

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.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.03.032

水稻类病斑突变体基因克隆及发生机制研究进展

沈旺鑫¹, 史小品¹, 杜海波¹, 冯志明^{1,2}, 陈宗祥^{1,2}, 胡珂鸣^{1,2}, 范江波³,
左示敏^{1,2,4}

(1.扬州大学江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室/植物功能基因组学教育部重点实验室, 江苏 扬州 225009; 2.扬州大学江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心/江苏省作物遗传生理重点实验室, 江苏 扬州 225009; 3.上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240; 4.扬州大学教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009)

摘要: 类病斑突变体(Lmms)是研究植物细胞死亡和防御反应机制的重要材料。本文对水稻类病斑突变体的最新研究进展进行了综述。在此基础上,对进一步加强类病斑突变体及其抑制突变体基因的鉴定与克隆、解析病健组织间细胞命运的精细调控机制,以及如何利用类病斑突变体开展抗逆分子设计育种进行了讨论。

关键词: 水稻; 类病斑突变体; 表型; 基因克隆; 分子机制

中图分类号: Q785 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)03-0837-12

Research advances in gene cloning and occurrence mechanism of rice lesion mimic mutants

SHEN Wang-xin¹, SHI Xiao-pin¹, DU Hai-bo¹, FENG Zhi-ming^{1,2}, CHEN Zong-xiang^{1,2},
HU Ke-ming¹, FAN Jiang-bo³, ZUO Shi-min^{1,2,4}

(1. Jiangsu Key Laboratory of Crop Genomics and Molecular Breeding, Yangzhou University/Key Laboratory of Plant Functional Genomics of Ministry of Education, Yangzhou 225009, China; 2. Co-Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops of Jiangsu Province, Yangzhou University/Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology of Jiangsu Province, Yangzhou 225009, China; 3. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 4. Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-Product Safety of Ministry of Education, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Lesion mimic mutants (Lmms) are important materials for studying the mechanisms of plant cell death and defense responses. The current research progress of rice Lmms was summarized in this article. Furthermore, we discussed the strengthen of identification and characterization of more rice *Lmms* genes and relative inhibition genes, the elucidation of sophisticated regulating mechanism for the fate of cells between lesion tissue and its adjacent healthy tissue, and how to design biotic and abiotic stress resistance/tolerance breeding using the knowledge from Lmms.

Key words: rice; lesion mimic mutants; phenotype; gene cloning; molecular mechanism

收稿日期: 2021-11-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(31872858); 江苏省重点研发计划项目(BE2019339); 江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室开放课题(PL201905)

作者简介: 沈旺鑫(1994-), 男, 江苏扬州人, 硕士研究生, 主要从事水稻抗病遗传分子育种。(E-mail) shen_wangxin@163.com

通讯作者: 左示敏, (E-mail) smzuo@yzue.edu.cn

植物在应对一些病原菌或病原小种侵染时会在侵染点附近产生过敏反应(Hypersensitive response, HR), 即引起侵染点附近的细胞程序性死亡(Programmed cell death, PCD), 以限制病原菌的侵染定殖, 使植物产生抗病反应。当然, 在寄主-病原菌间的长期协同进化过程中, 不少病原菌或生理小种可

以通过多种方式适应或抑制抗病反应,在寄主植物上成功定殖进而杀死寄主细胞,产生病斑,危害植物生长发育。自然界中,由于基因突变,有些植物材料在没有病原菌侵染的情况下,其叶片、叶鞘、茎秆等不同部位也会自发形成类似病斑症状的表型,研究人员将这类材料命名为类病斑或假病斑突变体^[1]。绝大多数类病斑突变体被发现与植物抗病性密切相关,可显著增强防御相关基因的表达,激活防御反应,抑制病原菌的生长,增强抗病性^[2-17],因此,类病斑突变体的产生多数被认为与植物的 PCD 有关。然而,由于防御系统的持续或不当激活,多数类病斑突变体均存在不同程度的生长发育不良,但也有少数突变体表现正常或受影响较小^[18-19],这暗示其在作物广谱抗病育种中具有重要的应用前景。因此,广泛筛选不同类型的类病斑突变体,克隆相应基因并解析其发生机制,是研究植物抗病分子机制的重要策略,也将为植物抗病分子育种提供新思路,具有重要的理论价值和实际意义。

有关类病斑突变体基因的定位克隆,早期在拟南芥中的研究较多,目前在拟南芥^[2-3]、水稻^[4-5,7,10-11]、玉米^[6]、花生^[8]和大豆^[9,12]等作物中也有广泛报道。水稻是重要的粮食作物,为全世界一半以上的人口提供食物,研究和鉴定水稻中的类病斑突变体基因具有重要的意义。截至目前,人们已报道了水稻中近 100 个水稻类病斑突变体,克隆了 40 余个相关基因^[13-106]。本文对这些类病斑突变体的表型特征和遗传行为进行总结,进而对已克隆的基因及其影响类病斑产生的机制进行归纳,在此基础上对水稻类病斑突变体的下一步研究重点进行讨论和展望。本文希望对从事或欲了解该领域的研究者提供最新的进展介绍,同时希望吸引更多研究者在水稻类病斑的产生机制以及如何利用其产生机制开展抗病分子育种研究等方面开展深入思考与讨论,最终为水稻抗病机制解析及育种实践提供新理论和新思路。

1 水稻类病斑突变体的类型

1.1 水稻类病斑突变体的表型复杂多样

自水稻第一个类病斑突变体(*Sekiguchi lesion*, *sl*)^[17]被发现以来,已报道的近百个水稻类病斑突变体^[4-5,7,10-11,13-106]在类病斑表型上存在明显差异,这也可能是不同学者采用差异化命名方式的缘故,

但多数是以 *spot leaf (spl)*、*lesion mimic (lm)* 和 *lesion resembling disease (lrd)* 等开头进行命名。

总体而言,类病斑突变体间的症状差异主要表现在病斑形状和颜色上,如突变体 *spl31*^[38] 和 *spl¹⁸¹*^[43] 的类病斑形状为不规则型,而 *spl24*^[19,34] 和 *dj-lm*^[88] 等则表现出非常规则的类病斑形状。在颜色上,分别有黑色 (*SPL3*^[6] 和 *spl16*^[30])、棕红色 (*spl18*^[31] 和 *lrd33*^[54])、黑褐色 (*spl33*^[40] 和 *SPL35*^[42]) 和白色 (*spl20*^[30]) 等多种类型。

另外,不少突变体的类病斑表型呈现一定的组织特异性、发育依赖性以及易受环境因素诱导等特征,同时,多数类病斑突变体的表型会随着植株的生长发育而显著加重(尤其是在孕穗期后期)。如此复杂多样的类病斑表型,表明水稻类病斑形成的机制网络十分复杂。

1.2 多数类病斑突变体呈现发育依赖性特征

绝大多数类病斑突变体的病斑产生与植株生长发育的进程相关,呈现出一定的发育依赖性特征。如 *spl1* 和 *lbsl1* 等突变体在播种后 15 d 左右的早期幼苗中就会出现明显的类病斑症状^[30], *spl29*^[36] 和 *lmm1*^[40] 等突变体的幼苗则分别要到 3 叶期或 4 叶期时才会出现类病斑症状,而 *spl11*^[25] 和 *lmm4*^[83] 等突变体在苗期基本没有症状,要到分蘖期后才会出现类病斑症状。总体而言,随着生长发育的进行,大多数类病斑突变体的症状会逐渐加重,说明生长发育进程对类病斑的形成会产生显著影响。

