

· 特邀综述 ·

水稻穗粒数遗传机制与育种利用

严语萍^{1,2}, 俞晓琦^{1,2*}, 任德勇², 钱前²

¹浙江大学作物科学研究所/水稻生物育种全国重点实验室, 杭州 310058; ²中国水稻研究所/水稻生物育种全国重点实验室, 杭州 311400

摘要 作为影响产量的关键因素之一, 水稻(*Oryza sativa*)每穗粒数始终备受育种家关注。穗粒数形成是复杂的生物学过程, 受多基因调控。根据对表型的影响, 这些基因大致包括枝梗数、穗型和小穗确定性相关基因3类。该文综述了穗粒数相关基因的遗传调控机制, 并提出在水稻育种中利用的策略, 以期水稻高产育种提供理论依据。

关键词 水稻, 产量, 穗粒数, 遗传机制, 育种

严语萍, 俞晓琦, 任德勇, 钱前 (2023). 水稻穗粒数遗传机制与育种利用. 植物学报 58, 359–372.

随着世界人口的持续增长, 耕地面积逐渐减少, 粮食短缺问题日益凸显。预计到2050年, 世界人口将达到100亿, 而以目前的粮食生产水平完全无法满足届时的粮食需求(Hickey et al., 2019)。水稻(*Oryza sativa*)作为世界一半以上人口的主粮, 提高其产量是保障世界粮食安全的关键。水稻产量是复杂的农艺性状, 主要由3个因素决定: 有效穗数、每穗粒数和千粒重(Xing and Zhang, 2010)。其中, 有效穗数受空间制约, 已达到一定程度的饱和; 千粒重主要由品种本身决定, 相对稳定; 而每穗粒数可被调控的空间较大, 因此被认为是影响水稻产量的主要因素, 是进一步提高水稻产量的关键(Tang et al., 2017)。目前, 研究人员已经克隆了大量调控每穗粒数的基因, 并且对它们的作用机制和调控网络也有了较为清晰的认知。本文将综述水稻每穗粒数在分子和遗传调控方面的研究进展, 提出未来通过增加每穗粒数提高产量的研究重点。

1 水稻穗粒数的影响因素

水稻花序为圆锥花序, 是一种生长受限的花序, 由穗轴、一次枝梗、二次枝梗和小穗组成(朱克明等, 2015)。穗粒数是指单穗上籽粒的总数, 又称每穗颖

花数, 其直接着生于枝梗上, 受到枝梗数、穗型和穗长的共同影响。在水稻穗发育过程中, 穗分生组织是穗粒数形成的重要调控因素。水稻从营养生长转变为生殖生长的过程中, 首先由茎尖分生组织(shoot apical meristem, SAM)转变为穗分生组织(inflorescence meristem, IM), IM进一步分化产生一定数量的一次枝梗(primary branch meristem, PBM), 最终在末端一次枝梗的基部失活并退化。在一次枝梗上会相继发育出二次枝梗(secondary branch meristem, SBM)和不定数目的小穗, 甚至有部分二次枝梗上发育出三次枝梗。小穗分生组织(spikelet meristem, SM)只有在枝梗分生组织形成以后才能形成(Wang et al., 2018)。因此, IM向SM转变的推迟会导致枝梗的反复轮生, 形成具有更多枝梗数的大穗; 而如果IM向SM的转变提前, 则会产生数目较少的枝梗原基, 进而导致小穗数目减少。因此, 这些枝梗以及它们分化出的小穗分生组织最终构成了花序的基本结构, 并决定水稻的穗粒数。

多种植物激素与穗发育及穗粒数形成紧密相关, 如生长素、细胞分裂素、赤霉素、茉莉酸、乙烯和油菜素内酯(Deveshwar et al., 2020)。生长素对穗发育至关重要, 它调控腋生分生组织的起始和维持, 若生长素的合成或转运受到影响, 最终会导致枝梗数及穗

收稿日期: 2023-02-04; 接受日期: 2023-04-18

基金项目: 国家自然科学基金(No.32071993)

* 通讯作者。E-mail: yuxiaoqi128@163.com

粒数减少(Yoshida et al., 2012)。而细胞分裂素主要参与调控分生组织的大小和活性,且具有促进腋芽生长的作用,进而影响穗发育(Dun et al., 2012)。生长素、细胞分裂素和茉莉酸还与分生组织特性的决定相关。赤霉素和油菜素内酯不仅调控枝梗的发生,还影响小穗的育性,最终影响穗粒数的形成(Ali et al., 2019)。乙烯可调控籽粒灌浆,并有助于有效结实(Ali et al., 2019)。多种激素途径构成复杂的网络,调控包括穗粒数在内的水稻多种关键农艺性状。

2 水稻穗粒数相关基因

2.1 枝梗数相关基因

在已有报道的调控水稻穗粒数的基因中,有很大一部分与调控一次枝梗数或二次枝梗数相关(表1; 图1)。在生殖生长过程中,细胞分裂素通过促进细胞增殖调控分生组织活性(Kyozuka, 2007),对小穗枝梗数具有正调控作用。*Gn1a* (*GRAIN NUMBER 1a*)编码细胞分裂素氧化酶/脱氢酶OsCKX2,是最早被发现影响水稻穗粒数的主效QTL。*OsCKX2*在叶片、茎、花序分生组织和小穗中的表达量极高,其表达量降低使细胞分裂素在花序分生组织中积累,从而增加穗粒数并提高产量(Ashikari et al., 2005)。*DST* (*DROUGHT AND SALT TOLERANCE*)是一个锌指转录因子,可直接调控*OsCKX2*的表达。在其半显性等位突变体*DST^{reg1}*中,*DST*基因失去对*OsCKX2*表达的直接调控作用,使茎尖分生组织中细胞分裂素水平提高,促进枝梗分化,进而提高穗粒数(Li et al., 2013)。*OsER1* (*ERECTA 1*)是一个类受体蛋白激酶,为穗粒数的负调控因子。它作用于OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6级联信号的上游,与OsMKKK10及OsMKK4共同调控OsMPK6的磷酸化水平,进而参与水稻穗部形态建成。此外,OsMPK6通过磷酸化*DST*增强其对*OsCKX2*的转录激活活性。总之,OsER1-OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6信号通路依赖于*DST*-*OsCKX2*调控模块,通过调控细胞分裂素代谢来影响水稻幼穗发育,进而调控水稻穗粒数的形成(Guo et al., 2020)。*GSN1* (*GRAIN SIZE AND NUMBER 1*)编码丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶OsMKP1,它可与OsMPK6互作并通过去磷酸化使其失去活性。*gsn1*突变体籽粒变大,但枝梗数和穗粒数减少且穗型松散。即*GSN1*是

OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6级联反应的负调控因子,对籽粒大小起负调控作用,但正调控水稻穗粒数(Guo et al., 2018)。与*OsCKX2*相反,*LOG* (*LONELY GUY*)编码细胞分裂素激活酶,可直接将失活的细胞分裂素及其核苷酸复合物转变成活性状态。*LOG*是维持分生组织活性所必需,因此在*log*突变体中,茎顶端分生组织的发育提前终止,一次枝梗数及穗粒数显著下降(Kurakawa et al., 2007)。*RGN1* (*REGULATOR OF GRAIN NUMBER 1*)编码一个R2R3型MYB转录因子,其突变导致二次枝梗上的侧生小穗缺失,进而使穗粒数显著减少。*RGN1*可以直接结合*LOG*的启动子,正调控其表达,进而调控穗粒数和花序形态。此外,在3 000份水稻种质资源中发现1种有利单倍型*RGN1^C*,含有*RGN1^C*等位基因的种质资源中*LOG*的表达量比含有*RGN1^G*等位基因的种质资源高,从而产生更大的花序(Li et al., 2022)。

KNOX蛋白是一类同源结构域转录因子,在分生组织的建立和维持中发挥作用。*OSH1*属于KNOX家族,可以直接激活其它KNOX旁系同源基因及其自身的表达,这种正向自身调节对于茎尖分生组织的维持必不可少(Tsuda et al., 2011)。KNOX蛋白通过诱导编码腺苷磷酸异戊烯基转移酶(IPT)的基因表达来激活分生组织中细胞分裂素的生物合成。细胞分裂素促进赤霉素分解代谢相关基因的表达,从而维持茎尖分生组织中KNOX蛋白建立的低赤霉素含量状态(Jasinski et al., 2005)。*osh1*突变体因无法维持茎尖分生组织活性,表现出枝梗数和穗粒数减少的表型(Tsuda et al., 2011)。*OsGA20ox1/GNP1* (*GRAIN NUMBER PER PANICLE 1*)编码GA20氧化酶,是赤霉素生物合成倒数第2步反应的关键催化酶。水稻花序分生组织中*GNP1*转录水平的提高导致KNOX基因的表达量增高,减少赤霉素的积累,并通过KNOX介导的反馈调节环增强细胞分裂素活性,从而影响分生组织活性,最终提高二次枝梗数和每穗粒数(Wu et al., 2016)。

当二次枝梗上侧生小穗全部缺失时,水稻花序表现出稀穗的特征。截至目前,已经发现3个基因与二次枝梗上侧生小穗的产生有关。*LAX1* (*LAX PANICLE 1*)基因编码植物特有的bHLH转录因子,是生殖生长阶段腋生分生组织生长所必需。*LAX1*基因的弱突变体*lax-1*、*lax-4*和*lax-5*枝梗数减少且二次枝梗上

