

水稻披垂叶突变基因研究进展

夏建彬, 李明星, 刘辉, 陈晓龙 (浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江金华 321004)

摘要 水稻是重要的粮食作物, 全球有超过 50% 的人口以稻米作为主食。同时水稻又作为一种模式生物被各大研究机构所研究。水稻披垂叶突变体是由于控制水稻中脉形成的基因发生突变, 导致基因发生功能缺失, 使水稻叶片中脉的形成不能正常进行, 从而出现披垂叶的性状。目前已经发现 2 个基因位点与水稻中脉形成有关, *DL* 和 *DL2* 基因正是这 2 个不同的位点。研究水稻披垂叶突变基因, 对研究水稻中脉的形成以及水稻理想株型的选育有重要的意义。对水稻披垂叶突变基因的研究进展进行综述, 以对水稻这一类特殊株型得到更好地了解。

关键词 水稻; 披垂叶; 突变基因

中图分类号 S511 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)29-0020-03

Research Progress of Rice Drooping Leaf Mutant Genes

XIA Jian-bin, LI Ming-xing, LIU Hui et al (College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004)

Abstract Rice is an important food crop in the world, with a population of over 50% people with rice as the staple food. At the same time, rice as a model organism is studied by major research institutes. Rice drooping leaf mutants was due to the formation of rice midrib gene mutation, gene deletion can lead to the formation of power, can not be normal in rice leaves midrib, which appeared drooping leaf characters. It was found that two gene loci formed with rice *DL* and *DL2* genes on midvein, they were the two different sites. The research of rice drooping leaf mutant gene, has focused on the formation of the research of rice leaf midrib and breeding of rice ideotype. In this paper, we will review the research progress of rice drooping leaf mutant genes, and hope to get a better understanding of the specific plant types of rice.

Key words Rice; Drooping leaf; Mutant genes

水稻披垂叶突变体是由于控制水稻中脉发育的基因发生突变而导致的一种特殊的水稻株型。到目前为止已经定位到 2 个有关水稻中脉发育的基因位点。

研究发现, *DL* 基因的组成型表达会促进细胞沿着叶原基的轴增殖, 形成支撑植物叶片直立伸长的中脉, 从而保证叶片能够直立生长。携带 *DL* 功能缺失的突变体植株不能形成完整的中脉, 结果导致植株叶片下垂, 从而形成披垂叶的性状。另外, 在花中, *DL* 基因严重的突变会引起心皮向雄蕊同源转换。若在植物中携带 *DL* 弱等位基因, 则会使心皮的数量增加和体积增大, 这表示花分生组织的确定性被部分还原。

在后来的研究中又发现了一种新的披垂叶突变体, 而且经过定位得知该基因并不是在 3 号染色体上, 而是在另一条染色体 1 号染色体上, 与先前报道的 *DL* 的基因位点并不相同。

水稻披垂叶突变体最初来源于国际水稻研究所, RGS20 (国际水稻研究所育成的) 及其衍生系^[1]。在后续的研究中, 通过一系列的途径获得了许多不同的水稻披垂叶突变体植株, 包括化学诱变、组织培养以及杂交选育等等, 目前已报道的披垂叶突变体大多都是在 *DL* 基因处发生了等位突变, 国内外许多研究证实 *DL* 的等位基因位于 3 号染色体的短臂上, 控制着花器官的发育和叶片中脉的形成。另外, 有报道指出, 在 1 号染色体上也存在控制水稻叶形的基因 *DL2*, 突变体同样导致垂叶的表型, 研究者将突变基因命名为 *dl2*。

1 水稻披垂叶突变体的一般表型特征

水稻叶片呈长披针形, 均匀地分布着许多平行的纵走脉

纹。在发育中的叶片, 在中脉结构形成之前, 近轴中心区域的中心维管束通过细胞增殖增厚。这些细胞增殖为中脉的形成提供了足够的细胞。中脉是保持叶片直立性的一个重要因素, 是叶原基附近的细胞增殖形成的。披垂叶性状的形成多是因为细胞不能正常地沿着叶原基的轴增殖, 不能形成中脉, 从而出现披垂叶表型。研究发现, 水稻 *dl* 突变体的叶片和叶鞘不能形成中脉, 而且缺少足够发达的清除细胞, 在中脉的位置形成小的侧脉, 不过水稻叶片的其他结构均是正常的^[2]。水稻叶片的形态是影响水稻光合作用的重要因素, 叶片接受光的面积是光合作用的重要影响因子, 而叶片的形态势必会影响植株的光合作用, 从而影响水稻植株的生长发育, 进而影响水稻产量。

