

水稻窄叶突变体 *zy17* 的遗传分析和候选基因鉴定

李雪倩^{1,2}, 徐冉², 段朋根², 伍应保², 罗越华¹, 李云海²

1. 海南大学农学院, 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海口 570228;
2. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物细胞与染色体工程国家重点实验室, 北京 100101

摘要: 器官大小调控是一个基本的发育生物学过程, 受细胞分裂和细胞扩展的影响。然而, 植物器官大小调控的遗传和分子机理仍不清楚。为了进一步了解器官大小调控的分子机制, 文章分离了一系列水稻叶子宽窄改变的突变体。其中, 窄叶突变体 *zy17* 叶变窄, 同时伴有植株矮化、穗子变小、枝梗数和穗粒数降低的表型。遗传分析表明该窄叶性状受 1 个隐性基因控制; 细胞学分析表明该突变体叶子的细胞数目和维管束数目显著降低, 表明 *ZY17* 影响了细胞分裂。基因组重测序进一步筛选出 *ZY17* 的 3 个候选基因: *Os02g22390* 基因突变发生在内含子区, 编码蛋白为逆转座蛋白; *Os02g28280* 和 *Os02g29530* 基因突变都发生在外显子区, 其中 *Os02g28280* 编码一个功能未知蛋白, 该基因突变后, 发生碱基置换, 产生非同义突变; *Os02g29530* 编码一个含糖基转移酶相关的 PFAM 结构域的蛋白, 该基因突变后, 出现两个碱基的缺失, 从而导致其蛋白翻译提前终止。对候选基因的深入研究, 将揭示水稻叶子大小调控的机制。

关键词: 水稻(*Oryza sativa* L.); 窄叶突变体; 细胞分裂; 遗传基础

Genetic analysis and identification of candidate genes for a narrow leaf mutant (*zy17*) in rice

Xueqian Li^{1,2}, Ran Xu², Penggen Duan², Yingbao Wu², Yuehua Luo¹, Yunhai Li²

1. Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresources and Agricultural College of Hainan University, Haikou 570228, China;
2. State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Control of organ size by cell proliferation and cell expansion is a fundamental process in plant development, but little is known about the genetic and molecular mechanisms that determine organ size in plants. To understand the genetic and molecular mechanisms of organ growth control, we isolate a set of mutants with altered leaf size and identify the narrow leaf mutant, *zhaiye 17* (*zy17*) (*zhaiye* means narrow leaf in Chinese). *zy17* exhibits narrow leaves, slightly short plants, small panicles, reduced panicle branches and decreased grain numbers per pa-

收稿日期: 2015-02-02; 修回日期: 2015-04-03

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(973 计划)(编号: 2013CBA01401), 海南省科技项目(编号: ZDZX2013023), “中央财政支持中西部高校提升综合实力专项”和植物细胞与染色体工程国家重点实验室开放课题(编号: PCCE-KF-2014-05)资助

作者简介: 李雪倩, 硕士研究生, 专业方向: 作物遗传育种。E-mail: 825675580@qq.com

徐冉, 博士, 助理研究员, 研究方向: 植物器官大小调控。E-mail: 284505584@qq.com

李雪倩和徐冉为并列第一作者。

通讯作者: 李云海, 博士, 研究员, 研究方向: 植物种子和器官大小调控。E-mail: yhli@genetics.ac.cn

罗越华, 博士, 研究员, 研究方向: 水稻光温敏雄性不育分子机制及花粉发育分子机理。E-mail: lyhkh@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.15-056

网络出版时间: 2015-4-29 10:56:55

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150429.1056.003.html>

nicle compared with the wild type. Our cytological analyses show that the narrow leaf phenotype of *zy17* is caused by the reduced number of cells, indicating that *ZY17* regulates cell proliferation. Genetic analyses show that the *zy17* mutant phenotypes are controlled by a single gene. Using the whole genome resequencing approach and linkage analysis, we identify *Os02g22390*, *Os02g28280* and *Os02g29530* as candidate genes. *Os02g22390* encodes a retro-transposon protein with the mutation occurring in the intronic region; *Os02g28280* encodes a protein with unknown function with a base substitution resulting in non-synonymous mutation; *Os02g29530* encodes a protein containing the PFAM domain related to glycosyltransferase, with a 2 bp deletion mutation causing a premature termination. Further studies on these three candidate genes will be helpful for understanding the molecular mechanism of organ size control in rice.

Keywords: rice (*Oryza sativa* L.); narrow leaf mutant; cell proliferation; genetic basis

水稻(*Oryza sativa* L.)是人类主要的粮食作物。近半个世纪以来,通过培育高产品种,水稻产量有了成倍的增长。然而,目前世界人口已超过 70 亿,据估计 2050 年将增长至 90 亿,这就意味着在农业用地不能同步增长的情况下,水稻产量需要提高 60%~70%^[1,2]。叶片是水稻株型的重要组成部分,也是光合作用最主要的器官^[3]。随着水稻突变体库的逐渐完善,相关资源愈加丰富,叶形相关基因的克隆及其功能研究逐步深入,这对水稻理想株型的塑造和高产品种培育具有重要意义^[4]。

