

基因编辑快速改良玉米开花期研究

邢瑞霞^{1,2}, 朱金洁², 祁显涛², 谢传晓², 刘昌林², 江海洋^{1*}

(1. 安徽农业大学生命科学学院, 安徽合肥 230036; 2. 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要 为获得早熟玉米种质, 选择水稻光周期敏感基因 *Ghd7* 的同源基因 *ZmCCT10* 作为研究目标, 利用基因编辑技术针对该基因的 CDS 区域进行敲除, 获得相关材料后, 选择其中表型较为明显的 2 种, 进行生育期及植株表型等相关性状的数据调查与分析, 发现敲除该基因后, 在长日照的情况下, 与野生型相比, 编辑后的材料明显提前开花, 并出现矮化等明显有利性状。 *ZmCCT10* 在玉米的开花调控网络中起抑制作用, 敲除该基因可明显解除抑制。

关键词 CRISPR/Cas9; *ZmCCT10*; 开花期

中图分类号 S513 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2023)03-0096-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.03.021



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Rapid Improvement of Maize Flowering Period by Gene Editing Technology

XING Rui-xia^{1,2}, ZHU Jin-jie², QI Xian-tao² et al (1. College of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036; 2. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract In order to obtain early-maturing maize germplasm, the homolog gene *ZmCCT10* of rice photoperiod sensitive gene *Ghd7* was selected as the research target, and the gene editing technology was used to knock out the CDS region of this gene. After relevant materials were obtained, two of them with relatively obvious phenotypes were selected for data investigation and analysis on related traits such as growth period and plant phenotype. It was finally found that after the gene was knocked out, compared with the wild type, the edited material significantly bloomed ahead of time and exhibited significantly advantageous traits such as dwarfing. *ZmCCT10* played an inhibitory role in the flowering regulatory network of maize, and knock-out of the gene could significantly relieve the inhibition.

Key words CRISPR/Cas9; *ZmCCT10*; Flowering time

玉米是在全球广泛种植的主要粮食作物之一, 也是重要的饲料作物和重要的工业原料。高产、稳产、优质、适宜的生育期、适应机械化一直都是国内外玉米育种的主要目标。生育期作为玉米重要的农艺性状, 其改良工作也一直是玉米育种工作的研究热点。玉米起源于热带的墨西哥西南部, 由大刍草驯化而来, 对光周期敏感, 并需要在短日照条件才能开花^[1], 利用基因编辑技术减少玉米植株对光周期的敏感性, 改良玉米的开花期在农业生产上有着重要意义。适当缩短生育期不仅能够扩大其种植范围, 提高复种指数, 而且可以有效降低遭遇抽雄扬花期的高温危害、灌浆后期早霜危害、成熟期雨季穗发芽以及晚期病虫害等的概率。

ZmCCT10 (Zm00001eb418700) 位于玉米的 10 号染色体, 属于玉米中的 CCT 家族, 与水稻光周期反应调节因子 *Ghd7* 同源, 同源性在 36% 左右, 其编码的蛋白质含有保守的 CCT 结构域, 作为转录因子微量调节开花开关基因 *ZCN8* 的表达, 进而影响玉米生育期^[2-5]。笔者以基因编辑 *ZmCCT10* 基因玉米 T6 代纯合突变体系以及亲本 KN5585 自交系为试验材料, 在短日照(海南)、长日照(北京)地区进行种植, 通过对植株开花期及其他农艺性状的观察, 研究 *ZmCCT10* 突变对于生育期的影响, 以期为进一步探索通过改良开花期进而达到稳产、增产的目的提供了新方法。

1 材料与与方法

1.1 供试材料 *ZmCCT10* 基因来自玉米本身的内源基因,

通过基因测序获得转化受体 KN5585 的 CDS 序列后, 进行 sgRNA 的设计, 构建 CRISPR/Cas9 敲除载体, 通过农杆菌转化后获得转基因材料, 经过多代自交获得不含有转基因元件的基因编辑材料, 繁殖至 T₆ 代 *ZmCCT10*-1IT 及 *ZmCCT10*-1IA 株系; 亲本对照自交系 KN5585, 由未米生物科技(江苏)有限公司提供。

1.2 Cas9 基因编辑敲除载体构建 以 KN5585 为背景材料, 其基因序列与 B73 略有差别。通过测序获得 *ZmCCT10* 的 CDS 序列后, 在 http://crispr.hzau.edu.cn/cgi-bin/CRISPR2/CRISPR?tdsourcetag=s_pctim_aio msg 网站中设计 sgRNA, 为保证编辑效率, 一般选择 5'G—NGG3' 的 sgRNA, 再利用 <https://www.gramene.org/> 网站进行 BLAST 后选取特异性较高的 sgRNA, 构建可以通过胚荧光筛选的单 sgRNA-Cas9 敲除的基因编辑载体。

基因编辑基础载体 CPB-Cas9(已连入 Ubiquitin 启动子驱动的 Cas9 表达盒)由中国农业科学院谢传晓课题组提供, 加入荧光筛选系统快速辨别籽粒阴阳性。荧光筛选系统采用胚特异性启动子 *ZmESP* 启动 RFP 荧光蛋白。

