

水稻分子发育研究的若干进展

华志明 (四川农业大学 水稻研究所, 四川 温江 611130; E-mail: zmhua@mail.sc.cninfo.net)

Progress of Molecular Development Research in Rice

HUA Zhiming (Rice Research Institute, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China; E-mail: zmhua@mail.sc.cninfo.net)

Abstract: Rice (*Oryza sativa* L.), which has a small genome in cereal plants, has several advantages as a model species for studying molecular biology and developmental biology. Although molecular studies on rice development have just begun, a growing number of investigation materials of molecular development in rice are now being increased. In the review, first, molecular developmental mechanisms of flower and floral organs are summarized. Then, molecular mechanisms of embryogenesis are discussed. At last, recent progress toward molecular process of formation and development of vegetative organ are described.

Key words: *Oryza sativa*; development; flower; embryogenesis; stem organ; gene

摘 要: 水稻是基因组最小的禾谷类作物,也是植物发育生物学和分子生物学研究较理想的模式植物。水稻分子发育的研究正成为植物发育生物学研究热点课题,从水稻花和花器官的发育、胚胎发生和营养器官——茎发育等三个方面简要介绍了近期研究的有关进展。

关键词: 水稻; 发育; 花器官; 胚胎发生; 茎; 基因

中图分类号: Q94; S33

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2000)04-0256-05

水稻不仅是最重要的粮食作物,也是生物学研究较理想的模式植物。水稻作为模式植物¹,有其重要优点:基因组较小,约为400 Mb,分布在12条染色体上,是作物中基因组最小的,仅为拟南芥120 Mb的4倍,玉米2500 Mb的1/6,大麦5300 Mb的1/13²;水稻基因组与禾谷类其他作物基因组具有共线性³,遗传转化的易操作性和较强的再生能力;较详细的基因组作图;生育期较短,一般为90~160 d;分布范围较广,从低海拔到海拔2000 m都有种植;品种较多,类型变化幅度较大。这些为水稻发育研究提供了许多便利条件。分子生物学技术的快速发展及其在植物发育研究中的广泛应用,使水稻发育生物学研究已深入到分子水平,并已取得不少进展,本文从花和花器官的发育、胚的发生和茎的发育等三个方面对此作一简要介绍。

1 水稻花及花器官发育

双子叶植物花和花器官发育的分子机理研究取得了长足的进展,花器官发育ABC模型的建立就是重要标志⁴。单子叶植物和双子叶植物在早白垩纪(约1.3亿年前)就已分化⁵。单子叶植物花器官和花序发育的许多特征与双子叶植物的明显不同。禾本科植物水稻的花在单子叶植物花器官中具有代表性,其花表现独特的形态特征,并成为研究单子叶植物花器官发育的理想模式材料。

1.1 分生组织的发育

尽管水稻花发育分子机理的研究才刚开始,但控制花和花器官发育的基因正不断地被鉴定和克隆。如稻穗形态发生约受20个位点基因的调控。稻穗的基本结构主要由分枝式

样和花着生位置决定,其他如穗轴和小穗轴的长短也影响穗的形态。*ri*基因的突变使穗轴基部的分枝呈轮生状态⁶;短穗基因*sp1*、*sp2*和*sp3*的表现型是下部穗轴明显缩短⁶;在穗松散型的突变体中,仅在一次枝梗和二次枝梗的顶部分化形成小花。簇聚突变体的表现型是3~4个小花簇聚而生⁶。穗轴卷曲的突变体*fzp*,其一次枝梗的发生不受影响,在穗轴上形成正常的一次枝梗,但一次枝梗原基起始后,其顶端分生组织(SAM)开始退化,结果枝梗上不能分化形成小花,但在更高枝梗上不是分化小穗,而是不断产生分枝。结果*fzp*突变体产生不正常的枝序,使有限生长型的花分生组织转变成无限生长型的花序分生组织⁷。表明FZP基因可能是稻花分生组织形成的主要调控基因之一。

在水稻花器官突变体*fon1*和*fon2*中,花分生组织增大,浆片、雄蕊和雌蕊数目明显增加,浆片、雄蕊发生同源异形化⁸。这种表现型同拟南芥突变体*clv1*和*clv3*相似⁹。尽管拟南芥突变体*clv1*和*clv3*的营养生长和生殖生长过程的SAM都明显增大,而突变体*fon1*和*fon2*营养生长的SAM表现正常。拟南芥中的*clv1*和*clv3*分别编码受体蛋白激酶¹⁰和受体蛋白激酶的配体——96个氨基酸的多肽¹¹,通过配体蛋白CLV3与受体蛋白激酶CLV1的结合,激活信号传导途径来调节分生组织大小¹¹。有趣的是进一步揭示FON1和FON2是否与CLV1和CLV3同源,通过相似的方式调节水稻分生组织的大小。