叶片形态建成是一个极其复杂的过程,与很多基因相关。叶宽是水稻叶片形态性状的重要组成部分,是多基因控制的数量性状,且易受环境影响,其形态改良总体进展不大^[5]。目前,在水稻 12 条染色体上已检测到 100 多个叶宽相关 QTL 位点^[6],且有一些窄叶相关的 QTL 被克隆并鉴定。因此,鉴定新的窄叶基因对解析叶片发育、培育高产品种具有重要意义。随着基因组学研究的深入,越来越多的水稻窄叶基因被克隆。位于 3 号染色体的 *COW1/NAL7* 基因和 4 号染色体的 *NAL1* 基因都已被克隆并进行了功能鉴定,其编码的蛋白都与生长素合成、降解及其极性运输密切相关^[7~9]。其中, *NAL1* 基因编码一生物学功能未知的特定蛋白,在微管组织中丰富表达,影响微管形成。研究发现,与野生型相比, *nal1* 维管束数目明显减少,生长素的极性运输出现障碍,从而产生窄叶表型^[7]。 *qLSCHL4* 和 *qTSN4* 是窄叶相关的主要 QTL 位点,其中 *LSCHL4(qLSCHL4)* 被克隆并鉴定为 *NAL1* 的等位基因,其近等基因系的平均产量较野生型增加 18.70%^[10]。 *SPIKE(qTSN4)* 同样被鉴定为 *NAL1* 的等位基因,在旱季和湿季其近等基因系的平均产量分别较野生型增加 28% 和 24%^[11]。另

外 1 个与 *YUCCA* 基因序列同源的水稻窄叶基因 *NAL7* 编码含黄素单氧化酶,可能在生长素的生物合成过程中发挥作用^[8,9]。同样位于 3 号染色体的 *NAL9* 基因,研究预测其突变体叶片变窄可能也与生长素相关^[12]。 *NAL2* 和 *NAL3* 编码的蛋白(*OsWOX3A*)与拟南芥中 *WUSCHEL* 蛋白具有同源性,通过调控生长素合成与运输影响叶片发育^[13]。位于 12 号染色体的窄叶矮秆基因 *NRL1/ND1/DNL1* 编码一种可以影响植物细胞壁形成的类纤维素合成酶 D4,在种子、根尖以及茎顶端分生组织等分裂能力较强的部位集中表达,通过影响泡状细胞发育和减少细胞数目导致水稻叶片出现变卷变窄的表型^[14~17]。位于 4 号染色体的矮秆窄叶基因 *TDD1* 编码邻氨基苯甲酸合成酶 β 亚基的同源蛋白,其中邻氨基苯甲酸合成酶 β 亚基作用于色氨酸依赖的生长素合成酶上游^[18]。此外, *SLL1* 编码 KANADI 家族的 MYB 转绿因子,从而参与叶片发育^[19,20]; *HDA704* 编码组蛋白去乙酰基酶,其表达下调也将导致水稻叶片出现变窄、变卷的表型^[21]。

本研究在宽叶粳(KYJ)背景下,通过甲基磺酸乙酯(Ethyl-methanesulphonate, EMS)诱变获得一系列窄叶突变体(*zhaiye*, *zy*)。其中 *zy17* 突变体表现出较窄的叶和较小的穗子。细胞学分析表明 *ZY17* 影响了细胞数目,从而影响叶子宽度。通过构建 F_2 群体,结合重测序技术,鉴定了 *ZY17* 候选基因,为更好了解水稻叶片叶形发育的分子机制奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

以宽叶材料 KYJ 为原始材料,经 EMS 诱变获得窄叶突变体 *zy17*,本实验所用水稻材料都种植于北京昌平农场和浙江省富阳市中国水稻研究所实验基地。

1.2 方法

1.2.1 表型与农艺性状调查

在穗子完全抽出后选取野生型 KYJ 和突变体 *zy17* 各 15 株,选取每株主穗,对其剑叶叶宽进行测量,叶片宽度为该叶长 1/2 处。

在成熟期选野生型和突变体各 15 株测量株高,统计其主穗一次枝梗数、二次枝梗数和穗粒数,同时选取成熟期饱满种子各 60 粒,使用万深 SC-G 型自动考种分析及千粒重系统测量其长和宽。上述数据都进行 *t* 测验。

1.2.2 扫描电镜观察

在穗子完全抽出后分别取野生型 KYJ 和突变体的单株主穗剑叶各 10 片,用刀片在其 1/2 处两次横切,获得长约 2~3 mm 的局部叶片样本,将样本置于体积比为甲醛:冰醋酸:乙醇:DEPC-H₂O=1:0.5:4.75:3.75 的 FAA 固定液中,抽真空,固定 48 h 以上,室温保存。将固定的材料依次转入 50%(40 min)、70%(40 min)、80%(40 min)、95%(60 min)的乙醇梯度逐级脱水,再经过 100%(60 min)的乙醇两次、50%乙醇+50%乙酸异戊酯(60 min 以上)及 100%(60 min)的乙酸异戊酯 2 次浸泡。将材料置于液态二氧化碳中进行临界点干燥,之后进行粘台、镀膜,在扫描电镜下观察并选取合适的角度和放大倍数进行拍照,最后统计其叶片维管数目及下表皮细胞数目,并进行 *t* 测验分析。

1.2.3 遗传分析

突变体 *zy17* 与野生型 KYJ 杂交获得 F₁ 群体,考察 F₁ 植株叶片形态。F₁ 自交构建 F₂ 分离群体,在穗子完全抽出后考察 F₂ 分离群体单株叶片形态,统计野生型 KYJ 宽叶单株和突变体 *zy17* 窄叶单株并进行卡方适合性测验。

1.2.4 重测序筛选候选基因

对窄叶突变体 *zy17* 与野生型 KYJ 杂交的 F₂ 分离群体,在穗子完全抽出后选取 50 株 *zy17* 表型的植株,分别进行 DNA 提取,然后将 50 个样品 DNA 等量混合,进行全基因组重测序。具体如下:使用新型植物基因组 DNA 提取试剂盒(康为世纪)提取其基因组 DNA,制备混池,经 scandrop250 超微量核

