

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2013.00767



水稻叶片形态建成分子调控机制研究进展

徐 静^{1,2} 王 莉^{1,2} 钱 前^{1,*} 张光恒^{1,*}

¹ 中国水稻研究所 / 水稻生物学国家重点实验室, 浙江杭州 310006; ² 中国农业科学院研究生院, 北京 100081

摘 要: 叶片形态是水稻“理想株型”的重要组成部分, 是当前水稻高产育种关注的重点。本文通过对已克隆多个叶形相关调控基因综述了水稻叶片形态(叶片卷曲度、倾角、披散程度以及叶片宽度)建成的分子遗传学研究进展。综合分析认为, 水稻叶片的卷曲主要是通过卷叶基因调控叶片近轴/远轴间的发育、泡状细胞的发育及其膨胀和渗透压、厚壁组织的形成以及叶片角质层的发育等来实现。影响植株空间伸展姿态的叶倾角主要通过叶角基因调控油菜素内酯的信号传导来影响叶枕细胞的生长发育; 唯一被克隆的影响叶片披垂度的披叶基因 *DLI* 是通过控制叶片中脉发育而改变叶片形态的; 而窄叶基因则主要通过调控生长素的合成与极性运输、维管组织的发育和分布, 影响叶片维管束数目及宽度。但到目前为止, 所有已克隆的叶形调控基因间相互调控关系的研究还不够深入, 还不能完整清晰地勾勒水稻叶形建成和发育的分子调控网络。因此, 在已有的研究基础上更深入地探索水稻叶片形态建成的分子调控机制, 对进一步构建相关的调控网络, 塑造水稻理想株型具有重要意义。

关键词: 水稻; 叶片形态; 基因; 分子机制

Research Advance in Molecule Regulation Mechanism of Leaf Morphogenesis in Rice (*Oryza sativa* L.)

XU Jing^{1,2}, WANG Li^{1,2}, QIAN Qian^{1,*}, and ZHANG Guang-Heng^{1,*}

¹ State Key Laboratory of Rice Biology / China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; ² Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: Rice leaf morphosis is one of important components in the design of ideal plant architecture, and is the main focus in high-yield breeding of rice. The paper expounds the advance in the molecular genetics research of rice leaf morphosis (including leaf rolling, leaf angle, leaf drooping, and leaf width) by analyzing the leaf shape regulating genes that have been cloned. Comprehensive analysis reveals that the leaf rolling is controlled by related genes that regulate the development of leaf along the adaxial-abaxial axis, the development of bulliform cells, osmotic pressure or turgidity in bulliform cells, the formation of sclerenchymatous cells and the development of cuticle. Leaf inclination, which affects the plant space extension posture, is regulated by the development of phyllula which is controlled by genes conferring the biosynthesis or signaling of phytohormone brassinosteroids (BRs). The only cloned drooping leaf gene controls the leaf shape by influencing midrib formation. Narrow leaf genes regulate the leaf width through controlling the synthesis of auxin and its polar transport, and the development and distribution of vascular tissues. However, the study on the relationship between regulation roles of these cloned leaf shape genes is not profound enough to draw an outline of molecular regulation network for rice leaf development and morphosis completely and clearly. Therefore, on the basis of current research findings, it is of great significance to further explore the rice leaf molecular regulation mechanism for establishing related regulation network and shaping ideal rice plant architecture.

Keywords: Rice (*Oryza sativa* L.); Leaf morphology; Gene; Molecular mechanism

选育形态与产量兼顾的理想株型材料, 以打破中国乃至世界范围内水稻单产多年徘徊的局面, 一

直是水稻育种工作者的主要目标之一。叶片形态是水稻“理想株型”的重要组成部分, 是当前水稻高产

本研究由国家自然科学基金项目(30970171), 国家转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08009-125B)和浙江省杰出青年基金资助项目(R3100100)资助。

* 通讯作者(Corresponding authors): 张光恒, E-mail: zhangguangheng@126.com; 钱前, E-mail: qianqian188@hotmail.com

第一作者联系方式: E-mail: email_xj@126.com

Received(收稿日期): 2012-11-02; Accepted(接受日期): 2013-01-16; Published online(网络出版日期): 2013-02-19.

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20130219.1020.009.html>

育种关注的重点。科学家经过多年的努力,在水稻叶片形态的建成机制和分子育种利用等方面研究都取得了一些初步的进展。本文将综述前人在水稻叶片形态建成方面的研究成果,并展望叶片形态的研究及育种应用,以期对超高产水稻育种和理想株型的塑造提供参考。

1 水稻叶片形态结构

水稻植株形态发生(plant morphogenesis)指水稻的外部形态和内部结构的起源、发育和建成的过程。水稻叶片的形态是水稻植株器官发生和形态形成的一个重要组成部分,直接影响水稻株型。

植物叶片形态包括叶形、叶尖、叶缘、叶基和叶脉等外部特征^[1]。水稻作为单子叶模式植物,主要通过叶长、宽度、面积、厚度(比叶重)、叶倾角、披垂度和卷曲度等^[2] 10余个形态因子界定其叶片形态及空间伸展姿态。通常一个完整的水稻叶片包括上下表皮细胞、叶肉细胞、薄壁细胞、木质部、韧皮部和维管束等组织结构,每一个组织都发挥着不可或缺的作用,其中叶片表皮中的泡状细胞发育形态往往与叶片形态密切相关。泡状细胞是一种大型薄壁细胞,其细胞长轴与叶脉平行,分布于2个叶脉的上表皮中,每个细胞内含有大液泡。泡状细胞与叶片的卷曲和舒展有关,当叶片蒸腾失水过多时,泡状细胞失水收缩,使得叶片向上卷曲,以减少蒸腾;当天气湿润叶片蒸腾减少时,泡状细胞吸水膨胀,使得叶片又展开。

