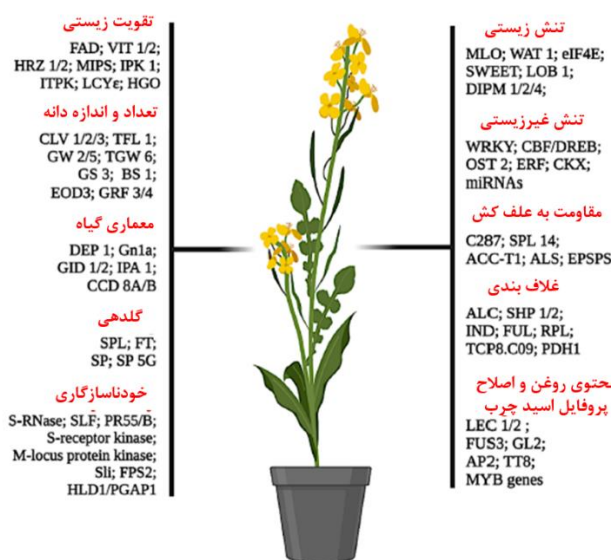


اصلاح ژنوم دانه‌های روغنی Genome editing of oilseeds crops

سارا کیرنتاج

مقدمه

رشد جمعیت، تغییر الگوهای غذایی و بهبود استانداردهای زندگی باعث افزایش تقاضا برای تولید روغن نباتی شده است. از سوی دیگر، گرمایش جهانی، زمین‌های کشاورزی محدود، عوامل تنش غیرزیستی و زیستی تهدیدی برای همگام شدن با این تقاضا هستند. از این رو، بهبود کمیت و کیفیت دانه‌های روغنی یکی از اهداف کلیدی محققان امروزی برای پاسخگویی به تقاضای جهانی است. تا کنون اقدامات متعددی در دانه‌های روغنی جهت ایجاد صفات مطلوب یا از بین بردن ویژگی‌های نامطلوب انجام شده است. صفات اصلی مورد هدف در این گیاهان به طور خلاصه عبارتند از: در سویا تحمل به تنش‌های زیستی (حشره، ویروس)، بهبود صفات زراعی (زمان گلدهی، افزایش عملکرد، نر عقیمی) و صفات کیفی (تقویت رایحه)، در کلزا ویرایش ژنوم جهت افزایش کیفیت (گلوکوزینولات‌ها، تغییر ساختار نشاسته) و صفات زراعی (خود ناسازگاری، تعداد دانه در غلاف، معماری گیاهی و نر عقیمی)، گیاه کاملینا به دلیل کاربرد در تولید بیودیزل برای اصلاح صفات کیفی روغن مانند کاهش PUFA و تغییر ترکیب اسیدهای چرب و گیاه بادام زمینی نیز کاهش آلرژن و افزایش تعداد گره‌ها. صفات هدف احتمالی و ژن‌هایی که می‌توانند در محصولات دانه‌های روغنی ویرایش شوند در شکل ۱ نشان داده شده‌اند و در ادامه به اختصار مورد بحث قرار می‌گیرند.



افزایش محتوی روغن دانه و تغییر کیفیت آن

از آنجایی که دانه‌های روغنی عمدتاً به منظور روغن بذر کشت می‌شوند، هدف اصلی اصلاحی این محصولات افزایش تولید روغن در واحد سطح است. این امر عمدتاً با افزایش عملکرد دانه و همچنین میزان روغن حاصل می‌شود. با این حال، سنتز و تجمع روغن‌ها توسط شبکه‌های ژنی پیچیده کنترل می‌شود و تعامل دقیق بین این شبکه‌ها هنوز نامشخص است و نیاز به درک بیشتر دارد. با این وجود، اطلاعات قابل توجهی در مورد کنترل ژنتیکی تشکیل روغن در دانه و ژن‌های دخیل در این فرآیند وجود دارد. روغن‌ها اساساً به عنوان تری گلیسرول (TAG) ذخیره می‌شوند و ژن‌های کلیدی دخیل در تجمع روغن مانند ژن‌های مسیر آنزیمی Kennedy، سنتازهای اسید چرب، اولئوزین‌ها و همچنین فاکتورهای رونویسی مانند WRKY، LEC1، LEC2، و FUS3 با استفاده از رویکردهای مختلف از جمله ایجاد لاین‌های تراریخته که این ژن‌ها را بیش بیان یا خاموش می‌کنند، شناسایی و از لحاظ عملکردی اعتبارسنجی شده‌اند. تحقیقات نشان می‌دهد هنگامی که ژن‌هایی مانند PEPC1 و PEPEC2A که نقش منفی در بیوسنتز لیپید دارند خاموش شدند، محتوای روغن دانه پنبه به ترتیب ۷/۳ و ۱۶/۷ درصد افزایش یافت. این ژن‌ها می‌توانند اهداف ویرایش ژنوم جهت افزایش محتوای روغن باشند.

