

焦翠翠, 郭妍妍, 吴均章, 等. 水稻 *Ds* 标记的曲穗突变体的分子鉴定[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(11): 26–29.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.11.007

# 水稻 *Ds* 标记的曲穗突变体的分子鉴定

焦翠翠, 郭妍妍, 吴均章, 孙丙耀

(苏州大学医学部基础医学与生物科学学院, 江苏苏州 215123)

**摘要:**在经过 *Ac/Ds* 基因标签系统获得的水稻 *Ds* 插入突变株系中得到 1 株水稻曲穗突变体植株, 对该突变体进行初步表型观察, 结果显示, 成熟期突变体植株的稻穗有一定的弯曲; 同时采用 TAIL-PCR 方法获得曲穗突变体 *Ds* 侧翼基因序列, 结果证明含有 1 个 *Ds* 插入位点; 对 *Ds* 侧翼序列进行分析发现, *Ds* 插入在 2 个基因之间, 其下游是编码类泛素特异性蛋白酶 1 (*Ulp1*) 的基因, 该基因与穗的形成有一定的关联; 利用 RACE 技术扩增 *Ds* 插入位点下游基因的 cDNA 的 3' 端序列, 序列比对发现, *Ds* 插入前后其下游基因序列无变化。预测 *Ds* 的插入影响了 *Ulp1* 基因的启动子区域, 进而影响水稻的花序生长发育形成穗弯曲水稻突变体。本研究结果可能在穗型的遗传及发育以及改良优质高产水稻方面有一定的作用。

**关键词:**水稻; 穗型; 遗传; 发育; 改良; *Ulp1*; *Ac/Ds*; 3' - RACE 技术

**中图分类号:** S511.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)11-0026-03

水稻穗型指的是稻穗的大小、多少和生长姿态, 反映水稻穗型的具体指标包括每穗粒数、结实率、着粒密度、一二次枝梗籽粒比例、穗长、穗颈弯曲度等, 根据穗颈弯曲程度分为直立穗型和弯曲穗型<sup>[1]</sup>。在 20 世纪五六十年代, 我国利用半矮化育种及水稻杂种优势技术, 水稻产量有很大的提高, 但近年来, 水稻产量一直处于停滞不前的状态<sup>[2]</sup>。株型育种是水稻超高产遗传育种的重要方向, 而穗型与水稻株型密切相关, 是影响水稻产量的重要因素之一。因而, 通过对穗型的研究进而提高水稻产量是很多育种专家所重视的问题。在水稻发育生物学研究及实际农业生产中, 与弯曲穗型水稻比较而言, 直立穗型能够改善灌浆结实期群体结构, 增强抗倒伏性, 提高群体生长率等生理生态特性, 但大多数的研究只是简单地运用统计学对其性状进行简单考察, 对直立穗型和弯曲穗型分子机制方面的研究较少<sup>[3-5]</sup>。阐明相关穗弯曲与穗直立基因的遗传机理, 为水稻育种研究提供参考依据, 这也是研究优质高产水稻的未来研究方向。本研究对水稻 *Ds* 插入突变株系中出现的曲穗突变体进行表型观察, 并扩增 *Ds* 侧翼序列进行基因的初步鉴定, 在此基础上采用 RACE 扩增技术扩增 *Ds* 标记基因的 cDNA 序列, 分析 *Ds* 的插入对水稻穗型变化影响的分子机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

曲穗突变体水稻来源于水稻品种 Dongjin (*Oryza sativa* L. var. *japonica* cv. Dongjin) 的 *Ac/Ds* 插入突变体系, 由韩国

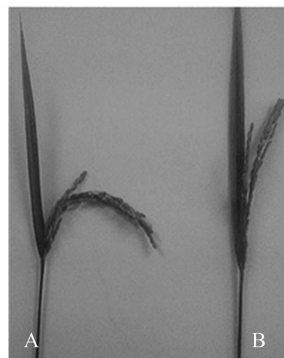
收稿日期: 2016-03-14

基金项目: 江苏省苏州市应用基础研究计划 (农业部分) (编号: SYN201204)。

作者简介: 焦翠翠 (1990—), 女, 硕士, 研究方向为植物结构与发育生物学。E-mail: jcc651362527@163.com。

通信作者: 孙丙耀, 副教授, 研究方向为植物分子遗传学。Tel: (0512) 65882833; E-mail: sunbingyao@suda.edu.cn。