水稻卷曲度、叶片角度、披垂度以及叶片宽度是水稻株型育种中特别注重的方面。叶片适度卷曲最直接的效应是对叶片的直化作用,能促进叶片的直立而不披散,改善叶片的受光状态,延迟叶片衰老,能够有效解决叶长和叶挺之间的矛盾。叶角是衡量叶片的空间伸展姿态主要指标,是指叶片和茎之间的角度;叶角对于水稻群体的受光面积具有重要的影响,直立叶片由于两面受光,减少叶片的相互遮蔽,提高透光率,有利于叶面积指数的提高,增加光合面积^[3],降低阳光反射率。通常具直立叶的水稻群体光合效率高于平展或者披、弯、垂叶片群体。叶片维管束由细胞增殖形成^[4],起着机械性支撑叶片的作用,尤其是主维管束(中脉)的正常发育是保证叶片直立性的重要因素之一,直接影响叶片的披垂度。适当的叶片宽度则可以改善叶的挺拔度,调整受光状态,进而增大叶面积指数,增加光合产

物,这4个方面相互关联,相互影响。改善叶形对水稻光合作用、蒸腾作用及挖掘水稻品种产量潜力都有重要作用。

2 植物叶片发育调控与进程

通常植物生长发育的控制,包括三个层次,即胞内控制(即基因水平控制)、胞间控制(即激素水平控制)和胞外控制(即环境水平控制),同样,植物叶片发育也受基因水平、激素水平和环境水平共同影响。黄海等^[5]认为环境因素可以诱导某些与发育相关的基因的表达,发育后期基因的表达可能受到发育前期表达的基因产物的影响,细胞内植物激素的平衡可能受到基因产物的影响,植物激素反过来又能调节另一些基因的表达等等。

从植物叶片的发育进程来看,叶的发育包括叶原基在茎顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM)的形成和分化,以及之后从叶原基分化出来的叶片的发育。从起始细胞发育成一片不对称的完整叶,还需要极性发育才能完成。极性是植物器官的形态学两端生理特性不同的现象。极性的建立是植物叶片形态发育的前提,一直被认为是器官形态建成过程中的核心因素。植物学家把典型的成熟单叶(相对于复叶而言)的发育定为三维体轴上的生长,即基-顶轴(proximo-distal fate,由基部叶柄指向叶片的尖端);近-远轴(adaxial-abaxial fate,面向茎的一侧为近轴面,反之为远轴面);中-侧轴(Central-lateral fate,叶片的中轴为中心指向叶片的两侧边缘)^[1]。

3 水稻叶形基因的克隆及其分子调控机制

迄今,水稻叶片形态建成的遗传研究已取得很大进展。一方面,科学家们利用水稻重组自交系(RIL)、单倍体加倍(DH)等永久性遗传群体构建连锁图,通过QTL分析及构建近等基因系定位叶形目标QTL并进行分离克隆;另一方面,通过化学诱变、辐射诱变及T-DNA插入等技术处理水稻种子,创建系列水稻叶形突变体,定位或克隆叶形相关基因,并研究其分子作用机制,为水稻叶片形态调控网络的建立奠定了基础。据已有文献报道,已完成20余个与水稻叶片卷曲度、叶宽、叶倾角及叶片披垂等叶片形态相关的调控基因的克隆及其分子调控机制初步研究(表1)。下文从水稻叶片卷曲度、叶片倾角、叶片披散度以及叶片宽度等4个方面对水稻叶片形态建成机制的研究进展进行分别论述。

表 1 已克隆的水稻叶形基因及其调控机制
Table 1 Genes for leaf morphology that has been cloned and its regulation mechanism

