

余波, 林添资, 景德道, 等. 一个水稻全生育期卷叶突变体的表型分析和基因定位[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(11): 1985-1991.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2024.11.001

一个水稻全生育期卷叶突变体的表型分析和基因定位

余波, 林添资, 景德道, 孙立亭, 曾生元, 李闯, 钱华飞, 杜灿灿, 胡庆峰, 周义文, 杨军, 巫章平, 龚红兵

(江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏 句容 212400)

摘要: 水稻卷叶突变体是研究叶片发育机制和培育理想株型品种的重要资源。本研究以 1 个可稳定遗传的卷叶突变体(暂命名为 rl-z)为试验对象, 对其开展表型鉴定和基因定位。表型鉴定结果显示, 突变体 rl-z 的叶片在整个生育期均呈筒状内卷, 与其野生型植株相比, 突变体的株高、穗长、分蘖数、千粒重均显著下降。遗传分析结果表明, rl-z 的突变表型受 1 对隐性核基因控制。利用突变体 rl-z 与籼稻品种扬稻 6 号杂交构建的 F₂ 群体进行基因定位, 将卷叶基因定位于第 9 染色体的 InDel 标记 JY11 至 JY14 之间, 两标记之间物理距离为 38.5 kb, 此区间内仅有 1 个预测基因(*RL9, LOC_Os09g23200*), 该基因编码 GARP 转录因子。对 *RL9* 进行测序, 结果表明该基因在第 1 个外显子 103 086~103 121 处缺失 36 个碱基, 同时在 103 524 处存在 1 个单碱基突变。基因定位结果说明突变体 rl-z 的卷叶特性可能是由于 *RL9* 基因突变导致 GARP 转录因子功能异常引起的。

关键词: 水稻; 卷叶突变; 遗传分析; 基因定位; *RL9* 基因

中图分类号: S511 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2024)11-1985-07

Phenotypic analysis and gene localization of a rolled-leaf mutant in rice during the whole growth period

YU Bo, LIN Tianzi, JING Dedao, SUN Liting, ZENG Shengyuan, LI Chuang, QIAN Huafei, DU Cancan, HU Qingfeng, ZHOU Yiwen, YANG Jun, WU Zhangping, GONG Hongbing

(Zhenjiang Institute of Agricultural Sciences of the Ning-Zhen Hilly District, Jurong 212400, China)

Abstract: Rice rolled-leaf mutants are important resources for studying the mechanisms of leaf development and breeding desirable plant varieties. In this study, a rolled-leaf mutant (named rl-z) with stable inheritance was used as material to conduct phenotypic analysis and gene mapping. Phenotypic identification results showed that the leaves of rl-z mutants were inner rolled, forming a tube-like structure throughout the whole growth period. Compared with wild type rice, the plant height, panicle length, number of tillers, and thousand-grain weight of mutant were significantly decreased. Genetic analysis displayed that the mutant phenotype of rl-z was controlled by a pair of recessive genic genes. Gene mapping was performed by using the F₂ population produced by crossing rl-z mutant with an *indica* rice variety Yangdao 6. The rolled-leaf gene was mapped between the InDel markers JY11 and JY14 on chromosome 9, and the physical distance between the two markers was

38.5 kb. There was only one predicted gene (*RL9, LOC_Os09g23200*) within the region, and this gene encoded a GARP transcription factor. Sequencing results showed that the first exon of *RL9* was found to exist a 36 bp deletion (nucleotide position 103 086–103 121) and a single-base mutation (nucleotide position 103 524). Results of gene

收稿日期: 2023-07-19

基金项目: 江苏省科技计划重点项目 (BE2021374)

作者简介: 余波 (1981–), 男, 江苏仪征人, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为水稻新品种选育。(E-mail) 151685361@qq.com

通讯作者: 龚红兵, (Tel) 0511-80978075; (E-mail) 1179809265@qq.com

mapping suggested that the rolled leaf characteristic of rl-z mutant was likely to be caused by the abnormal function of GARP transcription factor owing to the mutation of *RL9*.

