

王梦娜,刘康伟,王冷静,等. 基因组稳定性影响水稻生长发育的机制综述[J]. 江苏农业科学,2023,51(23):1-9.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.23.001

# 基因组稳定性影响水稻生长发育的机制综述

王梦娜,刘康伟,王冷静,代强,冯海洋,张超,于恒秀

(江苏省作物遗传生理重点实验室/植物功能基因组学教育部重点实验室/江苏省作物基因组学和分子育种重点实验室/  
江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心/扬州大学农学院,江苏扬州 225009)

**摘要:**基因组包含生物体的全部遗传信息(部分病毒是 RNA),维持染色体的结构、数目及遗传信息的相对稳定,是物种得以生存和延续的前提与保障。水稻作为重要的粮食作物之一,其基因组稳定是保障粮食生产和发展现代农业的重要前提。DNA 损伤是一种危害性很高的损伤形式,及时、正确的修复是维持基因组稳定的基础。DNA 损伤首先会激活 DNA 损伤反应(DDR),DDR 一方面阻止受损细胞携带错误信息继续分裂,另一方面积极促进各种修复途径,如非同源末端连接(NHEJ)、同源重组(HR)和核苷酸切除修复(NER)等,这些修复途径相互协调,相互竞争。本文简述影响基因组稳定性的多种因素,重点是 DNA 损伤和修复的分子机制,以及在水稻生长发育过程中各关键基因对于维持基因组稳定性的重要性,并探讨水稻基因组稳定性研究的未来方向。

**关键词:**水稻;基因组稳定性;DNA 损伤;DSB 修复

**中图分类号:**S336 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)23-0001-08

水稻(*Oryza sativa* L.)是世界上最主要的粮食作物之一,其产量约占世界粮食总产量的 1/4,世界上有一半以上人口以水稻为主食。自 1998 年实施“国际水稻基因组测序计划(IRGSP)”到 2004 年完成水稻基因组序列全图绘制,水稻成为第 1 个完成全基因组测序的作物,也是继拟南芥之后第 2 个完成基因组测序的植物,高度准确和公开的 IRGSP 序列,为水稻基因组的功能研究打开了大门。利用基因组信息,我们可以了解自然界和农业生产中的各种表型变异是如何产生的。在此基础上,利用生物技术和分子育种技术,有望筛选出极端自然环境下基因组稳定性较高的品种,从而实现丰产、稳产、优质的目标;与此同时,影响基因组不稳定的机理也被缓缓揭开。

## 1 基因组稳定性对生物体具有重要作用

基因组(genome)包含生物所有遗传物质的总和。每种生命形式的首要目标是将其遗传物质完整无缺地传递给下一代,积极维持基因组稳定性是

个体生长发育的先决条件;基因组不稳定是导致生物体走向凋亡的重要因素。

已知酿酒酵母全基因组有 6 275 个基因,其中超过 80% 的预测基因是非关键基因,这些基因的存在表明基因组能够缓冲基因损伤对基因组稳定性的危害,而一些必需基因的缺失对酵母细胞来说是致命的;研究发现,有 151 个基因中任何 1 个缺失或者多个改变,都会引起基因组结构的变化或基因组不稳定性的产生<sup>[1-2]</sup>。如 RecQ 介导的基因组不稳定蛋白 1(Rmi1),缺乏 Rmi1 的酵母细胞对羟基脲和其他遗传毒性物质过敏,自发 DNA 损伤频率增加,表现为 Rad52 病灶增加、染色体重排增加、DNA 损伤检查点激酶 Rad53 活化不足。Rmi1 与 RecQ 解旋酶 Sgs1、拓扑异构酶 Top3 $\alpha$  形成 STR 复合物,可以解旋各种停滞或塌陷的复制叉引起的结构,这些复制叉多是由 DNA 变异引起的<sup>[3]</sup>。因此,这些必需基因及其产物可以保护基因组免受不稳定性因素的影响。

在人体细胞中,每天约有  $10^{13}$  个细胞受到损伤,其中大多数细胞都能得到有效修复,但仍有部分未被及时修复或修复不正确,低水平的突变使个体之间自然变异,并导致进化<sup>[4-5]</sup>。然而突变也会导致人类疾病发生,包括以基因组不稳定性升高为代表的癌症。例如,在免疫球蛋白基因(Ig)中发现的胸腺嘧啶/鸟嘌呤碱基的高比例突变,引起慢性淋巴