水稻 *DL* 基因是一种多效基因, 它不仅控制着水稻叶片中脉的形成, 同时还影响花器官的发育。因此, 在许多水稻披垂叶突变体中, 往往还伴随着花器官发育的异常, 如雌蕊雄蕊化、雌蕊柱头数量增加等。另外, 由于花器官的异常, 还会导致水稻的不育。

2 水稻披垂叶突变体的遗传类型

据国内外研究表明, 控制水稻披垂叶性状的基因都是隐性基因, 且稳定遗传。由于研究材料的不同, 主要有单隐性遗传和 2 对隐性基因控制的遗传。张小祥等^[3]利用 3 个水稻披垂叶材料 MR304、MR312、MR168 进行研究, 其中, MR304 披垂叶性状受 2 对基因控制, 其中 1 对为主效基因, 而其他的 2 个材料均为 1 对隐性基因控制的性状。王楠等^[4]用突变体 *dl(t)* 作父本, Y2B 和缙香 2B 作母本 2 种杂交组合, 得到的 F_1 植株全部为正常植株, 而 F_2 代群体则有 1/4 表现为突变体表型, 也说明该突变体由 1 对隐性基因控制。王永全^[5]观察 *dl-5* 突变体与野生型杂交的 F_1 代表型与野生型一样, F_2 代野生型与突变型的比例为 3:1, 说明其突变表型是由一对

隐性基因控制。

3 水稻披垂叶突变基因的定位和功能分析

到目前为止,已经发现了 2 个披垂叶相关基因 *DL* 和 *DL2*,并且已经成功克隆 *DL* 基因。Nagasawa 等^[2]通过形态学标记将突变 *DL* 基因定位在水稻 3 号染色体上。Huang 等^[6]将 *DL2* 基因定位在 1 号染色体上,这与先前报道的 *dl* 等位基因位于 3 号染色体上不同。

3.1 水稻 *DL* 基因的定位和功能分析 Nagasawa 等^[2]通过形态标记把突变基因的 *DL* 座位定位于水稻第 3 染色体短臂上距端粒 50 cM 的位置,并且与连锁的分子标记相距 16.6 cM; Yamaguchi 等^[7]通过图位克隆的方法,进行一系列的序列分析,将突变基因定位在 3 号染色体大约 10 kb 的区域内,并发现 *DL* 基因正是目的野生基因;罗琼等^[8]对 *W*-



注:黑色方框为外显子,黑色线条为内含子

Note: Black pane is exon, black line is intron

图 1 *DL* 基因的结构

Fig. 1 Structure of *DL* gene

水稻披垂叶基因(*DL*)在水稻植株发育过程中有重要的作用,并且与水稻叶片中脉的形成及花中心皮的特化密切相关^[7]。*DL* 基因编码一种假定的转录因子,含有锌指蛋白和螺旋-环-螺旋结构域。分子克隆揭示了 *DL* 基因是 *YABBY* 基因家族的一员,像 *YABBY* 基因家族的其他成员一样,*DL* 基因包含许多内含子和外显子^[10],而且与拟南芥 *CRABS CLAW* (*CRC*) 基因密切相关。或轻或重的 *dl* 等位基因都导致水稻中脉不能形成。对 *dl* 突变体进行表型分析,同时结合空间表达模式 and *DL* 基因的异位表达,证明 *DL* 基因通过促进细胞增殖调控水稻叶片中心区域的中脉形成。

大量的科研报道已经指出,许多水稻披垂叶突变体都是在 *DL* 基因处发生的等位突变,目前为止已经有 10 多个 *DL* 基因的等位突变被克隆到(表 1),像 Nagasawa 得到的 *dl-1*、*dl-2*、*dl-sup1*、*dl-sup2* 等等。这些等位突变分布在这些位点上^[8]。由于 *DL* 基因功能的多效性,往往会导致水稻披垂叶以及花器官发育的异常。

dl-1 突变体的花有 40% 表现异常,雌蕊有 3~4 个柱头,极少数的花出现雌蕊雄蕊化,结实率略低于野生型。*dl-2* 是一种弱等为突变,它的花基本正常,只有少数花的雌蕊有 3 个柱头,是已发现的所有花等位突变体中表型最弱的一个。*dl-sup1* 和 *dl-sup2* 的表型几乎完全相同,它们的雌蕊完全异化为雄蕊,而原来的雄蕊的数量和位置都没有受到影响,这些异位雄蕊交替生于原来雌蕊的位置上。

