



人工诱导产生类C₄高叶脉密度水稻叶片

董文涛, 王鹏, 王二涛*

中国科学院分子植物科学卓越创新中心, 上海 200032

* 联系人, E-mail: etwang@cemps.ac.cn

Generation of rice leaf with a C₄-like vein pattern artificially

Wentao Dong, Peng Wang & Ertao Wang*

CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Shanghai 200032, China

* Corresponding author, E-mail: etwang@cemps.ac.cn

doi: [10.1360/TB-2023-1261](https://doi.org/10.1360/TB-2023-1261)

植物进行光合作用将光能转换为化学能储存在有机物中, 以满足自身生长发育的需求. 光合作用主要包括光反应和暗反应两个阶段. 根据固定CO₂后形成的化合物碳原子数目的不同, 光合作用可以分为C₃光合作用(存在于C₃植物)和C₄光合作用(存在于C₄植物). 在C₃植物中, CO₂经气孔进入叶片后, 在叶肉细胞中被核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(RuBisCO)固定形成三碳化合物, 并参与卡尔文循环. RuBisCO同时具有羧化酶和加氧酶的活性, 而空气中O₂较CO₂浓度高, 因此RuBisCO在进行CO₂羧化固定的过程中也可催化底物的加氧反应, 消耗能量并释放CO₂, 这一过程称为光呼吸. 光呼吸是光合作用中一个损耗能量的副反应, 会抵消约30%的光合作用. 因此降低光呼吸被认为是提高光合作用效能的途径之一^[1]. 与C₃植物相比, C₄植物进化出了一个CO₂浓缩机制, 从而克服了低大气CO₂浓度对光合作用的抑制效应. 在C₄植物中, CO₂首先会在叶肉细胞中预固定形成四碳酸, 四碳酸穿梭进入维管束鞘细胞中进行脱羧反应释放CO₂, 由RuBisCO对CO₂进行再固定进入卡尔文循环. 由于存在这样一个CO₂的预固定机制, 维管束鞘细胞中RuBisCO周围的CO₂浓度显著提高, 从而抑制其氧化酶活性, 降低光呼吸^[1].

在全球范围内, 虽然仅有约3%的植物物种使用C₄光合作用, 但其却占全球初级生产力的约21%. 这种植物物种之间在生产力和代表性方面的显著差异被认为是由于C₄植物比C₃植物具有更高的光能转换效率以及土壤氮和水分利用效率^[1-3]. 玉米中典型的高效C₄光合作用部分依赖于特殊的花环状叶片结构(Kranz结构): 叶脉(V)被内层的维管束鞘(BS)细胞和外层的叶肉(M)细胞包围形成双层环状结构, 该结构重复出现形成连续的间隔两个M细胞的叶脉排布模式(V-BS-M-M-BS-V)^[3-5]. 相比之下, C₃植物叶片中叶脉通常被至少6

个M细胞分隔(V-BS-M-M-M-M-M-M-BS-V)^[3]. 换言之, C₄植物叶片比C₃植物叶片具有更高的叶脉密度.

在C₃植物叶片中, 光合作用主要发生在M细胞中, 而在C₄植物叶片中, 光合作用被分隔到具有功能分化的BS细胞和M细胞中: 在M细胞中进行光反应而在BS细胞中进行CO₂同化反应^[3]. 这种空间分隔有效地抑制了浪费能量的光呼吸, 并使RuBisCO在高光条件下以接近饱和的状态运行, 使得C₄光合作用效率(尤其在炎热干燥的环境)显著高于C₃光合作用^[1]. 同时, C₄光合作用的高效运行还得益于较高的BS细胞/M细胞比例, 保证了两种细胞类型之间代谢物的有效周转. 这种高BS细胞/M细胞比, 不仅是典型C₄植物叶片的特征, 也被认为是光合作用从C₃向C₄途径演变的前置条件之一^[6]. 在C₄植物玉米中, 高BS细胞/M细胞比是通过增加叶片的叶脉密度来实现的, 因此, 增加叶脉密度被认为是C₄光合作用演变的一个早期关键的步骤^[6]. 在对C₄植物花环状叶片结构的研究中, 一个长期存在的科学问题是: C₄植物叶片发育过程中如何在时间和空间上有序地产生新的叶脉? 通过遗传学方法, 科学家们在C₃和C₄植物中已经鉴定出了一些叶脉结构和/或密度改变的突变体^[7-9]. 然而, 对于叶片花环结构形成的机制仍然知之甚少, 这在过去几十年里阻碍了将C₄性状引入C₃作物的工程化改造^[10,11].

