·研究报告·

水稻温敏型叶色突变体 *tsa58* 的变异检测及转录组分析

陈能刚, 鄢小青, 李 欢, 杨占烈, 吴荣菊, 陈 锋
(贵州省农业科学院农作物品种资源研究所, 贵阳 550006)

摘 要:利用^{60}Co辐射诱变贵州地方粳稻种质资源"桥港珍珠米",筛选获得一个温敏型叶色突变体 *tsa58*(temperature-sensitive albino 58),该突变体在20 ℃和30 ℃条件下培养,幼苗存在显著的叶色差异。在20 ℃条件下,*tsa58* 叶片呈现完全白化;在30 ℃条件下,*tsa58* 叶色与野生型无明显差异。在20 ℃条件下,与野生型相比,*tsa58* 叶片的总叶绿素、叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素含量降低幅度最大,均达到极显著差异水平;在30 ℃条件下,与野生型相比,*tsa58* 叶片的总叶绿素、叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素含量均与野生型无显著差异。为了明确该突变表型的候选基因,采用二代高通量测序技术对突变体 *tsa58* 和野生型进行全基因组变异分析。研究发现,在定位区间内的20878044~21473236间发生了INV(倒置)结构变异,其位点21473236位于 *Os02g0565400* 的外显子上。转录组分析结果表明,该基因在野生型中存在TSS、TTS、AE等3种剪接类型,并存在5个不同的剪接位点,而突变体 *tsa58* 未检测到可变剪接。由于该INV变异导致该基因的可变剪接类型发生变化,因此推测 *tsa58* 为 *Os02g0565400*(*WSL4*)的新等位突变体。转录组差异基因分析表明,突变体 *tsa58* 与野生型的差异基因在核糖体最多,为27个,其中由叶绿体基因组编码的基因 *rps7*、*rpl32*、*rpl20* 和 *rps16* 均显著下调,而由细胞核基因组编码的基因中除 *OsRPL44* 显著下调外,其余基因均显著上调。

关键词: 水稻;温敏型叶色突变体;变异检测;转录组分析;辐射诱变
DOI: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2023.05.001
中图分类号: S511 **文献标志码**: A **文章编号**: 1001-4705(2023)05-0001-08

Variation Detection and Transcriptome Analysis of a Thermo-sensitive Leaf Color Mutant *tsa58* in Rice

CHEN Nenggang, YAN Xiaoqing, LI Huan, YANG Zhanlie, WU Rongju, CHEN Feng
(Institute of Crop Germplasm Resources, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China)

Abstract: The thermo-sensitive mutant *tsa58* (temperature-sensitive albino 58) was obtained from "Qiao-gang Pearl Rice", a germplasm resource of japonica rice in Guizhou by ^{60}Co radiation. The mutant seedlings of *tsa58* showed significant leaf color difference at 20 ℃ and 30 ℃. The leaves of *tsa58* showed albino at 20 ℃. However, there was no significant difference in leaf color between *tsa58* and wild type at 30 ℃. The contents of total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid in the leaves of *tsa58* decreased the most at 20 ℃, and all reached the significant difference level compared with the wild type. The contents of total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid in leaves of *tsa58* were not significantly different from those of the wild type at 30 ℃. In order to identify candidate genes for the mutant phenotype, *tsa58* and the wild type were analyzed with whole-genome variation using second-generation high-throughput sequencing technology. It was found that INV (inverted) occurred between 20878044 and 21473236, and the mutation site (21473236) was located in the exon of *Os02g0565400*. The transcriptome analysis showed that there were three splicing

收稿日期:2022-12-21
基金项目:贵州省自然科学基金项目"水稻粒宽新基因GS114的基因克隆与功能研究"(黔科合基础-ZK[2022]一般243);贵州省科技支撑计划项目"农作物和食用菌种质资源精准鉴定评价(表型和基因型精准鉴定)"(黔科合支撑[2022]重点025号);贵州省科技支撑计划项目"农作物种质资源精准鉴定评价(优异基因挖掘与利用)"(黔科合支撑[2022]重点026号);贵州省科技计划项目"贵州省育种科研基础平台创新能力建设"(黔科合服企[2022]014)。
作者简介:陈能刚(1980—),男(汉族),贵州遵义人;博士,副研究员,主要从事种质资源保存利用研究(E-mail:364968121@qq.com)。

types (TSS, TTS, AE) and five different splicing sites in the wild type, but no anyone type of variable splicing was detected in the mutant *tsa58*. Due to the INV mutation caused a change in the variable splicing type of this gene, and it was speculated that the *tsa58* was a new allele mutants of *Os02g0565400* (*WSL4*). The study of the transcriptome differential gene analysis showed that the *tsa58* had a maximum of 27 differential genes in the ribosome *rps7*, *rpl32*, *rpl20* and *rps16* encoded by chloroplast genome were significantly down-regulated, while all genes encoded by nuclear genome were significantly up-regulated except *OsRPL44*.

