

引用格式:

吴宇贵, 周逸龙, 欧丽君, 杨焯, 封焯, 马玉芬, 张健, 陈旺成, 陈秋红. 靶向编辑水稻 Wx^b 基因启动子以降低稻米直链淀粉含量[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2026, 52(2): 13–19.

WU Y G, ZHOU Y L, OU L J, YANG Y, FENG Y, MA Y F, ZHANG J, CHEN W C, CHEN Q H. Targeted editing of the rice Wx^b gene promoter to reduce amylose content in grains[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2026, 52(2): 13–19.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



靶向编辑水稻 Wx^b 基因启动子以降低稻米直链淀粉含量

吴宇贵^{1,2}, 周逸龙^{1,2}, 欧丽君³, 杨焯³, 封焯^{1,2}, 马玉芬^{1,2}, 张健^{1,2}, 陈旺成^{1,2}, 陈秋红^{1,2*}

(1. 湖南农业大学农学院, 湖南 长沙, 410128; 2. 水稻油菜抗病育种湖南省重点实验室, 湖南 长沙, 410128;
3. 永州市农业科学研究所, 湖南 永州 425100)

摘要: 利用CRISPR/Cas9基因编辑技术靶向编辑粳稻 Wx^b 基因核心启动子区, 通过微调 Wx^b 基因表达水平, 降低稻米直链淀粉含量。从 Wx^b 基因启动子TATA box元件附近选取靶点(S7位点), 构建基因编辑载体, 经农杆菌介导遗传转化粳稻材料DNPB, 筛选获得纯合突变体株系。采用RT-qPCR检测突变体材料中 Wx^b 基因的转录表达水平, 并结合田间试验考察其基本农艺性状, 利用品质分析方法测定稻米直链淀粉含量。结果表明: 与野生型相比, 纯合突变体中 Wx^b 基因的表达水平显著降低。突变体的主要农艺性状相较于野生型无显著差异。5个突变体的稻米直链淀粉含量为13.6%~16.6%, 与野生型相比均显著降低。综上, 靶向编辑粳稻材料 Wx^b 基因启动子区可在不影响水稻基本农艺性状的基础上, 有效降低 Wx^b 基因表达水平, 从而降低稻米直链淀粉含量。

关键词: 基因编辑; Wx^b 基因; 直链淀粉含量; 稻米品质

中图分类号: S511.01; S311

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2026)02-0013-07

Targeted editing of the rice Wx^b gene promoter to reduce amylose content in grains

WU Yugui^{1,2}, ZHOU Yilong^{1,2}, OU Lijun³, YANG Ye³, FENG Ye^{1,2}, MA Yufeng^{1,2},
ZHANG Jian^{1,2}, CHEN Wangcheng^{1,2}, CHEN Qihong^{1,2*}

(1. College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Rice and Rapeseed Breeding for Disease Resistance, Changsha, Hunan 410128, China;
3. Yongzhou Institute of Agricultural Sciences, Yongzhou, Hunan 425100, China)

Abstract: To reduce the amylose content in rice, the core promoter region of the Wx^b gene in japonica rice was targeted and edited by CRISPR/Cas9 gene editing technology to finely modulate the expression level of the Wx^b gene. A target site (designated S7) near the TATA box element in the Wx^b gene promoter was selected, and a CRISPR/Cas9 gene editing vector was constructed. Homozygous mutant lines were screened and obtained through *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of the japonica rice cultivar DNPB. RT-qPCR was performed to detect the transcriptional expression levels of the Wx^b gene, and agronomic traits as well as rice quality were evaluated. Field experiments were conducted to investigate the main agronomic traits, and quality analysis was employed to determine the amylose content of the rice grain. The result showed that compared with the wild type, the expression level of the Wx^b gene in homozygous mutants was significantly reduced. No significant differences were observed in the main agronomic traits. The amylose content of rice grain in five mutant lines was 13.6%-16.6%, which was significantly lower than that of the wild type. In summary, targeted editing of the Wx^b gene promoter region could effectively down-regulate the expression of the Wx^b gene and subsequently reduce the amylose content of rice grain without affecting the basic agronomic traits of rice.

