



# (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116574743 B

(45) 授权公告日 2024. 01. 23

(21) 申请号 202310645709.6

(22) 申请日 2023.06.02

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 116574743 A

(43) 申请公布日 2023.08.11

(73) 专利权人 四川农业大学

地址 625099 四川省雅安市雨城区新康路  
46号

(72) 发明人 冯宣军 关华瑞 张维肖 汪青军

徐洁 吴锋锴 张少博 卢艳丽

(74) 专利代理机构 北京盛询知识产权代理有限公司

11901

专利代理师 李茜茜

(51) Int. Cl.

C12N 15/29 (2006.01)

C07K 14/415 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

A01H 5/00 (2018.01)

A01H 6/46 (2018.01)

(56) 对比文件

CN 101484465 A, 2009.07.15

CN 104093842 A, 2014.10.08

CN 106282201 A, 2017.01.04

CN 106795524 A, 2017.05.31

CN 107435046 A, 2017.12.05

CN 109837265 A, 2019.06.04

CN 110846322 A, 2020.02.28

CN 112204147 A, 2021.01.08

审查员 姚进孝

权利要求书1页 说明书6页

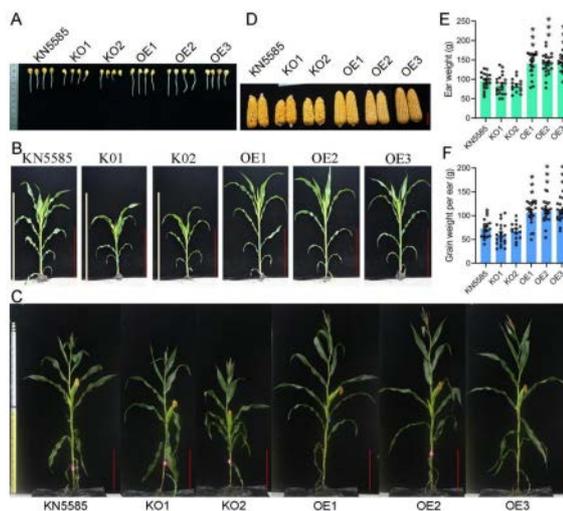
序列表(电子公布) 附图3页

(54) 发明名称

ZmARGOS9基因在玉米抗旱与高产中的应用

(57) 摘要

本发明公开了ZmARGOS9基因在玉米抗旱与高产中的应用,涉及生物技术领域。本发明将ZmARGOS9在玉米中过量表达发现,转基因植株的生长发育从萌发阶段就快于对照,产量增加,抗旱能力明显增强。因此,ZmARGOS9的过量表达可同时增加干旱条件下和正常条件下玉米的产量,此外还能适当缩短生育期。因此,ZmARGOS9的发现丰富了我国的抗旱高产基因,为种业安全添砖加瓦。



1. 以下 (1) - (4) 任一项所述的物质在提高玉米抗旱性中的应用:
  - (1) 一种蛋白, 所述蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示;
  - (2) ZmARGOS9基因, 所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示;
  - (3) 一种重组质粒, 包括所述ZmARGOS9基因;
  - (4) 一种重组微生物菌株, 包括所述重组质粒。
2. 以下 (1) - (4) 任一项所述的物质在提高玉米产量中的应用:
  - (1) 一种蛋白, 所述蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示;
  - (2) ZmARGOS9基因, 所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示;
  - (3) 一种重组质粒, 包括所述ZmARGOS9基因;
  - (4) 一种重组微生物菌株, 包括所述重组质粒。
3. 以下 (1) - (4) 任一项所述的物质在缩短玉米生育期中的应用:
  - (1) 一种蛋白, 所述蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示;
  - (2) ZmARGOS9基因, 所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示;
  - (3) 一种重组质粒, 包括所述ZmARGOS9基因;
  - (4) 一种重组微生物菌株, 包括所述重组质粒。
4. 一种提高玉米抗旱性的方法, 其特征在于, 包括将ZmARGOS9基因转化入玉米植株, 构建得到所述ZmARGOS9基因的高表达植株的步骤;  
所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示。
5. 一种提高玉米产量的方法, 其特征在于, 包括将ZmARGOS9基因转化入玉米植株, 构建得到所述ZmARGOS9基因的高表达植株的步骤;  
所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示。
6. 一种缩短玉米生育期的方法, 其特征在于, 包括将ZmARGOS9基因转化入玉米植株, 构建得到所述ZmARGOS9基因的高表达植株的步骤;  
所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示。