收稿日期:2023-02-28

基金项目:江苏省自然科学基金(编号:BK20200951)。

作者简介:王梦娜(1996—),女,河南周口人,硕士研究生,主要从事水稻遗传育种研究。E-mail:mx120200748@yzu.edu.cn。

通信作者:于恒秀,博士,教授,主要从事水稻分子细胞遗传学、基因工程育种研究。E-mail:hxyu@yzu.edu.cn。

细胞白血病;在乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌病例中发现大量较大片段的基因缺失,最终导致病变发生<sup>[6]</sup>。这些突变将会阻碍基因组复制及转录,导致基因组不稳定或严重突变的发生,从而威胁细胞甚至生物体的活力。

在植物中,基因和基因调控网络功能的多样化和完整性,是维持基因组稳定的决定因素,许多对细胞产生不利影响的因素终将被消除。玉米中大部分基因组由逆转录元素组成,由于反转录作用,基因组在进化过程中不断“壮大”,DNA 双链断裂(DSB)修复过程将有助于基因组的“缩小”,以维持基因组稳定。SMC5/6 复合物参与 DNA 双链断裂修复;在拟南芥中,SWI3B 作为 SWI/SNF 复合体的一个亚基,与 SMC5 相互作用,促进 SMC5 与染色体的解离<sup>[7]</sup>。SWI3B 的功能缺失或过表达,都会破坏 SMC5 在 DSB 上的募集以响应 DNA 损伤,通过影响 DNA 的修复过程,对基因组稳定产生威胁。

水稻基因组的稳定性体现在多个方面,如表观遗传是否变化、染色质结构是否改变、基因调控之间联系是否稳定等。基因组不稳定,不仅改变水稻的生长特性,更可能对其遗传发育进程产生影响,并且大多数是不利影响。因此,了解水稻基因组的稳定性,对水稻生长发育、抗逆抗病研究及发展现代育种意义重大。

## 2 影响基因组稳定的因素

### 2.1 DNA 复制的随机误差

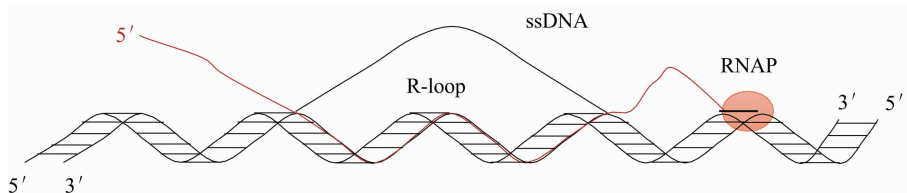
如同所有的天然化合物,DNA 也经历自然衰变过程,如烷基化、氧化和脱氨。从分子水平上看,DNA 十分稳定,能准确地复制和转录,但这种稳定

性是相对的。DNA 在复制过程中会出现误差,如基因结构上碱基对的组成或排列顺序改变,这些误差造成个体间的遗传学差异,是遗传多样性和自然选择的来源,因此突变有利于进化;但大多数基因突变会对生物体带来不利影响,除了引起病变外,还可能造成生物死亡等;在细胞正常生长过程中,DNA 复制错误是基因组不稳定的主要来源<sup>[8]</sup>。

### 2.2 染色体的空间排列及结构

全基因组中被称为脆性位点(fragile site)的各个区域都容易发生染色体断裂,特别是当细胞处在快速分裂的压力下。有研究证实,DNA 结构在共同脆性位点(CFS)中起着重要作用<sup>[9]</sup>;基因组中的重复序列是内源性 DNA 损伤的主要来源,其中许多序列倾向于形成与 B-DNA 不同的二级结构,这些结构可以干扰复制、转录和 DNA 修复,导致基因组重排、形成染色体桥和染色体断裂<sup>[10]</sup>。此外,这些重复序列容易断裂(脆性)和不稳定(重复次数发生变化)。

转录过程会形成一个特殊结构,即 R-loop, R-loop 是细胞内的一种特殊三链核酸结构(图 1)。该结构大量存在于着丝粒周围的 DNA、端粒、核糖体 DNA 以及转录起始和终止子附近,在 R-loop 形成过程中,暴露的单链 DNA(ssDNA)可延伸至数百个碱基对,DNA 极易受到损伤<sup>[11]</sup>。转录复制冲突(TRC)是基因组不稳定的另一个重要来源,由于 DNA 复制和 RNA 转录过程中使用相同的基因组作为模板,复制和转录同时存在时争夺相同的 DNA 模板,2 种复合物之间的碰撞(无论是同向还是反向)导致复制叉折叠,诱导 DNA 复制叉停滞、DNA 重组、DNA 断裂和突变,从而导致基因组不稳定<sup>[12]</sup>。