1.3 转化鉴定与基因型鉴定 将构建好的基因编辑敲除载体送至未米生物科技(江苏)有限公司进行农杆菌转化, 获得转基因材料。收获的种子经过荧光筛选后, 挑选阳性籽粒进行种植, 进行 *ZmCCT10* 靶基因突变鉴定获得转基因材料, 并将突变的材料进行自交, 从收获的籽粒中选择阴性籽粒进行种植, 直至获得纯合无转基因元件的突变体材料。

待 T₆ 代 *ZmCCT10*-1IT 及 *ZmCCT10*-1IA 株系成长到 3 叶期, 采用 CTAB 法提取其叶片 DNA 后进行 Cas9 PCR 检测、Bar PCR 检测及 Bar 试纸条检测, 确定 *ZmCCT10*-1IT 及

作者简介 邢瑞霞(1995—), 女, 山东济宁人, 硕士研究生, 研究方向: 基因编辑技术改良玉米生育期及抗逆能力。* 通信作者, 教授, 博士, 从事玉米逆境生物学研究。

收稿日期 2022-03-22

ZmCCT10-11A 为无转基因元件株系,再进行靶基因检测,PCR 产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,利用 SnapGene 及 DNAMAN 进行序列比对确定其基因型。所需检测引物序列见表 1,检测程序见表 2。

表 1 检测所用引物序列

Table 1 Primer sequence used for detection

产物 Product	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5' to 3')	扩增长度	退火温度
			Ampl- ification length bp	Annealing tempe- rature °C
Bar	Bar-F	ATGCCAGTCCCGTGCTTGA	412	58
	Bar-R	CACCATCGTCAACCACTACA		
Cas9	Cas9-F	CAACCGGAAAGTGACCGTGA	568	58
	Cas9-R	CACCACCTTCACTGTCTGCA		
<i>ZmCCT10</i>	<i>ZmCCT10</i> F	CTCTATCGATCAACAGCGGC	517	60
	<i>ZmCCT10</i> R	CGGGAGCAATACTTACGATG		

表 2 检测 PCR 扩增反应程序

Table 2 Procedure for PCR reaction

温度 Temperature/°C	时间 Time	循环数 Cycle number
95	3 min	1
95	15 s	32~35
58/60	25 s	
72	15 s/kb	
72	5 min	1
16	forever	

1.4 纯合材料表型调查方法 将稳定且纯合的无转基因 *ZmCCT10*-11T、*ZmCCT10*-11A 株系以及亲本对照 KN5585 种植在短日照的海南乐东黎族自治县、长日照的北京南口中国农业科学院试验基地 2 个地区,经纬度分别为 109.17°E,

18.7°N 和 116.2°E,40.2°N,并调查花期和植株农艺性状,具体调查指标及方法见表 3,探究 *ZmCCT10* 基因对于玉米生育期的影响。

表 3 表型调查指标及方法

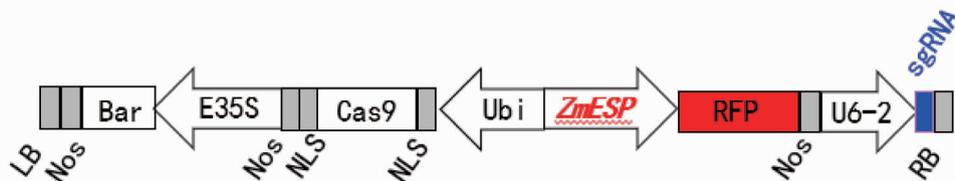
Table 3 Phenotypic survey indicators and methods

调查指标 Survey index	指标 Specific index	描述 Description
开花期 Bloom- ing period	抽雄期	每行 50% 以上的植株雄穗顶端露出顶叶的天数(d)
	吐丝期	每行 50% 以上的植株雌穗抽出花丝的天数(d)
	散粉期	每行 50% 以上的雄穗主轴散粉 50% 的天数(d)
农艺性状 Agronomic traits	株高	地面水平高度至雄穗主轴顶点高度(cm)
	穗位高	地面水平高度至第 1 有效雌穗(上一下)的穗柄着生部位高度(cm)
	去雄株高	地面水平高度至雄穗最底端分支节点处高度(cm)

1.5 数据统计 数据取样本量的平均值,经过 Excel 整理及初步分析后,用 SigmaPlot 14.0 进行统计分析,数据差异显著采用经典 *T* 检验计算, ** 表示 $P < 0.01$ 极显著差异, * 表示 $P < 0.05$ 显著差异, $P > 0.05$ 表示无显著差异。

2 结果与分析

2.1 Cas9 基因编辑敲除载体图谱 U6 启动单 sgRNA 的荧光敲除载体图谱如图 1 所示,命名为 CPB-Cas9-*ZmCCT10*。用 E35S 启动子 Bar 的表达,可在真核生物中检测是否含有该载体;UBI 强启动子启动作为编辑器的 Cas9,保证 Cas9 蛋白的高表达;胚特异性启动子 *ZmESP* 启动 RFP 表达,阳性籽粒可在波长为 520 nm 的绿色激发光下配以 LUV-50A 红色眼镜进行观察,阳性籽粒会发出明亮的红光,阴性籽粒则不发光;U6-2 启动 sgRNA。