基因 Gene	染色体 Chromosome	分子调控机制 Molecular regulation mechanism	叶形建成作用 Function of leaf morphosis	文献 Reference
卷叶 Leaf rolling				
<i>CFL1</i>	2	编码一个含 WW 域的蛋白, 与 HDG1 互作调控下游角质层发育相关基因 <i>BDG</i> 和 <i>FDH</i> 的表达。	影响角质层发育, <i>CFL1</i> 基因突变导致角质层发育受损。	Wu et al. [6]
<i>ROC5</i>	2	编码一个第四类亮氨酸拉链转录因子, 调控类表皮因子基因 <i>PFL</i> 的表达, 进而影响近轴面泡状细胞数目和大小。	控制泡状细胞的发育, <i>ROC5</i> 基因突变导致泡状细胞增大, 数目增加。	Zou et al. [7]
<i>ADL1</i>	2	编码一种植物特有的类 <i>Calpain</i> 半胱氨酸蛋白酶, 调控成熟叶中 <i>HD-ZIP III</i> 的表达, 维持叶片近轴/远轴面发育。	控制叶片上表皮细胞发育, <i>ADL1</i> 突变导致远轴面上皮细胞与叶肉组织近轴化, 分化为类泡状细胞。	Hibara et al. [8]
<i>OsAGO7</i>	3	编码一个含有 PAZ 和 PIWI 结构域的蛋白, 影响 <i>ARF3-like</i> 与 <i>ARF4-like</i> 的表达。	控制叶片近/远轴面的发育, 维持叶片等面发育。	Shi et al. [9]
<i>ACLI</i>	4	编码一个带有未知保守功能域的蛋白, 调控近轴面泡状细胞数目和大小。	控制泡状细胞发育, 调节泡状细胞的大小和数目。	Li et al. [10]
<i>SRL1</i>	7	编码一个定位于细胞质膜的 GPI 锚定蛋白, 影响氢离子 ATP 酶(亚基 A, B, C 和 D)和氢离子焦磷酸化酶的表达。	控制近轴面泡状细胞发育, <i>SRL1</i> 突变将导致泡状细胞数目增加。	Xiang et al. [11]
<i>SLL1</i>	9	编码一个 SHAQKYF 类 MYB 转录因子, 属于 KANADI 家族。	调控远轴面叶肉细胞的细胞程序化死亡, <i>SLL1</i> 基因突变导致叶肉细胞程序性细胞死亡紊乱, 远轴面厚壁细胞缺失。	Zhang et al. [12]
<i>RL14</i>	10	编码一个未知功能的 2OG-Fe(II)氧化酶, 调控二级细胞壁形成相关基因的表达。	控制叶片中二级细胞壁的合成, <i>RL14</i> 突变导致纤维素含量上升, 木质素含量下降, 泡状细胞缺水收缩。	Fang et al. [13]
叶角 Leaf angle				
<i>OsBRI1</i>	1	编码一个 BR 受体激酶, OsBRI1 是 BR 信号受体。	调控水稻节间的伸长, 包括诱发居间分生组织的形成和节间细胞的纵向伸长; 控制叶片的倾角(弯曲度); 影响暗形态建成。	Yamamuro et al. [14]
<i>LC2</i>	2	编码一个类 VIN3 蛋白, 调控细胞分裂相关基因及植物激素反应相关基因的表达, 作为细胞分裂的阻遏物调控叶枕发育。	控制维管束两侧泡状细胞的发育和叶枕近轴面上皮细胞的分裂, <i>LC2</i> 基因突变导致泡状数目增加, 叶枕近轴面上皮细胞增多。	Zhao et al. [15]
<i>OsDWARF4</i>	3	编码一个细胞色素 P450 CYP90B2, 催化油菜素内酯生物合成后期步骤的 C-22 的羟基化。该基因与 CYP724B1/D11 在功能上存在冗余。	<i>OsDWARF4</i> 在叶片和根中表达量很高, 但在其他组织不表达。 <i>OsDWARF4</i> 突变后形成直立叶。	Sakamoto et al. [16]
<i>XIAO</i>	4	编码一个类 LRR 激酶, 调控细胞周期相关基因的表达, 影响 BR 信号传递。	调控水稻株型, 器官大小, 结实率和根性发育生长。	Jiang et al. [17]
<i>ILH1</i>	4	编码一个 HLH 蛋白, 受上游 BZR1 调控, 与 IBH1 拮抗互作。	控制叶枕近轴面细胞形态, <i>ILH1</i> 基因突变导致叶枕近轴面细胞增长。	Zhang et al. [18]
<i>ILA1</i>	6	编码一个类 RafMAPKKK 蛋白, 具有 Ser/Thr 激酶活性, 与一个核蛋白家族 IIPs 的互作。	控制叶枕维管束形成与细胞壁组分形成。	Ning et al. [19]
<i>OsGSR1</i>	6	编码 GAST 基因家族的一个蛋白, 与 DIM/DWF1 互作, 调控 BR 生物合成; 并且调控 OsGA20ox2 的表达, 影响内源 GA 含量; 介导两个通路间互作。	调节水稻株型、叶形发育及籽粒灌浆。	Wang et al. [20]
<i>BUI</i>	6	<i>BUI</i> 编码一个含有螺旋-环-螺旋(HLH)结构域的蛋白, 是水稻 BR 信号传导中的正调节因子。 <i>BUI</i> 在叶片结合处, 韧皮部和胚的上皮细胞等组织中表达, 受外源 BR 处理诱导, 同时外源 BR 诱导 <i>BUI</i> 的表达并不依赖于蛋白的合成。 <i>BUI</i> 参与 BR 的信号传导但不参与 BR 的生物合成。	控制水稻叶片结合处的弯曲。过量表达 <i>BUI</i> 导致叶片结合处的弯曲增大, 而抑制 <i>BUI</i> 的表达使叶片出现直立的表型。	Tanaka et al. [21]
<i>OsLIC1</i>	6	分蘖角度增加调控子 <i>OsLIC1</i> , 是 <i>OsBZR1</i> 的一个直接靶标, 能被 GSK3 激酶磷酸化, 作为一个与 BZR1 拮抗的锌指转录因子, 减弱 BR 信号。	通过油菜素内酯信号通路及其体内合成特异性调控水稻叶夹角大小、株高以及分蘖角度和穗粒数等株型特性。	Zhang et al. [22] Wang et al. [23]

(续表 1)