收稿日期: 1999-08-23; 修改稿收到日期: 1999-11-29。

第一作者简介: 华志明(1967-),男,博士,副教授。

在拟南芥和金鱼草中至少有 5 个基因参与调控花分生组织的形成。*LFY/FLO* 和 *API/SQUA* 是其中的 2 个重要调控基因¹²。从水稻中已分离出 2 个与 *LFY* 和 *API* 同源的基因 *RFL* 和 *RAPI*^{13, 14}。从双子叶植物克隆出的 *LFY/FLO* 基因是高度保守的, 特别是在 C-端的氨基酸序列表现广泛同源性。*RFL* 序列与 *LFY/FLO* 同源, 它们可能共同起源于同一祖先基因, 它们编码的蛋白 C-端氨基酸序列保守性表明其有重要的古老功能。*RFL* 基因编码 379 个氨基酸残基组成的蛋白质, 尽管与 *LFY/FLO* 是同源的, 但与双子叶植物之间相比其同源性相对较低。*LFY/FLO* 编码转录因子蛋白。*RFL* 蛋白中的核定位信号(NLS)序列与 *LFY/FLO* 相似。通过 *GFP* 报告基因研究发现 *RFL* 定位于细胞核中。拟南芥 35S:*LFY* 异位表达使花分生组织转变成花序分生组织, 而 35S:*RFL* 的表达则不具有此功能。表明 *RFL* 和 *LFY* 蛋白的功能是不完全相同的。

水稻 *RFL* 表达式样也不同于 *LFY/FLO*¹³。*LFY/FLO* 在花分生组织早期表达, 这与它们是花分生组织特异基因是一致的。Northern 印迹表明, *RFL* 主要在幼穗中表达, 而在成熟小花、叶和根中表达。营养生长转变成生殖生长后, *RFL* 立即在 SAM 中表达。*RFL* 在分化一次枝梗原基的幼穗所有细胞层中都表达。但在一次枝梗分化位点和分枝原基不表达。随着分枝的发育, *RFL* RNA 除了在分枝的分生组织表达外, 还在发育的分枝中积累。在水稻幼穗发育过程中, 最初几个幼穗分枝原基形成后, 穗轴顶端分生组织开始降解。在 SAM 中的 *RFL* RNA 积累与分生组织活动似乎相关。在初生枝分化中期, *RFL* RNA 在幼穗轴原体细胞中的表达开始减少。所有初生枝原基分化后, 茎尖失去分生组织特性, *RFL* RNA 的表达从幼穗主轴中消失。分枝形成后, 在发育的稻穗和花分生组织中没有 *RFL* RNA 的表达¹³。在终端小花形成处即分枝顶端, 可始终有少量的 *RFL* RNA 表达。这表明没有可测到的 *RFL* RNA 就可以形成花分生组织, *RFL* RNA 的表达不是小花分生组织起始所必需的。*RFL* 的表达式样表明 *RFL* 在花发育中起的作用明显不同于拟南芥的 *LFY* 和金鱼草的 *FLO*。

API/SQUA 族基因是花分生组织形成另一个特异调控基因⁴。*API/SQUA* 族的同源基因在水稻花分生组织形成中可能也起重要作用。水稻 *RAPIA* 和 *RAPIB* 基因编码的蛋白质与 *API/SQUA* 相比, 在 MADS 结构域 89% 和 88% 氨基酸是相同的; N-端的 153 个氨基酸序列(包括 MADS 结构域 K 区和 I 区), 70% 和 73% 的氨基酸序列是相同的。*RAPIA* 和 *RAPIB* 编码的蛋白与玉米 ZAP1 蛋白¹⁵ 70% 的氨基酸是相同的, 这种同源性拓展到 C-端区¹⁴。含有 MADS 结构域的蛋白质 C-端区尽管不能决定其功能的特异性, 但可能与转录激活有关¹⁶。禾本科 MADS 盒基因在 C-端区的保守性也许与功能特异性有关。在转基因 35S-*RAPIA* 的水稻中, 明显形成早花, 这与拟南芥转基因 35S-*API* 植株相似¹⁷。