表1 调控水稻穗粒数的相关基因

Table 1 Related genes regulating the number of spikelets per panicle in rice

基因名称	基因ID		蛋白类型	对穗粒数的 正调控(+)/ 负调控(-)	参考文献
	MSU_Locus	RAP_Locus			
枝梗数					
<i>Gn1a/OsCKX2</i>	<i>LOC_Os01g10110</i>	<i>Os01g0197700</i>	细胞分裂素氧化酶/脱氢酶	-	Ashikari et al., 2005
<i>IPI1</i>	<i>LOC_Os01g24880</i>	<i>Os01g0350900</i>	环指E3连接酶	-	Wang et al., 2017a
<i>LOG</i>	<i>LOC_Os01g40630</i>	<i>Os01g0588900</i>	细胞分裂素激活酶/磷酸核糖水 解酶	+	Kurakawa et al., 2007
<i>RGN1</i>	<i>LOC_Os01g49160</i>	<i>Os01g0685400</i>	R2R3型MYB转录因子	+	Li et al., 2022
<i>NOG1</i>	<i>LOC_Os01g54860</i>	<i>Os01g0752200</i>	烯酰辅酶A水合酶/异构酶	+	Huo et al., 2017
<i>LAX1</i>	<i>LOC_Os01g61480</i>	<i>Os01g0831000</i>	bHLH转录因子	+	Komatsu et al., 2003a
<i>OsGRF10</i>	<i>LOC_Os02g45570</i>	<i>Os02g0678800</i>	生长调节因子	+	Liu et al., 2014
<i>OsH1/Oskn1</i>	<i>LOC_Os03g51690</i>	<i>Os03g0727000</i>	同源异型盒基因	+	Tsuda et al., 2011
<i>OsGRF6</i>	<i>LOC_Os03g51970</i>	<i>Os03g0729500</i>	生长调节因子	+	Liu et al., 2014
<i>DST</i>	<i>LOC_Os03g57240</i>	<i>Os03g0786400</i>	锌指转录因子	-	Li et al., 2013
<i>OsGA20ox/GNP1</i>	<i>LOC_Os03g63970</i>	<i>Os03g0856700</i>	GA20氧化酶	+	Wu et al., 2016
<i>LAX2/GNP4</i>	<i>LOC_Os04g32510</i>	<i>Os04g0396500</i>	核定位蛋白	+	Zhang et al., 2018
<i>OsNAC2</i>	<i>LOC_Os04g38720</i>	<i>Os04g0460600</i>	NAC转录因子	+	Jiang et al., 2018
<i>OsSPL7</i>	<i>LOC_Os04g46580</i>	<i>Os04g0551500</i>	Squamosa启动子结合蛋白	-	Dai et al., 2018
<i>NAL1/qFLW4/LSCHL4</i>	<i>LOC_Os04g52479</i>	<i>Os04g0615000</i>	丝氨酸/半胱氨酸蛋白酶	+	Zhang et al., 2014
<i>MOC3/OsWUS</i>	<i>LOC_Os04g56780</i>	<i>Os04g0663600</i>	WUSCHEL蛋白	-	Mjomba et al., 2016
<i>GSN1/OsMKP1</i>	<i>LOC_Os05g02500</i>	<i>Os05g0115800</i>	丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶	+	Guo et al., 2018
<i>OsER1/OsERECTA</i>	<i>LOC_Os06g10230</i>	<i>Os06g0203800</i>	类受体蛋白激酶	-	Guo et al., 2020
<i>OsMFT1</i>	<i>LOC_Os06g30370</i>	<i>Os06g0498800</i>	PEBP家族蛋白	+	Song et al., 2018
<i>MOC1/GNP6</i>	<i>LOC_Os06g40780</i>	<i>Os06g0610350</i>	GRAS家族蛋白	+	Zhang et al., 2021
<i>FON1</i>	<i>LOC_Os06g50340</i>	<i>Os06g0717200</i>	富亮氨酸重复类受体蛋白激酶	-	Suzaki et al., 2004
<i>GLW7/OsSPL13</i>	<i>LOC_Os07g32170</i>	<i>Os07g0505200</i>	Squamosa启动子结合蛋白	+	Si et al., 2016
<i>FZP/SGDP7/BFL1</i>	<i>LOC_Os07g47330</i>	<i>Os07g0669500</i>	ERF转录因子	-	Bai et al., 2017
<i>IPA1/OsSPL14</i>	<i>LOC_Os08g39890</i>	<i>Os08g0509600</i>	Squamosa启动子结合蛋白	-	Jiao et al., 2010
<i>OsOTUB1/WTG1</i>	<i>LOC_Os08g42540</i>	<i>Os08g0537800</i>	具有去泛素化酶活性的otubain 样蛋白酶	-	Wang et al., 2017b
<i>DEP1/DN1</i>	<i>LOC_Os09g26999</i>	<i>Os09g0441900</i>	异三聚体G蛋白γ亚基	+	Huang et al., 2009
<i>OsSPL17</i>	<i>LOC_Os09g31438</i>	<i>Os09g0491532</i>	Squamosa启动子结合蛋白	-	Wang et al., 2015
<i>OsSPL18</i>	<i>LOC_Os09g32944</i>	<i>Os09g0507100</i>	Squamosa启动子结合蛋白	+	Yuan et al., 2019
<i>OsSHI1</i>	<i>LOC_Os09g36160</i>	<i>Os09g0531600</i>	SHI家族转录因子	-	Duan et al., 2019
<i>TAW1</i>	<i>LOC_Os10g33780</i>	<i>Os10g0478000</i>	ALOG家族蛋白	+	Yoshida et al., 2013
<i>FON2/FON4</i>	<i>LOC_Os11g38270</i>	<i>Os11g0595400</i>	含有CLE结构域的分泌蛋白	-	Chu et al., 2006
<i>OsPID/OsPINOID</i>	<i>LOC_Os12g42020</i>	<i>Os12g0614600</i>	含有激酶结构域蛋白	+	He et al., 2019
穗型					
<i>EP3/LP</i>	<i>LOC_Os02g15950</i>	<i>Os02g0260200</i>	F-box蛋白	-	Piao et al., 2009
<i>PAP2/OsMADS34</i>	<i>LOC_Os03g54170</i>	<i>Os03g0753100</i>	MADS盒转录因子	+	Kobayashi et al., 2010
<i>SP3</i>	<i>LOC_Os03g55610</i>	<i>Os03g0764900</i>	Dof转录因子	+	Huang et al., 2019
<i>RCN4</i>	<i>LOC_Os04g33570</i>	<i>Os04g0411400</i>	TFL1/CEN同源蛋白	+	Zhu et al., 2022
<i>APO2/RFL</i>	<i>LOC_Os04g51000</i>	<i>Os04g0598300</i>	拟南芥RFL同源蛋白	+	Ikeda-Kawakatsu et al., 2012

表1 (续)
Table 1 (continued)

基因名称	基因ID		蛋白类型	对穗粒数的 正调控(+)/ 负调控(-)	参考文献
	MSU_Locus	RAP_Locus			
<i>OsMADS5</i>	<i>LOC_Os06g06750</i>	<i>Os06g0162800</i>	MADS盒转录因子	-	Zhu et al., 2022
<i>Sped1-D</i>	<i>LOC_Os06g39650</i>	<i>Os06g0597500</i>	三角状五肽重复蛋白	+	Jiang et al., 2014
<i>APO1/SCM2</i>	<i>LOC_Os06g45460</i>	<i>Os06g0665400</i>	F-box蛋白	+	Ikeda et al., 2007
<i>DEP3</i>	<i>LOC_Os06g46350</i>	<i>Os06g0677000</i>	糖蛋白相关磷脂酶A	-	Qiao et al., 2011
<i>EP2/DEP2/SRS1</i>	<i>LOC_Os07g42410</i>	<i>Os07g0616000</i>	转录调控因子	+	Zhu et al., 2010
<i>OsREL2/ASP1/OsT-PR2</i>	<i>LOC_Os08g06480</i>	<i>Os08g0162100</i>	TOPLLESS相关蛋白	-	Kwon et al., 2012
<i>SP1</i>	<i>LOC_Os11g12740</i>	<i>Os11g0235200</i>	多肽转运蛋白	+	Li et al., 2009b
小穗确定性					
<i>EG1/DF1/GY1</i>	<i>LOC_Os01g67430</i>	<i>Os01g0900400</i>	磷脂酶A1	-	Li et al., 2009a
<i>LF1/OSH1</i>	<i>LOC_Os03g01890</i>	<i>Os03g0109400</i>	III类同源域亮氨酸拉链蛋白	-	Zhang et al., 2017
<i>OsIDS1</i>	<i>LOC_Os03g60430</i>	<i>Os03g0818800</i>	AP2/ERF转录因子	-	Lee et al., 2007
<i>MOF1/MFS2</i>	<i>LOC_Os04g47890</i>	<i>Os04g0566600</i>	MYB转录因子	-	Ren et al., 2020
<i>MFS1</i>	<i>LOC_Os05g41760</i>	<i>Os05g0497200</i>	AP2/ERF转录因子	-	Ren et al., 2013
<i>G1/ELE</i>	<i>LOC_Os07g04670</i>	<i>Os07g0139300</i>	DUF640结构域蛋白	-	Yoshida et al., 2009
<i>OsSNB/SSH1</i>	<i>LOC_Os07g13170</i>	<i>Os07g0235800</i>	AP2转录因子	-	Lee and An, 2012