基因 Gene	染色体 Chromosome	分子调控机制 Molecular regulation mechanism	叶形建成作用 Function of leaf morphosis	文献 Reference
<i>OsBAK1</i>	8	编码一个 <i>OsSERKs</i> 基因家族的蛋白, 作为 BR 信号受体 BRI1 的激酶, 参与 BR 信号传导途径。		Li et al. [24]
披叶 Leaf drooping				
<i>DL</i>	3	编码一个 <i>YABBY</i> 基因家族的蛋白, 其时空表达受 DG1 序列的顺式调控。	控制主脉的发育, <i>DL</i> 突变导致叶片中脉发育受阻, 影响叶片机械支撑强度。	Ohmori et al. [25]
窄叶 Narrow leaf				
<i>NAL7</i>	3	编码的是 <i>YUCCA</i> 家族的一个含核黄素的单加氧酶。	调控 IAA 的生物合成。	Fujino et al. [26]
<i>NAL1</i>	4	编码一个植物特有的生物学功能未知蛋白, 调控水稻 IAA 的极性运输, 影响维管组织的发育及分布模式。	控制叶脉数目, <i>NAL1</i> 基因突变导致叶片纵脉数目减少。	Qi et al. [27]
<i>NRL1</i>	12	编码一个类纤维素合成酶蛋白 D4。	控制叶脉发育, <i>NRL1</i> 基因突变导致叶片纵脉(2 级和 3 级脉)数目减少。	Hu et al. [28]

3.1 水稻卷叶发育分子调控

前人对模式植物拟南芥和玉米的卷叶突变体研究发现, 叶片近轴/远轴面的发育影响叶片的卷曲度。位于叶片上表皮的泡状细胞形态是影响叶形的最主要细胞结构之一; 泡状细胞的膨胀与渗透压, 也是影响叶片卷曲的重要因素。生理研究显示, 在水分胁迫下, 泡状细胞失水收缩, 叶片卷曲; 当去除胁迫, 则泡状细胞吸水膨胀, 叶片恢复原状。几乎所有涉及叶片卷曲的基因都或多或少的影响泡状细胞的发育。因此, 可以推测, 泡状细胞生长的状况与叶片的卷曲是密切相关的。在缺水、干旱或重金属污染等外界环境因子影响下产生的水稻叶片的卷曲, 最直接的反应也是泡状细胞的膨胀与渗透压两个方面受到了影响。而目前科学家们普遍认可的细胞决定新理论认为, 自身基因水平的遗传因素是决定水稻叶片形态建成的主要因素, 并开展了大量的水稻叶形分子调控层面的遗传与机制研究。借助水稻卷叶的突变体分离克隆多个叶形基因, 至今已报道了 8 个影响叶片近轴/远轴面发育的基因, 包括 *SRL1*、*SLL1*、*RL9*、*ACL1/ACL2*、*ADL1*、*OsAGO7*、*RL14* 和 *Roc5* 等。

水稻叶片中多个细胞类型、组织结构的变异都可能导致叶片形态变化, 目前发现最常见的导致叶片发生卷曲的组织细胞结构包括各级大小叶脉中的维管束组织、角质层及维管束两侧的泡状细胞。最近由中国水稻研究所和上海植物生理生态研究所合作完成叶形调控基因 *SRL1* 的克隆, 并借助激光显微切割的方法, 切割出突变体中最后可能分化成泡状细胞的表皮细胞(分化前泡状细胞)以及野生型中对应位置的表皮细胞, 提取 RNA 扩增后进行全基因

组芯片分析。研究发现 *SRL1* 基因编码一个定位于细胞质膜的 GPI 锚定蛋白, 影响氢离子 ATP 酶(亚基 A、B、C 和 D)和氢离子焦磷酸化酶的表达, 从而抑制叶片近轴面泡状细胞的生成, 导致叶片向近轴面卷曲^[11]。反卷叶基因 *ACL1/ACL2* 是通过 T-DNA 插入而获得, 该基因编码一个没有保守功能域的由 116 个氨基酸组成的蛋白, 在叶片和叶鞘部位高表达, 其突变使得近轴面泡状细胞的数目和大小增加, 表皮细胞增大, 叶片近轴面和远轴面发育不协调, 导致叶片向远轴面卷曲, 其在野生型上的过量表达可造成与插入突变体一样的外卷表型^[10]。*ADL1* 编码一种植物特有的类 *Calpain* 半胱氨酸蛋白酶, 与玉米的 *DEFECTIVE KERNEL1* 同源, 在正常状态下, 叶片的泡状细胞只分布在近轴面上, 而该基因的突变能够造成近轴面的泡状细胞增多及远轴面产生类泡状细胞的结构, 即远轴面的上皮细胞与叶肉组织产生一种近轴化现象, 从而改变了叶片的极性, 造成叶片的向远轴面卷曲^[8]。Zou 等通过 T-DNA 插入法发现了一个外卷突变体 *oull1*, 该表型是由于敲除 *Roc5* 基因造成的, 该基因是拟南芥 *GLABRA2* 的同源基因, 在 *Roc5* 缺失突变体及共抑制植株中, 叶片近轴面的泡状细胞数量和大小都增加, 呈现外卷表型, 而过表达植株中, 近轴面上两者均减少, 使叶片内卷^[7]。*NRL1* 与 *RL14* 均是水稻中已可克隆的, 是通过影响泡状细胞发育进而影响叶片卷曲的基因。窄卷叶基因 *NRL1* 编码一个水稻的纤维素合成类似酶 *OsCSLD4*, *nrl1* 突变体, 相对于野生型, 泡状细胞明显减小, 而形成半卷叶的表型^[28]; *RL14* 编码一个未知功能的 2OG-Fe(II)氧化酶, 该基因通过影响二级细胞壁结构, 影响水分运输, 导致水分不足, 泡