1.3 外界环境因素会诱导或抑制类病斑症状的发生

外界环境因素包括光照、湿度、温度等,不少研究发现这些环境因素会或多或少影响类病斑症状的发生或发生程度。研究结果显示,绝大部分水稻类病斑突变体都是受光照影响。通过铝箔片等遮光处理,发现 *spl30*^[37] 和 *SPL35*^[42] 等水稻类病斑突变体叶片的遮光部分不会出现类病斑症状,说明它们的表型是受光照诱导的。*spl7*^[23,54] 和 *lrd32*^[86] 等的类病斑表型受温度影响,如 *spl7* 在 26 °C 以下不会出现类病斑,但在高于 35 °C 时叶片上会出现明显的类病斑症状;与之相反,*lrd32* 的类病斑症状在低温(23 °C)条件下则发生得非常明显。在类病斑突变体 *lrds* 的研究中还发现,类病斑症状的产生还受光波长的影响,如 *lrd32* 和 *lrd40* 在红光(波长 626~629

nm)、蓝光(波长465~468 nm)和白光(蓝光+黄光混合,波长分别为465~468 nm和556~559 nm)下均可产生类病斑症状,而 *lrd35* 和 *lrd37* 在蓝光和白光下、*lrd36* 只在白光下产生类病斑表型^[54]。有关湿度影响类病斑症状的研究在水稻上还未见报道,但在拟南芥中,有研究者发现,湿度较高的环境会抑制 *cpn19* 突变体的类病斑症状产生^[84]。总体而言,多数研究结果显示,外界环境因素对水稻类病斑的产生存在显著影响。

1.4 类病斑症状呈现一定的组织特异性和非特异性特征

比较不同类病斑突变体的症状表型,发现不同突变体的类病斑症状在发生位置上存在明显差别(图1)。如,突变体 *spl22*^[30]、*lmes1*^[50] 和 *ltn1*^[53] 的类病斑症状会特异地出现在叶尖上;而 *spl2*^[18] 和 *spl30*^[37] 的类病斑则分布在叶片的一侧。突变体 *spl19*^[30]、*spl26*^[34] 和 *lrd33*^[54] 无论在苗期还是生育后期,其在叶脉附近均没有类病斑症状,而主要发生在叶脉两侧。与之相反,*spl31* 的类病斑症状则会特异地出现在叶脉上^[17]。

绝大部分类病斑突变体的类病斑症状均出现在叶片上,但也有少数突变体的类病斑症状会同时在叶鞘和茎秆等组织部位发生。如,突变体 *rlin1*^[65] 除了在叶片上有类病斑症状外,在叶鞘上也有分布,但是突变体 *nls-ID*^[74] 的类病斑症状则特异地出现在叶鞘上。一般而言,组织非特异性通常是指类病斑发生在多个组织部位,而发生在多个组织部位的类病斑突变体通常会出现早衰特征,如突变体 *spl29*^[36] 和 *SPL35*^[42]。类病斑突变体的组织特异性和非特异性特征,说明突变的相应基因在植物生长发育中具有组织/功能特异性或非特异性表达。

2 水稻类病斑突变体的遗传方式与基因克隆

2.1 水稻类病斑突变体的遗传方式

截至目前,所有已报道的水稻类病斑突变体的遗传模式均符合孟德尔遗传定律,其中绝大多数都呈现单基因隐性遗传,且多为靶基因功能丧失型突变^[10-99]。但是,也有少数突变体表现为单基因显性和/或半显性遗传,如 *spl18*^[31]、*OsNPR1/NHI*^[58-59] 和 *rtr1*^[69] 等突变体。此外,突变体 *lrd32*^[54]、*nls-ID*^[74] 和 *lmm5*^[93] 中的类病斑症状受

双基因控制,呈现双基因隐性遗传和/或双基因半显性遗传模型。

2.2 水稻类病斑突变体及抑制突变体的基因克隆

随着遗传学和分子生物学的快速发展,目前已有41个水稻类病斑突变体中的目标基因被克隆(表1)。其中,大多数是通过图位克隆获得的,但也有少数采用其他方法,如最新报道的突变体 *nbl3*^[99],是采用T-DNA插入位点的侧翼序列法分离获得的。这表明,经典的图位克隆仍然是目前分离水稻类病斑突变体基因的最主要方法。

表1归纳了目前已克隆的41个引起类病斑症状的基因及其相关信息。从基因号上可知,这些基因分布在水稻12条染色体上,其中1号、3号和12号染色体上分布得最多,各有5个基因被克隆;最少的为6号和9号染色体,均只克隆到1个基因。这些基因编码的蛋白质涉及多种功能类别,但总体以酶类居多,有20个,如酰基转移酶、脂氢过氧化物裂解酶、脂肪酸脱氢酶和ATP-柠檬酸裂解酶A等;其次为编码未知生理功能的蛋白质,总计有16个,如锌指蛋白、锚定蛋白、含NB-ARM结构域的新型蛋白质等;其余5个分别编码具有转录因子、真核生物翻译释放因子、剪切因子等功能的蛋白质因子。这些基因广泛涉及叶绿体、线粒体和高尔基体等细胞器发育调控,水杨酸(SA)、乙烯(ET)、茉莉酸(JA)和脱落酸(ABA)等激素合成与代谢信号,免疫信号、光合作用以及泛素化等多种生理生化途径。另外,发现大多数突变体均表现对稻瘟病或白叶枯病的抗性增强,不同程度地激活免疫反应。最近报道了一个编码五肽重复序列蛋白质的基因 *OsNBL3*,其突变除了表现抗病性之外,还表现出对非生物逆境如盐害具有较强的抗性^[99]。相比于类病斑突变体基因,水稻类病斑抑制突变体基因的克隆进展总体较慢,迄今只有1例关于 *spl11* 类病斑表型的抑制基因 *SDS2* 被鉴定克隆的报道^[26]。研究结果显示, *SDS2* 编码1个特异性类受体激酶,参与调控免疫反应过程中的一个重要信号分子活性氧(Reactive oxygen species, ROS)的生产。

总体而言,目前已克隆的这些类病斑及类病斑抑制基因所编码的蛋白质涉及的细胞功能复杂多样,但多数均会激活对生物甚至非生物逆境的抗性,这将为进一步研究细胞死亡相关的免疫调控网络提供重要的基因资源。

