

水稻温敏感叶色突变体研究进展

刘艳霞¹ 林冬枝¹ 董彦君^{1, 2, *}

(¹上海师范大学 生命与环境科学学院 植物遗传与功能基因研究室, 上海 200234; ²上海师范大学 植物种质资源开发中心, 上海 200234; * 通讯联系人, E-mail: dong@shnu.edu.cn)

Research Advances in Thermo-sensitive Leaf Coloration Mutants in Rice

LIU Yan-xia¹, LIN Dong-zhi¹, DONG Yan-jun^{1, 2, *}

(¹College of Life and Environmental Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China; ²Development Center of Plant Germplasm Resources, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China; * Corresponding author, E-mail: dong@shnu.edu.cn)

LIU Yanxia, LIN Dongzhi, DONG Yanjun. Research advances in thermo-sensitive leaf coloration mutants in rice. *Chin J Rice Sci*, 2015, 29(4): 439-446.

Abstract: Temperature is one of the factors affecting the growth and development of rice. The rice mutant whose leaf-color varied with temperature is referred to thermo-sensitive leaf coloration mutant. Understanding the mechanism of thermo-sensitive leaf coloration mutation is significant for promoting genetic improvement and high-yielding breeding in rice. We reviewed the recent research progresses about phenotypes, genetic mapping, cloning, molecular mechanism, breeding and utilization of thermo-sensitive leaf coloration mutants in rice.

Key words: rice; thermo-sensitive mutant; leaf color; gene

刘艳霞, 林冬枝, 董彦君. 水稻温敏感叶色突变体研究进展. 中国水稻科学, 2015, 29(4): 439-446.

摘要: 温度是影响水稻生长发育的一个重要因素, 由温度引起水稻叶色改变的一类突变体统称为水稻温敏感叶色突变体。探讨温度影响水稻叶色的机理, 对促进水稻遗传改良与高产育种具有重要意义。对已发掘的水稻温敏感突变体在温度对突变体的表型影响、基因定位及克隆、分子作用机理和育种利用及其研究进展等方面进行了分类讨论。

关键词: 水稻; 温敏感突变体; 叶色; 基因

中图分类号: Q343.5; Q754

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2015)04-0439-08

叶片是植物进行光合作用的主要器官, 类型丰富且易于鉴别, 所以叶色变异是辨别植物突变最直观的标准之一。在实际生产中, 叶色突变不仅可用于观赏植物新特品种的选育, 还可以作为很多农作物如水稻、小麦、玉米等的最理想的形态学标记。此外, 植物叶色的变异直接与叶绿体发育相关, 因此叶色突变体是研究植物叶绿素合成代谢的调控、叶绿体发育机制和过程以及光合作用机理等最理想的材料^[1-3]。

水稻作为世界上需求最多的粮食作物, 又作为单子叶植物研究的模式生物, 随着水稻基因组测序的完成, 水稻功能基因组学越来越成为大家关注的焦点。水稻突变体种类多, Gustaffsson^[4]依据水稻

叶色突变体表型将突变体分为 5 大主要类型, 即白化、黄化、浅绿、条纹、斑点; 然后, Awan 等^[5]又在 Gustaffsson 的分类基础上将水稻叶色突变体分为 8 种类型, 即白化、黄化、浅绿、绿白、白翠、黄绿、绿黄和条纹。随着叶色突变类型的逐渐增多, 以上两种基本的分类方法并不完全适用所有突变类型, 实际应用中常结合多种分类方法进行科学分类^[6]。Tanya 等^[7]根据叶色突变的生理机理变化将水稻叶色突变体分为 4 类, 即缺总叶绿素型、缺叶绿素 a 型、缺叶绿素 b 型和总叶绿素增加型。吴殿星等^[8]根据温度对叶色标记表达的影响, 将水稻叶色突变体分为 3 种, 即高温表达型、低温表达型和温钝型。Kusumi 等^[9]根据光对水稻突变体发育的调

收稿日期: 2014-08-01; 修改稿收到日期: 2014-09-17。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30971552); 上海市科委项目(10DZ2271800, 12ZR1422000, 09DJ1400505, 0939191200); 上海市教委项目(J50401)。

控,将叶色突变体分为2类,即光诱导型和非光诱导型。根据突变性状对个体的生长发育影响可以分为致死突变、非致死突变^[10]及条件致死突变;致死突变如苗期白化、部分黄化突变体在苗期光合作用完全受阻,幼苗仅靠种子中胚乳营养生长,待胚乳养分耗尽时植株就会死亡^[11]。从叶色突变时期来看,多数水稻叶色突变体在苗期表现,部分突变体则是在生育中期表现出叶色突变,还存在叶色突变后期又恢复正常叶色的转绿型突变体^[12]。虽然根据水稻表型进行分类存在一定的局限性,但也是最为直观和方便的方法,所以目前仍然以苗期叶色为依据来确定叶色突变体的类型。

近年来,关于温度影响水稻叶色表达的相关研究也在不断增加,有一类水稻叶色突变体在不同温度条件下会呈现不同的叶色表型。突变体 *tcd9*^[13] 的幼苗在 24℃ 下出现白化表型,直到 3 叶期开始转绿,叶片在 20℃ 下从 4 叶期开始转绿,到 5 叶期后恢复正常;而当温度超过 28℃ 时, *tcd9* 的叶色和株高与野生型无明显区别。这类温度引起水稻叶色改变的突变体统称为水稻温敏感叶色突变体。这类突变体在适宜温度条件下表型正常或接近正常,但在高温或低温条件下表现为突变表型。目前,在棉花^[14]、草木樨^[15]、拟南芥^[16]、大麦^[17]、玉米^[18] 中都发现了温敏感叶色突变体,但这类突变体的温敏感的调控分子机制仍不是很清楚,需要进一步的研究。本文就水稻温敏感突变体表型、突变基因定位及克隆、分子机理和育种应用等方面进行讨论。

