



苈兴超,黄永兰,唐秀英,等.*Gn1a*基因靶向敲除对粳稻产量构成因素的影响[J].江西农业大学学报,2023,45(1):10-16.  
CHANG X C, HUANG Y L, TANG X Y, et al. Effects of targeted *Gn1a* gene knockout on yield components of japonica rice[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2023, 45(1): 10-16.

# *Gn1a* 基因靶向敲除对粳稻 产量构成因素的影响

苈兴超,黄永兰,唐秀英,王会民,芦明,王燕宁,  
朱雪晶,龙起樟\*,万建林\*

(江西省超级水稻研究发展中心/水稻国家工程实验室(南昌)/江西省绿色水稻种质重点实验室,江西 南昌 330200)

**摘要:**【目的】我国多数人口以稻米为主食,稻米产量关系国家粮食安全,提高单产仍然是目前水稻育种最重要的目标。水稻中*OsGn1a/OsCKX2*基因失活被报道可提高穗粒数从而提高产量。拟通过CRISPR/Cas9技术在粳稻品种“晚粳34”中对该基因进行靶向敲除,从而快速提高其产量。【方法】通过基因编辑技术对*OsGn1a*基因进行定点突变,在成功获得*OsGn1a*基因功能缺失突变体后,利用获得的同时包含野生型和突变型的3个独立突变株系衍生的不含转基因成分的纯合突变株(突变组)和非突变株(野生型对照组)姊妹系( $T_3$ 代)进行试验,同株系突变组和对照组不同重复(3个重复)田间排布采用完全随机设计,不同株系独立排布,通过比较3个株系各自突变组和对照组间产量构成因素之间的差异,探究*Gn1a*基因功能缺失对“晚粳34”产量构成因素的影响。【结果】3个株系(编号分别为#01、#06和#16)突变组与对照组相比,每穗粒数均显著增加,增幅分别为26.2%、19.8%和19.0%,均值21.67%;对于千粒质量,其中两个株系(#06和#16)突变组也显著增加,增幅分别为8.0%和8.8%,而另一个株系则无显著差异;而对于有效分蘖数,从均值上看3个株系均不同程度降低,不过只有#06和#16两个株系差异显著,降幅分别为9.8%和15.7%,另外一个株系降幅虽然高达13.4%,但统计上差异并不显著;对于结实率,3个株系均无显著差异。依据产量构成因素数据计算单株理论产量,突变组与对照组相比,3个株系的单株理论产量变化并不一致,从均值上看,2个突变体株系(编号分别为#01和#06)增产(增幅35.1%和18.5%),但统计上差异并不显著,另外1个突变体株系(编号为#16)减产(减幅27.3%),统计上差异显著。【结论】在粳稻中敲除*OsGn1a*基因可有效提高穗粒数,但可能伴随千粒质量和有效分蘖数的变化,在某些环境下可使千粒质量增加同时导致分蘖数减少,最终单株产量也发生变化,不同条件下可能获得不同结果,提示育种中仅仅通过应用*Gn1a*无功能等位基因并不一定能提高水稻产量。

**关键词:***Gn1a*;基因编辑;产量;分蘖数;穗粒数;结实率;千粒质量

中图分类号:S511.2<sup>+</sup>;S503.53

文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号:1000-2286(2023)01-0010-07



## Effects of Targeted *Gn1a* Gene Knockout on Yield Components of Japonica Rice

CHANG Xingchao, HUANG Yonglan, TANG Xiuying, WANG Huimin,  
LU Ming, WANG Yanning, ZHU Xuejing, LONG Qizhang\*, WAN Jianlin\*

收稿日期:2022-09-28 修回日期:2022-11-13

基金项目:江西省重大科技研发专项(20203ABC28W013)

Project supported by the Special Project for Major Scientific and Technological R&D of Jiangxi Province

作者简介:苈兴超,研究实习生,orcid.org/0000-0002-2702-4243, changxingchao1213@163.com; \*通信作者:万建林,研究员,博士,主要从事水稻遗传育种研究,orcid.org/0000-0001-9307-3871, newanjil@163.com; 龙起樟,助理研究员,博士,主要从事水稻遗传育种研究,orcid.org/0000-0002-4128-4762, lqz816@163.com。

(Jiangxi Super-rice Research and Development Center National Rice Engineering Research Center (Nanchang) Jiangxi Key Laboratory for Green Rice Germplasm, Nanchang 330200, China)