## ZmARGOS9基因在玉米抗旱与高产中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,特别是涉及ZmARGOS9基因在玉米抗旱与高产中的应用。

### 背景技术

[0002] 随着气候变暖,干旱在全球范围日益频发,成为威胁粮食生产的一大因素。通过操控基因提高作物抗旱能力一直是育种家努力的方向。然而,多数情况下对一个基因的操控很难在提升抗旱性的同时不损害正常条件下的产量。Nelson等人在玉米中过量表达NF-YB2基因提高了干旱下玉米产量。Kudo等人利用抗旱基因和促生长基因组合表达的方式实现了干旱下提高植株抗旱能力,正常条件下促进植株生长的目的。冯宣军等人利用干旱诱导表达ZmDR01基因实现了转基因玉米抗旱能力提升的同时不影响正常条件下的产量。TPP (trehalose-6-phosphate phosphatase) 基因和细菌Csp(cold shock proteins)基因已在玉米抗旱育种中得到成功应用。杂种优势是玉米产量决定中最重要的因素之一,充分发挥其杂种优势特征可显著提升玉米产量。ARGOS(也叫ZAR)基因被多项研究报道可通过促进细胞分裂或细胞伸长来促进植株生长,且它可能是重要的杂种优势调控基因。Shi等人报道过量表达ZmARGOS1可以增强玉米干旱抗性,通过根系特异高表达ZmARGOS8成功提高了玉米干旱抗性且不影响正常条件下的农艺性状。生育期也是育种家一直关注的问题。在不导致作物减产的情况下,适当地缩短生育期可以降低生产管理成本,还可能降低偶发自然灾害带来的减产风险。所以育种家在选育优良品种时,短生育期(早熟)也是一个重要的考虑指标。

[0003] 平衡产量与抗性是育种家面临的一大难题。NF-YB2基因的过表达可提高转基因玉米在干旱胁迫下的产量,但正常条件下的农艺性状并未被详细研究。ZmDR01若受环境影响出现较高的表达可能对植株生长产生抑制作用。ZmARGOS1的过表达在正常条件下植株产量有所下降。ZmARGOS8的过表达会导致植株过高易倒伏,因此研究者采用了玉米根系特异表达的方式。孟山都公司成功商业应用的基因TPP,CspA及CspB可提高转基因植株的抗旱性,且不损害正常条件下的产量。然而,上述基因的应用知识产权均不属于中国研究者。中国育种公司并不能使用相关基因或者需要花费高昂费用获取专利使用权。因此,我们需要挖掘具有自主知识产权的抗旱基因。通过一个基因同时提高作物抗性与产量的报道并不多见,这样的基因资源非常珍贵,具有较高的生产利用价值。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是提供ZmARGOS9基因在玉米抗旱与高产中的应用,以解决上述现有技术存在的问题,本发明研究发现ZmARGOS9基因高表达可以提高玉米抗旱性和产量,因此可以丰富抗旱高产基因,为种业安全添砖加瓦。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供了如下方案:

[0006] 本发明提供以下(1)-(4)任一项所述的物质在提高玉米抗旱性中的应用:

[0007] (1)一种蛋白,所述蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示;

- [0008] (2) ZmARGOS9基因,所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示;
- [0009] (3) 一种重组质粒,包括所述ZmARGOS9基因;
- [0010] (4) 一种重组微生物菌株,包括所述重组质粒。
- [0011] 本发明还提供以下(1) - (4)任一项所述的物质在提高玉米产量中的应用:
- [0012] (1) 一种蛋白,所述蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示;
- [0013] (2) ZmARGOS9基因,所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示;
- [0014] (3) 一种重组质粒,包括所述ZmARGOS9基因;
- [0015] (4) 一种重组微生物菌株,包括所述重组质粒。
- [0016] 本发明还提供以下(1) - (4)任一项所述的物质在缩短玉米生育期中的应用:
- [0017] (1) 一种蛋白,所述蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示;
- [0018] (2) ZmARGOS9基因,所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示;
- [0019] (3) 一种重组质粒,包括所述ZmARGOS9基因;
- [0020] (4) 一种重组微生物菌株,包括所述重组质粒。
- [0021] 本发明还提供一种提高玉米抗旱性的方法,包括将ZmARGOS9基因转化入玉米植株,构建得到所述ZmARGOS9基因的高表达植株的步骤;
- [0022] 所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示。
- [0023] 本发明还提供一种提高玉米产量的方法,包括将ZmARGOS9基因转化入玉米植株,构建得到所述ZmARGOS9基因的高表达植株的步骤;
- [0024] 所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示。
- [0025] 本发明还提供一种缩短玉米生育期的方法,包括将ZmARGOS9基因转化入玉米植株,构建得到所述ZmARGOS9基因的高表达植株的步骤;
- [0026] 所述ZmARGOS9基因的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示。
- [0027] 本发明公开了以下技术效果:
- [0028] 本发明将ZmARGOS9在玉米中过量表达发现,转基因植株的生长发育从萌发阶段就快于对照,产量增加,抗旱能力明显增强。因此,ZmARGOS9的过量表达可同时增加干旱条件下和正常条件下玉米的产量,此外还能适当缩短生育期。因此,ZmARGOS9的发现丰富了我国的抗旱高产基因,为种业安全添砖加瓦。

## 附图说明

[0029] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0030] 图1为质粒pLANT-cFlag的图谱;