کیفیت روغن، که در درجه اول بر اساس مشخصات اسیدهای چرب و آنتی‌اکسیدانت‌های موجود در روغن تعیین می‌شود، نیز اهداف برنامه‌های اصلاح نژادی خاص هستند (Subedi et al. 2020a). گزارش‌هایی از توسعه چنین لاین‌هایی در محصولات دانه‌های روغنی از طریق رویکردهای مختلف از جمله ویرایش ژنوم وجود دارد. همچنین از مهندسی متابولیک ژن‌ها از سایر منابع گیاهی نیز برای تغییر محتوای روغن و مشخصات اسیدهای چرب در محصولات دانه‌های روغنی مانند براسیکا، گلرنگ، پنبه، بادام زمینی و کاملینا استفاده شده است.

افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی

عوامل بیماری‌زا منجر به کاهش ۲۰ تا ۴۰ درصد از عملکرد گیاهان در سطح جهان می‌شوند. گیاهان دارای مجموعه‌ای از ژن‌ها به نام ژن‌های حساسیت (S-genes) هستند که آنها را برای حمله عامل بیماری‌زا مستعد می‌کند. در واقع محصولات ژن S برای استقرار

اولیه، رشد و تکثیر پاتوژن‌های گیاهی ضروری هستند، از این رو، اختلال در این ژن‌ها می‌تواند سازگاری میزبان-پاتوژن را از بین برده و گیاهان را در برابر عمل بیماری‌زا مقاوم کنند. این راهکار با استفاده از خاموشی یا حذف ژن نشان داده شده است، به عنوان مثال، حذف ژن مقاومت به قارچ پودری در گونه‌های گیاهی مانند گندم، انگور و گوجه فرنگی منجر به ایجاد مقاومت در این گیاهان شده است (Zaidi et al. 2018). به غیر از ژن‌های S، ژن‌های زیادی وجود دارند که می‌توانند برای مقاومت در برابر بیماری‌ها هدف قرار گیرند. با این حال، اثرات پلئوتروپیک و اینکه تا چه حد این ژن‌های S شناسایی شده در محصولات مدل از نظر عملکردی در سایر محصولات دانه‌های روغنی حفظ می‌شوند، سوالاتی بی‌پاسخ هستند و تنها پس از پرداختن به این مسائل می‌توان از آنها به عنوان اهدافی برای ویرایش ژنوم در محصولات دانه‌های روغنی استفاده کرد. بنابراین، این احتمال وجود دارد که هدف‌گیری با واسطه CRISPR/Cas برای همولوگ‌های ژن‌های S منجر به ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در محصولات دانه‌های روغنی شود (Ali et al. 2022). تاکنون پنبه و ذرت مقاوم به آفات به صورت تجاری معرفی شده اند.