Key words: rice; thermo-sensitive leaf color mutant; variation detection; transcriptome analysis; radiation

水稻是重要的粮食作物,新种质的创制是提高水稻产量的重要前提,而^{60}Co 辐射诱变技术是种质创制的重要技术手段之一。^{60}Co 辐射诱变通过染色体数目、染色体结构或 DNA 的核苷酸变异而引起表型特征变化[1]。随着生物信息技术的高速发展,通过全基因组测序技术可以更高效率和低成本对辐射诱变获得的新种质进行全基因组的变异检测分析,从而发掘新的基因。

制约水稻产量的因素很多,其中光合作用是最重要的因素之一。叶绿体是光合作用的重要场所,其发育状态直接影响水稻叶片的光合作用。叶色突变体是研究叶绿体发育和光合色素合成降解机制的理想材料。水稻叶色突变性状也可作为标记性状,在杂交稻育种和高光效育种中具有重要应用价值。其中转绿型叶色突变体具有阶段性特异表达,转绿后对主要农艺性状影响较小等优点,因此可作为标记性状用于水稻杂交育种和种子生产中。进一步发掘和鉴定新的转绿型叶色突变基因,加强利用转绿型叶色标记不育系的选育,有助于揭示水稻叶色突变的分子机理和探讨转绿型叶色突变体在水稻生产实践中有效应用。目前已经克隆了参与光合色素合成的基因,这些基因突变均会引起叶色变化。如 *OsCAO1* 编码叶绿素 a 加氧酶,其突变体表现出淡绿叶的表型[2]。*OsCHLH*、*OsCHLD* 和 *OsCHLI* 分别编码 Mg-原卟啉 IX 螯合酶的 3 个亚基,突变植株均表现为叶片黄化[3-4]。*YGL1* 编码叶绿素合酶,催化叶绿素酸酯 a 转化为叶绿素 a,突变体表现为黄绿叶[5]。同时也克隆了很多影响叶绿体发育的基因,如 *WSL3* 编码一个质体 RNA 聚合酶的非核心亚基 *OsPAP1*/*OspTAC3*,其突变体表现为白化致死[6]。*OspTAC2* 编码一个含有 10 个 PPR 结构域的叶绿体蛋白,*OspTAC2* 突变植株表现为白化致死,PEP 活性严重受损[7]。这些基因从不同途径参与调控植株的光合色素合成和叶绿体发育。

本研究利用^{60}Co 辐射诱变贵州地方粳稻种质资源"桥港珍珠米",在后代分离中获得的一个能够稳定遗传的温敏型叶色突变体 *tsa58*。本研究结合变异检测和转录组分析确定 *tsa58* 的候选基因,为深入研究该基因的分子机制奠定基础。

1　材料与方法

1.1　材　料

本试验的材料是贵州地方粳稻种质资源"桥港珍珠米"通过^{60}Co 辐射诱变后获得的能够稳定遗传的温敏型叶色突变体,暂命名为 *tsa58*[8]。

1.2　不同温度处理

分别在 20 ℃和 30 ℃光照培养箱中(12 h 光照/12 h 黑暗)培养,同时种植试验材料突变体 *tsa58* 及其野生型(WT),萌发 20 d 后,观察幼苗表型,并进行光合色素测定。

1.3　光合色素测定

选择在 20 ℃和 30 ℃条件下萌发后 20 d 的野生型和突变体 *tsa58* 幼苗的全展叶取样,分别称取新鲜叶片 0.2 g 进行光合色素含量测定,按鄢小青等[8]的方法计算叶片单位鲜重的叶绿素和胡萝卜素含量。

1.4　全基因组变异检测分析

全基因组变异检测分析由北京诺禾致源公司完成。1) 采用 CTAB 法分别提取突变体 *tsa58* 与野生型的 DNA,DNA 样品待检验合格后利用 Covaris 破碎机随机打断成长度为 350 bp 的片段。2) 采用 TruSeq Library Construction Kit 进行建库,文库构建完成后,使用 Qubit 3.0 软件进行初步定量,使用 Q-PCR方法对文库的有效浓度进行准确定量,保证文库质量。3) 库检合格后进行 illumina 测序。测序获得的有效测序数据通过 BWA 软件比对到参考基因组,比对结果经 SAMTOOLS 法去除重复。4) 采用 SAMTOOLS 法进行个体 SNP 和长度小于 50 bp 的小片段插入与缺失检测分析(InDel)。5) 利用 BreakDancer 软件,检测样品与参考基因组间的插入(insertion,INS)、缺失(deletion,DEL)、倒置(inversion,

INV)、染色体内部迁移(intra-chromosomal translocation,ITX)、染色体间的迁移(inter-chromosomal translocation,CTX),通过 ANNOVAR 软件对 DEL、INS、INV 进行变异注释。6) 利用 CNVnator 判断潜在的 deletion 和 duplication,并通过 ANNOVAR 进行变异注释。