**Abstract:** [**Objective**] Rice is the staple food of most Chinese people, so that its yield is critical for national food security. Hence, improving per unit yield is still the most important goal of rice breeding at present. The inactivation of the *OsGn1a/OsCKX2* in rice has been reported to enhance rice yield by increasing grain numbers. In this study, the CRISPR/Cas9 technology was used to generate targeted knockout of this gene in the japonica rice variety “Wanjiang 34” to rapidly increase its yield. [**Method**] In the present study, loss-of-function mutations of the *OsGn1a* gene were generated by gene editing technology, and three independent  $T_0$  such lines harboring both wild type and mutant alleles were chosen for experiment. The homozygous mutant (mutant group) and non-mutant (wild-type control) sister lines ( $T_3$  generation) derived from a common  $T_0$  ancestor were used for yield trait compare to study the effect of *Gn1a* disruption on yield components. In the field experiment, the mutant and the wild type control replicates derived from a common ancestor were randomly arranged. [**Result**] The data showed that, as compared with that in the control groups, the grain number per panicle in the mutant groups of all the three lines (designated as #01, #06 and #16) significantly increased (by 26.2%, 19.8% and 19.0%, respectively; 21.67% on average). Meanwhile, the mutants of two lines (#06 and #16) out of the three ones showed significantly increased 1 000-grain weight (increased by 8.0% and 8.8%, respectively), relative to that of the controls. Conversely, the mutants of the same two lines (#06 and #16) showed significantly decreased tiller numbers (decreased by 9.8% and 15.7%, respectively). It is worth noting that the mutants of Line #01 also showed a 13.4% decrease of tiller number but the change was not statistically significant. There was no significant change in seed setting rate between the mutants and the wild types of all the three lines. The changes of theoretical yield per plant were not consistent among the three lines. According to the mean value, two mutant lines (#01 and #06) showed increased yield (increased by as high as 35.1% and 18.5% respectively) relative to the wild types, but the differences were not statistically significant. On the contrary, the mutants of Line #16 showed a significantly decreased yield (decreased by 27.3%) relative to the controls. [**Conclusion**] It is very certain that knockout of *OsGn1a* can effectively increase grain number in japonica rice. The conduct may also improve grain weight and reduce tiller number, but these effects may be affected by environmental factors. As a result, the yield per plant may also change (even yield reduction may take places). Taken together, it is suggested that the disruption of only the single gene *Gn1a* can not necessarily improve the yield.

**Keywords:** *Gn1a*; CRISPR/Cas9; yield; tiller number; grain number; seed setting rate; 1 000-grain weight

【研究意义】我国是世界上最大的大米生产和消费国,提高水稻单产是我国水稻育种的永恒主题。【前人研究进展】水稻的单位产量由单位面积的有效分蘖数、穗粒数(颖花数)、结实率和千粒质量构成。近年来,随着分子标记辅助育种的发展,与产量构成因素相关的基因不断被报道,包括 *GS3*<sup>[1]</sup>、*WTG1*<sup>[2]</sup>、*LPI*<sup>[3]</sup>和 *Gn1a*<sup>[4]</sup>等。其中 *Gn1a* 是一个控制水稻穗粒数的基因,它编码一个细胞分裂素加氧酶/脱氢酶(*OsCKX2*)<sup>[4]</sup>。细胞分裂素加氧酶/脱氢酶的生物学功能是灭活细胞分裂素(CK),因此在 *Gn1a* 功能缺失时植物体内CK大量积累,而CK正调控茎端分生组织的功能,引起水稻枝梗数增加,每穗粒数随之增加<sup>[4]</sup>。【本研究切入点】随着基因编辑技术的成熟,对目标基因进行靶向敲除已经变得十分便捷。在“北粳南移”国家战略背景下,江西省在积极推动粳稻的品种选育工作。本研究拟对株叶形态较好但产量略为欠缺的粳稻品种“晚粳34”进行改良。【拟解决的关键问题】拟通过CRISPR/Cas9技术对“晚粳34”基因组中的 *Gn1a* 基因进行定点敲除以增加其穗粒数,进而提高产量,从而快速培育新品种。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