افزایش مقاومت به تنش‌های غیرزیستی

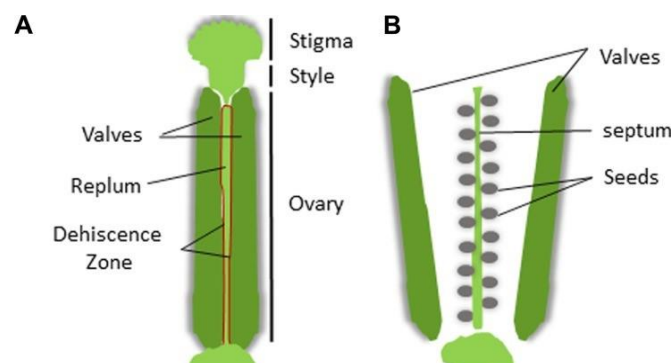
تلاش‌های زیادی برای ویرایش ژن‌های آبشاری سیگنالینگ برای پاسخ به تنش غیرزیستی در محصولات مدل انجام شده است. برای مثال ویرایش ژن کدکننده *Open Stomata 2*، یک پمپ پروتون در *Arabidopsis* باعث افزایش تحمل به خشکی شد (Joshi et al. 2020). همچنین دستکاری سطح سیتوکینین با خاموش‌سازی ژن *cytokinin oxidase/dehydrogenase (CKX)* در ریشه بسیاری از گیاهان زراعی منجر به افزایش مقاومت به خشکی شد (Zalabak et al. 2013). چندین توالی تنظیمی سیس به عنوان تنظیم‌کننده‌های منفی تحمل استرس غیرزیستی عمل می‌کنند. فاکتورهای رونویسی (TFs) مانند *WRKY17* (GhWRKY17)، *GmWRKY13* و *ZmWRKY17*، فاکتور پاسخگو اتیلن (ERF) و *CBF/DREB*، به این توالی‌ها متصل می‌شوند و تحمل استرس غیرزیستی را تنظیم می‌کنند. حضور این چنین توالی‌ها در براسیکا، پنبه و بادام زمینی نیز مشخص شده است و بنابراین پتانسیل ایجاد مقاومت در گیاهان مذکور را دارند. تاکنون از میان دانه‌های روغنی، ذرت و سویا مقاوم به تنش‌های غیر زیستی، تجاری سازی و معرفی شده‌اند.

ایجاد مقاومت به علفکش

از آنجاییکه کنترل دستی علف‌های هرز هزینه بر و زمان بر است کاربرد علف‌کش در صورت وجود ژنوتیپ‌های متحمل به علف‌کش در دانه‌های روغنی، جایگزین مناسبی است. از آنجایی که بیشتر علف‌کش‌ها آنزیم‌های خاص درگیر در مسیرهای متابولیسم اسیدهای آمینه را مهار می‌کنند، اگر آنزیم‌های هدف به گونه‌ای اصلاح شوند که علف‌کش‌ها بر روی آنها اثر نگذارند، گیاهان به علف‌کش‌ها متحمل می‌شوند. تاکنون موتانت‌های متعددی از آنزیم‌های هدف در محصولات مختلف گزارش شده‌اند و با استفاده از آن‌ها به عنوان ژن‌هایی که تحمل علف‌کش را ایجاد می‌کنند، مورد بهره‌برداری قرار گرفته‌اند. سیستم CRISPR/Cas9 با ویرایش ژن‌های کلیدی مانند *5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS)* و استولاکتات سینتاز (ALS) با موفقیت برای معرفی تحمل علف‌کش در محصولات مدل مانند برنج، گندم، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، براسیکا و هندوانه استفاده شده است. تاکنون دانه‌های روغنی کلزا، پنبه، کتان، ذرت و سویا برای این صفت تجاری سازی شده‌اند (Isaaa.org).