Key words: *Oryza sativa*; rolled leaf mutant; genetic analysis; gene mapping; *RL9* gene

叶片是水稻进行蒸腾作用、光合作用及呼吸作用的重要器官,直接影响同化产物的形成和运输,决定着水稻的最终产量^[1]。因此,水稻叶片性状始终是育种家、遗传学家关注的焦点。研究发现叶片并非越大越好,只有大小适度才能保证水稻单株乃至整个群体的光能利用效率^[2]。卷叶是叶片向近轴面或远轴面卷曲的一种特殊表型。水稻叶片适度卷曲能够减少叶片间的相互遮蔽,提高透光性,进而改善群体中下层的受光条件,提高水稻的产量及品质^[3]。

水稻种质资源丰富,卷叶的性状也复杂多样。根据叶片卷曲的方向可分为内卷、外卷和扭曲 3 种类型;根据卷曲的程度可分为高度卷曲(筒状)、中度卷曲和轻微卷曲 3 种类型;根据卷曲的位置可分为整株卷曲和部分卷曲 2 种不同类型;根据卷曲发生的时期可分为全生育期卷曲、苗期卷曲、生育中期卷曲、动态卷曲等多种不同类型^[4]。研究发现,造成水稻叶片卷曲的原因主要包括 5 个方面:(1)泡状细胞大小及数量的改变,参与调控的基因多达几十个,如 *sll2*^[5]、*OsRRK1*^[6]、*Roc5*^[7]、*NAL7*^[8]、*Os-ZHD1*^[9]等。(2)近轴面或远轴面发育异常,目前已被挖掘的基因有 *adll*^[10]、*SLL1*^[11]、*OsAGO7*^[12]。(3)厚壁组织发育异常,参与调控的基因有 *RL14*^[13]、*NRL2*^[14]。(4)角质层结构的变化,相关调控基因有 *CFL1*^[15]和 *OsMYB103L*^[16]等。(5)多种细胞或组织同时发生改变,这主要是由一些调控因子(如 miRNA)和激素相关基因决定^[17]。

卷叶性状已在水稻育种中得到一定的应用,培育出了部分叶型较为理想的品种,如国际水稻研究所的 IR8,韩国育成的密阳 22 和密阳 23,江苏省农业科学院粮食作物研究所培育的两优培九和培两优 E32 等,这些品种都具有丰产特性,在生产上得到了大面积的推广种植^[18]。目前,水稻叶片卷曲的相关研究也取得了一定的进展,但由于卷叶突变往往伴有不利性状,在传统育种应用中面临着一定的挑战。随着基因编辑技术的发展,挖掘更多卷叶种质资源并深入研究其遗传基础具有重要的现实意义。前期,本研究团队在水稻群体中发现了 1 份叶片高度

卷曲的自然突变体 rl-z。通过对该突变体进行表型鉴定、遗传分析、基因定位等,为进一步阐明水稻卷叶的分子机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

粳型卷叶突变体来自于水稻自选品系 L318 的自然变异,该突变体表现为叶片深绿,向内卷曲成筒状。经多年连续自交种植,卷叶性状稳定,不受环境影响,暂定名为 rl-z (rolled leaf-z)。供试材料包括粳型卷叶突变体 rl-z、野生型 L318 及籼稻品种扬稻 6 号。

1.2 表型鉴定

2019 年在江苏丘陵地区镇江农业科学研究所试验基地种植所有材料,采用单本栽插方式,株行距为 18 cm×25 cm,田间栽培管理采用常规方式。在水稻苗期和拔节期随机选取长势相近的突变体 rl-z 和野生型各 10 株,测定每株的剑叶叶片卷曲度(leaf rolling index, *LRI*)。计算公式为 $LRI = [(L_w - L_n) / L_w] \times 100\%$,其中 L_w 为叶片完全展开时最宽处的宽度(cm), L_n 为叶片最宽处在自然卷曲后的宽度(cm)^[19]。在水稻成熟期测定株高、有效分蘖数、穗长、千粒重、结实率等主要农艺性状。

1.3 遗传分析

用卷叶突变体 rl-z 和野生型 L318 进行正反交,2019 年冬季在海南省陵水县加代获得 F_2 ,第 2 年正季在江苏丘陵地区镇江农业科学研究所试验基地种植,分蘖期统计 F_2 群体中叶片正常(野生型)与叶片卷曲(突变型)的植株数量,计算分离比,并进行 χ^2 测验。

1.4 基因定位

以籼稻品种扬稻 6 号为父本与卷叶突变体 rl-z 进行杂交,构建 F_2 定位群体。采用 CTAB 法进行水稻基因组 DNA 的提取^[20],等量混合突变型和野生型单株的总 DNA,分别构建突变体池和野生型池。选取本实验室保存的均匀分布于水稻 12 条染色体上的 SSR 标记和 InDel (Insertion-deletion) 标记,对突变体 rl-z、籼稻品种扬稻 6 号的 DNA 进行 PCR 扩

