

文章编号:1674-7054(2010)03-0269-13

水稻叶色突变体研究进展

陈青, 卢芙蓉, 徐雪莲

(中国热带农业科学院 环境与植物保护研究所; 农业部热带农林有害生物入侵监测与控制重点实验室;
海南省热带农业有害生物检测监控重点实验室, 海南 儋州, 571737)

摘要: 从水稻叶色突变体的产生方法、类型、遗传规律及突变基因的定位与克隆、叶色突变表型的光温调控和分子机理等方面系统综述了水稻叶色突变体的研究进展, 并对叶色突变体的应用前景做了进一步分析, 旨在为深入研究水稻叶色突变体提供参考。

关键词: 水稻叶色突变体; 研究进展; 应用前景

中图分类号: S 511 **文献标志码:** A

叶色突变的主要特点是叶色表型发生了变异, 表现为不正常的白化、黄化、浅绿、绿白、白翠、黄绿、绿黄和条纹等^[1], 并可导致控制叶绿素生物合成和叶绿体发育的重要基因的沉默或失活, 直接或间接影响叶绿素的合成和降解, 改变叶绿素含量^[2-7]。近年来, 叶色突变体的利用价值受到越来越多的关注。在育种工作中, 叶色变异不仅可以作为标记性状, 简化良种繁育^[8]和杂交种生产, 提高杂交种种子纯度^[9], 而且常绿突变体还可为高光效育种提供优良的种质资源^[10]。另外, 叶色突变体也是光合作用^[11]、光形态建成^[12]、激素生理^[13]、质-核基因互作以及信号传导途径^[14]等水稻光合系统结构、功能及其调控机理研究的理想材料。

1 水稻叶色突变体的产生方法

突变体是水稻功能基因组学的重要研究内容之一。除了天然自发突变外, 目前水稻叶色突变体的来源主要为物理、化学诱变和 T-DNA、转座子 (Ac/Ds 系统)、逆转座子 (逆转录转座子 Tos17) 插入突变。

1.1 物理、化学诱变 物理诱变法是指利用电离辐射或化学诱变剂处理水稻种子或幼苗诱变产生突变体的一种常规方法。常用的电离辐射主要是 X 射线、 γ 射线及紫外线, α 及 β 粒子, 质子及中子等, 一般以处理水稻干种子为主, 也可处理幼穗分化植株。辐射不仅要选择适当的剂量, 而且要注意剂量率。在一定的剂量范围内增加照射的剂量, 可以提高突变率, 但也随之增加生理损伤。因此, 为了获得最多的目标突变, 往往采用比临界剂量低的剂量。陈善福等^[15]用⁶⁰Co- γ 射线直接辐照龙特甫 B 干种子, 诱发获得了白化、黄化和条纹等 6 种类型叶色突变体。魏玉波等^[16]将日本优质、耐冷性水稻品种花之舞干种子经 50 Gy⁶⁰Co- γ 射线处理, 在 T₂ 代群体中选育出茎叶超绿突变体绿花舞。

化学诱变法是指利用化学诱变剂处理水稻种子诱变产生突变体的一种常规方法。化学诱变剂的种类很多, 主要有 EMS、乙烯亚胺、亚硝基乙基尿烷等烷化剂, 5-溴-尿嘧啶、5-溴去氧尿核苷、2-氨基-嘌呤等碱基类似物及有关的化合物, 重氮丝氨酸、丝裂霉素 C、链霉素等抗生素和亚硝酸、丫啶等其他种类的诱变剂。一般把种子浸泡在适当浓度的诱变剂溶液中。诱变剂的剂量由浓度、处理的持续时间及处理时的温度决定。国际水稻研究所 (IRRI) 收集了大量由快速中子、 γ 射线和化学诱变剂诱变产生的突变体^[17], 并开始用生物胁迫或非生物胁迫的方法来筛选形态缺失突变体。Meskauskiene 等^[18]采用 EMS 诱变技术得到控制叶绿素合成负调控的 flu 突变体。Mochizuk 等^[19]采用 EMS 诱变技术得到一系列与叶绿

收稿日期: 2010-01-08

作者简介: 陈青 (1971-), 男, 湖南龙山人, 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所副教授, 博士。

素合成途径密切相关的解耦联突变体 *gun 1*, *gun 2*, *gun 3*, *gun 4* 及 *gun 5*。

物理、化学诱变虽然可以快速获得较广的突变谱及稳定的遗传与多位点的变异,其表型与基因存在的相关性也可通过后代杂交试验获得,但在分离基因的过程中需要进行突变体遗传作图、共分离的限制性片段多态性分析,难以在获得全基因组测序信息的基础上进行基因功能的研究^[20]。

1.2 T-DNA 插入突变 T-DNA 标签技术是以农杆菌介导的遗传转化为基础的一种插入突变研究方法。由于农杆菌的寄主范围较广,转化技术成熟,故是创造插入突变体的有效途径。该法的最大优点是产生的突变体稳定、拷贝数低以及便于进行遗传和分子分析。而且,T-DNA 的插入热点多集中在基因组的活跃转录或具有转录潜力的区域,是理想的基因标记工具。如果插入的片段内包括大肠杆菌的复制起点,则可通过质粒挽救的方法克隆插入序列两翼的植物基因片段;如果插入的是无启动子的抗生素抗性报告基因,则一旦 T-DNA 插入植物启动子附近,就可导致外源报告基因的表达,从而可在细胞或组织水平上进行筛选;一旦 T-DNA 直接插入引起突变,便可以 T-DNA 作标签直接分离基因^[21]。利用 T-DNA 标签技术,Jeon 等^[22]构建了由 30 000 个株系组成的突变体库,发现了一些形态变异的突变,如黄叶、斑马叶、株高增加或变矮、斑点叶等。Jung 等^[6]采用 T-DNA 标签技术获得一个黄绿突变体,并进一步鉴定了该突变体基因(镁-螯合酶 H 亚基基因 *OsCHLH*)。目前利用 T-DNA 标签技术已经构建了普通的插入突变^[23]激活标签^[24],基因捕获(*gene trap*)^[25]和增强子捕获(*enhancer trap*)^[26-27]等多种类型的水稻突变群体,并对转基因水稻植株中 T-DNA 的整合结构^[28]、T-DNA 标签在水稻基因组中的分布特征^[29-30]以及 GUS(β -glucuronidase)和 GFP(*green fluorescent protein*)等报告基因在水稻中的表达模式^[31-32]进行了详细的分析。从水稻 T-DNA 插入突变群体中筛选出的多个突变体已经成功的应用于相应基因的功能分析^[6,33-36]。但 T-DNA 插入需要大量的转基因工作,复杂的 T-DNA 插入也增加了对突变体分析的难度^[6]。

1.3 转座子插入突变 转座子(*transposon*)是染色体上一段可移动的 DNA 片段,可从染色体的一个位置跳到另一个位置^[37]。当转座子跳跃而插入到某个功能基因时,就会引起该基因的失活,并诱导产生突变型。而当转座子再次转座或切离这一位点时,失活基因的功能又可得到恢复。根据增殖方式,转座子可分转座子和逆转座子 2 类。目前,应用于水稻突变体库构建的转座子主要是 *Ac/Ds* 系统和逆转录转座子 *Tos17*。