به حداقل رساندن آسیب شکستن غلاف

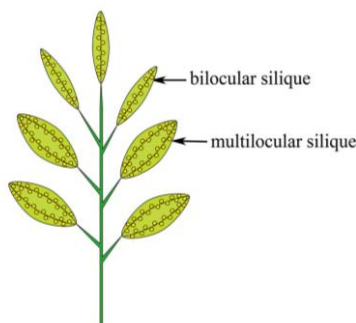
شکستگی غلاف باعث کاهش عملکرد قبل و حین برداشت در محصولات دانه‌های روغنی مانند سویا، کنجد و کلزا می‌شود بنابراین به حداقل رساندن تلفات خرد شدن غلاف یک هدف مهم در اصلاح محصولات دانه‌های روغنی است. شبکه ژنتیکی که در ناحیه dehiscence غلاف بیان می‌شود در *Arabidopsis* به خوبی شناسایی شده است (شکل ۲). فاکتورهای رونویسی Shatterproof 1 (*shp1*) و 2 (*shp2*) فاکتورهای رونویسی پایین دستی یعنی *Indehiscent (Ind)* و *Alcatraz (ALC)* در ناحیه dehiscence را کنترل می‌کنند. مطالعات نشان داد جهش در ژن‌های *shp1*، *shp2* و *Ind* منجر به تولید غلاف کاملاً ناشکوفاً در آراییدوپسیس شد (Liljegen et al. 2000). همچنین ویرایش ALC منجر به ایجاد مقاومت بیشتر در ریزش دانه کلزا شد (Braatz et al. 2017). به طور کلی، بهینه سازی همولوگ هر یک از ژن‌هایی که با شکستن غلاف در سایر محصولات مرتبط است، می‌تواند شکستگی غلاف در محصولات دانه‌های روغنی را به حداقل برساند (شکل ۱).



ناحیه dehiscence در شکل A به رنگ قرمز نشان داده شده است (Dadrik and Callahan, 2014)

تنظیم ژن های مربوط به اندازه و تعداد دانه

دستکاری صفاتی مانند انشعاب گل آذین، ساختار غلاف، اندازه و تعداد دانه‌های تولید شده توسط گیاه تأثیر زیادی بر روی مقدار بذر تولیدی در دانه‌های روغنی خواهد داشت. برای مثال فنوتیپ **غلاف چند حفره ای** با ویرایش دقیق همولوگ‌های ژن‌های مرتبط با رشد CLV 1/2/3 در کلزا حاصل شده است (شکل ۳) (Yang et al. 2018). به طور مشابه، ویرایش ژن BnnEOD3 منجر به افزایش تعداد دانه در غلاف کلزا شد (Khan et al. 2020). حذف ژن Big seeds 1 (BS1)، یک تنظیم کننده منفی اندازه اندام های گیاهی به طور محسوسی اندازه دانه در گیاهان لگومیناسه مانند سویا را افزایش داده است (Ge et al. 2016). بنابراین، اگر همولوگ ژن‌های کنترل کننده منفی اندازه دانه مختل شود، زمینه زیادی برای افزایش اندازه بذور دانه‌های روغنی، به ویژه در محصولاتی مانند کنجد و خردل وجود دارد.



غلاف چند حفره ای (Chow et al., 2023)

اصلاح ژن‌های مربوط به معماری گیاهی

اصل موفقیت انقلاب سبز، معماری گیاهی بوده است چرا که ساختار محصولات زراعی بر بسیاری از صفات مهم کشاورزی به ویژه عملکرد تأثیر می‌گذارد. موضوع اصلی در چنین دستکاری‌هایی تغییر معماری گیاه با افزایش یا کاهش تعداد شاخه‌ها، تغییر ارتفاع، انواع شاخه‌دار پایینی یا بالایی، کاهش دوره رشدی و غیره است. برای مثال در کرچک، نیاز به توسعه معماری گیاهی مناسب برای برداشت مکانیکی وجود دارد. در سایر محصولات زراعی مانند کنجد، عدم وجود انواع شاخه دار با ساقه مستقیم به منظور کاشت با تراکم بالا الزامی است. ژن‌هایی در گیاهان گزارش شده است که معماری گیاه را تغییر می‌دهند. هورمون گیاهی جیبرلیک اسید (GA) نقش حیاتی در رشد و نمو دارد. GA بر تجزیه پروتئین DELLA تأثیر می‌گذارد که به نوبه خود توسط دو پروتئین، یعنی گیرنده جیبرلین GID 1 (Gibberellin Insensitive Dwarf 1) و پروتئین F-box GID 2 (Gibberellin Insensitive Dwarf 2) تنظیم می‌شود. از دست دادن عملکرد GID 1 و GID 2 در گیاه برنج تعداد بیشتری از شاخه‌ها و برگ‌ها را ایجاد کرده است (Wu et al. 2020). در یک مطالعه جالب در گیاه کرچک، ژن کاندید درگیر در کوتولگی شناسایی شده است (Wang et al. 2021). هر یک از این ژن‌های هدف را می‌توان برای اصلاح معماری گیاه از طریق ویرایش ژنوم استفاده کرد.