水稻 *OMADS1* 在转基因烟草中表达, 也引起早花¹⁸。*OMADS1* 编码的蛋白质与拟南芥 *AGL2* 高度同源, 但 *AGL2* 功能不清楚。最近发现 *LFY* 是 *API* 的上游基因, *API* 是 *LFY* 的靶基因, *LFY* 激活 *API* 的表达¹⁹。水稻中 *RAPIA* 和 *RFL* 是否存在类似于拟南芥 *LFY* 与 *API* 的关联关系, 有待进一步研究。

1.2 花器官的发育

如前所述, 水稻花器官的结构明显不同于双子叶植物, 花被器官是高度变态的, 而内外颖是最易受影响的器官。如我们从多胚苗中发现的无雌蕊突变体, 该突变体花器官发生同源异形转变, 雌蕊变成雄蕊, 并出现抱片; 内外颖表现不等长, 内颖长于外颖; 除花器官发生变异外, 叶片表现没有中脉(midrib)(未出版的资料)。禾谷类的浆片被认为同源于双子叶植物的内轮花被器官²⁰, 但缺少分子证据支持。花器官发育 ABC 模型认为, 拟南芥 *AP1*, *AP2*, *AP3* 和 *PI* 调控花被器官——花瓣和花萼的发育。突变体 *ap1* 的花瓣缺失或转变成叶状结构, 而突变体 *ap3* 和 *pi* 的花瓣转变成花萼⁴。这些花器官特异基因除 *AP2* 外, 都编码含 MADS 结构域的转录因子蛋白, 而 *AP2* 则编码植物特有的含 *AP2* 结构域的转录因子蛋白²¹。含有 MADS 盒的 A、B 功能基因的变化可能导致禾本科植物花被器官形态的多样性。

植物中 MADS 盒基因是多基因家族, 根据氨基酸序列可划分不同的亚族, 在不同的植物中, 不同亚族大多数基因的功能是相似的¹⁶。在水稻中, 约 15 个 MADS 盒基因已克隆出来, 它们分布在不同亚族中, 这进一步表明在双子叶植物和单子叶植物分化之前, 即它们共祖先时, MADS 盒基因可能就已复制²², 因此双子叶植物和单子叶植物花发育的基本特征可能是相似的或发育过程是保守的。有趣的是 MADS 盒基因是如何进化的, 它们的特有序列和特定的表达式样是如何决定禾本科花形态的多样性和功能的特异性。水稻 MADS 盒基因 *OMADS2* 和 *OMADS4* 与拟南芥的 B 功能基因 *PI* 是高度同源的²³。*PI/GLO* 亚族主要在花发育后期阶段的第 2 轮和第 3 轮器官中表达。*OMADS2* 主要在花药和心皮组织中表达, 而 *OMADS4* 主要在花药组织中表达。*OMADS2* 和 *OMADS4* 在花药组织中表达与 *PI/GLO* 亚族成员相似。*OMADS2* 和 *OMADS4* 在花器官更详细的时空表达式样的研究, 有助于确定水稻 *PI/GLO* 亚族基因是否具有多样性及与花器官变异性的关系。

水稻 *OMADS3* 与 C-功能基因 *AG* 是同源的²⁴。*OMADS3* 蛋白与 *AG* 蛋白在 MADS 结构域的氨基酸 100% 相同, 全部序列的氨基酸 64% 是相同的²⁴, 但 *OMADS3* 蛋白缺少 C-端。拟南芥中 *AG* 决定花生殖器官和分生组织的特异性。从水稻品种 Toride 1 中分离的 *RA G* 基因编码的蛋白除 N-端多出 39 个氨基酸序列与 *OMADS3* 不同外, 整个序列只有 4 个氨基酸不同。比较它们的核苷酸序列发现, 1.4 kb cDNA 的 *RA G* 与 *OMADS3* 有 14 个核苷酸不同(包括未翻译的引导序列)¹⁴。*OMADS3* 和 *RA G* 是同一基因还是不同基因有待进一步确定。它们的核苷酸序列不同反映不同品种间可能存在多型性。*OMADS3* 和 *RA G* 主要在花药和心皮组织中表达, 在内外颖和叶片中不表达。35S-*OMADS3* 的转基因烟草表现早花现象并使萼片变成心皮、花瓣变成花药, 这与 35S-*AG* 的转基因拟南芥表现型相似。35S-*RA G* 的转基因拟南芥也有相似的表现型。因此 *RA G*、*OMADS3* 和 *AG* 的功能可能是相同的。