酸蛋白测定仪检测 DNA 浓度,OD_{260/280} 都在 1.8~2.0 之间。利用 MutMap^[22-24] 技术筛选目的基因。

1.2.5 候选基因鉴定

利用在线分析(网址 <http://helix.wustl.edu/dcaps/dcaps.html>),导入野生型与突变体序列,通过网站在线分析,找到合适的限制性内切酶,然后设计上下游引物,PCR 结合酶切即可成为合适的 dCAPs 标记(表 1)。其在两亲本间具有多态性,可用于突变位点验证以及目的基因的连锁分析。

2 结果与分析

2.1 突变体 *zy17* 的形态学分析

与野生型 KYJ 相比,突变体植株 *zy17* 的窄叶表型在苗期不是很明显,但在抽穗后表现出明显的窄叶(图 1D)。在性状明显的抽穗期统计叶宽,突变体剑叶平均叶宽 1.49 cm,野生型平均叶宽 1.76 cm,突变体平均叶宽极显著低于野生型,是野生型的 84.7%(图 1F)。

此外,突变体与野生型在其他农艺性状上也有很大差异。株高明显矮化(图 1A),突变体 *zy17* 平均株高 75.10 cm,野生型 KYJ 平均株高 95.88 cm,突变体株高极显著低于野生型,仅为野生型的 78.3%(图 1E)。突变体 *zy17* 的枝梗数和穗粒数显著减少(图 1:B、C),一次枝梗数、二次枝梗数和穗粒数分别为 7、15、60,而野生型 KYJ 一次枝梗数、二次枝梗数和穗粒数分别为 13、47、175,突变体 *zy17* 的一次枝梗数、二次枝梗数和穗粒数分别只有野生型 KYJ 的 53.8%、31.9%和 34.3%(图 1I)。然而,突变体 *zy17* 种子平均长与宽分别为 7.06 mm 和 3.09 mm,野生型 KYJ 种子平均长与宽分别为 7.12 mm 和 3.34 mm,与野生型 KYJ 相比,突变体 *zy17* 的种子略显短、窄,但差异不显著(图 1:G、H)。

2.2 *zy17* 降低了叶细胞数目

通过电镜扫描分析,突变体 *zy17* 叶片下表皮细

表 1 用于 dCAPS 分析的引物及酶

| 引物 | 引物序列(5'→3') | 片段长度(bp) | 酶 |
|---------|---|----------|------------|
| Candi-1 | F:AACAAGCTTGAGAATGCTAGAA R:GGCAAATAGAACCGCAAGTGA | 95 | <i>Mbo</i> |
| Candi-2 | F:CGTGATCGTCGTGGTCATGAT R:GCTTGGGCGATGGTAGCTCGG | 97 | <i>Mbo</i> |