王永全^[5]发现一个新的披垂叶突变体 *dl-5*,突变体的表型为雌蕊异化为多轮同轴同侧生长的叶片状器官,叶片披垂。通过图位克隆方法将突变基因定位在 3 号染色体短臂上 21 kb 区域内,这个区域正是 *DL* 基因所处的位置。*dl-5* 突变体突变导致基因发生碱基的替换,锌指结构域位

255 突变体进行研究,用分子标记将控制披垂叶性状的基因定位在第 3 染色体短臂上 2 个相近的分子标记 R3156 和 R3126 之间,并把该基因暂时命名为 *DL(t)*,推测该基因很可能是 *DL* 基因家族中一个新的等位基因;王彬等^[9]利用 SSR 分子标记将控制披叶性状的相关基因定位在第 3 染色体上,位于 RM563 与 RM282 之间;王楠等^[4]将 *dl(t)* 控制披叶性状的基因定位在第 3 染色体 RM6038 和 RM7576 之间,分别相距 3.99、0.47 cM,且与 RM3124 共分离。

通过进一步的序列分析得出,*DL* 基因大约 7.4 kb 碱基,包括 7 个外显子和它们之间的 6 个内含子(图 1)。CDS 全长为 591 bp,编码 196 个氨基酸组成的假定的一个 *YABBY* 蛋白域及一个锌指结合域。

点发生突变,导致突变表型。

另外,还有许多 *DL* 等位突变体被鉴定到。王军等^[11]将 *dl-6* 定位在水稻第 3 号染色体的短臂上 85kb 的区域内。它的第 1 个外显子存在 1 个单碱基突变,导致野氨基酸发生突变,即半胱氨酸突变为精氨酸;同时突变体 *dl-6* 在 *YABBY* 基因的 3' 端还存在 8 个碱基的缺失^[11]。GS156S 披垂叶突变体是由 1 对隐性基因控制的披垂叶突变体,而且基因同样位于 3 号染色体短臂上^[12],并且利用披垂叶标记进行不育系选育工作^[13]。

表 1 已克隆的水稻披垂叶突变体基因

Table 1 Mutant genes cloned of rice drooping leaf

突变基因 Mutant gene	突变位置 Mutant position	突变方式 Mutant method	突变表型 Mutant phenotype
<i>dl-1</i>	3 号染色体短臂	—	雌蕊雄蕊化,披垂叶
<i>dl-2</i>	3 号染色体短臂	—	弱突变,少数花异常
<i>dl-3</i>	3 号染色体短臂	—	心皮异化,披垂叶
<i>dl-4</i>	第 5 个外显子	点突变	弱突变,少数花异常
<i>dl-5</i>	第 2 个外显子	点突变	雌蕊异化为叶片,披垂叶
<i>dl-sup1</i>	RNA 剪接处	点突变	雌蕊完全雄蕊化
<i>dl-sup2</i>	RNA 剪接处	点突变	雌蕊完全雄蕊化
<i>dl-sup3</i>	第 1 个内含子	序列插入 ^[14]	心皮异化为异位雄蕊
<i>dl-sup4</i>	第 1 个外显子到第 4 个外显子	序列缺失	心皮异化为异位雄蕊
<i>dl-sup5</i>	RNA 剪接处	点突变	心皮异化为异位雄蕊
<i>dl-sup6</i>	第 2 个内含子	序列插入	心皮异化为异位雄蕊

3.2 水稻 *DL2* 披垂叶基因定位和功能分析 Huang 等^[6]发现一种新的水稻披垂叶突变体,并将其命名为 *dl2*。通过基因分析证明 *dl2* 突变体的垂叶性状由一对单隐性基因控制。并且将 *DL2* 基因定位在 1 号染色体上,位于 2 个 SSR 引物 RM1 和 RM302 之间,这与先前报道的水稻在 3 号染色体上