尽管玉米是雌雄同株异花植物, 与水稻雌雄同花不同, 但小花的结构是相似的。玉米的 2 个 C-功能基因 *ZAG1* 和 *ZMM2*^{15, 25} 共同控制生殖器官的发育, 系统分析表明 *ZAG1* 和 *ZMM2* 是同一祖先基因复制的结果²²。因此, 水稻的 *RA G* 和 *OMADS3* 是否是同一祖先基因复制而来的, 共同决定生

殖器官的特异性,有待深入研究;另一可能是控制单子叶植物和双子叶植物花器官发育机理是不同的,即禾谷类花器官——雄蕊和心皮发育不是由单一的AG族同源基因控制。因此获得RAG和OMADS3功能缺失突变体是了解水稻AG族同源基因功能的关键。

通过原位杂交和系统分析发现,OMADS1、OMADS24和OMADS45属MADS族基因的AGL2亚族^[20,23]。AGL2在拟南芥花分生组织、发育的子房、受精后的胚和种皮中表达,但主要在花器官中表达,AGL2的具体功能仍不清楚。OMADS1在花原基中表达与AGL2是一致的;在成熟花中,转录产物在内外颖和子房都表达。35S-OMADS1的转基因烟草表现早花和矮化现象。OMADS24和OMADS45的空间表达式样是相似的,它们在浆片、雄蕊和心皮组织中表达,但在内外颖器官中未见表达。OMADS24和OMADS45基因同时在生殖器官和浆片中表达,表明浆片和生殖器官在起源上具有一定的同源性,因此,浆片是否是变态(退化)的花被器官有待进一步深入研究。

2 水稻早期胚胎发育的基因调控

单子叶植物胚胎发育与双子叶植物胚胎发育相比较,其发育过程基本相似。但单子叶植物胚胎发育也有其个性特征。与双子叶植物相比,单子叶植物胚胎发生过程形成结构较复杂和比较大的成熟胚,胚分化形成较完善的、具有叶原基和胚根分化等结构,并通过维管系统把它们联接起来。因而禾本科植物的成熟胚几乎包含营养生长阶段所有的器官,如茎尖组织、幼叶原基、维管系统和胚根等。

2.1 胚芽发育的基因调控

从模式植物拟南芥的研究中发现纵向发育格局和径向发育格局共同控制胚胎的发育。纵向发育格局明显形成3节的组织区:顶端胚性区、中部胚性区和基部胚性区^[26,27]。顶端胚性区细胞主要形成胚芽和盾片组织;中部胚性区主要参与胚轴和部分根尖原基的形成;而基部胚性区细胞主要参与根尖原基的形成。同源异形盒基因(homeobox gene)是生物发育的重要调控基因,可能也是顶端胚性区重要调控基因之一,对SAM的发育起重要作用。目前克隆出同源异形盒基因编码的产物是转录因子蛋白,都含有由61个保守氨基酸残基组成的、同DNA结合的称为同源异形域(homeodomain)的结构单元^[28]。在动物(如果蝇)胚胎发生中,该类转录因子蛋白是细胞分化或体节形成的主要调控因子^[28]。玉米Knotted-1(KN1)基因是第一个从植物中克隆出的同源异形盒基因,在胚胎发生中的器官分化之前表达;原位杂交显示KN表达的位置是SAM即将形成的区域,因此KN基因对玉米SAM形成起重要作用^[29]。通过对玉米KN基因功能缺失突变体研究发现,此基因有保持分生组织的作用^[30]。从水稻克隆出的3个同源异形盒基因Oskn1(OSH1)、Oskn2和Oskn3与KN1高度同源^[31]。Oskn1(OSH1)基因的表达在SAM分化形成前后是一致的,表明Oskn1是SAM形成和发育主要调控基因^[32]。

Oskn3的产物同玉米的Rough Sheath 1(RS1)的产物88%氨基酸序列是相似的,而在同源异形域区100%是相同的,其表达式样同RS1也相似^[31]。在胚胎发育过程中,Oskn3开始的表达式样同OSH1相似,即在SAM即将形成的部位表达,表明Oskn3同OSH1一样对SAM的分化起重要作用。

SAM形成后,Oskn3的表达式样与OSH1明显不同,其表达标志着胚器官(SAM、子叶和维管束)形成的边界,这表明Oskn3在器官定位中起重要作用。尽管RS1在胚胎发育中表达式样没有研究^[33],但在花发育和营养器官发育中呈环形表达式样说明它们的功能是相似的,即Oskn3可能对营养器官的形成也起重要作用。通过转基因植株进一步研究发现,Oskn3是SAM形成的重要调控基因。在转基因烟草中,使Oskn3过量表达,结果烟草的表现型同KN1的表现型相似;在Oskn3的转化体(transformants)中,形成异位性质的茎^[31]。在玉米RS1基因的显性突变体中,叶片细胞转变成具有叶鞘性质的细胞,RS1基因有决定细胞命运的作用;同样Oskn3在水稻胚胎发育过程中也可能有决定细胞发育方向的作用。

