

水稻类病斑突变体基因克隆及其抗病机制

易琴琴

浙江师范大学生命科学学院, 浙江 金华

收稿日期: 2024年4月2日; 录用日期: 2024年4月29日; 发布日期: 2024年5月20日

摘要

水稻是重要的粮食作物, 也是功能基因组学研究的模式植物, 大部分水稻类病斑突变体都表现出过敏性的坏死病变, 并对各种病原体的抗性增强, 是研究植物免疫机制的理想材料, 探究水稻类病斑突变体及其抗病机理是当前的研究热点之一。本研究阐述了水稻类病斑突变体的概念、类病斑基因的克隆与功能以及类病斑突变体的抗病机制, 以期水稻抗病育种提供理论依据。

关键词

水稻, 类病斑突变体, 抗病, 基因

Cloning of Genes in Rice Lesion Mimic Mutants and Their Disease Resistance Mechanisms

Qinqin Yi

College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua Zhejiang

Received: Apr. 2nd, 2024; accepted: Apr. 29th, 2024; published: May 20th, 2024

Abstract

Rice is an important cereal crop and a model plant for functional genomics research. Most rice lesion mimic mutants lines exhibit hypersensitive necrotic lesions and enhanced resistance to various pathogens, making them ideal materials for studying plant immune mechanisms. Exploring rice lesion mimic mutants and their resistance mechanisms is one of the current research hotspots. This study elaborates on the concept of rice lesion mimic mutants, the cloning and function of blast-related genes, and the disease resistance of blast mutants, aiming to provide a theoretical basis for rice disease-resistant breeding.

Keywords

Rice, Lesion Mimic Mutants, Disease Resistance, Gene

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

水稻是世界上最重要的粮食作物之一，全球超过半数人口以稻米作为主粮。大量病原微生物导致水稻发生重大病害，病害是影响水稻生产的重要因素之一，水稻生产经常受到各种病害的威胁，如稻瘟病、白叶枯病和稻曲病。当病情严重时，会导致水稻产量大幅下降[1]。目前防治病害最有效、危害最小的方法就是培育具有优良抗性的水稻品种，在水稻中报道的类病斑突变体有近 100 个，大部分类病斑突变体都表现出过敏性的坏死病变，并对各种病原体的抗性增强，因此大部分调控类病斑表型的基因与植物免疫途径有关，是研究植物免疫机制的理想材料。目前报道水稻中克隆了四十多个类病斑基因，这些基因所编码的蛋白质多种多样，如转录共激活因子[2]、脂肪酸去饱和酶[3]、RNA 结合蛋白[4]、锌指蛋白[5]、粪卟啉原 III 氧化酶[6]和 SF3b3 型剪接因子[7]等，这些蛋白质功能的多样化也说明了植物免疫机制调控的复杂性，且目前水稻类病斑突变体的抗病免疫机制并未完全阐明，不断鉴定类病斑突变体以及克隆相关基因是阐明水稻抗病机制的重要途径。本文阐述了水稻类病斑突变体的概念、类病斑基因的克隆与功能以及类病斑突变体的抗病机制，以期对培育优良抗性的水稻品种提供重要线索。

2. 类病斑突变体的概述

植物类病斑是指在非生物或生物胁迫、机械损伤和病原体感染的情况下，在叶片、叶鞘、茎甚至种子上自发产生各种大小、形状和颜色的坏死病斑[8]。在水稻中，一类突变体在没有明显的非生物和生物胁迫的情况下，就开始产生病变，大多数情况下，此过程产生的病斑类似于超敏反应所产生的病斑，因此将这类自发产生病斑的突变体称为类病斑突变体。类病斑突变体的表型呈现出多种特征，但主要出现在叶片和叶鞘上，尤其是在叶片上，很少出现在穗上，相应的，病变表型的颜色也多种多样，以深棕色和浅棕色为主，也有少数橙黄色病变和白色病变[9]。植物中第一个报道的类病斑突变体是在玉米中，随后在水稻、小麦等植物中也报道了类病斑突变体并且得到了广泛的研究。水稻中第一个类病斑突变体是由 Sekiguchi 发现的，由一个单隐性基因控制，Kiyosawa 等将其命名为 *sl* (Sekiguchi 病变)，现在正式命名为 *spl1* [10]。先前的研究表明，许多类病斑突变体在体内自发激活免疫反应，产生防御相关化合物并表达 PR 基因，从而显著增强抗病能力[11]，相信对类病斑突变体的研究可以极大地丰富我们对防御反应分子基础的认识，从而促进植物广谱抗病性的发展。