表1 目前已克隆的水稻类病斑基因

Table 1 Cloned lesion mimic mutants genes in rice

突变体	基因号	抗性	编码的蛋白质	亚细胞定位	参考文献
<i>SPL3</i>	LOC_Os03g06410	X	丝裂原活化蛋白质激酶	细胞核	[6]、[19]、[61]
<i>noe1</i>	LOC_Os03g03910	-	过氧化氢酶 C	过氧化物酶体、质膜、细胞质	[14]
<i>spl7</i>	LOC_Os05g45410	B、X	HSFA4 热激转录因子	细胞核	[23]
<i>spl11</i>	LOC_Os12g38210	B、X	含有 U-box 和 E3 泛素连接酶的重复结构域	细胞核、细胞质	[25]
<i>SPL5</i>	LOC_Os07g10390	B、X	SF3b3 剪切因子	细胞核	[28]
<i>spl18</i>	LOC_Os10g11980	B、X	酰基转移酶	-	[31]
<i>rls1</i>	LOC_Os02g10900	-	含 NB-ARM 结构域的新型蛋白质	-	[33]
<i>spl28</i>	LOC_Os01g50770	B、X	网格受体蛋白质亚基	高尔基体	[35]、[71]
<i>spl29</i>	LOC_Os08g10600	X	尿苷二磷酸-N-乙酰葡萄糖胺焦磷酸化酶	-	[36]
<i>spl30</i>	LOC_Os12g37870	X	ATP-柠檬酸裂解酶 A	核膜	[37]
<i>SPL32</i>	LOC_Os07g46460	X	依赖性谷氨酸合酶 Fd-GOGAT	叶绿体	[39]
<i>spl33</i>	LOC_Os01g02720	B、X	类 eEF1A 蛋白	内质网	[40]
<i>SPL35</i>	LOC_Os03g10750	B、X	CUE 结构域蛋白质	细胞质、内质网	[42]
<i>lmm9150</i>	LOC_Os03g59610	B、X	黄氧素脱氢酶、OsABA2	细胞质	[46]
<i>spl^{HM47}</i>	LOC_Os04g56480	X	真核生物翻译释放因子	细胞质	[49]
<i>lmr</i>	LOC_Os06g03940	B、X	细胞活性相关(AAA-type)的 ATP 酶蛋白	细胞核、细胞膜	[51]
<i>ltn1</i>	LOC_Os05g48390	-	泛素化结合结构域蛋白质	-	[53]
<i>hpl3-1</i>	LOC_Os02g02000	X	脂氢过氧化物裂解酶	叶绿体被膜	[55]、[104]
<i>OsLMS</i>	LOC_Os02g42600	B	CTD 磷酸酶和双链 RNA 结合基序蛋白(dsRBM)	细胞质	[56]
<i>OsLSD1</i>	LOC_Os08g06280	B	锌指蛋白	细胞核	[57]、[101]
<i>OsNPR1/NHI</i>	LOC_Os01g09800	B、X	BTB 结构域和重复区域含有蛋白质的锚定蛋白	细胞质	[58]、[69]
<i>ttm1</i>	LOC_Os05g04520	B、X	蛋白质激酶	质膜	[60]、[115]
<i>Osssi2</i>	LOC_Os01g69080	B、X	脂肪酸脱氢酶	叶绿体基质	[63]
<i>OsPLDβ1</i>	LOC_Os10g38060	B、X	HKD 基序和 C2 结构域的磷脂酶 D	-	[64]
<i>rlin1</i>	LOC_Os04g52130	-	粪卟啉原Ⅲ氧化酶	叶绿体	[65]
<i>sl/ell1</i>	LOC_Os12g16720	B	细胞色素 P450 单加氧酶	内质网	[17]、[66]、[86]
<i>ebr1</i>	LOC_Os05g19970	B、X	RING 型 E3 泛素连酶	-	[67]
<i>fgl</i>	LOC_Os10g35370	-	原叶绿素酸脂氧化还酶 B	叶绿体	[70]
<i>nls1-ID</i>	LOC_Os11g14380	X	CC-NB-LRR 蛋白	细胞质	[76]
<i>OsCUL3a</i>	LOC_Os02g51180	B、X	Cullin3-based 环 E3 泛素连接酶(<i>CRL3</i>)、 <i>CUL3a</i>	细胞核、细胞质	[85]
<i>dj-lm</i>	LOC_Os09g39960	B、X	相关发动蛋白 OsDRP1E	线粒体	[88]
<i>rls2</i>	LOC_Os04g58880	-	胞囊复合体	细胞膜、细胞核	[90]
<i>psl</i>	LOC_Os12g42420	-	1,6-乙酰氨基葡萄糖基转移酶	细胞核	[91]
<i>sles</i>	LOC_Os07g25680	B	有丝分裂激活的蛋白质激酶	细胞核	[92]
<i>lmm5</i>	LOC_Os04g50870	B、X	类 eEF1A 蛋白	内质网	[93]
<i>spl-D</i>	LOC_Os11g40590	B、X	甘氨酸富集的结构域蛋白质	细胞质、细胞膜	[94]
<i>rlr1</i>	LOC_Os10g07978	B、X	NB-ARC 结构域蛋白质	细胞核	[96]
<i>spl36</i>	LOC_Os12g08180	X	类受体蛋白质激酶	细胞膜	[98]
<i>nbl3</i>	LOC_Os03g06370	B、X	线粒体五肽重复序列(PPR)蛋白	线粒体	[99]
<i>WLL1</i>	LOC_Os04g42000	-	Lumazine 合成酶	叶绿体	[106]

B 和 X 分别表示水稻稻瘟病抗性和白叶枯病抗性。

3 水稻类病斑的产生机制

植物细胞在受到各种环境刺激后的早期阶段一般都会产生 ROS,主要包括超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基以及一氧化氮(NO)等成分。ROS 迸发是一个十分复杂的过程,过量积累会产生氧化胁迫,破坏细胞的结构,损伤 DNA、脂类、蛋白质等生物大分子,并最终导致细胞死亡^[107]。ROS 也是调控植物生长发育、逆境响应和 PCD 等生理过程的重要信号分子^[108-111]。已报道的几乎所有类病斑突变体中均检测到了 ROS 过度积累现象,因此,尽管这些突变体基因的信号调控网络/机制还不清楚,但结合 ROS 的生理功能,似乎均可将这些类病斑的产生归结为 ROS 的异常迸发(图 1)。为此,我们从可能诱导 ROS 产生的因素出发,结合已克隆的类病斑突变体基因的生物功能,将当前水稻类病斑的产生机制归纳为以下 3 个方面:

3.1 防御反应异常引起的类病斑

泛素化修饰在调节植物免疫反应上具有极其重要的作用,很多防御蛋白质在完成信号传递后会通过泛素化修饰途径被及时降解,以免引起过度免疫反应影响正常生长发育。在哺乳动物中,研究发现 BAG 家族基因直接参与启动 PCD。*ebr1* 基因编码一个 E3 泛素连接酶,在细胞内可与 BAG 家族蛋白质 OsBAG4 直接互动并通过泛素化促进其降解;相反,*ebr1* 突变体中 OsBAG4 的蛋白质积累水平明显增高,激发了 PCD 和免疫反应(图 1),导致类病斑的产生^[67]。G 蛋白复合体在植物免疫信号调控中也具有重要作用^[112]。其中编码小 G 蛋白的基因 *OsRac1* 激活表达,会引起 ROS 积累、激活植物免疫反应^[87]。*spl11* 基因编码 U-box 类型 E3 泛素连接酶,可促进 RhoGAP 蛋白 SPIN6 的泛素化降解,而 SPIN6 蛋白具有 RhoGAP 活性并可与 OsRac1 结合,促进 OsRac1-GTP 水解,使其转变为 OsRac1-GDP 失活态。因此,*spl11* 和 *SPIN6* 基因的突变均可引起 *OsRac1* 基因的持续激活,造成 ROS 过度积累,引起细胞坏死^[25,27]。通过诱变,在 *spl11* 背景中获得 1 个无类病斑表型的抑制突变体 *sds2*^[97]。图位克隆结果显示,SDS2 可与 SPL11 直接互动并磷酸化 SPL11,SPL11 又可以泛素化 SDS2 引起其降解;进一步研究发现,SDS2 可以与类受体酪氨酸激酶 *OsRLCK118* 相互作用,后者可通过磷酸化 OsRbohB,促进

ROS 的积累。这说明 SDS2 能否被及时地泛素化降解与 ROS 过度积累间密切相关,也解释了 *SDS2* 的突变为何能抑制 *spl11* 类病斑表型的机制^[26]。此外,*SPL35* 编码 1 个包含 CUE 结构域的蛋白质,能直接与泛素结合酶 *OsUBC5a* 和 *Delta-COP1*、*Delta-COP2* 发生互作,这些互作蛋白质表达水平的下调均会形成类似 *SPL35* 突变体的类病斑表型和激活防卫反应,暗示 *SPL35* 突变体的类病斑症状产生也与泛素化途径受影响有关^[42]。

SA、ET、JA 和 ABA 是调控植物免疫反应的重要激素信号分子。*NPR1* 是水杨酸介导的免疫反应中的重要中枢性调节因子^[100]。*OsCUL3a* 突变体中的靶基因 *OsCUL3a* 编码 1 个基于 Cullin3 的环型 E3 泛素连接酶,其可以与 *OsRBX1a*、*OsRBX1b* 互作形成 1 个多亚基环型 E3 泛素连接酶;同时 *OsCUL3a* 也可与 *OsNPR1* 互作,并通过 26 S 蛋白酶系统促进 *OsNPR1* 的降解。因此,*OsCUL3a* 突变体的类病斑产生应该与 *OsNPR1* 持续激活引起免疫反应有关^[85]。*hpl3* 突变体表现整片叶的类病斑表型,研究结果显示,*OsHPL3* 可通过影响 JA 等的含量来调控免疫反应^[55,104],最终影响类病斑的产生。*OsEDR1* 的同源基因 *SPL3* 可通过影响 ABA 和 ET 的生物合成,调控活性氧代谢和叶片衰老,导致类病斑表型^[6]。*Osssi2* 突变体中的 SA 和/或苯丙噻唑硫代乙酸甲酯(BTH)含量明显增加,并特异性诱导了 *OsWRKY45* 的微弱表达,从而持续激活免疫反应,产生类病斑症状^[63]。