状细胞缺水收缩, 叶片卷曲^[13]。

除了泡状细胞能够造成叶片的卷曲以外, 叶片维管束中叶肉细胞的分布及厚壁组织的形成也同样影响到叶片的卷曲度。最早利用图位克隆技术克隆到的卷叶调控基因 *SHALLOT-LIKE1* 就与叶片远轴面厚壁组织发育相关, 该基因编码的是 *KANADI* 家族的 MYB-DNA 结合域的转录因子, 该基因通过调控远轴面叶肉细胞的程序化死亡, 而调控植株叶片的形状。研究表明, *SLL1* 基因突变导致水稻叶片远轴面叶肉细胞的程序性死亡过程紊乱, 抑制叶片远轴面厚壁组织的正常形成, 二级维管束中远轴面厚壁组织被叶肉细胞替代, 叶肉细胞在叶片的下表皮数目增多, 使叶片向近轴面卷曲^[12]。

除了以上两个方面, 亦有研究表明, 水稻叶片角质层的发育同样影响叶片的卷曲度, 例如 *CFL1*, 该基因的突变表现出显性卷叶突变表型, 编码一个 WW 结构域, 其编码的蛋白与 *HDG1* (第4类同源盒富亮氨酸拉链转录因子) 蛋白互作, 通过影响 *HDG1* 下游角质层发育相关基因 *BDG* 和 *FDH* 的表达, 负调控角质层的发育, 进而影响叶片的卷曲度^[6]。

由此可见, 水稻叶片卷曲主要受叶片近轴/远轴面的发育、泡状细胞的发育及其膨胀和渗透压、以及叶片角质层的发育的影响, 其中叶肉细胞的发育与分布、泡状细胞的数目和大小均会影响叶片近轴/远轴面的发育平衡。

3.2 水稻叶片倾角发育分子调控

叶枕(叶片与叶鞘的连接处)对于叶角的大小有重要的作用, 因此, 任何影响叶枕生长发育的因素都会影响到叶片倾角。近来的研究显示, 叶枕发育的两方面能导致叶片倾角的改变: (1)叶枕近轴/远轴面细胞分裂与生长的不平衡; (2)叶枕机械组织发育及其机械强度。

通过对叶角突变体的研究发现, 绝大部分突变体的叶角改变都源于叶枕近轴面细胞分裂与生长的异常, 且相应的基因都参与了油菜素内酯(BR)的生物合成与信号传导途径, 包括 *LC2*、*OsBRH1*、*OsLIC1*、*OsBAK1*、*BUI*、*ILH1* 等(表1)。这些基因的突变导致近轴与远轴面细胞分裂与生长不平衡, 进而改变叶角。Zhang 等^[22]最新克隆的一个水稻叶片和分蘖角度增加的调控基因 *OsLIC1*, 作为 BZR1 的一个拮抗转录因子, 减弱 BR 信号, 调节水稻叶片的弯曲。*LC2* 基因编码 VIN3-like 的蛋白, 该蛋白含有保守的 PHD 以及 VID domain。*LC2* 所在的蛋白

家族的4个成员(*L10*、*C02*、*H08*和*LC2*)存在着两两相互作用, 且依赖于 VID domain。在叶形发育上, *LC2* 基因具有两个层次的调控作用。一是通过抑制维管束两侧泡状细胞数目; 二是调控叶枕近轴面上表皮细胞的分裂。该基因突变的叶片表型之一是维管束两侧的泡状细胞数目成倍增加, 使叶片产生向外卷曲; 另一表型就是突变体叶枕部位上皮细胞分裂能力增加, 直接结果是上下表皮细胞分裂不平衡, 导致叶片基部与茎秆之间夹角增大^[15]。

根据前人的研究, 影响叶枕机械组织强度进而改变叶角的基因目前只克隆了一个, 即 *ILAI*, 且该基因与油菜素内酯的反应无关。*ILAI* 编码一个具有 Ser/Thr 激酶活性的功能激酶, 主要定位在核内, 主要在叶枕维管束中表达, 通过与一个核蛋白家族 IIPs 的互作, 调节叶枕维管束的形成以及细胞壁的结构, 进而影响叶片倾角^[19]。另一个影响叶片与叶鞘连接处发育且与油菜素内酯反应无关的基因 *TLD1*^[30], 也起调节叶角大小的作用。*TLD1* 编码吡啶-3-乙酸氨基合成酶, 正常条件下该基因在地上部组织中不表达, 干旱胁迫下受到强烈的诱导, 该基因的一个功能获得型突变, 减少了 IAA 在叶片与叶枕的最大积累量, 进而很大程度上促进了胚胎形成后期富集 mRNA 的积累, 导致叶角的改变。

因此, 叶角大小的调控是一个复杂的过程, 在很大程度上受叶枕发育的影响, 在这过程中植物内源植物激素油菜素内酯又起着很重要的调节作用。此外, 除了油菜素内酯, 包括生长素^[30]、乙烯^[31]等植物激素都起着调节叶角大小的作用。这些植物激素与油菜素内酯协同调控叶角的大小。

3.3 水稻披叶性状发育分子调控

水稻叶片呈长披针形, 均匀地分布着许多平行的纵走脉纹。中脉是保持叶片直立性的重要因素之一, 由叶片中间区域的细胞增殖而成。叶片披垂往往是由于叶片中间区域的细胞不能增殖加厚形成中脉, 因而不能支撑自身重量。