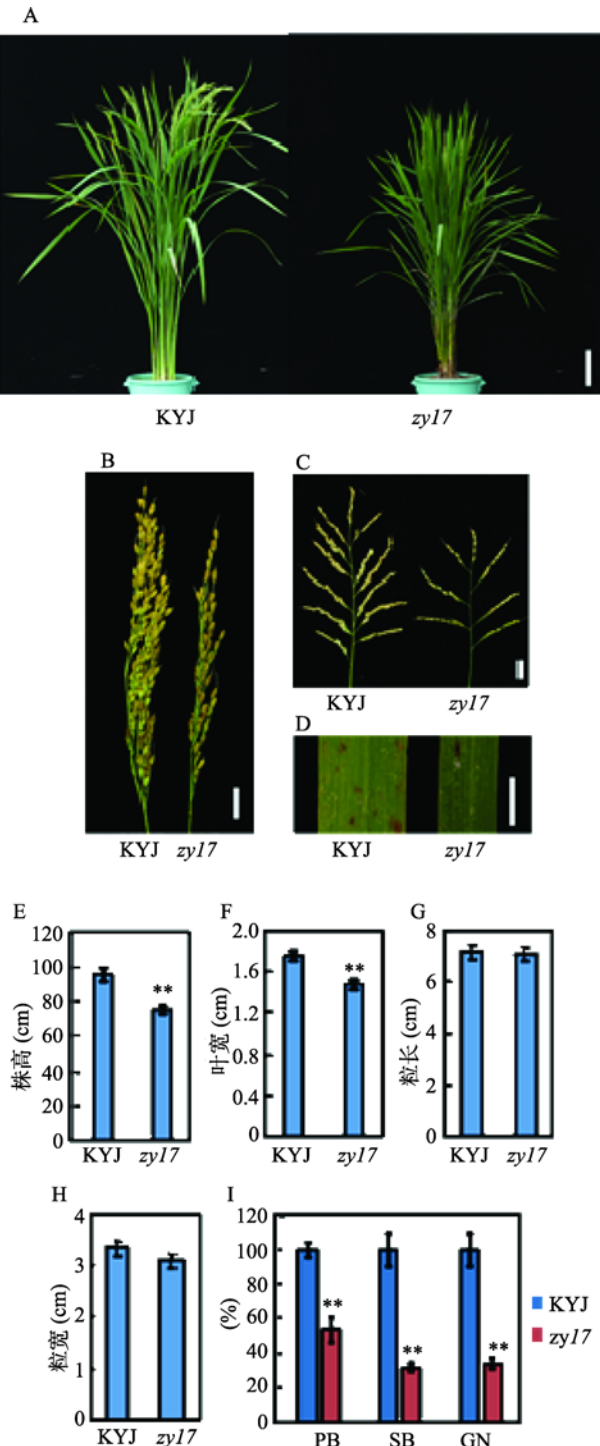


图1 突变体表型及相关性状分析

A: 野生型(KYJ)与突变体 *zy17* 植株形态(标尺: 10 cm)。B: 野生型(KYJ)与突变体 *zy17* 植株主穗(标尺: 2 cm)。C: KYJ 与 *zy17* 穗分枝比较(标尺: 2 cm)。D: KYJ 与 *zy17* 剑叶比较(标尺: 1 cm)。E: 株高统计数据。F: 剑叶宽统计数据。G、H: 粒长、粒宽统计数据。I: *zy17* 一次、二次枝梗数以及穗粒数占 KYJ 的百分比(PB: 一次分枝; SB: 二次分枝; GN: 穗粒数)。

胞大小与野生型 KYJ 叶片下表皮细胞大小没有显著性差异(图 2C), 但是其平均细胞数及维管束数与野生型相比有极显著性差异: 突变体 *zy17* 叶片下表皮平均细胞数和维管束数分别为 1246 个和 57 个, 而野生型 KYJ 叶片下表皮平均细胞数和维管束数分别为 1563 个和 68 个, *zy17* 叶片下表皮平均细胞数和维管束数仅为野生型 KYJ 的 80% 和 84%, 单个细胞的宽度在突变体和野生型间没有显著差异(图 2: A、B)。由此可见, 细胞数和维管束数的减少与叶片变窄有直接关系, 然而究竟是由于细胞数与维管束数减少导致 *zy17* 叶片变窄, 还是由于叶片某个发育过程受阻导致叶片变窄进而引起细胞数和维管束数减少有待进一步研究。

2.3 突变体 *zy17* 的遗传分析

突变体 *zy17* 与野生型 KYJ 杂交获得 F_1 群体, 考察 F_1 植株叶片形态, 均表现为野生型。 F_1 自交构建 F_2 分离群体, 在穗子完全抽出后考察 F_2 分离群体单株叶片形态, 统计野生型 KYJ 宽叶单株和突变体 *zy17* 窄叶单株。 F_2 群体共计 180 株, 其中野生型 KYJ 宽叶 141 株, 突变体 *zy17* 窄叶表型 39 株。卡方适合性测验结果显示, F_2 的分离符合野生型 KYJ 宽叶: 突变体 *zy17* 窄叶=3:1 的分离规律($\chi^2=0.896 < \chi_{0.05,1}^2=3.84$), 表明该窄叶性状受一对隐性性状基因控制。

2.4 候选基因的筛选与验证

在重测序数据中, 去除测序覆盖度低于 5 的 SNP, 共发现 2096 个 SNP 和 108 个 InDel。其中连锁指数大于 80% 的 SNP 有 219 个, InDel 有 6 个。随后对突变位点进行分析, 突变发生在外显子或剪切位点的 SNP 有 50 个, InDel 有 1 个, 去除同义突变后剩余 36 个 SNP, 1 个 InDel, 它们绝大部分位于转座子或反转座子区域。为了找到真正导致表型的突变, 本文针对最有可能的 SNP 和 InDel 设计了 CAPS 或 dCAPS 引物, 并利用分离群体进行检测, 发现 2 号染色体上的 1 个 SNP 和 1 个 InDel 与表型共分离。因此, 认为突变发生在 2 号染色体的这个区域。

对位于 2 号染色体上突变位点的分析显示(表 2), 其中 3 个突变位点在基因间隔区, 2 个突变位点在基因外显子区, 1 个突变位点在基因内含子区。由此得到 3 个候选基因: *Os02g28280*、*Os02g29530* 和 *Os02g22390*。其中 *Os02g22390* 为目的基因的可能性

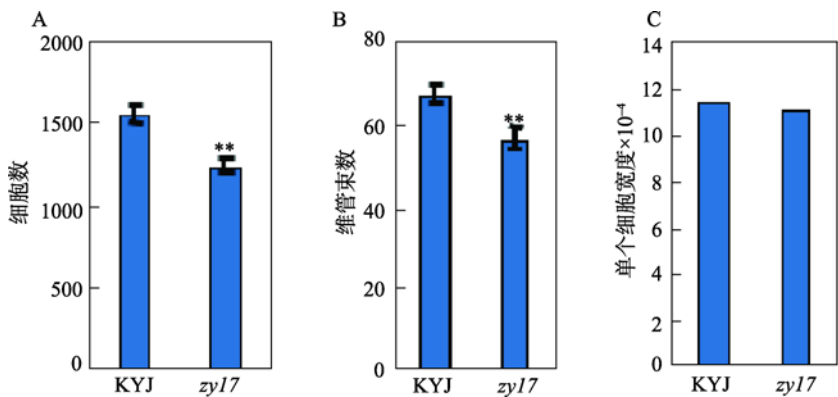


图 2 细胞学观察结果及分析
A：野生型(KYJ)和突变体(*zy17*)剑叶 1/2 处下表皮横向细胞数目统计，差异显著。B：KYJ 和 *zy17* 剑叶 1/2 处下表皮横向维管束数目统计，差异显著。C：KYJ 与 *zy17* 剑叶 1/2 处下表皮横向细胞平均宽度，两者差异不显著。

相对较小，其测序覆盖度极低且位点突变发生在内含子区，编码蛋白为逆转座蛋白。因此。剩余的 1 个 SNP 和 1 个 InDel 是可能性较大的候选突变位点。这两个位点突变分别发生在 *Os02g28280* 和 *Os02g29530* 的外显子区(图 3：A、B)。