1.5 转录组分析

转录组分析由北京诺禾致源公司完成。1) 突变体 *tsa58* 和野生型幼叶的总 RNA 采用天根 RNA 提取试剂盒(RNA Prep Pure PlantKit)提取,分别用琼脂糖电泳和 Nanodrop 检测 RNA 的完整性和纯度,然后利用 Qubit 2.0 荧光定量仪对 RNA 浓度进行精确定量,采用 Agilent 2100 精确检测 RNA 的完整性,保证提取的 RNA 达到建库要求。2) RNA 样品检测合格后进行建库,文库构建完成后,先使用 Qubit 2.0 进行初步定量,稀释文库,随后使用 Agilent 2100 对文库的插入片段大小进行检测,插入片段符合预期后,使用 Q-PCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量,以保证文库质量。3) 文库检测合格后,按照有效浓度及目标下机数据量的需求将不同文库 pooling 至 flowcell,cBOT 成簇后使用 Illumina 高通量测序平台 NovaSeq 6000 进行测序。4) 待测序完成后进行基因表达量分析和差异表达分析,表达差异基因通过 GO 聚类分析,根据差异基因在分子功能、生物学过程和细胞组分上的分布,筛选不同的 GO term 进行分析。

2 结果与分析

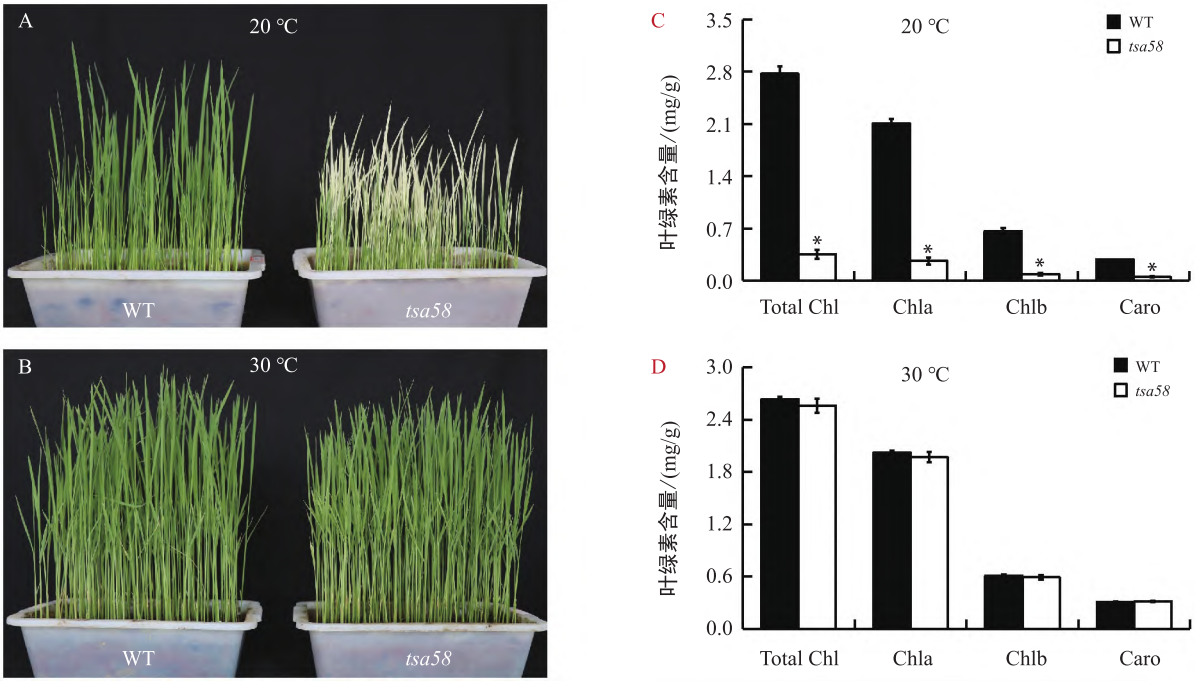
2.1 不同温度条件下水稻温敏型叶色突变体 *tsa58* 的表型特征

试验中发现,在 20 ℃和 30 ℃的光照培养箱中萌发的 20 d 秧龄突变体 *tsa58* 的幼苗间存在叶色差异。在 20 ℃条件下,*tsa58* 叶片呈现完全白化(图 1 A);在 30 ℃条件下,*tsa58* 叶色与野生型无明显差异(图 1 B)。进一步对不同温度处理的野生型和 *tsa58* 的光合色素进行测定发现,与野生型相比,在 20 ℃条件下,*tsa58* 叶片的总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量降低幅度最大,均达到极显著差异水平,分别降至野生型的 12.95%,12.69%,13.76% 和 18.27%(图 1 C);在 30 ℃条件下,与野生型相比,*tsa58* 叶片的总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量均与野生型无显著差异(图 1 D)。

2.2 *tsa58* 变异检测分析

2.2.1 测序数据质量汇总

通过测序数据分析,本次测序共产生原始数据 35.5 Gb,过滤后有效数据为 35 Gb,GC 含量在 44.32%~44.52%之间。所有样本的数据量足够,测序质量合格,GC 分布正常,建库测序成功。本研究以粳稻日本晴作为参考基因组,参考基因组大小为 375 049 285 bp,所有样本的比对率在 96.67%~99.16%之间,对参考基因组