RAR1 是植物防卫反应中的关键调控因子^[105]。研究结果显示,突变体 *ttm1* 的类病斑表型与 *OsPti1a* 基因被破坏有关,该基因编码一个蛋白质激酶,负调控水稻的防御反应;而 *ttm1* 抑制 *OsRAR1* 基因表达时,可显著抑制突变体中的免疫反应,表明 *OsPti1a* 基因负向调节 *OsRAR1* 介导的免疫反应^[60]。抗病相关蛋白 OsEDR1 可与 OsMPKK10.2 互作并抑制其活性,当病原菌入侵时,OsMPKK10.2 被激酶磷酸化后会激活 OsMPK6,OsMPK6 进而又磷酸化 OsEDR1 并促进其降解,进一步释放 OsMPKK10.2,使得 OsMPKK10.2-OsMPK6 信号级联被放大,增强水稻的免疫反应。因此,在 *OsEDR1* 突变体中,OsMPKK10.2 和 OsMPK6 的活性均得到了明显增强,免疫反应被持续激活,引起类病斑症状。在 *OsEDR1* 突变体中,如果敲除 *OsMPKK10.2*,则双突

变体的类病斑症状明显减弱,证明 *OsEDR1* 突变体产生的类病斑症状与 *OsMPKK10.2* 激活的免疫反应有关^[103]。

总体而言,目前有关免疫反应中如何快速诱导 PCD 和 ROS 的产生机制还不清楚,利用更多的类病斑突变体有望加快这一调控网络的解析。

3.2 光合系统和细胞器异常引起的类病斑

目前,在已克隆的类病斑突变基因中,有 6 个基因编码的蛋白质亚细胞定位于叶绿体、4 个定位于内质网、2 个定位于线粒体和 1 个定位于过氧化物酶体。有报道显示,植物细胞的细胞壁、质膜、叶绿体、线粒体、过氧化物酶体和内质网等部位均可产生 ROS,其中叶绿体、线粒体、过氧化物酶体是 ROS 产生的最主要细胞器^[113]。不少研究结果显示,光合系统中存在 1 个精准的稳态调控系统,该系统失衡一般均会引起 ROS 积累^[71]。如,*SPL32* 编码 1 个铁氧还蛋白依赖性谷氨酸合酶 *Fd-GOGAT*,该基因编码产物定位于叶绿体,其突变会降低光呼吸速率,破坏 ROS 清除途径,导致 ROS 大量积累,引起细胞死亡^[39]。*ELLI* 编码细胞色素 P450 单加氧酶,参与叶绿体发育,其突变体 *ELLI* 的叶绿素含量明显下降,叶绿体降解相关基因上调表达,叶绿体降解严重,最终导致 ROS 的过量积累,引起细胞坏死^[86]。有研究结果显示,叶绿素合成途径中许多酶的功能丧失或叶绿素合成受阻均可能导致类病斑表型^[65]。叶绿素合成关键酶 *LPOR* 和 *NADPH* 可催化原叶绿素酸酯生成叶绿素酸酯,*fgl* 突变体中总叶绿素酸酯和感光叶绿素酸酯含量均明显下降,在强光照条件下,突变体 *fgl* 中新出的叶片会迅速黄化并产生类似病变的症状^[70]。*WLL1* 编码二氧四氢蝶啶合成酶,参与核黄素合成,由于 *WLL1* 基因功能的缺失引发 ROS 积累和叶绿体的退化,从而引起突变体发生细胞死亡^[106]。

突变体 *dj-lm* 中的靶基因编码蛋白质 *OsDRP1E*,其突变直接影响线粒体嵴的形态发生变化。在哺乳动物中,线粒体嵴异常会导致细胞色素 c 从线粒体释放到细胞质中,诱导细胞内富含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶产生活性,发生凋亡蛋白酶的级联反应,降解细胞内的重要蛋白质,导致细胞死亡^[114]。因此,推测突变体 *dj-lm* 中的类病斑表型可能也与线粒体嵴异常导致线粒体中细胞色素 c 不正常释放有关,但是具体机制尚不明确^[88]。最近

报道的 *OsNBL3* 基因编码一个 PPR 蛋白,也是线粒体发育和功能发挥的重要组成部分,其破坏可使水稻发生类病斑^[99]。*SPL28* 蛋白参与高尔基体的物质运输途径,可能参与囊泡运输调控,其突变体会破坏 H_2O_2 的平衡、光合系统的稳定以及光合胁迫适应性,引起类病斑症状和早衰现象^[35,71]。这些研究结果表明,光合系统及一些细胞器的功能正常与否可能是影响一些突变体产生类病斑的原因之一,但是具体的分子调控机制还不清楚,有待深入研究。

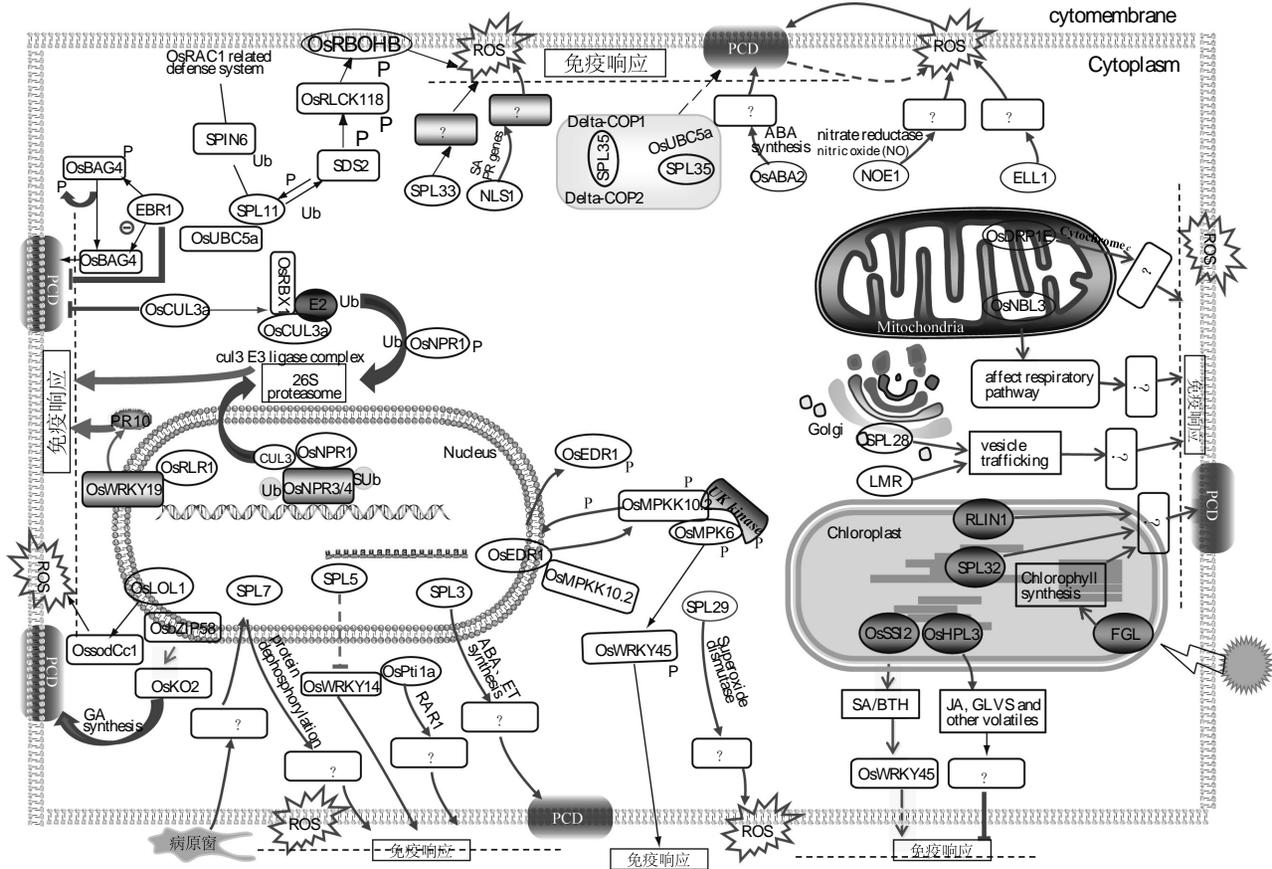
3.3 其他途径异常引起的类病斑

研究结果显示,一些涉及生长发育信号等途径的异常,也会引起 ROS 的过度积累,最终触发细胞死亡(图 1)。如,*OsLOLI* 编码水稻中的 1 个 C2C2 型锌指蛋白,可与 *OsZIP58* 互作并通过其激活 *Os-KO2* 基因表达,进而影响赤霉素生物合成和超氧化物歧化酶的活性,导致 ROS 清除能力下降,造成局部的细胞死亡^[57,101]。*LMR* 编码 1 个与多种细胞活性相关(AAA-type)的 ATP 酶,可介导多囊泡体的囊泡运输,抑制水稻的免疫反应和细胞死亡,因此其突变体表现为免疫反应过度激活和细胞坏死^[51]。*noel* 编码水稻过氧化氢酶 *OsCATC*,负责降解 H_2O_2 ,在 *noel* 突变体中的 H_2O_2 含量明显增高,同时激活硝酸还原酶活性并且促发一氧化氮(NO)的产生,而 NO 也是参与水稻中 H_2O_2 诱导叶片细胞死亡的重要因子^[14]。*spl7* 编码 1 个热胁迫转录因子,在其敲除和过表达时均会引起 ROS 积累,导致类病斑表型,在 *spl7* 突变体中抑制 *NADPH* 氧化酶活性时,可明显抑制突变体中的 ROS 积累,减弱类病斑表型^[24]。