在 *zy17* 突变体中，候选基因 *Os02g28280* 在 16 722 773 bp 处发生碱基置换，产生非同义突变，C 变为 T，导致 CDS 翻译过程中第 42 个密码子 GAT

表 2 突变位点分析

| 染色体 | 物理位置(bp) | 基因型 | 所在基因 | 基因位点名称 | 突变性质 | 测序频次 |
|-------|----------|---------|---------|----------------|-------|------|
| Chr.2 | 3388661 | CCCCA/C | 位于基因间隔区 | / | / | 1,5 |
| Chr.2 | 11941799 | GTT/G | 位于基因间隔区 | / | / | 1,4 |
| Chr.2 | 11941801 | T/TG | 位于基因间隔区 | / | / | 0,5 |
| Chr.2 | 13379183 | C/CG | 内含子 | LOC_Os02g22390 | / | 1,5 |
| Chr.2 | 16722773 | C/T | 外显子 | LOC_Os02g28280 | 氨基酸改变 | 1,35 |
| Chr.2 | 17560608 | CTT/C | 外显子 | LOC_Os02g29530 | 终止翻译 | 0,21 |

注：基因型中，左右两边分别指野生型(KYJ)和突变体(*zy17*)在相应物理位置处的碱基；测序频次左右两边分别指 KYJ 和 *zy17* 该物理位置相应碱基在测序过程中出现的次数。

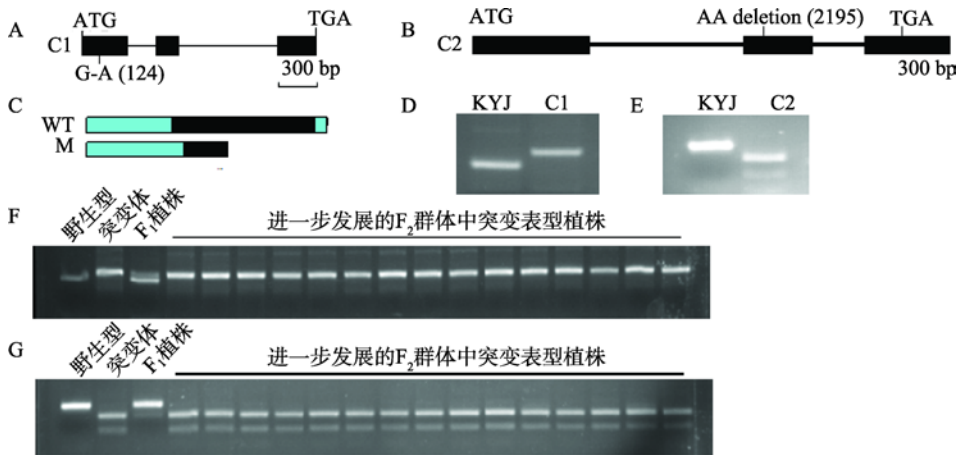


图 3 候选基因鉴定及相关分析
A：候选基因 1(C1)、*Os02g28280* 的基因结构图；B：候选基因 2(C2)、*Os02g29530* 的基因结构；C：*Os02g29530* 基因在野生型 KYJ(WT)和突变体 *zy17*(M)中编码蛋白的结构比较；D、E：候选基因 1 和候选基因 2 的 dCAPS 验证；F、G：候选基因 1 和候选基因 2 的群体验证。

突变为 AAT,由天冬氨酸(Asp)变为天冬酰胺(Asn)。Os02g28280 编码一个含 258 个氨基酸残基的未知功能蛋白。在 *zy17* 突变体中,候选基因 Os02g29530 在 17 560 608 bp 处发生 2 个碱基 TT 缺失,导致蛋白翻译提前终止(图 3C)。Os02g29530 编码了一个包含 PFAM 结构域糖基转移酶相关蛋白。与拟南芥中糖基转移酶相关蛋白(AT3G02350)的相似性为 65%。

根据 Os02g28280 和 Os02g29530 基因上的突变位点,分别设计了 dCAPS1(Candi-1)和 dCAPS2 (Candi-2)两个分子标记(表 1)。利用这两个标记对突变体与野生型 KYJ 分析的结果表明,突变体 *zy17* 中的这两个候选基因确发生了突变(图 3:D、E),对 F₂ 分离群体的检测表明,这两个突变都与 F₂ 群体中突变体表型共分离(图 3:F、G)。这些结果进一步证明了 Os02g28280 和 Os02g29530 为窄叶突变的候选基因。

3 讨 论

水稻是双子叶植物的模式生物。叶片整体结构看似非常简单,但其发育却是一个十分复杂的网络调控过程,涉及到基因与基因间的相互作用以及蛋白质产物与体内激素的平衡调节等。这些作用相互交织影响叶片发育进程,从而导致叶形的变化^[25]。