尽管Oskn2的表达时间比Oskn1和Oskn3都晚,但在SAM形成过程中同样也表达,说明Oskn2是SAM形成的调控基因之一。现在不清楚这3个基因是功能重复还是作用不同的靶基因。也许基因的功能重复是生物在长期进化过程中为防止重要功能的缺失形成的自我保护方式。SAM形成后,Oskn2在盾片腹面的外层细胞和外胚叶(epiblast)的外层细胞中表达,Oskn3在这些器官中也表达^[31]。这可能有利于引导这些组织发生外向生长(outgrowth),以便于后期贮藏物在此积累。OSH15是从水稻中克隆的另一个与KN1同源的基因,在同源异形域区的氨基酸与玉米的RS1完全相同^[32]。OSH15在水稻胚胎发育的早期表达式样与水稻OSH1和拟南芥的STM相似,只是在后期OSH1保持在SAM中表达,而OSH15在SAM中表达停止,在胚分化器官的边界呈环形表达。OSH15在SAM形成前后的功能是不同的。在SAM形成前,OSH1和OSH15可能共同决定SAM的分化;而在SAM形成后,OSH15可能与植物茎节(节段单位)的发育有关^[32]。这些KN-1类不同的同源异形基因在发育过程中既有协作又有独立的功能^[34]。

最近从水稻中发现的shootless(shl)突变体,胚顶端分生组织缺失,但胚根发育正常;单子叶植物胚的2个特有器官——胚芽鞘和外胚叶缺失,而盾片正常发育^[35]。因此胚根和盾片的分化不依赖于胚的顶端分生组织;但胚芽鞘和外胚叶的分化则依赖于胚顶端分生组织的活动。因而胚芽鞘和外胚叶与盾片可能不是同源器官。而徐文^[36]认为盾片和胚芽鞘同属于子叶性质的;外胚叶由胚根分化形成,这种观点值得商榷。从突变体shl外植体上产生的再生茎不能形成不定茎,但可形成小的不定叶,这种不定叶不能进一步生长膨大,最后死亡。从上可以看出,缺失SAM的突变体可以形成叶原基,但不能生长膨大。用OSH1作探针进行原位杂交,发现突变体shl1和shl2胚的OSH1表达式样改变,而突变体shl3和shl4胚的OSH1表达式样不变。因此SHL1和SHL2可能作用于OSH1的上游;而SHL3和SHL4可能作用于OSH1的下游,或独立于OSH1的调控途径^[35]。

在水稻双胚芽突变体dsh(double shoot)中,胚背腹面发生同时或先后分化,结果形成有共胚根(单胚根)的大小相同或不同的双苗(未出版的资料)。表明DSH基因的功能抑制额外胚芽的发育,就象拟南芥中胚的顶细胞具有抑制胚柄细胞分化发育形成额外多胚的功能一样^[37]。在双胚根突变体dr(double radicle)中,胚根形成区同时形成两个胚根原基,结果萌发的幼苗是双胚根的。因而DR基因具有抑制额外胚根的分化发育作用。在这些突变体中,额外胚根和胚芽的形成是

两个独立发生的过程(未出版的资料)。就象拟南芥胚胎发生纵轴向格局由3节组织区组成一样。

2.2 背腹向极性形成

禾谷类植物的胚胎发生不同于双子叶植物的一个重要特征是具有背腹向极性²⁸。水稻授粉2~3 d后,晚球形胚开始分化形成背腹向极性,从背面到腹面细胞大小明显呈梯度分布,腹面细胞较小,细胞质浓厚,分裂能力旺盛,是胚芽分化形成的区域。*OSH 1* mRNA是第一个在水稻球形胚期(约100个细胞)从腹面表达的基因³⁸。从晚球形胚到第一叶原基形成期*OSH 1*表达水平最高;在胚成熟过程中,表达水平明显下降。通过对没有器官分化突变体*or11*的研究发现,*OSH 1*的表达水平不受器官分化的影响³³。因此,*OSH 1*功能可能作用在胚胎发生的早期,即在球形胚时期可能与控制腹面区的细胞分化有关;在胚胎发生的早期——器官分化前,建立细胞区域化,为器官分化提供生理准备,启动胚胎发育的背腹向格局的形成。