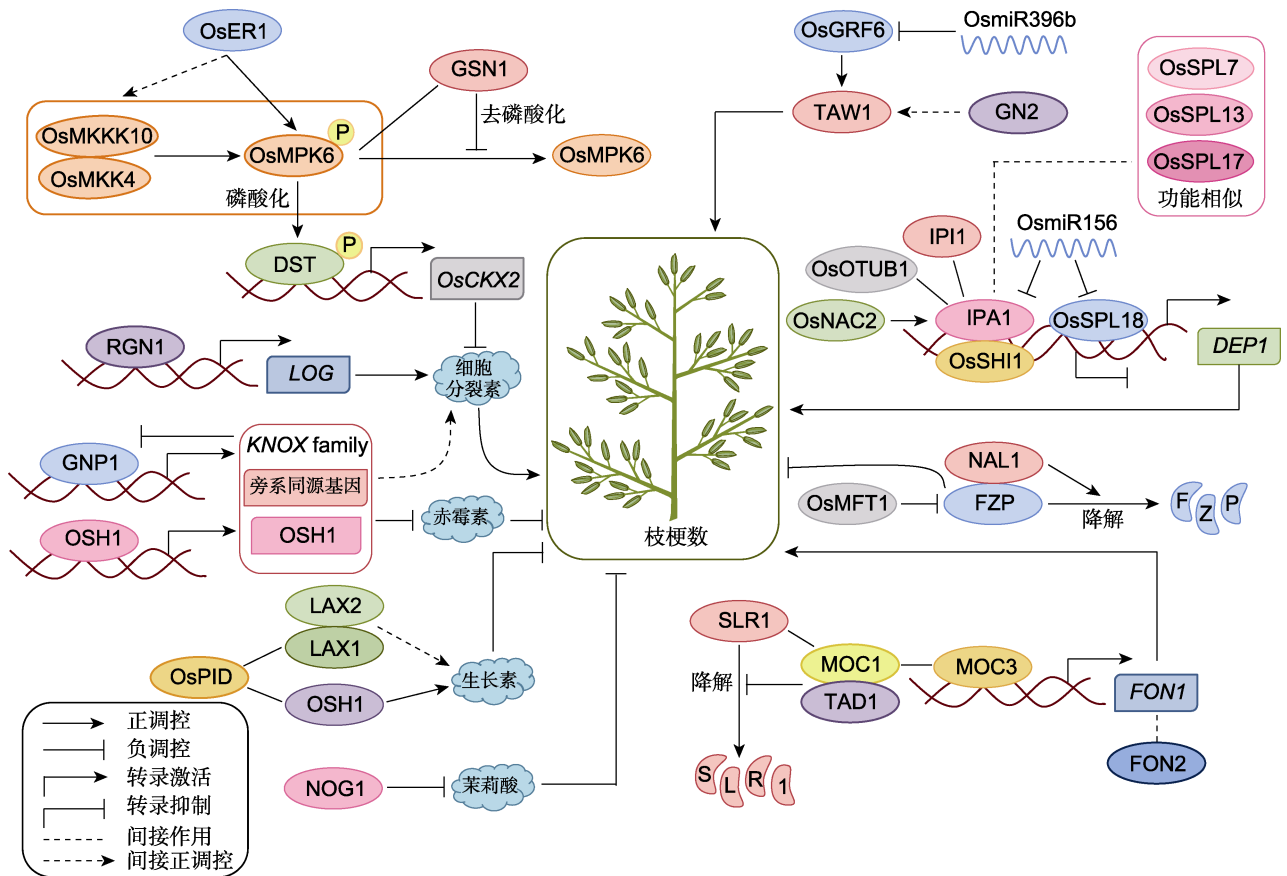


图1 水稻枝梗数的分子调控机制

Figure 1 Molecular regulation mechanisms of the number of branches in rice

只有顶生小穗, 而其强突变体*lax-2*和*lax-3*只有穗轴, 没有枝梗和小穗(Komatsu et al., 2003a)。*LAX2* (*LAX PANICLE 2*)/*GNP4* (*GRAIN NUMBER PER PANICLE 4*)编码一个核蛋白, 具有锌指结构域和WD40相关泛素样(RAWUL)结构域(Zhang et al., 2018)。*lax2*突变体表型与*lax1*相似, 花序形成过程中大部分侧分枝都缺少腋生分生组织, 导致二次枝梗上的侧生小穗缺失。此外, *LAX2*可与*LAX1*互作, 且*lax1/lax2*双突变体表现出更严重的稀穗表型, 即*LAX1*和*LAX2*在调控二次枝梗和侧生小穗形成方面具有相似的作用, 但可能通过不同途径进行调控(Tabuchi et al., 2011)。*OsPID*与*OsMADS16*以及*LAX1*互作, 通过调控生长素的极性运输来影响花器官的发育(Wu et al., 2020)。然而, 与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)及玉米(*Zea mays*)的*pid*突变体不同, *ospid-1*突变体的一次枝梗和二次枝梗数目未发生显著改变。这种表型差异可能是由物种间不同的基因冗余水平造成, 因此进一步敲除拟南芥中与其互作的*NPY*同源基因, 发现*ospid-1/np2*双突变体的花序形成完全被破坏, 表现出针状花序形态, 说明*OsPID*在花序发育中的作用可能被其它冗余基因所掩盖(He et al., 2019)。而*OsPID*的过量表达导致一、二次枝梗数及每穗粒数增加, 且千粒重并不受影响, 表明*OsPID*在水稻高产育种中具有一定的应用前景(Wu et al., 2020)。

NOG1 (*NUMBER OF GRAINS 1*)编码一个烯酰辅酶A水合酶/异构酶, 通过增加枝梗数(尤其是二次枝梗数)显著提高每穗粒数, 且对每株穗数和粒重无负面影响。最重要的是, *NOG1*可显著提高商业化高产品种的产量: 将*NOG1*转入*NOG1*缺陷的品种中花17可提高产量25.8%; 在包含*NOG1*的品种特青中过表达*NOG1*可提高产量19.5%。*NOG1*表达量的提高会降低内源茉莉酸的水平, 外源茉莉酸处理植株后*NOG1*表达量下降, 因此*NOG1*可能通过茉莉酸途径调控水稻穗粒数(Huo et al., 2017)。

MOC1 (*MONOCULM 1*)/*GNP6* (*GRAIN NUMBER PER PANICLE 6*)编码一个GRAS家族转录因子, 调控水稻分蘖和花序枝梗形成。*gnp6*为*moc1*的等位突变体, 表现出穗长、一次枝梗数、二次枝梗数和侧生小穗数目减少的表型, 导致每穗粒数降低(Zhang et al., 2021)。*MOC1*与DELLA蛋白SLR1 (*SLENDER RICE 1*)互作, 使其免受降解; 而*MOC1*

与TAD1 (*TILLERING AND DWARF 1*)的互作会促进其降解(Xu et al., 2012; Liao et al., 2019)。*FON1* (*FLORAL ORGAN NUMBER 1*)编码一个与拟南芥*CLAVATA1*同源的富亮氨酸重复受体激酶, 调控花分生组织大小。*FON1*基因突变使花分生组织增大, 导致所有花器官数目增加(Suzaki et al., 2004)。*FON2/4* (*FLORAL ORGAN NUMBER 2/4*)编码一个与拟南芥*CLAVATA3*高度同源的蛋白, 同样调控水稻茎尖分生组织大小。*fon4*突变体表现出一次枝梗和花器官数目增加。*FON2*的突变导致花分生组织增大, 而营养分生组织和花序分生组织则大部分表现正常(Chu et al., 2006; Suzaki et al., 2006)。*FON4*主要在茎尖分生组织顶端的几层细胞中表达, 而*FON1*在整个茎尖分生组织区域均表达, 暗示*FON4*可能为*FON1*的配体, 行使限制分生组织大小的功能(Chu et al., 2006)。*FON2*发挥功能需要*FON1*的参与, 表明水稻中*FON1-FON2*介导的信号转导途径与拟南芥中*CLV*介导的信号转导途径相对应, 该途径可能在被子植物中非常保守(Suzaki et al., 2006)。*MOC3* (*MONOCULM 3*)编码一个WOX蛋白家族成员, 是一个转录抑制因子。其等位突变体*srt1*分蘖数和单株穗数均显著减少, 但一次枝梗数、二次枝梗数和每穗颖花数均显著增加(Mjomba et al., 2016)。*MOC3*能直接结合*FON1*的启动子, 激活其表达。*MOC1*虽不能直接结合*FON1*的启动子, 但作为*MOC3*的共激活因子, 在*MOC3*存在时激活*FON1*表达; 而受到*MOC1*直接调控的靶基因至今仍未被发现(Shao et al., 2019)。

TAW1 (*TAWAWA1*)编码一个核定位的ALOG家族蛋白, 调控水稻花序分生组织活性以及向小穗分生组织的转变。*TAW1*在茎尖分生组织、花序分生组织和枝梗分生组织中表达量较高, 在初期的小穗分生组织中表达消失。在其显性功能获得性突变体*tawawa1-D*中, 花序分生组织活性增强、小穗特化延迟, 导致枝梗形成时间延长、穗粒数增多。相反, *TAW1*活性下降会使花序分生组织和小穗形成提前终止, 导致枝梗数减少、花序变小, 说明*TAW1*是水稻花序发育的正调控因子(Yoshida et al., 2013)。此外, *TAW1*的自然等位变异对于水稻高产育种具有重要价值(Yuan et al., 2021)。*GN2* (*GRAINS NUMBER 2*)是一个突变形式较为特别的调控穗粒数的基因, 它通过将LOC_Os02g45150的1 094 bp插入LOC_Os-

02g56630的第3个外显子,且插入的序列招募附近的序列产生嵌合的*GN2*。*GN2*过表达株系表现出株高降低、抽穗期延迟及穗粒数减少的表型(Chen et al., 2017)。此外,在*GN2*基因的导入系植株中*TAW1*的表达量上升,而*TAW1*是穗粒数的正调控因子,即*GN2*可能通过与先前报道的基因均不同的新途径调控水稻穗粒数(Chen et al., 2017; Yuan et al., 2021)。预测*OsGRF6* (*OsmiR396b-GROWTH REGULATING FACTOR 6*)是*OsmiR396d*的靶基因,其表达受*OsmiR-396d*调节。*OsGRF6*表达下调株系和*OsmiR396d*过表达株系具有相似的表型,均表现出颖壳开裂、护颖伸长和花器官形态改变。综上所述,抑制*OsmiR396d*或过表达*OsGRF6*可增加枝梗数从而提高穗粒数(Liu et al., 2014)。*miR396d-OsGRF6*调控其下游许多基因的表达,包括*TAW1*、*OsMADS34*、*YUCCA1*和几个*ARF*基因。其中,*TAW1*和*OsMADS34*通过激活下游基因的表达影响花序发育;*YUCCA1*和*ARF*基因参与生长素的生物合成和信号转导途径,在二次枝梗原基中高水平表达,调控水稻花序发育(Gao et al., 2016)。*OsGRF6*及其同源基因*OsGRF10*是*OsGRF*家族在幼嫩花序中表达量最高的2个基因,*grf6/grf10*双突变体表现出小花异常。*OsGRF6*和*OsGRF10*能与*OsJMJ706*和*OsCR4*启动子上的GA响应元件结合,参与水稻花器官发育调控。此外,*OsGIF1*能与*OsGRF6*和*OsGRF10*结合,增强它们对下游基因的转录激活活性(Liu et al., 2014)。