在水稻叶形相关报道中,一系列突变体都表现出窄叶表型,其中 *nal1*、*nal7*、*nal9*、*nrl1* 和 *tdl1* 都被证实是由于细胞分裂减少导致叶片变窄^[7,8,12,15,18]。在本研究中,扫描电镜检测显示,突变体 *zy17* 叶片细胞大小与野生型 KYJ 叶片细胞大小无显著性差异,但其细胞数目和维管束数目相对野生型明显减少,基因突变影响细胞分裂从而导致叶片变窄。为了进一步了解其相关机理,本研究利用基因组重测序技术和连锁分析对突变导致窄叶表型的基因进行筛查,通过连锁分析,确定位于 2 号染色体的 Os02g28280 和 Os02g29530 为候选基因。分析测序结果过程中,Os02g28280 基因处突变随机测序 36 次,35 次为 T(突变型),1 次为 C(野生型)。然而我们对 180 的群体进行测试表明,该突变位点与表型共分离。测定一次 C(野生型)可能是由于测序的误差所致。而候选基因 Os02g29530 处突变随机测序 21 次,21 次皆为 TT 缺失(突变型),基因与表型完全连锁。我们进一步的群体分析也证实,候选基因 Os02g29530 中的缺失突变与表型共分离。对二者的相应蛋白结构进行生物信息学分析发现,Os02g28280 编码一个功能未知的蛋白,突变导致天冬氨酸(Asp)变为天冬酰胺(Asn)。

Os02g29530 编码蛋白则与其在拟南芥中的同源蛋白(AT3G02350)含有一样的结构域,即与糖基转移酶相关的 PFAM 结构域,基因突变后,蛋白翻译提前终止,结构域功能丧失^[26]。

根据以前相关报道可知,叶形变化和参与细胞壁形成的基因密切相关。木聚糖是植物次生细胞壁中半纤维素的最主要组分,近年来通过对双子叶模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中木聚糖合成缺陷的突变体分析表明:GT43 家族的 IRX9、IRX9-L、IRX14、IRX14-L,GT47 家族的 FRA8、F8H、IRX10、IRX10-L,GT8 家族的 IRX8、PARVUS、QUA1、GUX1、GUX2 等参与了木聚糖主链、还原末端序列和侧链的合成^[27]。在水稻中已有的相关窄叶基因报道中,通过 QTL 定位获得的 *DNL1*、*NRL1* 和 *ND1* 都是位于 12 号染色体上的同一窄叶、矮秆基因,编码属于糖基转移酶家族 2(GT2)的类纤维素合成酶 D4,在种子、根尖以及茎顶端分生组织等分裂能力较强的部位集中表达,最终可以通过影响植物细胞壁形成导致水稻叶片出现变窄的表型^[14-17]。Os02g29530 编码一个含 PFAM 结构域的糖基转移酶相关蛋白,是可能性最高的候选基因,可以通过调控水稻木聚糖合成影响细胞壁形成,从而导致水稻叶片变窄。

水稻叶片形态发育过程十分复杂,只有合理利用不同叶片形态资源,对相关基因进行克隆和功能研究,才能更好地揭示叶形发育的机理。2013 年 Jin 等^[28]对拟南芥中 Os02g29530 的同源蛋白 UGT74D1 进行研究,发现它是一个和生长素相关的糖基转移酶,UGT74D1 基因在拟南芥中过表达会出现和本研究的水稻突变体类似的窄叶、矮秆表型,从而为本研究提供一个新思路,Os02g29530 也可能通过影响生长素调控叶形。水稻窄叶基因 *NAL1*、*NAL7*、*NAL2* 和 *NAL3* 都是通过影响生长素从而对叶形进行调控,其中 *NAL1* 基因编码一生物学功能未知的蛋白,在微管组织中有丰富表达,影响微管发育,导致生长素的极性运输出现障碍,从而表现窄叶表型^[2]。*NAL7* 基因则编码属于 *YUCCA* 基因家族的黄素单氧化酶,其可能通过影响生长素的生物合成,参与叶形调控过程^[9]。*NAL2* 和 *NAL3* 编码与 *WUSCHEL* 相关的同源蛋白(OsWOX3A),通过调控生长素合成运输影响叶片发育^[13]。

水稻的叶形变化与影响细胞壁形成的基因以及生长素合成降解、极性运输的基因都密切相关。本

研究中突变体 *zy17* 究竟是通过哪种途径发挥作用尚不清楚, 为了更好地了解其作用机理, 还需对该基因及其功能进行深入探索。在以后的研究中, 我们需要进一步构建基因组互补载体对 *zy17* 突变体进行遗传转化, 以确定两个候选基因中哪一个是 *ZY17* 基因。