增,筛选多态性标记。获得的多态性标记用于扩增野生型池、突变体池的 DNA 模板,并进行连锁分析。获得的潜在连锁标记用于初定位,以 F_2 群体中 30 株突变型单株的 DNA 为模板进行 PCR 扩增。在连锁区段内查找并进一步设计有多态性的引物 7 对(表 1),扩大定位群体,以 F_2 群体中所有突变型单株的 DNA 为模板,PCR 扩增后进行基因型分析,确定卷叶基因在染色体上的位置。PCR 扩增采用 2×T5 Super PCR Mix 试剂(购自北京擎科生物科技股份有限公司),扩增程序为:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 35 s,55~60℃(依不同引物而定)退火 35 s,72℃ 复性 35 s,32 个循环;72℃ 延伸 10 min。扩增产物采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测。

1.5 候选基因的预测与分析

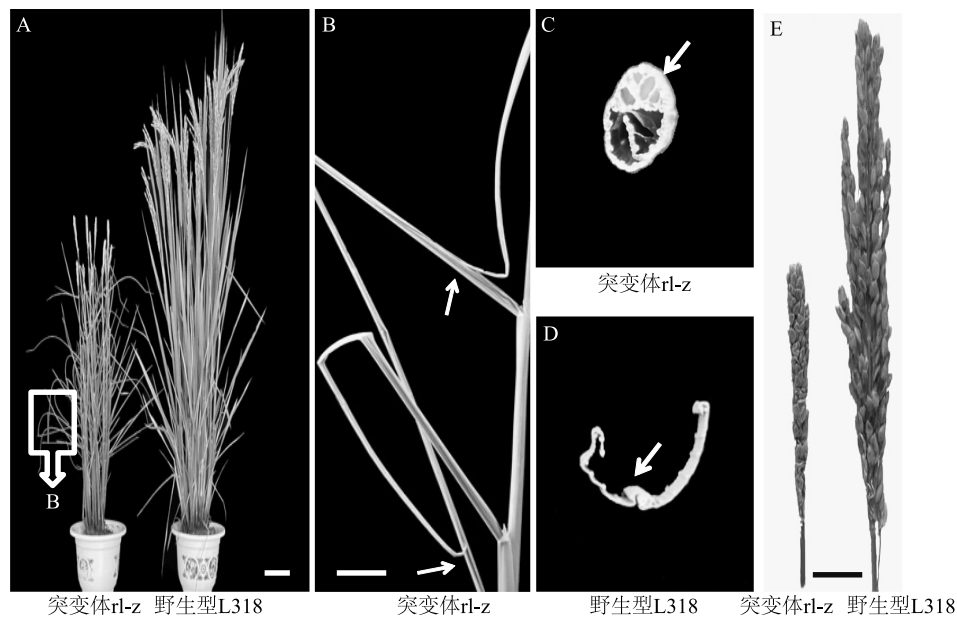
将卷叶突变基因定位于 38.5 kb 区间后,通过 Ensemble plants(<http://plants.ensembl.org/index.html>)和 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)数据库查询区间内所有基因。以 *LOC_Os09g23200* 基因序

列为参考,利用 Primer premier 5.0 软件设计基因扩增引物。使用 TaKaRa LA Taq® with GC Buffer 试剂盒(TaKaRa 公司产品)进行 PCR 扩增。扩增程序为:98℃ 预变性 5 min;98℃ 变性 35 s, 60℃ 退火 35 s,72℃ 复性 1 min,32 个循环;72℃ 延伸 10 min。PCR 扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。测序结果经序列比对后,确定突变位点。

2 结果与分析

2.1 突变体 rl-z 的表型特征及农艺性状

与野生型 L318 相比,突变体 rl-z 表现为全生育期整株叶片都卷曲,叶片沿主脉纵向内卷,在拔节期叶片呈现圆筒状,后期新生叶片无法完全从前 1 张叶片中抽出,其叶片还表现出颜色更深(图 1A、图 1B)、主脉更粗(图 1C、图 1D)的特性。成熟期突变体 rl-z 稻穗无法散开,成熟时穗型同稻穗未抽出时的表型类似(图 1E)。



A: 突变体 rl-z 和野生型 L318 植株株型; B: rl-z 植株卷叶表型, 箭头处为新叶片无法抽出的部位; C: 突变体 rl-z 成熟叶的横切面, 箭头处为叶片的主脉; D: 野生型 L318 成熟叶的横切面, 箭头处为叶片的主脉; E: 突变体 rl-z 和野生型 L318 的穗型。