3. 水稻类病斑基因的克隆及功能研究进展

随着遗传学和分子生物学的快速发展，在水稻中，目前已有 45 个水稻类病斑突变体基因被克隆，其中，大多数是通过图位克隆获得的[12]。对已鉴定的水稻类病斑突变体的遗传分析发现，大部分突变体受单隐性基因控制[13]，并且对其进行功能分析发现，这些基因主要参与植物防御反应、基因转录调控和叶绿素代谢等。*spl7* 是首个通过图位克隆技术获得的类病斑基因，编码热应激转录因子，序列分析显示，*spl7* 的 DNA 结合域只有一个碱基替换，导致色氨酸变为半胱氨酸。*spl7* 表现出相对较小的红棕色病变，

散布在叶片的整个表面, 其病斑的发展受高温或紫外线太阳辐射影响[14]。*spl28* 编码网格相关受体蛋白复合体中亚基 $\mu 1$ (AP1M1), *spl28* 功能障碍会导致植株形成类病变, 导致叶片衰老的开始。*spl28* 突变体的早期发育正常, 到了开花后, 其病变内部或周围会积累高浓度活性氧、植物抗毒素、胍胍质和自荧光酚类化合物, 叶片表现出叶绿素含量、可溶性蛋白含量等显著下降, *spl28* 突变体对稻瘟病和白叶枯病的抗性也显著增强[15]。*spl32* 编码一种不依赖铁氧还蛋白的谷氨酸合成酶(Fd-GOGAT), *spl32* 突变体的坏死斑在五叶期从老叶的尖端开始, 然后扩散到整个叶片, 从分蘖到抽穗, 坏死斑变得更加严重, 秆变短, 籽粒变小, 此外, *spl32* 突变体对白叶枯病菌具有较高的抗性[16]。*spl33* 编种类 eEF1A 蛋白, *spl33* 的突变导致 *spl33* 叶片上开始出现小的红棕色病变, *spl33* 表现出程序性细胞死亡介导的细胞死亡和叶片早期衰老, 且诱导了防御反应, 其对真菌病原体稻瘟病菌和细菌病原体水稻黄单胞菌的抗性均增强[17]。类病斑相关基因的挖掘与利用, 可以为作物遗传改良提供重要线索, 因此加快类病斑调控基因的发现和克隆进程, 进一步解析类病斑调控基因作用机理将会是未来水稻抗性研究的热点课题。

4. 水稻类病斑突变体的抗病机制

根据目前的相关研究发现, 大部分水稻类病斑突变体具有对白叶枯病、稻瘟病或纹枯病的抗性。例如 *hpl3*、*lms* 和 *blm* 等 11 个突变体对稻瘟病的抗性增强; *nls1*、*spl36*、*spl21*、*hm83* 等 12 个突变体等对白叶枯病的抗性增强; *ptila*、*lml1*、*edr1* 和 *spl18* 等 19 个突变体对稻瘟病和白叶枯病的抗性均增强; 而 *lmm1* 突变体对稻瘟病和纹枯病抗性增强[13] [18]。研究发现, 主要影响抗病性的途径为植物激素信号途径和活性氧(ROS)信号途径。

植物激素是一类存在于植物体内的小分子有机化合物, 能够调节植物的生长和发育, 主要包括乙烯(Ethylene, ET)、脱落酸(Abscisic Acid, ABA)、水杨酸(Salicylic Acid, SA)、茉莉酸(Jasmonic Acid, JA)和生长素(Auxin, IAA)等。在植物病变发生过程中, 乙烯、茉莉酸、水杨酸等植物激素在调节不同的防御反应中发挥重要作用, 基于目前对类病斑的研究发现, 大部分类病斑的发生都伴随着植物体内激素的变化, 从而会影响突变体的抗性。Chen 等的研究表明斑点叶突变体 *spl24* 的内源 SA 水平提高了 23.2%, 并通过 qRT-PCR 和 RNA-seq 检测结果显示 *spl24* 对 8 个水稻水稻白叶枯病菌的抗性随着多个防御反应基因特别是与 SA 通路相关的基因的上调而显著增强, 认为 *OsSPL24* 介导的抗病性与 SA 信号通路的激活有关[19]。水杨酸是影响植物抗性的关键激素之一, 在对水稻 *OsSSI2* 基因的研究中, 发现该基因的转座子插入突变体和 RNA 干扰(RNAi)植株均表现出类病斑性状, 增强了植株对稻瘟病菌的抗性, 进一步研究表明, 转基因植株的内源 SA 含量显著增加[3]。Jiang 等发现水稻转座子插入突变体 *ssi2* 中内源水杨酸水平的增加, 诱导水稻抗性调控关键因子 WRKY45 的表达显著增加, 导致水稻类病突变[3]。