عادات گلدهی

مدت زمان گلدهی و همچنین عادات گلدهی محدود و نامحدود در گیاهان زراعی بسیار حیاتی هستند چرا که آنها را قادر می‌سازد تا در فصل‌ها و سیستم‌های مختلف زراعی قابل کشت باشند. در بررسی القای گلدهی زودرس، ویرایش دو ژن Self-Pruning (SP) و Self-Pruning 5G (SP 5G) که به عنوان مهارکننده گل عمل می‌کنند، منجر به ایجاد ژنوتیپ‌های زودرس در گوجه فرنگی شد (Soyk et al. 2017). جالب توجه است که در جهش یافته‌های دوتایی GmFT2a/GmFT5a گیاه سویا، همولوگ‌های Flowering Locus T (FT) و فاکتور رونویسی Squamosa Promoter Binding Protein-like (SPL)، تولید تعداد بذر بیشتری (۲۵۰٪) در مقایسه با نوع وحشی در شرایط روز کوتاه نشان دادند. اما بررسی مشابه در *B. juncea* و *B. napus* نتایج متفاوتی را نشان دادند بود. بنابراین، ارزیابی تجربی دقیق ژن‌های هدف در سیستم‌های مختلف بسیار مهم است.

تقویت زیستی

غنی سازی محصولات غذایی به کمک افزایش فراهمی زیستی به روشی بسیار موثر می‌تواند منجر به بهبود سوء تغذیه جمعیت انسانی شوند. تقویت زیستی محصولات تجاری از طریق اصلاح نژاد، بیوتکنولوژی و شیوه‌های کشاورزی مورد توجه قرار می‌گیرند. تقویت زیستی محصولات به کمک انتقال ژن به منظور اصلاح میزان ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب ضروری و اسیدهای آمینه، آنتی اکسیدانت‌ها و نشاسته انجام گرفته است. در روش‌های بیوتکنولوژیکی ژن‌های (های) دخیل در افزایش مقدار مواد مغذی یا فراهمی زیستی آنها، مورد دستکاری ژنتیکی قرار گرفته است. ژن Fatty Acid Desaturase (FAD) آنزیمی را رمزگذاری می‌کند که اسید اولئیک با ارزش بالا را به اسید لینولئیک محصول کم ارزش تبدیل می‌کند. محققان از این ژن در گیاه کاملینا، بادام زمینی، سویا، پنبه، برنج و براسیکا برای تولید محصولات تجاری با اسید اولئیک بالا بهره برداری کرده‌اند (Chen et al. 2021; Siddique 2022). همچنین محققین با جهش در ژن *homogentisate dioxygenase* (HGO) موفق به افزایش میزان ویتامین E در گیاه سویا شده‌اند (Stacey et al. 2016). اینوزیتول-۳-فسفات سنتاز (MIPS)، اینوزیتول-۴،۵،۶،۱-پنتاکس فسفات ۲-کیناز (IPK) و اینوزیتول تری فسفات کیناز (ITPK) منجر به افزایش ریزمغذی‌هایی مانند روی، کلسیم، فسفات و منیزیم در سویا شدند (Jianing et al. 2022; Siddique 2022). با شناسایی ژن‌های موثر در تقویت زیستی دانه‌های روغنی، راه‌های متعددی جهت ویرایش ژنوم و بهبود ارزش غذایی این محصولات وجود خواهد داشت.

خود ناسازگاری

گرده افشانی و لقاح منجر به تولید بذر می‌شود که بخش اقتصادی‌های روغنی را تشکیل می‌دهد. خود ناسازگاری (SI) ایجاد لاین‌های اینبرد را مختل می‌کند بنابراین شکستن خودناسازگاری یک هدف اصلاحی در محصولات دانه‌های روغنی مانند نیجر و براسیکا محسوب می‌شود. خودسازگاری (SC) با ویرایش برخی از ژن‌های حیاتی مانند S-RNase، پروتئین (SLF) F-box، PR55/B، گیرنده S کیناز و M-locus پروتئین کیناز در سیب زمینی، کلم و کلزا به خوبی حاصل شده‌است (Shin et al. 2022). دانش کنونی ویرایش ژن، امکان غلبه بر SI/SC در محصولات دانه‌های روغنی برای ایجاد نژادهای جدید را افزایش داده‌اند.