图 1 卷叶突变体 rl-z 与野生型 L318 的形态比较

Fig.1 Morphological comparison of rolled leaf mutant rl-z and wild-type L318

从表 1 可知,突变体 rl-z 在苗期表现出明显的卷叶特征,卷曲度达到 34.81%;随着植株生长发育,叶片卷曲度逐渐增加,在拔节期达到基本稳定,卷曲度高达 62.56%。野生型 L318 在整个生育期

叶片始终呈现平展状,卷曲度值与突变体 rl-z 的差异达极显著水平。突变体 rl-z 植株的主要农艺性状如株高、穗长、分蘖数、千粒重与野生型 L318 均存在显著差异。突变体 rl-z 平均株高为 70.11 cm,野生

型 L318 植株平均株高为 105.23 cm; 突变体 rl-z 穗长为 10.80 cm, 较野生型短 8.20 cm; 突变体 rl-z 平均分蘖数为 8.05 个, 显著低于野生型的 11.37 个; 卷叶突变导致结实率降低, 种子干瘪瘦小, 千粒重下降至 13.11 g, 远低于野生型的 25.09 g。

2.2 突变体 rl-z 的遗传分析

突变体 rl-z 与野生型 L318 的正反交试验结果表明, 无论突变体 rl-z 作父本还是作母本, 得到的 F₁ 代植株叶片均表现为正常平展, 其自交后代 F₂ 群体则出现明显分离, 且叶片正常平展植株数和卷叶植株数比值符合 3:1 (表 2), 表明其卷叶突变性状是由单隐性核基因控制的。

表 2 野生型 L318 和突变体 rl-z 正反交组合的 F₂ 群体分离比

Table 2 Segregation ratio of F₂ populations from the reciprocal cross combination of wild-type L318 and rl-z

组合	F ₂ 代叶片正常植株数 (株)	F ₂ 代卷叶植株数 (株)	实际分离比	$\chi^2_{(3:1)}$ ($\chi^2_{0.05} = 3.84$)
野生型 L318 × 突变体 rl-z	1 507	512	2.94	0.13
突变体 rl-z × 野生型 L318	1 421	503	2.83	1.28