注:"*"表示 $p<0.05$ 差异显著。

图 1 野生型(WT)和突变体 *tsa58* 在 20 ℃和 30 ℃条件下的表型特征

Fig.1 Phenotypic characteristics of the wild type (WT) and mutant *tsa58* at 20 ℃ and 30 ℃

(排除 N 区)的平均覆盖深度在 33.32 X～38.61 X 之间,1 X 覆盖度(至少有一个碱基的覆盖)在 97.16%以上,可用于后续的变异检测及相关分析(表 1)。

表 1　野生型和突变体 *tsa58* 测序数据

Table 1　Sequencing data of the wild type and mutant *tsa58*

类型	WT	*tsa58*
Raw Data/G	16.7	18.6
Clean Data/G	16.6	18.4
Mapped reads/bp	109 618 637	118 562 200
Total reads/bp	110 544 434	122 647 822
Mapping rate/%	99.16	96.67
Average depth/X	33.32	38.61
Coverage at least 1 X/%	97.16	97.27
Coverage at least 4 X/%	96.27	96.42

2.2.2　变异检测分析

SNP 变异分析:采用 SAMTOOLS 进行个体 SNP 的检测。野生型和 *tsa58* 分别获得 289 649 个和 295 492 个SNPs,其中基因间的 SNPs 最多,分别为 197 985 个和 202 215 个。其次为内含子区域,分别为 26 218 个和 26 624 个。外显子区域分别为 15 552 个和 15 792 个,其中非同义突变为主(表 2)。

表 2　SNPs 分布区间及数目

Table 2　Distribution interval and number of SNPs

类型	WT	*tsa58*
Exonic	15 552	15 792
Exonic Stop gain	153	157
Exonic Stop loss	72	71
Exonic Synonymous	6 737	6 810
Exonic Non-synonymous	8 590	8 754
Exonic unknowns	0	0
Intronic	26 218	26 624
Splicing	57	56
Upstream	19 106	19 536
Downstream	15 401	15 761
Upstream/Downstream	4 583	4 611
Intergenic	197 985	202 215
Total	289 649	295 492

InDels 变异分析:利用 SAMTOOLs 检测长度小于 50 bp 的小片段插入与缺失。结果显示,在野生型和 *tsa58* 分别获得 60 268 个和 60 852 个 InDels,其中基因间区域最多,分别为 35 989 个和 36 412 个缺失片段。在外显子区域中,以非移码变异为主,其次是移码变异(表 3)。

结构变异(SV)分析:结构变异是指基因组结构变异是水平上大片段的插入、缺失、倒置、易位变异。可利用 BreakDancer[5] 软件,基于 pair-end reads 比对到参考基因组上面的关系及实际大小检测样品与参考基因组间的插入、缺失、倒置、染色体内部迁移、染色体间的迁移。野生型和 *tsa58* 分别获得 8 207 个和 7 971 个结构变异,其中外显子区域分别获得 897 个和 914 个(表 4)。

表 3　InDels 分布区间及数目统计

Table 3　Distribution interval and number statistics of InDels

类型	WT	*tsa58*
Upstream	6 058	6 107
Exonic Stop gain	14	13
Exonic Stop loss	2	2
Exonic Frameshift deletion	375	364
Exonic Frameshift insertion	340	351
Exonic Non-frameshift deletion	525	519
Exonic Non-frameshift insertion	448	427
Intronic	8 113	8 175
Splicing	31	31
Downstream	4 555	4 612
Upstream/Downstream	1 639	1 623
Intergenic	35 989	36 412
Total	60 268	60 852

表 4　结构变异分布区间及数目统计

Table 4　Distribution interval and number statistics of structure variation

类型	WT	*tsa58*
Upstream	212	192
Exonic	897	914
Downstream	192	176
Intronic	145	137
Upstream/Downstream	64	47
Intergenic	1 557	1 367
Splicing	0	0
INS	7	8
DEL	2 678	2 376
INV	471	519
ITX	813	959
CTX	4 238	4 109
Total	8 207	7 971

拷贝数变异(CNV)分析:拷贝数变异指基因组片段的拷贝数增加或者减少。通过 CNVnator 分析在野生型和 *tsa58* 中分别检测到 4 722 个和 4 978 个拷贝

数变异。主要分布在基因间区域,分别为 3 328 个和 3 463 个。其次是外显子区域,分别为 588 个和 649 个。野生型拷贝数增加 1 381 个,减少 3 341 个,增加长度为 10 066 000 bp,减少长度为 19 394 800 bp。*tsa58* 的拷贝数增加 1 386 个,减少 3 592 个,增加长度为 10 292 100 bp,减少长度为 19 784 100 bp(表 5)。

2.2.3 候选基因分析

本研究通过变异检测分析,发现位于 2 号染色体上的 20878044～21473236 间发生了倒置结构变异(表 6),其位点 21473236 位于 *Os02g0565400*(*LOC_Os02g35750*)的外显子上,导致该基因翻译提前终止(图 2)。在 20 ℃条件下转录组分析发现,该基因在野生型和突变体 *tsa58* 中的表达量无显著差异,但在该基因的可变剪接类型存在差异。在野生型中存在 TSS、TTS、AE 等 3 种剪接类型,同时存在 5 个不同的剪接位点,而突变体 *tsa58* 未检测到可变剪接(表 7)。推测可能是由于该突变位点发生 INV 变异导致该基因的可变剪接类型发生变化,从而影响该基因的功能。