Ac/Ds 系统是玉米中的一个转座子(*transposon*)家族。该家族的自主元件 *Ac* (*Activator*)因子单独存在时即可使 *Ac*、*Ds* 元件发生转座^[38]。*Ds* (*Dissociation*)是一种非自主元件,主要是由 *Ac* 因子缺失了合成转座酶(*transferase*)的序列形成的,但却含有完整的转座序列。*Ds* 因子单独存在时,不能发生转座,只有转座酶存在时,*Ds* 才能从原位点切离,插入到新位点中^[38]。*Enoki* 等^[39]用 *Ac* 的插入突变建立了水稻突变体库,该群体有 15% ~ 50% 的插入位点,在后代中又会发生转座,插入的位点偏向于预测的基因区域。*Greco* 等^[40]利用增强子(*enhancer trap*)载体建立了 *Ac/Ds* 插入突变体库,该群体中 62% 的 T_0 代植株表现出了转座活性,92% 的 T_1 代有转座活性,70% 的 T_2 , T_3 植株 *Ds* 失去了转座活性,大约 10% 的 *Ds* 有拷贝数的扩增。*Ac/Ds* 系统插入法在大田自然培养条件下即可获得大量的突变个体,而且只需筛选相对较少量的植株就能标记所有基因。然而,这一体系也存在一些问题:(1)转座子高效、连续多次跳跃和转座,使得基因组多个位点发生突变,但这些突变位点并没有被标签所标记,给后续的基因克隆工作带来许多不便;(2)自主转座在体细胞内有可能造成基因功能自动恢复,因此造成许多不稳定突变;(3)转座子跳跃一般是在原来位点附近进行,除非多拷贝的转座子在基因组上均匀分布,否则不一定会获得所需要的突变类型。这大大增加了筛选克隆的困难,阻碍了转座子标签的推广。

Tos17 是水稻中最活跃的逆转录转座子,属于长末端重复(*long terminal repeat*)逆转录转座子里的 *TY1-copia* 类型。在正常生长条件下是不转座的,拷贝数很低,在不同的水稻品种中有 1 ~ 5 个拷贝。在组织培养的条件下,*Tos17* 可以发生转座,其后代在正常条件下种植时又能重新失活,但不会发生回复突变。*Tos17* 的拷贝数随着组培时间的延长而增大,可通过对组培时间的调节来控制它的拷贝数^[41]。*Miyao* 等^[42]用粳稻品种日本晴建立了一个包含 47 196 个株系的 *Tos17* 插入突变体库,从突变体库中筛选获得白叶、黄叶、斑马叶、条纹叶、斑点叶等多种类型的 *Tos17* 插入突变体。进一步对这些突变体进行侧翼序列 *Tail-PCR* 扩增,获得 4 316 个株系的 42 000 个插入位点的侧翼序列,并建立了侧翼序列数据库。虽然水稻

逆转录转座子拷贝数较多,但由于逆转录转座子通常只引起稳定的突变,很难用常规的遗传分析方法区分逆转录转座子引发的突变和其他因素引起的变异。

2 水稻叶色突变体的类型

水稻叶色突变作为一种十分明显,易于观察的性状突变,早在20世纪30年代就有相关报道。其主要特点是叶色表型发生了变异,表现为不正常的绿色。水稻叶色突变常在苗期表达,可根据突变体苗期的叶色表型加以分类。Gustaffsson^[43]将叶色突变体分为白化(albina)、黄化(xanthan)、浅绿(virids)、条纹(striata)、斑点(tigrina)5大主要类型。Awan等^[1]则将叶色突变体细分为白化、黄化、浅绿、绿白、白翠、黄绿、绿黄和条纹8种类型。由于叶色突变主要与叶绿素的代谢过程有关,Tanya等^[44]根据叶色突变的生理机理,将叶色突变体分为总叶绿素增加型、缺总叶绿素型、缺叶绿素a型和缺叶绿素b型等。吴殿星等^[45]还根据温度对叶色标记表达的影响,将8个温敏核不育系叶色突变体分为高温表达型,低温表达型和温钝型3种。此外,由于不同光强、光照时间和不同光质的单色光对叶色突变体表型变化的影响不同^[46-48],因此,根据光对突变体发育的调控,叶色突变体又可分为依赖于光诱导型和非依赖于光诱导型^[49]。然而,由于植物的表型性状与其内部的遗传物质之间并非存在一一对应的关系,同一性状可能受不同基因调控,即便同一基因突变,也可能因基因功能缺损程度不同而造成不同的表型。所以,简单地按苗期叶色突变体分类标准划分突变体,必将不利于突变基因生物学功能的深入探讨。而且,随着新型叶色突变体的不断涌现,已很难按照传统的苗期叶色突变体分类标准将某些叶色突变体归入到某种类型,如Cha等^[49]发现的水稻常绿(stay green)突变体,苗期叶色突变体分类标准已难以满足研究发展的需要。但由于还未找到更为合理的分类方法,按苗期叶色突变体划分较为直观、简便,所以,目前仍以苗期叶色为依据来确定叶色突变体的类型。

3 水稻叶色突变体的遗传规律

水稻叶色突变是遗传基因的突变,受细胞核和细胞质2类不同遗传体系的控制。大多数研究表明,诱发的水稻叶色突变是核基因隐性突变。Cha等^[49]对水稻常绿叶色突变体、Dong等^[50]对水稻热敏感叶色突变体tsc-1、胡忠等^[51]对粳稻黄绿色突变体、吴关庭等^[52]对PLM12紫叶突变体、夏英武等^[53]对水稻温敏型突变体、沈圣泉等^[54]对苗期转绿型II32B叶色突变体、吴殿星等^[55]对水稻转绿型白化突变系W25、龚红兵等^[56]对水稻镇恢249叶绿素b减少突变体以及赵海军等^[57]对一个携带白化转绿型叶色标记的新型不育系玉兔S的遗传分析表明,上述叶色突变体均为细胞核单基因隐性突变。笔者通过T-DNA插入法所获得的心叶黄化、叶展开后转绿的水稻转绿型黄叶突变体则由单隐性核基因控制。另外,由细胞质突变引起的叶色突变体在国内外均有报道。Palmer^[58]首次发现了细胞质控制的叶色突变体。刘友杰^[59]利用激光照射早稻品种,对其产生的退绿突变体的遗传研究也表明,该突变体为细胞质突变所致。

4 水稻叶色突变基因的定位

由于叶色突变类型丰富,其突变基因遍及水稻整个基因组。早在1975年,Iwata等^[60]就借助于初级三体,对叶色突变基因进行了定位研究。随后,Dong等^[50]将水稻热敏感叶色突变体tsc-1定位在第11条染色体上。Cha等^[49]利用分子标记将水稻常绿叶色突变体sgr(t)定位于第9染色体标记RG662和C985之间。据不完全统计,目前已定位的水稻叶色突变基因有77个,其中包括白化12个、黄化14个、转绿型14个、斑点14个、条纹11个、黄绿6个、浅绿3个、亮绿1个、常绿1个和热敏感型1个,遍布除第12条染色体外的所有水稻染色体(表1),但至今对其中突变基因的克隆还较少。我们将所得的水稻T-DNA插入黄叶突变体vyl(virescent yellow leaf, vyl)定位在第9染色体上。

叶绿素分子在光合系统的光能捕获和反应中心的电子传递过程中起着关键作用,光合作用的速率与其合成、积累和降解紧密关联。采用分子标记技术研究叶绿素含量的QTL为揭示叶色突变的基因位点提供了可能。迄今为止,水稻中利用各种遗传分离群体已发现33个与叶绿素含量相关的QTL,除第6条、第9条和第10条染色体外,其他9条染色体均有分布(表2)。但是由于定位叶绿素含量的QTL的遗传标记