国立庆尚大学 Han Chang-deok 教授实验室提供, 委托江苏太湖地区农业科学研究所对种子进行播种并栽培。在生长期多次观察其表型, 并取田间栽培的野生型与突变体水稻完整植株, 带回实验室取其幼嫩的新鲜组织, 提取植物基因组 DNA 和 RNA 用于后续试验研究。抽穗期间, 突变体较野生型水稻抽穗较早并在该期间株高有显著差异; 成熟期, 突变体与野生型植株穗弯曲程度存在明显差异 (图 1)。



A—曲穗突变体; B—野生型

图1 曲穗突变体与野生型表型差异

### 1.2 方法

**1.2.1 引物设计** 根据转座子 *Ds* 的序列特点, 在 *Ds* 的 3' 末端设计引物 SP1、SP2、SP3, 分别与随机简并引物 AD1、AD2 搭配, 进行 TAIL-PCR 的 3 轮扩增; 以 TAIL-PCR 扩增获得的 *Ds* 侧翼水稻序列设计 3' - RACE 扩增特异引物。除了 RACE 的通用引物外, 其他引物均采用 Primer Premier 6.0 和 Oligo 7 软件进行设计, 引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成, 序列见表 1。

**1.2.2 突变体水稻 *Ds* 侧翼序列的扩增** 采用 TaKaRa 植物 DNA 提取试剂盒, 对野生型和突变体水稻的单株叶片 DNA 进行分离提取; 采用核酸微量紫外分光光度计 (Thermo Scientific NanoDrop 2000) 对所提取的 DNA 进行浓度和纯度检测, 选取纯度较高的 DNA 作为后续 PCR 反应模板; 然后对曲穗

表 1 用于 TAIL-PCR 和 RACE 扩增测定的引物

引物名称	引物序列(5'→3')	引物用途
SP1	ACCCGACCGGATCGTATCGGT	TAIL-PCR 特异引物
SP2	TATGAAAATGAAAACGGTAGAGG	
SP3	GTTACCGACCGTTTTTCATCC	
AD1	TTGIAGNACIANAGG	TAIL-PCR 随机简并引物
AD2	GTGASNTGSWATGG	
RACE1-1	TCAGCCCAATACAAGGTAGGAGT	3'-RACE 特异引物
RACE1-2	GTGAAGGTGGAGGTGAAGGAC	
RACE2-1	AGGATGAGGAGCCACGACAAG	RACE 通用引物
RACE2-2	CCCTCCAACATTGAAGTTAGCAG	
US	CTAATACGACTCACTATAGGGC	
UL	CTAATACGACTCACTATAGGCAAGCACTGGTATCAACGCAGAGT	
NUP	AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT	

突变体基因组 DNA 进行 *Ac/Ds* 元件插入检测,确认含有 *Ds* 插入后进行 *Ds* 侧翼序列扩增;以曲穗突变体基因组作为模板,以随机简并引物 AD1 和 AD2 分别与特异引物 SP1、SP2、SP3 搭配进行 TAIL-PCR 的 3 轮反应扩增 *Ds* 的侧翼序列;根据引物设计特点,TAIL-PCR 的 2、3 轮反应产物大小应相差 36 bp,然后对第 3 轮反应特异条带进行割胶,采用 TaKaRa MiniBEST Agarose Gel DNA Extraction Kit Ver. 4.0 回收、纯化特异扩增产物;将其产物连接到 PMD19-T Vector 进行 TA 克隆,16 ℃ 条件下连接过夜;连接产物转化至大肠杆菌 JM109 感受态细胞进行蓝白斑筛选,挑取 10 个单菌落,在 LB 液体培养基中培养过夜;将菌液 PCR 验证为阳性克隆的菌液,送至苏州金唯智生物科技有限公司进行序列测定,获得 *Ds* 侧翼序列。

**1.2.3 *Ds* 标记基因 cDNA 的 RACE 扩增** 对野生型和曲穗突变体的不同组织,利用 Trizol 法提取总 RNA。采用 TaKaRa 公司 Reverse Transcriptase M-MLV 试剂盒,建立反转录反应体系,将提取的总 RNA 反转录为 cDNA,将其作为 RACE 扩增反应的模板。