目前已经克隆的披叶基因仅 *Drooping leaf1* (*DL1*)。*DL1* 位点发生隐性突变的突变体的叶片均不能形成正常的中脉, 表现出披叶的特性, 披叶基因 *DL1* 是 *YABBY* 家族中的一个成员, 在叶原基中心区域(推测的中脉位置)特异表达。一段称为 *DG1* 的序列是 *DL1* 时空表达的顺式调控元件, 引起 *DL* 在假定的中脉中表达, 而抑制在叶原基的其他区域表达。通过 *DG1* 对 *DL1* 的异位表达调控所产生的转

基因植株在叶片的末端产生了中脉,野生型中这个位置没有中脉,与野生型相比形成更多的向上的叶片。另一个未克隆的披叶基因 *dl2*^[32],影响叶片中脉发育和叶脉的发生模式,其突变导致中脉缺少细胞和近轴小维管束而叶片披垂^[25]。叶片的披垂度很大程度上受中脉发育的影响,虽然叶片的卷曲也能起一定的作用。然而,当前分子遗传研究还未取得较大的进展,仅克隆了 *DLI* 一个相关基因,仍有待进一步探究叶中脉及其它相关因素的发育调控机制,及其对叶片披垂度的影响。

3.4 水稻窄叶性状发育分子调控

生长素作为一类主要的植物激素,精密地调节着茎尖分生组织的叶原基分化和叶发育的细胞生长,与窄叶性状密切相关。在已克隆的3个窄叶基因 *NAL7*、*NALI* 和 *NRL1* 中,基因 *NAL7* 与 *NALI* 就分别涉及到生长素的生物合成与极性运输;而 *NRL1* 则通过调控叶片维管组织的发育,影响叶片宽度。*NAL7* 编码的是 *YUCCA* 家族的一个含核黄素的单加氧酶,参与生长素的生物合成,是控制叶宽的主效基因,该基因的突变,引起生长素含量变化;与野生型相比,突变体生长素含量在叶基部下降低,而在穗部及4日龄秧苗地上部上升。该突变体中生长素含量的变化最终导致窄叶突变性状的出现^[26]。*NALI* 编码一个植物特有的生物学功能未知蛋白,主要在维管组织中表达,该基因的突变使生长素的极性运输能力下降,进而影响维管组织的发育与分布,突变体叶片中两条平行主脉之间的小脉数目比野生型明显减少,造成窄叶表型^[27]。*NRL1* 编码一个类纤维素合成酶蛋白 D4 (*OsCslD4*)。在抽穗阶段,该基因在生长旺盛的器官中表达更高,如根部、叶鞘和穗;而该基因的突变,使其表达量下降,叶片纵脉数减少,表现窄叶^[28]。

由此可见,稻叶宽度一方面与生长素的合成及运输紧密相关,另一方面也受到维管组织发育与分布的影响。由于生长素具有调控细胞分裂、伸长与分化的作用,其对维管组织发育与分布同样具有影响。因此,阐明两者间的关系,对于进一步明确窄叶性状发育机制具有重要作用。

4 展望

培育高产超高产的水稻品种,是水稻育种工作者的永恒目标。水稻叶片形态作为理想株型的重要组成部分,研究并筛选出生产上最有利用价值的叶

形基因,对水稻理想株型育种具有十分重要的意义。传统高产育种与栽培措施相结合已经对水稻产量的提高做出了很大的贡献,再提高的潜力已经非常小。虽然当前水稻育种中叶片形态的优化主要还是通过传统的育种手段,然而随着转基因技术的不断完善,定点改造和有利基因的定向聚合将成为可能。借助转基因技术进行理想株型有利基因的聚合育种,将更高效地完善株型结构,挖掘超高产育种潜力。

叶片的形态建成是一个极其复杂的过程,含多层次、多角度的协同作用。受外部形态和内部结构的起源、发育和建成的过程的共同调控。近年来,水稻叶形已成为遗传学和育种学家的研究热点,用现代生物技术和传统育种方法已定位或克隆了多个水稻叶形相关基因。但这些已分离到的基因主要是通过同源克隆和利用化学诱变(EMS)、辐射诱变获得突变体图位克隆的途径获得,而真正通过 QTL 定位分离到叶形调控基因的相对偏少。因此,对叶形态调控机制还局限于单个基因功能的研究,叶形基因之间是否存在一定互作和上下游的调控关系还未见报道,叶形调控网络还不明晰,与拟南芥等植物叶片形态建成机制的深入研究还存在较大差距。因此,参照其他植物叶形建成的分子调控的研究模式,通过构建遗传群体分离更多的叶形调控 QTL/基因,采用双突变、回复突变等技术方法开展叶片形态建成机制研究,对阐明水稻叶形基因之间的相互关系及其调控网络是一条行之有效的重要途径。另一方面,在加大已有叶形控制基因调控机制的深入分析同时,结合种质资源中基因的等位性分析以及功能标记的开发,发掘和鉴定不同基因间发育网络调控途径,对丰富和完善水稻叶形调控机制以及解释其在株型育种中的应用具有重要作用。

同时,通过对水稻群体受光姿态、群体透光性和叶面积指数等与光合作用密切相关指标的探索研究,并结合蒸腾与呼吸作用的相关指标,有助于将多样的水稻叶形态资源应用于育种改良并提供理论依据上的支持。其中部分研究成果已经被育种家成功运用于实际育种,育种中推广的高产超级稻两优培九、两优 E32 和协优 9308 等品种都或多或少利用过适度的叶片内卷这一特性。此外,也有研究显示,叶片卷曲可以使水稻具有一定的抗旱能力,在干旱胁迫下,一些叶片适度卷曲的材料,其气孔导度和光合速率下降的速度不是十分明显,对最终的产量