根据参考文献[11]修改

图1 R-loop 结构示意图

### 2.3 物理化学因素影响基因组稳定性

物理和化学因素都会对 DNA 造成损伤。物理因素主要是各种放射源,如紫外线、X 射线。紫外线会使 DNA 链中相邻的胞嘧啶与嘧啶交联,生成共价键。电离辐射(IR)可以通过对 DNA 糖骨架的直接高能损伤来诱导 DSB,也可通过细胞中产生的自由

基制造活性氧(ROS)来诱导 DSB<sup>[13]</sup>。ROS 是需氧生物细胞呼吸过程中电子传递链(ETC)的典型副产物,另外还来源于氧化酶分解代谢过程、合成代谢过程和过氧化物酶体代谢过程<sup>[14]</sup>。生物体具有精细的调节系统,可以保持非常低的 ROS 水平,即它们的产生和消除是平衡的,从而产生一定的稳态

ROS 水平。在低水平上,ROS 执行重要的细胞功能,如在氧化还原信号传导反应中充当细胞信使等。高水平的 ROS 会损伤 DNA,包括糖和碱基的氧化、链断裂和交联键。鸟嘌呤是最容易被氧化的碱基之一,它的氧化还原电位很低,8-氧代-7,8-二氢鸟嘌呤(8-oxoG)是最丰富和最具特征性的损伤之一,ROS 的产生是对基因组稳定性的重要威胁<sup>[15]</sup>。

化学诱变剂包括烷化剂、碱基类似物等,烷化剂主要由厨房油烟、烟草烟雾、化工实验和医疗过程等产生,其能够在体内外或代谢活化后直接与 DNA 反应,如二烷基亚硝胺、甲磺酸乙酯、硫酸二乙酯、乙烯亚胺等,这些化学物质中的大多数表现出不同程度的致癌性和致突变性,并表现出化合物特异性结合模式<sup>[16-17]</sup>。碱基类似物是一类结构与碱基相似的人工合成物,如二氨基嘌呤、5-溴尿嘧啶等,这些物质进入细胞后能掺入到 DNA 链中与正常碱基竞争,取代其位置发生碱基替换或引起配对错误,进而产生突变。

#### 2.4 各种胁迫引起基因组不稳定

植物在长期进化过程中与大自然和谐共生,随着自然环境的日益变化,植物在生长发育过程中频繁遭受不利因素的侵扰,按其来源可分为生物和非生物因素。生物胁迫多是由于植物遭受病虫害(主要包括害虫、病毒、细菌、真菌)的威胁,而非生物性胁迫则来自其生长环境,即逆境(less favorable environments),包括高温、低温、干旱、盐碱胁迫等。这些逆境极大限制了植物的分布,降低其生长和发育活性,并威胁基因组的稳定性<sup>[18]</sup>。

高温使水稻产生热应激,限制其生长和新陈代谢,并导致产量损失。植物在生殖阶段对温度更敏感,高温可以引起重组率和重组模式的变化,使轴蛋白聚集和突触形成失败,增加 DNA 修复过程的偏差,受精过程受损,最终导致败育<sup>[19]</sup>。在种子填充过程中,高温减缓了种子生长从而影响籽粒大小<sup>[20-21]</sup>。致力于抗热种质资源的寻找及发掘,探究耐热通路调控的机理,培育具有综合耐热能力的作物品种,在全球气温不断攀升的今天意义重大。

植物的另一关键威胁是盐胁迫,盐胁迫可导致植物产生渗透胁迫、离子胁迫和氧化胁迫。渗透胁迫在盐胁迫产生时立即发生,由水分利用率降低引起,涉及气孔关闭、叶片温度升高、细胞周期抑制和细胞凋亡。气孔关闭显著降低了光合作用,从而降

低生物量和产量。细胞周期抑制、细胞凋亡也会抑制植物生长。当叶片中的盐分过量积累时产生离子胁迫,导致叶片衰老和过早脱落。由于能量传递和电子传递的限制,渗透胁迫、离子胁迫都会导致活性氧(ROS)的积累,从而造成 DNA 损伤,威胁植物基因组的稳定性。