2.3 基因定位及候选基因的序列分析

利用均匀覆盖水稻 12 条染色体上的 500 对分子标记分析卷叶突变体 rl-z、籼稻品种扬稻 6 号的多态性, 结果发现有 63 对分子标记在两亲本间存在多态

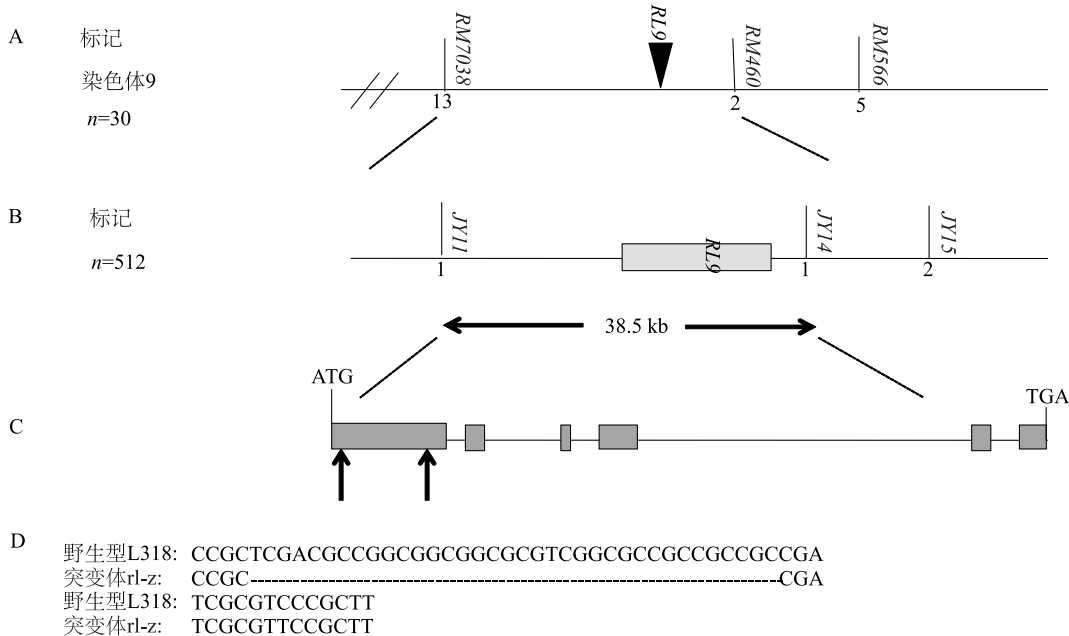
表 1 突变体 rl-z 与野生型 L318 植株农艺性状的比较

Table 1 Comparison of agronomic traits between rl-z plants and L318 plants

农艺性状	野生型 L318	突变体 rl-z
苗期叶片卷曲度 (%)	4.36±0.12	34.81±0.61 **
拔节期叶片卷曲度 (%)	6.72±0.24	62.56±0.57 **
株高 (cm)	105.23±3.62	70.11±1.70 **
穗长 (cm)	19.00±0.77	10.80±0.43 **
分蘖数 (个)	11.37±2.10	8.05±2.75 **
结实率 (%)	93.38±1.07	13.90±2.61 **
千粒重 (g)	25.09±0.98	13.11±1.14 **

** 表示突变体 rl-z 与野生型 L318 之间的差异达极显著水平 ($P<0.01$)。

性。利用这 63 对分子标记对 F₂ 群体中的突变体池和野生型池进行基因型分析, 将目的基因初步定位于第 9 染色体上的分子标记 RM7038 至 RM460 之间 (图 2A), 并通过 30 株卷叶单株对上述结果进行验证。



A: 卷叶基因的初定位; B: 卷叶基因的精确定位; C: RL9 基因的结构; D: RL9 基因的突变位点。

图 2 卷叶突变体 rl-z 的基因定位及候选基因分析

Fig.2 Gene mapping of rolled leaf mutant rl-z and analysis of candidate gene

为进一步缩小定位区间,在 *RM7038* 至 *RM460* 之间开发出了 7 对在亲本间有多态性的引物,分别是 *JY01-F/JY01-R*、*JY03-F/JY03-R*、*JY04-F/JY04-R*、*JY09-F/JY09-R*、*JY11-F/JY11-R*、*JY14-F/JY14-R*、*JY15-F/JY15-R*,利用这 7 对引物分析 F_2 群体中 512 株卷叶单株的基因型,其中 *JY11*、*JY14*、*JY15* 引物分别检测到的交换数较少,分别为 1 株、1 株、2 株。通过以上分析结果,最终将卷叶基因定位于 *JY11* 引物标记与 *JY14* 引物标记之间,两引物标记之间的物理距离为 38.5 kb(图 2B)。

在这 38.5 kb 的定位区间仅存在 1 个预测基因,为卷叶调控相关基因 *RL9*(*LOC_Os09g23200*)。设计引物 *Curl-1-F/Curl-1-R* ~ *Curl-5-F/Curl-5-R*(表 3)对该基因的基因组进行测序,结果表明该基因的第 1 个外显子上存在 2 处突变,第 1 处为 103 086~103 121 处的 36 bp 碱基缺失(TCGACGCCGCGCGCGCGCTCGGCGCGCGCGCGCGC),第 2 处为 103 524 处发生的单碱基突变,即 C 突变为 T(图 2C、图 2D),该基因是 *RL9* 的 1 个新的等位基因,*RL9* 基因的等位突变可能是导致突变体 *rl-z* 卷叶形成的主要原因。

表 3 本研究所用的引物信息

Table 3 Primers used in this study

引物	引物序列(5'→3')	片段长度 (bp)	作用
<i>JY01-F</i> <i>JY01-R</i>	CATGAAAGAACAAGCACAAA GCCTTTTGTATATTATGGGTG	133	精细定位
<i>JY03-F</i> <i>JY03-R</i>	GAAGACCACCAGAGCGTG CGTTCTCCCTTGTGCTAGAT	131	精细定位
<i>JY04-F</i> <i>JY04-R</i>	AAGTTTCGCACGAAATTAAC AGTACAGACGTACGTTTCCC	166	精细定位
<i>JY09-F</i> <i>JY09-R</i>	CTTGATCCAACGGGTATAAA ATCTTCACACCTCCCTTCTT	134	精细定位
<i>JY11-F</i> <i>JY11-R</i>	GGAATCTTGCTTCACATTTC CCTTGGGATTTGCTACTACT	160	精细定位
<i>JY14-F</i> <i>JY14-R</i>	TCCAAATGATTCAATTCTCTC TCTCCCGTTGTGATTAAGT	154	精细定位
<i>JY15-F</i> <i>JY15-R</i>	GGCTTTCCAATGTGTATAAT GGAGCAATTCAGACAAGTTC	165	精细定位
<i>Curl-1-F</i> <i>Curl-1-R</i>	TAGCAGCAGTACTCTCCTCACTG GTAGATAGGTATCCCGCGGAT	895	片段克隆
<i>Curl-2-F</i> <i>Curl-2-R</i>	GGGATACCTATCTACAAC GTTTCTTCACTAACTCAG	869	片段克隆
<i>Curl-3-F</i> <i>Curl-3-R</i>	TCCCGCTTCATGCCCAAG CTCTCTCTGCTCCCAAGAAT	500	片段克隆
<i>Curl-4-F</i> <i>Curl-4-R</i>	TGGCTTCAACCTCTGCTTTC GCCAAAGTTTGTGGTGTGGCC	771	片段克隆
<i>Curl-5-F</i> <i>Curl-5-R</i>	GCACACTGTTTGCTGCTCACT TGATGATGAGATCGAGACGCG	901	片段克隆