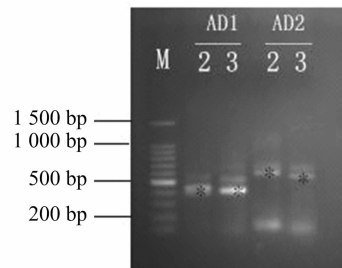
第 1 轮 RACE 反应体系 (50 μL) 包括 5 μL 的 10 × Buffer、3 μL 的 dNTPs (2.5 mmol/L)、1.5 μL 引物 US、0.3 μL 的引物 UL、1.5 μL 的 1 轮特异引物、0.25 μL *rTaq* DNA 聚合酶 (5 U/μL) 以及约 200 ng cDNA 模板。反应循环参数为:94 ℃ 30 s,67 ℃ 30 s,72 ℃ 2 min,25 个循环。第 2 轮反应中,以通用引物 NUP 与第 2 轮的特异引物搭配,为了得到理想的结果,再以第 2 轮扩增产物为模板重复第 2 轮反应。退火温度依据特异引物与 NUP 的解链温度 ( $T_m$ ) 值确定。依据预测的 RACE 目标条带大小以及 2、3 轮结果比对,选取第 3 轮反应中合适的电泳迁移条带,经胶回收、TA 克隆后,将菌液送至苏州金唯智生物科技有限公司进行序列测定。

**1.2.4 突变体中 *Ds* 的染色体定位、插入位点以及 *Ds* 标记基因的生物信息学分析** 将测序获得的 *Ds* 侧翼序列与 NCBI 数据库中序列进行在线比对 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),确定突变体基因组上 *Ds* 的染色体定位和基因位点。将测序获得的 cDNA 的序列与 NCBI 数据库中序列进行在线比对,分析 *Ds* 插入前、后标记基因的结构。

## 2 结果与分析

### 2.1 曲穗突变体基因组上 *Ds* 的插入位点

对曲穗突变体进行基于 TAIL-PCR 技术的 *Ds* 侧翼序列的扩增,结果见图 2。以突变体基因组 DNA 为模板进行扩增获得 *Ds* 侧翼序列,通过 NCBI-BLAST 在线比对和分析发现,*Ds* 插入在 3 号染色体上 (Sequence ID: dbj|AP014959.1),插入在 2 个基因之间,下游为类泛素特异性蛋白酶 1 (*Ulp1*) 基因 (图 3),该基因与穗的形成有一定的关联,由此推测 *Ds* 的插入会对下游基因 *Ulp1* 的表达有影响。



M—100 bp DNA ladder; 泳道 2、3—TAIL-PCR 第 2、第 3 轮反应产物; AD1、AD2—每组反应搭配使用的随机简并引物,用星号标示的条带为切胶回收的目的条带

图 2 TAIL-PCR 扩增曲穗突变体基因组上 *Ds* 的侧翼序列

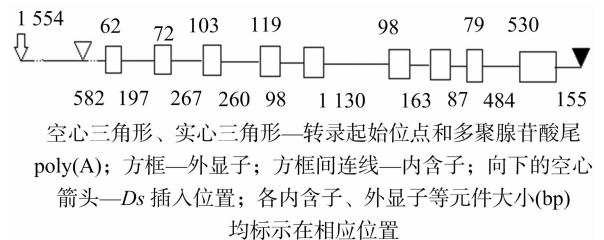
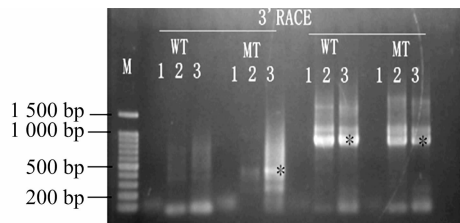


图 3 *Ds* 插入位点的及下游基因结构

### 2.2 *Ds* 标记基因 cDNA 末端序列的分析

TAIL-PCR 扩增的 *Ds* 侧翼序列分析表明,*Ds* 插入在 2 个基因之间,但下游基因对穗的形成有关联,以此为基础,提取下游基因相关序列设计 2 对不同的 RACE 特异引物,并分别以野生型和曲穗突变体水稻总 RNA 反转录产生的 cDNA 为模板进行 RACE 扩增反应并对其扩增产物进行电泳分析 (图 4),第 1 对特异性引物组合 RACE1-1 和 RACE1-2 中,曲穗突变体第 3 轮扩增产物有 1 条约为 400 bp 的主条带,第 2 对特异性引物组合 RACE2-1 和 RACE2-2 中,野生型和突变体 2、3 轮扩增产物都有 1 条约为 800 bp 的主条带,经序列测定 800 bp 左右的条带为特异扩增产物。测序结果显示,

