

性状	野生型	<i>PAA-Hwa</i>	<i>paa1</i>	<i>paa2</i>	<i>paa3</i>
株高	84.66±1.79	72.61±1.63**	63.41±1.17**	55.3±1.14**	66.29±1.2**
穗长	19.37±0.78	14.8±0.73**	12.39±0.53**	10.63±0.46**	12.35±0.42**
单株有效分蘖数	12.7±0.82	11.2±0.79	5.5±0.85**	3.5±0.53**	11.5±0.82
穗粒数	111.5±7.53	37.5±5.66**	25.2±4.39**	11.5±2.51****	62.9±4.15**
结实率	91.24±1.91	69.53±5.1**	86.73±3.86**	95±3.16*	92.49±2.28
千粒重	25.06±0.44	21.48±0.23**	22.59±0.12**	21.9±0.17**	24.49±0.16

注:\*表示差异显著( $P<0.05$ );\*\*表示差异极显著( $P<0.01$ )

## 3 讨论

本研究在 T-DNA 突变库中筛选到了 3 个 *LOC\_Os04g56160* 基因插入突变体 *paa1*、*paa2* 和 *paa3*。根据 T-DNA 边界序列特征设计引物,通过 PCR 扩增条带多少的差异就能够准确判别 T-DNA 插入片段的纯合体与杂合体,省时省力<sup>[11-12]</sup>。在本研究中,分别在 T-DNA 插入位点两侧水稻基因组和 T-DNA 边界序列共设计 3 条引物,通过 PCR 扩增条带的特征筛选出 *paa1*、*paa2* 和 *paa3* 的纯合突变体和杂合突变体。通过基因型与表型共分离分析可以判断生物体的基因型与表型的关系<sup>[13]</sup>。杂合突变体自交后代植株表型与基因型共分离分析结果显示,*paa1* 及 *paa2* 植株的穗顶部颖花退化表型与基因型相吻合,且分离比符合孟德尔遗传规律,证明穗顶部颖花退化表型受隐性基因 *LOC\_Os04g56160* 的单基因控制。

T-DNA 插入到功能区的突变体 *paa1* 和 *paa2* 具有穗顶部颖花退化表型,而插入到 3' 端非翻译区突变体 *paa3* 穗顶发育正常:表明只有 *LOC\_Os04g56160* 基因的转录产物被截断或蛋白结构发生变化的情况下突变体才会呈现穗顶部颖花退化;3' 端非翻译区插入突变体 *paa3* 尽管无全长 mRNA,但是具有翻译区的全长转录因子,因此并

未影响穗发育。*PAA-Hwa* 与 *paa2* 杂交  $F_1$  代表现出穗顶部颖花退化现象,与亲本表型完全一致,未发生表型分离,进一步证明点突变体 *PAA-Hwa* 和 T-DNA 插入突变体 *paa2* 的穗顶部颖花退化表型由 *LOC\_Os04g56160* 基因的功能缺失所导致。

*LOC\_Os04g56160* 基因已被克隆(命名为 *OSA7*),该基因编码一种质膜  $H^+$ -ATP 酶 *OC\_Os04g56160*,定位于保卫细胞的质膜。*OSA7* 参与蓝光诱导哑铃型保卫细胞的气孔张开,*OSA7* 突变体(TOS17 Line NE1507)的红光和蓝光增加气孔导度的幅度显著降低,表现出严重的生长缺陷,在生殖期到达前会枯萎<sup>[14]</sup>。然而,关于 *LOC\_Os04g56160* 基因突变后对水稻穗形的影响尚无报道。

笔者推测 T-DNA 插入突变体 *paa1* 和 *paa2* 突变表型也是因为蓝光诱导的保卫细胞气孔张开受到障碍所导致。水稻穗顶小穗退化突变体 *es1-1* 表现出气孔密度明显增加,叶片在苗期经历水分散失,反映为叶片边缘发白和萎蔫<sup>[1-2]</sup>。*es1-1* 气孔和叶片边缘发生变化现象与本研究 T-DNA 插入突变体 *paa1* 和 *paa2* 的表型十分相似,因此气孔和叶片的功能变化研究也可视为穗顶部的小穗退化突变体的重点研究方向。