表 5 拷贝数变异分布区间及数目统计

Table 5 Distribution interval and number statistics of copy number variation

类型	WT	*tsa58*
Upstream	256	276
Exonic	588	649
Intronic	172	175
Downstream	201	223
Upstream/Downstream	64	82
Intergenic	3 328	3 463
Duplication number	1 381	1 386
Deletion number	3 341	3 592
Duplication length/bp	10 066 000	10 292 100
Deletion length/bp	19 394 800	19 784 100
CNVs Total	4 722	4 978

表 6 在突变体 *tsa58* 中外显子区域发生 INV 变异的类型

Table 6 Types of INV variation in exon region of the *tsa58*

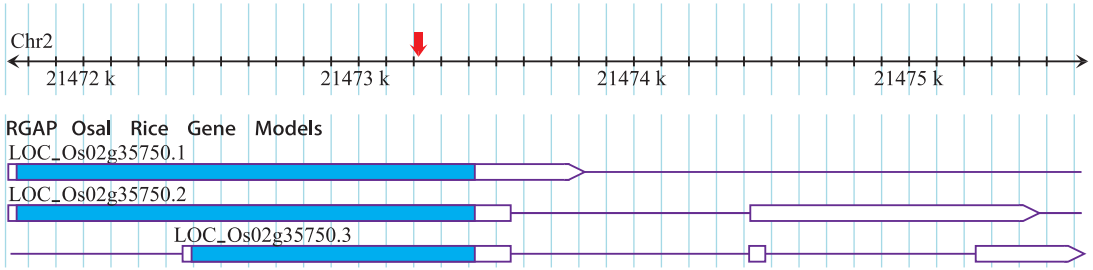
染色体	染色体位点 1	比对区域正负链 1	染色体位点 2	比对区域正负链 2	SV 类型	SV 大小/bp	SV 检测的分数
2	20878044	35+0−	21473236	39+31−	INV	594 401	99
2	20878451	0+31−	21473236	39+31−	INV	594 390	99

表 7 野生型中 *Os02g0565400*(*LOC_Os02g35750*)的可变剪接类型

Table 7 Variable splicing types of *Os02g0565400* (*LOC_Os02g35750*) in wild type

剪接类型	基因 ID	染色体	起始位点	结束位点	事件特征	正负链
TSS	*Os02g0565400*	2	21470917	21473554	21473554	+
TTS	*Os02g0565400*	2	21475246	21475352	21475246	+
TTS	*Os02g0565400*	2	21475417	21475469	21475417	+
AE	*Os02g0565400*	2	21474424	21474559	21474424～21474559	+
AE	*Os02g0565400*	2	21474424	21474477	21474424～21474477	+

注:TSS 为第一个外显子可变剪切;TTS 为最后一个外显子可变剪切;AE 为可变 5′或 3′端剪切。



注:红箭头为发生 INV 变异位点。

图 2 *Os02g0565400*(*LOC_Os02g35750*)结构图

Fig.2 Structure diagram of *Os02g0565400* (*LOC_Os02g35750*)

2.3　突变体 *tsa58* 与野生型在低温条件下转录组分析

2.3.1　重复相关性评估和样品基因表达量总体分布

本研究在实验设计中 20 ℃处理野生型(C 1)和突变体 *tsa58*(T 1),每个样品设计 3 次生物学重复。如图 3 所示,样品两两之间相关性均大于 0.9。说明本试验各重复样品间的误差率低,重复性较好,可用于后续分析研究。

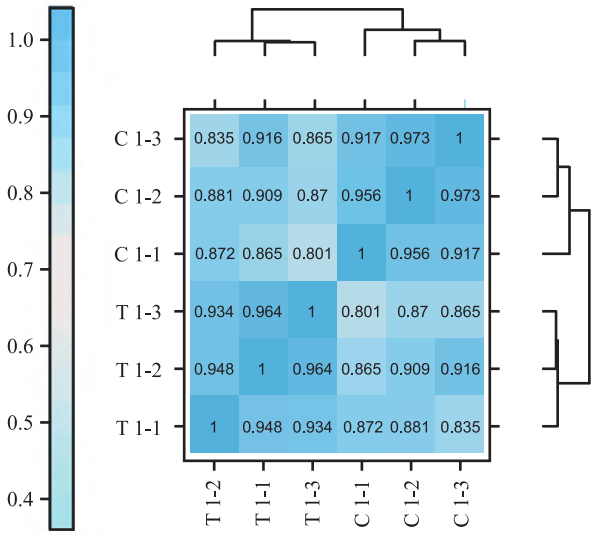


图 3　两个样品的表达量相关性

Fig.3　Correlation of expression levels between the two samples

2.3.2　突变体 *tsa58* 与野生型在不同温度下差异表达分析

对于有生物学重复的样本,DEseq 2 适用于进行样品组间的差异表达分析,获得突变体与野生型之间的差异表达基因集。在差异表达基因检测过程中,将 Fold Change≥2 且 FDR<0.01 作为筛选标准。通过火山图(Volcano Plot)可以快速地查看基因在两个(组)样品中表达水平的差异,以及差异的统计学显著性。在 20 ℃条件下,突变体 *tsa58* 与野生型间差异表达的基因有 1 516 个,其中上调的差异基因有 980 个,下调的差异基因有 536 个(图 4)。