Science Bulletin发表的最新文章“Creating a C₄-like vein pattern in rice by manipulating SHORT ROOT and auxin levels”发现, 在C₃水稻叶片中同时提高SHORT ROOT (SHR)和生长素水平, 可成功诱导形成类C₄叶脉分布模式(图1)^[12]. SHR是GRAS家族转录因子, 是根皮层发育的关键调控因子. 作者团队之前研究发现, SHR也是豆科植物根瘤发育的关键调控因子, 过量表达可诱导皮层细胞分裂^[13]. 作者团队进一步研究发现, 不同物种来源(苜蓿、水稻、玉米)的SHR过量表达都

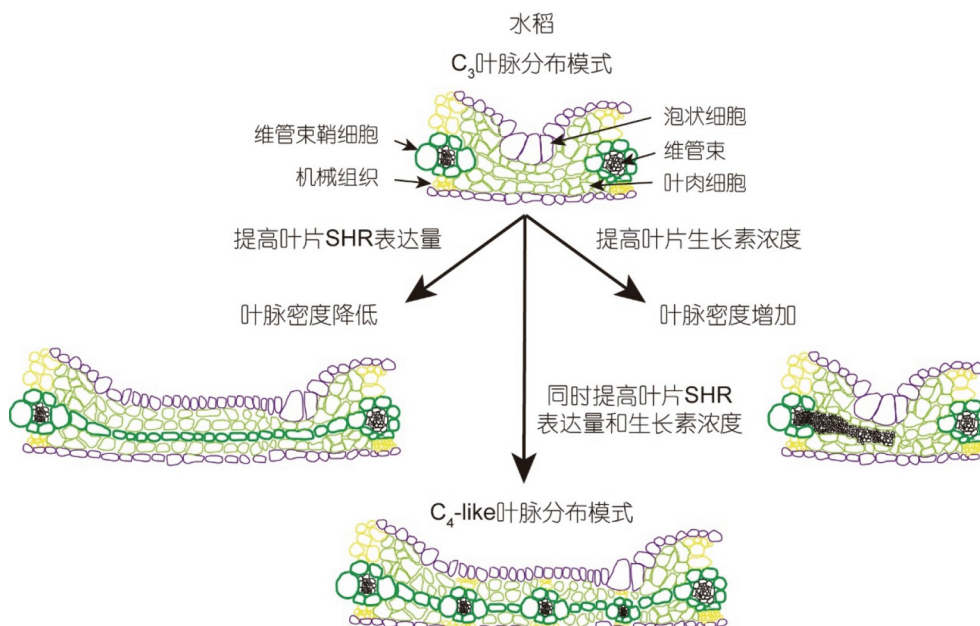


图1 (网络版彩色)提高水稻叶片中的SHR和生长素含量诱导形成类 C_4 叶脉分布模式。过量表达SHR促进叶肉细胞的分裂,相邻叶脉间叶肉细胞数目显著增多,叶脉密度显著降低;外源生长素处理抑制叶片生长,叶脉之间相互连接甚至融合在一起,叶脉密度升高;协同提高SHR表达量和生长素浓度诱导叶片形成类 C_4 高密度叶脉分布模式

Figure 1 (Color online) Elevating SHR and auxin levels in rice leaves induced a C_4 -like vein pattern. Overexpression of SHR enhanced mesophyll cell division, resulting in an increase in the number of mesophyll cells between adjacent veins and a substantial reduction in leaf vein density. Exogenous auxin treatments retarded leaf growth, leading to vein fusions and an increase in leaf vein density. Notably, a leaf vein distribution pattern resembling that of C_4 plants was successfully induced by simultaneously elevating SHR and auxin levels in rice leaves

能强烈促进 C_3 水稻叶片叶肉细胞的分裂,导致相邻叶脉间叶肉细胞数目显著增多,叶脉密度显著降低(图1)。有意思的是,在 C_4 玉米中过量表达玉米SHR同样可以促进玉米叶肉细胞分裂,降低叶脉密度,甚至在叶片的某些区域形成类似 C_3 的叶脉分布模式。作者还发现,水稻和玉米的SHR蛋白分布于维管束鞘细胞和叶肉细胞,并且提高SHR的原位表达量同样可以促进水稻叶肉细胞分裂,降低叶脉密度。进一步通过基因编辑技术分别获得了水稻和玉米的SHR多突变体,发现水稻与玉米SHR基因的敲除突变体都表现出相邻叶脉间叶肉数目减少、叶脉密度增加的表型,与SHR过量表达的表型相反。以上这些结果表明在 C_3 水稻和 C_4 玉米中,SHR保守地控制叶肉细胞分裂和叶脉密度,并且SHR蛋白的丰度对叶脉密度至关重要。

之前有研究表明,在 C_3 和 C_4 植物中生长素处理能够提高叶脉密度^[14,15]。也有文献表明,玉米叶片中SHR和生长素的含量显著高于玉米苞叶(其叶脉密度类似 C_3 植物叶片)^[14,16],暗示SHR和生长素含量的协同提高可能是叶脉分布模式从 C_3 向 C_4 转变所必需的。为了验证这一猜想,作者构建了地塞