ROS 是参与植物生长发育的重要信号分子, 也是有氧代谢中的有毒副产物。当 ROS 浓度超过一定水平时, 会对细胞产生毒性作用, 甚至导致细胞死亡, 而当植物体内的 ROS 浓度低于一定值时, 植物防御系统被激活, 增强植物的抗性[20]。研究发现, 植物在产生坏死病变的过程中往往会产生大量的 ROS, *SPL38* 基因编码一个水稻中介体复合物亚基 16, *spl38* 突变体在幼叶上表现出较少和较小的病变, 在老叶上表现出大小确定的离散病变, *spl38* 中 ROS 大量积累, 并且在施用几丁质后约 15 分钟 ROS 水平达到最高水平, 表明 *spl38* 中触发了 ROS 信号通路, 同时, 抗病相关基因表达量上调, 对稻瘟病和白叶枯病的抗性增强[21]。在 *noe1* 突变体中, 由于基因功能的丧失, 其叶片中产生过多的 H_2O_2 , 导致 *noe1* 突变体出现病变模拟表型, 但突变体的抗性也增强[22]。总之, 水稻类病斑突变体产生抗病性的机制十分复杂且目前尚未完全阐明, 因此, 水稻类病斑突变体的抗病机制还需要进行更深入的研究。

5. 展望

水稻是重要的粮食作物, 也是功能基因组学研究的模式植物, 随着世界人口总量的持续快速增加,

水稻作为未来最具发展潜力的四大农业粮食作物之一，其产量及品质直接关系到社会经济发展和民生改善。探究水稻类病斑及其抗病机理是当前的研究热点之一。水稻类病斑表型多种多样，类病斑相关基因的挖掘与利用，可以为作物遗传改良提供重要线索，大部分类病斑突变体都表现出过敏性的坏死病变，并对各种病原体的抗性增强，是研究植物免疫机制的理想材料，但类病斑突变体的抗病机制尚未完全阐明，因此还需要进一步深入研究，不断探索和合理利用优质水稻种质资源，聚集主要抗病功能基因，尽可能与其他优质性状调控基因结合，发挥协同作用，增强其广谱长效抗性的同时，也提高其他优良性状，培育优质高抗高产的水稻新品种。