*Ds* 插入前后,下游编码 *Ulp1* 的基因序列无变化。预测 *Ds* 的插入位置对 *Ulp1* 基因的启动子结构有一定的影响,有研究表明 *Ulp1* 调节 *SUMO/Smt3* 代谢途径,而 *SUMO/Smt3* 途径对细胞分化及细胞生长、DNA 的复制与修复、核蛋白导入和靶向以及植物开花时期有重要作用<sup>[6-7]</sup>。



M—100 bp DNA ladder; WT—野生型; MT—曲穗突变体;泳道 1、2、3—3'-RACE 的第 1、第 2、第 3 轮反应产物。前一组引物组合为 RACE1-1 和 RACE1-2;后一组引物组合为 RACE2-1 和 RACE2-2。凝胶回收的条带以星号标示

图4 3'-RACE 扩增 *Ds* 标记基因的 cDNA 序列

### 3 讨论与结论

玉米 *Ac/Ds* 双因子系统属于 DNA 转座元件 *hAT* 超家族的成员,近年来运用 *Ac/Ds* 双元件系统构建水稻突变体库已经有了很大的进展,日本、美国、韩国、荷兰、澳大利亚等不同的国家都有科学家致力于水稻突变体库的构建,这为高通量突变体筛选、功能基因组学研究以及突变体库的构建和育种奠定了基础。同时,利用水稻基因组中大量的序列信息去阐明基因的生物学功能、鉴定以及克隆相关农艺性状的基因,对改良水稻的生产性能和品质具有重要意义。

穗型是水稻的重要形态特征之一,与水稻产量水平有着密切的联系,是水稻理想株型育种和栽培研究关注的焦点<sup>[8]</sup>。有研究表明,直立穗型和弯曲穗型在直链淀粉含量、不同部位粒型分布等方面都有区别<sup>[9-10]</sup>,在实际生产中由于直立穗型群体的实粒数、千粒质量明显高于弯曲穗型群体,特别是直立穗群体的二次枝梗实粒率比弯曲型群体高 10% 以上,以及直立穗更能充分利用光照条件进行光合作用,更倾向于直立穗型的培育<sup>[11]</sup>。已有的研究大部分从形态及生理方面着手讨论弯曲穗型与直立穗型的不同点,但弯曲穗型与直立穗型在分子机制方面的差异有待进一步研究。

关于控制水稻穗型基因的研究显示,定位在第 2 条染色体短臂端 nDel 标记 EJ-4 和 dCAPs 标记 EJ-5 之间的 *FUWA* 基因,定位在第 6 号染色体短臂端 SSR 标记的 Rm253 和 RM19623 之间的 *EP4* 基因,定位在 9 号染色体的 *qPE9-1* 基因,在粒长、粒宽、穗弯曲、穗直立等穗型方面进行调控<sup>[2,5,12-13]</sup>。本研究结果显示,曲穗突变体的 *Ds* 插入在 2 个基因之间,其下游基因为 *Ulp1* 的基因,*Ds* 标记基因 cDNA 末端序列的分析显示曲穗突变体水稻与野生型水稻序列无变化,但表型观察结果证明两者在穗型弯曲度上确实存在差异,*Ac/Ds* 双元件检测也确实有 *Ds* 元件的插入,TAIL-PCR 结果也证明含有 1 个 *Ds* 的拷贝,说明 *Ds* 的插入对突变体穗的形成有影响。*Ds* 插入位置下游基因 *Ulp1* 在穗型发育过程中有一定的调节作用。穗型的调控涉及许多不同的生化途径,包括泛素化途径,近年来关于控制穗部性状相关基因陆续被克隆出来,如控制穗型粒宽、粒质量编码 E3 泛素连接酶的 *GW2*

基因可能参与降解促进细胞分裂的蛋白的过程,进而对水稻颖壳、粒质量和产量方面进行控制,如编码核定位蛋白的 *GW5* 基因,通过泛素蛋白酶途径调节控制穗型粒宽、粒质量<sup>[14-15]</sup>。水稻穗部性状是由多基因控制的复杂的数量性状,另外已经克隆的水稻穗型基因还包括 *D2*、*GS3*、*GS5*、*GW8*、*TAW1* 等基因<sup>[16-20]</sup>,随着测序技术的发展和分子标记的应用以及突变体的挖掘,已克隆出来的控制穗部性状的基因揭示了粒穗调控的相关机制,也为利用分子育种手段改良品种奠定了一定的基础。但是,*Ulp1* 参与的泛素化降解途径以及在穗型调控的确切机制还有待进一步确认。