“晚粳34”品种为江西省农业科学院水稻研究所王智权博士提供。

### 1.2 试验地点

江西省农业科学院高安转基因基地

### 1.3 载体构建

载体为实验室自行构建的 CRISPR/Cas9 载体 pCubi1390Cas9-U6<sup>[5]</sup>。利用在线工具 CRISPR-P 2.0 (<http://crispr.hzau.edu.cn/CRISPR2/>)设计针对靶基因 *Gn1a* 的 sgRNA 向导序列。选择 *Gn1a* 第2外显子上的一个靶位点[基因组 ORF 位置:1140-1162],合成向导链 DNA 寡核酸接头正反链。正义链为:ctt-gGGCTCGGTCACCTGAACCA;反义链为:aaacTGGTTCAGGTGGACCGAGCC。将寡核酸正反链退火后连接到 pCubi1390Cas9-U6 上,具体方法请参照文献[5]。

### 1.4 遗传转化

采用 CaCl<sub>2</sub> 法制备农杆菌,将构建好的 Ti 质粒使用化学法转化至 EHA105 根癌农杆菌中,遗传转化使用 Toki 等的方法进行<sup>[6]</sup>。

### 1.5 基因编辑突变位点检测

利用叶段潮霉素(50 mg/L)水溶液浸泡法对 T<sub>0</sub> 再生植株进行潮霉素抗性检测<sup>[7]</sup>,在 T<sub>1</sub> 分离群体继续通过潮霉素抗性检测筛除含有转基因的单株,通过靶位点 PCR 产物测序对非转基因单株靶位点突变情况进行检测,通过 T<sub>1</sub> 分离后代基因型推断 T<sub>0</sub> 代突变情况。叶片 DNA 提取通过 CTAB 法进行<sup>[8]</sup>。PCR 引物如下:GACAGACTACCTCCACCTCACCC(正向)和 AGTTTTTCAGCTTAGTTGTTCC(反向)。反应体系:2 μL 10×PCR buffer(含 Mg<sup>2+</sup>);2 μL dNTPs(2.5 mmol/L);2 μL 引物(上下游各加 1 μL);2 μL DMSO(二甲基亚砜);0.4 μL *rTaq*(TaKaRa);2 μL DNA,9.6 μL H<sub>2</sub>O,总体积 20 μL。其 PCR 温度程序:94 °C 2 min;94 °C 30 s,60 °C 30 s,72 °C 1 min,35 循环;72 °C 2 min。PCR 产物送至长沙擎科生物技术有限公司进行测序(测序引物 Gn1aU6-MF:CGAGGTAATTAAGGTATAGGTGTTT)。