[0031] 图2为ZmARGOS9基因对玉米生长发育和产量的影响;A、B和C分别为各材料在萌发阶段、56天和100天的表型;D、E和F分别为收获后雌穗表型和晒干后的穗重、粒重数据;KN5585是转基因操作后分离的转基因阴性材料;KO是基因功能缺失材料;OE是ZmARGOS9基因高表达材料;B、C和D中标尺分别代表5cm、50cm和50cm;差异显著性分析采用student t-test,星号表示该材料相对于野生型差异显著,\*表示在 $P < 0.05$ 水平显著,\*\*表示在 $P < 0.01$

水平显著,\*\*\*表示在 $P<0.001$ 水平显著;

[0032] 图3为ZmARGOS9基因对玉米雄穗发育的影响;其中A为各材料雄穗表型;B-E分别为雄穗分支数、抽雄、散粉和吐丝的生长天数;KN5585是野生型受体材料;KO是基因功能缺失材料;OE是基因高表达材料;A中标尺代表5cm;差异显著性分析采用student t-test,星号表示该材料与野生型差异显著,\*表示在 $P<0.05$ 水平显著,\*\*表示在 $P<0.01$ 水平显著,\*\*\*表示在 $P<0.001$ 水平显著;

[0033] 图4为ZmARGOS9基因对玉米抗旱能力的影响;A和B分别为干旱条件下各材料的单穗重和单穗粒重统计;KN5585是野生型受体材料;KO是基因功能缺失材料;OE是基因高表达材料;差异显著性分析采用student t-test,星号表示该材料与野生型差异显著,\*表示在 $P<0.05$ 水平显著,\*\*表示在 $P<0.01$ 水平显著,\*\*\*表示在 $P<0.001$ 水平显著。

### 具体实施方式

[0034] 现详细说明本发明的多种示例性实施方式,该详细说明不应认为是对本发明的限制,而应理解为是对本发明的某些方面、特性和实施方案的更详细的描述。

[0035] 应理解本发明中所述的术语仅仅是为描述特别的实施方式,并非用于限制本发明。另外,对于本发明中的数值范围,应理解为还具体公开了该范围的上限和下限之间的每个中间值。在任何陈述值或陈述范围内的中间值,以及任何其他陈述值或在所述范围内的中间值之间的每个较小的范围也包括在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括或排除在范围内。

[0036] 除非另有说明,否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所述领域的常规技术人员通常理解的含义。虽然本发明仅描述了优选的方法和材料,但是在本发明的实施或测试中也可以使用与本文所述相似或等同的任何方法和材料。本说明书中提到的所有文献通过引用并入,用以公开和描述与本发明所述文献相关的方法和/或材料。在与任何并入的文献冲突时,以本说明书的内容为准。

[0037] 在不背离本发明的范围或精神的情况下,可对本发明说明书的具体实施方式做多种改进和变化,这对本领域技术人员而言是显而易见的。由本发明的说明书得到的其他实施方式对技术人员而言是显而易见的。本发明说明书和实施例仅是示例性的。

[0038] 关于本文中所使用的“包含”、“包括”、“具有”、“含有”等等,均为开放性的用语,即意指包含但不限于。

[0039] 实施例1

[0040] 1. ZmARGOS9的DNA及蛋白特征描述

[0041] ZmARGOS9基因来源于玉米,其通用基因编号为GRMZM2G082943(参考基因组信息为B73 Ref\_v3)或Zm00001d041774(参考基因组信息为B73 Ref\_v4)。其DNA,CDS及蛋白序列如下所示,该基因仅含有一个外显子。本发明中利用其CDS与Flag标签序列融合进行转基因表达。

[0042] >GRMZM2G082943\_DNA (SEQ ID NO.1)

[0043] TGAAGTTTAAAATATAAGTTATAATAAAAAATATATATATGATACGTTGGAGATGGCCCCCTACAAGTCGTAAAGGCCCTGGCCCCACCGTTGCTTCCAGTAGGTCATGATGCAGCGCACCTGTCTCCCGCTGCTCCACCCCTTCCCACTCTCCCATTTGCAAGTCCAGTACCAGTTTTCAAACCGCCTTCACGCAGTCCACAGATAAAATAC