物竞天择,适者生存。植物在漫漫时间长河中进化出复杂的防御系统,以适应多种逆境胁迫,维持自身基因组的稳定。

### 3 基因组稳定性与 DNA 损伤修复机制

DNA 骨架断裂有单链断裂、双链断裂 2 种形式,根据细胞周期、遗传背景、DNA 损伤类型,DNA 修复途径主要有 5 种:核苷酸切除修复(NER)、碱基切除修复(BER)、错配修复(MMR),主要负责单链损伤(SSBs);非同源末端连接(NHEJ)、同源重组(HR),主要负责双链损伤(DSBs)。各种修复途径相互协调,共同维持基因组稳定<sup>[22]</sup>。

#### 3.1 DNA 单链断裂修复(SSBR)机制

细胞每天会遭遇到上万种不同的 DNA 损伤,其中单链断裂(SSBs)相对于双链断裂(DSBs)更加频繁,SSBR 可以去除不同的 DNA 单链损伤<sup>[23]</sup>。主要有以下几种机制。

**3.1.1 NER 途径** 核苷酸切除修复(NER)是一种多蛋白修复系统(图 2),可切除大片段的 DNA 损伤,在紫外线诱导的损伤修复中至关重要<sup>[24]</sup>。NER 在真核细胞中被研究得最充分,人类 NER 基因的缺陷导致光敏综合征,如着色性干皮病(XP)。

NER 系统首先识别 DNA 双螺旋结构的扭曲,在全基因组 NER 修复(GG-NER)中,XPC 是第 1 个到达病变的蛋白质因子,经过泛素化修饰,形成 XPC-HR23B-CEN2 复合物,增加其对 DNA 的亲合力。在转录偶联的核苷酸损伤修复(TC-NER)中,识别由 CSB/CSA/XAB2 促进,随后 DNA 双链局部展开,多亚基转录因子 TFIIH 通过 XPC(在 GG-NER 中)或 CSB/CSA(在 TC-NER 中)募集到损伤部位,TFIIH 的 XPB/XPD 亚基在 DNA 损伤附近处解旋,由此产生单链 DNA(ssDNA),XPA 和 ssDNA 结合蛋白 RPA 组成 XPA 复合物。RPA 和 XPA 稳定开放结构,XPA 招募异二聚体 XPF-ERCC1 核酸内切酶和 XPG 的核酸内切酶一起切除跨越病变的短寡核苷酸,至此,损伤片段从基因组中切除,留下单链间隙,最后以未受损的链为模板,

由 DNA 聚合酶复合物 (Pol $\delta/\kappa/\epsilon$ ) 进行修复受损单链<sup>[25-26]</sup>。通过这种方式,许多不同的病变可以由一组共同的酶来处理,因此,它具有高度通用性。

植物中包含所有 NER 蛋白的同系物,但损伤识别蛋白 XPA 除外。可能有相似性质的蛋白质替代 XPA,以帮助在切除修复过程中招募和靶向关键的切除修复因子 TFIIH 和 XPF<sup>[27]</sup>。