DEP1 (*DENSE AND ERECT PANICLE 1*)编码异三聚体G蛋白 γ 亚基,是调控水稻穗型和穗分枝的主效QTL。*DEP1*位点的显性等位基因是一个功能获得性突变,使分生组织活性增强,导致穗茎节长度缩短、着粒密集、枝梗数和穗粒数增加,从而提高产量(Huang et al., 2009)。*OsSPL18*是一个在幼穗和颖壳发育过程中高水平表达的转录因子,其敲除突变体的穗长、二次枝梗数和每穗粒数降低(Yuan et al., 2019)。*IPA1* (*IDEAL PLANT ARCHITECTURE 1*)编码一个SQUAMOSA启动子结合蛋白*OsSPL14*,它的编码区上具有*OsmiR156*的靶位点。*OsSPL14*在营养生长期调控水稻分蘖,在生殖生长期促进穗分枝。*OsSPL14*在*OsmiR156*靶位点的1个点突变扰乱了*OsmiR156*对它的负调控,导致*OsSPL14*表达量升高,分蘖减少,枝梗数和穗粒数增加(Jiao et al.,

2010; Miura et al., 2010)。*IPA1*和*OsSPL18*均能直接与*DEP1*启动子结合,通过正调控*DEP1*的表达影响穗粒数。此外,*OsSPL18*的第3个外显子上包含*OsmiR156k*的互补序列,受到其直接调控,说明*OsmiR156k-OsSPL18-DEP1*途径调控水稻穗粒数(Yuan et al., 2019)。*OsSHI1* (*SHORT INTERNODES 1*)编码一个植物特有的SHI家族转录因子,具有该家族特有的IGGH结构域及保守的锌指DNA结合结构域。*shi1*突变体穗紧凑直立,一次枝梗数略增加,二次枝梗数和穗粒数大幅增加。*OsSHI1*与*IPA1*互作,且可以直接与*OsDEP1*的启动子结合。此外,它通过影响*IPA1*与*OsDEP1*启动子的结合能力来抑制*IPA1*的转录激活活性,进而使穗变小(Duan et al., 2019)。*OsOTUB1* (*OVARIAN TUMOR DOMAIN-CONTAINING UBIQUITIN ALDEHYDE-BINDING PROTEIN 1*)与人类(*Homo sapiens*) *OTUB1*同源,是一个otubain样蛋白酶,具有去泛素化酶活性。*OsOTUB1*基因表达下调会增强分生组织活性,使穗粒数和粒重增加,提高产量。*OsOTUB1*与*IPA1/OsSPL14*互作,且具有共同的靶基因。它们之间的互作限制了*OsSPL14*的K63位多聚泛素化,反而促进*OsSPL14*的K48泛素化依赖的蛋白酶体降解途径。反之,*OsOTUB1*功能缺失导致*OsSPL14*大量积累,产生大穗表型(Wang et al., 2017b)。*IP11* (*IPA1 INTERACTING PROTEIN 1*)是一个环指E3连接酶,与*IPA1*互作。*ipi1*功能缺失突变体株型显著改变,穗增大,产量提高。*IP11*通过对穗部的*IPA1*添加K48泛素链促进其在穗部降解,从而对穗粒数产生负调控作用(Wang et al., 2017a)。*OsNAC2*是一个NAC转录因子,受*miR164b*调控。过表达*miR164b*或降低*OsNAC2*表达量导致穗长变短,穗粒数减少。在*OsNAC2*超表达株系中,*IPA1*和*DEP1*表达量均上调,因此,*OsNAC2*很可能通过*IPA1-DEP1*途径调控枝梗数,从而影响水稻穗粒数(Jiang et al., 2018)。*GLW7* (*GRAIN LENGTH AND WEIGHT ON CHROMOSOME 7*)编码一个植物特有的转录因子*OsSPL13*,其5'UTR上的一段串联重复序列改变了其表达水平,*OsSPL13*的高表达使热带粳稻表现出大粒表型。此外,*OsSPL13*对于穗发育也有重要作用,其过表达植株的穗长、一次枝梗数、二次枝梗数和每穗粒数均显著增加(Si et al., 2016)。*OsSPL7*和*OsSPL17*也属于*SPL*基因家族,

在穗中的表达量很高, 对穗发育的调控具有与 *OsSPL14* 相似的作用(Wang et al., 2015; Dai et al., 2018)。

FZP (*FRIZZY PANICLE*)编码一个包含EREBP/AP2结构域的转录因子, 调控水稻小穗形态。*fzp*突变体的一次枝梗和二次枝梗发育正常, 但无法分化形成小穗, 却不断形成下一级枝梗(Komatsu et al., 2003b)。*SGDP7*是*FZP*的等位突变, 由*FZP*上游5.3 kb处插入了1个18 bp的片段造成, 该突变抑制*FZP*的表达, 导致二次枝梗数和穗粒数增加(Bai et al., 2017)。过表达*OsMFT1*基因抑制*FZP*的表达, 进而产生更多的二次枝梗(Song et al., 2018)。*NAL1* (*NARROW LEAF 1*)是一个丝氨酸/半胱氨酸蛋白酶, 与*FZP*互作并促进其降解。在栽培稻品种中花17中, *FZP*表达量的下调或*NAL1*表达量的上调均导致二次枝梗数和穗粒数增加, 使产量提高(Huang et al., 2018)。此外, 将从粳稻中分离的*NAL1*的等位基因*LSCHL4*导入籼稻中, 也可以通过增加二次枝梗数显著提高产量, 对水稻高产育种具有重要意义(Zhang et al., 2014)。

2.2 穗型相关基因

在水稻中, 有许多基因不仅影响枝梗数, 还调控穗型(表1; 图2)。穗型也是决定穗粒数的关键因素之一(任德勇等, 2010; 尚江源等, 2021)。*fzp*突变体由于二次枝梗上无法分化形成小穗, 而在原本形成小穗处不断产生下一级枝梗, 表现出卷穗表型(Komatsu et al., 2003b)。*sped1-D*编码一个三角状五肽重复蛋白, 其突变体由于二次枝梗和花梗变短, 表现出簇生小穗形态。*sped1-D*突变体中几个赤霉素受体GID1L2家族基因、穗部枝梗发育相关基因*RFL*和分生组织功能行使相关基因*WOX3*的表达量均下调, 表明*sped1-D*可能通过抑制这些基因的表达使二次枝梗和花梗长度缩短, 从而改变穗型和穗粒数(Jiang et al., 2014)。*APO1* (*ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1*)是拟南芥*UFO*的同源基因, 编码一个F-box蛋白, 在调控分生组织中起重要作用。*apo1*突变体表现出穗型异常, 且一次枝梗数和穗粒数均减少(Ikeda et al., 2007)。*scm2*是*APO1*的一个功能获得性突变体, 携带该基因的近等基因系表现出茎秆机械强度增强及穗粒数增加(Ookawa et al., 2010)。*APO2* (*ABER-*

RANT PANICLE ORGANIZATION 2)/*RFL* (*RICE LFY HOMOLOG*)是拟南芥*LFY*的同源基因, 它具有与*APO1*相似的功能。*apo2*突变体由于小穗分生组织提早形成, 表现出一次枝梗数减少, 导致花序变小(Ikeda-Kawakatsu et al., 2012)。*APO2/RFL*主要调控花序分生组织向小穗分生组织的转变, 进而影响枝梗数, 同时也影响水稻分蘖数及抽穗期。在*apo2*突变体中过表达*APO1*并不能恢复其表型, 说明*APO1*依赖于*APO2*发挥作用。在水稻中, *APO1*与*APO2*直接互作, 共同调控花序和小穗发育, 而拟南芥中*LFY*对于花序发育的作用与*APO2*恰好相反(Ikeda-Kawakatsu et al., 2012)。*SP3* (*SHORT PANICLE 3*)通过正调控*APO2/RFL*的表达负调控花序分生组织败育。*SP3*上调细胞分裂素生物合成相关基因的表达, 而对分解代谢相关基因具有下调作用。因此, *sp3*突变体幼嫩花序中细胞分裂素含量下降, 导致其二次枝梗数和小穗数减少, 产生较短的花序(Huang et al., 2019)。*sp1* (*short panicle 1*)也是一个短穗突变体, 但它与*sp3*不同, 是由于一次枝梗数目减少和长度缩短导致短穗表型。*SP1*基因在幼穗韧皮部中高表达, 编码一个多肽转运蛋白, 定位于质膜(Li et al., 2009b)。*OsREL2* (*RAMOSA1 ENHANCER LOCUS 2*)/*ASP1* (*ABERRANT SPIKELET AND PANICLE 1*)与拟南芥中*TOPELESS*基因及玉米中*REL2*基因同源。相比其它*TPL*同源基因, 在穗发育过程中*OsREL2/ASP1*表达量维持在较低水平, 调控穗发育的多个过程, 尤其对腋生分生组织的维持具有重要作用。*asp1*突变体中多个分生组织的发育受到影响: 花序分生组织的退化延迟, 枝梗分生组织向小穗分生组织的转变加速, 枝梗分生组织和小穗分生组织中的干细胞维持受损害。此外, *osrel2*突变体表现出一次枝梗数增多、二次枝梗数减少, 说明*OsREL2*具有抑制一次枝梗数形成和促进二次枝梗数形成的作用(Kwon et al., 2012; Yoshida et al., 2012)。*FON2/4*与拟南芥*CLV3*基因相似, 对干细胞增殖有负调控作用。在*fon2*突变体中敲除*ASP1*基因会导致其花器官突变表型增强, 干细胞过度增殖导致花序分生组织极度增大并发生开裂, 即*ASP1*与*FON2*协同调控干细胞增殖(Suzuki et al., 2019)。*PAP2* (*PANICLE PHYTOMER 2*)编码一个属于SEP亚家族的MADS-box转录因子*OsMADS34*, 是水稻小穗分生组织特征形成的正调控因子。在*pap2-1*突变