图 1 CPB-Cas9-*ZmCCT10* 载体图谱Fig. 1 Vector of CPB-Cas9-*ZmCCT10*

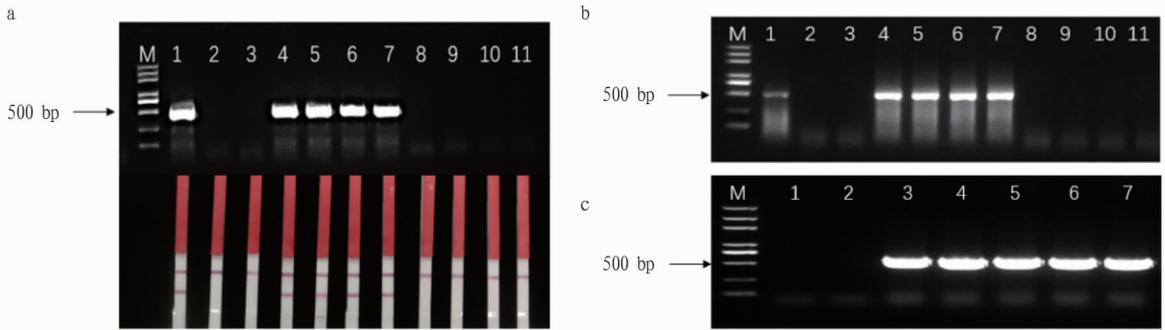
2.2 无转基因元件鉴定以及基因型鉴定 将构建好的载体送至未米生物科技(江苏)有限公司进行转化, T_0 获得 42 个植株,经过转基因元件 Bar 和 Cas9 检测后,获得 23 株阳性植株,占比 54.76%,获得 5 种转化事件,挑选其中 2 种移码突变材料继续进行生育期研究。根据其突变类型将这 2 种株系分别命名为 *ZmCCT10*-11T 株系及 *ZmCCT10*-11A 株系。在后代中,分离出无转基因元件且含有目标突变的纯合突变单株,自交繁殖。选用 T_0 代遗传稳定的无转基因元件材料。

将所需检测植株进行转基因元件检测以及靶基因检测,图 2a 为 Bar 检测及试纸条检测结果,以载体转化的农杆菌作为阳性对照,野生型作为阴性对照,水作为空白对照,对目标植株进行 Bar 检测,阳性植株检测出符合大小的目的条带,

阴性植株及阴性对照、空白对照均未检测出条带,鉴于 Bar 检测容易出现污染,同时使用 Bar 试纸条进行蛋白水平的检测,2 种检测结果一致;图 2b 为 Cas9 检测结果,对照同 Bar 检测,阳性植株检测出符合大小的目的条带,阴性植株及阴性对照、空白对照均未检测出条带;图 2c 为靶基因检测结果,以载体质粒作为阴性对照、水作为空白对照以及野生型作为阳性对照,2 种突变体株系均检测符合大小的目的条带。

将测序后的靶基因序列利用 DNAMAN 及 SnapGene 进行比对,确定突变株系的突变类型,如图 3a 所示,*ZmCCT10*-11T 株系在 PAM 上游第 4 位发生了一个加 1T 的插入;如图 3b 所示,*ZmCCT10*-11A 株系在 PAM 上游第 4 位发生了一个加 1A 的插入,均引起移码突变。根据检测得到的序列,利用

DNAMAN 软件对靶基因蛋白进行预测,如图 4a 和 4b 所示,2 种移码突变均能够引起蛋白的提前终止。



注:a. Bar 检测及试纸条检测图;b. Cas9 检测图。1. 阳性对照,载体农杆菌;2. 阴性对照,野生型亲本 KN5585;3. 空白对照, ddH₂O;4,5. 阳性 *ZmCCT10*-1IT 株系植株;6,7. 阴性 *ZmCCT10*-1IT 株系植株;8,9. 阳性 *ZmCCT10*-1IA 株系植株;10,11. 阴性 *ZmCCT10*-1IA 株系植株。c. *ZmCCT10* 靶基因检测凝胶图;1. 阴性对照,载体质粒;2. 空白对照, ddH₂O;3. 阳性对照,野生型亲本 KN5585;4,5. *ZmCCT10*-1IT 株系;6,7. *ZmCCT10*-1IA 株系。

Note:a. Bar test and strip test chart, b. Cas9 test chart. 1. Positive control, vector agrobacterium;2. Negative control, wild type parent KN5585;3. Blank control, ddH₂O; 4,5. Positive *ZmCCT10*-1IT strain plants; 6,7. Negative *ZmCCT10*-1IT plant; 8,9. Positive *ZmCCT10*-1IA strain plants; 10,11. Negative *ZmCCT10*-1IA strain plants. c. *ZmCCT10* target gene detection gel map; 1. Negative control, vector plasmid; 2. Blank control, ddH₂O; 3. Positive control, wild type parent KN5585; 4,5. *ZmCCT10*-1IT strain; 6,7. *ZmCCT10*-1IA strain.