的 *DL* 基因不同。

Huang 等^[6]表征了水稻 *dl2* 突变体的表型特征。*dl2* 突变等位基因影响了中脉的发育和叶总脉络模式。叶片解剖结果显示, *dl2* 突变体的中脉缺少清除细胞和近轴小维管束, 这可能引起水稻披垂叶的表型。*dl2* 叶片含有更多的小叶脉, 而且 *dl2* 叶片维管束的大小也会发生变化。并且, 也在 *dl2* 的根中发现类似的解剖学变化。*dl2* 根的中心维管束处的木质部和韧皮部数量也有所减少。另外, 在 *dl2* 突变体中, 营养体发育叶发生相对的改变, 比如叶片长度变长, 不定根和侧根数量减少等等。对 *dl2* 进行更深层次的研究结果显示, *dl2* 维管模式扭曲与一个有缺陷的 PAT (极性运输) 活性和对不同种类的极性生长素转运抑制剂的敏感性有关^[15]。

叶片维管系统分化和脉络模式在运输营养物质和保持植物形态方面起着至关重要的作用, 这对提高光合效率来说也是一个重要的农艺性状。调查发现, 无中脉的 *dl2* 水稻突变体的叶片维管分化相关的蛋白质组和转录组在全基因组表达。通过 DGE 和 iTRAQ 技术调查得到转录物和蛋白质的丰富度差异。转录组和蛋白质组表达谱相关性不大, 但转录和蛋白水平有适度的相关性。另外, 根据功能注释, 发现一些差异表达的蛋白质 (DEPs) 可能与叶维管模式有关。

4 展望

水稻披垂叶突变体的垂叶表型是由于控制水稻叶片中脉形成的基因发生突变引起的。先前的报道指出, 许多水稻披垂叶突变体的形成皆是由于多效基因 *DL* 基因的突变引起。并且在该基因位点发现许多等位突变体。而且也发现 *DL* 基因的不同位点, 例如不同的内含子外显子的突变, 都有可能引起不同程度的表型突变。不过最近研究又发现新的基因位点, 不同于先前报道的 *DL* 基因位点, 不过这一基因还有待进一步的研究。这也使水稻披垂叶突变体的研究呈现出更加多样化的趋势, 给先前大众对披垂叶的研究带来新的方向。

另外, 国内外许多报道指出, 许多披垂叶突变体可以通过选育得出具有不育性状的突变体, 由于具有披垂叶这一特殊而又明显的表型, 使得育种更具有定向性, 若能够选育出披叶不育株系, 可以提高选育的效率, 并且能降低选育的成本, 有利于更加有效地进行相关的育种工作。