与定位叶色突变的标记间存在差异,目前尚难确定这些 QTL 与叶色位点的关系。

5 水稻叶色突变相关基因的克隆

随着生物化学与分子生物学的快速发展,水稻叶色突变相关基因克隆研究成为国内外研究的热点,但主要集中在编码叶绿素合成与降解途径中的酶基因。最近,随着拟南芥中编码 3,8-二乙烯基原叶绿素酸酯 α -8-乙烯还原酶基因(DVR)图位克隆的完成,高等植物中所有编码叶绿素合成途径中酶的基因已经全部克隆^[4]。但迄今为止,水稻这一途径中相关酶的基因在 Genbank 登录仅有 4 个,分别为编码镁-整合酶 H 亚基的基因(chlH)、编码光依赖性原叶绿素酸酯 a 还原酶基因(POR)、叶绿素合成酶基因(chlG)和植醇合成酶基因,登录号分别为 D47916, D46584, D48639 和 D47484。Jung 等^[6]利用 T-DNA 插入突变体进一步鉴定了镁-整合酶 H 亚基基因 OsCHLH。Kodiveri 等^[61]在水稻中克隆了一个叶绿体发育相关的基因 OsPPR1,它属于水稻 PPR(Pentatricopeptide repeat)蛋白超家族中的一员,含有 11 个 PPR 基序。转反义 OsPPR1 的水稻植株叶片白化,叶绿体发育受阻,在苗期致死。PPR 蛋白是最近才发现的一种核编码的 RNA 结合蛋白,典型特征是含有 35 个氨基酸构成前后相连的 PPR 基序。每个 PPR 蛋白平均含有 2~26 个 PPR,每个 PPR 结构域含有 2 个 α -螺旋^[62]。在高等植物中,核编码 PPR 蛋白能参与调控叶绿体编码的光合基因或线粒体编码的育性基因的 RNA 加工^[61,63]。OsHAP3 基因控制着叶绿体的发育和叶绿素的合成,RNAi 干扰的 OsHAP3 表现白绿叶色表型,但 OsHAP3 和 OsPPR1 控制叶绿体发育的详细分子机理仍不清楚^[61]。

表 1 水稻中已报道的叶色突变体

类型	总数/个	基因符号	基因名称	染色体序号	距离/cM	参考文献
白化	12	ads	adaxial snowy leaf	未知	未知	[1]
		al-v(t)	variegated albino	4	未知	[2]
		al1(alK1)	albino1	6	未知	[3]
		al10	albino10	3	73	[4]
		al2	albino2	5	111	[3]
		al3	albino3	5	51	[3]
		al4	albino4	1	106	[5]
		al5	albino5	4	未知	[5]
		al6(t)	albino6	5	56	[5]
		al7(t)	albino7	4	未知	[5]
		al8	albino8	1	未知	[6]
		al9(t)	albino9	6	未知	[6]
亮绿	1	bgl	bright green leaf	5	82	[3]
黄化	14	chl1(ch1)	chlorina1	3	188	[10]
		chl10	chlorina10	2	142	[11]
		chl2	chlorina2	3	73	[12]
		chl3	chlorina3	3	165	[4]
		chl4	chlorina4	6	82	[12]
		chl5	chlorina5	1	未知	[6]
		chl6	chlorina6	1	84	[6]
		chl7	chlorina7	6	未知	[13]
		chl8	chlorina8	8	未知	[14]
		chl9	chlorina9	8	未知	[15]
		chs1(t)	Chlorosis1	9	未知	[16]
		chs2(t)	Chlorosis2	未知	未知	[16]
		chs3(t)	Chlorosis3	未知	未知	[16]
		chs4(t)	Chlorosis4	未知	未知	[16]

续表 1

类型	总数/个	基因符号	基因名称	染色体序号	距离/cM	参考文献
浅绿	3	fgl(fl)	faded green leaf	10	16	[12]
		lgp	light green panicle and leaf	未知	未知	[17]
		pgl	pale green leaf	10	70	[5]
常绿	1	sgr(t)	stay green leaf (t)	9	未知	[20]
条纹	11	rfs	rolled fine striped leaf	7	66	[12]
		st1	stripe1	6	65	[8]
		st2(gw)	stripe2	5	49	[8]
		st3(stl)	stripe3	3	106.9	[22]
		st4(ws2)	stripe4	4	90	[9]
		st5	stripe5	4	170	[15]
		st6(t)	stripe6	3	66	[23]
		st7	stripe7	4	未知	[14]
		st8	stripe8	7	30	[14]
		fs1	fine stripe1	6	90	[8]
		fs2	fine stripe2	1	1	[12]
转绿	14	v(KL1111)	virescent-(KL1111)	未知	未知	[12]
		v(KL406)	virescent-(KL406)	未知	未知	[12]
		v1	virescent1	3	127	[12]
		v10	virescent10	5	85	[25]
		v11	virescent11	7	55	[25]
		v12(t)	virescent12	未知	未知	[26]
		v2	virescent2	3	77	[12]
		v3	virescent3	6	30	[12]
		v4	virescent4	11	60	[27]
		v5	virescent5	3	144	[4]
		v6	virescent6	1	150	[10]
		v7	virescent7	3	92	[22]
		v8	virescent8	8	未知	[12]
		v9	virescent9	11	28	[28]
黄绿	6	ygl	yellow green leaf	10	未知	[29]
		yl(t)	yellow-green leaf (t)	5	60	[30]
		yl	chlorophyll mutant	未知	未知	[31]
		ylb	yellow banded leaf blade	5	未知	[31]
		ylm	yellow leaf margin	4	未知	[12]
		yp	yellow panicle	未知	未知	[32]
斑点	14	z(KL1207)	zebra(KL1207)	未知	未知	[12]
		z1	zebra1	11	15	[12]
		z10	zebra10	7	未知	[14]
		z11	zebra11	2	35	[14]
		z12	zebra12	2	37	[14]
		z13	zebra13	6	未知	[14]
		z2	zebra2	11	90	[12]
		z3	zebra3	3	33	[22]
		z4	zebra4	8	未知	[12]
		z5	zebra5	4	未知	[33]
		z6	zebra6	7	60	[35]
		z7	zebra7	5	180	[14]
		z8	zebra8	1	70	[14]
		z9	zebra9	3	188	[14]
热敏感型	1	tsc1(t)	thermo-sensitive seedling color-1(t)	11	未知	[24]

表2 在不同作图群体中检测到与水稻光合功能相关性状的 QTL

性状	总数/个	染色体分布												参考文献
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
全氮含量(TLN)	11	1	3	1	0	0	0	0	3	0	0	3	0	[1, 5, 7]
叶绿素含量(CC)	34	9	4	8	5	1	0	3	2	0	0	1	1	[1-4, 6, 7]
叶绿素 a/b 比值(CR)	4	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	[1, 4]
净光合速率(NPR)	3	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	[1, 4]
蒸腾速率(TR)	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	[6]
细胞间 CO ₂ 浓度(IC)	6	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	[4]
气孔导度(SCO)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	[4]
叶绿素含量下降(DCC)	4	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	[4]
Rubico 酶含量(RC)	3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	[5]
Rubic 酶/蛋白含量(RRP)	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	[4]
Rubico 酶/叶绿素含量(RRC)	3	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	[4]
比叶面积(SLA)	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	[4]
可溶性蛋白含量(SPC)	8	0	2	1	1	0	1	0	2	1	0	0	0	[5]
Rubico 酶/全氮含量(RRN)	3	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	[5]