图 2 转基因成分检测

Fig. 2 Detection of transgene elements

a	WT	GGGCTTCTTCCTCGTCTTCCCTGTCGTCGGTTCATCCGTCGTCATGAGTCCACCAGCAGCCCGCCATGCAGCAGCCATCGGGTGCCTGCACGAGTT	200
	<i>ZmCCT10</i> -1IT	GGGCTTCTTCCTCGTCTTCCCTGTCGTCGGTTCATCCGTCGTCATGAGTCCACCAGCAGCCCGCCATGCAGCAGCCATCGGGTGCCTGCACGAGTT	200
	Consensus	gggccttcttctcctcgtcttccctgtcgtcgggtcatcacctgctcgtatgagtcaccagcagccccgccatgcagcagccatcgggggtgcctgcacgagtt	
	WT	CCAGTTCTTTGGCCATCAGGACGACACCACCACCAAGAARACCATCGCCTGGCTCTTGGACACCACCCGCCACCTGCGCCGAGCTTGGCGGCAGCA	299
	<i>ZmCCT10</i> -1IT	CCAGTTCTTTGGCCATCAGGACGACACCACCACCAAGAARACCATCGCCTGGCTCTTGGACACCACCCGCCACCTGCGCCGAGCTTGGCGGCAGCA	300
	Consensus	ccagtt ctttggccatcaggacgaccaccaccaccaagaaraccatcgcttggctcttggaccaccaccgccaccctgcccagcttggcggcgagca	
	WT	CGGCCGTCGCCAGCTGGTATGAGAACGACGACACCCTGCGTTTACCCTGTTGGGACACCACAGTACCACCACCCCGGAAAGGAAACGGGAAACGGG	399
	<i>ZmCCT10</i> -1IT	CGGCCGTCGCCAGCTGGTATGAGAACGACGACACCCTGCGTTTACCCTGTTGGGACACCACAGTACCACCACCCCGGAAAGGAAACGGGAAACGGG	400
	Consensus	cgggccgtccccagctggtgatgagaacgacgaccaccctgcttaccctggttgggacaccacagttaccaccaccgggaaaggaacgggaacggg	
b	WT	GGGCTTCTTCCTCGTCTTCCCTGTCGTCGGTTCATCCGTCGTCATGAGTCCACCAGCAGCCCGCCATGCAGCAGCCATCGGGTGCCTGCACGAGTT	200
	<i>ZmCCT10</i> -1IA	GGGCTTCTTCCTCGTCTTCCCTGTCGTCGGTTCATCCGTCGTCATGAGTCCACCAGCAGCCCGCCATGCAGCAGCCATCGGGTGCCTGCACGAGTT	200
	Consensus	gggccttcttctcctcgtcttccctgtcgtcgggtcatcacctgctcgtatgagtcaccagcagccccgccatgcagcagccatcgggggtgcctgcacgagtt	
	WT	CCAGTTCTTTGGCCATCAGGACGACACCACCACCAAGAARACCATCGCCTGGCTCTTGGACACCACCCGCCACCTGCGCCGAGCTTGGCGGCAGCA	299
	<i>ZmCCT10</i> -1IA	CCAGTTCTTTGGCCATCAGGACGACACCACCACCAAGAARACCATCGCCTGGCTCTTGGACACCACCCGCCACCTGCGCCGAGCTTGGCGGCAGCA	300
	Consensus	ccagtt ctttggccatcaggacgaccaccaccaccaagaaraccatcgcttggctcttggaccaccaccgccaccctgcccagcttggcggcgagca	
	WT	CGGCCGTCGCCAGCTGGTATGAGAACGACGACACCCTGCGTTTACCCTGTTGGGACACCACAGTACCACCACCCCGGAAAGGAAACGGGAAACGGG	399
	<i>ZmCCT10</i> -1IA	CGGCCGTCGCCAGCTGGTATGAGAACGACGACACCCTGCGTTTACCCTGTTGGGACACCACAGTACCACCACCCCGGAAAGGAAACGGGAAACGGG	400
	Consensus	cgggccgtccccagctggtgatgagaacgacgaccaccctgcttaccctggttgggacaccacagttaccaccaccgggaaaggaacgggaacggg	

注:a. *ZmCCT10*-1IT 株系与野生型比对结果图;b. *ZmCCT10*-1IA 株系与野生型对比结果图;WT 为野生型,亲本 KN5585;红色框内为 sgRNA。
Note:a. The comparison result between *ZmCCT10*-1IT strain and wild type;b. The comparison result between *ZmCCT10*-1IA strain and wild type;WT is wild type, parent KN5585;the red box shows sgRNA.