在医学研究中,5-羟色胺是一种神经递质,能保护神经元免受兴奋神经毒素的损害,但 5-羟色胺有致死细胞的作用^[17]。*SPL5* 编码 SF3b3 剪切因子,可能是通过调节植物 RNA 剪接来负调控细胞死亡和抗性应答^[22]。最新的研究结果显示,*SPL5* 可能是通过 *OsWRKY14* 负向调控 5-羟色胺代谢,因此,*SPL5* 突变体中的类病斑症状可能与其积累过多的 5-羟色胺有关,当然,*SPL5* 基因突变也可能会影响其他触发类病斑的生物学途径^[28]。*rlin1* 编码 1 个可能参与四吡咯生物合成途径的粪卟啉原 III 氧化酶,因为碱基替换产生了错义突变,形成氨基酸的变化,异源表达 *rlin1* 时可以互补 *rlin1* 的类病斑表型,进一步通过组织化学分析结果表明,*rlin1* 突变体中伴随着 ROS 的积累,表明四吡咯参与了水稻类病斑的形成^[65]。*spl29* 编码尿

昔二磷酸-N-乙酰葡萄糖胺焦磷酸化酶,在 *spl29* 突变体中,超氧化物歧化酶活性增加而过氧化氢酶活性正常,这导致 ROS 的积累,造成叶片早衰(细胞死亡加快的一种)等类病斑表型^[36]。

上述研究结果显示,植物中的细胞死亡及其调控网络异常复杂,通过发掘更多类病斑突变体材料并解析其分子机制是解析相关网络的重要途径之一。



结合已克隆的水稻类病斑突变体基因的生物学功能及相关信号调控机制,认为诱导活性氧(ROS)迸发和/或激活细胞程序性死亡(PCD)的信号机制可能是造成类病斑表型的主要机制;P:磷酸化;Ub:泛素化;Sub:类泛素化;→表示正向作用;--→表示可能的正向作用;—|表示负向作用,---|表示可能的负向作用;Nucleus:细胞核;Chloroplast:叶绿体;Mitochondria:线粒体;Golgi:高尔基体;Cytoplasm:细胞质;Cytochrome:细胞膜;已克隆的类病斑突变体基因的详细信息可参见表1中的相应文献。

图1 水稻类病斑的发生机制
Fig.1 Occurrence mechanism of rice lesion mimic mutants

4 研究展望

综上可知,类病斑突变体的鉴定及基因克隆将有力推进免疫信号网络的研究,加上多数类病斑突变体均具有较强的抗病表现,因此加强类病斑突变体基因的鉴定、克隆具有十分重要的理论价值和实际意义。结合当前研究中存在的问题,我们提出3个围绕类病斑突变体材料的未来重点研究方向。

4.1 加强类病斑突变体及其抑制基因的克隆和相关调控网络研究

迄今为止,大约有100个水稻类病斑突变体的

遗传研究被报道,但只有41个基因被克隆,有关类病斑表型的抑制子基因仅克隆到个别。造成这一状况的主要原因可能与不少类病斑突变体的表型微弱、易受环境影响、不易鉴定有关,也可能与从事这一领域的研究人员偏少有关。细胞凋亡无论在动物还是在植物的生命活动中均是一个极其重要的生命事件,因此解析其中的信号调控网络/机制无疑具有十分重要的理论价值和意义。植物类病斑突变体材料是研究植物细胞凋亡控制机制的重要材料,因此,未来应该加强水稻类病斑突变体尤其是微弱表型突变体及类病斑抑制基因的鉴定和克隆工作。对于已

克隆的类病斑突变体基因,应加强其互作蛋白质的筛选、鉴定及在调控类病斑表型上的生物学功能解析。

此外,目前报道的类病斑突变体涉及组织特异性、时空特异性、病斑规则和不规则等多种类型,分离其中的靶基因固然重要,但对这些靶基因之间的遗传关系研究也是一个十分重要的内容,目前却鲜有相关的研究报道。因此,未来可通过广泛配制不同类型突变体之间的杂交分析群体,加强相关突变体基因间的遗传关系分析。

4.2 加强病、健组织间的细胞精细调控机制研究

已报道的类病斑突变体中有些症状呈现大小、形状一致的规则特征,也有些规则性不强。但是,无论哪种突变体,其细胞坏死症状均不可能无限制地扩大,或者说有一种机制能被快速激活以确保病斑周围的细胞存活,解析这一精细调控机制具有极其重要的理论价值和实际意义。在寄主与病原菌互作中,由病原菌效应子触发的免疫反应 ETI 通常伴随着 PCD,但也不可能无限制地扩展。最近研究发现,SA 免疫信号中的关键基因 *OsNPR1*,是 ETI 中决定病斑与健康组织间细胞死亡或生存的关键调控因子,这一成果发表在国际著名期刊《Cell》上^[100]。值得注意的是,在类病斑突变体中,有些引起细胞坏死的基因似乎并不是免疫信号中的基因,而是参与叶绿体、线粒体等细胞器发育的关键基因。这暗示在这些突变体中,类病斑周边健康细胞中有快速替代该基因完成相应功能的其他基因;但是,由于类病斑还是有规则地出现,这又说明这一功能替代机制与基于 SA 和 *OsNPR1* 激活的长距离细胞生存调控机制间存在明显不同。因此,未来有必要加强类病斑毗邻的健康细胞存活机制的研究。

4.3 加快类病斑突变体在抗病耐逆分子设计育种中的应用研究

绝大多数类病斑突变体均表现出对白叶枯病和/或稻瘟病的较强、较广谱的抗性。然而,由于持续激活免疫反应,多数类病斑突变体的生长发育和谷粒产量均存在不同程度的下降。因此,如何合理利用这些类病斑突变体的广谱抗病机制,开展抗病分子设计育种研究,值得深入探索。为此,我们初步提出 3 个研究设想:一是选择时空特异表达的类病斑突变体或弱病斑突变体,开展育种应用,实现不显著减少产量损失的同时提高抗病性;二是结合绝大

多数突变体中的靶基因均为功能丧失型突变的特征,未来可以尝试采用病原菌特异诱导的 RNAi 技术,创建一些特异诱导表达的转基因广谱抗病水稻;三是可以尝试通过基因编辑技术,创制一些类病斑突变体基因不同等位变异材料,尝试从中筛选弱突变等位变异,实现产量与抗性的平衡。另外,最近研究结果显示,类病斑突变体显著增强了对非生物逆境的耐性,这明显拓宽了以往对类病斑突变体抗病性增强的认识,因此,未来可以加强观测类病斑突变体在各种非生物逆境中的表型,探讨在抗逆性育种中的潜在应用前景。总体而言,随着各种分子技术及更多类病斑突变体的形成机制被解析,未来应该会有更多利用类病斑突变体开展抗病和抗逆分子设计育种的新思路产生。

参考文献:

- [1] 钱婧雅,刘芬,屈成,等.水稻类病斑突变基因的克隆及其机制研究进展[J]. 分子植物育种, 2021, 19(10):1-8.
- [2] DIETRICH R A, DELANEY TP, UKNES S J, et al. *Arabidopsis* mutants simulating disease resistance response[J]. Cell, 1994, 77(4):565-577.
- [3] GUO C, WU G, XING J, et al. A mutation in a coproporphyrinogen iii oxidase gene confers growth inhibition, enhanced powdery mildew resistance and powdery mildew-induced cell death in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell Reports, 2013, 32(5):687-702.
- [4] PERSSON M, RASMUSSEN M, FALK A, et al. Barley mutants with enhanced level of resistance to Swedish isolates of *Bipolaris sorokiniana*, causal agent of spot blotch[J]. Plant Breeding, 2008, 127(6):639-643.
- [5] LI S T, PEI Z Y, LUO L J, et al. Isolation and characterization of rice lesion mimic mutants from a T-DNA tagged population[J]. Progress in Natural Science, 2005, 15(1):17-23.
- [6] WANG L, HAN S, ZHONG S, et al. Characterization and fine mapping of a necrotic leaf mutant in maize (*Zea mays* L.)[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2013, 40(6):307-314.
- [7] WANG S H, LIM J H, KIM S S, et al. Mutation of SPOTTED LEAF3 (SPL3) impairs abscisic acid-responsive signalling and delays leaf senescence in rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(22):7045-7059.
- [8] BADIGANAVAR A M, KALE D M, EAPEN S, et al. Inheritance of disease lesion mimic leaf trait in groundnut[J]. Journal of Heredity, 2002, 93(1):50-52.
- [9] CHUNG J, STASWICK P E, GRAEF G L, et al. Inheritance of a disease lesion mimic mutant in soybean[J]. Journal of Heredity, 1998, 89(4):363-365.
- [10] ZHU X B, ZE M, CHERN M H, et al. Deciphering rice lesion mimic mutants to understand molecular network governing plant

- immunity and growth[J]. Rice Science, 2020, 27(4): 278-288.
- [11] WU C J, BORDEOS A, MADAMBA M R, et al. Rice lesion mimic mutants with enhanced resistance to diseases[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2008, 279(6): 605-619.
- [12] KOSSLAK R M, DIETER J R, RUFF R L, et al. Partial resistance to root-borne infection by phytophthora sojae in three allelic necrotic root mutants in soybean[J]. Journal of Heredity, 1996, 87(6): 415-422.
- [13] YAO N, GREENBERG J T. Arabidopsis ACCELERATED CELL DEATH2 modulates programmed cell death[J]. The Plant Cell, 2006, 18(2): 397-411.
- [14] LIN A H, WANG Y Q, TANG J Y, et al. Nitric oxide and protein s-nitrosylation are integral to hydrogen peroxide-induced leaf cell death in rice[J]. Plant Physiology, 2012, 158(1): 451-464.
- [15] KIYOSAWA S. Inheritance of a particular sensitivity of the rice variety, sekiguchi asahi, to pathogens and chemicals, and linkage relationship with blast resistance genes[J]. Nogyo Gijutsu Kenkyusho Hokoku, 1970, 21(1): 61-72.
- [16] WANG N L, LONG T, YAO W, et al. Mutant resources for the functional analysis of the rice genome[J]. Molecular Plant, 2013, 6(3): 596-604.
- [17] UENO M, SHIBATA H, KIHARA J, et al. Increased tryptophan decarboxylase and monoamine oxidase activities induce sekiguchi lesion formation in rice infected with magnaporthe grisea[J]. The Plant Journal, 2003, 36(2): 215-228.
- [18] YOSHIMURA A, IDETA O, IWATA N, et al. Linkage map of phenotype and RFLP markers in rice[J]. Plant Molecular Biology, 1997, 35(1/2): 49-60.
- [19] YIN Z, CHEN J, ZENG L, et al. Characterizing rice lesion mimic mutants and identifying a mutant with broad-spectrum resistance to rice blast and bacterial blight[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2000, 13(8): 869-876.
- [20] KIM J A, CHO K W, RAKSHA S, et al. Rice OsACDR1 (*Oryza sativa* accelerated cell death and resistance 1) is a potential positive regulator of fungal disease resistance [J]. Molecules and Cells, 2009, 28(5): 431-439.
- [21] SONG G H, KWON C T, KIM S H, et al. The rice SPOTTED LEAF 4 (SPL4) encodes a plant spastin that inhibits ROS accumulation in leaf development and functions in leaf senescence[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1925.
- [22] CHEN X F, HAO L, PAN J W, et al. SPL5, a cell death and defense-related gene, encodes a putative splicing factor 3b subunit 3 (SF3b3) in rice[J]. Molecular Breeding, 2012, 30(2): 939-949.
- [23] YAMANOUCI U, YANO M, LIN H X, et al. A rice spotted leaf gene, *Spl7*, encodes a heat stress transcription factor protein[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(11): 7530-7535.
- [24] KAORI K, TAKASHI Y, KENSUKE K, et al. Regulatory mechanisms of ROI generation are affected by rice spl mutations[J]. Plant and Cell Physiology, 2006, 47(8): 1035-1044.
- [25] ZENG L R, QU S H, BORDEOS A, et al. Spotted leaf 11, a negative regulator of plant cell death and defense, encodes a U-box/armadillo repeat protein endowed with E3 ubiquitin ligase activity [J]. The Plant Cell, 2004, 16(10): 2795-2808.
- [26] FAN J B, BAI P F, NING Y S, et al. The monocot-specific receptor-like kinase SDS2 controls cell death and immunity in rice[J]. Cell Host & Microbe, 2018, 23(4): 498-510.
- [27] MIGUEL E, VEGA S, ZENG L R, et al. SPIN1, a K homology domain protein negatively regulated and ubiquitinated by the E3 ubiquitin ligase SPL11, is involved in flowering time control in rice[J]. The Plant Cell, 2008, 20(6): 1456-1469.
- [28] LIU J L, CHAN H P, HE F, et al. The RhoGAP SPIN6 associates with SPL11 and OsRac1 and negatively regulates programmed cell death and innate immunity in rice[J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(2): e1004807.
- [29] RITSUKO M, HIDEYUKI H, RYOTA K, et al. Isolation and characterization of rice lesion-mimic mutants with enhanced resistance to rice blast and bacterial blight[J]. Plant Science, 2002, 163(2): 345-353.
- [30] SONG C N, QIAN J L, FANG J G, et al. Cloning, subcellular localization and expression analysis of *spl9* and *spl13* genes from poncirus trifoliata [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(10): 2105-2114.
- [31] MASAKI M, CHIKAKO T, KAZUHIKO S, et al. Isolation and molecular characterization of as spotted leaf 18 mutants by modified activation-tagging in rice[J]. Plant Molecular Biology, 2007, 63(6): 847-860.
- [32] 宋莉欣, 黄奇娜, 奉保华, 等. 水稻类病斑表型叶突变体 *spl21* 的鉴定与基因定位[J]. 作物学报, 2015, 41(10): 1519-1528.
- [33] CHEN Z, HEN T, SATHE A P, et al. Identification of a novel semi-dominant spotted-leaf mutant with enhanced resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice[J]. International journal of molecular sciences, 2018, 19(12): 3766.
- [34] CHEN T, CHEN Z, ATUL P S, et al. Characterization of a novel gain-of-function spotted-leaf mutant with enhanced disease resistance in rice[J]. Rice Science, 2019, 26(6): 372-383.
- [35] QIAO Y L, JIANG W Z, LEE J H, et al. 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*)[J]. New phytologist, 2010, 185(1): 258-274.
- [36] WANG Z H, WANG Y, HONG X, et al. Functional inactivation of UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase 1 (UAP1) induces early leaf senescence and defence responses in rice [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(3): 973-987.
- [37] HUANG Q N, SHI Y F, YANG Y, et al. Characterization and genetic analysis of a light- and temperature-sensitive spotted-leaf mutant in rice[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2011, 53(8): 671-681.