收稿日期: 2025-04-28

修回日期: 2025-06-08

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(2025JJ50110); 湖南省重点研发计划项目(2023NK2004)

作者简介: 吴宇贵(2000—), 男, 湖南常宁人, 硕士研究生, 主要从事农艺与种业研究, wuyugui1234@163.com; *通信作者, 陈秋红, 博士, 副教授, 主要从事水稻分子遗传学、水稻种质创新与重大新品种培育研究, [cq924@163.com](mailto:cqh924@163.com)

Keywords: gene editing; Wx^b gene; amylose content; rice quality

稻米(*Oryza sativa* L.)品质改良对粮食安全与人类营养健康具有重要意义^[1]。稻米品质包括多个方面,如加工品质、外观品质、蒸煮食味品质和营养品质等,主要受遗传因素控制,但环境因素也对稻米品质有重要影响^[2]。直链淀粉含量(AC)是决定稻米蒸煮食味品质和营养品质的核心指标^[3]。AC过高会导致米饭口感变硬,AC较低的米饭口感相对更软,但AC过低则可能影响糊化特性。因此,控制稻米AC对稻米品质至关重要^[4]。 Wx 基因位于水稻第6号染色体上,编码颗粒结合淀粉合成酶I(GBSSI),该酶是催化直链淀粉合成的主要蛋白,直接影响稻米AC^[5-7]。在不同的水稻种质资源中已经鉴定到多个 Wx 的天然等位基因(wx 、 Wx^{lv} 、 Wx^a 、 Wx^b 、 Wx^{in} 、 Wx^{op}/Wx^{hp} 、 Wx^{mq} 、 Wx^{mp} 、 Wx^{la}/Wx^{mw} 等),这也是不同水稻材料中稻米AC差异的主要原因^[5,8]。 Wx^b 等位基因广泛分布于粳稻中,因其启动子活性较低,通常使AC维持在15%~20%的中等范围,而籼稻中高表达的 Wx^a 等位基因则导致AC显著升高。 Wx 基因的突变或表达下调可降低AC,是创制软米或者糯米的有效方式^[9-11]。尽管通过诱变或杂交等传统育种方式已培育出低AC的品种,但其效率低、周期长,且易受遗传背景干扰,难以实现精准调控。随着CRISPR/Cas9技术的突破,靶向编辑 Wx 基因及其启动子在稻米品质改良领域展现出了巨大应用潜力,该方法对稻米其他性状的影响较小,可实现对AC等品质性状的精准调控^[11-12]。近年来,研究者通过编辑 Wx 基因编码区成功创制了AC显著降低的水稻突变体。然而,编码区突变可能导致蛋白功能完全缺失,引发胚乳透明度下降或淀粉代谢失衡等。相比之下,编辑启动子区可通过调整转录活性微调基因表达,既能避免蛋白功能丧失,又能实现表型的梯度调控^[13-14]。LU等^[15]通过编辑 Wx 基因的上游开放阅读框(uORF)区域,实现了对粳稻品种南粳9108的AC含量的调控。LIN等^[16]利用基因编辑技术创制了无外源基因的 Wx^b 目标碱基被替换的 Wx^{ela} 株系,该株系AC降低,食味品质提升。HUANG等^[13]通过编辑日本晴 Wx^b 启动子区TATA-box邻近的调控位点(-23~-4 bp, S7位点),获得了6个新的 Wx 等位变异

株系。这些携带新等位变异的编辑株系的主要农艺性状与野生型日本晴相比均无显著差异,但 Wx 前体mRNA和总mRNA均呈现下降趋势。在海南陵水冬繁条件下,6个编辑株系的AC较野生型显著下降。进一步的分析结果表明,S7位点编辑可能改变了相关转录因子的非典型识别位点或结合位点,从而影响 Wx^b 基因的转录效率。由于该位点在不同天然 Wx 等位基因中高度保守,通过对 Wx^b 基因核心启动子S7位点的靶向编辑,可以获得不同的 Wx^b 等位变异,从而创制具有不同AC的水稻材料。

本研究针对 Wx^b 基因启动子区保守的S7位点构建基因编辑载体,并以本团队创制的粳稻材料DNPB(携带 Wx^b 天然等位基因)为受体进行遗传转化,旨在通过微调 Wx^b 基因表达水平实现AC的精准调控。