6 叶色突变表型的光温调控

叶绿素和叶绿体的形成与温度密切相关,很多叶色突变体在不同温度下的表型变化也很明显。Dong 等^[50]对水稻热敏感叶色突变体(*tsc-1*)7436S 的研究表明,在 23.1 °C,26.1 °C 和 30.1 °C 3 种温度下,突变体呈现白色、浅绿、绿色 3 种不同的叶色,但将 23.1 °C 处理的苗转移到正常的 30.1 °C 后,突变体能恢复正常绿色。吴殿星等^[55]发现不同温度下水稻转绿型白化突变体 W25 的苗期叶色变化明显。在 15 °C,20 °C 和 25 °C 的温度条件下,其幼叶表现为完全白化,而在 30 °C 和 35 °C 时,其第 1~2 叶却表现为浅绿色和正常绿色。崔海瑞等^[64]研究了温度对水稻突变体 W1 叶色及叶绿素(Chl)生物合成的影响。在高温下,突变体 W1 的 Chl 和类胡萝卜素(Caro)含量与对照无显著差异,幼苗呈绿色;低温(15~20 °C)下 W1 的 Chl 和类胡萝卜素(Caro)含量明显较低,表现白化。白化苗中 Chl 生物合成的中间产物原叶绿素(酸)(Pchl)、镁原卟啉(Mg-proto)、原卟啉 IX(Proto IX)含量减少,而 δ-氨基酮戊酸(ALA)和胆色素原(PBG)大量积累,证明突变体 W1 低温下 Chl 生物合成卟啉原形成部位受阻。水稻叶色突变体产生上述转绿现象的主要原因是由于突变体光合色素代谢的途径或关键酶类的基因表达容易受温度条件的调控,从而使突变体的叶色表型在不同温度条件下可以发生很大的变化^[65-66]。

光对叶绿素和叶绿体形成也十分重要,光不足植物则不能高效地进行光合作用。光强可直接影响色素的合成及调节有关的酶活性,导致叶绿素、类胡萝卜素和花色苷的含量及比例变化,从而引起叶色变异^[50]。不同光强对叶色突变体表型变化的影响不同。如水稻条斑突变体 TCM248 在叶片早期发育期间,只有光暗交替变化的环境下才能呈现其横向条斑表型,而且在光反应期间,其横向条斑表型在强光下更加明显^[50]。光照时间不同和不同光质的单色光对叶色突变体表型变化的影响不同。如花叶叶兰只有在 63% 遮荫度下才能够较好地呈现花叶性状^[51],而紫叶小檗必须在全光照下才能表现其叶色^[52],蓝光和绿光对其叶色表现有较严重的影响,使其紫红色或黄色叶色向绿色或绿褐色方向转化,而红光有利于其叶色向紫色方向发展^[51]。

7 水稻叶色突变的分子机理

叶色突变是生理和遗传共同作用的结果,突变的分子机理较为复杂。水稻叶色突变体一般受内在或外界环境因素的影响而导致相关基因发生突变或细胞质的遗传物质发生改变,使光合色素代谢系统中某种酶活性改变或叶绿体发育受阻,以及相关基因的转录或翻译水平降低,从而导致光合色素形成受阻或降解缓慢,最终产生叶色变异。根据叶色突变体的研究结果,目前对其发生机理的解释主要有以下几种观点。

7.1 叶绿素合成受阻 四吡咯分子是色素和很多生命功能的辅助因子,在植物中具有电子载体、信号分子和氧化还原反应中的催化剂的作用。植物中四吡咯生物合成虽然极其复杂,但却高度保守(图 1),其中大部分酶促步骤存在于所有生物。四吡咯与 Mg^{2+} 螯合形成叶绿素。叶绿素分子的生物合成从谷氨酰-tRNA 开始,到叶绿素 a、b 合成结束,是一个极其复杂但又高度保守的过程(图 2)^[67]。目前,高等植物叶绿素合成途径中所有的关键酶基因已被全部鉴定出来(表 3)。该途径中任何基因发生突变都可能阻碍叶绿素形成,从而改变叶绿体中各种色素的比例,引起叶色变异。研究表明,叶色突变大多数表现为叶绿素合成受阻,少数为叶绿素降解缓慢,不同的突变类型叶绿素合成受阻的部位也存在差异^[63]。一般来说,白化是由于叶绿素合成卟啉原形成部位受阻,如水稻 W1 叶色突变体^[63];黄化、浅绿、斑点是由于叶绿素合成镁的螯合形成部位受阻,如水稻“斑马叶”^[68];绿白是由于叶绿素酸酯 a 形成部位受阻,如拟南芥的 DVR 叶色突变体^[4]。Cha 等^[49]推测水稻常绿叶色突变体可能是突变延缓了叶片体内叶绿素的降解速度,但具体哪个部位受阻还不清楚。

7.2 叶绿体分化与发育受阻 叶绿体是存在于绿色植物叶肉细胞中的一种细胞器,其主要功能是进行光合作用。叶绿体分化(differentiation)起源于前质体(proplastid),在细胞质、核基因协同精细调控下完成。一般可分为 3 个步骤^[69-70]:1)叶片原基分化成分生组织,合成质体中 DNA;2)分生组织细胞增大,质体的转录和翻译能力形成,特别是编码质体转录和翻译元件的基因表达量大大提高;3)叶肉细胞成熟,编码光合作用元件的质和核基因表达量提高,叶绿体分化形成。因此,虽然叶绿体具有自身的遗传物质和进行蛋白质合成的全套机构,但叶绿体的正常发育需要控制叶片发育及编码叶绿体蛋白的核基因与编码自身蛋白的叶绿体基因之间的相互协调。在质-核基因复杂的动态调控过程中,任何一方基因的突变都可能导致叶绿体发育不良,从而产生不同程度的叶色突变表型。Hiroki 等^[2]发现叶绿体不良的转绿型白叶突变体 v2 也属于此类型,v2 基因抑制了叶绿体分化早期质体遗传体系中质体转录本的翻译,具体表现为在突变体 OsRpoTp 和 OsSIG2A 转录本的异常水平积累,但核基因组编码光合基因 cab 和 rbsS 的转录本积累却受到抑制。然而,v1 和 v2 基因至今还未被克隆出来,它们在发育过程中的精细调控机理目前还不清楚。

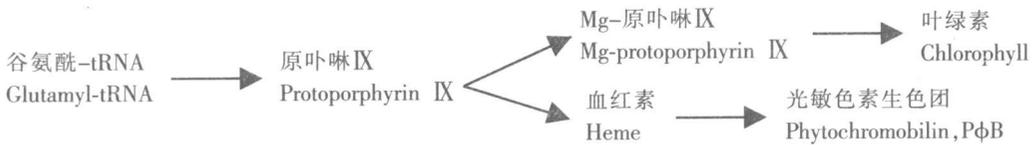


图 1 四吡咯生物合成^[71]