## 4 结论

本研究通过水稻穗顶部颖花退化 T-DNA 插入突变体的分子鉴定及表型特征分析,证明了 *paa1* 和 *paa2* 为穗顶部颖花退化突变体, *LOC\_Os04g56160* 为水稻穗顶部颖花退化调控基因,该结果为进一步研究水稻穗顶部颖花退化机理奠定了基础。*paa1* 和 *paa2* 的穗顶部颖花退化表型与气孔开关和密度相关调控基因的作用机制及 *LOC\_Os04g56160* 基因的生物学功能有待于进一步深入研究。

参考文献:

[ 1 ] Bai J, Zhu X, Wang Q, et al. Rice *TUTOU1* Encodes a Suppressor of cAMP Receptor-Like Protein That Is Important for Actin Organization and Panicle Development[J]. *Plant Physiol*, 2015, 169(2): 1179-1191.

[ 2 ] Rao Y, Yang Y, Xu J, et al. *EARLY SENESCENCE1* Encodes a SCAR-LIKE PROTEIN2 That Affects Water Loss in Rice[J]. *Plant Physiol*, 2015, 169(2): 1225-1239.

[ 3 ] Heng Y, Wu C, Long Y, et al. *OsALMT7* Maintains Panicle Size and Grain Yield in Rice by Mediating Malate Transport[J]. *Plant Cell*, 2018, 30(4): 889-906.

[ 4 ] Wang Q L, Sun A Z, Chen S T, et al. *SPL6* represses signalling outputs of ER stress in control of panicle cell death in rice[J]. *Nat Plants*, 2018, 4(5): 280-288.

[ 5 ] 邱 杨. 水稻显性矮秆和穗退化基因的精细定位[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.

[ 6 ] 李红平. 水稻顶端穗退化 *tsr* 突变体的基因定位及候选基因的克隆[D]. 福州: 福建农林大学, 2015.

[ 7 ] 侯飞雪, 彭永彬, 韩小行, 等. 水稻穗顶退化突变体 *paa1331* 的鉴定及基因定位[J]. *科学通报*, 2018, 63(31): 3192-3203.

[ 8 ] Akter M B, Piao R, Kim B, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of a new mutant gene for panicle apical abortion in rice[J]. *Euphytica*, 2014, 197(3): 387-398.

[ 9 ] Toda Y, Wang Y, Takahashi A, et al. *Oryza sativa* H<sup>+</sup>-ATPase (*OSA*) is involved in the regulation of dumbbell-shaped guard cells of rice[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2016, 57(6): 1220-1230.

[ 10 ] 王晓雪, 邢 飞, 杨 峰, 等. 耐盐碱基因 *OsMYB56* 转化水稻的研究[J]. *东北农业科学*, 2016, 41(3): 31-36.

[ 11 ] 刘宪虎, 许明子, 李美善, 等. 水稻光温敏核不育基因的分子标记定位研究[J]. *吉林农业科学*, 2013, 38(3): 25-30.

[ 12 ] 包婉莹, 仲晓芳, 杜 茜, 等. 抗病转基因大豆事件 B4J8049 外源 T-DNA 整合位点分析及特异性检测[J]. *东北农业科学*, 2018, 43(5): 21-26.

[ 13 ] Jin Y M, Won S Y, Jeon H, et al. Identification and molecular characterization of a *low acid phosphatase 3 (lap3)* mutant based on the screening of an Arabidopsis activation-tagged population [J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2011, 5(1): 45-51.

[ 14 ] An S, Park S, Jeong D H, et al. Generation and analysis of end sequence database for T-DNA tagging lines in rice[J]. *Plant physiology*, 2003, 133(4): 2040-2047.