3 讨论

卷叶是异型叶的一种,水稻叶片的卷曲度决定着种质资源在生产上的应用价值。卷曲度适中的植株在高密度种植条件下能够提高群体干物质的积累,有助于实现水稻的超高产,具有重要的应用价值^[21]。但是,目前已报道的水稻卷叶突变体多数叶片卷曲过度,影响水稻分蘖数、株高、育性等农艺性状,限制了其在生产上的利用价值^[22]。本研究中发现的卷叶突变体 *rl-z* 为全生育期筒状卷曲,这严重影响了植株对光能的利用,导致突变体株高、穗长、分蘖数、千粒重、结实率均显著低于野生型。同时由于叶片卷曲过度新叶无法完全从上一张叶片中抽出,导致株型松散,该性状并没有起到降低植株叶片披垂度、提高株型紧凑度的作用。但挖掘更多不同的卷叶种质资源有助于我们更深入地了解叶片卷曲的特性,并最终充分利用该性状。

前人研究发现,水稻卷叶性状遗传方式复杂多样,目前已鉴定出多个隐性单基因如 *psl1*^[23]、*roc5*^[7]、*NAL7*^[8]、*sol1*^[24]、*sl2*^[5]、*rl9_(i)*^[25]等;鉴定出的不完全隐性基因有 *rl_(i)*^[26]、*rl8*^[27];显性基因有 *rel1*^[28]、*CFL1*^[15]、*z2*^[29]、*OsAGO7*^[12]、*ACLI*^[30]、*Roc8*^[31]、*rl12_(i)*^[32]等。此外,一些卷叶突变存在着多对基因的互作^[7,33]。本研究通过对 F_2 群体进行表型鉴定,结果发现平展叶植株和卷叶突变植株符合 3:1 的分离比,说明获得的卷叶突变体是由隐性单基因控制。

经基因定位分析,将突变体 *rl-z* 的卷叶基因定位于第 9 染色体上分子标记 *JY11* 至 *JY14* 之间,两标记的物理距离为 38.5 kb。通过区间内基因的预测,发现该区间内存在 1 个已报道的卷叶基因 *RL9* (*ROLLED LEAF 9*)。据报道,该基因主要通过调控叶肉细胞的程序性死亡来控制叶片形态,当 *RL9* 基因发生突变,叶肉细胞的程序性死亡功能紊乱,叶片上细胞的数量、大小发生变化,进而引起叶片高度卷曲^[11,34]。本研究中突变体 *rl-z* 叶片表现为筒状卷曲,表型与目前报道的 *RL9* 突变表型相类似。

目前已报道的 *RL9* 基因突变主要集中在第 1 外显子和第 1、第 3 内含子的剪切位点处,包括第 1 外显子上 C_{103 507} → A_{103 507}、G_{103 641} → A_{103 641} 的点突变,(CCG)_{103 600-103 602} 3 个碱基的缺失,(GTCGG)_{103 508-102 512} 和 (TCGCC)_{103 274-103 278} 5 个碱基的

缺失;第1内含子 A_{103 740}→G_{103 740}的点突变;第3内含子 G_{104 454}→A_{104 454}的点突变,这几种突变导致了 GARP 蛋白空间结构形态的改变,最终影响其功能^[11,34-37]。本研究对突变体 rl-z 的 *RL9* 基因进行测序发现,在基因第1个外显子的103 086~103 121处存在 36 bp 的缺失碱基,同时在103 524处存在 C 突变为 T 的单碱基突变,这2处突变与以往报道的 *RL9* 基因突变不同,是1种新的等位变异。卷叶突变体 rl-z 中 *RL9* 基因的变异可能导致 GARP 转录因子功能的异常,从而引起叶片变为卷曲的特性。