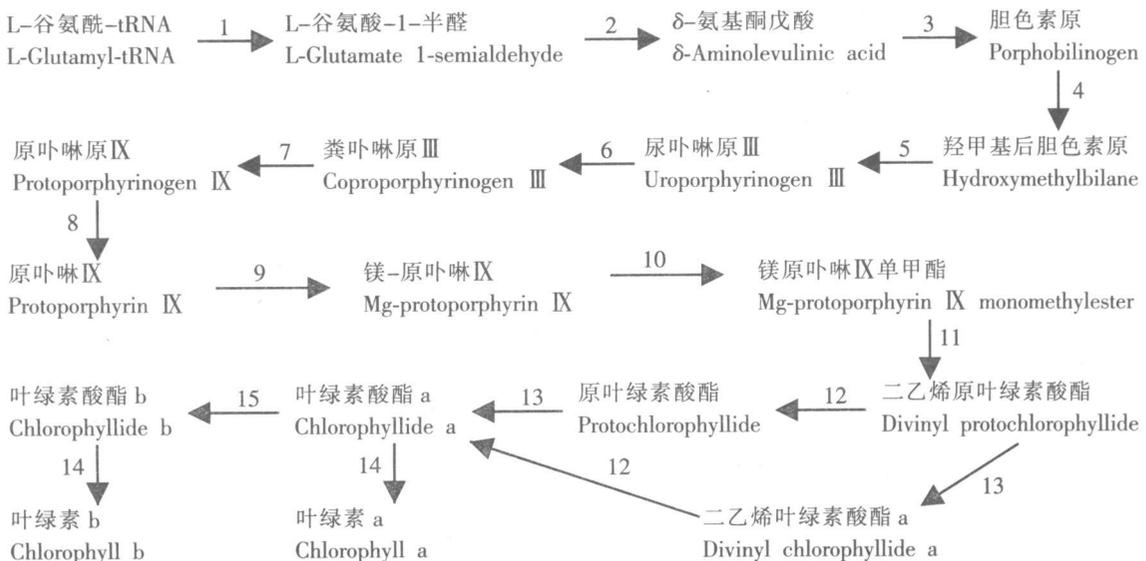


图 2 被子植物叶绿素生物合成^[67]

表3 参与高等植物叶绿素合成途径的酶的基因^[67]

步骤	酶	基因名称	拟南芥	水稻
1	谷氨酰-tRNA 还原酶	HEMA1	AT1G58290	J013000F15
		HEMA2	AT1G09940	None
		HEMA3	AT2G31250	J013000F15
2	谷氨酸-1-半醛转氨酶	GSA(HEML1)	AT5G63570	XM_483492
		GSA2(HEML2)	AT3G48730	XM_483492
3	胆色素原合酶(5-氨基酮戊酸脱水酶)	HEMB1	AT1G69740	AK119551
		HEMB2	AT1G44318	None
4	羟甲基后胆色素原合酶(胆色素原合酶脱氨酶)	HEMC	AT5G08280	XM464263
5	尿卟啉原Ⅲ合酶(尿卟啉原Ⅲ共合酶)	HEMD	AT2G26540	None
6	尿卟啉原脱羧酶	HEME1	AT3G14930	AK072290
		HEME2	AT2G40490	AK070859
7	粪卟啉原氧化脱羧酶	HEMF1	AT1G03475	XM473852
		HEMF2	AT4G03205	AY224543
8	原卟啉原氧化酶	HEMG1	AT4G01690	NM187739
		HEMG2	AT5G14220	XM472979
9	镁螯合酶 D 亚基	CHLD	AT1G08520	AK072463
	镁螯合酶 H 亚基	CHLH	AT5G13630	AK067323
	镁螯合酶 I 亚基	CHLI1	AT4G18480	XM_462936
		CHLI2	AT5G45930	XM_462936
10	镁原卟啉 IX 甲基转移酶	CHLM	AT4G25080	None
11	镁原卟啉 IX 单甲酯环化酶	CRD1(ACSF)	AT3G56940	AK059435
12	二乙烯还原酶	DVR	AT5G18660	None
13	NADPH 原叶绿素酸酯氧化还原酶	PORA	AT5G54190	NM_197169
		PORB	AT4G27440	None
		PORC	AT1G03630	NM_197169
14	叶绿素合成酶	CHLG	AT3G51820	AK099004
15	叶绿素酸酯氧化酶		AT1G44446	J013116K15
		CAO		J023100H07

7.3 质-核信号传导途径受阻 大量的研究表明,细胞核与质体之间存在着信号通路,通过这一信号传导途径,核基因产物可以调控质体基因的转录和翻译,质体的代谢及发育状态也能影响编码质体蛋白类核基因的表达^[72-74]。例如,当叶绿体受到损伤时,细胞核能感受伤信号,并根据叶绿体实际的需求调节核中编码质体蛋白类核基因的转录,即细胞核编码光合系统所需要的蛋白质组分和丰度必须与叶绿体自己合成的组份和丰度相匹配^[75]。

7.4 叶绿体蛋白转运受阻 蛋白质是叶绿体的结构基础,一般占叶绿体干重的 30%~40%,参与叶绿体中几乎全部生命活动。电子传递链中的细胞色素、质体蓝素都与蛋白质结合,对叶色起决定作用的光合色素同样必须与蛋白质结合形成复合体。如果蛋白输入途径受到某种阻碍,叶绿体功能很可能发生紊乱,使叶绿体内环境发生变化。叶绿体内部条件的改变,将影响色素的合成与分解,导致叶色变异^[76]。

7.5 其他与光系统无直接相关的基因突变 除了上述与光系统相关的途径受阻以外,其他基因突变也可引起叶色变异,但突变的分子机理尚未十分清楚。如,线粒体 ABC 转运蛋白 Sta1 促进细胞质 Fe/S 蛋白的成熟,进而引起植株矮小、叶片黄化、细胞核形态异常等一系列次级效应(secondary effect)^[71]。

8 叶色突变体的应用前景

叶色突变是一种非常明显的性状突变,突变基因可以直接或间接影响叶绿素的合成和降解,改变叶绿素含量,导致光合效率下降,造成作物减产,严重时甚至导致植株死亡^[2-6]。近年来,随着分子生物学、基因组学和生物信息学研究的不断深入,以及植物生理学和生物化学研究手段的不断发展,叶色突变体

的利用价值受到越来越多的关注,现已被广泛应用于基础研究和生产实践。

8.1 叶色突变体在光形态建成中的应用 光敏色素生色团是光形态建成的光受体-光敏色素的必需组分,对光敏色素活性起决定作用^[71]。缺失光敏色素生色团叶色突变体是研究植物光形态建成的理想材料。由于缺失光敏色素生色团叶色突变体对光不敏感^[71],可用于研究光感受和信号传导。生色团含量降低导致所有光敏色素活性下降^[71],因而可通过缺失生色团的突变体研究光敏色素在光形态建成中的作用。在缺失光敏色素生色团叶色突变体中,最具代表性的是拟南芥 *hyl*, *hy2* 突变体^[12]。

8.2 叶色突变体在植物激素生理中的应用 首先,激素含量与叶色间有着较为密切的联系。由于叶色突变体的突变基因可直接或间接影响激素的合成,改变突变体内源激素的含量,所以鉴定缺失激素的叶色突变体,不但可以增强对激素合成途径的了解^[77],而且可以克隆出参与激素生物合成的基因。水稻 *os-abal* 突变体缺失 ABA,叶片介于灰绿和绿色之间,Agrawal 等^[13]通过正向遗传学的方法从中分离出了 1 个参与 ABA 生物合成的基因。其次,植物激素影响叶片的颜色,也影响植物体的生长、成熟和衰老。内源激素含量发生变化的叶色突变体,往往表现一些异常的生理现象。细胞分裂素含量升高的叶色突变体株高下降^[10],叶片形态异常^[78]。缺乏 ABA 的叶色突变体则通常表现出下列性状:过早萌发、易于萎蔫及可在高渗培养基上萌发和生长等^[77]。分析和鉴定此类突变体,可在前人研究的基础上进一步了解植物激素的功能。此外,某些叶色突变体对外源激素敏感性有变化。如菊花不黄化(*non-yellowing*)品种‘Boaldi’对乙烯不敏感,乙烯不能诱使其叶片衰老、黄化^[79]。此类叶色突变体可用来阐明植物对外源激素的应答机理。