图 3 靶基因序列比对

Fig. 3 Comparison of sequence alignment of target gene

2.3 纯合突变体株系 *ZmCCT10*-1IT 和 *ZmCCT10*-1IA 对开花期的影响 将阴性纯合突变株种植到海南和北京,种植模式为 4 m 行长,17 株,株间距 25 cm,行间距 60 cm,按每行成活情况观察各株系抽雄期、散粉期、吐丝期等与开花相关的表型,并进行数据统计与分析。如图 5a、5b、5c 所示,在海南短日照地区,*ZmCCT10*-1IT 株系与野生型相比,抽雄期提前 3 d,散粉期提前 4 d,吐丝期提前 2 d,统计结果表明差异极显著;*ZmCCT10*-1IA 株系与野生型相比,抽雄期提前 1 d,散粉期与野生型一致,吐丝期推迟 1 d,抽雄期和吐丝期差异显著。

如图 5d、5e、5f 所示,在北京长日照地区,*ZmCCT10*-1IT

株系与野生型相比,抽雄期提前 2 d,差异极显著,散粉期提前 2 d,差异显著,吐丝期提前 3 d,差异极显著;*ZmCCT10*-1IA 株系与野生型相比,抽雄期提前 1 d,差异显著,散粉期提前 3 d,差异显著,吐丝期提前 5 d,差异呈极显著。由此可知,无论是在短日照还是在长日照地区,*ZmCCT10* 基因对于玉米的开花期均有影响,敲除该基因能有效提前花期,且在长日照地区更为明显,说明 *ZmCCT10* 在长日照条件下充当玉米的开花抑制因子。

农艺性状是该研究考察的另一大重点。如图 6a、6b、6c 所示,在海南短日照地区,*ZmCCT10*-1IT 株系与野生型相比,株高降低 18.6 cm,去雄株高降低 15.2 cm,穗位高降低

24.3 cm, 差异均达极显著水平; *ZmCCT10-1IA* 株系与野生型相比, 株高降低 9.4 cm, 去雄株高降低 10.9 cm, 穗位高降低 0.8 cm, 且均呈极显著相关。如图 6d、6e、6f 所示, 在北京长日照地区, *ZmCCT10-1IT* 株系与野生型相比, 株高降低

21.7 cm, 去雄株高降低 21.5 cm, 穗位高降低 22.8 cm, 且差异均呈极显著; *ZmCCT10-1IA* 株系与野生型相比, 株高降低 16.3 cm, 差异极显著, 去雄株高降低 17.0 cm, 差异显著, 穗位高降低 8.7 cm, 差异极显著。植株整体表型如图 7 所示。

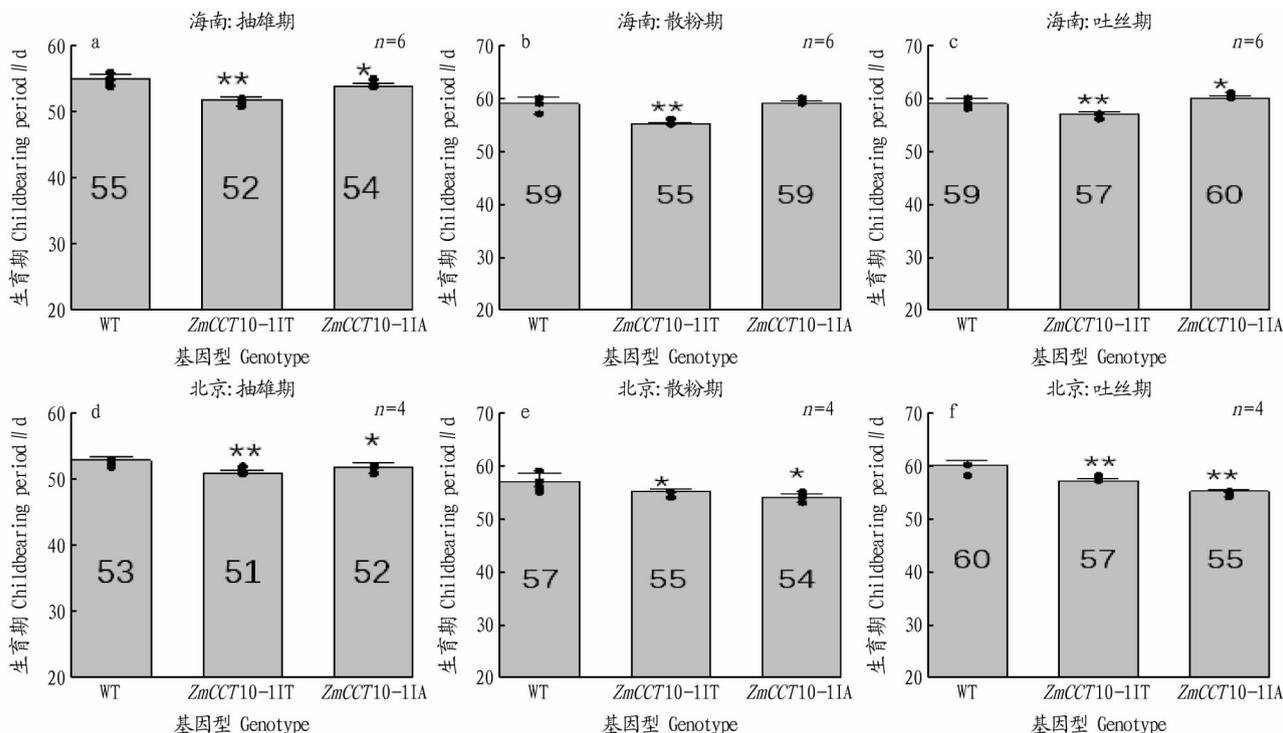


注: a. *ZmCCT10-1IT* 株系与野生型比对结果; b. *ZmCCT10-1IA* 株系与野生型对比结果; WT 为野生型, 亲本 KN5585; 红色框内为突变后 sgRNA 结合位置。