影响不大。因此,随着水稻被克隆分析的叶形调控基因增多,在叶片形态形成机制逐步明晰的基础上,选育叶片卷曲抗旱水稻也许是一条行之有效的新途径。

单纯通过叶形改造创建水稻理想株型的高产水稻育种在理论上是可行的,但由多年育种经验来看并不十分理想。因此,株型高产育种必须做到形态与生理相结合、分子设计理论与传统育种实践相结合,即叶形的改造与高光效育种相结合,提高光合效率、理顺库-源关系,同时,采用分子生物学技术理论与育种实践相结合的方法,围绕叶片形态聚合高光效、抗性、米质和产量等多个已明晰其调控机制的有利基因,开展超级稻分子设计育种,实现株型整体改良或某一性状的定向改造,从而更高效、全面地优化和改良水稻叶片形态,塑造理想株型,这将是未来超级稻株型设计育种的一条行之有效的途径。

References

- [1] Yan S(严松), Yan C-J(严长杰), Gu M-H(顾铭洪). Molecular mechanism of leaf development. *Hereditas* (Beijing)(遗传), 2008, 30(9): 1127–1135 (in Chinese with English abstract)
- [2] Lü C-G(吕川根), Zong S-Y(宗寿余), Zou J-S(邹江石), Yao K-M(姚克敏). Leaf morphological factors and their heredity in F_1 of rice. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2005, 31(8): 1074–1079 (in Chinese with English abstract)
- [3] He Y(贺勇), Sun H-L(孙焕良), Meng G-Y(孟桂元). Advances in Rice leaf morphology. *Crop Res* (作物研究), 2008, 22(5): 378–380 (in Chinese)
- [4] Itoh J I, Nonomura K I, Ikeda K, Yamaki S, Inukai Y, Yamagishi H, Kiyano H, Nagato Y. Rice plant development: from zygote to spikelet. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46: 23–47
- [5] Huang H(黄海). Recent Progresses from Studies of Leaf Development. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2003, 20(4): 416–422 (in Chinese with English abstract)
- [6] Wu R H, Li B S, He S, Wabmann F, Yu C, Qin G J, Schreiber L, Qu L J, Gu H Y. CFL1, a WW domain protein, regulates cuticle development by modulating the function of HDG1, a class IV homeodomain transcription factor, in rice and *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2011, 23: 3392–3411
- [7] Zou L P, Sun X H, Zhang Z G, Liu P, Wu J X, Tian C J, Qiu J L, Lu T G. Leaf rolling controlled by the homeodomain Leucine Zipper Class IV gene *Roc5* in rice. *Plant Physiol*, 2011, 156: 1589–1602
- [8] Hibara K I, Obara M, Hayashida E, Abe M, Ishimaru T, Satoh H, Itoh J I, Nagato Y. The *ADAXIALIZED LEAF1* gene functions in leaf and embryonic pattern formation in rice. *Dev Biol*, 2009, 334: 345–354
- [9] Shi Z Y, Wang J, Wan X S, Shen G Z, Wang X Q, Zhang J L. Over-expression of rice *OsAGO7* gene induces upward curling of the leaf blade that enhanced erect-leaf habit. *Planta*, 2007, 226: 99–108
- [10] Li L, Shi Z Y, Li L, Shen G Z, Wang X Q, An L S, Zhang J L. Overexpression of *ACLI* (*abaxially curled leaf 1*) increased bulliform cells and induced abaxial curling of leaf blades in rice. *Mol Plant*, 2010, 3: 807–817
- [11] Xiang J J, Zhang G H, Qian Q, Xue H W. *SRL1* encodes a putative GPI-anchored protein and modulates rice leaf rolling by regulating the formation of bulliform cells. *Plant Physiol*, 2012, 159: 1–13
- [12] Zhang G H, Xu Q, Zhu X D, Qian Q, Xue H W. *SHALLOT-LIKE1* is a KANADI transcription factor that modulates rice leaf rolling by regulating leaf abaxial cell development. *Plant Cell*, 2009, 21: 719–735
- [13] Fang L K, Zhao F M, Cong Y F, Sang X C, Du Q, Wang D Z, Li Y F, Ling Y H, Yang Z L, He G H. Rolling-leaf14 is a 2OG-Fe(II) oxygenase family protein that modulates rice leaf rolling by affecting secondary cell wall formation in leaves. *Plant Biotechnol J*, 2012, 10: 524–532
- [14] Yamamuro C, Ihara Y, Wu X, Noguchi T, Fujioka S, Takatsuto S, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M. Loss of function of a rice brassinosteroid insensitive1 homolog prevents internode elongation and bending of the lamina joint. *Plant Cell*, 2000, 12: 1591–1605
- [15] Zhao S Q, Hu J, Guo L B, Qian Q, Xue H W. Rice leaf inclination2, a VIN3-like protein, regulates leaf angle through modulating cell division of the collar. *Cell Res*, 2010, 20: 935–947
- [16] Sakamoto T, Morinaka Y, Ohnishi T, Sunohara H, Fujioka S, Ueguchi-Tanaka M, Mizutani M, Sakata K, Takatsuto S, Yoshida S, Tanaka H, Kitano H, Matsuoka M. Erect leaves caused by brassinosteroid deficiency increase biomass production and grain yield in rice. *Nat Biotechnol*, 2006, 24: 105–109
- [17] Jiang Y H, Bao L, Jeong S Y, Kim S K, Xu C G, Li X H, Zhang Q F. *XIAO* is involved in the control of organ size by contributing to the regulation of signaling and homeostasis of brassinosteroids and cell cycling in rice. *Plant J*, 2012, 70: 398–408
- [18] Zhang L Y, Bai M Y, Wu J X, Zhu J Y, Wang H, Zhang Z G, Wang W F, Sun Y, Zhao J, Sun X H, Yang H J, Xu Y Y, Kim S H, Fujioka S, Lin W H, Chong K, Lu T G, Wang Z Y. Antagonistic HLH/BHLH transcription factors mediate brassinosteroid regula-