8.3 叶色突变体在植物病理中的应用 某些病原菌的生长、发育与寄主叶片的光合活性有密切关系。叶色突变体的黄化叶、白化叶和花斑叶失绿部分的光合能力减弱或丧失,可将之作为实验工具研究影响这些病原菌的发育的因素。Singh 等^[80]研究白粉菌(*powdery mildews*)时发现,某种未知的化学物质对白粉菌的正常发育起决定性作用,这种物质只存在于具有光合活性的组织中,并且在自然条件下不可溶解。

8.4 叶色突变体在功能基因组学研究中的应用 叶色突变是自然界比较普遍的一种非常明显的性状突变,可以导致控制叶绿素生物合成和叶绿体发育的重要基因的沉默或失活^[2-6],是研究叶绿体结构、功能和发育机理的理想材料。利用缺失色素叶色突变体,现已分离鉴定出多个控制叶绿素合成和叶绿体发育的基因,如叶绿素酸酯 a 氧化酶基因^[81]、叶绿体核糖体小亚基 17 基因^[82]。镁-螯合酶 H 亚基基因 *chlH*^[6]。对于单个基因的功能,Kumar 和 Soil^[83]将 HEMA 基因的反义 RNA 转入拟南芥,得到一系列谷氨酰-tRNA 还原酶突变体。并通过对这些突变体的研究,发现谷氨酰-tRNA 还原酶是催化 ALA 形成的关键酶。在基因互作方面,Lopez-Juez 等^[84]对拟南芥 *cue* 突变体的研究证明了细胞内存在复杂的基因互作,线粒体、叶绿体、细胞核基因通过信号分子协同表达,调控植物生长发育。Robson 等^[78]对玉米转 IPT 基因突变体研究证明了与光合作用无直接关系的核基因发生突变可通过某些信号分子间接调控光合系统基因的功能,从而导致叶绿体中色素含量发生变化。

8.5 作为标记性状应用于水稻杂交育种 目前,杂交水稻育种中的杂交稻种子纯度低问题十分突出。根据国家《农作物种子检验规程》,种子纯度的检测一直以田间鉴定为主,缺乏快速有效的方法^[8]。因此,利用隐性核基因控制的叶色突变体,通过杂交、回交等手段将叶色突变性状导入三系或两系的不育系作为标志性状,在苗期就可准确无误地识别假种并予以剔除,确保良种的纯度及质量。因此,开展水稻叶色突变体理论与应用研究,对于简化杂交稻纯度鉴定手续、节约纯度鉴定的时间和费用及提高杂交稻生产的田间纯度具有重要意义。

8.6 叶色突变体在高光效育种中的应用 叶片是植物进行光合作用的主要器官,光合作用的速率与其叶绿素含量高低、叶绿体结构和功能是否完整有着复杂的关系。利用叶色突变体,可以有针对性地研究光照、二氧化碳浓度和温度等环境因素对光合速率的影响。Coschigano 等^[85]从拟南芥叶色突变体 *gls* 中分离出 *GLU1* 基因,并证实 *GLU1* 的编码产物与光呼吸有密切关系。这一发现为抑制 C_3 作物的光呼吸以增加光合效率,进而提高作物产量提供了新思路。功能型(*functional*)常绿突变体在生育后期,其叶片延缓衰老,叶绿素含量和光合能力保持不变。如果将常绿突变转入植物,可提高其生产能力。Gan 等^[10]通过转基因诱发了 1 个烟草常绿突变体,该突变体衰老明显延迟,其生物量和种子产量较野生型分别增加了 40% 和 52%。

参考文献:

- [1] AWAN M, KONZAK D F, RUTGER J N. Mutagenic effect of Sodium Azide in rice[J]. *Crop Science*, 1980, 20:663 - 668.
- [2] HIROKI S, 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[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2004, 45(8): 985 - 896.
- [3] ANNA L, PESARESI P, VAROTTO C, et al. Mutants for photosystem I subunit D of *Arabidopsis thaliana*; effects on photosynthesis, photosystem I stability and expression of nuclear genes for chloroplast functions[J]. *The Plant Journal*, 2004, 37: 839 - 852.
- [4] NAGATA N, TANAKA R, SATOH S, et al. Identification of a vinyl reductase gene for chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana* and implications for the evolution of *Prochlorococcus* species[J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(1):233 - 240.
- [5] CHEN G, YU E B, NING L. EGY1 encodes a membrane-associated and ATP-independent metalloprotease that is required for chloroplast development[J]. *The Plant Journal*, 2005, 41:364 - 375.
- [6] JUNG K H, HUR J, RYU C H. Characterization of a rice chlorophyll-deficient mutant using the T-DNA gene-trap system[J]. *Plant Cell Physiology*, 2003, 44: 463 - 472.
- [7] MAEKAWA M, RIKISHI T, MATSUURA T, et al. Non-segregation of albino character in rice plant heterozygous for variegated albino[J]. *Rice Genetics Nesletter*, 2000, 17:51 - 54.
- [8] 吴殿星. 植物叶绿素突变体的研究及其应用探讨[J]. *中国农学通报*, 1995, 11(4): 36 - 39.
- [9] ZHAO Y, WANG M L, ZHANG Y Z, et al. A chlorophyll reduced seedling mutant in oilseed rape, *Brassica napus* for utilization in FI hybrid production[J]. *Plant Breed*, 2000, 119(2): 131 - 135.
- [10] GAN S, AMASINO R M. Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin[J]. *Science*, 1995, 270: 1986 - 1988.
- [11] FAMBRINI M, CASTAGNA A, VECCHIA F D. Characterization of a pigment-deficient mutant of sunflower (*Helianthus annuus* L.) with abnormal chloroplast biogenesis, reduced PS II activity and low endogenous level of abscisic acid[J]. *Plant Science*, 2004, 167:79 - 89.
- [12] PARKS B M, QUAIL P H. Phytochrome-deficient hyl and hy2 long hypocotyls mutants of *Arabidopsis* are defective in phytochrome chromophore biosynthesis[J]. *The Plant Cell*, 1991(3): 1177 - 1186.
- [13] AGRAWAL G K, YAMAZAKI M, KOBAYASHI M. Screening of the riceviviparous mutants generated by endogenous retrotransposon Tos17 insertion, tagging of a zeaxanthin epoxidase gene and a novel OsTA TC gene[J]. *Plant Physiology*, 2001, 125: 1248 - 1257.
- [14] STERN D B, HANSON M R, BARKAN A. Genetics and genomics of chloroplast biogenesis; maize as a model system[J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9: 293 - 301.
- [15] 陈善福, 舒庆尧, 吴殿星, 等. 利用 C 射线辐照诱发水稻龙特甫 B 叶色突变[J]. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 1999, 25(6): 569 - 572.
- [16] 魏玉波, 梁乃亭, 布哈丽且木, 等. ⁶⁰Co_γ 射线辐照诱发水稻茎叶超绿突变体[J]. *核农学报*, 2003(6): 409 - 411.
- [17] FISHER K S, BARTON J, KHUSH G S, et al. Collaboration in rice[J]. *Science*, 2000, 290: 279 - 280.
- [18] MESKAUSKIENE R, NATER M, DAVID G. A negative regulator of chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc [J]. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001, 98:12826 - 12831.
- [19] MOCHIZAUKI N, BRUSSLAN J A, LARKINI R. *Arabidopsis* genomes uncoupled 5 (GUN5) mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98:2053 - 2058.
- [20] MAEKAWA M, TANAKA A, SHIKAZONO N, et al. Somatic reversion induced by ion beam irradiation in stable yellow leaf mutant of rice[J]. *Rice Genetics Nesletter*, 2001, 18: 36 - 39.
- [21] WALDEN W, HAYASHI H, SCHELL J. T-DNA as a gene tagging[J]. *The Plant Journal*, 1991(1): 281 - 288.
- [22] JEON J S, LEE S, JUNG K H. T-DNA insertional mutagenesis for functional genomics in rice[J]. *The Plant Journal*, 2000, 22:561 - 570.
- [23] SHA Y, LI S, PEI Z. Generation and flanking sequence analysis of a rice T-DNA population[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108: 306 - 314.
- [24] JOEHO D H, AN S, KANG H G. T-DNA insertional mutagenesis for activation tagging in rice[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130:1636 - 1644.