参考文献

- [1] Liu, W.D., Liu, J.L., Triplett, L., *et al.* (2013) Novel Insights into Rice Innate Immunity against Bacterial and Fungal Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, **52**, 213-241. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045926>
- [2] Yuan, Y.X., Zhong, S.H., Li, Q., *et al.* (2007) Functional Analysis of Rice *NPR1*-Like Genes Reveals That *OsNPR1/NH1* Is the Rice Orthologue Conferring Disease Resistance with Enhanced Herbivore Susceptibility. *Plant Biotechnology Journal*, **5**, 313-324. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2007.00243.x>
- [3] Jiang, C.J., Shimono, M., Maeda, S., *et al.* (2009) Suppression of the Rice Fatty-Acid Desaturase Gene *OsSSI2* Enhances Resistance to Blast and Leaf Blight Diseases in Rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **22**, 820-829. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-7-0820>
- [4] Undan, J.R., Tamiru, M., Abe, A., *et al.* (2012) Mutation in *OsLMS*, a Gene Encoding a Protein with Two Double-Stranded RNA Binding Motifs, Causes Lesion Mimic Phenotype and Early Senescence in Rice (*Oryza sativa* L.). *Genes & Genetic Systems*, **87**, 169-179. <https://doi.org/10.1266/ggs.87.169>
- [5] Wang, L.J., Pei, Z.Y., Tian, Y.C. and He, C.X. (2005) *OsLSD1* A Rice Zinc Finger Protein, Regulates Programmed Cell Death and Callus Differentiation. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **18**, 375-384. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0375>
- [6] Sun, C.H., Liu, L.C., Tang, J.Y., *et al.* (2011) *RLIN1*, Encoding a Putative Coproporphyrinogen III Oxidase, Is Involved in Lesion Initiation in Rice. *Journal of Genetics and Genomics*, **38**, 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.jcg.2010.12.001>
- [7] Chen, X.F., Hao, L., Pan, J.W., *et al.* (2012) *SPL5*, A Cell Death and Defense-Related Gene, Encodes a Putative Splicing Factor 3 B Subunit 3 (SF3b3) in Rice. *Molecular Breeding*, **30**, 939-949. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9677-4>
- [8] Rao, Y.C., Jiao, R., Wang, S., *et al.* (2021) *SPL36* Encodes a Receptor-Like Protein Kinase That Regulates Programmed Cell Death and Defense Responses in Rice. *Rice*, **14**, Article No. 34. <https://doi.org/10.1186/s12284-021-00475-y>
- [9] Ma, J.Y., Chen, S.L., Zhang, J.H., *et al.* (2012) Identification and Genetic Mapping of a Lesion Mimic Mutant Rice. *Rice Science*, **19**, 1-7. [https://doi.org/10.1016/S1672-6308\(12\)60013-4](https://doi.org/10.1016/S1672-6308(12)60013-4)
- [10] Kiyosawa, S. (1970) Inheritance of a Particular Sensitivity of the Ricevariety, Sekiguchi-Asahi, to Pathogens and Chemicals, and Linkage Relationship with Blast Resistance. *Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences. Series D: Plant physiology, genetics and crops in general*, **21**, 61-71.
- [11] Shirsekar, G.S., Vega-Sanchez, M.E., Bordeos, A., *et al.* (2014) Identification and Characterization of Sup-Pressor Mutants of *Spl1*-Mediated Cell Death in Rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **27**, 528-536. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-13-0259-R>
- [12] 沈旺鑫, 史小品, 杜海波, 等. 水稻类病斑突变体基因克隆及发生机制研究进展[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(3): 837-848.
- [13] 焦然, 徐娜, 胡娟, 等. 水稻类病斑突变体性状及分子机理研究进展[J]. 中国水稻科学, 2018, 32(3): 285-295.
- [14] Yamanouchi, U., Yano, M., Lin, H., *et al.* (2002) A Rice Spotted Leaf Gene, *Spl7*, Encodes a Heat Stress Transcription Factor Protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 7530-7535. <https://doi.org/10.1073/pnas.112209199>
- [15] Qiao, Y., Jiang, W., Lee, J., *et al.* (2010) *SPL28* Encodes a Clathrin-Associated Adaptor Protein Complex 1, Medium Subunit Micro 1 (AP1M1) and Is Responsible for Spotted Leaf and Early Senescence in Rice (*Oryza sativa*). *New Phytologist*, **185**, 258-274. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03047.x>
- [16] Sun, L., Wang, Y., Liu, L.L., *et al.* (2017) Isolation and Characterization of a *Spotted Leaf 32* Mutant with Early Leaf Senescence and Enhanced Defense Response in Rice. *Scientific Reports*, **31**, Article No. 41846. <https://doi.org/10.1038/srep41846>
- [17] Wang, S., Lei, C., Wang, J., *et al.* (2017) *SPL33*, Encoding an EEF1A-Like Protein, Negatively Regulates Cell Death

-
- and Defense Responses in Rice. *Journal of Experimental Botany*, **68**, 899-913. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx001>
- [18] 伍豪. 水稻类病斑基因 *LLM1* 和 *LLM3* 的克隆与功能解析[D]: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2023.
- [19] Chen, Z., Chen, T., Sathe, A.P., *et al.* (2018) Identification of a Novel Semi-Dominant Spotted-Leaf Mutant with Enhanced Resistance to *Xanthomonas oryzae* P.v. *Oryzae* in Rice. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, Article 3766. <https://doi.org/10.3390/ijms19123766>
- [20] Danon, A., Miersch, O., Felix, G., *et al.* (2005) Concurrent Activation of Cell Death-Regulating Signaling Pathways by Singlet Oxygen in *Arabidopsis Thaliana*. *The Plant Journal*, **41**, 68-80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02276.x>
- [21] Zhang, P., Ma, X., Liu, L., *et al.* (2023) Mediator Subunit 16 Negatively Regulates Rice Immunity by Modulating Pathogenesis Related 3 Activity. *Plant Physiology*, **192**, 1132-1150. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad120>
- [22] Lin, A., Wang, Y., Tang, J., *et al.* (2011) Nitric Oxide and Protein S-Nitrosylation Are Integral to Hydrogen Peroxide-Induced Leaf Cell Death in Rice. *Plant Physiology*, **158**, 451-464. <https://doi.org/10.1104/pp.111.184531>