Note: a. *ZmCCT10-1IT* strain and wild type comparison result diagram; b. Comparison results of *ZmCCT10-1IA* strain and wild type; WT is wild type, parent KN5585; the red box shows the binding site of sgRNA after mutation.

图 4 预测蛋白比对

Fig. 4 Comparison of prediction protein



注: WT 为野生型; * 表示与 WT 相比差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示在 WT 相比差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note: WT is wild type; * indicates significant difference compared with WT ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant difference compared with WT ($P < 0.01$).

图 5 海南和北京开花期统计分析

Fig. 5 Statistical analysis of flowering time at Hainan and Beijing

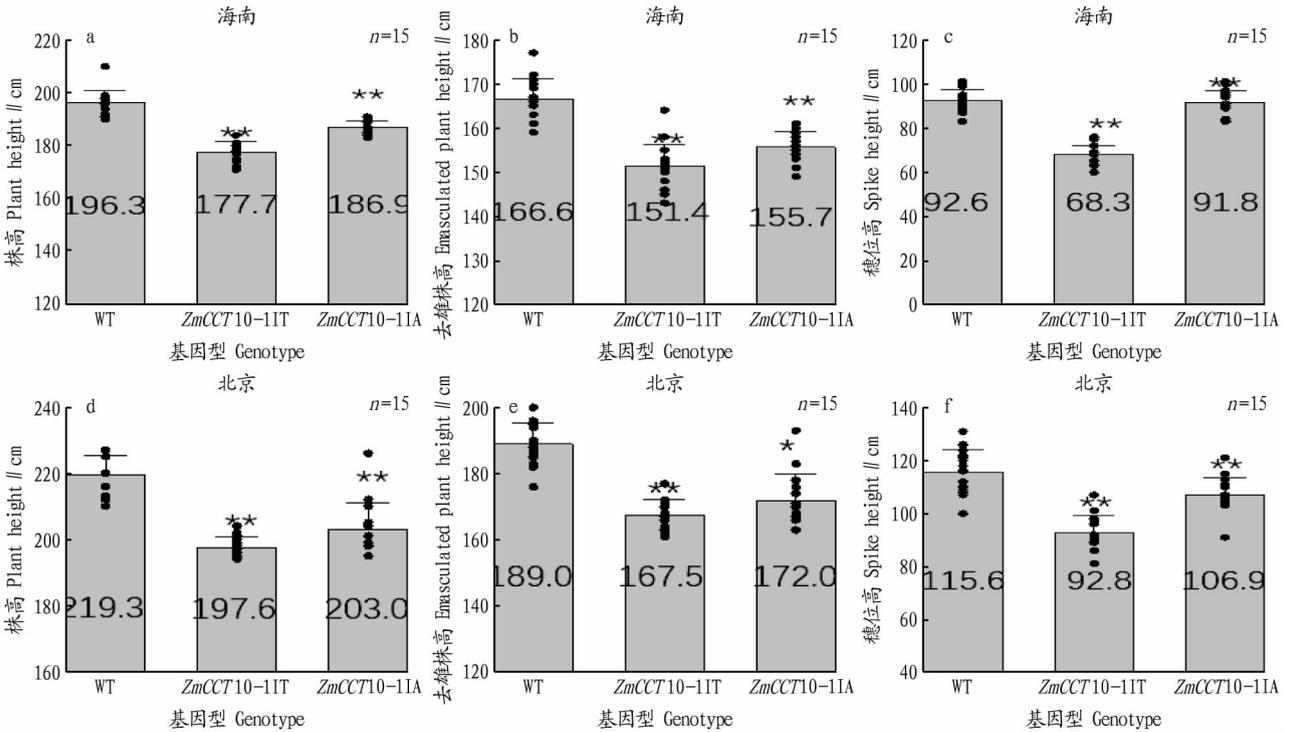
3 结论与讨论

开花期的探索一直是人类认识植物、了解植物繁衍生息最直观的方式之一, 是植物从营养生长向生殖生长发生不可

逆转变的重要标志, 同时是决定植物对环境因素适应性的最重要性状之一^[6-7]。植物开花期的改良一直是扩大生产, 提高土地利用率的, 有效手段。 *ZmCCT10* 是水稻光周期反应调

节基因 *Ghd7* 的同源基因,受昼夜调控,包含一个 CCT 蛋白结构域,有研究表明该结构域在玉米的开花调控中起着重要作用

用^[8]。另外,也有研究表明 *ZmCCT10* 在长日照的条件下作为开花抑制因子调节玉米开花^[4,9],在其上游的调控基因



注:WT 为野生型; * 表示与 WT 相比差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示与 WT 相比差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note: WT is wild type; * indicates significant difference compared with WT ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant difference compared with WT ($P < 0.01$).