- [25] RYU C H, YOU J H, KANG H G. Generation of T-DNA tagging lines with a bidirectional gene trap vector and the establishment of an insertion-site database[J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 54: 489 – 502.
- [26] YANG Q H, LU W, HU M L, et al. QTL and epistatic interaction underlying leaf chlorophyll and H₂O₂ contents variation in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30 (3): 245 – 250.
- [27] SALLAUD C, GAY C, LARMANDE P. High throughput T-DNA insertion mutagenesis in rice: a first step towards in silico reverse genetics[J]. *The Plant Journal*, 2004, 39: 450 – 464.
- [28] KIM S R, LEE J, JUN S H. Transgene structures in T-DNA-inserted rice plants[J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52: 761 – 773.
- [29] CHEN S, JIN W, WANG M. Distribution and characterization of over 1000 T-DNA tags in rice genome[J]. *The Plant Journal*, 2003, 36: 105 – 113.
- [30] AN S, PARK S, JEONG D H. Generation and analysis of end sequence database for T-DNA tagging lines in rice[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133: 2040 – 2047.
- [31] JOHNSON A A T, HIBBERD J M, GAY C. Spatial control of transgene expression in rice (*Oryza sativa* L.) using the GAL4 enhancer trapping system[J]. *The Plant Journal*, 2005, 41: 779 – 789.
- [32] PENG H, HUANG H, YANG Y. Functional analysis of GUS expression patterns and T-DNA integration characteristics in rice enhancer trap lines[J]. *Plant Science*, 2005, 168: 1571 – 1579.
- [33] MUTHUKALIANAN G K, LEE S, YUM H. Identification of anther-specific gene expression from T-DNA tagging rice[J]. *Molecular Cells*, 2003, 15: 102 – 107.
- [34] LEE S, KIM J, SON J S. Systematic reverse genetic screening of T-DNA tagged genes in rice for functional genomic analyses; MADS-box genes as a test case[J]. *The Plant Cell Physiology*, 2003, 44: 1403 – 1411.
- [35] LEE S, JUNG I C H, AN Q. Isolation and characterization of a rice cysteine protease gene, OsCPI using T-DNA gene-trap system[J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 54: 755 – 765.
- [36] LEE S, KIM J, HAN J J. Functional analyses of the flowering time gene OsMADS50, the putative suppressor of overexpression of CO₁/AGAMOUS-LIKE 20 (SOCL/AGL20) orthologue in rice[J]. *The Plant Journal*, 2004, 38: 754 – 764.
- [37] 吴乃虎. 基因工程原理[M]. 北京:科学出版社,2001:177.
- [38] KUNZE R, STOCHAJ U, LAUFS J, et al. Transcription of transposable element Activator(Ac) of *Zea mays*. L[J]. *Embo Journal*, 1987(6):1555 – 1563.
- [39] ENOKI H, IZAWA T, KAWAHARA M. Ac as a tool for the functional genomics of rice[J]. *The Plant Journal*, 1999, 19 (5):605 – 613.
- [40] GRECO R, OUWERKERK P B, TAAI A J, et al. Early and multiple Ac transpositions in rice suitable for efficient insertional mutagenesis[J]. *Plant Molecular Biology*, 2001, 46: 215 – 227.
- [41] HIROCHIKA H, SUGIMOTO K, OTSUKI Y, et al. Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(15):7783 – 7788.
- [42] MIYAO A, TANAKA K, MUMTA K. Target site specificity of the Tos17 retrotransposon shows a preference for insertion within genes and against insertion in retrotransposon-rich regions of the genome[J]. *The Plant Cell*, 2003, 15:1771 – 1780.
- [43] GUSTAFSSON A. The plastid development in various types of chlorophyll mutations[J]. *Hereditas*, 1942, 28:483 – 492.
- [44] TANYA G F L, ANDREW S. Partial blocks in the early steps of the chlorophyll synthesis pathway: A common feature of chlorophyll b-deficient mutants[J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, 97: 311 – 320.
- [45] 吴殿星,舒庆尧,夏英武.⁶⁰Coγ射线诱发的籼型温敏核不育水稻叶色突变系变异分析[J]. *作物学报*, 1999, 25(3): 64 – 69.
- [46] KUSUMI K, KOMORI H, SATOH H, et al. Characterization of a zebra mutant of rice with increased susceptibility to light stress[J]. *Plant Cell Physiology*, 2000, 41(2):158 – 164.
- [47] ZHANG Q X, WU J, ZHOU X H, et al. Resources of colored-leaf plants and their use in landscape[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 1998, 20(4):126 – 127.
- [48] STAMPS R H. Effects of shade level and fertilizer rate on yield and vase life of *Aspidistra elatior* ‘Variegata’ leaves[J]. *Journal of Environmental Horticulture*, 1995, 13(3):137 – 139.
- [49] CHA K W, LEE Y J, KOU H J. Isolation, characterization, and mapping of the stay green mutant in rice[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 104: 526 – 532.
- [50] DONG Y J, DONG W Q, SHI S Y. Identification and genetic analysis of a thermo-sensitive seeding-colour mutant in rice