1 材料与方法

1.1 水稻材料

遗传转化材料为团队创制的粳稻材料DNPB,该材料携带与日本晴一致的 Wx^b 天然等位基因。所有水稻材料于夏季在湖南长沙种植,行间距约25 cm,株距约15 cm,均按照常规大田种植方式进行管理,结实后单株收种。试验采用同生态区单地、单株重复设计。

1.2 质粒载体和引物

gRNA表达盒载体pYLsgRNA-OsU6a/LacZ和基因编辑终载体pYLCRISPR/Cas9Pubi-H均由华南农业大学惠赠,引物由浙江有康生物科技有限公司合成。

1.3 试验方法

1.3.1 靶点选择及相关引物设计

根据HUANG等^[13]的研究,选择 Wx^b 基因启动子区的S7保守区域作为编辑靶点,根据靶点序列设计用于制备靶点接头的上、下游引物;其余引物采用Primer Premier 5.0软件设计。本研究所用引物见表1。

表1 本研究所用引物
Table 1 Primers used in this study

引物名称	序列(5'—3')	用途
Wx ^b S7-U6a-F	gccgAGAGGGGGTGGTGGTGTGGG	靶点接头制备上游引物
Wx ^b S7-U6a-R	aaacCCCACACCACCACCCCTCT	靶点接头制备下游引物
U-F	CTCCGTTTTACCTGTGGAATCG	sgRNA表达盒构建、用于菌落PCR鉴定
gRNA-R	CGGAGGAAAATTCATCCA	sgRNA表达盒构建
Pps-GGR	TTCAGAggtctcTACCGACTAGTATGGAATCGGCAGCAAAGG	基因编辑终载体构建上游引物
Pgs-GGL	AGCGTGggtctcGCTCGACGCGTATCCATCCACTCCAAGCTC	基因编辑终载体构建下游引物
M13F(-47)	CGCCAGGGTTTCCCAGTCACGAC	菌落PCR鉴定
Wx ^b -Cas9CX-F	TCCCGTTGCGTCGTCATAGA	基因型鉴定
Wx ^b -Cas9CX-R	TCCAGCCCAACACCTTACAG	基因型鉴定
Wx ^b -qPCR-F	TCATTCTGGAGAAGGTGGA	Wx ^b 基因相对表达量检测
Wx ^b -qPCR-R	TCGTGATGCTTCCAACCATC	Wx ^b 基因相对表达量检测
Hpt-F	ATTTGTGTACGCCGACAGT	阳性转基因苗鉴定
Hpt-R	GTGCTTGACATTGGGGAGTT	阳性转基因苗鉴定
Ubiquitin-qPCR-F	AACCAGCTGAGGCCCAAGA	Ubiquitin的RT-qPCR扩增
Ubiquitin-qPCR-R	GCCTTCTGGTTGTAGACGTAGG	Ubiquitin的RT-qPCR扩增

注：引物序列中，小写字母表示添加的酶切位点或接头序列。

1. 3. 2 载体构建

将靶点接头上、下游引物等体积混合，然后进行变性、退火，形成靶点接头，之后加入gRNA表达盒载体pYLsgRNA-OsU6a/LacZ、*Bsa* I限制性核酸内切酶和T4 DNA连接酶，采用边切边连的方式将带有*Bsa* I酶切位点的靶点接头连接至带U6a启动子的gRNA表达盒载体上，形成sgRNA表达盒。通过两轮巢式PCR扩增sgRNA表达盒，再使用边切边连的方式将sgRNA表达盒连接至基因编辑终载体pYLCRISPR/Cas9Pubi-H上。对重组载体进行酶切验证和测序，最终获得序列正确的基因编辑重组载体pYL-CRISPR/Cas9-Wx^bS7。

1. 3. 3 水稻遗传转化

将基因编辑重组载体pYL-CRISPR/Cas9-Wx^bS7送至武汉天问生物科技有限公司，通过农杆菌介导的遗传转化方法转化粳稻材料DNPB，获得转基因水稻植株。