اهلی کردن گیاهان وحشی دانه‌های روغنی

خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی گنجینه‌ای از بسیاری از صفات مهم زراعی را تشکیل می‌دهند، اما به دلیل وجود چند ویژگی نامطلوب از جمله طبیعت وحشی و علفی، شاخص برداشت کمتر و غیره برای کشت انبوه مناسب نیستند. جهت مناسب سازی این ارقام برای کشت گسترده، دانشمندان شروع به اصلاح صفات و اهلی سازی آنها با استفاده از ابزارهای ویرایش ژنومی کرده‌اند که منجر به توسعه واریانت‌ها یا ژنوتیپ‌های جدیدی می‌شود که دارای ویژگی‌های زراعی مطلوب و موردنیاز در مقایسه با انواع وحشی هستند. اهلی‌سازی گوجه‌فرنگی وحشی روز خنثی با ویرایش ژن SELF-PRUNING 5G (SP5G) منجر به ایجاد عادت رشد و گل‌دهی سریع شد (Soyk et al. 2017). اهلی شدن دانه‌های روغنی مانند بادام زمینی، آفتابگردان و گلرنگ ممکن است با جهش در ژن SP5G در خویشاوندان وحشی این گیاهان انجام شود. برای ایجاد ارقام تازه اهلی‌شده، ممکن است بتوان ژن‌هایی را هدف قرار داد که به بقا، گسترش و ویژگی‌هایی مانند خرد شدن غلاف، معماری گیاه، اندازه و تعداد دانه، گلدهی و دوره نوری مرتبط هستند.

- Qurban, A., Q., Chenjie, Y., Amjad, H., Mohsin, Ali., Sunny, Ahmar., Muhammad Aamir, Sohail., Muhammad, R., Muhammad Furqan, A., Dyaaladin, A., Xiukang, W., Muhammad, Imran., Hakim, M., Lei, Z. 2022. Genome engineering technology for durable disease resistance: recent progress and future outlooks for sustainable agriculture. *Front Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.860281>
- Braatz, J., Harloff, H., Mascher, M., Stein, N., Himmelbach, A., Jung, C. 2017. CRISPR-Cas9 Targeted Mutagenesis Leads to Simultaneous Modification of Different Homoeologous Gene Copies in Polyploid Oilseed Rape (*Brassica napus*), *Plant Physiology*, Volume 174, Issue 2, June 2017, Pages 935–942, <https://doi.org/10.1104/pp.17.00426>
- Yizhen, C., Mingchuan, F., Hao, L., Ligu, W., Renzhong, L., Zhanji, L., Xianlong, Z., Shuangxia, J. 2012. High-oleic acid content, nontransgenic allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) generated by knockout of GhFAD2 genes with CRISPR/Cas9 system. *Plant Biotechnol J* 19:424–426. <https://doi.org/10.1111/pbi.13507>
- Dardick, C., Callahan, A.M. 2014. Evolution of the fruit endocarp: molecular mechanisms underlying adaptations in seed protection and dispersal strategies. *Frontiers in Plant Science*. 5. DOI=10.3389/fpls.2014.00284
- Liangfa, G., Jianbin, Y., Hongliang, W., Rujin, C. 2016. Increasing seed size and quality by manipulating BIG SEEDS1 in legume species. *Proc Natl Acad Sci* 113:12414–12419. <https://doi.org/10.1073/pnas.1611763113>
- Hiu, TC., Timmy, K., Rebecca, A. 2023. Mosher, A novel CLAVATA1 mutation causes multilocularity in , *Plant Direct*, 10.1002/pld3.476, 7, 1.
- Wenzhi, J., Huanbin, Z., Honghao, B., Michael, F., Bing, Y., Donald, P.W. 2022. CRISPR/Cas9 applications for improvement of soybeans, current scenarios, and future perspectives. *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca* 50:12678. <https://doi.org/10.15835/nbha50212678>
- Joshi, R.K., Bharat, S.S., Mishra, R. 2020. Engineering drought tolerance in plants through CRISPR/Cas genome editing. *3 Biotech* 10:400. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02390-3>
- Muhammad, H.U.K., Limin, H., Miaoshan, Z., Yungu, Z., Shahid, U.K., Sunny, A., Olalekan, A., Kungpeng, Z., Chuchuan, F., Yongming, Z. 2020. Targeted mutagenesis of EOD3 gene in *Brassica napus* L. regulates seed production. *J Cell Physiol* 236:1996–2007. <https://doi.org/10.1002/jcp.29986>
- Liljegren, S.J., Ditta G.S., Eshed, Y., Savidge, Beth., Bowman J.L., Y, Martin. 2000. SHATTERPROOF MADS-box genes control seed dispersal in *Arabidopsis*. *Nature* 404:766–770. <https://doi.org/10.1038/35008089>
- Shin, N.R., Shin, Y.H., Kim, H.S., Park, Y.D. 2022. Function analysis of the PR55/B gene related to self-incompatibility in Chinese cabbage using CRISPR/Cas9. *Int J Mol Sci* 23:5062. <https://doi.org/10.3390/ijms23095062>
- Siddique, S. 2022. Role of CRISPR/Cas9 in soybean (*Glycine max* L) quality improvement. In: *Soybean - recent advances in research and applications*. IntechOpen