另外,本研究对获得的 *Ulp1* 基因没有进行表达谱的分析,在后续研究中运用荧光定量 PCR 技术得到该基因在水稻不同组织的表达差异,进一步分析 *Ds* 插入是否会对 *Ulp1* 基因的表达产生影响。

### 参考文献:

- [1] 刘 坚,陶红剑,施 思,等. 水稻穗型的遗传和育种改良[J]. 中国水稻科学,2012,26(2):227-234.
- [2] Zhou Y,Zhu J Y,Li Z Y,et al. Deletion in a quantitative trait gene *qPE9-1* associated with panicle erectness improves plant architecture during rice domestication[J]. Genetics,2009,183(1):315-324.
- [3] Jhala V M,Thaker V S. X-ray computed tomography to study rice (*Oryza sativa* L.) panicle development[J]. Journal of Experimental Botany,2015,66(21):6819-6825.
- [4] 徐正进,陈温福,周洪飞,等. 直立穗型水稻群体生理生态特性及其利用前景[J]. 科学通报,1996,41(12):1122-1126.
- [5] Zhang Y,Zhou J W,Yang Y,et al. A novel gene responsible for erect panicle from *Oryza glumaepatula* [J]. Euphytica,2015,205(3):739-745.
- [6] Song P,Cai C,Skokut M,et al. Quantitative real-time PCR as a screening tool for estimating transgene copy number in WHISKERS™-derived transgenic maize [J]. Plant Cell Reports,2002,20(10):948-954.
- [7] Dohmen R J. SUMO protein modification [J]. Biochimica et Biophysica Acta,2004,1695(1/2/3):113-131.
- [8] Chen W F,Xu Z J,Zhang W Z,et al. Creation of new plant type and breeding rice for super high yield [J]. Acta Agronomica Sinica,2001,27(5):665-672.
- [9] 朱海江,程方民,王 丰,等. 两种穗型粳稻穗内粒间直链淀粉含量变异与粒位分布特征[J]. 中国水稻科学,2004,18(4):321-325.
- [10] 金 峰,陈书强,李培培,等. 直立与弯曲穗型水稻穗上不同部位粒形分布特征[J]. 沈阳农业大学学报,2008,39(3):279-284.
- [11] 冯永祥,徐正进,谢立勇,等. 水稻穗型对群体光环境及生产影响的模拟研究[J]. 辽宁农业科学,2003(2):9-11.
- [12] Chen J,Gao H,Zheng X M,et al. An evolutionarily conserved gene, *FUWA*, plays a role in determining panicle architecture, grain shape and grain weight in rice[J]. The Plant Journal,2015,83(3):427-438.
- [13] Yi X,Zhang Z,Zeng S,et al. Introgression of *qPE9-1* allele, conferring the panicle erectness, leads to the decrease of grain yield per plant in japonica rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Journal of Genetics and Genomics,2011,38(5):217-223.

张正东,申 铁,周文卫,等. 基于 EST 序列的茶代谢网络的构建[J]. 江苏农业科学,2017,45(11):29-32.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.11.008

# 基于 EST 序列的茶代谢网络的构建

张正东<sup>1</sup>, 申 铁<sup>2</sup>, 周文卫<sup>2</sup>, 谢晓尧<sup>2</sup>

(1. 贵州大学计算机科学与技术学院, 贵州贵阳 550001; 2. 贵州师范大学贵州省信息与计算科学重点实验室, 贵州贵阳 550001)

**摘要:**茶树体内的生化反应所生成的各种功能性化合物是茶叶具有营养和健康功能的物质基础,也是茶叶品质的决定因素。这些生化反应由茶树基因编码的酶催化并组成复杂的代谢网络。首先通过开源工具包 jsoup 开发异步数据采集程序,从布伦瑞克酶数据库(braunschweig enzyme database,简称 BRENDA)和美国国立生物技术信息中心(NCBI)网站上获取酶序列及其催化反应、GI 号、EC 编码对应关系等相关信息,建立本地酶数据库;其次从 NCBI 上下载 FASTA 格式的茶树表达序列标签(expressed sequence tag,简称 EST)序列数据,通过 GI 号查询本地酶数据库,得到酶催化反应信息,继而基于超图思想利用 Cytoscape Web API 重构茶代谢网络;最后对 EST 序列信息进行统计分析,并从多个维度对构造的代谢网络进行拓扑特性、KEGG 路径、生物意义的深入分析,对茶树内生化反应的理解、新功能基因的挖掘、茶叶品质的提升、新茶产品的开发具有重要意义。