1. 3. 4 转基因水稻植株的分子检测

提取转基因水稻幼苗叶片DNA，通过PCR检测法筛选出阳性植株。选取部分阳性植株，设计跨靶位点的特异性引物，扩增长约200 bp的DNA片段，之后对扩增产物进行Sanger测序，以确定靶位点附近是否存在突变。将发生突变的植株自交繁种，并

对T₁代植株进行靶位点PCR扩增和测序分析，筛选获得遗传稳定的纯合突变体株系。

1. 3. 5 RT-qPCR检测Wx^b基因的转录表达水平

采用TransZol Up试剂盒(北京全式金生物技术股份有限公司)提取野生型DNPB及纯合突变体植株叶片的总RNA，经RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit(K1682)试剂盒(Thermo Scientific)反转录合成cDNA，利用RT-qPCR技术检测各样品中Wx^b基因的相对表达量，以水稻Ubiquitin基因为内参基因。

1. 3. 6 农艺性状考察

在田间对蜡熟期的野生型(WT)和纯合突变体植株进行农艺性状考察。每个株系随机选取10株有代表性的单株，测量株高、分蘖数、有效穗数、穗长等指标，取平均值；收获后每个株系选取8株有代表性的单株，测量每穗总粒数、每穗实粒数、结实率、千粒质量及单株产量等指标，取平均值。

1. 3. 7 稻米品质分析

各株系水稻材料分单株收种、晾晒，待籽粒理化性质稳定后，测定稻米加工品质、外观品质、AC、胶稠度和碱消值等指标。其中，碱消值和AC测量值为2次生物学重复的平均值，其余指标测量值均为3次生物学重复的平均值。

1) 加工品质。参照GB/T 17891—2017《优质稻

谷》，测定糙米率、精米率和整精米率。

2) 外观品质。参照GB/T 17891—2017《优质稻谷》和NY/T 83—2017《米质测定方法》，使用万深大米外观品质扫描仪(SC-E)测定垳白粒率。

3) 直链淀粉含量(AC)。参照GB/T 15683—2008《大米直链淀粉含量的测定》，采用碘—淀粉显色法测定，并根据标准曲线计算各样品AC。

4) 胶稠度。参照GB/T 22294—2008《粮油检验大米胶稠度的测定》，采用米胶延伸法测定胶稠度。将精米粉样品与0.2 mol/L氢氧化钾溶液及0.025%百里酚蓝指示剂混合，沸水浴糊化后经冰水浴冷却，水平放置离心管使米胶自然延伸，用游标卡尺测量米胶延伸长度。

5) 碱消值。参照NY/T 83—2017《米质测定方法》，采用碱处理法测定。取完整精米籽粒6粒，浸入1.7%氢氧化钾溶液中，于30℃恒温处理23 h后，依据米粒崩解程度及溶液浊度按1~7级标准评定碱消值等级。