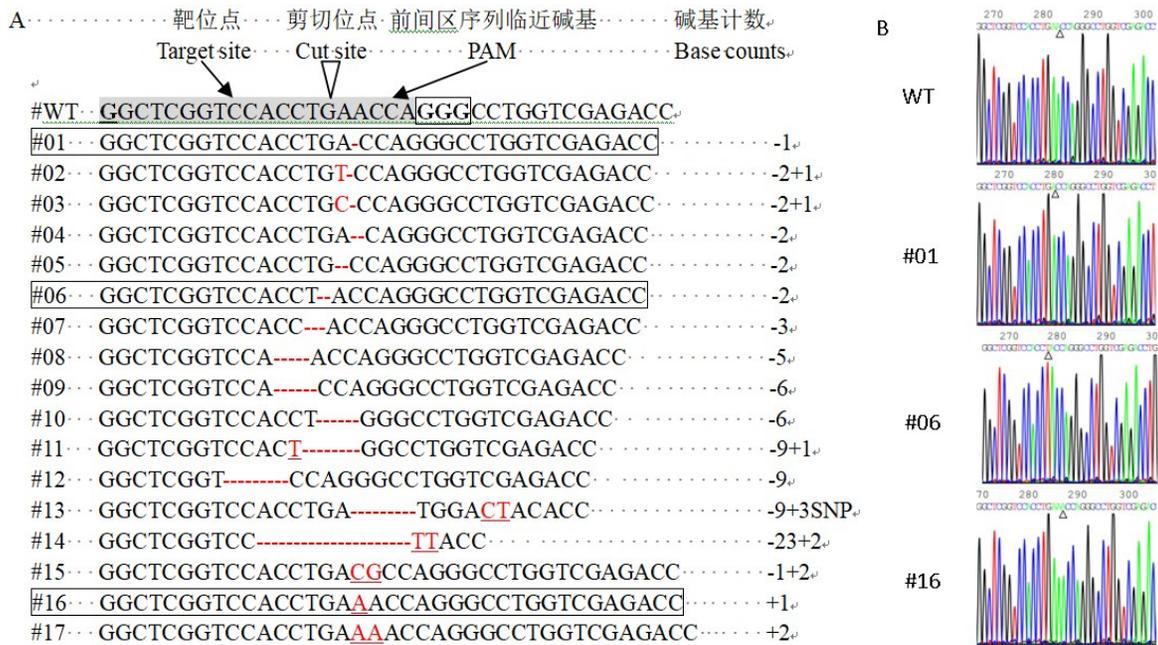
### 1.6 材料繁殖、小区设计及农艺性状考察

T<sub>0</sub> 代植株在温室盆栽种植;T<sub>1</sub> 代分离群体在网室内种植,在开花前对植株进行筛选,然后对含有转基因的植株进行筛除;在 T<sub>2</sub> 代对无转基因成分突变株系进行扩繁以获得试验用足量种子;利用 T<sub>3</sub> 代植株进行农艺性状分析,材料在转基因基地大田种植,6月25日播种,抽穗期9月10日左右。选择在同时含有野生型和突变型株系3个株系进行试验,每个株系在 T<sub>1</sub> 代选择3个野生型和3个突变型姊妹株分开收种,继续繁殖获得各自的 T<sub>2</sub> 和 T<sub>3</sub> 种子。材料按小区种植,1个姊妹系设1个小区,株系内6个姊妹系在小区内随机排列,3个株系独立进行小区布局。每小区20行,每行12株,株行距均为20 cm。所有材料在田间均为常规水肥管理。从小区中随机选取10株(异常株和边株除外)考察有效分蘖(以实粒数大于等于五粒为准)、总粒数、实粒数和千粒质量(#01号株系由于对照和突变体均有一个重复因地势较低而受涝害,长势较差,不进行取样分析)。数据处理及统计分析通过软件 GraphPad Prism 8.3.0 进行,使用学生氏 *t* 测验进行显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Gn1a* 基因编辑株系的获得

本研究一共获得11个独立转化株系测序结果显示,一共获得17种突变类型(突变序列见图1A,不同株系基因型见表1),其中11种突变类型(即#01,#02,#03,#04,#05,#06,#08,#11,#15,#16和#17)造成移码而导致后续氨基酸发生改变,推导可致蛋白质功能失活,另外6种突变类型(当核苷酸缺失或插入的数目是3的整数倍,即07,#09,#10,#12,#13和#14)导致减少1个至数个氨基酸,蛋白质功能是否受到影响未知。因此为了最大程度避免组培突变干扰试验结果,选取分别包含#01、#06、#16 3种突变类型的 L11、L2、L8 株系 T<sub>3</sub> 代植株进行试验(突变序列测序峰图见图1B)。



A 为 *Gn1a* 靶位点突变情况。WT 为野生型, #01...#16 为不同类型的突变体编号。在野生型中, 靶位点以及 PAM 位点分别用灰色阴影和灰色阴影与加框表示, 其中 sgRNA 转录起始碱基另加下划线加粗显示, 倒三角表示剪切位点; 在突变体植株中红色横线表示碱基缺失, 红色下划线表示碱基的插入; 图右边数字表示碱基的插入(+)和碱基的缺失(-)个数。B 为野生型和 3 个突变体株系的测序峰图, 在野生型中三角指示位置表示剪切位点, 在 #01 和 #06 株系中三角指示位置表示碱基缺失位点, 在 #16 株系中三角指示位置表示碱基增加的位置。

A indicates the mutations of *Gn1a* target site. WT was the wild type and #01 to #16 were the different mutation types. In the wild type, the target site and PAM site are, shaded in grey, and bolded plus boxed, respectively, with the transcription start base of the sgRNA bolded and under lined. The inverted triangle represented the cut site of the Cas9. In mutant plants, the dashed line indicates sequence deletions and the underlined and red bases indicate insertion. The numbers on the right of the figure indicate the numbers of inserted (+) and deleted bases (-). B showed the chromatogram graph section corresponding to target site of wild-type and three mutant lines. The triangles in the wild-type, in line #01 and line #06, and in line #16 denote the cut site; the base immediately before the deleted ones; and it the inserted base, respectively.