米松诱导表达的SHR转基因株系(SHR:GR),并进行外源生长素处理实验。作者发现生长素单独处理会显著抑制叶片的生长,叶脉之间相互连接甚至融合在一起,叶脉密度升高;而在外源处理生长素的同时诱导表达SHR,叶脉的分布则更加均匀,叶脉之间相互融合的现象显著降低,甚至在一些叶片上形成类似 C_4 叶片的高密度叶脉分布模式:相邻叶脉间只有1~3个细胞间隔(图1)。此外,作者在SHR过量表达的某些成熟叶片上也观察到了类似 C_4 叶片的结构,推测可能是叶片局部的SHR和生长素达到某种平衡所致。

综合以上研究,作者推测SHR和生长素水平的协同增加可能是单子叶植物叶片维管束分布模式从 C_3 向类 C_4 转化的关键。这一观点从进化发育的角度具有重要意义:相对 C_3 单子叶植物, C_4 单子叶植物叶片中SHR与生长素水平的协同提高,可分别增强叶肉细胞生长速率和叶脉分化速率。该研究揭示了SHR与生长素在叶脉密度调控中相互拮抗又相互配合的可能关系,为阐明 C_4 维管束结构形成机制提供了线索,也为以提高光合效率和资源利用效率为目的的 C_3 作物工程化改造开辟了新思路。

推荐阅读文献

- 1 Schlüter U, Weber A P M. Regulation and evolution of C_4 photosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 2020, 71: 183–215

- 2 Ghannoum O, Evans J R, Caemmerer S V. Nitrogen and water use efficiency of C_4 plants. In: Raghavendra A, Sage R, eds. C_4 Photosynthesis and Related CO_2 Concentrating Mechanisms. Advances in Photosynthesis and Respiration. Dordrecht: Springer, 2010
- 3 Sedelnikova O V, Hughes T E, Langdale J A. Understanding the genetic basis of C_4 Kranz anatomy with a view to engineering C_3 crops. [Annu Rev Genet](#), 2018, 52: 249–270
- 4 Dengler N G, Nelson T. Leaf structure and development in C_4 plants. In: Sage R F, Monson R K, eds. C_4 Plant Biology. San Diego: Academic Press, 1999. 133–172
- 5 Sage R F, Khoshravesh R, Sage T L. From proto-Kranz to C_4 Kranz: Building the bridge to C_4 photosynthesis. [J Exp Bot](#), 2014, 65: 3341–3356
- 6 Sage R F, Christin P A, Edwards E J. The C_4 plant lineages of planet Earth. [J Exp Bot](#), 2011, 62: 3155–3169
- 7 Rizal G, Thakur V, Dionora J, et al. Two forward genetic screens for vein density mutants in sorghum converge on a cytochrome P450 gene in the brassinosteroid pathway. [Plant J](#), 2015, 84: 257–266
- 8 Slewinski T L, Anderson A A, Price S, et al. Short-root1 plays a role in the development of vascular tissue and Kranz anatomy in maize leaves. [Mol Plant](#), 2014, 7: 1388–1392
- 9 Slewinski T L, Anderson A A, Zhang C, et al. Scarecrow plays a role in establishing Kranz anatomy in maize leaves. [Plant Cell Physiol](#), 2012, 53: 2030–2037
- 10 von Caemmerer S, Quick W P, Furbank R T. The development of C_4 rice: Current progress and future challenges. [Science](#), 2012, 336: 1671–1672
- 11 Wang P, Vlad D, Langdale J A. Finding the genes to build C_4 rice. [Curr Opin Plant Biol](#), 2016, 31: 44–50
- 12 Dong W, Chang T, Dai H, et al. Creating a C_4 -like vein pattern in rice by manipulating SHORT ROOT and auxin levels. [Sci Bull](#), 2023, 68: 3133–3136
- 13 Dong W, Zhu Y, Chang H, et al. An SHR–SCR module specifies legume cortical cell fate to enable nodulation. [Nature](#), 2021, 589: 586–590
- 14 Huang C F, Yu C P, Wu Y H, et al. Elevated auxin biosynthesis and transport underlie high vein density in C_4 leaves. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2017, 114: E6884–E6891
- 15 Perico C, Tan S, Langdale J A. Developmental regulation of leaf venation patterns: Monocot versus eudicots and the role of auxin. [New Phytol](#), 2022, 234: 783–803
- 16 Wang P, Kelly S, Fouracre J P, et al. Genome-wide transcript analysis of early maize leaf development reveals gene cohorts associated with the differentiation of C_4 Kranz anatomy. [Plant J](#), 2013, 75: 656–670