CGGCCTCCTCCTCCCTTTCCCCCTCCGATTCCCGCGCCCGCCCTACGCTGCCAAAAGCGGGGACACCGCCCGTC  
 CCCCTCCCCGTCCGGGTCTCCACAAGCGCACCTGCGCGCGCGCCCGGCTTCCGTTGCGCAGCAGGGCAGCTGGG  
 CAGGGCAGGGCAGGTCGCCATTTAGTCCTCTGCGCTTTTTGGCGTTGGTTCTTCTTGCACAACTCTTCTGCTGGAT  
 TCCAGCTCTGTTTTTCTTCTCCTGTCCTGCTGGTCAGTCAAATATATCCTCCTGGTCTGGGTAGCTTTTGGGTT  
 CCGGCGCCTTGCCGTTGCGAGTTTGTGTTCTTGGTCATCTGATCTGGGTGGTATTAATCTGGAGACCCAGTCACTC  
 GGTCGGGACGAGATCAATAAAAAGGAAGAAAGAAGCAGCGCGCAAGCCGGCGGCGTCGCGAAGCTTAAGATCAGA  
 GGTTTCTACCTTTTTTTTCTTCAAGTGTAAACGTAACCTTTGTAATCTGGATGCGTTCACCGTAAATCCTGATTATG  
 TCGAGCGGTTCTTGATTTCTTCTCGTCTTCGCTGCATGTTGAGCAGACACCGTTGGTTGGGCGTTGCTTCAGATA  
 TAATCTACAAGACCAAGCTCAGATTCATCAGTCGGTACGTACGTGCGAACAGCCTCACTTCGCTCGCTGCTGCGC  
 GTTAGATGCCGTTGCTTCGTCGCTAATGGCGATGGAGTTGGAGACGGACCAACTCGCCTGGGCGGAGCAGCAGCG  
 GCAGCAGAATAGGAGGC AGACCATGGTCGTCTGCAGAAAGAGCGACGCGAGCGGTGGCCAAAGGGCAGCAGCGTCA  
 GAACGCTTCGCCGCCGTCGCCAAGCCTCCGCCCGCGGGCGGGCTCAGCGCGGAGGCGTTCTTGGTTCTGGCGTGC  
 GTCGCCGTGTCGCTCATCGTGCTGCCGCTGGTCTGCCGCCGCTGTCGCCCCCGCCGCTCTGCTGCTGCTGGTGC  
 CGGTGTGCTGCTCCTGCTCCTCGCCGCGCTCGCCACCTTCGTGCCGTCGGATGTCAGGAGCATGCCATCCTCCAA  
 CTTGTAACTACTAGTTGTTTTGCTAGTCAATATCCATAAATCTTTTTGTTCAAGTCGGCATTATGTCTGTGCAT  
 ATGGCATAAAATGAGTGTAATGAAATGAAATCTTGTCTTATCTTTCTTTTTTTGGCAAACAGACGTTACCGTTA  
 GATCGAACAAACTACTACGTACTTGTGCTTTCTGCCTGCGTTTTGGTTGAATTCATCTAGTTTCTACTGGTTTAAAC  
 CAAATTATATATTATTATGTATTTGTAATAACAACACGTTTAGTTTAAACATATAA。

[0044] >GRMZM2G082943\_CDS (SEQ ID NO.2)

[0045] ATGCCGTTGCTTCGTCGCTAATGGCGATGGAGTTGGAGACGGACCAACTCGCCTGGGCGGAGCAGCA  
 GCGGCAGCAGAATAGGAGGCAGACCATGGTCGTCTGCAGAAAGAGCGACGCGAGCGGTGGCCAAAGGGCAGCAGCGT  
 CAGAACGCTTCGCCGCCGTCGCCAAGCCTCCGCCCGCGGGCGGGCTCAGCGCGGAGGCGTTCTTGGTTCTGGCGT  
 GCGTCGCCGTGTCGCTCATCGTGCTGCCGCTGGTCTGCCGCCGCTGTCGCCCCCGCCGCTCTGCTGCTGCTGGTGC  
 GCCGTTGCTGCTCCTGCTCCTCGCCGCGCTCGCCACCTTCGTGCCGTCGGATGTCAGGAGCATGCCATCCTCCAA  
 AACTTGTA。

[0046] >GRMZM2G082943\_protein(SEQ ID NO.3)

[0047] MPVASSLMAMELETDQLAWAEQQRQQNRRQTMVVCRKSDAAVAKGQQRQNASPPSP KPPPAGGLSAE  
 AFLVLACVAVSLIVLPLVLPPLSPPPLLLLLVPVCLLLLLAALATFVPSDVRS MPSSNL。

[0048] 2. ZmARGOS9的克隆及转基因表达

[0049] 利用玉米自交系B73的雄穗提取总RNA,然后经反转录产生cDNA,接下来利用PCR扩  
 增ZmARGOS9基因蛋白编码区域,最后通过同源重组克隆到表达质粒pLNAT-cFlag。

[0050] 2.1 RNA提取

[0051] 使用福际公司Plant total RNA isolation kit试剂盒(RE-05014,FOREGENE),实  
 验中所有试剂盒器材经DEPC水清洗及121℃灭菌1h处理。RNA提取过程样品保持4℃低温。具  
 体步骤如下:

[0052] (1) 液氮下充分研磨鲜样品后取200mg左右装入1.5mL离心管中。

[0053] (2) 取试剂盒中PSL1试剂50 $\mu$ L和10 $\mu$ L $\beta$ -巯基乙醇混匀待用。

[0054] (3) 向离心管样品中加入上一步制备好的PSL1混合液后迅速震荡混匀,然后静置  
 5min。

- [0055] (4) 向上一步样品中加入100 $\mu$ L试剂PS,颠倒混匀,12000r/min离心3min。
- [0056] (5) 将上一步上清转移至DNA cleaning column后12000r/min离心2min丢弃吸附柱。
- [0057] (6) 向收集管内的液体加入1.5倍体积的PSL2试剂,轻柔混匀后将液体转移到RNA only column,12000r/min离心2min后弃上清。
- [0058] (7) 向RNA only column中加入500 $\mu$ L试剂PRW1,12000r/min离心2min,弃上清。
- [0059] (8) 向RNA only column中加入700 $\mu$ L无水乙醇,12000r/min离心2min,弃上清。
- [0060] (9) 向RNA only column中加入700 $\mu$ L PRW2,12000r/min离心2min,弃上清。重复一次此步骤。
- [0061] (10) RNA only column管12000r/min离心3min清除残留试剂。
- [0062] (11) 将RNA only column转移到新的1.5mL离心管上,向膜中央滴加65 $^{\circ}$ C预热的不含RNA酶的水50 $\mu$ L,12000r/min离心3min后丢弃吸附柱,收集管底RNA。
- [0063] 2.2反转录cDNA
- [0064] 反转录使用TAKARA公司的PrimeScript<sup>TM</sup> RT reagent Kit (RR047A) 试剂盒完成。具体步骤如下:
- [0065] (1) 去除基因组DNA (反应体系:5 $\times$ gDNA Eraser Buffer 2 $\mu$ L,gDNA Eraser 1 $\mu$ L, Total RNA 1 $\mu$ g,补充无RNA酶去离子水到10 $\mu$ L体积),放置于PCR仪中42 $^{\circ}$ C 2min。
- [0066] (2) 反转录反应 (反应体系:去除DNA的RNA液体10 $\mu$ L,PrimeScript RT Enzyme Mix I 1 $\mu$ L,反转录引物Oligo dT 4 $\mu$ L,5 $\times$ PrimeScript Buffer 24 $\mu$ L,无RNA酶去离子水4 $\mu$ L),混匀37 $^{\circ}$ C反应20min;85 $^{\circ}$ C处理10sec,-20 $^{\circ}$ C保存。
- [0067] 2.3PCR扩增
- [0068] PCR扩增得到ZmARGOS9蛋白编码区。
- [0069] 使用引物:
- [0070] ARG-F1:ATGCCGGTTGCTTCGTCGCT (SEQ ID NO.4);
- [0071] ARG-R1:GTAGTTACAAGTTGGAGGATGGC (SEQ ID NO.5)。
- [0072] 反应体系:2 $\times$ PCR buffer 10 $\mu$ L,2mM dNTPs 4 $\mu$ L,10 $\mu$ m正反向引物各0.3 $\mu$ L,c DNA模板0.4 $\mu$ L,KOD FX Neo DNA polymerase 0.4 $\mu$ L,补充去离子水到20 $\mu$ L。
- [0073] 扩增参数:94 $^{\circ}$ C预变性2min,98 $^{\circ}$ C解链30sec,68 $^{\circ}$ C延申15sec,扩增38个循环。
- [0074] 2.4转基因表达质粒的构建
- [0075] 通过同源重组克隆将ZmARGOS9蛋白编码区连接到植物转基因双元表达质粒pLNAT-cFlag (载体图谱信息见图1)。
- [0076] 同源重组片段PCR扩增引物:
- [0077] ARG-F2:TGCAGGTCGACTCTAGAGATGCCGGTTGCTTCGTCGCT (SEQ ID NO.6);
- [0078] ARG-R2:GGTCTTTGTAGTCCATTTGCAAGTTGGAGGATGGCATGC (SEQ ID NO.7)。
- [0079] PCR扩增参数和反应体系同2.3。
- [0080] 载体的酶切:利用BamHI酶切位点对双元表达质粒pLNAT-cFlag进行酶切。然后通过琼脂糖凝胶电泳后对线性化的质粒进行回收,利用诺唯赞公司的ClonExpress<sup>®</sup> MultiS One Step Cloning Kit (C115)按说明书进行同源重组反应。构建好的表达质粒经测序确认正确后,转化农杆菌EHA105,委托江苏未来生物科技有限公司进行玉米转化得到

ZmARGOS9基因高表达转基因玉米,转基因受体材料为KN5585。

[0081] 3. ZmARGOS9基因缺失突变体的创制

[0082] 委托江苏未米生物科技有限公司利用CRISPR/Cas9系统设计双靶标对ZmARGOS9基因进行编辑。靶标1序列:GACGGACCAACTCGCCTGGGCGG (SEQ ID NO.8);靶标2序列:CTGCAGAAAGAGCGACGCAGCGG (SEQ ID NO.9)。所得编辑材料K01和K02为该基因大片段缺失,导致无法编码相应蛋白。

[0083] 4. ZmARGOS9在玉米抗旱高产中的应用

[0084] 4.1种植实验

[0085] 将KN5585、ZmARGOS9基因缺失突变体(K01和K02)以及ZmARGOS9高表达材料(OE1、OE2和OE3),在田间进行种植实验,种植方法均按如下操作:

[0086] 田间玉米种植厢宽3.5米,行距0.8米,每行种植10穴,每穴2株。采用育苗移栽方式进行种植,穴盘育苗出苗后根据情况去除病苗、弱苗及时查苗补苗匀苗,精细整地后,于2~3叶期进行移栽,移栽时施少量复合肥。常规田间农事操作包括苗期杂草控制,拔节期追肥。大喇叭口时期开始轻度干旱处理。若发现干旱较严重时对干旱处理组适当灌溉补水。各实验组按生长需要正常浇水。最后植株进行开放天然授粉。

[0087] 4.2ZmARGOS9高表达促进玉米生长发育进程并提高产量

[0088] ZmARGOS9基因高表达在种子萌发阶段即表现出对生长的促进作用,而该基因的缺失突变体表现萌发速度更慢(图2中A)。萌发后56天和100天高表达材料株高均高于野生型,而突变体株高低于野生型(图2中B和C)。最终高表达材料的单穗重和单穗粒重明显大于野生型,而突变体的单穗重和单穗粒重小于野生型(图2中D-F)。

[0089] 4.3ZmARGOS9高表达可促进植株发育进程

[0090] ZmARGOS9基因高表达材料的雄穗分支多于野生型,而突变体的雄穗分支少于野生型(图3中A和B)。此外,基因高表达材料的生育期略短于野生型,基因高表达材料的抽雄,散粉,吐丝期均比野生型短3天左右,而突变体材料的抽雄,散粉,吐丝期比野生型推迟1-2天(图3中C-E)。

[0091] 4.4ZmARGOS9高表达增强玉米抗旱能力

[0092] 在田间轻度干旱条件下,ZmARGOS9基因高表达材料的单穗重和单穗粒重仍显著高于野生型,而突变体材料与野生型差异不显著(图4中A和B)。

[0093] 以上所述的实施例仅是对本发明的优选方式进行描述,并非对本发明的范围进行限定,在不脱离本发明设计精神的前提下,本领域普通技术人员对本发明的技术方案做出的各种变形和改进,均应落入本发明权利要求书确定的保护范围内。