4 结论

本研究的卷叶突变体 rl-z 来源于自然突变,该突变体的叶片表现为全生育期整株筒状内卷以及叶脉变粗、颜色加深等性状。此外,该卷叶突变体可引起株高变矮、穗长变短、分蘖数减少、千粒重降低等性状变化。遗传分析结果表明卷叶突变体 rl-z 受1对隐性单基因控制,并将该基因定位于第9染色体上分子标记 *JY11* 至 *JY14* 之间,二者之间物理距离为 38.5 kb。通过基因预测发现该区间内存在1个已报道的卷叶基因 *RL9*。将 *RL9* 基因进行测序发现在第1个外显子 103 086~103 121 处的缺失及 103 524 处的点突变可能是导致突变体 rl-z 植株叶片卷曲的主要原因。突变体 rl-z 是1个新型的内卷叶突变体,虽然不能直接应用于水稻育种,但可为水稻卷叶研究提供1种新的基因资源。

参考文献:

- [1] LIAO S Y, QIN X M, LUO L, et al. CRISPR/Cas9-induced mutagenesis of semi-rolled leaf1, 2 confers curled leaf phenotype and drought tolerance by influencing protein expression patterns and ROS scavenging in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Agronomy*, 2019, 9 (11): 728.
- [2] FANG J J, GUO T T, XIE Z W, et al. The URL1-ROC5-TPL2 transcriptional repressor complex represses the *ACLI* gene to modulate leaf rolling in rice [J]. *Plant Physiology*, 2021, 185 (4): 1722-1744.
- [3] ZHANG X B, WANG Y, ZHU X Y, et al. Curled flag leaf 2, encoding a cytochrome P450 protein, regulated by the transcription factor Roc5, influences flag leaf development in rice [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 11: 616977.
- [4] 王 晓, 顾福根, 孙丙耀. 一个有 Ds 插入引起的泡状细胞异常水稻卷叶突变体 [J]. *苏州大学学报 (自然科学版)*, 2012, 28 (2): 89-94.
- [5] ZHANG J J, WU S Y, JIANG J L, et al. A detailed analysis of the leaf rolling mutant *slr2* reveals complex nature in regulation of bulliform cell development in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Biology*, 2015, 17 (2): 437-448.
- [6] MA Y H, ZHAO Y, SHANGGUAN X X, et al. Overexpression of *OsRRK1* changes leaf morphology and defense to insect in rice [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 24 (8): 1783.
- [7] ZOU L P, SUN X H, ZHANG Z G, et al. Leaf rolling controlled by the homeodomain leucine zipper class IV gene *Roc5* in rice [J]. *Plant Physiology*, 2011, 156: 1589-1602.
- [8] FUJINO K, MATSUDA Y, Ozawa K, et al. *NARROW LEAF7* controls leaf shape mediated by auxin in rice [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2008, 279: 499-507.
- [9] XU Y, WANG Y H, LONG Q Z, et al. Overexpression of *OsZHD1*, a zinc finger homeodomain class homeobox transcription factor, induces abaxially curled and drooping leaf in rice [J]. *Planta*, 2014, 239 (4): 803-816.
- [10] HIBARA K I, OBARA M, HAYASHIDA E, et al. The *ADAXIALIZED LEAF1* gene functions in leaf and embryonic pattern formation in rice [J]. *Developmental Biology*, 2009, 334 (2): 345-354.
- [11] ZHANG G H, XU Q, ZHU X D, et al. *SHALLOT-LIKE1* is a KANADI transcription factor that modulates rice leaf rolling by regulating leaf abaxial cell development [J]. *The Plant Cell*, 2009, 21 (3): 719-735.
- [12] SHI Z Y, WANG J, WAN X S, et al. Over-expression of rice *OsAGO7* gene induces upward curling of the leaf blade that enhanced erect-leaf habit [J]. *Planta*, 2007, 226: 99-108.
- [13] FANG L K, ZHAO F M, CONG Y F, et al. *Rolling-leaf14* is a 2OG-Fe (II) oxygenase family protein that modulates rice leaf rolling by affecting secondary cell wall formation in leaves [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 10 (5): 524-532.
- [14] ZHAO S S, ZHAO L, LIU F X, et al. *NARROW AND ROLLED LEAF2* regulates leaf shape, male fertility, and seed size in rice [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2016, 58 (12): 983-996.
- [15] WU R H, LI S B, HE S, et al. *CFLI*, a WW domain protein, regulates cuticle development by modulating the function of HDG1, a class IV homeodomain transcription factor, in rice and Arabidopsis [J]. *The Plant Cell*, 2011, 23 (9): 3392-3411.
- [16] YANG C H, LI D Y, LIU X, et al. *OsMYB103L*, an R2R3-MYB transcription factor, influences leaf rolling and mechanical strength in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14: 158.
- [17] XU P, ALI A, HAN B L, et al. Current advances in molecular basis and mechanisms regulating leaf morphology in rice [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1528.
- [18] 周亭亭, 饶玉春, 任德勇. 水稻卷叶细胞学与分子机制研究进展 [J]. *植物学报*, 2018, 53 (6): 848-855.
- [19] CHEN W, SHENG Z H, CAI Y C, et al. Rice morphogenesis and chlorophyll accumulation is regulated by the protein encoded by *NRL3* and its interaction with *NAL9* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 175.