参考文献

- [1] Tester M, Langridge P. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science*, 2010, 327(5967): 818–822. [\[DOI\]](#)
- [2] Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, Cassidy ES, Gerber JS, Johnston M, Mueller ND, O'Connell C, Ray DK, West PC, Balzer C, Bennett EM, Carpenter SR, Hill J, Monfreda C, Polasky S, Rockström J, Sheehan J, Siebert S, Tilman D, Zaks DP. Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 2011, 478(7369): 337–342. [\[DOI\]](#)
- [3] 朱雄涛, 汪真. 水稻高光效生理育种初探. 福建稻麦科技, 2003, 21(2): 14–17. [\[DOI\]](#)
- [4] 陈代波, 程式华, 曹立勇. 水稻窄叶性状的研究进展. 中国稻米, 2010, 16(3): 1–4. [\[DOI\]](#)
- [5] 王兰, 黄李超, 代丽萍, 杨容龙, 徐杰, 冷语佳, 张光恒, 胡江, 朱丽, 高振宇, 董国军, 郭龙彪, 钱前, 曾大力. 利用日本晴/9311 重组自交系群体定位水稻成熟期叶形相关性状 QTL. 中国水稻科学, 2014, 28(6): 589–597. [\[DOI\]](#)
- [6] Chen ML, Luo J, Shao GN, Wei XJ, Tang SQ, Sheng ZH, Song J, Hu PS. Fine mapping of a major QTL for flag leaf width in rice, *qFLW4*, which might be caused by alternative splicing of *NAL1*. *Plant Cell Rep*, 2012, 31(5): 863–872. [\[DOI\]](#)
- [7] Qi J, Qian Q, Bu QY, Li SY, Chen Q, Sun JQ, Liang WX, Zhou YH, Chu CC, Li XG, Ren FG, Palme K, Zhao BR, Chen JF, Chen MS, Li CY. Mutation of the rice *Narrow leaf1* gene, which encodes a novel protein, affects vein patterning and polar auxin transport. *Plant Physiol*, 2008, 147(4): 1947–1959. [\[DOI\]](#)
- [8] Woo YM, Park HJ, Su'udi M, Yang JI, Park JJ, Back K, Park YM, An G. Constitutively wilted 1, a member of the rice *YUCCA* gene family, is required for maintaining water homeostasis and an appropriate root to shoot ratio. *Plant Mol Biol*, 2007, 65(1–2): 125–136. [\[DOI\]](#)
- [9] Fujino K, Matsuda Y, Ozawa K, Nishimura T, Koshiba T, Fraaije MW, Sekiguchi H. *NARROW LEAF 7* controls leaf shape mediated by auxin in rice. *Mol Genet Genomics*, 2008, 279(5): 499–507. [\[DOI\]](#)
- [10] Zhang GH, Li SY, Wang L, Ye WJ, Zeng DL, Rao YC, Peng YL, Hu J, Yang YL, Xu J, Ren DY, Gao ZY, Zhu L, Dong GJ, Hu XM, Yan MX, Guo LB, Li CY, Qian Q. *LSCHL4* from *Japonica* cultivar, which is allelic to *NAL1*, increases yield of *indica* super rice 93-11. *Mol Plant*, 2014, 7(8): 1350–1364. [\[DOI\]](#)
- [11] Fujita D, Trijatmiko KR, Tagle AG, Sapaap MV, Koide Y, Sasaki K, Tsakirpaloglou N, Gannaban RB, Nishimura T, Yanagihara S, Fukuta Y, Koshiba T, Slamet-Loedin IH, Ishimaru T, Kobayashi N. *NAL1* allele from a rice landrace greatly increases yield in modern *indica* cultivars. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(51): 20431–20436. [\[DOI\]](#)
- [12] Li W, Wu C, Hu GC, Xing L, Qian WJ, Si H, Sun ZX, Wang XC, Fu YP, Liu WZ. Characterization and fine mapping of a novel rice narrow leaf mutant *nal9*. *J Integr Plant Biol*, 2013, 55(11): 1016–1025. [\[DOI\]](#)
- [13] Cho SH, Yoo SC, Zhang HT, Pandeya D, Koh HJ, Hwang JY, Kim GT, Paek NC. The rice *narrow leaf2* and *narrow leaf3* loci encode WUSCHEL-related homeobox 3A (*OsWOX3A*) and function in leaf, spikelet, tiller and lateral root development. *New Phytol*, 2013, 198(4): 1071–1084. [\[DOI\]](#)
- [14] Hu J, Zhu L, Zeng DL, Gao ZY, Guo LB, Fang YX, Zhang GH, Dong GJ, Yan MX, 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(3): 283–292. [\[DOI\]](#)
- [15] Wu C, Fu YP, Hu GC, Si H, Cheng SH, Liu WZ. Isolation and characterization of a rice mutant with narrow and rolled leaves. *Planta*, 2010, 232(2): 313–324. [\[DOI\]](#)
- [16] Li M, Xiong GY, Li R, Cui JJ, Tang D, Zhang BC, Pauly M, Cheng ZK, Zhou YH. Rice cellulose synthase-like D4 is essential for normal cell-wall biosynthesis and plant growth. *Plant J*, 2009, 60(6): 1055–1069. [\[DOI\]](#)
- [17] Ding ZQ, Lin ZF, Li Q, Wu H, Xiang CY, Wang JF. *DNL1*, encodes cellulose synthase-like D4, is a major QTL for plant height and leaf width in rice (*Oryza sativa* L.). *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(2): 133–140. [\[DOI\]](#)
- [18] Sazuka T, Kamiya N, Nishimura T, Ohmae K, Sato Y, Imamura K, Nagato Y, Koshiba T, Nagamura Y, Ashikari M, Kitano H, Matsuoka M. A rice tryptophan deficient dwarf mutant, *tdl1*, contains a reduced level of indole acetic acid and develops abnormal flowers and organless embryos. *Plant J*, 2009, 60(2): 227–241. [\[DOI\]](#)
- [19] Yan S, Yan CJ, Zeng XH, Yang YC, Fang YW, Tian CY, Sun YW, Cheng ZK, Gu MH. *ROLLED LEAF 9*, encoding a GARP protein, regulates the leaf abaxial cell fate in rice. *Plant Mol Biol*, 2008, 68(3): 239–250. [\[DOI\]](#)
- [20] Zhang GH, Xu Q, Zhu XD, Qian Q, Xue HW. *SHALLOT-LIKE1* is a KANADI transcription factor that modulates rice leaf rolling by regulating leaf abaxial cell development. *Plant Cell*, 2009, 21(3): 719–735. [\[DOI\]](#)
- [21] Hu YF, Qin FJ, Huang LM, Sun QW, Li C, Zhao Y, Zhou DX. Rice histone deacetylase genes display specific expression patterns and developmental functions. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 388(2): 266–271. [\[DOI\]](#)
- [22] Abe A, Kosugi S, Yoshida K, Natsume S, Takagi H, Kanzaki H, Matsumura H, Yoshida K, Mitsuoka C, Tamiru M, Innan H, Cano L, Kamoun S, Terauchi P. Genome sequencing reveals agronomically important loci in rice using MutMap. *Nat Biotechnol*, 2012, 30(2): 174–178. [\[DOI\]](#)
- [23] Fekih R, Takagi H, Tamiru M, Abe A, Natsume S, Yaegashi H, Sharma S, Sharma S, Kanzaki H, Matsumura H, Saitoh H, Mitsuoka C, Utsushi H, Uemura A, Kanzaki E, Kosugi S, Yoshida K, Cano L, Kamoun S, Terauchi R.