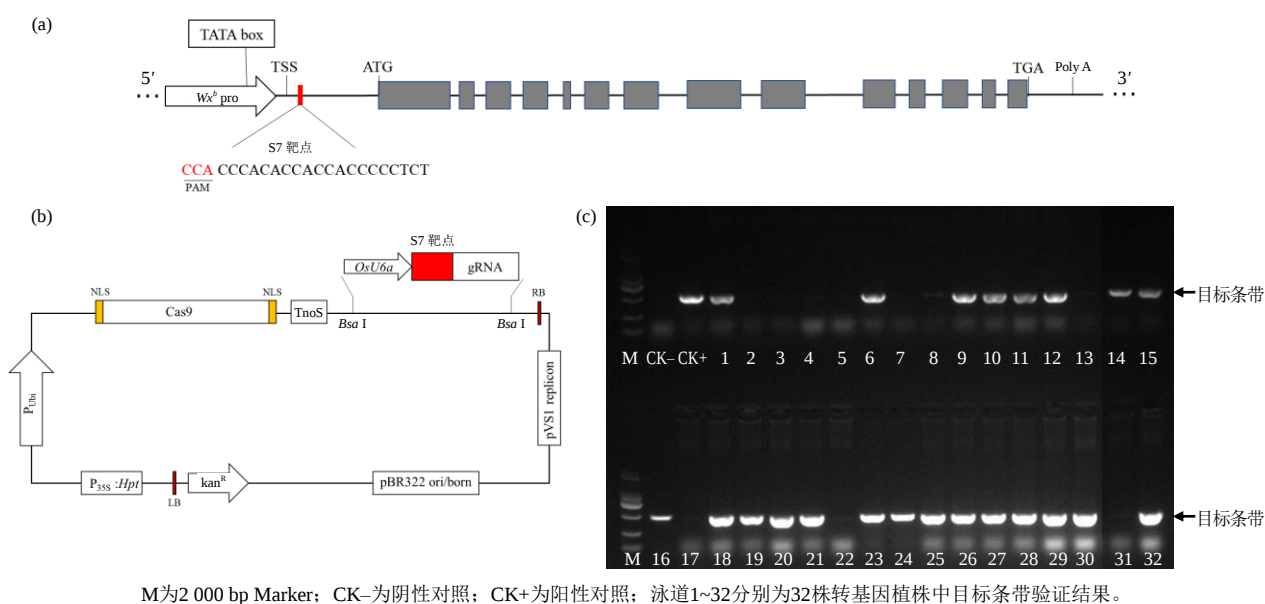
1.4 数据统计分析方法

使用Excel、SPSS等数据分析软件对原始数据进行统计、分析和作图。采用SPSS 26.0软件进行单因素方差分析(ANOVA)，结合Duncan's多重比较法进行组间差异显著性检验。结果以“均值±标准差”表示，显著性水平设为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 靶点基因编辑载体构建及转基因阳性植株筛选

Wx^b 基因启动子区S7靶点序列为AGAGGGGGTGGTGGTGTGGG，该靶点邻近TATA box，GC含量为70%(图1(a))，预测脱靶率为0.267。据此构建了该靶点的基因编辑载体pYL-CRISPR/Cas9- Wx^b S7(图1(b))；将构建好的载体转化稈稻材料DNPB后，共获得 T_0 代植株32株，其中阳性转基因植株22株(图1(c))。



M为2 000 bp Marker; CK-为阴性对照; CK+为阳性对照; 泳道1~32分别为32株转基因植株中目标条带验证结果。

(a) Wx^b 基因结构及S7靶点位置示意图; (b) pYL-CRISPR/Cas9- Wx^b S7基因编辑重组载体示意图; (c) T_0 代转基因植株的PCR检测结果

图1 Wx^b 基因启动子S7靶点基因编辑载体构建及转基因阳性植株鉴定

Fig. 1 Construction of the gene editing vector and identification of transgenic plants targeting the S7 site in the Wx^b gene promoter

2.2 转基因植株的基因型及 Wx^b 基因转录表达水平检测结果

提取22株 T_0 代阳性转基因植株的叶片DNA，并使用引物 Wx^b -Cas9CX-F和 Wx^b -Cas9CX-R扩增靶位点附近序列，对扩增产物进行测序，发现这22株植株靶位点附近的序列均为杂合突变基因型。将这些杂合突变植株进行繁种，进一步鉴定 T_1 代植株的基

因型，筛选出了M8-4、M9-4、M18-3、M19-1和M21-4共5种不同类型的纯合等位突变体(图2(a))。其中，M8-4在靶位点附近插入了5个核苷酸(TCTAA)，M18-3在靶位点附近插入了1个核苷酸(A)，M19-1缺失了1个核苷酸；M9-4在2个不同的位置分别缺失了3个和2个核苷酸；M21-4为大片缺失突变体，连续缺失了34个核苷酸。这些等位突变均未改变