1 水稻温敏感叶色突变体的表型及分类

水稻温敏感叶色突变体的叶色表型与温度密切相关,其叶色在不同温度条件下呈现不同程度的白化或黄化表型。我们根据其叶色对温度变化的反映差异分为低温敏感型、高温敏感型和特殊温敏感型三大类,现将已报道的温敏感叶色突变体按上述说法进行分类(表1)。

1.1 低温敏感型

水稻低温敏感叶色突变体是指水稻突变体的叶色表型在一个相对低的温度条件下才会发生与正常叶色有差异的变化。报道的水稻突变体 *v1*^[19]、*v2*^[20]、*v13* (t)^[21]、*W1*^[22]、*W17*^[23]、*W25*^[23]、*Fan5*^[24]、*mr21*^[25]、*tcd9*^[13]、*osv4*^[26] 和 *wlp1*^[27] 等叶色均受低温诱导而发生改变,所以为低温敏感叶色

突变体,但各自的低温诱导临界温度,从 20℃ ~ 28℃ 不等(表1)。根据在低温条件下的生长情况,又可分为低温敏感致死型和低温敏感转绿型。突变体 *osv4*^[26] 叶片在 20℃ 和 24℃ 下呈现白化表型,但随着叶片数目的增加而逐渐转绿;在 28℃ 以上呈绿色的,属于低温敏感转绿型叶色突变体。但有的低温敏感突变体在不同温度条件下,可以有致死型、转绿型两种情况,如 *cde2* 突变体^[28] 在 23℃ 下,从 1 叶期开始表现出白化表型,并在 4 叶期后枯萎死亡;而在 27℃ 下, *cde2* 突变体的叶片从 1 叶期开始表现出轻微的白化表型,从 4 叶期开始转为绿色;30℃ 下,突变体和野生型表型没有明显差异。

1.2 高温敏感型

高温敏感型叶色突变体与低温敏感型正好相反,在相对较高温度才会发生与正常叶色有差异的变化。这类突变体目前发现数目相对较少,据不完全统计只有 6 个(*hfa-1*^[29]、*W4*^[23]、*W11*^[23]、*cde1* (t)^[30]、*st10*^[31]、*mr06*^[32]),它们在较高温度下(25℃ ~ 30℃)表现出黄化或者完全白化,较低温度(20℃ ~ 25℃)则表现为绿色或黄化(表1)。高温敏感型也分为致死型和转绿型两种情况。如 *cde1* (t) 叶片表型在 26℃ 或更高温度下呈现黄绿色,最终死亡;而在低温(23℃ 和 20℃)条件下呈绿色表型,很难与野生型区分,属于高温敏感致死型突变体。而突变体 *hfa-1* 则属于转绿型,它在 3 叶期之前,第 1 和第 2 片叶为白色,随后逐渐转绿,3 叶期之后,叶片由叶基到顶端,叶脉至叶缘完全转绿,有时新分蘖叶片也为白色,但很快转绿^[29]。

由于不同水稻叶色突变体对温度的敏感度不同,这里所谓的低温敏感型和高温敏感型是一个相对概念,不是指温敏感突变体在某一特定温度下才会出现叶色变化。如突变体 *ds93*^[33] 在低于 20℃ 时呈现白化表型,在高于 23℃ 时为绿色表型。而突变体 *v13*^[21] 在 28℃ 下呈白化表型,而在 30℃ 呈绿色表型。这两个突变体均属于低温敏感型叶色突变体。

1.3 特殊温敏感型

除了低温敏感型和高温敏感型两种水稻温敏感叶色突变体以外,还有比较特殊的一类,我们把这一类归为特殊温敏感型。这类突变体很少,目前已报道的只有 *v3*^[34] 和 *st1*^[34] 两个突变体。在 20℃ 下, *v3* 和 *st1* 突变体从 2 叶期开始出现白化表型,植株在发芽约 30 d 后枯萎死亡。在 30℃ 条件下, *v3*

表 1 水稻温敏感叶色突变体表型与突变基因的染色体位置

Table 1. Phenotypes of rice thermo-sensitive leaf coloration mutants and the chromosomal location of genes.