2.3.3　差异表达基因 KEGG 通路富集分析

将差异基因进行 GO 功能分析,共有 980 个差异基因分布在生物过程、细胞组分和分子功能等三个层面上。在生物过程方面,461 个差异基因富集在代谢过程,有 438 个差异基因富集在细胞过程。在细胞组分方面,有 503 个差异基因主要富集在细胞和细胞器等。在分子功能方面,有 480 个差异基因主要富集在绑定,有 355 个差异基因主要富集在催化活性等(图 5)。

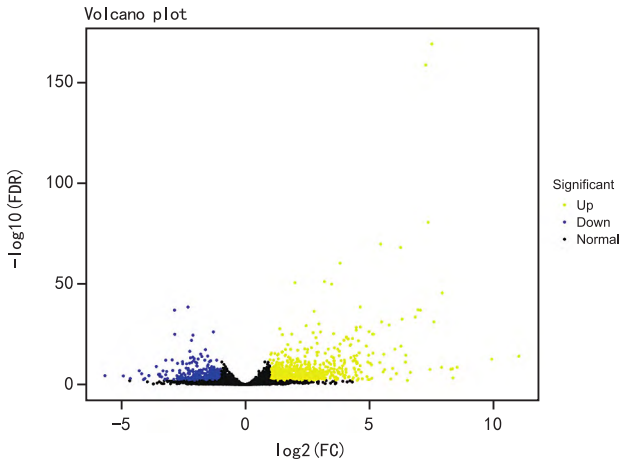


图 4　差异表达火山图

Fig.4　Differentially expressed volcano map

为了准确分析突变体与野生型体内代谢通路发生的变化,对差异基因显著富集的 20 条 KEGG 生物通路进行统计分析。在 20 ℃条件下差异基因显著富集的通路主要是核糖体、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解、丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢、倍半萜和三萜生物合成、油菜素类固醇生物合成、光合作用、ABC 转运蛋白、碱基切除修复、苯并恶嗪类生物合成、类胡萝卜素生物合成、半乳糖代谢、肌醇磷酸盐代谢、植物-病原菌互作、卟啉和叶绿素代谢、RNA 降解、RNA 聚合酶、牛磺酸和次牛磺酸代谢、硫胺素新陈代谢、色氨酸代谢和维生素 B 6 代谢(图 6)。核糖体大小亚基差异基因为 27 个,由叶绿体基因组编码的 *rps7*、*rpl32*、*rpl20* 和 *rps16* 均显著下调。而在细胞核基因组编码的基因中除 *OsRPL44* 显著下调以外,其余基因均显著上调(图 7)。

3　结论与讨论

在本研究中,突变体 *tsa58* 在 20 ℃条件下,幼苗叶片呈现完全白化,光合色素含量较野生型极显著降低;而在 30 ℃条件下,幼苗叶色呈现正常绿色,光合色素含量与野生型无明显差异。研究结果表明 *tsa58* 为温敏型叶色突变体。本研究通过变异检测分析,发现在定位区间内的 20878044～21473236 间发生了倒置结构变异,其位点 21473236 位于 *Os02g0565400* 的外显子上,导致该基因翻译提前终止。结合野生型和突变体 *tsa58* 在 20 ℃条件下转录组分析发现,该基因在野生型和突变体 *tsa58* 中的表达量无显著差异,但该基因的可变剪接方式存在差异。该基因在野生型中存在 TSS、TTS、AE 等 3 种剪接类型,并存在 5 个不同的剪接位点,而在突变体 *tsa58* 中未检测到可变剪接类型。因此可以推测 *tsa58* 为 *Os02g0565400*(*WSL4*)的新等位突变体。