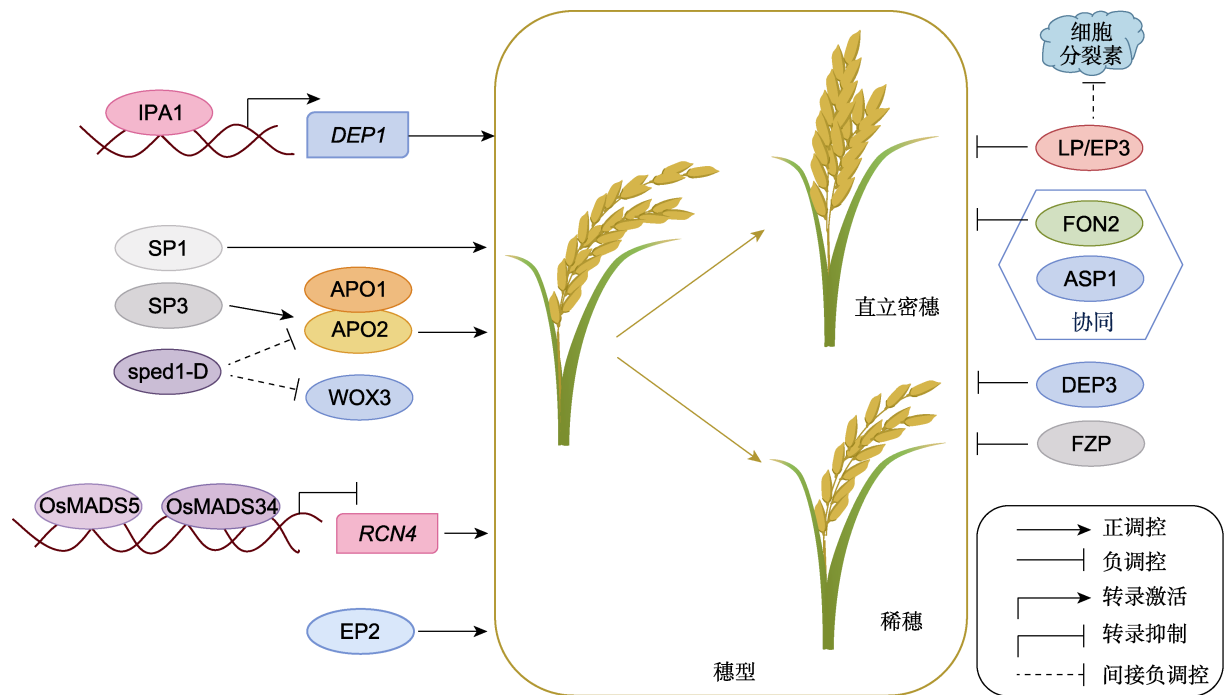


图2 水稻穗型的分子调控机制

Figure 2 Molecular regulation mechanisms of rice panicle type

体中，分生组织的起始模式是无序的，新形成的分生组织转化为小穗分生组织的能力减弱，导致早期形成的小穗转变为枝梗(Kobayashi et al., 2010)。OsMADS5编码的蛋白也属于SEP亚家族，osmads5突变体的穗无明显异常，但osmads5/osmads34双突变体的二次枝梗甚至是三次、四次枝梗数目较osmads34均显著增加。OsMADS5在二次枝梗分生组织和小穗分生组织中高表达，且与OsMADS34的表达部位有明显重叠，它们在限制穗分枝及促进小穗分生组织特性转变方面具有十分相似的作用。此外，RCN4基因功能的缺失能基本恢复osmads34的花突变表型。进一步研究发现，OsMADS5和OsMADS34均能直接与RCN4启动子结合，协同抑制其表达，进而调控穗发育(Zhu et al., 2022)。多个基因突变后均会产生直立密穗表型。DEP1的功能获得性突变体不仅穗粒数增加，还表现出直立密穗的穗型(Huang et al., 2009)。IPA1直接对DEP1进行正调控，进而影响穗长和穗型(Lu et al., 2013)。ep2 (erect panicle 2) 突变体维管束数目增加，茎增厚，进而表现出直立穗表型。EP2基因还调控其它穗部性状，如穗长和籽粒大小，但对穗粒数改变较小(Zhu et al., 2010)。野生

型稻穗在开花后灌浆过程中会逐渐下垂，而dep3 (dense and erect panicle 3) 突变体的穗从开花到籽粒完全成熟始终保持直立状态。DEP3的突变同样影响穗长、粒型及每穗粒数(Qiao et al., 2011)。EP3 (ERECT PANICLE 3)/LP (LARGER PANICLE) 编码一个F-box蛋白，在枝梗原基处表达。EP3的突变导致花序枝梗中小维管束数目和薄壁组织厚度显著增加，从而导致直立穗表型；枝梗数尤其是一次枝梗数显著增加，导致每穗粒数显著增加。lp突变体中OsCKX2的表达量显著下调，说明LP可能参与调节植物组织中细胞分裂素的水平(Piao et al., 2009; Li et al., 2011)。

2.3 小穗确定性相关基因

水稻的花序由枝梗及着生在枝梗上的小穗组成。水稻的小穗为确定性小穗，即1个小穗包含1朵可育小花和1对护颖(Yoshida and Nagato, 2011)。而关于护颖的来源始终存在争议，但近年来越来越多的研究支持“三花小穗”假说：水稻的护颖来源于侧生小穗退化后的外稃(Xu et al., 2021)。小穗的确定性直接影响每穗粒数的形成，已有不少研究报道了影响小穗确定性的基因(表1; 图3)。

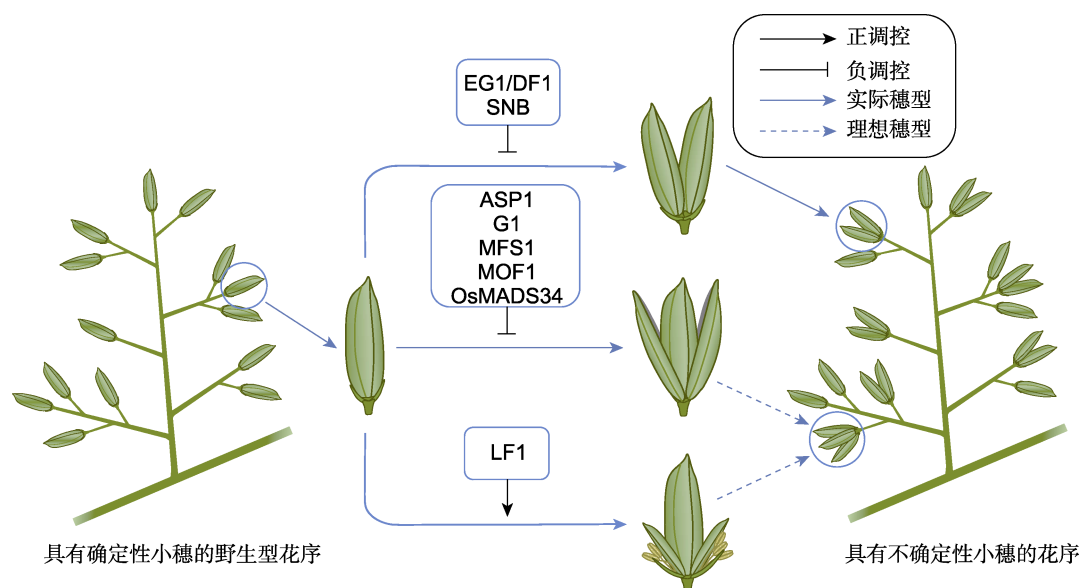


图3 水稻小穗确定性的分子调控机制

Figure 3 Molecular regulation mechanisms of the determination of rice spikelets

ASP1作为小穗枝梗的重要调控因子,还决定着护颖的特征。*asp1*突变体的护颖伸长且其特征发生改变,变得与外稃相似,说明ASP1阻止护颖向外稃转变(Kwon et al., 2012; Yoshida et al., 2012)。G1 (LONG STERILE LEMMA 1)编码的蛋白属于一个植物特有的蛋白家族,包含1个ALOG结构域。*g1*突变体同样表现出长护颖且类似外稃的特征(Yoshida et al., 2009)。脂肪酶基因EG1 (EXTRA GLUME 1)/DF1 (DOUBLE FLORET 1)不仅影响护颖的特征和数目,其突变还会导致产生额外的颖壳状器官及丢失小穗确定性(Li et al., 2009a)。OsMADS34不仅影响穗型,还决定护颖的特征。*osmads34-t*突变体的护颖转变成外稃状并具有外稃的特征(Zhang et al., 2016)。FON4调控小穗分生组织的确定性,其突变后会获得形成多花小穗的能力。*fon4-7*突变体不仅形成正常的顶生小花,还会产生1个额外的侧生小花(Ren et al., 2019)。MOF1 (MORE FLORET 1)/MFS2 (MULTI-FLORET SPIKELET 2)编码MYB转录因子,*mof1*突变体从小穗到小花分生组织的转变延迟,导致产生额外的类似内外稃的器官;其护颖伸长,表现出颖壳的特征,即其小穗具有形成2朵小花的趋势(Ren et al., 2020)。G1的表达水平受MFS1 (MULTI-FLORET SPIKELET 1)调控。MFS1编码一个AP2/ERF蛋白,调控水稻小穗分生组织确定性并决定护颖特征。*mfs1*突变体小穗分生组织向小花分生组织的转变延迟,导