突变体名称 Mutant name	叶色表型(温度) Leaf phenotypes (temperature/℃)	临界温度 Critical temperature /℃	染色体位置 Chromosomal location	克隆基因 Cloned gene	参考文献 Reference
低温敏感型 Low-temperature sensitive type					
<i>cde2</i>	白色(23), 绿色(30) White(23), Green(30)	27	1	—	[28]
<i>mr21</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow-white (20), Green(30)	27.5	1	—	[25]
<i>Fan5</i>	白色(20), 绿色(28) White(20), Green(28)	26.1	—	—	[24]
7436S	白色(23.1), 绿色(30.1) White(23.1), Green(30.1)	28	11	—	[36]
<i>al12</i>	白色(24), 绿色(26) White(24), Green(26)	—	8	—	[37]
<i>ds93</i>	白色(20), 绿色(23) White(20), Green(23)	20	9	—	[33]
<i>v1</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow-white(20), Green(30)	—	3	V1	[19,38]
<i>v2</i>	黄白色(20), 绿色(30) White(20), Green(30)	—	3	V2	[20]
<i>v5*</i>	黄色(24), 绿色(26) Yellow(24), Green(26)	26	9	—	[39]
<i>v13</i>	白色(28), 绿色(30) White(28), Green(30)	28	5	—	[21]
<i>cisc(t)</i>	白色(25), 绿色(30) White(25), Green(30)	—	9	—	[40]
W1	白色(20), 绿色(30) White(20), Green(30)	23	—	—	[22]
W17	白色(25), 浅绿色(30) White(25), Green(30)	—	—	—	[23]
W25	白色(26), 浅绿色(30) White(26), Green(30)	—	—	—	[23]
<i>mr20</i>	黄白色(20), 绿色(32) Yellow white (20), Green(32)	22.5	3	—	[41]
<i>tcd9</i>	白色(24), 绿色(28) White(24), Green(28)	28	9	TCD9	[13]
<i>tcm12</i>	黄白色转绿(20), 绿色(24) Green-revertible albino (20), Green(24)	24	12	—	[42]
<i>ts11</i>	黄色(20), 绿色(32) Yellow(20), Green(32)	—	11	—	[43]
<i>tws</i>	白色条斑(20), 绿色(32) White stripe(20), Green(32)	28	4	—	[44]
<i>osv4</i>	白化转绿(20), 绿色(32) Green-revertible albino (20), Green(32)	—	4	OsV4	[26]
<i>lta1</i>	白化转绿(20), 绿色(24) Green-revertible albino (20), Green(24)	—	11	—	[45]
1103S	间断失绿(23.1), 绿色(26) Green-yellow rand(23.1), Green(26)	23.1	—	—	[46]
<i>wlp1</i>	白色(23), 绿色(30) White(23), Green(30)	—	1	WLP1	[27]
<i>v4</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	11	—	[47]
<i>v5</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	3	—	[47]
<i>v6</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	1	—	[47]
<i>v7</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	3	—	[47]
<i>v8</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	8	—	[47]
<i>v9</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	11	—	[47]
<i>v10</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	5	—	[47]
<i>v11</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	7	—	[47]
<i>v12</i>	黄白色(20), 绿色(30) Yellow white (20), Green(30)	—	—	—	[47]
<i>chs1</i>	白色(17), 绿色(30) White(17), Green(30)	—	9	—	[47]
<i>chs2</i>	白色(17), 绿色(30) White(17), Green(30)	—	—	—	[47]
<i>chs3</i>	白色(17), 绿色(30) White(17), Green(30)	—	—	—	[47]
<i>chs4</i>	白色(17), 绿色(30) White(17), Green(30)	—	—	—	[47]
高温敏感型 High temperature sensitive type					
<i>cde1(t)</i>	绿色(23), 黄绿色(26) Green(23), Yellow green(26)	28	2	Cde1	[30]
<i>mr06</i>	绿色(20), 白色(30) Green(20), White(30)	—	2	TCD1	[32,35]
W4	黄色(25), 白色(30) Yellow(25), White(30)	—	—	—	[23]
W11	黄色(25), 白色(30), Yellow(25), White(30)	—	—	—	[23]
<i>st10</i>	绿色(28), 白色条纹(32) Green(28), White stripe(32)	—	3	—	[31]
<i>hfa-1</i>	黄白色(15~20), 白色(25~30) Yellow white(15-20), White(25-30)	—	4	—	[29]
特殊温敏感型 Special temperature sensitive type					
<i>v3</i>	白化(20或30), 绿色(30/20) Bleached (20 or 30), Green(30/20)	—	6	V3	[34]
<i>st1</i>	白化(20或30), 绿色(30/20) Bleached (20 or 30), Green(30/20)	—	6	ST1	[34]

* 温敏感叶色突变体中有两个同名的 *v5* 突变体。
* Two temperature sensitive mutants share the same name *v5*.

和 *st1* 突变体植株分别从 3 叶期和 4 叶期开始形成白化叶,其表型比 20℃更温和。在一个交替的变温[光照 12 h(30℃)/黑暗 12 h(20℃)]循环条件下,突变体 *v3* 和 *st1* 植株为正常的绿色。在自然大田中,*v3* 突变体在 3 叶期前都呈现正常的绿色表型,且第 3 叶完全伸展后到最大分蘖期有完全白化的叶片,抽穗后白化叶基本完全转绿;与此类似的 *st1* 突变体在 5 叶期前为绿叶,分蘖期形成带有绿色条纹的失绿叶,在抽穗后基本恢复为绿色叶片。然后,将分蘖中期的 *v3* 和 *st1* 突变体植株放在 25℃(光照 12 h/黑暗 12 h)的人工生长箱中,这些植株继续生长出完全白化的叶片,并且不再恢复为绿色。综上所述,*v3* 和 *st1* 突变体的表型发育与各生长阶段的环境温度密切相关,而且与其他水稻温敏感类型都不相同,所以归为特殊温敏感型。

这三类温敏感突变体叶色的变化均与叶绿体发育和叶绿素含量的变化一致。几乎所有突变体的叶绿体在敏感温度下都发育不良且数目较少,甚至没有形成类囊体膜结构,并伴有叶绿素含量下降。低温敏感型水稻叶色突变体 *mr21*^[25] 在 20℃下的叶绿体与野生型嘉花 1 号相比数目偏少,分化不太完全,叶绿素 a、b 含量均明显低于该温度下的野生型嘉花 1 号;而在 32℃下该突变体叶绿体显微结构与嘉花 1 号基本类似,叶绿素含量也相差不大。高温敏感型水稻叶色突变体 *mr06*^[32,35] 在 20℃下,叶绿体较多较大,具备了完整的类囊体膜,叶绿素含量无明显差别;而在 32℃下叶绿体发育不良且数目较少,甚至没有形成类囊体膜结构,叶绿素 a、b 含量及其叶绿素总量均明显低于该温度条件下的野生型嘉花 1 号。

2 温敏感叶色突变体的基因定位与克隆

目前已经报道的水稻温敏感叶色突变体基本上都由单基因遗传的隐性核基因控制,除了第 10 染色体外其他染色体上均有分布,其中,第 1、2、9 和 11 染色体分布较多(表 1)。其中,低温敏感型水稻叶色突变体中有 27 个进行了基因定位,并且已经克隆了 5 个基因,分别是 *V1*^[19,38]、*V2*^[20]、*OsV4*^[26]、*TCD9*^[13] 和 *WLP1*^[27]。高温敏感型突变体数目较少,仅 6 个,其中已定位的有 4 个,被克隆的基因只有 *Cde1*^[30] 和 *TCD1* (*mr06*)^[35] 两个。特殊温敏感型只有突变体 *v3*^[34] 和 *st1*^[34],它们都位于第 6 染色