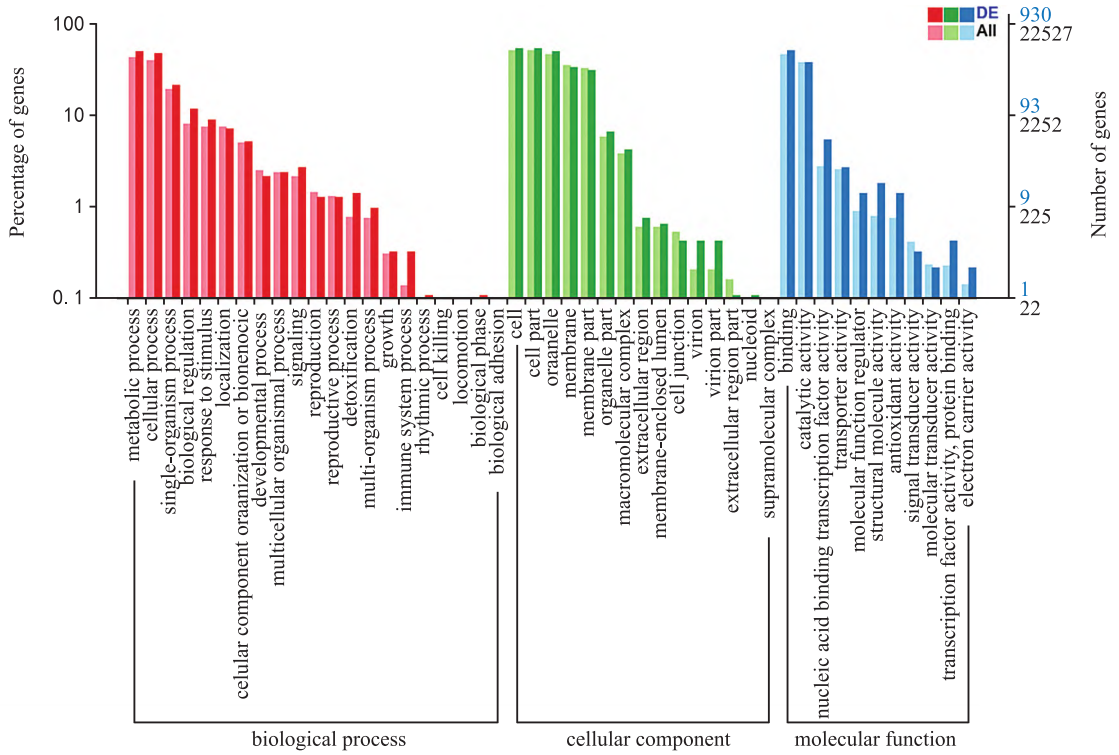


图 5 突变体 *tsa58* 与野生型间差异表达的基因

Fig.5 Differentially expressed genes between the *tsa58* and wild type

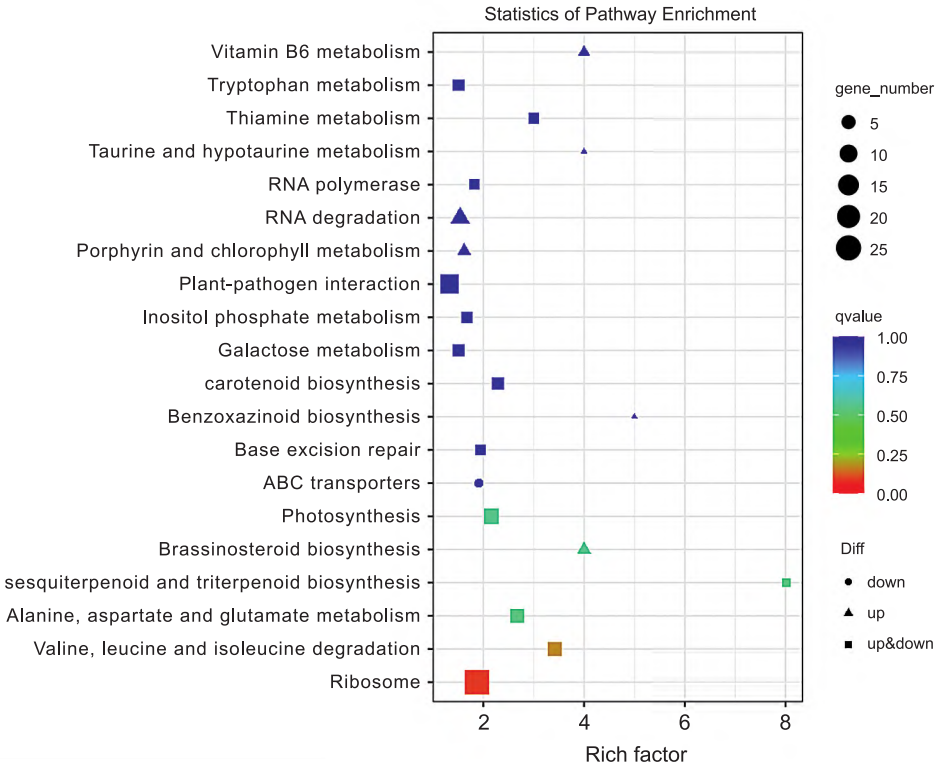


图 6 突变体 *tsa58* 与野生型间差异表达基因的 KEGG 通路富集散点图

Fig.6 Rich distribution site of KEGG pathway of differentially expressed gene between the *tsa58* and wild type