图 6 海南和北京植株水平农艺性状统计分析

Fig. 6 Statistical analysis of agronomic traits at Hainan and Beijing



图 7 植株比较

Fig. 7 Plant comparison

遥感数据相结合的高频率遥感数据进行实时-准实时监测与评估系统的研究。

参考文献

- [1] 崔亮. 内蒙古呼伦贝尔草原火灾风险预警研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2011.
- [2] JOHNSTON L M, WANG X L, ERNI S, et al. Wildland fire risk research in Canada[J]. *Environmental reviews*, 2020, 28(2): 164–186.
- [3] 张文文, 闫想想, 王秋华, 等. 澳大利亚草地火灾研究进展[J]. *世界林业研究*, 2021, 34(1): 113–118.
- [4] 曹伦. 大火再度肆虐加州[J]. *生态经济*, 2009, 25(2): 15–17.
- [5] 张福. 科学指挥有效增雨, 成功堵截蒙古国境外火[J]. *科学技术创新*, 2019(18): 50–51.
- [6] 姜莉, 玉山, 乌兰图雅, 等. 草原火研究综述[J]. *草地学报*, 2018, 26(4): 791–803.
- [7] 陈洁, 郑伟, 高浩, 等. 多源卫星遥感农作物秸秆焚烧过火区面积估算方法[J]. *农业工程学报*, 2015, 31(3): 207–214.
- [8] 郑伟, 邵佳丽, 王萌, 等. 多源卫星遥感草原火灾动态监测分析[J]. *自然灾害学报*, 2013, 22(3): 54–61.
- [9] BIAN H F, ZHANG H Y, ZHOU D W, et al. Integrating models to evaluate and map grassland fire risk zones in Hulunbuir of Inner Mongolia, China[J]. *Fire safety journal*, 2013, 61: 207–216.
- [10] 杨晓颖, 玉山, 都瓦拉, 等. 蒙古高原草原火灾风险评估研究[J]. *干旱区地理*, 2021, 44(4): 1032–1044.
- [11] 张继权, 刘兴朋, 佟志军. 草原火灾风险评估与分区: 以吉林省西部草原为例[J]. *地理研究*, 2007, 26(4): 755–762.
- [12] 陈亚宁, 吾买尔江·吾布力, 艾克热木·阿布拉, 等. 塔里木河下游近 20 a 输水的生态效益监测分析[J]. *干旱区地理*, 2021, 44(3): 605–611.
- [13] 李均力, 肖昊, 沈占锋, 等. 2013—2018 年塔里木河下游植被动态变化及其对生态输水的响应[J]. *干旱区研究*, 2020, 37(4): 985–992.

(上接第 100 页)

ZmCOL3 则可以通过激活 *ZmCCT10* 的表达来抑制开花时间^[8]。在早花玉米中, 在 *ZmCCT10* 启动子中检测到一个类似 CACTA 的转座因子, 该转座因子可明显缩短植株的开花时间^[9–10]。另外, 与 *ZmCCT10* 同源的 CCT 家族基因 *ZmCCT9* 同样受昼夜调控, 负调控成花素基因 *ZCN8* 的表达, 从而导致植株在长日照下推迟开花^[11–12]。2018 年有研究表明, 利用基因编辑技术敲除 *ZmCCT9* 后, 可导致玉米在长日照下提早开花, 同时能够增强植株对于高纬度地区的适应性^[11]。有研究表明, *ZmMADS69* 抑制开花抑制因子 *ZmRap2.7* 的表达, 从而促进 *ZCN8* 的表达并导致早期开花^[13]。*ZMM4* 基因可有效促进玉米成花转变, 并且过表达 *ZMM4* 可以促使转基因植株比野生型更早开花^[14]。

该研究结果表明, 在长日照条件下 *ZmCCT10* 作为开花抑制因子调节玉米开花, 利用基因编辑技术敲除 *ZmCCT10* 后, 可有效促使玉米在长日照下提早开花并出现矮化等优良性状, 为提高玉米抗倒伏、早熟等方面奠定了基础。

参考文献

- [1] MATSUOKA Y, VIGOUROUX Y, GOODMAN M M, et al. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping[J]. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2002, 99(9): 6080–6084.
- [2] COLES N D, MCMULLEN M D, BALINT-KURTI P J, et al. Genetic control of photoperiod sensitivity in maize revealed by joint multiple population analysis[J]. *Genetics*, 2010, 184(3): 799–812.
- [3] COLES N D, ZILA C T, HOLLAND J B. Allelic effect variation at key photoperiod response quantitative trait loci in maize[J]. *Crop science*, 2011, 51(3): 1036–1049.
- [4] HUNG H Y, SHANNON L M, TIAN F, et al. *ZmCCT* and the genetic basis