体上,并且已全部被克隆,但研究较早的一部分突变体由于图位克隆技术的不成熟,其所在染色体位置仍然未知,如低温敏感型突变体中的 *Fan5*^[24]、*W1*^[22]、*W17*^[23]、*W25*^[23]、*1103S*^[46] 等和高温敏感型突变体中的 *W4*^[23]、*W11*^[23]。

3 水稻温敏感突变体的调控机制

目前已报道的温敏感型水稻叶色突变体,均发现与叶片叶绿体发育相关。水稻叶片叶绿体发育分化可以分为三步^[13,26]:第一步是质体 DNA 的合成以及质体的复制;第二步为叶绿体的合成阶段,主要是叶绿体遗传系统的建立,质体转录活性和 RNA 均增加,特别是编码质体转录/翻译装置的基因转录水平在这个步骤显著上升;最后一步是编码光合作用器官的核-质基因通过高效表达导致光合作用器官的合成与装配。近年来,温敏感叶色突变基因如何调控叶绿体发育的分子机理研究取得一定进展。

3.1 低温敏感型调控机制

学者对已克隆低温敏感型叶色突变基因 *V1*^[19,38]、*V2*^[20]、*OsV4*^[26]、*TCD9*^[13] 和 *WLP1*^[27] 叶绿体发育的分子调控机理进行初步探讨。在 *v1* 突变体中,编码 NUS1 蛋白的 *V1* 基因突变影响了质体基因的表达,但不影响编码叶绿体蛋白的核基因的表达,显示 *V1* 基因在叶绿体分化第二步的某个步骤起关键作用。研究表明 NUS1 蛋白有一个 NusB 状的 RNA 结合域。突变体 *v1* 幼苗在 30℃生长时, NUS1 的累积受到抑制,野生型中也是如此,说明 NUS1 的表达不会受到叶绿体的发育状态的影响,而受早期叶片发育固有程序的严格调控。*v1* 突变体以及 NUS1 缺失的拟南芥都对低温敏感^[38],可能是因为 NUS1 蛋白是低温条件所必需的。低温胁迫通过延迟翻译延伸来抑制质体中的蛋白合成,并且质体翻译缺陷通常导致低温敏感表型。考虑到 NUS1 和前 rRNA 的相互作用, NUS1 可能与低温条件下叶绿体 rRNA 的合成调控有关。低温条件下, NUS1 缺失, rRNA 合成缺陷,导致低温敏感叶绿体缺失^[19,38]。

在 *v2* 突变体中,由于编码一个鸟苷酸激酶(pt/mtGK)的基因突变造成叶色具有低温敏感属性。研究表明 GK 家族可分为低分子量 GK 和高分子量的与膜相关的 GK 同源物(MAGUKs),低分子量 GK 活跃,主要涉及鸟苷酸的代谢和细胞信号转导

途径,而 MAGUKs 共用 1 个模块结构,由 1 个或 3 个 PDZ 域、1 个 SH3 域和 1 个类似于酵母 GK (GUK1) 的 GK 域组成,并紧密连接^[48]。然而,与低分子量 GK 不同,MAGUKs 的 GK 域不活跃,核苷酸结合位点在一些 MAGUKs 中是保守的^[49,50]。水稻 V2 蛋白属于低分子量 GK,在低温下的野生型幼苗中,V2 的转录本及蛋白在叶片发育早期大量累积,说明 V2 蛋白在叶绿体发育早期具有特殊作用。已知人体中与 mtDNA 合成和修复相关的几个酶突变会导致 mtDNA 缺失^[51],但水稻 V2 基因突变并没有降低 cpDNA 或者 mtDNA 的拷贝数,反而在叶片发育的最后阶段 mtDNA 拷贝数增加了近 3 倍^[52],这说明 pt/mtGK 还具有植物特有的功能。另外,在低温下,v2 突变体中参与质体转录系统的基因如 *OsRpoTp* 和 *OsSIG2A* 表达异常地高,而核编码光合基因 *cab* 和 *rbcS* 的转录本积累受到抑制,这可能与 V2 基因突变影响细胞器中鸟苷酸的合成有关,因其抑制了低温下叶绿体分化早期质体遗传体系中质体转录本的翻译,从而抑制低温条件下叶绿体的分化,说明 pt/mtGK 在叶绿体分化早期起决定性作用^[20,53]。

OsV4 突变体的温敏感叶色表型与上述 *v1*、*v2* 类似,但它们的分子机理和影响叶绿体发育的调节通路可能不同。*OsV4* 编码一个新的 PPR 蛋白,该蛋白是低温条件下水稻幼苗构建叶绿体翻译装置所必需的;*OsV4* 突变在低温条件下会抑制叶绿体发育的第二步和第三步,导致光合色素的含量下降,叶绿体异常。同时,还发现核糖体组分(叶绿体 16S 和 23S rRNA)和 PEP 依赖型转录本明显减少,质体翻译机制在低温胁迫下受损,这说明 *OsV4* 影响与质体翻译机制相关的质体基因表达,也可能与低温下的保护机制有关^[26]。同样编码 PPR 蛋白突变的低温敏感型叶色突变体还有 *cisc(t)*^[40],但其具体调控机制尚不清楚,还有待深入研究。

在 *tcd9* 突变体中,由于编码叶绿体 Cpn60 蛋白 α 亚基(Cpn60 α) 的基因发生突变而引起低温敏感叶色性状。目前已清楚伴侣蛋白(Cpn)具有辅助管家蛋白的功能,*TCD9* 在水稻所有组织中的表达量都很高,在幼叶中更高,也证实了这一点。近年来,在细菌、线粒体和质体中均发现了进化上保守的分子伴侣蛋白,分别命名为 GroE、HSP70、Cpn60,质体 Cpn60 蛋白与细菌 GroE 蛋白同源。植物 Cpn60 蛋白由蓝藻质体 GroE 蛋白进化而来^[54]。