致产生额外的颖壳状器官及小穗轴伸长;其护颖转变成副护颖且内稃的主体部分退化(Ren et al., 2013)。OsIDS1 (INDETERMINATE SPIKELET 1)和SNB (SUPERNUMERARY BRACT)是另外2个AP2/ERF转录因子,它们共同调控水稻小穗发育,在小穗分生组织转变和小穗确定性方面功能冗余。SNB敲除株系会产生多个副护颖并干扰其它花器官形成,在部分小穗中,护颖和浆片转变成类似外稃或内稃的器官。*osids1/snb*双突变体比*snb*单突变体有更多的副护颖和内外稃,但很少产生护颖(Lee et al., 2007; Lee and An, 2012)。关于以上基因的研究均对“三花小穗”假说提供了有力的支持。但由于这些突变体无法产生可育的侧生小花,因此都无法应用于实际育种。而近年来本课题组发现EG1基因的1个单碱基替换突变体在1个小穗上产生了2朵可育小花,并最终产生2个籽粒,从而显著增加每穗粒数(Ren et al., 2018)。这一新发现表明,可能会有与EG1功能相似的基因具有增加小穗上小花数的潜力。LF1 (LATERAL FLORETS 1)编码一个III类同源域亮氨酸拉链(HD-ZIP)蛋白,促进护颖向可育的侧生小花转变。在显性功能获得性突变体*lf1*中,小穗上不仅有顶生小花,还在护颖处产生了1–2个包含正常花器官的可育侧生小花。LF1能直接结合分生组织维持基因OSH1的启动子,而*lf1*突变体中LF1表达水平的上调是由于LF1上OsmiRNA165/166的靶位点处有1个单碱基替换导致其激活OSH1

异位表达,起始护颖腋部侧生小花分生组织形成,并最终产生侧生小花。*LF1*基因不仅对“三花小穗”假说提供了有力的支持,还为提高每穗粒数进而提高水稻产量提供了新途径(Zhang et al., 2017)。

3 育种利用及展望

在提高水稻产量的多种途径中,提高每穗粒数不失为一种最高效的方法。过去数十年中,研究者已经克隆了不少水稻穗粒数相关基因,这些基因调控1个甚至多个穗部性状,但想要全面阐明调控穗粒数的分子机制还存在许多困难。不断深入研究这些基因之间的调控网络对于通过分子设计育种提高水稻穗粒数具有重要意义。

目前,功能基因组学和测序技术飞速发展,虽已有大量水稻穗粒数相关基因被克隆,但对于这些基因作用的分子机制解析仍较为缓慢,且能应用于育种实践中改良穗粒数的基因少之又少。主要由以下几方面原因造成:首先,水稻穗粒数作为数量性状极易受环境影响,不易被鉴定和克隆;其次,调控水稻穗粒数的基因通常与其它重要农艺性状连锁,研究难度高;此外,大部分被克隆的基因已在驯化及育种实践中得到应用,很少再有新的具有重要育种价值的基因被发现(周亭亭等, 2018; 杨凯如等, 2022)。

近年来,分子标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)成为一种高效的基因聚合育种工具被广泛使用。例如,通过MAS将*OsSPL14^{WFP}*导入4个不同的籼稻栽培品种中,能使水稻每穗粒数显著增加10.6%–59.3% (Kim et al., 2018)。在空育131中替换大穗籼稻栽培种GKBR中带有*Gn1a*等位基因的小染色体片段后,其产量提高10%左右(Feng et al., 2017)。然而,仅有少数基因可以通过MAS提高穗粒数进而改良品种,许多基因的突变会同时对其它重要农艺性状带来负面影响。例如,*FZP*使籽粒变小,*Ghd7*使花期推迟,*IPA1*使分蘖数减少,而过表达*IPA1*又使分蘖数和穗分枝数均减少(Wang et al., 2015)。此外,每穗粒数通常与籽粒大小存在负相关。例如,稀穗或穗粒数显著减少的突变体*lax1*、*lax2*和*moc1*通常具有较大的籽粒(Tabuchi et al., 2011; Zhang et al., 2018, 2021)。因此,如何平衡水稻每穗粒数与籽粒大小以及其它重要农艺性状,最终使产量

提高值得深入探究。

随着测序及多组学技术的快速发展,未来对于水稻穗粒数的研究可着重于以下几方面:构建多亲本重组自交系,利用QTL鉴定更多穗粒数相关基因,完善其调控网络;鉴定一些已克隆的水稻穗粒数相关基因的优势单倍型;利用全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)进行水稻穗粒数驯化过程解析,并鉴定相关基因;尝试探究更多不同基因组合的遗传潜力,助力分子设计育种。

参考文献

- 任德勇, 何光华, 凌英华, 桑贤春, 杨正林, 赵芳明 (2010). 基于单片段代换系的水稻穗长QTL加性及其上位性效应. 植物学报 45, 662–669.
- 尚江源, 淳雁, 李学勇 (2021). 水稻穗长基因*PAL3*的克隆及自然变异分析. 植物学报 56, 520–532.
- 杨凯如, 贾绮玮, 金佳怡, 叶涵斐, 王盛, 陈芊羽, 管易安, 潘晨阳, 辛德东, 方媛, 王跃星, 饶玉春 (2022). 水稻黄绿叶调控基因*YGL18*的克隆与功能解析. 植物学报 57, 276–287.
- 周亭亭, 饶玉春, 任德勇 (2018). 水稻卷叶细胞学与分子机制研究进展. 植物学报 53, 848–855.
- 朱克明, 陶慧敏, 闵超, 杨艳华 (2015). 水稻穗发育调控分子遗传研究进展. 分子植物育种 13, 2109–2117.
- Ali A, Xu PZ, Riaz A, Wu XJ (2019). Current advances in molecular mechanisms and physiological basis of panicle degeneration in rice. *Int J Mol Sci* 20, 1613.
- Ashikari M, Sakakibara H, Lin SY, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles ER, Qian Q, Kitano H, Matsuo M (2005). Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* 309, 741–745.
- Bai XF, Huang Y, Hu Y, Liu HY, Zhang B, Smaczniak C, Hu G, Han ZM, Xing YZ (2017). Duplication of an upstream silencer of *FZP* increases grain yield in rice. *Nat Plants* 3, 885–893.
- Chen H, Tang YY, Liu JF, Tan LB, Jiang JH, Wang MM, Zhu ZF, Sun XY, Sun CQ (2017). Emergence of a novel chimeric gene underlying grain number in rice. *Genetics* 205, 993–1002.
- Chu HW, Qian Q, Liang WQ, Yin CS, Tan HX, Yao X, Yuan Z, Yang J, Huang H, Luo D, Ma H, Zhang DB (2006). The *FLORAL ORGAN NUMBER4* gene encoding a putative ortholog of *Arabidopsis* *CLAVATA3* regulates apical meristem size in rice. *Plant Physiol* 142, 1039–1052.

- Dai ZY, Wang J, Yang XF, Lu H, Miao XX, Shi ZY (2018). Modulation of plant architecture by the miR156f-OsSPL7-OsGH3.8 pathway in rice. *J Exp Bot* **69**, 5117–5130.
- Deveshwar P, Prusty A, Sharma S, Tyagi AK (2020). Phytohormone-mediated molecular mechanisms involving multiple genes and QTL govern grain number in rice. *Front Genet* **11**, 586462.
- Duan EC, Wang YH, Li XH, Lin QB, Zhang T, Wang YP, Zhou CL, Zhang H, Jiang L, Wang JL, Lei CL, Zhang X, Guo XP, Wang HY, Wan JM (2019). OsSHI1 regulates plant architecture through modulating the transcriptional activity of IPA1 in rice. *Plant Cell* **31**, 1026–1042.
- Dun EA, De Saint Germain A, Rameau C, Beveridge CA (2012). Antagonistic action of strigolactone and cytokinin in bud outgrowth control. *Plant Physiol* **158**, 487–498.
- Feng XM, Wang C, Nan JZ, Zhang XH, Wang RS, Jiang GQ, Yuan QB, Lin SY (2017). Updating the elite rice variety Kongyu 131 by improving the *Gn1a* locus. *Rice* **10**, 35.
- Gao F, Wang K, Liu Y, Chen YP, Chen P, Shi ZY, Luo J, Jiang DQ, Fan FF, Zhu YG, Li SQ (2016). Blocking miR396 increases rice yield by shaping inflorescence architecture. *Nat Plants* **2**, 15196.
- Guo T, Chen K, Dong NQ, Shi CL, Ye WW, Gao JP, Shan JX, Lin HX (2018). *GRAIN SIZE AND NUMBER1* negatively regulates the OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6 cascade to coordinate the trade-off between grain number per panicle and grain size in rice. *Plant Cell* **30**, 871–888.
- Guo T, Lu ZQ, Shan JX, Ye WW, Dong NQ, Lin HX (2020). *ERECTA1* acts upstream of the OsMKKK10-OsMKK4-OsMPK6 cascade to control spikelet number by regulating cytokinin metabolism in rice. *Plant Cell* **32**, 2763–2779.
- He YB, Yan L, Ge CN, Yao XF, Han X, Wang RC, Xiong LZ, Jiang LW, Liu CM, Zhao YD (2019). *PINOID* is required for formation of the stigma and style in rice. *Plant Physiol* **180**, 926–936.
- Hickey LT, Hafeez AN, Robinson H, Jackson SA, Leal-Bertioli SCM, Tester M, Gao CX, Godwin ID, Hayes BJ, Wulff BBH (2019). Breeding crops to feed 10 billion. *Nat Biotechnol* **37**, 744–754.
- Huang XZ, Qian Q, Liu ZB, Sun HY, He SY, Luo D, Xia GM, Chu CC, Li JY, Fu XD (2009). Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nat Genet* **41**, 494–497.
- Huang Y, Bai XF, Luo MF, Xing YZ (2019). *Short Panicle 3* controls panicle architecture by upregulating *APO2/IRFL* and increasing cytokinin content in rice. *J Integr Plant Biol* **61**, 987–999.
- Huang YY, Zhao SS, Fu YC, Sun HD, Ma X, Tan LB, Liu FX, Sun XY, Sun HY, Gu P, Xie DX, Sun CQ, Zhu ZF (2018). Variation in the regulatory region of *FZP* causes increases in secondary inflorescence branching and grain yield in rice domestication. *Plant J* **96**, 716–733.
- Huo X, Wu S, Zhu ZF, Liu FX, Fu YC, Cai HW, Sun XY, Gu P, Xie DX, Tan LB, Sun CQ (2017). *NOG1* increases grain production in rice. *Nat Commun* **8**, 1497.
- Ikeda K, Ito M, Nagasawa N, Kyo-zuka J, Nagato Y (2007). Rice *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1*, encoding an F-box protein, regulates meristem fate. *Plant J* **51**, 1030–1040.
- Ikeda-Kawakatsu K, Maekawa M, Izawa T, Itoh JI, Nagato Y (2012). *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 2/IRFL*, the rice ortholog of *Arabidopsis* *LEAFY*, suppresses the transition from inflorescence meristem to floral meristem through interaction with *APO1*. *Plant J* **69**, 168–180.
- Jasinski S, Piazza P, Craft J, Hay A, Woolley L, Rieu I, Phillips A, Hedden P, Tsiantis M (2005). KNOX action in *Arabidopsis* is mediated by coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities. *Curr Biol* **15**, 1560–1565.
- Jiang DG, Chen WT, Dong JF, Li J, Yang F, Wu ZC, Zhou H, Wang WS, Zhuang CX (2018). Overexpression of miR164b-resistant *OsNAC2* improves plant architecture and grain yield in rice. *J Exp Bot* **69**, 1533–1543.
- Jiang GH, Xiang YH, Zhao JY, Yin DD, Zhao XF, Zhu LH, Zhai WX (2014). Regulation of inflorescence branch development in rice through a novel pathway involving the pentatricopeptide repeat protein *sped1-D*. *Genetics* **197**, 1395–1407.
- Jiao YQ, Wang YH, Xue DW, Wang J, Yan MX, Liu GF, Dong GJ, Zeng DL, Lu ZF, Zhu XD, Qian Q, Li JY (2010). Regulation of *OsSPL14* by *OsmiR156* defines ideal plant architecture in rice. *Nat Genet* **42**, 541–544.
- Kim SR, Ramos JM, Hizon RJM, Ashikari M, Virk PS, Torres EA, Nissila E, Jena KK (2018). Introgression of a functional epigenetic *OsSPL14*^{WFP} allele into elite *indica* rice genomes greatly improved panicle traits and grain yield. *Sci Rep* **8**, 3833.
- Kobayashi K, Maekawa M, Miyao A, Hirochika H, Kyo-zuka J (2010). *PANICLE PHYTOMER2 (PAP2)*, encoding a SEPALLATA subfamily MADS-box protein, positively controls spikelet meristem identity in rice. *Plant Cell Physiol* **51**, 47–57.
- Komatsu K, Maekawa M, Ujiie S, Satake Y, Furutani I, Okamoto H, Shimamoto K, Kyo-zuka J (2003a). *LAX* and *SPA*: major regulators of shoot branching in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 11765–11770.
- Komatsu M, Chujo A, Nagato Y, Shimamoto K, Kyo-zuka