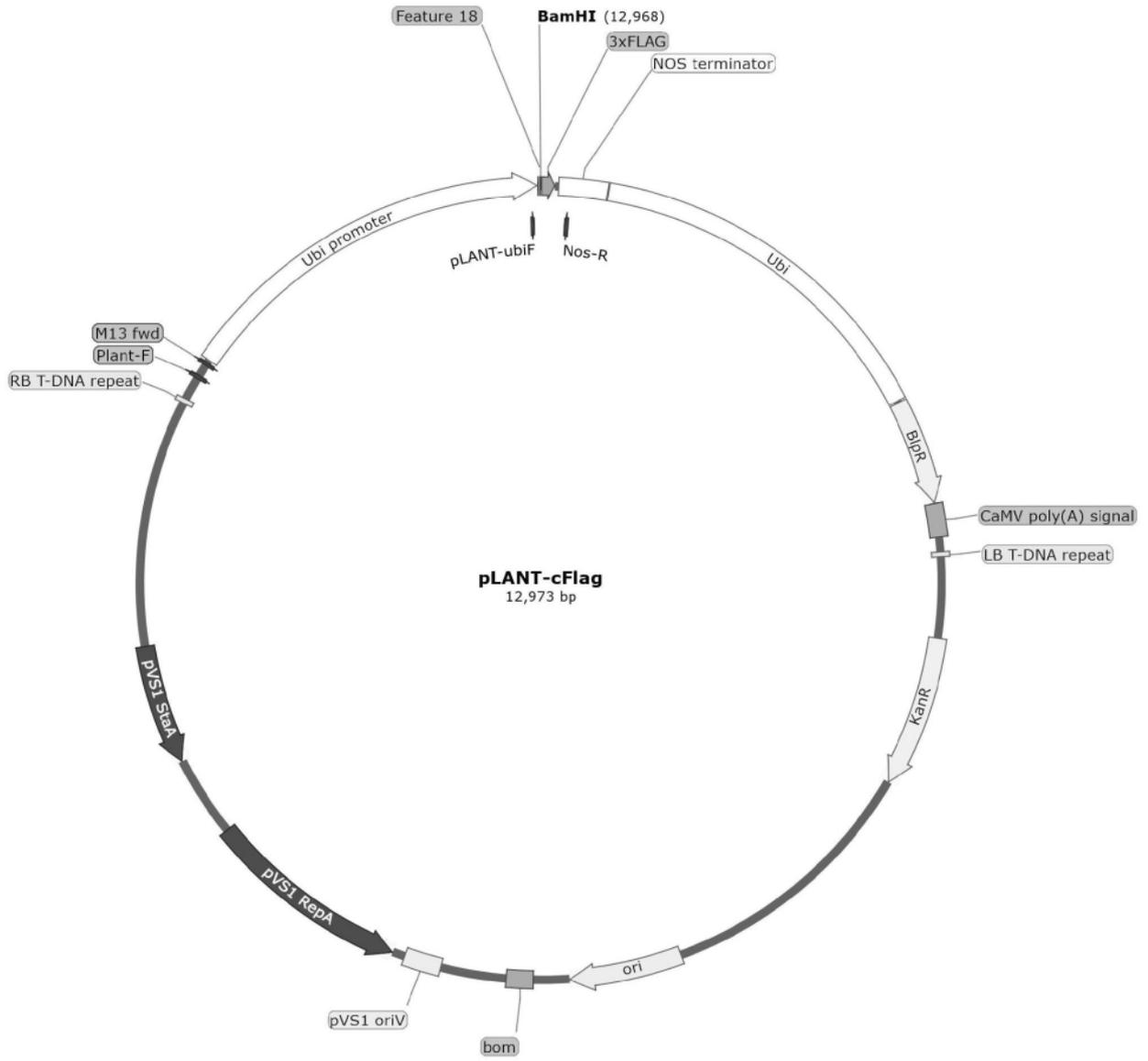


图1

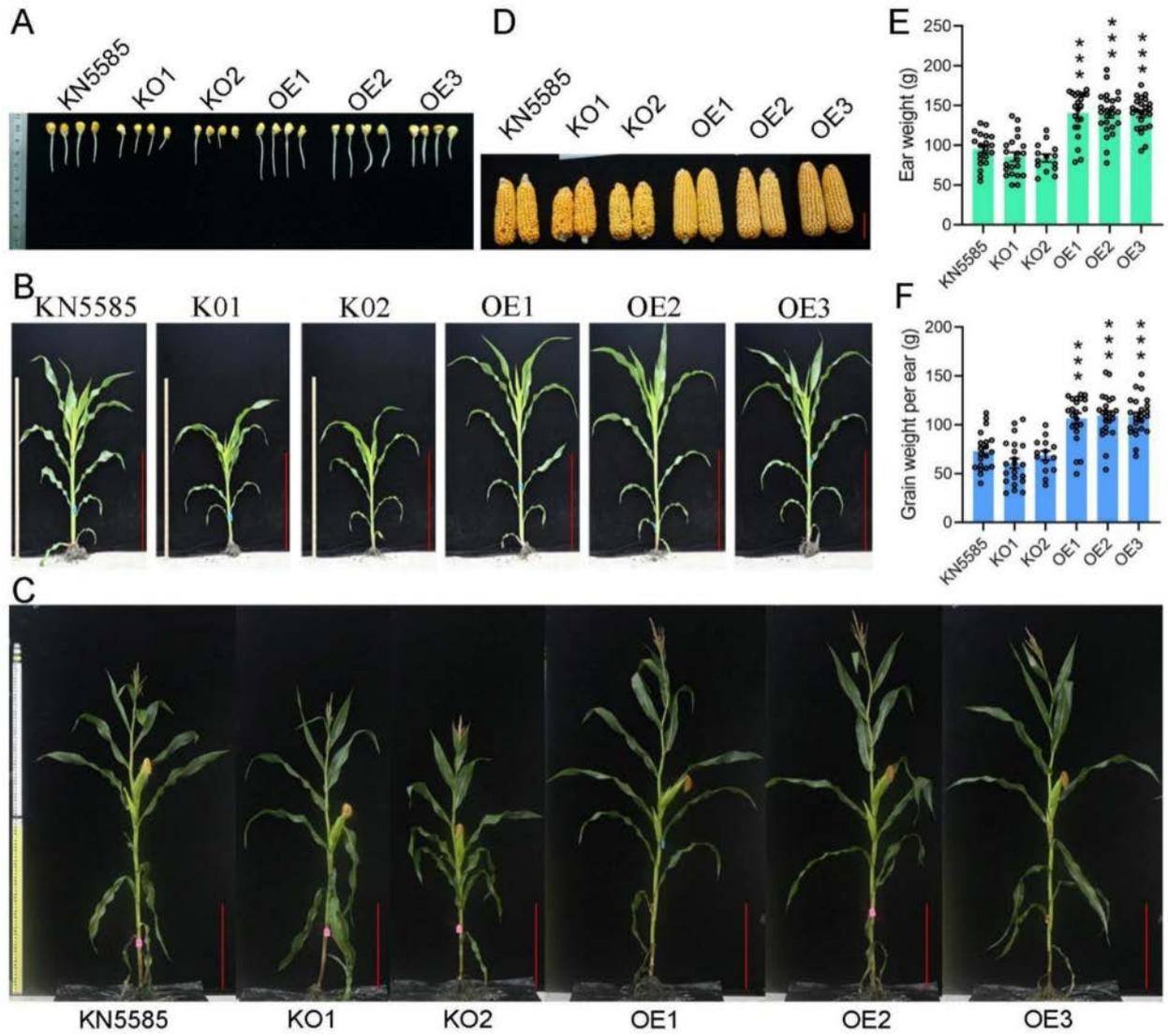


图2