- [38] 代高猛, 朱小燕, 李云峰, 等. 水稻类病斑突变体 *spl31* 的遗传分析与基因定位[J]. 作物学报, 2013, 39(7): 1223-1230.
- [39] SUN L T, WANG Y H, LIU L L, et al. Isolation and characterization of a spotted leaf 32 mutant with early leaf senescence and enhanced defense response in rice[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 41846.
- [40] WANG S, LEI C L, WANG J L, et al. SPL33, encoding an eEF1A-like protein, negatively regulates cell death and defense responses in rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(5): 899-913.
- [41] 刘宝玉, 刘军化, 杜丹, 等. 水稻类病斑突变体 *spl34* 的鉴定与基因精细定位[J]. 作物学报, 2018, 44(3): 332-342.
- [42] MA J, WANG Y F, MA X D, et al. Disruption of gene *SPL35*, encoding a novel CUE domain-containing protein, leads to cell death and enhanced disease response in rice[J]. Plant Biotechnology Journal, 2019, 17(8): 1679-1693.
- [43] SUN H M, MAO J J, LAN B, et al. Characterization and mapping of a spotted-leaf genotype, *spl¹⁸¹* that confers blast susceptibility in rice[J]. European Journal of Plant Pathology, 2014, 140(3): 407-417.
- [44] BABU R, JIANG C J, XU X, et al. Isolation, fine mapping and expression profiling of a lesion mimic genotype, *spl^{nj4050-8}* that confers blast resistance in rice[J]. 2011, 122(4): 831-854.
- [45] 奉保华. 水稻类病斑表型叶突变体 *HM47* 的基因克隆与功能分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [46] ENDO A, NELSON K M, THOMS K, et al. Functional characterization of xanthoxin dehydrogenase in rice[J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(14): 1231-1240.
- [47] CAMPBELL M A, RONALD P C. Characterization of four rice mutants with alterations in the defense response pathway[J]. Molecular Plant Pathology, 2005, 6(1): 11-21.
- [48] AKIRA T, TSUTOMU K, KENJI H, et al. Lesion mimic mutants of rice with alterations in early signaling events of defense[J]. The Plant Journal, 1999, 17(5): 535-545.
- [49] FENG B H, YANG Y, SHI Y F, et al. Genetic analysis and gene mapping of light brown spotted leaf mutant in rice[J]. Rice Science, 2013, 20(1): 13-18.
- [50] LI Z, ZHANG Y X, LIU L, et al. Fine mapping of the lesion mimic and early senescence 1 (*lmes1*) in rice (*Oryza sativa*) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 80: 300-307.
- [51] FEKIH R, TAMIRU M, KANZAKI H, et al. The rice (*Oryza sativa* L.) LESION MIMIC RESEMBLING, which encodes an AAA-type ATPase, is implicated in defense response[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2015, 290(2): 611-622.
- [52] MA J Y, CHEN S L, ZHANG J H, et al. Identification and genetic mapping of a lesion mimic mutant in rice[J]. Rice Science, 2012, 19(1): 1-7.
- [53] HU B, ZHU C, LI F, et al. LEAF TIP NECROSIS1 plays a pivotal role in the regulation of multiple phosphate starvation responses in rice[J]. Plant Physiology, 2011, 156(3): 1101-1115.
- [54] 王建军, 张礼霞, 王林友, 等. 水稻类病斑 (lesion resembling disease) 突变体对光照和温度的诱导反应[J]. 中国农业科学, 2010, 43(10): 2039-2044.
- [55] TONG X H, QI J F, ZHU X D, et al. The rice hydroperoxide lyase OsHPL3 functions in defense responses by modulating the oxylipin pathway[J]. The Plant Journal, 2012, 71(5): 763-775.
- [56] UNDAN J R, TAMIRU M, ABE A et al. 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.) [J]. Genes & Genetic Systems, 2012, 87(3): 169-179.
- [57] WANG L J, PEI Z Y, TIAN Y C, et al. *Osld1*, a rice zinc finger protein, regulates programmed cell death and callus differentiation [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2005, 18(5): 375-384.
- [58] CHERN M, FITZGERALD H A, CANLAS P E, et al. Overexpression of a rice NPR1 homolog leads to constitutive activation of defence response and hypersensitivity to light[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2005, 18(6): 511-520.
- [59] YUAN Y, ZHONG S, LI Q, et al. Functional analysis of rice *NPR1-like* genes reveals that *OsNPR1/NHI* is the rice orthologue conferring disease resistance with enhanced herbivore susceptibility [J]. Plant Biotechnology Journal, 2007, 5(2): 313-324.
- [60] MATSUI H, TAKAHASHI A, HIROCHIKA H et al. Rice immune regulator, *OsPti1a*, is specifically phosphorylated at the plasma membrane [J]. Plant Signaling & Behavior, 2015, 10(3): e991569.
- [61] KIM J A, CHO K W, RAKSHA S, et al. Rice *OsACDR1* (*Oryza sativa* accelerated cell death and resistance 1) is a potential positive regulator of fungal disease resistance [J]. Molecules and Cells, 2009, 28(5): 431-439.
- [62] JIAO B B, WANG J J, ZHU X D, et al. A novel protein RLS1 with NB-ARM domains is involved in chloroplast degradation during leaf senescence in rice [J]. Molecular Plant, 2012, 5(1): 205-217.
- [63] JIANG C J, MASAKI S, MAEDA S, et al. Suppression of the rice fatty-acid desaturase gene *OsSSI2* enhances resistance to blast and leaf blight diseases in rice [J]. Molecular Plant-microbe Interactions, 2009, 22(7): 820-829.
- [64] YAMAGUCHI T, KURODA M, YAMAKAWA H, et al. Suppression of a phospholipase d gene, *ospldβ1*, activates defense responses and increases disease resistance in rice [J]. Plant Physiology, 2009, 150(1): 308-319.
- [65] SUN C H, LIU L C, TANG J Y, et al. RLIN1, encoding a putative coproporphyrinogen III oxidase, is involved in lesion initiation in rice [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2011, 38(1): 29-37.
- [66] UJIWARA T, MAISONNEUVE S, ISSHIKI M, et al. Sekiguchi lesion gene encodes a cytochrome P450 monooxygenase that catalyzes conversion of tryptamine to serotonin in rice [J]. Journal of Bi-