**关键词:** Cytoscape Web; EST; 超图; 代谢网络; 茶叶

**中图分类号:** Q811.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)11-0029-04

茶是世界上一种重要的饮料<sup>[1]</sup>。茶叶品质是茶叶具有营养和健康功能的物质基础,其决定因素是茶叶中的各种功能性化合物<sup>[2]</sup>。研究表明,茶叶中蕴含的活性物质能够促进身体健康和预防多种疾病。比如,茶叶中的多酚类物质具有很强的抗氧化性和生理活性,具有很好的抗衰老效果<sup>[3]</sup>。茶多酚及其氧化物能够吸收放射性物质铯 90、钴 60,具有一定的抗辐射作用<sup>[4]</sup>。此外,茶多酚(主要是儿茶素类化合物)具有预防多种器官癌症、代谢综合征、心血管疾病以及神经退行性疾病的作用<sup>[5-7]</sup>。

茶叶中的功能性化合物来源于茶树基因编码的酶<sup>[8]</sup>。

酶是代谢反应的生物催化剂,其活性由基因转录和翻译的特定氨基酸序列决定<sup>[9-12]</sup>。茶叶中的酶促反应组成复杂的生化反应网络,即代谢网络<sup>[13]</sup>。代谢网络的基本功能是不停地与外界环境进行物质和能量交换,维持茶树体的生命特征<sup>[14]</sup>。此外,代谢网络对于茶叶中的物质合成至关重要,这些物质是决定茶叶品质和等级的关键要素<sup>[15-16]</sup>。研究茶叶中的酶及其催化的代谢反应,对于茶树品种的开发、品质的提升、新型茶产品的研发加工具有重要作用。

茶叶酶的特性取决于氨基酸种类和线性排列,这些氨基酸由茶树基因编码<sup>[17]</sup>。因此,本研究通过异步数据采集程序从布伦瑞克酶数据库(BRENDA)、美国国立生物技术信息中心(NCBI)网站上获取酶序列及其催化反应、GI 号、EC 编码等相关信息,建立本地酶数据库;从 NCBI 上下载茶树表达序列标签(EST)序列数据,通过查询本地酶数据库鉴别出 EST 序列对应的茶叶酶,继而构造茶代谢网络,从多个维度对构造的代谢网络进行拓扑特性和生物信息统计分析,并讨论分析结果所蕴含的生物学意义。

收稿日期:2016-09-23

基金项目:国家自然科学基金(编号:31200626);贵州省科技厅联合基金(编号:黔科合 LH[2015]7773)。

作者简介:张正东(1984—),男,安徽六安人,博士研究生,研究方向为生物信息学。E-mail:923534069@qq.com。

通信作者:谢晓尧,博士,教授,博士生导师,主要从事生物大数据分析研究。E-mail:2715236679@qq.com。

[14] Song X J, Huang W, Shi M, et al. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase[J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(5): 623-630.

[15] Weng J, Gu S, Wan X, et al. Isolation and initial characterization of GW5, a major QTL associated with rice grain width and weight[J]. *Cell Research*, 2008, 18(12): 1199-1209.

[16] Hong Z, Ueguchi-Tanaka M, Umemura K, et al. A rice brassinosteroid-deficient mutant, ebisu dwarf (d2), is caused by a loss of function of a new member of cytochrome P450[J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(12): 2900-2910.

[17] Mao H, Sun S, Yao J, et al. Linking differential domain functions of the GS3 protein to natural variation of grain size in rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*

of America, 2010, 107(45): 19579-19584.

[18] Li M, Tang D, Wang K, et al. Mutations in the F-box gene LARG-ER PANICLE improve the panicle architecture and enhance the grain yield in rice[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2011, 9(9): 1002-1013.

[19] Wang S, Wu K, Yuan Q, et al. Control of grain size, shape and quality by OsSPL16 in rice[J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(8): 950-954.

[20] Yoshida A, Sasao M, Yasuno N, et al. TAWAWA1, a regulator of rice inflorescence architecture, functions through the suppression of meristem phase transition[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(2): 767-772.