2.3 胚和胚乳发育关系

胚乳对胚的发育起着重要作用。传统观点认为胚乳对胚发育提供营养和结构支持作用。最近的研究表明胚的大小和形态受胚乳调控基因的影响,即胚乳特异基因通过调控胚乳发育影响胚的发育³⁹。在水稻中,巨胚突变体*giant embryo (ge)*的胚和盾片明显增大,而微胚突变体*reduced embryo (re)*胚明显缩小³⁹。通过比较研究发现,在授粉后2 d,*re*胚发育延缓,胚乳细胞增生并紧紧包围着胚,而野生型的胚和胚乳之间存在较小的间隙;在授粉后3 d,*ge*突变体胚周围的胚乳细胞开始降解,可能为胚异常增大提供了生长空间和(或)营养物质。上述结果表明,*RE*和*GE*位点基因通过控制胚乳发育来调节胚体大小和形状。大量的实验表明胚乳发育异常导致胚的败育,因而胚和胚乳发育是相互依赖,互为共存的。胚发育特异基因和胚乳发育调节基因可能通过互作达到一种协调状态,共同调控胚的正常发育。G蛋白是一种异源三聚体蛋白,在信号传导中起重要作用。研究发现水稻中编码G蛋白 α 亚基的基因与*Dikoku*矮化基因连锁且位于第5染色体上。编码 α 亚基的基因突变导致种子变小⁴⁰。

3 营养器官——茎的发育

植物茎的节间由三部分组成,即上部分化区、中部伸长区和基部居间分生组织区。水稻的茎也不例外。*OSH 15*是第一个发现的参与调控茎发育的同源异形基因⁴¹。*OSH 15*与玉米的*rs1*(rough sheath 1)和*knox4*高度同源,位于第7染色体上。原位杂交发现,*OSH 15*在纵切的SAM叶原基下部表达,即节间将分化形成的区域。在横切的组织中,*OSH 15* mRNA在茎尖呈环形表达,即在分化成为节间的外围数层细胞中表达。表明*OSH 15*提供位置信号使发育节间的外层细胞特化,同时具有控制小的维管束、厚壁组织和表皮组织的发育作用。*OSH 15*的功能可能通过控制居间分生组织的细胞分裂来调控居间分生组织的活动,使*osh15*突变体节间细胞数目明显减少⁴¹。

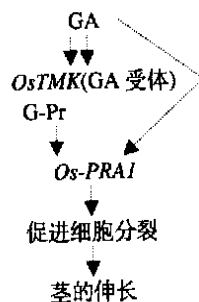
膨大素(expansin),是一种破坏细胞壁中纤维素微纤丝和衬质多聚物间氢键,起到软化细胞壁作用的蛋白质。在深水稻茎中发现多个编码膨大素蛋白的基因。这些基因对深水稻茎发育起重要调控作用^{42, 43}。膨大素基因在水稻营养器官的不同组织表达方式是不同的,*Os-EXP 1*、*Os-EXP 3*和*Os-*

*EXP 4*的mRNA在快速生长的器官如胚芽鞘和初生根中是丰富的,而在膨大的叶中仅少量的*Os-EXP 2*表达,这可能在叶中存在未被克隆的特异的膨大素基因。*Os-EXP 3*的表达限制在短的根尖区。膨大素基因沿胚芽鞘、根和节间发育区表达。*Os-EXP 1*、*Os-EXP 3*和*Os-EXP 4*的mRNA丰度与细胞伸长有关,主要在根尖具有生长能力的顶端5 mm区表达,而*Os-EXP 2*在初生根停止生长的根毛区和根尖区表达。在节间上部的分化区,*Os-EXP 2*的表达比伸长区和居间分生组织区丰富。节间的分化区和根毛区是高度分化的组织。*Os-EXP 2*的表达可能在维管系统分化中起作用,也可能与根毛的生长和分化有关。膨大素蛋白分布在节间的内表皮层和非成熟的维管束周围⁴²,表明膨大素有更重要的生理功能,而不仅仅是促进细胞的伸长。