- J (2003b). *FRIZZY PANICLE* is required to prevent the formation of axillary meristems and to establish floral meristem identity in rice spikelets. *Development* **130**, 3841–3850.
- Kurakawa T, Ueda N, Maekawa M, Kobayashi K, Kojima M, Nagato Y, Sakakibara H, Kozuka J (2007). Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme. *Nature* **445**, 652–655.
- Kwon Y, Yu SI, Park JH, Li Y, Han JH, Alavilli H, Cho JI, Kim TH, Jeon JS, Lee BH (2012). *OsREL2*, a rice *TOPELESS* homolog functions in axillary meristem development in rice inflorescence. *Plant Biotechnol Rep* **6**, 213–224.
- Kyozuka J (2007). Control of shoot and root meristem function by cytokinin. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 442–446.
- Lee DY, An G (2012). Two AP2 family genes, *SUPERNUMERARY BRACT* (*SNB*) and *OsINDETERMINATE SPIKELET 1* (*OsIDS1*), synergistically control inflorescence architecture and floral meristem establishment in rice. *Plant J* **69**, 445–461.
- Lee DY, Lee J, Moon S, Park SY, An G (2007). The rice heterochronic gene *SUPERNUMERARY BRACT* regulates the transition from spikelet meristem to floral meristem. *Plant J* **49**, 64–78.
- Li GL, Xu BX, Zhang YP, Xu YW, Khan NU, Xie JY, Sun XM, Guo HF, Wu ZY, Wang XQ, Zhang HL, Li JJ, Xu JL, Wang WS, Zhang ZY, Li ZC (2022). *RGN1* controls grain number and shapes panicle architecture in rice. *Plant Biotechnol J* **20**, 158–167.
- Li HG, Xue DW, Gao ZY, Yan MX, Xu WY, Xing Z, Huang DN, Qian Q, Xue YB (2009a). A putative lipase gene *EXTRA GLUME1* regulates both empty-glume fate and spikelet development in rice. *Plant J* **57**, 593–605.
- Li M, Tang D, Wang KJ, Wu XR, Lu LL, Yu HX, Gu MH, Yan CJ, Cheng ZK (2011). Mutations in the F-box gene *LARGER PANICLE* improve the panicle architecture and enhance the grain yield in rice. *Plant Biotechnol J* **9**, 1002–1013.
- Li SB, Qian Q, Fu ZM, Zeng DL, Meng XB, Kyozuka J, Maekawa M, Zhu XD, Zhang J, Li JY, Wang YH (2009b). *Short panicle1* encodes a putative PTR family transporter and determines rice panicle size. *Plant J* **58**, 592–605.
- Li SY, Zhao BR, Yuan DY, Duan MJ, Qian Q, Tang L, Wang B, Liu XQ, Zhang J, Wang J, Sun JQ, Liu Z, Feng YQ, Yuan LP, Li CY (2013). Rice zinc finger protein *DST* enhances grain production through controlling *Gn1a/OsCKX2* expression. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 3167–3172.
- Liao ZG, Yu H, Duan JB, Yuan K, Yu CJ, Meng XB, Kou LQ, Chen MJ, Jing YH, Liu GF, Smith SM, Li JY (2019). *SLR1* inhibits *MOC1* degradation to coordinate tiller number and plant height in rice. *Nat Commun* **10**, 2738.
- Liu HH, Guo SY, Xu YY, Li CH, Zhang ZY, Zhang DJ, Xu SJ, Zhang C, Chong K (2014). *OsmiR396d*-regulated *OsGRFs* function in floral organogenesis in rice through binding to their targets *OsJM706* and *OsCR4*. *Plant Physiol* **165**, 160–174.
- Lu ZF, Yu H, Xiong GS, Wang J, Jiao YQ, Liu GF, Jing YH, Meng XB, Hu XM, Qian Q, Fu XD, Wang YH, Li JY (2013). Genome-wide binding analysis of the transcription activator *ideal plant architecture1* reveals a complex network regulating rice plant architecture. *Plant Cell* **25**, 3743–3759.
- Miura K, Ikeda M, Matsubara A, Song XJ, Ito M, Asano K, Matsuoka M, Kitano H, Ashikari M (2010). *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. *Nat Genet* **42**, 545–549.
- Mjomba FM, Zheng Y, Liu HQ, Tang WQ, Hong ZL, Wang F, Wu WR (2016). *Homeobox* is pivotal for *OsWUS* controlling tiller development and female fertility in rice. *G3* **6**, 2013–2021.
- Ookawa T, Hobo T, Yano M, Murata K, Ando T, Miura H, Asano K, Ochiai Y, Ikeda M, Nishitani R, Ebitani T, Ozaki H, Angeles ER, Hirasawa T, Matsuoka M (2010). New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield. *Nat Commun* **1**, 132.
- Piao RH, Jiang WZ, Ham TH, Choi MS, Qiao YL, Chu SH, Park JH, Woo MO, Jin ZX, An G, Lee J, Koh HJ (2009). Map-based cloning of the *ERECT PANICLE 3* gene in rice. *Theor Appl Genet* **119**, 1497–1506.
- Qiao YL, Piao RH, Shi JX, Lee SI, Jiang WZ, Kim BK, Lee J, Han LZ, Ma WB, Koh HJ (2011). Fine mapping and candidate gene analysis of *dense and erect panicle 3*, *DEP3*, which confers high grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* **122**, 1439–1449.
- Ren DY, Li YF, Zhao FM, Sang XC, Shi JQ, Wang N, Guo S, Ling YH, Zhang CW, Yang ZL, He GH (2013). *MULTI-FLORET SPIKELET1*, which encodes an AP2/ERF protein, determines spikelet meristem fate and sterile lemma identity in rice. *Plant Physiol* **162**, 872–884.
- Ren DY, Rao YC, Yu HP, Xu QK, Cui YJ, Xia SS, Yu XQ, Liu H, Hu HT, Xue DW, Zeng DL, Hu J, Zhang GH, Gao ZY, Zhu L, Zhang Q, Shen L, Guo LB, Qian Q (2020). *MORE FLORET1* encodes a MYB transcription factor that regulates spikelet development in rice. *Plant Physiol* **184**, 251–265.