- [14] 刘桂林, 艾里西尔·库尔班, 玉米提·哈力克, 等. 基于变化轨迹探测的植被景观格局动态分析: 以塔里木河下游生态输水区域为例[J]. *中国沙漠*, 2012, 32(5): 1472–1478.
- [15] 高庆, 艾里西尔·库尔班, 肖昊. 塔里木河下游区域植被时空变化[J]. *自然资源学报*, 2019, 34(3): 624–632.
- [16] 热依拉·木民, 塔依尔江·艾山, 玉米提·哈力克. 塔里木河下游胡杨空心特征[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(6): 1933–1940.
- [17] 李天驰, 杨福芹, 卢燕. 基于 Sentinel-2 影像的四川木里森林火灾监测[J]. *南方林业科学*, 2020, 48(6): 49–53.
- [18] 徐涵秋. 利用改进的归一化差异水体指数(MNDWI)提取水体信息的研究[J]. *遥感学报*, 2005, 9(5): 589–595.
- [19] CAO X, CHEN J, MATSUSHITA B, et al. Developing a MODIS-based index to discriminate dead fuel from photosynthetic vegetation and soil background in the Asian steppe area[J]. *International journal of remote sensing*, 2010, 31(6): 1589–1604.
- [20] GUO Z K, KURBAN A, ABLEKIM A, et al. Estimation of photosynthetic and non-photosynthetic vegetation coverage in the lower reaches of Tarim River based on sentinel-2A data[J]. *Remote sensing*, 2021, 13(8): 1–17.
- [21] 王光镇, 王静璞, 邹学勇, 等. 基于像元三分模型的锡林郭勒草原光合植被和非光合植被覆盖度估算[J]. *生态学报*, 2017, 37(17): 5722–5731.
- [22] 马建行, 宋开山, 温志丹, 等. 基于 Landsat 8 影像的不同燃烧指数在农田秸秆焚烧区域识别中的应用[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(11): 3451–3456.
- [23] 张素梅, 杜惠琳, 刘良, 等. 基于 Landsat 时间序列遥感数据的华北平原农田火烧迹地检测与制图[J]. *地理科学*, 2020, 40(1): 149–157.
- [24] CHUVIECO E, MARTÍN M P, PALACIOS A. Assessment of different spectral indices in the red-near-infrared spectral domain for burned land discrimination[J]. *International journal of remote sensing*, 2002, 23(23): 5103–5110.

of day-length adaptation underlying the postdomestication spread of maize[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2012, 109(28): E1913–E1921.

- [5] DUCROCQ S, GIAUFFRET C, MADUR D, et al. Fine mapping and haplotype structure analysis of a major flowering time quantitative trait locus on maize chromosome 10[J]. *Genetics*, 2009, 183(4): 1555–1563.
- [6] ABOU-ELWAF A S F, BÜTTNER B, CHIA T, et al. Conservation and divergence of autonomous pathway genes in the flowering regulatory network of *Beta vulgaris* [J]. *Journal of experimental botany*, 2011, 62(10): 3359–3374.
- [7] BÜTTNER B, ABOU-ELWAF A S F, ZHANG W Y, et al. A survey of EMS-induced biennial *Beta vulgaris* mutants reveals a novel bolting locus which is unlinked to the bolting gene *B*[J]. *Theoretical & applied genetics*, 2010, 121(6): 1117–1131.
- [8] JIN M L, LIU X G, JIA W, et al. *ZmCOL3*, a CCT gene represses flowering in maize by interfering with the circadian clock and activating expression of *ZmCCT* [J]. *Journal of integrative plant biology*, 2018, 60(6): 465–480.
- [9] YANG Q, LI Z, LI W Q, et al. CACTA-like transposable element in *ZmCCT* attenuated photoperiod sensitivity and accelerated the postdomestication spread of maize[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2013, 110(42): 16969–16974.
- [10] SU H H, LIANG J C, ABOU-ELWAF A S F, et al. *ZmCCT* regulates photoperiod-dependent flowering and response to stresses in maize[J]. *BMC plant biology*, 2021, 21(1): 1–15.
- [11] HUANG C, SUN H Y, XU D Y, et al. *ZmCCT9* enhances maize adaptation to higher latitudes[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2018, 115(2): E334–E341.
- [12] MENG X, MUSZYNSKI M G, DANILEVSKAYA O N. The *FT*-like *ZCN8* gene functions as a floral activator and is involved in photoperiod sensitivity in maize[J]. *Plant cell*, 2011, 23(3): 942–960.
- [13] LIANG Y M, LIU Q, WANG X F, et al. *ZmMADS69* functions as a flowering activator through the *ZmRap2.7-ZCN8* regulatory module and contributes to maize flowering time adaptation [J]. *New phytologist*, 2019, 221(4): 2335–2347.
- [14] DANILEVSKAYA O N, MENG X, SELINGER D A, et al. Involvement of the MADS-box gene *ZMM4* in floral induction and inflorescence development in maize[J]. *Plant physiology*, 2008, 147(4): 2054–2069.