- tion of cell elongation and plant development in rice and Arabidopsis. *Plant Cell*, 2009, 21: 3767–3780
- [19] Ning J, Zhang B C, Wang N L, Zhou Y H, Xiong L Z. Increased Leaf Angle1, a Raf-Like MAPKKK that interacts with a nuclear protein family, regulates mechanical tissue formation in the lamina joint of rice. *Plant Cell*, 2011, 23: 4334–4347
- [20] Wang L, Wang Z, Xu Y Y, Joo S H, Kim S K, Xue Z, Xu Z H, Wang Z Y, Chong K. *OsGSR1* is involved in crosstalk between gibberellins and brassinosteroids in rice. *Plant J*, 2009, 57: 498–510
- [21] Tanaka A, Nakagawa H, Tomita C, Shimatani Z, Ohtake M, Nomura T, Jiang C J, Dubouzet J G, Kikuchi S, Sekimoto H, Yokota T, Asami T, Kamakura T, Mori M. *BRASSINOSTEROID UPREGULATED1*, encoding a Helix-Loop-Helix protein, is a novel gene involved in brassinosteroid signaling and controls bending of the lamina joint in rice. *Plant Physiol*, 2009, 151: 669–680
- [22] Zhang C, Xu Y Y, Guo S Y, Zhu J J, Huan Q, Liu H H, Wang L, Luo G Z, Wang X J, Chong K. Dynamics of brassinosteroid response modulated by negative regulator LIC in Rice. *PLoS Genet*, 2012, 8(4): e1002686
- [23] Wang L, Xu Y Y, Zhang C, Ma Q B, Joo S H, Kim S K, Xu Z H, Chong K. *OsLIC*, a novel CCCH-Type zinc finger protein with transcription activation, mediates rice architecture via brassinosteroids signaling. *PLoS ONE*, 2008, 3(10): e3521
- [24] Li D, Wang L, Wang M, Xu Y Y, Luo W, Liu Y J, Xu Z H, Li J, Chong K. Engineering *OsBAK1* gene as a molecular tool to improve rice architecture for high yield. *Plant Biotechnol J*, 2009, 7: 791–806
- [25] Ohmori Y, Toriba T, Nakamura H, Ichikawa H, Hirano H. Temporal and spatial regulation of *DROOPING LEAF* gene expression that promotes midrib formation in rice. *Plant J*, 2011, 65: 77–86
- [26] Fujino K, Matsuda Y, Ozawa K, Nishimura T, Koshiba T, W.Fraaije M, Sekiguchi H. *NARROW LEAF 7* controls leaf shape mediated by auxin in rice. *Mol Genet Genom*, 2008, 279: 499–507
- [27] Qi J, Qian Q, Bu Q Y, Li S Y, Chen Q, Sun J Q, Liang W X, Zhou Y H, Chu C C, Li X G, Ren F G, Palme K, Zhao B R, Chen J F, Chen M S, Li C Y. Mutation of rice *Narrow leaf1* gene, which encodes a novel protein, affects vein patterning and polar auxin transport. *Plant Physiol*, 2008, 147: 1947–1959
- [28] Hu J, Zhu L, Zeng D L, Gao Z Y, Guo L B, Fang Y X, Zhang G H, Dong G J, Yan M X, Liu J, Qian Q. Identification and characterization of *NARROW AND ROLLED LEAF 1*, a novel gene regulating leaf morphology and plant architecture in rice. *Plant Mol Biol*, 2010, 73: 283–292
- [29] Yan S, Yan C J, Zeng X H, Yang Y C, Fang Y W, Tian C Y, Sun Y W, Cheng Z K, Gu M H. *ROLLED LEAF 9*, encoding a GARP protein, regulates the leaf abaxial cell fate in rice. *Plant Mol Biol*, 2008, 68: 239–250
- [30] Zhang S W, Li C H, Cao J, Zhang Y C, Zhang S Q, Xia Y F, Sun D Y, Sun Y. Altered architecture and enhanced drought tolerance in rice via the down-regulation of indole-3-acetic acid by *TLD1/OsGH3.13* activation. *Plant Physiol*, 2009, 151: 1889–1901
- [31] Cao H P, Chen S K. Brassinosteroid-induced rice lamina joint inclination and its relation to indole-3-acetic acid and ethylene. *Plant Growth Regul*, 1995, 16: 189–196
- [32] Huang J L, Che S G, Jin L, Qin F, Wang G X, Ma N N. The physiological mechanism of a *drooping leaf2* mutation in rice. *Plant Sci*, 2011, 180: 757–765