- Ren DY, Xu QK, Qiu ZN, Cui YJ, Zhou TT, Zeng DL, Guo LB, Qian Q (2019). *FON4* prevents the multi-floret spikelet in rice. *Plant Biotechnol J* **17**, 1007–1009.
- Ren DY, Yu HP, Rao YC, Xu QK, Zhou TT, Hu J, Zhang Y, Zhang GH, Zhu L, Gao ZY, Chen G, Guo LB, Zeng DL, Qian Q (2018). 'Two-floret spikelet' as a novel resource has the potential to increase rice yield. *Plant Biotechnol J* **16**, 351–353.
- Shao GN, Lu ZF, Xiong JS, Wang B, Jing YH, Meng XB, Liu GF, Ma HY, Liang Y, Chen F, Wang YH, Li JY, Yu H (2019). Tiller bud formation regulators MOC1 and MOC3 cooperatively promote tiller bud outgrowth by activating *FON1* expression in rice. *Mol Plant* **12**, 1090–1102.
- Si LZ, Chen JY, Huang XH, Gong H, Luo JH, Hou QQ, Zhou TY, Lu TT, Zhu JJ, Shangguan YY, Chen EW, Gong CX, Zhao Q, Jing YF, Zhao Y, Li Y, Cui LL, Fan DL, Lu YQ, Weng QJ, Wang YC, Zhan QL, Liu KY, Wei XH, An K, An G, Han B (2016). *OsSPL13* controls grain size in cultivated rice. *Nat Genet* **48**, 447–456.
- Song S, Wang GF, Hu Y, Liu HY, Bai XF, Qin R, Xing YZ (2018). *OsMFT1* increases spikelets per panicle and delays heading date in rice by suppressing *Ehd1*, *FZP* and *SEPALLATA*-like genes. *J Exp Bot* **69**, 4283–4293.
- Suzuki C, Tanaka W, Hirano HY (2019). Transcriptional corepressor ASP1 and CLV-like signaling regulate meristem maintenance in rice. *Plant Physiol* **180**, 1520–1534.
- Suzaki T, Sato M, Ashikari M, Miyoshi M, Nagato Y, Hirano HY (2004). The gene *FLORAL ORGAN NUMBER1* regulates floral meristem size in rice and encodes a leucine-rich repeat receptor kinase orthologous to *Arabidopsis* CLAVATA1. *Development* **131**, 5649–5657.
- Suzaki T, Toriba T, Fujimoto M, Tsutsumi N, Kitano H, Hirano HY (2006). Conservation and diversification of meristem maintenance mechanism in *Oryza sativa*: function of the *FLORAL ORGAN NUMBER2* gene. *Plant Cell Physiol* **47**, 1591–1602.
- Tabuchi H, Zhang Y, Hattori S, Omae M, Shimizu-Sato S, Oikawa T, Qian Q, Nishimura M, Kitano H, Xie H, Fang XH, Yoshida H, Kyojuka J, Chen F, Sato Y (2011). *LAX PANICLE2* of rice encodes a novel nuclear protein and regulates the formation of axillary meristems. *Plant Cell* **23**, 3276–3287.
- Tang L, Xu ZJ, Chen WF (2017). Advances and prospects of super rice breeding in China. *J Integr Agric* **16**, 984–991.
- Tsuda K, Ito Y, Sato Y, Kurata N (2011). Positive auto-regulation of a *KNOX* gene is essential for shoot apical meristem maintenance in rice. *Plant Cell* **23**, 4368–4381.
- Wang B, Smith SM, Li JY (2018). Genetic regulation of shoot architecture. *Annu Rev Plant Biol* **69**, 437–468.
- Wang J, Yu H, Xiong GS, Lu ZF, Jiao YQ, Meng XB, Liu GF, Chen XW, Wang YH, Li JY (2017a). Tissue-specific ubiquitination by IPA1 INTERACTING PROTEIN1 modulates IPA1 protein levels to regulate plant architecture in rice. *Plant Cell* **29**, 697–707.
- Wang L, Sun SY, Jin JY, Fu DB, Yang XF, Weng XY, Xu CG, Li XH, Xiao JH, Zhang QF (2015). Coordinated regulation of vegetative and reproductive branching in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, 15504–15509.
- Wang SS, Wu K, Qian Q, Liu Q, Li Q, Pan YJ, Ye YF, Liu XY, Wang J, Zhang JQ, Li S, Wu YJ, Fu XD (2017b). Non-canonical regulation of SPL transcription factors by a human OTUB1-like deubiquitinase defines a new plant type rice associated with higher grain yield. *Cell Res* **27**, 1142–1156.
- Wu HM, Xie DJ, Tang ZS, Shi DQ, Yang WC (2020). PINOID regulates floral organ development by modulating auxin transport and interacts with MADS16 in rice. *Plant Biotechnol J* **18**, 1778–1795.
- Wu Y, Wang Y, Mi XF, Shan JX, Li XM, Xu JL, Lin HX (2016). The QTL *GNP1* encodes GA20ox1, which increases grain number and yield by increasing cytokinin activity in rice panicle meristems. *PLoS Genet* **12**, e1006386.
- Xing YZ, Zhang QF (2010). Genetic and molecular bases of rice yield. *Annu Rev Plant Biol* **61**, 421–442.
- Xu C, Wang YH, Yu YC, Duan JB, Liao ZG, Xiong GS, Meng XB, Liu GF, Qian Q, Li JY (2012). Degradation of MONOCULM 1 by APC/C^{TAD1} regulates rice tillering. *Nat Commun* **3**, 750.
- Xu QK, Yu XQ, Cui YJ, Xia SS, Zeng DL, Qian Q, Ren DY (2021). *LRG1* maintains sterile lemma identity by regulating *OsMADS6* expression in rice. *Sci China Life Sci* **64**, 1190–1192.
- Yoshida A, Ohmori Y, Kitano H, Taguchi-Shiobara F, Hirano HY (2012). *ABERRANT SPIKELET AND PANICLE1*, encoding a TOPLESS-related transcriptional co-repressor, is involved in the regulation of meristem fate in rice. *Plant J* **70**, 327–339.
- Yoshida A, Sasao M, Yasuno N, Takagi K, Daimon Y, Chen RH, Yamazaki R, Tokunaga H, Kitaguchi Y, Sato Y, Nagamura Y, Ushijima T, Kumamaru T, Iida S, Maekawa M, Kyojuka J (2013). TAWAWA1, a regulator of rice inflorescence architecture, functions through the suppression of meristem phase transition. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 767–772.
- Yoshida A, Suzaki T, Tanaka W, Hirano HY (2009). The homeotic gene *long sterile lemma* (*G1*) specifies sterile

- lemma identity in the rice spikelet. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**, 20103–20108.
- Yoshida H, Nagato Y (2011). Flower development in rice. *J Exp Bot* **62**, 4719–4730.
- Yuan H, Qin P, Hu L, Zhan SJ, Wang SF, Gao P, Li J, Jin MY, Xu ZY, Gao Q, Du AP, Tu B, Chen WL, Ma BT, Wang YP, Li SG (2019). *OsSPL18* controls grain weight and grain number in rice. *J Genet Genomics* **46**, 41–51.
- Yuan H, Xu ZY, Tan XQ, Gao P, Jin MY, Song WC, Wang SG, Kang YH, Liu PX, Tu B, Wang YP, Qin P, Li SG, Ma BT, Chen WL (2021). A natural allele of *TAW1* contributes to high grain number and grain yield in rice. *Crop J* **9**, 1060–1069.
- Zhang GH, Li SY, Wang L, Ye WJ, Zeng DL, Rao YC, Peng YL, Hu J, Yang YL, Xu J, Ren DY, Gao ZY, Zhu L, Dong GJ, Hu XM, Yan MX, Guo LB, Li CY, Qian Q (2014). *LSCHL4* from *japonica* cultivar, which is allelic to *NAL1*, increases yield of *indica* super rice 93-11. *Mol Plant* **7**, 1350–1364.
- Zhang T, Li YF, Ma L, Sang XC, Ling YH, Wang YT, Yu P, Zhuang H, Huang JY, Wang N, Zhao FM, Zhang CW, Yang ZL, Fang LK, He GH (2017). *LATERAL FLORET 1* induced the three-florets spikelet in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**, 9984–9989.
- Zhang Y, Yu HP, Liu J, Wang W, Sun J, Gao Q, Zhang YH, Ma DR, Wang JY, Xu ZJ, Chen WF (2016). Loss of function of *OsMADS34* leads to large sterile lemma and low grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Breeding* **36**, 147.
- Zhang ZY, Li JJ, Tang ZS, Sun XM, Zhang HL, Yu JP, Yao GX, Li GL, Guo HF, Li JL, Wu HM, Huang HG, Xu YW, Yin ZG, Qi YH, Huang RF, Yang WC, Li ZC (2018). Gnp4/LAX2, a RAWUL protein, interferes with the OsIAA3-OsARF25 interaction to regulate grain length via the auxin signaling pathway in rice. *J Exp Bot* **69**, 4723–4737.
- Zhang ZY, Sun XM, Ma XQ, Xu BX, Zhao Y, Ma ZQ, Li GL, Khan NU, Pan YH, Liang YT, Zhang HL, Li JJ, Li ZC (2021). *GNP6*, a novel allele of *MOC1*, regulates panicle and tiller development in rice. *Crop J* **9**, 57–67.
- Zhu KM, Tang D, Yan CJ, Chi ZC, Yu HX, Chen JM, Liang JS, Gu MH, Cheng ZK (2010). *ERECT PANICLE2* encodes a novel protein that regulates panicle erectness in *indica* rice. *Genetics* **184**, 343–350.
- Zhu WW, Yang L, Wu D, Meng QC, Deng X, Huang GQ, Zhang J, Chen XF, Ferrándiz C, Liang WQ, Dreni L, Zhang DB (2022). Rice *SEPALLATA* genes *OsMADS5* and *OsMADS34* cooperate to limit inflorescence branching by repressing the *TERMINAL FLOWER1*-like gene *RCN4*. *New Phytol* **233**, 1682–1700.

Genetic Mechanisms and Breeding Utilization of Grain Number Per Panicle in Rice

Yuping Yan^{1,2}, Xiaoqi Yu^{1,2*}, Deyong Ren², Qian Qian²

¹State Key Laboratory of Rice Biology and Breeding/Institute of Crop Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

²State Key Laboratory of Rice Biology and Breeding/China National Rice Research Institute, Hangzhou 311400, China

Abstract As one of the key factors affecting rice yield, the grain number per panicle has always attracted the attention of breeders. The formation of grain number per panicle is a complex biological process, which is regulated by many genes. According to their impact on phenotype, we roughly divide these genes into three categories: related to the number of branches, related to panicle type and related to spikelet determination. In this paper, we summarized the genetic regulation mechanisms of the grain number per panicle-related genes, and put forth the strategies for their use in high yield breeding of rice.

Key words rice, yield, grain number per panicle, genetic mechanism, breeding

Yan YP, Yu XQ, Ren DY, Qian Q (2023). Genetic mechanisms and breeding utilization of grain number per panicle in rice. *Chin Bull Bot* **58**, 359–372.

* Author for correspondence. E-mail: yuxiaoqi128@163.com