Wx^b启动子上的TATA box基序和其他基序。

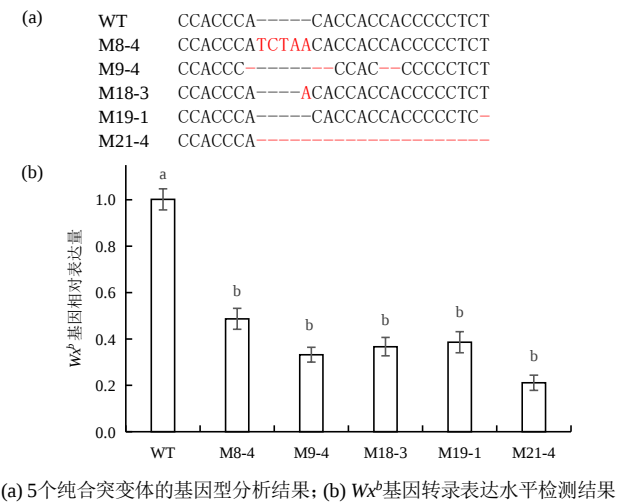


图2 转基因植株的基因型分析及Wx^b基因转录表达水平检测结果

Fig. 2 Results of genotype analysis of transgenic plants and detection of Wx^b gene transcriptional expression levels

使用引物Wx^b-qPCR-F和Wx^b-qPCR-R进行RT-qPCR实验,检测野生型和5种纯合突变体植株中

Wx^b基因的相对转录表达水平。结果(图2(b))显示,与野生型相比,这5种纯合突变体中Wx^b基因的表达水平均显著下降,这说明S7靶点附近序列的等位突变均影响粳稻材料DNBP中Wx^b基因的转录表达。

2.3 基因编辑植株的稻米品质分析结果

为评估Wx^b基因启动子区域S7位点附近的等位突变对稻米主要品质性状的影响,于2024年在长沙检测纯合突变体及野生型T₂代材料的糙米率、整精米率、精米率、垩白粒率、碱消值、胶稠度及AC等品质指标。结果(表2)显示,突变体材料的AC为13.6%~16.6%,与野生型材料相比均显著降低,下降幅度为6.2%~23.2%。胶稠度在突变体材料中亦显著降低。野生型和突变体材料的垩白粒率均较高,与野生型相比,有4个突变体材料(M8-4、M9-4、M18-3和M21-4)的垩白粒率显著上升。突变体材料的其他稻米品质指标与野生型材料相比均无显著差异。

表2 稻米品质性状分析统计结果

Table 2 Statistical analysis results of rice grain quality traits							
材料名称	糙米率/%	整精米率/%	精米率/%	垩白粒率/%	碱消值/级	胶稠度/mm	AC/%
WT	78.5±0.6	66.7±0.6	88.9±0.4	75.0±1.0 ^c	5	67±1 ^a	17.7 ^a
M8-4	80.8±0.4	68.2±0.7	88.3±0.5	80.0±1.0 ^b	5	55±1 ^b	15.0 ^c
M9-4	77.3±0.4	65.1±0.5	84.3±0.5	84.0±1.0 ^b	5	47±1 ^c	13.9 ^d
M18-3	76.5±0.7	64.9±0.6	83.7±0.3	80.0±0.8 ^b	5	40±2 ^d	14.3 ^{cd}
M19-1	78.8±0.5	66.4±0.4	91.2±0.3	78.0±0.5 ^c	5	59±2 ^b	16.6 ^b
M21-4	78.2±0.5	67.1±0.5	82.8±0.4	88.0±1.0 ^a	5	53±1 ^c	13.6 ^d