参考文献

- [1] 李勤修. 水稻披叶不育系选育[J]. 西南农业学报, 1994(3): 45-48.
 - [2] NAGASAWA N, MIYOSHI M Y, SANO Y, et al. SUPERWOMANI and DROOPING LEAF genes control floral organ identity in rice[J]. Development, 2003, 130(4): 705-718.
 - [3] 张小祥, 张忠林, 洪汝科, 等. 水稻几个披垂叶突变体的表型研究及其遗传分析[J]. 分子植物育种, 2005, 3(4): 463-468.
 - [4] 王楠, 赵芳明, 凌英华, 等. 一个水稻披叶突变体的遗传分析和基因定位[J]. 分子植物育种, 2007, 5(1): 54-58.
 - [5] 王永全. 一个新的 *DL* 等位突变体的形态特征、表达与功能分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
 - [6] HUANG J L, CHE S G, JIN L, et al. The physiological mechanism of a drooping leaf2 mutation in rice[J]. Plant science, 2011, 180(6): 757-765.
 - [7] YAMAGUCHI T, NAGASAWA N, KAWASAKI S, et al. The YABBY gene DROOPING LEAF regulates carpel specification and midrib development in *Oryza sativa*[J]. Plant cell, 2004, 16(2): 500-509.
 - [8] 罗琼, 周开达, 王文明, 等. 一个新的水稻叶片和雌蕊发育异常突变体的遗传分析及其基因的分子标记定位[J]. 科学通报, 2001, 46(15): 1277-1280.
 - [9] 王彬, 韩赞平, 吴先军, 等. 水稻颖花突变体 *DLR* 的鉴定[J]. 种子, 2004, 23(11): 30-33.
 - [10] TORIBA T, HARADA K, TAKAMURA A, et al. Molecular characterization of the YABBY gene family in *Oryza sativa* and expression analysis of *OsYABBY1*[J]. Molecular genetics and genomics, 2007, 277(5): 457-468.
 - [11] 王军, 王婧, 杨杰, 等. 水稻中脉缺陷突变体 *dl-6* 的遗传分析与精细定位[J]. 华北农学报, 2014, 29(6): 6-10.
 - [12] 金祥, 黄宗洪, 杨占烈, 等. 水稻 *G156S* 披叶性状的遗传及基因定位分析[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(4): 1-3.
 - [13] 杨占烈, 黄宗洪, 向关伦, 等. 披叶标记水稻温敏核不育系 *G156S* 的选育[J]. 种子, 2005, 24(12): 105-107.
 - [14] HIROCHIKA H, SUGIMOTO K, OTSUKI Y, et al. Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture[J]. Proceedings of the national academy of sciences, 1996, 93(15): 7783-7788.
 - [15] PENG X Y, QIN Z L, ZHANG G P, et al. Integration of the proteome and transcriptome reveals multiple levels of gene regulation in the rice *dl2* mutant[J]. Frontiers in plant science, 2015, 6: 351.
- (上接第 19 页)
- 量, 但过多施用钾肥对玉米的农艺性状和产量影响不明显, 反而造成浪费。
- 参考文献
- [1] 赵玺宏, 尤美云. 河套灌区带田玉米钾肥效果试验[J]. 内蒙古农业科技, 1996(3): 11.
 - [2] 王英, 郭忠义. 河南主要土类施用钾肥配合秸秆还定位试验初报[J]. 河南农业科学, 1996(1): 20-24.
 - [3] 秦淑芳, 李玉贵, 买学宝. 银川市兴庆区单种玉米钾肥养分平衡定位试验[J]. 现代农业科技, 2011(17): 70, 72.
 - [4] 王庆成, 刘开昌. 山东夏玉米高产栽培理论与实践[J]. 玉米科学, 2004, 12(2): 61-62, 65.
 - [5] 董合忠, 李维江, 唐薇, 等. 棉花生理性早衰研究进展[J]. 棉花学报, 2005, 17(1): 56-60.
 - [6] 严小龙, 张福铤. 植物营养遗传学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
 - [7] 王忠. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 438-439.
 - [8] 房春兴, 穆桂兰, 唐怀坡, 等. 不同钾肥对玉米产量及生育性状的影响[J]. 现代农业科技, 2012(5): 72, 75.
 - [9] 张桂花. 钾肥对夏玉米产量和品质的影响[J]. 山东农业科学, 2010(9): 68-69.
 - [10] 肖万欣, 赵海岩, 刘晶, 等. 不同氮、磷、钾肥料组合对玉米杂交种‘辽单 527’产量和农艺性状的影响[J]. 中国农学通报, 2011, 27(12): 196-200.
 - [11] 杨克军, 萧常亮, 李明, 等. 栽培方式与群体结构对玉米生长发育及产量的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2005, 17(4): 9-12.
 - [12] 沈秀瑛, 戴俊英, 胡安物, 等. 玉米群体冠层特征与光截获及产量关系的研究[J]. 作物学报, 1993, 19(3): 246-252.
 - [13] 王庆祥, 顾慰连, 戴俊英. 玉米群体的自动调节与产量[J]. 作物学报, 1987, 13(4): 281-287.
 - [14] 常建智, 李彦昌, 王小星, 等. 豫北地区夏玉米适宜种植密度研究[J]. 河南农业科学, 2011, 40(9): 34-37.
 - [15] 张兰松, 李保军, 张宏彦, 等. 种植密度和行距配置对冀南地区超高产夏玉米产量的影响[J]. 河北农业科学, 2013, 17(5): 8-11.
 - [16] 杨国虎, 李新, 王承莲, 等. 种植密度影响玉米产量及部分产量相关性性状的研究[J]. 西北农业学报, 2006, 15(5): 57-60.
 - [17] 田志刚, 田俊芹, 李林英, 等. 邢航 6 号玉米适宜种植密度研究[J]. 河北农业科学, 2006, 10(3): 19-21.
 - [18] 马玉华. 田间试验统计分析[M]. 北京: 农业出版社, 1985: 16-30.
 - [19] 莫惠栋. 农业试验统计[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 151-159.
 - [20] 谭荣波. SPSS 统计分析实用教程[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 11-35.
 - [21] 唐启义, 冯光明. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 16-32.