最近从深水稻茎秆中克隆出的含有13个富亮氨酸重复单元(LRRs)的受体蛋白激酶基因*OsTMK*,编码含有962个氨基酸的蛋白质⁴⁴。GA处理后,*OsTMK*在深水稻节间的转录水平明显增加,在茎节间的细胞分裂和伸长区表达特别高,而在非生长区表达水平特别低。表明*OsTMK*基因在茎的生长过程中起重要作用。在拟南芥中,克隆的*BR1*基因编码富亮氨酸重复单元受体蛋白激酶,在油菜类酯的信号传导中起重要作用⁴⁵。GA和BR都是类固醇激素,因而*OsTMK*也可能参与GA的信号传导过程。如前所述,G蛋白是信号传导的重要载体,在植物发育中起重要作用。研究发现G蛋白 α 亚基基因的mRNA在1.5个月龄水稻植株的节间表达呈显著水平,而在3个月龄的节间只有少量的表达,表明G蛋白对幼茎的正常发育起重要作用⁴⁰。

深水稻茎的伸长GA起着重要作用,GA作用的靶组织是节间居间分生组织。通过mRNA的差异显示方法,分离出几个受GA调控的、在茎居间分生组织特异表达的基因,如*Os-RPA 1*⁴⁶。*Os-RPA 1*编码蛋白质与DNA复制蛋白A1(RPA1)同源,RPA1是一种异源三聚体蛋白,在DNA复制、重组、修复和转录调控中起重要作用。*Os-RPA 1*的转录水平在水稻茎细胞分裂组织高;浸水的和GA处理的茎,*Os-RPA 1* mRNA的表达在居间分生组织快速增加⁴⁵。因此*Os-RPA 1*基因的作用可能是加强细胞DNA的复制,促进细胞分裂;在GA促进生长的同时,*Os-RPA 1*基因也可能具有协调不同基因的转录作用⁴⁶。其可能机理如图1。

植物发育过程一般可明显地划分为4个时期,即胚胎发生期、前营养生长期(童期)、后营养生长期(成年期)和生殖生长期。最近在水稻中发现的隐性突变体*p1astochron 1*



→ 可能途径

图1 GA、*OsTMK*、G-Pr和*Os-PRA 1*调控茎生长的可能机理

(*plal*) 明显缩短叶间期(前后两叶伸出的间隔时间), 叶片数显著增加, 叶片出现的速率明显加快, 营养生长期延长, 但生殖生长的转变期基本不变。因此在野生型中, *PLA* 基因可能在适宜的时期抑制叶原基过量产生, 关闭营养生长, *PLA* 可能是营养生长主要调控基因⁴⁷。营养生长和生殖生长是两个独立的过程, 营养生长的末期和生殖生长的始期是同步的, 而突变体 *plal* 生殖生长和营养生长同时进行, 即在小花分化过程中, 穗上的初生枝多数被异位表达的营养茎取代, 生殖生长的转变期不受影响。因此, 发育过程中相变可能受多个功能不同的基因共同协调控制。研究还发现突变体 *plal* 营养生长期叶片出现的速率与生殖生长阶段异位茎的表达数显著相关。表明 *PLA* 基因通过协调的方式调控叶间期和营养生长期的长短⁴⁷。突变体 *plal* 的 SAM 明显增大, 原位杂交显示细胞分裂能力增强, *PLA* 可能通过增强分裂能力, 快速诱导叶原基的产生, 导致叶间期的缩短。因此发育异时性(heterochronic)突变足以改变植物发育的基本格局。

从上可以看出, 尽管人们对水稻发育机制有了初步的认识, 但由于植物的一生受 25 000~ 40 000 个基因调控, 因此要完全揭示水稻发育机理, 还有许多问题需要解决, 如花分生组织的起始、花器官的分化、SAM 发育的调控、时相转变的基因调控机制、胚胎发生过程的器官分化机理、胚后发育的形态建成机制等。随着分子生物学技术快速发展及基因克隆技术的日趋完善, 可以预见这些问题有望在不久得到解决, 届时人们对水稻发育的机理将会更加清楚。