Cpn60 在 FtsZ 聚合动力学调控中起作用,FtsZ 可能是质体 Cpn60 一个靶点。在水稻中,*FtsZ* 基因在叶片发育初期优先表达。NEP 主要为转录/翻译设备转录质体基因,在叶片发育早期激活叶绿体遗传系统引起了叶绿体的分化^[55,56]。在 *tcd9* 突变体中,在低温条件下除了 *FtsZ* 的表达量急剧减少外,其他所有与叶绿体发育相关的基因 *OsRpoTP*、*RNRL*、*RNRS* 的转录本没有被抑制,反而上调,可能是由反馈效应引起的,而在高温条件下所有相关基因的转录表达趋向正常,可能是因为 Cpn60 α 在较高温度下不那么重要。总而言之,在低温胁迫下,水稻 TCD9 蛋白的破坏阻碍了 FtsZ 的转录/翻译,随后影响质体分裂,最后导致叶片早期非正常叶绿体的形成^[13]。

质体从前质体发育为具光合活性的叶绿体是植物生长的关键,因为质体基因组相当小,大部分的叶绿体蛋白是由核基因编码的,涉及质体和细胞核之间的两种信号的协调转录,这也是叶绿体发育所必不可少的^[57,58]。叶绿体基因被核编码聚合酶(NEP)和质体编码聚合酶(PEP)共同转录。与叶绿体发育相关的质体编码基因 *rpoA* 和 *rpoB* 是编码转录机制的组分,它们被 NEP 转录,产生的 mRNA 再被叶绿体核糖体翻译为一个 PEP 的两个亚基,PEP 是叶绿体管家基因和光合基因转录所必需的^[59,60]。在 *wlp1* 突变体中,编码叶绿体 50S 核糖体蛋白 L13(RPL13)的 *WLP1* 基因发生突变导致苗期叶色低温敏感表型,*WLP1* 基因在所有绿色组织中表达,在苗期早期表达更高。水稻 *WLP1* 蛋白与大肠杆菌 RPL13 蛋白序列高度相似,L13 是 50S 核糖体大亚基组装过程中 23S rRNA 早期折叠中间物所必需的五个蛋白之一^[61-64]。在大肠杆菌中,L13 功能的缺失会引起致死表型。类似于大肠杆菌,RPL13 也是水稻低温条件下叶绿体发育所必需的^[65]。*wlp1* 突变体在低温条件下,*rpoA* 和 *rpoB* 的错误翻译使得 PEP 途径受到损伤,导致光合基因的转录受到抑制,而在 30℃ 下与野生型表型相同,可能是因为 *WLP1* 的等位基因为弱突变,正如在野生型和突变体中其具有相同 mRNA 表达水平,这也可以解释 *wlp1* 突变体在低温条件下表现为白色表型,而高温下表现为绿色表型^[27]。

综上所述,低温敏感型叶色突变体基因主要在低温条件下发挥作用,其编码的蛋白都是水稻在低温条件下叶绿体发育所必需的,它们主要通过影响

质体转录或翻译的装置的形成,进而抑制叶绿体分化,导致水稻在低温条件下表现出白化表型。

3.2 高温敏感型调控机制

目前对高温敏感型突变体的调控机制研究较少。Liu等^[30]报道的 *cde1(t)* 突变体中,编码谷氨酰胺-tRNA合成酶 *OsGluRS* 基因的保守区域的错义突变导致一个脯氨酸(Pro)被一个苏氨酸(Thr)替换,造成高温下突变体叶色不正常,叶绿体发育不完整,叶绿素缺乏。*Cde1(t)* 是谷氨酰胺-tRNA合成酶基因(*OsGluRS*)。谷氨酰胺-tRNA合成酶是组氨酸-tRNA合成酶(ARSs)之一,可催化生物体中谷氨酸添加到它的同源 tRNA 上,所以是蛋白质合成必不可少的^[66]。除了蛋白质合成,此酶还在叶绿素和其他四吡咯终产物的前体 5-氨基乙酰丙酸(ALA)合成中起关键作用,包括植物、藻类、大多数细菌以及古生物。此外,作为一个组氨酸-tRNA合成酶,谷氨酰胺-tRNA合成酶参与很多种生化进程,包括 RNA 的加工和转运、细胞凋亡、rRNA 转录、血管生成和炎症反应^[67,68]。Liu等^[30]推测错义突变的谷氨酰胺-tRNA合成酶在高温条件下的稳定性或者酶活性降低,导致 *cde1(t)* 突变体叶绿体中畸形蛋白质合成,以及异常叶绿素的生物合成。

赵剑等^[35]报道的 *TCD1* 基因编码一个未知功能的 PPR 蛋白,*TCD1* 基因中一个单碱基缺失会导致基因翻译的提前终止,引起 3 个 PPR 基序以及 C 端序列缺失,进而导致蛋白质结构功能受损,从而使突变体中的叶绿体发育在高温条件下受到影响,在高温条件下与叶绿体发育相关编码二磷酸核酮糖羧化酶小亚基基因 *rbcS*、编码线粒体鸟苷酸激酶的 *V2* 以及编码核糖核苷酸小亚基的 *ST1* 均下调表达,而在 20℃ 条件下大多数基因的表达水平与野生型相当。推测在高温胁迫下,突变体水稻 *TCD1* 蛋白稳定性或者酶活性降低,可引起叶片早期非正常叶绿体的形成。