图 1 基因编辑株系中 *Gn1a* 碱基突变情况

Fig.1 Mutations of the *Gn1a* target site in gene editing lines

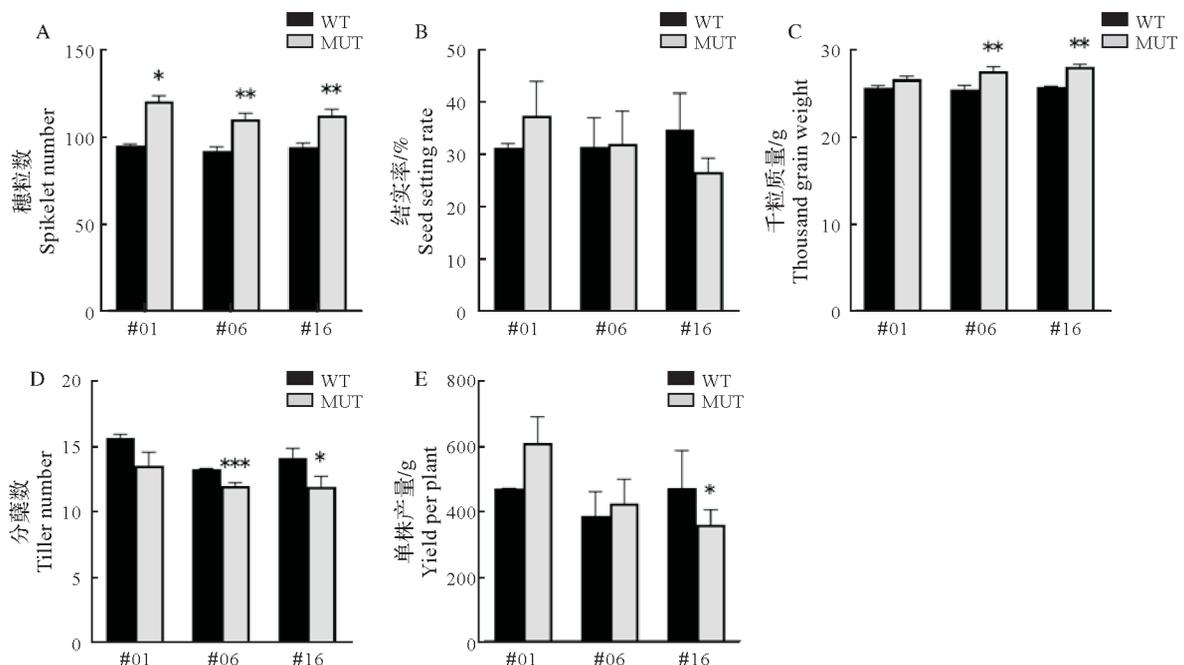
表 1 不同基因编辑株系的基因型

Tab.1 The genotypes of different gene editing lines

株系号 Line Number	推测突变类型 Deduced mutation type	基因型 Genotypes						
L1	嵌合突变 Chimeric	#07	#08	#09	-	-	-	-
L2	嵌合突变 Chimeric	#06	#07	#01	#11	#12	WT	
L3	纯合突变 homozygous	#01	-	-	-	-	-	-
L4	嵌合突变 Chimeric	#03	#01	#15	#10	-	-	-
L5	嵌合突变 Chimeric	#01	#13	WT	-	-	-	-
L6	双等位基因突变 Biallelic	#14	#17	-	-	-	-	-
L7	双等位基因突变 Biallelic	#06	#07	-	-	-	-	-
L8	嵌合突变 Chimeric	#01	#05	#16	#02	#17	WT	
L9	嵌合突变 Chimeric	#01	#04	#09	-	-	-	-
L10	双等位基因突变 Biallelic	#01	#17	-	-	-	-	-
L11	杂合突变 Heterozygous	#01	WT	-	-	-	-	-