- [20] MURRAY M G, THOMPSON W F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA[J]. *Nucleic Acids Research*, 1980, 8(19): 4321-4325.
- [21] 田晓庆, 桑贤春, 赵芳明, 等. 水稻卷叶基因 *RL13* 的遗传分析和分子定位[J]. *作物学报*, 2012, 38(3): 423-428.
- [22] LI L, XUE X, CHEN Z X, et al. Isolation and characterization of *rl₍₁₎*, a gene that controls leaf rolling in rice[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2014, 59(25): 3142-3152.
- [23] ZHANG G H, HOU X, WANG L, et al. *PHOTO-SENSITIVE LEAF ROLLING 1* encodes a polygalacturonase that modifies cell wall structure and drought tolerance in rice[J]. *New Phytologist*, 2021, 229(2): 890-901.
- [24] 谢园华, 李凤菲, 马晓慧, 等. 水稻半外卷叶突变体 *sol1* 的表型分析与基因定位[J]. *作物学报*, 2020, 46(2): 204-213.
- [25] YAN C J, YAN S, ZHANG Z Q, et al. Genetic analysis and gene fine mapping for a rice novel mutant (*rl9₍₁₎*) with rolling leaf character[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51: 63-69.
- [26] 邵元健, 潘存红, 陈宗祥, 等. 水稻不完全隐性卷叶主基因以 *rl₍₁₎* 的精细定位[J]. *科学通报*, 2005, 50(19): 2107-2113.
- [27] 邵元健, 陈宗祥, 张亚芳, 等. 一个水稻卷叶主效 QTL 的定位及其物理图谱的构建[J]. *遗传学报(英文版)*, 2005(5): 501-506.
- [28] CHEN Q, XIE Q, GAO J, et al. Characterization of rolled and erect Leaf 1 in regulating leave morphology in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(19): 6047-6058.
- [29] 张龙弟, 王雁伟, 张治国, 等. 一个显性卷叶突变体 *z2* 的遗传分析与精细定位[J]. *生物技术通报*, 2015, 31(6): 100-105.
- [30] LI L, Shi Z Y, LI L, et al. Overexpression of *ACL1* (*abaxially curled leaf 1*) increased bulliform cells and induced abaxial curling of leaf blades in rice[J]. *Molecular Plant*, 2010, 3(5): 807-817.
- [31] SUN J, CUI X A, TENG S, et al. *HD-ZIP IV* gene *Roc8* regulates the size of bulliform cells and lignin content in rice[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(12): 2559-2572.
- [32] LUO Y Z, ZHAO F M, SANG X C, et al. Genetic analysis and gene mapping of a novel rolled-leaf mutant *rl12₍₁₎* in rice[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(11): 1967-1972.
- [33] 邓秋雨, 肖应辉. 水稻卷叶类型及调控机制研究进展[J]. *作物研究*, 2021, 35(4): 376-384.
- [34] YAN S, YAN C J, ZENG X H, et al. *ROLLED LEAF 9*, encoding a GARP protein, regulates the leaf abaxial cell fate in rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2008, 68(3): 239-250.
- [35] 葛倩雯, 金宝花, 傅小进, 等. 水稻卷叶矮化突变体 *rld* 的表型鉴定及基因精细定位[J]. *浙江师范大学学报(自然科学版)*, 2019, 42(4): 434-440.
- [36] 吴方喜, 罗 曦, 蒋家焕, 等. 水稻卷叶突变体基因 *shallot like1-Fuhui673* 鉴定、克隆与序列分析[J]. *科学通报*, 2018, 63(23): 2369-2377.
- [37] 解志伟, 孙 伟, 尹 亮, 等. 一个新的水稻内卷叶突变体的表型和遗传分析[J]. *作物学报*, 2013, 39(11): 1970-1975.

(责任编辑:黄克玲)