- (*Oryza sativa* L.) [J]. *Breeding Science*, 2001, 51: 1-4.
- [51] 胡忠, 彭丽萍, 蔡永华. 一个黄绿色的水稻细胞核突变体[J]. *遗传学报*, 1981(8): 256-261.
- [52] 吴关庭, 王贤裕, 金卫. 水稻温敏型紫叶突变体 PLM12 及其遗传研究[J]. *核农学报*, 2001(2): 70-74.
- [53] 夏英武, 吴殿星, 舒庆尧. 人工诱发的植物叶绿素突变体的遗传及其应用[J]. *核农学报*, 1996(1): 41-44.
- [54] 沈圣泉, 舒庆尧, 包劲松, 等. 实用转绿型叶色标记不育系白丰 A 的应用研究[J]. *中国水稻科学*, 2004, 18(1): 34-38.
- [55] 吴殿星, 舒庆尧, 夏英武. 一个新的水稻转绿型白化突变系 W25 的叶色特征及遗传[J]. *浙江农业学报*, 1996, 8: 372-374.
- [56] 龚红兵, 陈亮明, 刁立平. 水稻叶绿素 b 减少突变体的遗传分析及其相关特性[J]. *中国农业科学*, 2001, 34(6): 686-689.
- [57] 赵海军, 吴殿星, 舒庆尧. 携带白化转绿型叶色标记光温敏核不育系玉兔 S 的选育及其特征特性[J]. *中国水稻科学*, 2004, 18(6): 515-521.
- [58] PALMER R G, MASCIA P N. Genetic and ultrastructure of a Cytoplasmically inherited yellow mutant in soybeans[J]. *Genetics*, 1980, 95: 889-892.
- [59] 刘友杰. 激光诱发褪绿色突变体及其遗传表现[J]. *应用激光*, 1998(8): 177-187.
- [60] IWATA N, OMURA T. Studies on the trisomics in rice plants (*Oryza sativa* L) III Relation between trisomics and genetic linkage groups[J]. *Japan Journal of Breed*, 1975, 25(6): 363-368.
- [61] KODIVERI M, GOTHANDAM E S K, HONGIOO C. OsPPR1 a pentatricopeptide repeat protein of rice is essential for the chloroplast biogenesis[J]. *Plant Molecular Biology*, 2005, 58: 421-433.
- [62] SMALL I D, PEETERS N. The PPR motif-a TPR related motif prevalent in plant organellar proteins[J]. *Trends in Biochemistry Science*, 2000, 25: 46-47.
- [63] WANG Z H, ZOU Y J, LI X Y. Cytoplasmic male sterility of rice with boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(3): 676-87.
- [64] 崔海瑞, 夏英武, 高明尉. 温度对水稻突变体 W1 叶色及叶绿素生物合成的影响[J]. *核农学报*, 2001(3): 269-273.
- [65] MARK A, BEVINS S, MADHAVAN G. Two Sweetclover (*Melilotus alba* Desr.) Mutants Temperature Sensitive for Chlorophyll Expression [J]. *Plant Physiology*, 1993, 103: 1123-1131.
- [66] ARUN K, TEWARI B, CHARAN T. Temperature-Stress-Induced Impairment of Chlorophyll Biosynthetic Reactions in Cucumber and Wheat [J]. *Plant Physiology*, 1998, 117: 851-858.
- [67] BEALE S I. Green genes gleaned [J]. *Trends in Plant Science*, 2005, 10(7): 301-312.
- [68] 何瑞锋, 丁毅, 余金洪. 水稻“斑马叶”叶绿素含量及几种酶活性的变化[J]. *武汉大学学报: 自然科学版*, 2000, 46(6): 761-765.
- [69] CHORY J. Light signals in leaf and chloroplast development; photoreceptors and downstream responses in search of a transduction pathway[J]. *New Biology*, 1991(3): 538-548.
- [70] MULLET J E. Dynamic regulation of chloroplast transcription [J]. *Plant Physiology*, 1993, 103: 309-313.
- [71] TERRY M J. Phytochrome chromophore-deficient mutants [J]. *Plant Cell Environment*, 1997, 20: 740-745.
- [72] TAYLOR W C. Regulatory interactions between nuclear and plastid genomes[J]. *Annual Review of Plant Physiol*, 1989, 40: 211-233.
- [73] LEONP A A, MACHENZIE S. Nuclear control of plastid and mitochondrial development in higher plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1998, 49: 453-480.
- [74] SUSEK R E, CHORY J. A tale of two genomes; role of a chloroplast signal in coordinating nuclear and plastid genome expression[J]. *Plant Physiology*, 1992, 19: 387-399.
- [75] REINBOTHE S, POLLMANN S, SPRINGER A. A role of Toc33 in the protochlorophyllide-dependent plastid import pathway of NADPH; protochlorophyllide oxidoreductase (POR) A [J]. *The Plant Journal*, 2005, 42(1): 1-12.
- [76] KUSHNIR S, BABIYCHUK E, STOROZHENKO S. A mutation of the mitochondrial ABC transporter Sta1 leads to dwarfism and chlorosis in the Arabidopsis mutant starik [J]. *The Plant Cell*, 2001(3): 89-100.
- [77] SCHWARTZ S H, QIN X, ZEEVAART J A D. Elucidation of the indirect pathway of abscisic acid biosynthesis by mutants, genes and enzymes [J]. *Plant Physiology*, 2003, 131: 1591-1601.
- [78] ROBSON P R H, DONNISON I S, WANG K, et al. Leaf senescence is delayed in maize expressing the Agrobacterium IPT

- gene under the control of a novel maize senescence-enhanced promoter [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2004 (2) : 101 – 112.
- [79] REYES-ARRIBAS T, BARRETT J E, HUBER D J, et al. Leaf senescence in a non-yellowing cultivar of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*) [J]. *Plant Physiology*, 2001, 111 (4) : 540 – 544.
- [80] SINGH U P, PRITHIVIRAL B, SARMA B K. Development of *Erysiphe pisi* (powdery mildew) on normal and albino mutants of pea (*Pisum sativum* L) [J]. *Journal of Phytopathology*, 2000, 148 : 591 – 595.
- [81] OSTER U, TANAKA R, TANAKA A, et al. Cloning and functional expression of the gene encoding the key enzyme for chlorophyll b biosynthesis (CAO) from *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 2000, 21 (3) : 305 – 310.
- [82] SCHULTES N P, SAWERS R J H. Maize high chlorophyll fluorescent 60 mutation is caused by an Ac disruption of the gene encoding the chloroplast ribosomal small subunit protein 17 [J]. *The Plant Journal*, 2000, 21 (4) : 317 – 327.
- [83] KUMAR A M, SOIL D. Antisense HEMAJ RNA expression inhibits heme and chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiology*, 2000, 122 : 49 – 55.
- [84] LOPEZ-UEZ E, JARVIS R P, TAKEUCHI A, et al. New *Arabidopsis* cue mutants suggest a close connection between plastid and phytochrome regulation of nuclear gene expression [J]. *Plant Physiology*, 1998, 118 : 803 – 815.
- [85] COSCHIGANO K T, MEIO-OLIVERIRA R, LIM J, et al. *Arabidopsis* gls mutants and distinct Fd-GOGAT genes: implications for photorespiration and primary nitrogen assimilation [J]. *The Plant Cell*, 1998 (10) : 741 – 752.

Progress in Research of Rice Leaf Coloration Mutant

CHEN Qing, LU Fu-ping, XU Xue-lian

(Environment and Plant Protection Institute, CATAS, Danzhou 571737, China;

Key Laboratory of Monitoring and Control of Tropical Agricultural and Forest Invasive Alien Pests, Ministry of Agriculture, Danzhou 571737, China;

Key Laboratory of Pests Detection and Control for Tropical Agriculture of Hainan Province, Danzhou 571737, China)

Abstract: In the paper, the progresses of rice leaf coloration mutant, including methods, types, genetic rules, location, cloning of mutant genes, regulation of light and temperature and molecular mechanisms of leaf coloration mutant phenotypes, were reviewed. To provide a reference for in-depth study on rice leaf coloration mutant, the prospects of leaf coloration mutant were also discussed.

Key words: rice leaf coloration mutant; advance; prospect

(上接第 268 页)

Horticultural Therapy and its Application in Hainan Tourism Agriculture

CHENG Shan-han, LIN Shi-sen

(College of Horticulture and Gardening, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Because of its wide objects, no side effects and good results etc, horticultural therapy was widely used for health care in whole world. In the paper, the roles, characteristics, development history and the procedures of horticultural therapy were described and how to develop horticultural therapy in Hainan in the background of international tourism island construction were discussed.

Key words: horticultural therapy; tourism agriculture; pattern; problem and solutions