## 2.2 敲除 *Gn1a* 对产量性状的影响

考察试验设计中各小区材料的每穗粒数、结实率、千粒重和有效分蘖数然后将 *Gn1a* 突变体与其相应对照的数据进行比较分析,结果(图 2)显示:在每穗粒数上,3 个突变体株系与野生型相比均显著增加,#01、#06 和 #16 分别比野生型增加了 26.2%、19.8% 和 19.0%,平均增加 21.67%,说明敲除 *Gn1a* 能大幅度增加穗粒数;在结实率上,3 个突变体株系和野生型相比没有明显差异,因而敲除 *Gn1a* 对结实率影响不明显;在千粒质量上,3 个突变体株系与野生型的相比均不同程度增加,#01、#06 和 #16 分别比野生型增加了 3.8%、8.0% 和 8.8%,平均增加 6.9%;但 #01 与野生型相比差异不显著,尽管如此,3 个株系相同的变化趋势说明敲除 *Gn1a* 可增加千粒质量;而对于分蘖数,3 个突变体株系与野生型相比不同程度减少,#01、#06 和 #16 分别比野生型减少了 13.4%、9.8% 和 15.7%,平均减少 13.0%,值得注意的是,3 个株系中虽然 #01 株系与对照相比减少较大,但差异却并不显著,提示较大的环境误差掩盖了试验差异,笔者认为 *Gn1a* 功能缺失会使分蘖数减少;通过产量构成因素数据计算单株产量,数据显示 3 个突变体与野生型相比变化趋势不一致,有两个株系表现出增产(增幅 35.1% 和 18.5%),另一个株系却表现出减产(减幅 27.3%)(图 2E),值得注意的是,两个增产株系与对照相比统计上并无显著差异,估计环境误差较大掩盖了试验差异,而减产株系与对照相比在统计上差异显著。产量是个综合性状,其变化是各个产量构成因素变化综合的结果,由于正向和负向的变化同时存在,不同株系之间各个产量构成因素变化幅度又不一致,最后表现出增产或减产都是可以理解的。综上所述,敲除 *Gn1a* 可增加穗粒数的同时还可能增加千粒质量,但可能造成分蘖数减少,有利与不利影响并存,最终对产量的影响很大程度上受环境因素影响较大,增产或减产都有可能。



A、B、C、D 和 E 分别为 *Gn1a* 突变株系与野生型在分蘖数、穗粒数、结实率、千粒质量及单株产量上的比较分析;#01、#06 和 #16 指包含突变序列编号为 #01、#06 和 #16 (突变情况见图 1A) 基因突变株系的 3 个不同比较组,WT 为野生型,MUT 为突变体,同一组内的野生型和突变体来自同一个株系  $T_0$  代祖先;数据格式为“均值±标准误”,#01 号株系小区数  $n=2$ ,#06 和 #16 株系小区数  $n=3$ ,每小区考种 10 个单株。\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ ; 差异显著性通过学生氏  $t$  测验检测。

A, B, C, D and E denote changes of tiller number, grain number per panicle, seed setting rate, 1000-grain weight and yield per plant in the *gn1a* mutants relative to those in the wild types. #01, #06 and #16 indicate the comparative groups including the *gn1a* mutants with alleles numbered as #01, #06 and #16 (see Fig. 1A for sequences). WT, wild types; MUT, *gn1a* mutants. WT and mutants within a group were derived from a common line of  $T_0$  generation plant; values are “means ± SE”,  $n$  (replicate number of plots) = 2 for Line #01, and  $n=3$  for Line #06 and Line #16, ten plants were observed for each replicate; \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ ; the significance was determined by Student's  $t$  test.

图 2 *Gn1a* 突变株系性对于野生型的产量性状变化

Fig. 2 Changes of yield related traits in *gn1a* mutants as compared to those in the wild type

### 3 结论与讨论

#### 3.1 结论

本研究结果表明,水稻中 *Gn1a* 功能缺失可大幅增加穗粒数的同时减少分蘖数,也可使千粒质量小幅提高,而对结实率没有显著影响,最终影响产量。需要指出的是,*Gn1a* 功能缺失的遗传效应可能受环境影响较大,不同种植条件下对综合产量的影响可能得到不同结果,一定条件下甚至造成减产。

#### 3.2 讨论

产量是一个综合性状,产量构成因素每一个要素的变化最终都会对产量造成影响。增加穗粒数是提高单产的一条重要途径,而产量构成因素之间存在复杂的相互关系,某一因素的改变可能会使其它因素发生变化。*Gn1a* 作为一个重要的穗粒数控制基因,国内外多个研究团队试图通过基因编辑技术对其进行敲除从而提高水稻产量<sup>[9-13]</sup>,在这些研究中,研究者除了考察敲除 *Gn1a* 对穗粒数的影响,也对其它产量构成因素和总体产量的变化进行了鉴定。

前人研究结果均表明 *Gn1a* 功能缺失可使穗粒数显著增加,本研究结果显示,3个基因编辑株系平均增加穗粒数 21.67%,与前人结果一致,说明 *Gn1a* 功能缺失引起穗粒数增加的效应十分稳定,受遗传背景和环境因素影响较小,因而敲除 *Gn1a* 确实是一种增加穗粒数的有效方法。