[ 7 ] 才 卓, 徐国良, 刘向辉, 等. 玉米高频率单倍生殖诱导系吉高诱 3 号的选育[J]. *玉米科学*, 2007, 15(1): 1-4.

[ 8 ] 岳尧海, 路 明, 张建新, 等. 玉米单倍体高频诱导系吉诱 101 号的选育[J]. *作物杂志*, 2017(3): 35-38.

[ 9 ] 刘欣芳, 马 骏, 齐 欣, 等. 辽诱系列玉米单倍体诱导系的选育 [J/OL]. *玉米科学*: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1201.S.20181218.1618.002.html>.

[ 10 ] 张俊雄, 武占元, 宋 鹏, 等. 玉米单倍体种子胚部特征提取及动态识别方法[J]. *农业工程学报*, 2013, 29(04): 199-203.

[ 11 ] 钟 成. 新选玉米单倍体诱导系生态适应性评价与遗传多样性分析[D]. 成都: 四川农业大学, 2015.

[ 12 ] 刘文国, 路 明, 赵万庆, 等. 玉米新型诱导系测验种 JL-H1 的选育[J]. *现代化农业*, 2015(12): 6-8.

[ 13 ] 王 伟, 杨文鹏, 关 琦, 等. SSR 分子标记技术操作规程的优化[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(11): 4459-4464, 4493.

[ 14 ] 李 飞. 基于层次聚类的生物数据特征选择算法的研究与实现[D]. 吉林大学, 2019.

[ 15 ] 李向永, 姜 龙, 王薪淇, 等. 糯玉米单倍体诱导和加倍的研究[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2016, 44(8): 90-96.

[ 16 ] Chase S S. Monoploids and Monoploid derivatives of maize (*Zea mays* L.) [J]. *Bot Review*, 1969, 35: 117-167.

[ 17 ] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学技术出版社, 2002: 304-311.

[ 18 ] 李高科, 毛笈华, 李春艳, 等. 28 份玉米单倍体诱导系的诱导率表现及聚类分析[J]. *玉米科学*, 2016, 24(4): 24-29.

[ 19 ] 刘培勋, 刘和平, 罗仁革, 等. 单倍体诱导技术在玉米育种中的应用[J]. *种子*, 2014, 35(5): 49-52.

[ 20 ] 杨美丽, 王瑞英, 陈志梅, 等. 玉米不同基因型诱导系诱导效果研究及应用[J]. *中国农学通报*, 2017, 33(4): 21-24.

[ 21 ] 王 蕊, 周联东, 王铁固, 等. 玉米单倍体诱导系 XKY-1 和 XKY-2 的选育研究[J]. *现代农业科技*, 2018(13): 34-35.

[ 22 ] 刘 坚, 方 芳, 徐 洁, 等. 用单倍体诱导系诱导糯玉米单倍体[J]. *四川农业大学学报*, 2009, 27(1): 47-50.

[ 23 ] 徐 辉, 姜 龙, 陈殿元, 等. 不同玉米单倍体诱导系之间杂交组合诱导性状的杂种优势研究[J]. *种子*, 2018, 37(11): 21-25.

[ 24 ] Zhong Y, Liu C, Qi X, et al. Mutation of *ZmDMP* enhances haploid induction in maize[J]. *Nature plants*, 2019, 5(6): 575.

[ 25 ] 刘传兵, 王黎明, 朱祥芬, 等. 玉米单倍体诱导系及其杂交种对不同类型 F1 的诱导率评价与应用[J]. *湖北农业科学*, 2015, 54(18): 4398-4400, 4411.

[ 26 ] Rotarencu V, Dicu G, armaniu M, 等. 玉米杂交诱导单倍体机理探析[J]. *玉米科学*, 2010, 18(6): 27-30.

[ 27 ] 焦仁海, 徐艳荣, 代秀云, 等. 玉米单倍体诱导系诱导率研究[J]. *吉林农业科学*, 2015, 40(2): 1-3.

(上接第 13 页)