- Sebastian, S., Niels, A.M., Soon, J.P., Inga, S., Ke, J., Ryosuke, H., Lei, Z., Joyce, V.E., José, M.J., Zachary, B.L. 2017. Variation in the flowering gene SELF PRUNING 5G promotes day-neutrality and early yield in tomato. *Nat Genet* 49:162–168. <https://doi.org/10.1038/ng.3733>
- Minviluz, G.S., Rebecca, E.C., Hanh, T.N., Yaya, C., Shirley, S., Cuong, T.N., Nongnat, P., Kerry, M.C., Yan, L., Joe, F., Josef, B., Phat, T.D., David, A.S., Thomas, E.C., Edgar, B.C., Gary, S. 2016. Identification of homogentisate dioxygenase as a target for vitamin E biofortification in oilseeds. *Plant Physiol* 172:1506–1518. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00941>
- Udaya, S., Kethmi, N.J., Xue, P., Jocelyn, O., Guanqun, C., Nora, A.F., Stacy, D.S. 2020. The potential of genome editing for improving seed oil content and fatty acid composition in oilseed crops. *Lipids Lipid*. <https://doi.org/10.1002/lipd.12249>
- Zaiqing, W., Anmin, Y.u., Fei, L., Wei, X., Bing, H., Xiaomao, C., Aizhong, L. 2021. Bulk segregant analysis reveals candidate genes responsible for dwarf formation in woody oilseed crop castor bean. *Sci Rep* 11:6277. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85644-1>
- Minshu, Y., Xiaozhen, Z., Haoran, S., Jingrong, S., Chen, L., Yufang, S., Shiqing, L. 2020. Enhanced sustainable green revolution yield via nitrogen-responsive chromatin modulation in rice. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.aaz2046>
- Yang, Y., Zhu, K., Li, H., Han, S., Meng, Q., Khan, S.U., Fan, C., Xie, K., Zhou, Y. (2018) Precise editing of CLAVATA genes in *Brassica napus* L. regulates multilocular silique development. *Plant Biotechnol J* 16:1322–1335. <https://doi.org/10.1111/pbi.12872>
- Zaidi, S.S.A., Mukhtar, M.S., Mansoor, S. 2018. Genome editing: targeting susceptibility genes for plant disease resistance. *Trends Biotechnol* 36:898–906. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.04.005>
- David, Z., Hana, P., Mária, Š., Katarína, M., Ivo, F., Petr, Ga. 2013. Genetic engineering of cytokinin metabolism: prospective way to improve agricultural traits of crop plants. *Biotechnol Adv* 31:97–117. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.12.003>