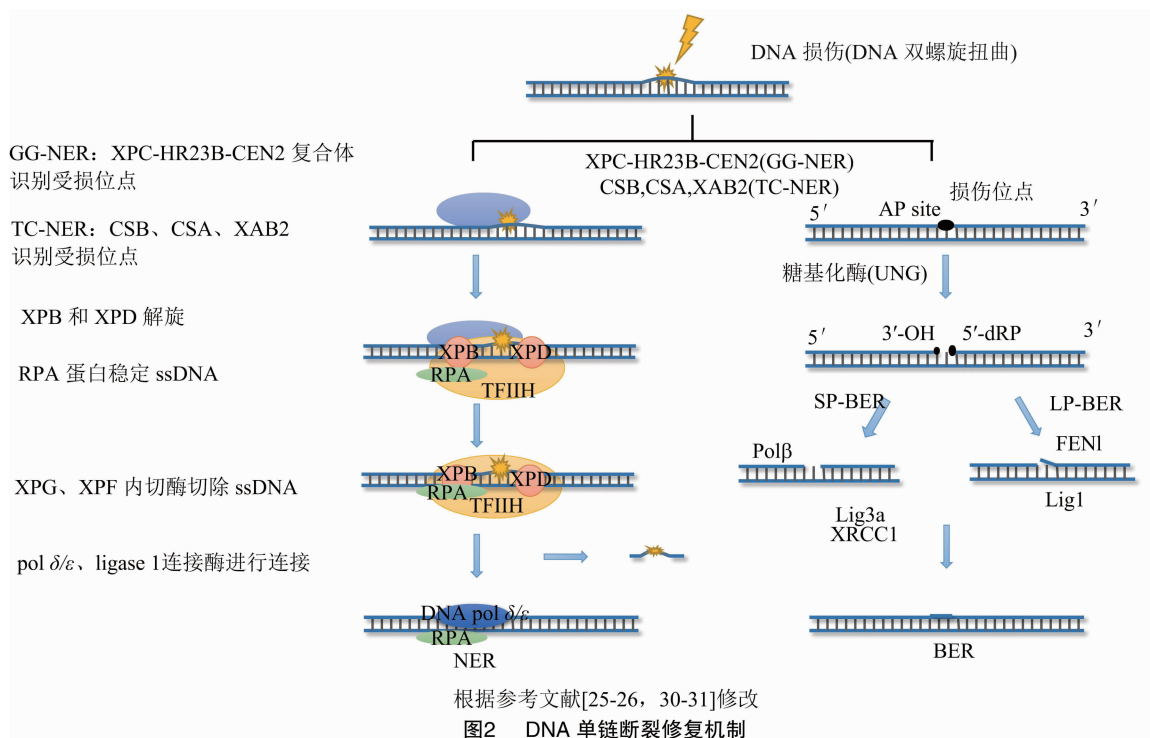
**3.1.2 BER 途径** 碱基切除修复 (BER) 可处理由内源性或外源性因素诱导的各种 DNA 损伤。BER 是一个复杂的过程 (图 2),目前在微生物和动物中得到广泛研究,但在植物中的研究一直滞后。下文涉及的修复因子主要是细菌和哺乳动物系统的研究结果。

BER 由特异性 DNA 糖基化酶启动,受损的 DNA 碱基由一种或几种具有特异性的 DNA 糖基化酶识别并将其切除,产生 1 个无碱基位点 (AP site),在短片段碱基切除修复 (SP-BER) 中,AP 核酸内切酶将受损碱基 5' 端的磷酸二酯键切开,产生 3' 端

羟基残基 (3' - OH) 和 5' 端脱氧核糖磷酸 (5' - dRP),并以此为底物,通过 DNA 聚合酶  $\beta$  (Pol $\beta$ ) 聚合 1 个新的脱氧核苷酸到 DNA 链上,5' - dRP 随后被切除,切除后产生的位点通过 Lig1 (DNA ligase 1) 或 Lig3 (DNA ligase 3) 和 XRCC1 (X - ray repair cross - complementing protein 1) 的复合物进行修复<sup>[28-29]</sup>。

在长片段碱基切除修复 (LP-BER) 中,由多功能糖基化酶切除碱基产生断裂单链,由于新加入的核苷酸数目较多,会在其下游顶起一个 Flap 结构,该结构由核酸酶 FEN1 (flap endonuclease) 特异切除,最后由 Lig1 完成修复。植物中除不存在 Pol $\beta$  外,具有大多数 BER 蛋白的同源物,也拥有一些植物特异性 BER 蛋白<sup>[30-31]</sup>。

由于 BER 期间的核苷酸切除,导致 DNA 单链断裂 (SSB) 的瞬时形成,因此 BER 酶也是 SSB 修复的主要参与者。



**3.1.3 MMR 途径** DNA 复制具有高度忠实性,聚合酶的选择是复制过程中保真度的主要决定因素;随后对 DNA 链进行校对,如果链延伸过程中产生错配,则启动错配修复 (MMR) 机制,错配修复 (MMR) 途径纠正聚合酶校对后遗留的罕见错误,将复制保真度提高了 100 倍以上;核苷酸的选择性、校对和 MMR 协同作用,保障基因组的稳定性<sup>[31]</sup>。

MMR 途径能够在 DNA 复制、遗传重组、DNA 损伤修复期间识别和修复碱基的错误插入和缺失<sup>[32]</sup>。植物 MMR 系统由 MutL、MutS 等错配修复同系物组成,原核生物中没有发现 MutH,作为 MMR 系统中最重要的单体,MSH2、MLH1 与其他 MMR 蛋白形成异二聚体,例如 MutS $\alpha$  (MSH2 - MSH6)、MutS $\beta$  (MSH2 - MSH3)、MutS $\gamma$  (MSH2 - MSH7)、