*Gn1a* 功能缺失对其它产量构成因素的影响,不同作者获得的结果不完全一致。对于分蘖数,Shen 等<sup>[14]</sup>发现 *Gn1a* 功能缺失在一些背景下分蘖减少,本研究结果显示,3个基因编辑株系平均分蘖数减少 12.97%,与这一结果相吻合,与此不同,李光正等<sup>[10]</sup>的研究中,分蘖数没有显著变化,而 Yeh 等<sup>[15]</sup>的研究中分蘖数反而增加;对于千粒质量,Chare<sup>[16]</sup>的研究显示一个 *Gn1a* 基因敲除株系千粒质量显著高于野生型,本研究结果显示,3个基因编辑株系平均千粒质量增加 6.87%,与前人研究结果一致,但也有报道 *Gn1a* 功能缺失后千粒质量无显著变化<sup>[10]</sup>,对于结实率,李光正等<sup>[10]</sup>的研究中发现 *Gn1a* 功能缺失对结实率没有显著影响,与本研究一致,而 Chare<sup>[16]</sup>研究发现 *Gn1a* 功能缺失可以增加结实率,但沈兰等<sup>[9]</sup>研究发现 *Gn1a* 功能缺失降低结实率。

产量构成因素的变化最终都会反映到产量的变化上来,李光正等<sup>[10]</sup>和 Chare<sup>[16]</sup>的研究均发现 *Gn1a* 功能缺失使单株产量提高,而本研究同时观察到了增产和减产两种截然不同的结果,3个 *Gn1a* 基因敲除株系中,两个表现出增产,增产分别为 35.07% 和 18.54%,一个表现出减产,减产为 27.32%。类似地,Shen 等<sup>[14]</sup>的研究也展示了 *Gn1a* 功能缺失对产量影响矛盾的结果,在该研究中,研究者比较了 *gs3*(粒长控制基因,功能失活为长粒型,为多数籼稻的基因型,功能正常为短粒型,为多数粳稻的基因型)和 *gs3gn1a* 两种突变体在 5 种背景下两种基因型品系在产量方面的变化,发现产量变化不一致,在有些背景下增产(包括 Y4227、Z22),有些背景下减产(包括 N9108、W27、Z88)且减产的株系分蘖都是减少的(1%~29%),揭示了在不同背景中 *Gn1a* 功能有所差异。因此,*Gn1a* 功能缺失并不一定能获得综合产量的增加。依据 *Gn1a* 功能缺失对产量构成因素的影响,*Gn1a* 功能缺失是否增加产量取决于穗粒数的增加幅度以及其它产量构成因素特别是分蘖数是否减少以及减少的幅度。

*Gn1a* 功能缺失对分蘖和产量的影响不同研究结果差异较大,这应该与材料背景不同及种植环境差异有关。某些不良种植条件下,或某种遗传背景下,*Gn1a* 功能缺失会引起分蘖数减少的幅度可能比较大,大于穗粒数(和千粒质量)增加(叠加增加)的幅度,因而综合起来表现出减产。在本研究中,由于试验材料和籼稻种植于一块大田中,肥水管理均依照籼稻进行管理,在双季晚稻高温环境下,粳稻生长慢,在育秧和移栽后的一段时间内,按照籼稻进行水肥管理,粳稻由于植株较矮,生长较慢,经历了一段时间的涝害,生长和分蘖明显受到抑制,在这种逆境条件下,*Gn1a* 功能缺失突变体较对照分蘖受影响更加严重,这可能是本研究中突变体较对照分蘖下降的原因之一,之所以一个株系表现出减产,应该与试验时该株系小区所在的大田处于比较低洼位置因而受到较严重的涝害有关。因此,正常功能的 *Gn1a* 可能对于某种逆境下植株的正常生长(例如分蘖)具有促进作用。

需要指出的是,组织培养往往会发生无性系变异,由于产量是综合性状,这些变异有可能对产量造成影响。一些试验中突变体材料经历了组培过程,将这样的材料与原始野生型进行比较并不能排除背景突变对产量的可能影响,因而带来试验误差,甚至错误,因此本研究为了减少这种误差,采用杂合突变

体衍生出来的纯合突变体和野生型进行对比,这就最大化消除了突变体和野生型之间的背景差异,获得的结果更加可靠。

致谢:江西现代农业科研协同创新专项(JXXTCX201701-03)和江西农业科学院博士启动项目(2012CBS002)同时对本研究给予了资助,谨致谢意!