3.3 特殊温敏感型调控机制

特殊温敏感型只有突变体 *v3* 和 *st1*,它们都位于水稻第 3 染色体上,并且全部已被克隆。*V3* 和 *St1* 分别编码核糖核酸还原酶 RNR 的大亚基 RNRL1 和小亚基 RNRS1。RNR 调节 DNA 合成与修复所需的脱氧核苷酸产物水平,而且 RNR 也是开启叶绿体发育第一步的关键。学者对 RNR 大小亚基的相互作用研究最早在人体中开展,并建立了一个功能性全酶;尽管两个小亚基(hRRM2 和

p53R2)与大亚基(hRRM1)相互作用形成一个功能性 RNR 全酶,但是 hRRM1-hRRM2 组合的活性是 hRRM1-p53R2 组合的两倍^[69]。在有丝分裂期间,RNR 的表达与 DNA 合成被一个反馈调控机制紧密联系起来^[70]。具有时空性表达方式的 *RNRL1* 和 *RNRS1* 可调控 DNA 合成,很可能是通过形成一种功能性 RNR 异质二聚体复合物实现的。*RNRL1* 和 *RNRS1* 在水稻中形成一个功能性 RNR 酶。在相同的限制条件下,*v3* 的白化表型比 *st1* 严重,其严重程度与 RNR 亚基之间的第一个 $\alpha\beta$ 二聚体紧密相关。*v3* 和 *st1* 的表型变化是由 RNR 亚基的错义突变引起的,然后生长叶中 RNR 活性的降低,导致生长叶片的分裂细胞中的 dNTP 较少,破坏了叶绿体 DNA 的复制,叶绿体合成受阻,在限制温度条件下(如恒温)或生长活跃期(如分蘖期)表现更为明显。而在自然条件下,*v3* 和 *st1* 突变体开始为绿色表型,在分蘖期出现失绿现象可能是因为 dNTP 不充足,叶绿体合成受抑,这是植物维持它们的增长率以及发育需要的防御机制^[34]。

4 育种应用

水稻温敏感叶色突变体在研究植物的光合作用、叶绿体发育以及叶绿素的生物合成及其温度响应等分子机制具有重要意义,同时在杂交育种中也可以作为标记性状提高杂交水稻的种子纯度^[6]。例如,将低温敏感基因 *tcd*^[13] 导入早稻中,在其生长早期得到表达,可以通过叶色有效鉴别种子的纯度,在生长后期逐渐恢复正常叶色,并且不影响水稻的经济性状。反之,可以在晚稻中导入高温敏感基因来提高种子纯度。同时,也可以大胆设想将水稻中的温敏感同源基因转入观赏植物中去,运用基因工程和杂交育种的新技术,使观赏植物的叶片或花色在不同生长温度下呈现不同色泽,开发全新观赏植物新品种。因此,水稻温敏感叶色突变体的研究在植物育种方面具有重要的应用价值。但是,目前针对水稻温敏感叶色突变体基因的具体实践应用几乎空白,所以在这方面仍然需要进一步加强。

5 结语

随着科技的进步,人们对水稻温敏感叶色突变体进行了大量深入的研究,发现不同类型温度敏感叶色突变体基因的分子机制是不同的,同一类型的分子机制也存在很大差异。但是具体的分子机制以

及各调控方式之间的关系仍然没有研究清楚, 还需进一步研究验证。鉴于温度对水稻温敏感叶色突变体叶绿体发育的影响, 可以通过人为控制温度研究水稻叶绿体的发育机理。另一方面, 探讨温度影响水稻叶色的机理, 对促进水稻遗传改良与高产育种具有重要意义。

参考文献:

- [1] Dong F G, Zhu X D, Xiong Z D, et al. Breeding of a photo-thermo-period sensitive genie male sterile indica rice with a pale-green-leaf marker. *Chin J Rice Sci*, 1995, 9(2): 65-70.
- [2] Larkin R M, Alonso J M, Ecker J R, et al. GUN4, a regulator of chlorophyll synthesis and intracellular signaling. *Science*, 2003, 299: 902-906.
- [3] 李育红, 王宝和, 戴正元, 等. 水稻叶色突变体及其基因定位、克隆的研究进展. *江苏农业科学*, 2011, 39(2): 34-39.
- [4] Gustafsson A. The plastid development in various types of chlorophyll mutations. *Hereditas*, 1942, 28(3/4): 483-492.
- [5] Awan M A, Konzak C F, Rutger J N, et al. Mutagenic effect of sodium azide in rice. *Crop Sci*, 1980, 20(5): 663-668.
- [6] 张力科, 高用明. 水稻叶色突变体及其基因定位和克隆的研究进展. *作物杂志*, 2009, 2: 12-16.
- [7] Falbel T G, Staehelin L A. Characterization of a family of chlorophyll-deficient wheat (*Triticum*) and barley (*Hordeum vulgare*) mutants with defects in the magnesium-insertion step of chlorophyll biosynthesis. *Plant Physiol*, 1994, 104: 639-648.
- [8] 吴殿星, 舒庆尧, 夏英武. ⁶⁰Co γ 射线诱发的籼型温敏核不育水稻叶色突变系变异分析. *作物学报*, 1999, 25(3): 64-69.
- [9] Kusumi K, Komori H, Satoh H, et al. Characterization of a zebra mutant of rice with increased susceptibility to light stress. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41(2): 158-164.
- [10] 夏九成. 水稻白化突变体和云南软米的超微结构观察及相关基因的遗传分析和分子标记定位[D]. 成都: 四川农业大学, 2006.
- [11] 朱明库, 胡宗利, 周爽, 等. 植物叶色白化研究进展. *生命科学*, 2012, 24(3): 255-261.
- [12] 杨麟, 罗大刚. 水稻叶色突变体的研究进展. *安徽农业科学*, 2013, 41(18): 3341-3343, 3378.
- [13] Jiang Q, Mei J, Gong X D, et al. Importance of the rice TCD9 encoding α subunit of chaperonin protein60 (Cpn60 α) for the chloroplast development during the early leaf stage. *Plant Sci*, 2014(215/216): 172-179.
- [14] Alberte R S, Hesketh J D, Hofstra G, et al. Composition and activity of the photosynthetic apparatus in temperature-sensitive mutants of higher plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(6): 2414-2418.
- [15] Markwell J P, Danko S J, Bauwe H, et al. A temperature-sensitive chlorophyll b-deficient mutant of sweetclover (*Melilotus alba*). *Plant Physiol*, 1986, 81(2): 329-334.
- [16] Markwell J P, Osterman J C. Occurrence of temperature-sensitive phenotypic plasticity in chlorophyll-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol*, 1992, 98(1): 392-394.
- [17] Galova E, Bohmova B, Sevcovicova A. Analysis of some barley chlorophyll mutants and their response to temperature stress. *Photosynthetica*, 2000, 38(1): 29-35.
- [18] Pasini L, Bruschini S, Bertoli A, et al. Photosynthetic performance of cold-sensitive mutants of maize at low temperature. *Physiol Plant*, 2005, 124(3): 362-370.
- [19] Kusumi K, Mizutani A, Nishimura M, et al. A virescent gene V1 determines the expression timing of plastid genes for transcription/translation apparatus during early leaf development in rice. *Plant J*, 1997, 12(6): 1241-1250.
- [20] Sugimoto H, Kusumi K, Tozawa Y, et al. The virescent-2 mutation inhibits translation of plastid transcripts for the plastid genetic system at an early stage of chloroplast differentiation. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(8): 985-996.
- [21] 王军, 杨杰, 陈志德, 等. 水稻白化转绿突变体 v13(t) 的生理特性和基因定位. *中国农业科学*, 2011, 44(10): 1973-1979.
- [22] 崔海瑞, 夏英武, 高明尉, 等. 温度对水稻突变体 W1 叶色及叶绿素生物合成的影响. *核农学报*, 2001, 15(5): 269-273.
- [23] 舒庆尧, 刘贵付, 夏英武. 温敏水稻叶色突变体的研究. *核农学报*, 1996, 10(1): 6-10.
- [24] 董彦君, 董文其, 张小明, 等. 突变体 Fan5 苗色低温敏感性状的遗传分析. *中国水稻科学*, 1995, 9(4): 249-250.
- [25] 陈佳颖, 赵剑, 刘晓, 等. 一个新水稻温敏感叶色突变体的遗传分析及其基因分子定位. *植物学报*, 2010, 45(4): 419-425.
- [26] Gong X D, Su Q Q, Lin D Z, et al. The rice OsV4 encoding a novel pentatricopeptide repeat protein is required for chloroplast development during the early leaf stage under cold stress. *J Integr Plant Biol*, 2014, 56(4): 400-410.
- [27] Song J, Wei X J, Shao G N, et al. The rice nuclear gene WLP1 encoding a chloroplast ribosome L13 protein is needed for chloroplast development in rice grown under low temperature conditions. *Plant Mol Biol*, 2014, 84: 301-314.
- [28] 魏祥进, 宋健, 胡培松, 等. 水稻苗期低温白叶突变体 cde2 的鉴定和基因定位. *中国水稻科学*, 2014, 28(2): 111-118.
- [29] 郭涛, 黄宜, 黄永相, 等. 一个控制水稻叶色白化转绿及多分蘖矮秆性状基因 hwl-1(t) 的鉴定. *作物学报*, 2012, 38(1): 23-35.
- [30] Liu W, Fu Y, Hu G, et al. Identification and fine mapping of a thermo-sensitive chlorophyll deficient mutant in rice (*Oryza sativa* L.). *Planta*, 2007, 226(3): 785-795.
- [31] He Y H, Zou G X, Rao T C, et al. Genetic analysis and gene mapping of a rice white stripe leaf mutant (st10). *Plant Gene Trait*, 2011, 2(4): 23-29.
- [32] 吴军, 陈佳颖, 赵剑, 等. 2 个水稻温敏感叶色突变体的光合特性研究. *中国农学通报*, 2012, 28(21): 16-21.
- [33] 郑加兴, 覃保祥, 邱永福, 等. 水稻低温白化转绿突变系 ds93 的形态生理特性及基因定位. *西南农业学报*, 2013, 26(3): 843-849.
- [34] Yoo S C, Cho S H, Sugimoto H, et al. Rice virescent3 and Stripe1 encoding the large and small subunits of ribonucleotide reductase are required for chloroplast biogenesis during early leaf development. *Plant Physiol*, 2009, 150(1): 388-401.
- [35] 赵剑. 一个受温度调节水稻叶绿素合成 PPR 基因 TCD1 的图位克隆及初步功能分析. 上海: 上海师范大学, 2011.
- [36] Dong Y J, Dong W Q, Shi S Y, et al. Identification and genetic analysis of a thermo-sensitive seedling-colour mutant in rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Sci*, 2001, 51: 1-4.
- [37] Xia J, Wang Y, Ma B, et al. Ultrastructure and gene mapping