- MutMap+: genetic mapping and mutant identification without crossing in rice. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68529. [\[DOI\]](#)
- [24] 陈竹锋, 严维, 王娜, 张文辉, 谢刚, 卢嘉威, 简智华, 刘东风, 唐晓艳. 利用改进的 MutMap 方法克隆水稻雄性不育基因. *遗传*, 2014, 36(1): 85–93. [\[DOI\]](#)
- [25] 严松, 严长杰, 顾铭洪. 植物叶发育的分子机理. *遗传*, 2008, 30(9): 1127–1135. [\[DOI\]](#)
- [26] Lao J, Oikawa A, Bromley JR, McInerney P, Suttangkakul A, Smith-Moritz AM, Plahar H, Chiu TY, González Fernández-Niño SM, Ebert B, Yang F, Christiansen KM, Hansen SF, Stonebloom S, Adams PD, Ronald PC, Hillson NJ, Hadi MZ, Vega-Sánchez ME, Loqué D, Scheller HV, Heazlewood JL. The plant glycosyltransferase clone collection for functional genomics. *Plant J*, 2014, 79(3): 517–529. [\[DOI\]](#)
- [27] 秦丽霞, 张德静, 李龙, 李学宝, 许文亮. 参与植物细胞壁半纤维素木聚糖合成的糖基转移酶. *植物生理学报*, 2011, 47(9): 831–839. [\[DOI\]](#)
- [28] Jin SH, Ma XM, Han P, Wang B, Sun YG, Zhang GZ, Li YJ, Hou BK. UGT74D1 Is a novel auxin glycosyltransferase from *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61705. [\[DOI\]](#)

(责任编辑: 邢永忠)

• 招聘启事 •

中国科学院遗传与发育生物学研究所招聘启事

一、研究所介绍

中国科学院遗传与发育生物学研究所是由成立于1959年的原中国科学院遗传研究所和成立于1980年的原中国科学院发育生物学研究所, 以及成立于1978年的原中国科学院石家庄农业现代化研究所分别于2001年和2002年整合而成。研究所面向我国农业和人口健康的重大战略需求和生命科学前沿, 重点开展基因组结构与调控规律、重大疾病分子机理、品种分子设计、农业生态可持续发展以及前沿学科交叉领域的研究。

研究所坐落于奥林匹克科技园中心区, 有着雄厚的科研实力、创新的科研氛围、专业的科研平台和优美的科研环境。现已成为集“科学研究-技术开发-成果产出”一体的创新性研究所。现任所长为杨维才博士。

二、招聘学科方向

1. 基因组生物学: 功能基因组学; 蛋白质组学与表观遗传学; 植物与病原菌互作。
2. 发育生物学: 植物发育生物学; 再生医学; 神经发育生物学。
3. 分子农业生物学: 植物营养; 植物生物技术与分子育种。
4. 分子系统生物学: 结构生物学; 生物信息学。

三、招聘岗位及要求

1. 研究员/青年研究员: 符合“千人计划”、“青年千人计划”或中国科学院“百人计划”的基本要求, 在本学科领域有较深的学术造诣, 做出过具有国际水平的研究成果, 能带领一支队伍在国际科学前沿从事研究并做出具有国际先进水平的创新成果。

2. 副研究员/助理研究员: 要求有博士后科研经历, 以第一作者身份发表过高水平的SCI论文, 有良好的科研业绩和独立承担科研任务的能力。

3. 工程师/助理工程师: 要求有能解决本专业领域的相关技术问题的能力。

4. 博士后: 具有与研究领域相关的博士学位, 热衷生命科学研究, 年龄40周岁以下。

四、岗位待遇

研究所鼎力协助入选者获取国家及中国科学院人才计划支持; 提供具有竞争力的薪酬福利待遇及年度健康体检, 有完善的社会保险及住房公积金等保障, 有良好的员工职业发展和培训体系。

五、应聘须知

1. 应聘研究员/青年研究员岗位: 请将申请材料, 包括(1)本人简历;(2)应聘申请(明确申请的学科方向, 并详细陈述未来研究方向及拟开展项目的内容、目标与预期成果);(3)学历学位及国内外任职证明;(4)本领域三位专家推荐信;(5)近五年内发表的全部论文目录(注明第一和通讯作者)、三篇代表性论文复印件、发明专利证书复印件。上述材料合并为一个单一的PDF文件(文件名: 招聘部门/招聘岗位/2015应聘)发至相关招聘部门联系邮箱并同时抄送 wcyang@genetics.ac.cn

2. 应聘其他岗位: 请将《科研岗位竞聘申请表》或《博士后工作申请表》、研究工作简介、代表性论文首页等文件合并为一个单一的PDF文件(文件名: 招聘部门/招聘岗位/2015应聘)发至相关招聘部门联系邮箱并同时抄送 hr@genetics.ac.cn, 招聘期限以名额招满为止。

六、研究所将于2015年8月及10月对通过初试的申请人统一进行招聘答辩。

热忱邀请有志青年加盟, 携手为您和中国科学院遗传与发育生物学研究所的明天共进。

具体招聘信息请详见: <http://www.genetics.ac.cn>