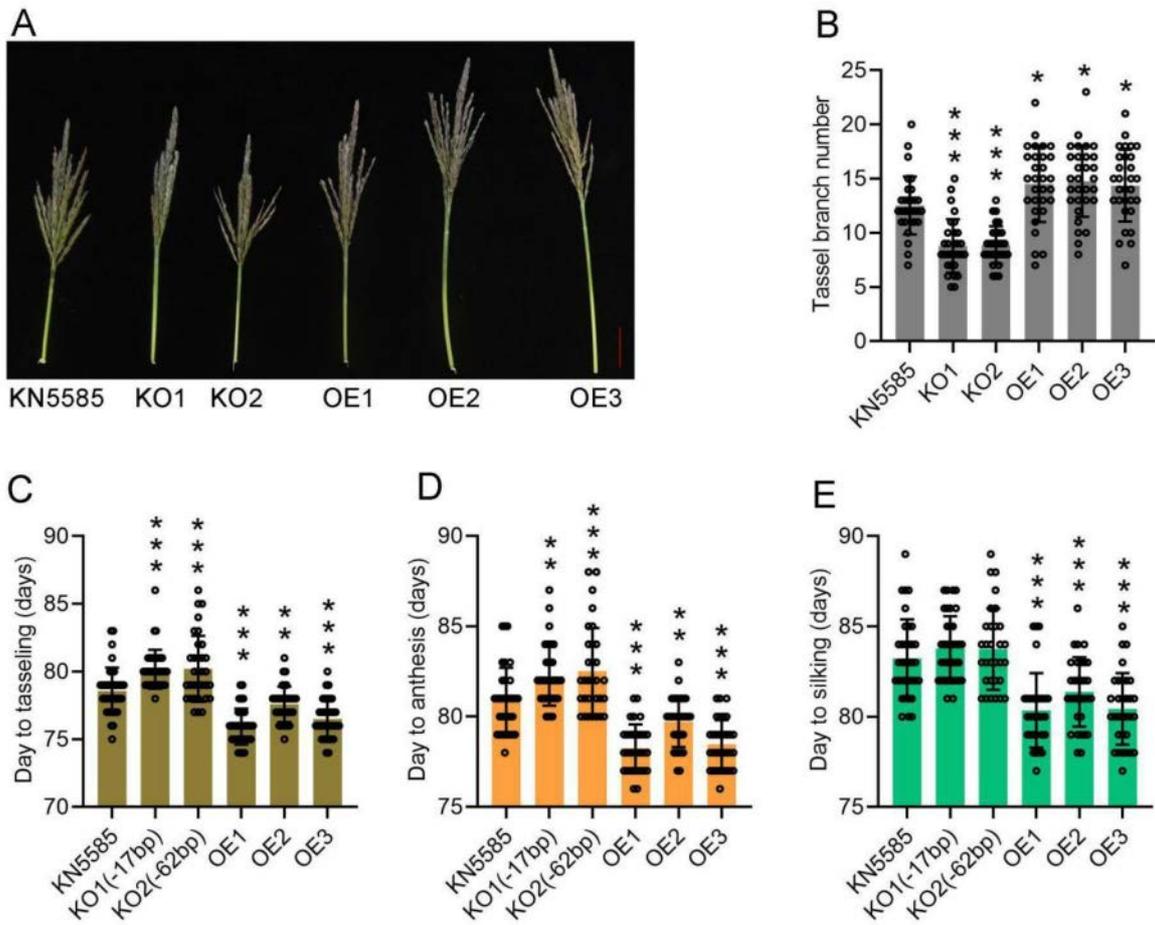


图3

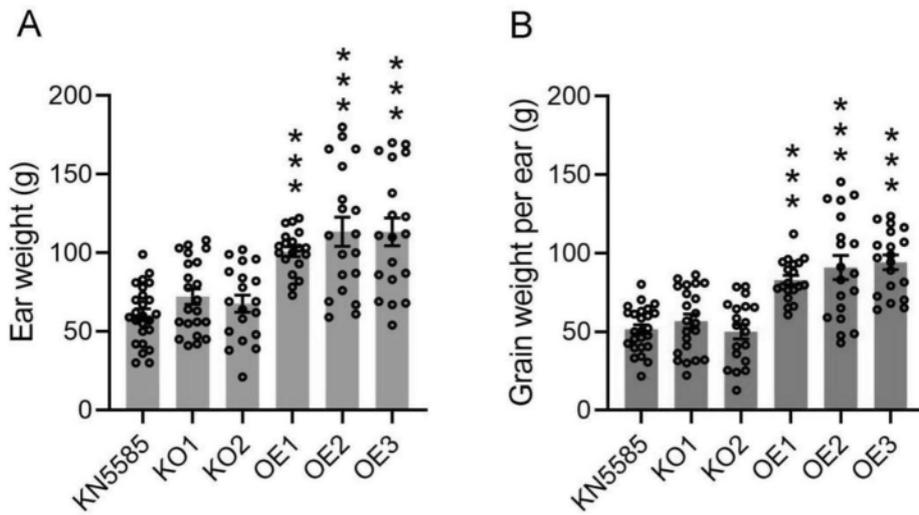


图4