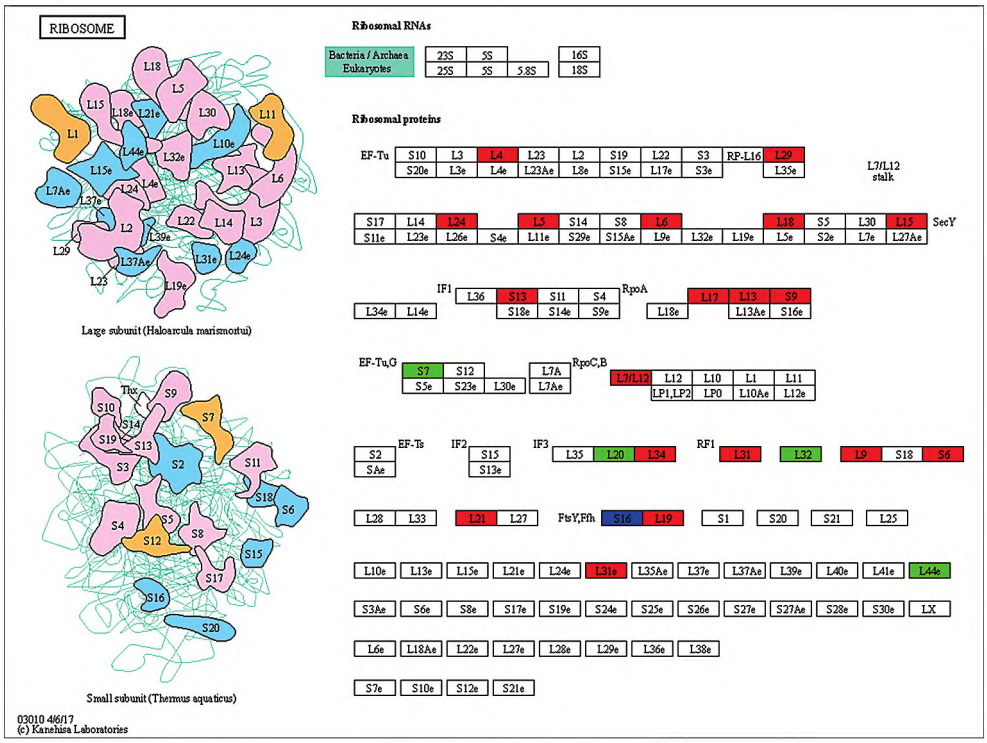


图 7　突变体 *tsa58* 与野生型间叶绿体核糖体亚基中差异表达的基因

Fig.7　Expression of ribosome subunit differential gene in chloroplast between the *tsa58* and wild type

质体核糖体蛋白对质体蛋白的生物合成、核糖体的生物合成、早期叶绿体的发育及叶绿体的分化都非常重要。在 20 ℃条件下的转录组分析结果表明,突变体 *tsa58* 在核糖体大小亚基差异基因为 27 个(图 7),其中由叶绿体基因组编码的 *rps7*、*rpl32*、*rpl20* 和 *rps16* 均显著下调,而由细胞核基因组编码的基因中除 *OsRPL44* 显著下调以外,其余基因均显著上调。可以推测,*tsa58* 基因突变导致叶绿体核糖体不能正常形成并组装,导致植物在低温条件下呈现出白化表型。*tsa58*(*WSL4*)为 P 类 PPR 蛋白成员主要参与 RNA 的剪接、稳定、切割和翻译过程。*WSL4* 通过影响合酶成员的剪接和翻译,影响叶绿体中 ATP 的合成过程[9]。

参考文献:

[1]Acquaah G. Principles of plant genetics and breeding[M]. 2nd edition. John Wiley & Sons Press, 2012.

[2]Lee S, Kim J H, Yoo E S, et al. Differential regulation of chlorophyll a oxygenase genes in rice[J]. 2005, 57(6): 805-818.

[3]Zhang H, Li J, Yoo J H, et al. Rice *chlorina-1* and *chlorina-9* encode ChlD and ChlI subunits of Mg-chelatase, a key enzyme for chlorophyll synthesis and chloroplast development [J]. Plant Molecular Biology, 2006, 62(3): 325-337.

[4]Goh C H, Satoh K, Kikuchi S, et al. Mitochondrial activity in illuminated leaves of chlorophyll-deficient mutant rice (OsCH) LH seedlings [J]. Plant Biotechnoloy Reports, 2010, 4(4): 281-291.

[5]Wu Z M, Zhang X, He B, et al. A chlorophyll-deficient rice mutant with impaired chlorophyllide esterification in chlorophyll biosynthesis[J]. Plant Physiology, 2007, 145(1): 29-40.

[6]Wang L, Wang C, Wang Y, et al. *WSL3* , a component of the plastid-encoded plastid RNA polymerase, is essential for early chloroplast development in rice[J]. Plant Molecular Biology, 2016, 92(4-5): 1-15.

[7]Wang D K, Liu H Q, Zhai G W, et al. *OspTAC2* encodes a pentatricopeptide repeat protein and regulates rice chloroplast development[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2016, 43(10): 601-608.

[8]鄢小青,陈能刚,李欢,等.水稻白条纹转绿突变体 wsl887 的鉴定和基因定位[J].核农学报,2021,35(11):2451-2462.

[9]Wang Y, Ren Y L, Zhou K N, et al. *WHITE STRIPE LEAF4* encodes a novel p-Type PPR protein required for chloroplast biogenesis during early leaf development [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1116-1132.