- of the albino mutant *all2* in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genet Sin*, 2006, 33(12): 1112-1119.
- [38] Kusumi K, Sakata C, Nakamura T, et al. A plastid protein NUS1 is essential for build-up of the genetic system for early chloroplast development under cold stress conditions. *Plant J*, 2011, 68(6): 1039-1050.
- [39] 郭鹏, 邵健丰, 刘洪家, 等. 水稻温敏黄转绿突变体 *v5* 的鉴定和基因定位. *浙江农业学报*, 2011, 23(5): 857-861.
- [40] 兰涛, 汪斌, 凌秋平, 等. 水稻苗期低温失绿基因 *cisc(t)* 的精细定位及其候选基因的确定. *科学通报*, 2010, 55(22): 2183-2187.
- [41] 祁鲁, 刘晓, 陈佳颖, 等. 一个新的水稻温敏感叶色突变体基因定位分析. *中国水稻科学*, 2010, 24(3): 226-227.
- [42] 董彦君, 林冬枝, 梅杰, 等. 一个水稻温度敏感失绿突变体的遗传分析及分子定位. *分子植物育种*, 2013, 11(1): 1-7.
- [43] 江少华, 周华, 林冬枝, 等. 水稻幼苗叶色温敏感突变体的鉴定及其基因定位. *中国水稻科学*, 2013, 27(4): 359-364.
- [44] 李超, 林冬枝, 董彦君, 等. 一个水稻苗期温敏感白色条斑叶突变体的遗传分析及基因定位. *中国水稻科学*, 2010, 24(3): 223-227.
- [45] Peng Y, Zhang Y, Lv J, et al. Characterization and fine mapping of a novel rice albino mutant low temperature albinol. *J Genet Genom*, 2012, 39: 385-396.
- [46] 何瑞锋, 丁毅, 余金洪, 等. 水稻温敏叶绿素突变体叶片超微结构的研究. *武汉植物学研究*, 2001, 19(1): 1-5.
- [47] 钱前, 程式华. 水稻遗传学和功能基因组学. 北京: 科学出版社, 2006: 35-43.
- [48] Funke L, Dakoji S, Brecht D S. Membrane-associated guanylate kinases regulate adhesion and plasticity at cell junctions. *Annu Rev Biochem*, 2005, 74: 219-245.
- [49] Kuhlendahl S, Spangenberg O, Konrad M, et al. Functional analysis of the guanylate kinase-like domain in the synapse-associated protein SAP97. *Eur J Biochem*, 1998, 252: 305-313.
- [50] Olsen O, Brecht D S. Functional analysis of the nucleotide binding domain of membrane-associated guanylate kinases. *J Biol Chem*, 2003, 278: 6873-6878.
- [51] Elpeleg O, Mandel H, Saada A. Depletion of the other genome—mitochondrial DNA depletion syndromes in humans. *J Mol Med*, 2002, 80: 389-396.
- [52] Hedtke B, Wagner I, Börner T, et al. Inter-organellar crosstalk in higher plants: Impaired chloroplast development affects mitochondrial gene and transcript levels. *Plant J*, 1999, 19: 635-643.
- [53] Sugimoto H, Kusumi K, Noguchi K, et al. The rice nuclear gene, *VIRESCENT2*, is essential for chloroplast development and encodes a novel type of guanylate kinase targeted to plastids and mitochondria. *Plant J*, 2007, 52(3): 512-527.
- [54] Suzuki K, Nakanishi H, Bower J, et al. Plastid chaperonin proteins Cpn60 α and Cpn60 β are required for plastid division in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 2009, 9: 38.
- [55] Vitha S, McAndrew R S, Osteryoung K W. FtsZ ring formation at the chloroplast division site in plants. *J Cell Biol*, 2001, 153: 111-120.
- [56] McAndrew R S, Froehlich J E, Vitha S, et al. Colocalization of plastid division proteins in the chloroplast stromal compartment establishes a new functional relationship between FtsZ1 and FtsZ2 in higher plants. *Plant Physiol*, 2001, 127: 1656-1666.
- [57] Koussevitzky S, Stanne T M, Peto C A, et al. An *Arabidopsis thaliana* virescent mutant reveals a role for ClpR1 in plastid development. *Plant Mol Biol*, 2007, 63: 85-96.
- [58] Mandel M A, Feldmann K A, Herrera-Estrella L, et al. *CLA1*, a novel gene required for chloroplast development, is highly conserved in evolution. *Plant J*, 1996, 9: 649-658.
- [59] Hajdukiewicz P T, Allison L A, Maliga P. The two RNA polymerases encoded by the nuclear and the plastid compartments transcribe distinct groups of genes in tobacco plastids. *EMBO J*, 1997, 16: 4041-4048.
- [60] Maliga P. Two plastid RNA polymerases of higher plants: An evolving story. *Trends Plant Sci*, 1998, 3: 4-6.
- [61] Chandra Sanyal S, Liljas A. The end of the beginning: Structural studies of ribosomal proteins. *Curr Opin Struct Biol*, 2000, 10: 633-636.
- [62] Maguire B A, Zimmermann R A. The ribosome in focus. *Cell*, 2001, 104: 813-816.
- [63] Ramakrishnan V, Moore P B. Atomic structures at last: The ribosome in 2000. *Curr Opin Struct Biol*, 2001, 11: 144-154.
- [64] Sharma M R, Wilson D N, Datta P P, et al. Cryo-EM study of the spinach chloroplast ribosome reveals the structural and functional roles of plastid-specific ribosomal proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 19315-19320.
- [65] Gerdes S Y, Scholle M D, Campbell J W, et al. Experimental determination and system level analysis of essential genes in *Escherichia coli* MG1655. *J Bacteriol*, 2003, 185: 5673-5684.
- [66] Eckhardt U, Grimm B, Hörtensteiner S. Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants. *Plant Mol Biol*, 2004, 56: 1-14.
- [67] Lee S W, Cho B H, Park S G, et al. Aminoacyl-tRNA synthetase complexes: Beyond translation. *J Cell Sci*, 2004, 117: 3725-3734.
- [68] Park S G, Ewalt K L, Kim S. Functional expansion of aminoacyl-tRNA synthetases and their interacting factors: New perspectives on housekeepers. *Trends Biochem Sci*, 2005, 30: 569-574.
- [69] Qiu W, Zhou B, Darwish D, et al. Characterization of enzymatic properties of human ribonucleotide reductase holoenzyme reconstituted in vitro from hRRM1, hRRM2, and p53R2 subunits. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340: 428-434.
- [70] Chabouté M E, Combettes B, Clément B, et al. Molecular characterization of tobacco ribonucleotide reductase RNR1 and RNR2 cDNAs and cell cycle-regulated expression in synchronized plant cells. *Plant Mol Biol*, 1998, 38: 797-806.