### 参考文献 References:

- [1] FAN C, XING Y, MAO H, et al. GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grainwidth and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein[J]. *Theoretical and applied genetics*, 2006, 112(6): 1164-1171.
- [2] WANG S, WU K, QIAN Q, et al. Non-canonical regulation of SPL transcription factors by a human OTUB1-like deubiquitinase defines a new plant type rice associated with higher grain yield[J]. *Cell research*, 2017, 27(9): 1142-1156.
- [3] LIU E, LIU Y, WU G, et al. Identification of a candidate gene for panicle length in rice (*Oryza sativa* L.) via association and linkage analysis[J]. *Frontiers in plant science*, 2016, 7: 596.
- [4] ASHIKARI M, SAKAKIBARA H, LIN S, et al. Cytokinin oxidase regulates rice grain production[J]. *Science*, 2005, 309(5735): 741-745.
- [5] 龙起樟, 黄永兰, 唐秀英, 等. 利用 CRISPR/Cas9 敲除 *OsNramp5* 基因创制低镉籼稻[J]. *中国水稻科学*, 2019, 33(5): 407-420.  
LONG Q Z, HUANG Y L, TANG X Y, et al. The production of Low-Cd-accumulating Indica rice by disruption of *OsNramp5* gene via CRISPR/Cas9[J]. *Chinese journal of rice science*, 2019, 33(5): 407-420.
- [6] TOKI S, HARA N, ONO K, et al. Early infection of scutellum tissue with *Agrobacterium* allows high-speed transformation of rice[J]. *Plant journal*, 2006, 47(6): 969-976.
- [7] 刘巧泉, 陈秀花, 王兴稳, 等. 一种快速检测转基因水稻中潮霉素抗性的简易方法[J]. *农业生物技术学报*, 2001, (3): 264-268.  
LIU Q Q, CHEN X H, WANG X W, et al. A rapid simple method of assaying hygromycin resistance in transgenic rice[J]. *Journal of agricultural biotechnology*, 2001, (3): 264-268.
- [8] ALLEN G C, FLORES-VERGARA M A, KRASYNANSKI S, et al. A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide[J]. *Nature protocols*, 2006, 1(5): 2320-2325.
- [9] 沈兰, 李健, 付亚萍, 等. 利用 CRISPR/Cas9 系统定向改良水稻粒长和穗粒数性状[J]. *中国水稻科学*, 2017, 31(3): 223-231.  
SHEN L, LI J, FU Y P, et al. Orientation improvement of grain length and grain number in rice by using CRISPR/Cas9 System[J]. *Chinese journal of rice science*, 2017, 31(3): 223-231.
- [10] 李光正, 李岩, 李建容, 等. 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术提高贵州禾产量研究[J]. *种子*, 2021, 40(6): 1-5.  
LI G Z, LI Y, LI J R, et al. Study on yield improvement 'Guizhouhe' based on CRISPR/Cas9 gene editing technology[J]. *Seed*, 2021, 40(6): 1-5.
- [11] LACCHINIE, KIEGLEE, CASTELLANIM, et al. CRISPR-mediated accelerated domestication of African rice landraces[J]. *Plos one*, 2020, 15(3): e0229782.
- [12] LI M, LI X, ZHOU Z, et al. Reassessment of the four yield-related genes *Gn1a*, *DEP1*, *GS3*, and *IPA1* in rice using a CRISPR/Cas9 system[J]. *Frontiers in plant science*, 2016; 7: 377.
- [13] SHEN L, HUA Y, FU Y, et al. Rapid generation of genetic diversity by multiplex CRISPR/Cas9 genome editing in rice[J]. *Science China (life science)*, 2017, 60(5): 506-515.
- [14] SHEN L, CHUN W, FU Y P, et al. QTL editing confers opposing yield performance in different rice varieties[J]. *Journal of integrative plant biology*, 2018, 60(2): 89-93.
- [15] YEH S Y, CHEN H W, NG C Y, et al. Down-regulation of cytokinin oxidase 2 expression increases tiller number and improves rice yield[J]. *Rice*, 2015, 8(1): 36.
- [16] CHARE Y T. 水稻大穗突变体 *ckx2-2* 和小粒突变体 *tsg2* 的表型特征及其基因定位[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.  
CHARE Y T. Phenotypic characterization and gene mapping of *ckx2-2* and *tsg2* in Rice (*Oryza sativa* L.) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.