参考文献

- Shimamoto K. J. *Trends Plant Sci*, 1996, 1: 95~ 99
- Barakat A, Matassi G, Bernardi G. J. *PNAS USA*, 1998, 95: 10044~ 10049
- Gale M D, Devos K M. J. *PNAS USA*, 1998, 95: 1971~ 1974
- Weigel D, Meyerowitz E M. J. *Cell*, 1994, 78: 203~ 209
- Grane P R, Friis E M, Pedersen K R. J. *Nature*, 1995, 374: 27~ 33
- Murai M, Izawa M. J. *Breed Sci*, 1994, 44: 247~ 255
- Mackill D J, Pinson S R M, Rutger J N. J. *RGN*, 1991, 9: 100~ 102
- Nagasawa N, Miyoshi M, Kitano H, et al. J. *Planta*, 1996, 198: 627~ 633
- Clark S E, Running M P, Meyerowitz E M. J. *Development*, 1995, 121: 2057~ 2067
- Clark S E, Running M P, Meyerowitz E M. J. *Cell*, 1997, 89: 575~ 585
- Fletcher J C, Brand U, Running M P, et al. J. *Science*, 1999, 283: 1911~ 1914
- Pineiro M, Coupland G. J. *Plant Physiol*, 1998, 117: 1~ 8
- Kyozuka J, Konishi S, Nemoto K, et al. J. *PNAS USA*, 1998, 95: 1979~ 1982
- Kyozuka J. A. In: Shimamoto K. *Molecular Biology of Rice* [M]. Tokyo: Springer-verlag, 1999. 101~ 117
- Mena M, Mandel M A, Lerner D, et al. J. *Plant J*, 1995, 8: 845~ 854
- Riechmann M D, Meyerowitz E M. J. *Biol Chem*, 1997, 378: 1079~ 1101
- Mandel M A, Yanofsky M. J. *Nature*, 1995, 377: 522~ 524
- Chung Y Y, Kim S R, Finkel D, et al. J. *Plant Biol*, 1994, 26: 657~ 665
- Wagner D, Sablowski R W M, Meyerowitz E M. J. *Science*, 1999, 285: 582~ 584
- Greco M, Stagi L, Colombo L, et al. J. *Mol Gen Genet*, 1997, 253: 615~ 623
- Riechmann M D, Meyerowitz E M. J. *Biol Chem*, 1998, 379: 633~ 646
- Theissen G, Kim T, Saedler H. J. *J Mol Evol*, 1996, 43: 484~ 516
- Chung Y Y, Kim S R, Kang H G, et al. J. *Plant Sci*, 1995, 109: 45~ 56
- Kang H G, Noh Y S, Chung Y Y, et al. J. *Plant Biol*, 1995, 29: 1~ 10
- Mena M, Ambrose B A, Meeley R B, et al. J. *Science*, 1996, 274: 1537~ 1540
- Jurgens G. J. *Cell*, 1995, 81: 467~ 470
- 华志明, 杨先慈, 郭小玲. J. *植物生理学通讯*, 1999, 35: 337~ 344
- Manak J R, Scott M P. J. *Development*, 1994 (suppl): 61~ 77
- Smith L G, Jackson D, Hake S. J. *Dev Genet*, 1995, 16: 344~ 348
- Kerstetter R, Laudencia-Chingcuanco D, Smith L G, et al. J. *Development*, 1997, 124: 3045~ 3054
- Postma-Haarsma A D, Verwoert I I G S, Stronk O S, et al. J. *Plant Biol*, 1999, 39: 257~ 271
- Sato Y, Sentoku N, Nagato Y, et al. J. *Plant Biol*, 1998, 38: 983~ 998
- Schneeberger R G, Becraft P E, Hake S, et al. J. *Genes Dev*, 1995, 9: 2292~ 2304
- Sentoku N, Sato Y, Kurata M, et al. J. *Plant Cell*, 1999, 11: 1651~ 1663
- Sato N, Hong S K, Nishimura A, et al. J. *Development*, 1999, 126: 3629~ 3636
- 徐雪宾, 韩惠珍, 刘向东, 等. [J]. *植物学报*, 1999, 41 (5): 472~ 478
- Zhang J Z, Somerville C R. J. *PNAS USA*, 1997, 94: 7349~ 7355
- Sato Y, Hong S K, Tagiri A, et al. J. *PNAS USA*, 1996, 93: 8117~ 8122
- Hong S K, Kitano H, Sato H, et al. J. *Development*, 1996, 122: 2051~ 2058
- Fujisawa Y, Kato T, Ohki S, et al. J. *PNAS USA*, 1999, 96: 7575~ 7580
- Sato Y, Sentoku N, Miyuro Y, et al. J. *EMBO J*, 1999, 18: 992~ 1002
- Cho H T, Kende H. J. *Plant Cell*, 1997, 9: 1661~ 1671
- Kende H, van der Knaap E, Cho H T. J. *Plant Physiol*, 1998, 118: 1105~ 1110
- van der Knaap E, Song W Y, Ruan D L, et al. J. *Plant Physiol*, 1999, 120: 5559~ 5569
- Li J, Chory J. J. *Cell*, 1997, 90: 929~ 938
- van der Knaap E, Jagoueix S, Kende H. J. *PNAS USA*, 1997, 94: 9979~ 9983
- Itoh J I, Hasegawa A, Kitano H, et al. J. *Plant Cell*, 1998, 10: 1511~ 1521