注: 同列不同小写字母表示数据间的差异有统计学意义(P<0.05)。

2.4 基因编辑植株的主要农艺性状考察结果

为评估Wx^b基因启动子区域S7位点附近的等位突变是否影响水稻主要农艺性状,于2024年在长沙对纯合突变体及野生型T₂代材料进行田间农艺性

状调查。结果(表3)显示,与野生型相比,突变体株系的株高、分蘖数、有效穗数、穗长、每穗总粒数、每穗实粒数、结实率、千粒质量和单株产量等主要农艺性状均无显著差异。

表3 主要农艺性状统计分析结果

Table 3 Statistical analysis results of major agronomic traits									
材料名称	株高/cm	分蘖数	有效穗数	穗长/cm	每穗总粒数	每穗实粒数	结实率/%	千粒质量/g	单株产量/g
WT	113.3±0.5	26.3±0.6	15.6±1.5	23.8±0.3	128.0±3.0	100.3±1.5	78.7±2.3	26.3±0.2	41.3±4.5
M8-4	111.9±0.9	24.3±0.6	15.3±1.2	23.8±0.4	135.3±2.5	109.3±3.5	81.0±1.0	27.2±0.2	45.6±4.5
M9-4	113.4±1.5	26.0±1.0	16.0±1.0	23.7±0.4	128.0±2.6	102.3±3.5	80.0±1.7	25.9±0.3	42.3±2.1
M18-3	113.5±1.4	26.0±3.0	15.3±1.5	24.3±0.2	129.0±5.0	102.0±6.1	79.0±2.6	24.2±0.3	37.7±2.1
M19-1	112.3±2.2	26.3±2.5	16.0±2.6	23.6±0.3	133.0±6.0	105.3±4.5	79.3±0.6	25.9±0.1	43.7±7.2
M21-4	114.0±0.8	25.0±1.0	15.0±1.0	24.1±0.2	131.7±3.1	106.6±3.1	80.7±1.5	27.5±0.2	44.0±3.3

3 讨论与结论

基因的表达调控在细胞分化和代谢中起着核心作用,这对于所有真核细胞和生物体的完整性至关重要。基因表达的第一步是通过RNA聚合酶II从基因转录起始位点将DNA序列转录为RNA序列,某个基因在某个时间段被转录出来的RNA序列越多,则基因的转录表达水平越高。转录起始位点位于调控基因表达的核心启动子内,核心启动子通常是指包含转录起始位点在内的上、下游150个核苷酸对的短序列,其对于RNA聚合酶II的结合及基因的基础转录至关重要^[17]。除核心启动子外,基因更远端的启动子上的其他序列(顺式作用元件)对于基因的转录表达也具有重要影响^[18-19]。为创制AC较低的水稻新种质,本研究通过CRISPR/Cas9基因编辑系统靶向编辑粳稻Wx^b基因核心启动子TATA box附近的S7位点,成功在该位点附近诱导产生了多种类型的突变,包括碱基插入、碱基缺失以及大片段缺失,最终获得了5种不同类型的纯合突变体水稻材料。进一步检测这些突变体材料中Wx基因的转录表达水平发现,与野生型DNPB相比,5个突变体中Wx^b基因的相对转录表达水平均显著下降,这说明Wx^b核心启动子区的S7位点对Wx^b的转录表达非常重要,其序列的任何变化都可能影响RNA聚合酶II的结合及转录起始效率。Wx基因编码颗粒结合淀粉合成酶I,该酶是催化直链淀粉合成的关键酶。Wx^b基因表达水平的下调将直接导致稻米直链淀粉含量(AC)降低^[13],本研究结果与其一致:5个突变体株系的AC均较野生型显著降低。

农艺性状考察结果显示,Wx^b基因转录表达水平的降低并未显著影响突变体株系的主要农艺性状。与野生型相比,突变体材料的株高、分蘖数、有效穗数、穗长、每穗总粒数、每穗实粒数、结实率、千粒质量、单株产量均无显著差异,这说明通过基因编辑技术编辑粳稻Wx^b基因的启动子区域,可以在不影响水稻基本农艺性状(特别是产量)的情况下微调Wx^b基因表达水平,从而改变稻米的AC。品质性状分析结果显示,野生型和突变体材料的垩白粒率整体偏高,这可能与材料的种植环境因素(如

高温等)有关^[20]。与野生型相比,突变体材料的糙米率、整精米率、精米率、碱消值均无显著变化,但有4个突变体材料(M8-4、M9-4、M18-3和M21-4)的稻米垩白粒率显著升高,所有突变体材料的胶稠度显著降低。胶稠度与AC均为评价稻米蒸煮食味品质的重要指标。已有研究表明,AC与胶稠度通常呈负相关,尤其在中低AC品种中,AC降低往往伴随胶稠度升高^[21-22]。然而,本研究中突变体材料AC下降的同时胶稠度亦显著降低,该结果与前人研究结果不一致,后续拟通过扩大样本量和多环境验证进一步分析其原因。

本研究验证了通过编辑Wx^b启动子S7位点降低粳稻材料DNPB中AC的可行性,未来需在籼稻及其他粳稻品种中进一步评估该策略的广谱适用性。

参考文献:

- [1] 刘芳艳,武云霞,孙永健,等. 氮肥运筹对杂交籼稻食味差异品种产量及米质的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(5):487-494, 522.
- [2] 胡田,袁帅,胡溶,等. 施氮量和种植密度对优质晚稻稻米品质的调控效应及其机制[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(3):251-259.
- [3] ZHANG H, XU H, JIANG Y Y, et al. Genetic control and high temperature effects on starch biosynthesis and grain quality in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 757997.
- [4] 华伟艺. 不同类型淀粉含量及结构对稻米品质的影响[D]. 天津: 天津农学院, 2024.
- [5] LIU X D, DING Q, WANG W S, et al. Targeted deletion of the first intron of the Wx^b allele via CRISPR/Cas9 significantly increases grain amylose content in rice[J]. *Rice*, 2022, 15(1): 1.
- [6] ADEGOKE T V, WANG Y F, CHEN L J, et al. Posttranslational modification of Waxy to genetically improve starch quality in rice grain[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(9): 4845.
- [7] TU B, ZHANG T, LIU P, et al. The LCG1-OsBP5/OsEBP89-Wx module regulates the grain chalkiness and taste quality in rice[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(1): 36-50.
- [8] ZHANG C Q, ZHU J H, CHEN S J, et al. Wx^{lv}, the ancestral allele of rice Waxy gene[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(8): 1157-1166.
- [9] ZHANG Q, ZHANG S N, YU X T, et al. Fine-tuning

- grain amylose contents by genome editing of *Waxy* cis-regulatory region in rice[J]. *Molecular Breeding*, 2022, 42(12): 72.
- [10] FU Y H, HUA Y H, LUO T T, et al. Generating waxy rice starch with target type of amylopectin fine structure and gelatinization temperature by *Waxy* gene editing[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 306: 120595.
- [11] 邱宁静. 多个水稻品系的食味及稻瘟病抗性的遗传改良研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- [12] 汪秉琨, 张慧, 洪汝科, 等. CRISPR/Cas9系统编辑水稻Wx基因[J]. *中国水稻科学*, 2018, 32(1): 35–42.
- [13] HUANG L C, LI Q F, ZHANG C Q, et al. Creating novel Wx alleles with fine-tuned amylose levels and improved grain quality in rice by promoter editing using CRISPR/Cas9 system[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(11): 2164–2166.
- [14] FU Y H, LUO T T, HUA Y H, et al. Assessment of the characteristics of waxy rice mutants generated by CRISPR/Cas9[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 881964.
- [15] LU K, ZHANG Y D, HE L, et al. Adjusting the amylose content of semi-glutinous japonica rice by genome editing of uORF6 in the Wx gene[J]. *The Crop Journal*, 2024, 12(6): 1806–1811.
- [16] LIN L S, LI Z, NING M Y, et al. A mutant allele of the Wx gene encoding granule-bound starch synthase I results in extremely low amylose content in rice[J]. *Plant Physiology*, 2024, 196(4): 2296–2299.
- [17] HABERLE V, STARK A. Eukaryotic core promoters and the functional basis of transcription initiation[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, 19(10): 621–637.
- [18] WU B W, LUO H F, CHEN Z B, et al. Rice promoter editing: an efficient genetic improvement strategy[J]. *Rice*, 2024, 17(1): 55.
- [19] SAVINKOVA L K, SHARYPOVA E B, KOLCHANOV N A. On the role of TATA boxes and TATA-binding protein in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plants*, 2023, 12(5): 1000.
- [20] NEVAME A Y M, EMON R M, MALEK M A, et al. Relationship between high temperature and formation of chalkiness and their effects on quality of rice[J]. *BioMed Research International*, 2018, 2018(1): 1653721.
- [21] 孙业盈. 水稻Wx基因与稻米AC、GC和GT的遗传关系及育种中间选系稻米品质的综合评价[D]. 雅安: 四川农业大学, 2005.
- [22] WANG H, ZHU S S, DANG X J, et al. Favorable alleles mining for gelatinization temperature, gel consistency and amylose content in *Oryza sativa* by association mapping[J]. *BMC Genetics*, 2019, 20(1): 34.

责任编辑: 伍锦花