- ological Chemistry, 2010, 285(15): 11308-11313.
- [67] YOU Q Y, ZHAI K R, YANG D L, et al. An E3 ubiquitin ligase-BAG protein module controls plant innate immunity and broad-spectrum disease resistance[J]. Cell Host & Microbe, 2016, 20(6): 758-769.
- [68] WANG Y Q, LIN A H, GARY J L, et al. H₂O₂-induced leaf cell death and the crosstalk of reactive nitric/oxygen species[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2013, 55(3): 202-208.
- [69] CHERN M, XU Q, BART R S, et al. Correction: a genetic screen identifies a requirement for cysteine-rich-receptor-like kinases in rice NH1 (OsNPR1)-mediated immunity [J]. PLoS Genetics, 2016, 12(7): e1006182.
- [70] SAKURABA Y, RAHMAN M L, CHO S H, et al. The rice faded green leaf locus encodes protochlorophyllide oxidoreductase B and is essential for chlorophyll synthesis under high light conditions [J]. The Plant Journal, 2013, 74(1): 122-133.
- [71] HE Y, ZHANG X B, SHI Y F, et al. Premature senescence leaf 50 promotes heat stress tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Rice, 2021, 14(1): 53.
- [72] CHEN G, WU C, HE L, et al. Knocking out the gene *rls1* induces hypersensitivity to oxidative stress and premature leaf senescence in rice [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(10): 2853.
- [73] CHERN M S, FITZGERALD H A, CANLAS P E, et al. Overexpression of a rice *NPR1* homolog leads to constitutive activation of defence response and hypersensitivity to light [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2005, 18: 511-520.
- [74] TANG J Y, ZHU X D, WANG Y Q, et al. Semi-dominant mutations in the CC-NB-LRR-type R gene, *NLS1*, lead to constitutive activation of defense responses in rice [J]. The Plant Journal, 2011, 66(6): 996-1007.
- [75] HU G, RICHTER T E, HULBERT S H, et al. Disease lesion mimicry caused by mutations in the rust resistance gene *rp1* [J]. The Plant Cell, 1996, 8(8): 1367-1376.
- [76] TANG X, XIE M, KIM Y J, et al. Overexpression of *Pto* activates defense responses and confers broad resistance [J]. The Plant cell, 1999, 11(1): 15-29.
- [77] QUESADA V, SARMIENTO M R, GONZÁLEZ B R, et al. Porphobilinogen deaminase deficiency alters vegetative and reproductive development and causes lesions in *Arabidopsis* [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53378.
- [78] MANOSALVA P M, BRUCE MYRON, JAN L E. Rice 14-3-3 protein (*gf14e*) negatively affects cell death and disease resistance [J]. Plant Journal, 2011, 68(5): 777-787.
- [79] COLL N S, EPPLE P, DANGL J L. Programmed cell death in the plant immune system [J]. Cell Death and Differentiation, 2011, 18(8): 1247-1256.
- [80] 黄奇娜, 杨 杨, 施勇烽, 等. 水稻类病斑表型叶变异研究进展 [J]. 中国水稻科学, 2010, 24(2): 108-115.
- [81] MACH J M, CASTILLO A R, HOOGSTRATEN R, et al. The *Ar-*
abidopsis-accelerated cell death gene *ACD2* encodes red chlorophyll catabolite reductase and suppresses the spread of disease symptoms [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(2): 771-776.
- [82] RATE D N, CUENCA J V, BOWMAN G R, et al. The gain-of-function *arabidopsis* *acd6* mutant reveals novel regulation and function of the salicylic acid signaling pathway in controlling cell death, defenses, and cell growth [J]. Plant Cell, 1999, 11(9): 1695-1708.
- [83] 邱结华, 马 宁, 蒋汉伟, 等. 水稻类病斑突变体 *lmm4* 的鉴定及其基因定位 [J]. 中国水稻科学, 2014, 28(4): 367-376.
- [84] JAMBUNATHAN N, SIANI J M, MCNELLIS T W. A humidity-sensitive *Arabidopsis* copine mutant exhibits precocious cell death and increased disease resistance [J]. The Plant Cell, 2001, 13(10): 2225-2240.
- [85] LIU Q, NING Y, ZHANG Y, et al. OsCUL3a Negatively regulates cell death and immunity by degrading OsNPR1 in rice [J]. Plant Cell, 2017, 292: 345-359.
- [86] CUI Y J, PENG Y L, ZHANG Q, et al. Disruption of EARLY LESION LEAF 1, encoding a cytochrome P450 monooxygenase, induces ROS accumulation and cell death in rice [J]. The Plant Journal, 2021, 105(4): 942-956.
- [87] AKIRA A, WONG H L, MASAYUKI F, et al. An OsCEBiP/Os-CERK1-OsRacGEF1-OsRac1 module is an essential early component of chitin-induced rice immunity [J]. Cell Host & Microbe, 2013, 13(4): 465-476.
- [88] LI Z, DING B, ZHOU X E, et al. The rice dynamin-related protein OsDRP1E negatively regulates programmed cell death by controlling the release of cytochrome c from mitochondria [J]. PLoS Pathogen, 2017, 13(1): e1006157.
- [89] LIAO Y, BAI Q, XU P, et al. Mutation in rice abscisic Acid2 results in cell death enhanced disease-resistance, altered seed dormancy and development [J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 405.
- [90] TU B, HU L, CHEN W, et al. Disruption of OsEXO70A1 causes irregular vascular bundles and perturbs mineral nutrient assimilation in rice [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 18609.
- [91] KE S, LIU S, LUAN X, et al. Mutation in a putative glycosyltransferase-like gene causes programmed cell death and early leaf senescence in rice [J]. Rice, 2019, 12(1): 7.
- [92] LEE D, LEE G, KIM B, et al. Identification of a spotted leaf sheath gene involved in early senescence and defense response in rice [J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 1274.
- [93] ZHAO J, LIU P, LI C, et al. LMM5.1 and LMM5.4, two eukaryotic translation elongation factor 1A-like gene family members, negatively affect cell death and disease resistance in rice [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2017, 44(2): 107-118.
- [94] ZHAO X S, QIU T C, FENG H J, et al. A novel glycine-rich domain protein, OsGRDP1, functions as a critical feedback regulator for controlling cell death and disease resistance in rice [J]. Journal

- of Experimental Botany, 2021, 72(2):608-622.
- [95] BRUGGEMAN Q, RAYNAUD C, BENHAMED M, et al. To die or not to die? Lessons from lesion mimic mutants [J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 24.
- [96] DU D, ZHANG C W, XING Y D, et al. The CC-NB-LRR OsRLR1 mediates rice disease resistance through interaction with OsWRKY19[J]. Plant Biotechnology Journal, 2021, 9(5):1052-1064.
- [97] SHIRSEKAR G S, VEGA S, MIGUEL E, et al. Identification and characterization of suppressor mutants of spl11- mediated cell death in rice[J]. Molecular Plant-microbe Interactions, 2014, 27(6): 528-536.
- [98] RAO Y C, JIAO R, WANG S, et al. SPL36 Encodes a receptor-like protein kinase that regulates programmed cell death and defense responses in rice[J]. Rice, 2021, 14(1): 34.
- [99] QIU T C, ZHAO X S, FENG H J, et al. OsNBL3, a mitochondrion-localized pentatricopeptide repeat protein, is involved in splicing nad5 intron 4 and its disruption causes lesion mimic phenotype with enhanced resistance to biotic and abiotic stresses[J]. Plant Biotechnology Journal, 2021, 19(11): 2277-2290
- [100] ZAVALIEV R, MOHAN R, CHEN T Y, et al. Formation of NPR1 condensates promotes cell survival during the plant immune response[J]. Cell, 2020, 182(5):1093-1108.
- [101] WU J H, ZHU C F, PANG J H, et al. OsLOL1, a C2C2-type zinc finger protein, interacts with OsZIP58 to promote seed germination through the modulation of gibberellin biosynthesis in *Oryza sativa*[J]. The Plant Journal, 2014, 80(6): 1118-1130.
- [102] HOANG T V, VO K T X, RAHMAN M M, et al. Heat stress transcription factor OsSPL7 plays a critical role in reactive oxygen species balance and stress responses in rice[J]. Plant Science, 2019, 289:110273.
- [103] MA H G, LI J, MA L, et al. Pathogen-inducible OsMPKK10.2-OsMPK6 cascade phosphorylates the Raf-like kinase OsEDR1 and inhibits its scaffold function to promote rice disease resistance[J]. Molecular Plant, 2021, 14(4): 620-632.
- [104] LIU X Q, LI F, TANG J Y, et al. Activation of the jasmonic acid pathway by depletion of the hydroperoxide lyase OsHPL3 reveals crosstalk between the HPL and AOS branches of the oxylipin pathway in rice[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e50089.
- [105] THAO N P, CHEN L T, NAKASHIMA A, et al. RAR1 and HSP90 form a complex with Rac/Rop GTPase and function in innate-immune responses in rice [J]. The Plant Cell, 2007, 19(12): 4035-4045.
- [106] HU H T, REN D Y, HU J, et al. White and lesion-mimic leaf1, encoding a lumazine synthase, affects ROS balance and chloroplast development in rice[J]. The Plant Journal, 2021, 108(6):1690-1703.
- [107] 郭明欣,刘佳佳,侯琳琳,等. 植物体内活性氧的产生及清除机制研究进展[J]. 科技视界,2021,4(8):104-106.
- [108] 黄家华,吕曼芳,李元强,等. 活性氧在植物体中的有益作用[J]. 现代园艺,2019(3):173-174.
- [109] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(12): 909-930.
- [110] PEI Z M, MURATA Y, BENNING G, et al. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells[J]. Nature, 2000, 406(6797):731-734.
- [111] YAMADA M, HAN X W, BENFEY P N. RGF1 controls root meristem size through ROS signalling[J]. Nature, 2020,577(7788): 85-88.
- [112] LIANG X X, DING P T, LIAN K H, et al. *Arabidopsis* heterotrimeric G proteins regulate immunity by directly coupling to the FLS2 receptor[J]. eLife,2016,5: e13568.
- [113] ZHANG S, HEYES D J, FENG L, et al. Structural basis for enzymatic photocatalysis in chlorophyll biosynthesis[J]. Nature, 2019, 574(7780):722-725.
- [114] 唐民科,张均田. 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶(*Caspase*)及其在细胞凋亡中的作用[J]. 医学研究通讯,2000(11): 9-13.

(责任编辑:陈海霞)