MutL $\alpha$  (MLH1 - PMS1)、MutL $\gamma$  (MLH1 - MLH3)、MutS $\alpha$  主要参与短插入/缺失环 (IDL) 和碱基错配的校正,而 MutS $\beta$  优先去除大 IDLs (2 ~ 12 个核苷酸),植物特异性 MutS $\gamma$  主要识别单碱基错配<sup>[33-34]</sup>。

### 3.2 DNA 双链断裂修复 (DSBR) 机制

DNA 双链断裂 (DNA double-strand breaks, DSBs) 是真核细胞中最为严重的 DNA 损伤类型之一,单个裸露的 DSB 即可诱发细胞凋亡。细胞主要使用 2 种途径来修复 DSB:非同源末端连接 (NHEJ) 和同源重组修复 (HR)。目前认为细胞周期是选择 DNA 修复途径的关键调节因素,NHEJ 在 G1 期最为重要。HR 在细胞周期的 S 期和 G2 期起作用<sup>[35-36]</sup>。两者共同发挥作用,以维持基因组的稳定性。

**3.2.1 NHEJ 途径** NHEJ 的修复是快速但并非精确的,修复过程中可能会随机引入和去除几个碱基 (图 3),该途径涉及以下步骤:首先 Ku 蛋白 (Ku70/Ku80) 复合物识别损伤并结合到 DSBs 末端,Ku - DNA 复合物与 DNA 依赖性蛋白激酶 (DNA - PK) 催化亚基 (DNA - PKcs) 相互作用,形成具有稳定性和功能性的 DNA - PKcs 复合物,DNA - PK 活化蛋白在体内经历广泛的自磷酸化,启动 NHEJ 通路,随后对 DNA 末端进行处理,Ku 蛋白的 5' - dRP/AP 裂解酶活化切除 5' - dRP/AP 位点,酪氨酸 - DNA 磷酸二酯酶 (TDP2) 解旋 5'磷酸酪氨酸与 DNA 间的

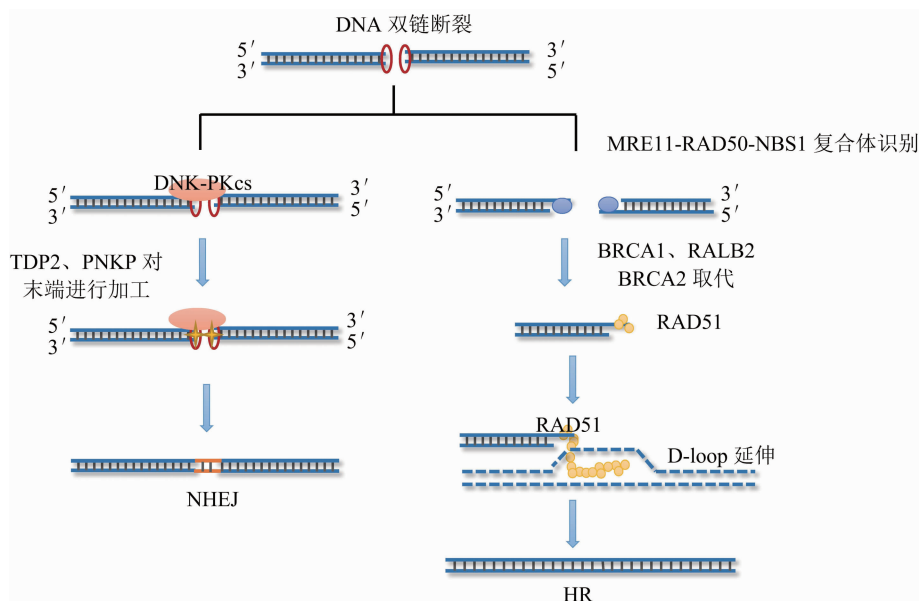
磷酸二酯键,多核苷酸激酶/磷酸酶 (PNKP) 的 3' - DNA 磷酸酶和 5' - DNA 激酶活性可连接 5' - 磷酸和 3' - 羟基末端等,最后由 XRCC4 - LIG4 - XLF 复合物促使 DNA 末端进行连接<sup>[37]</sup>。

**3.2.2 HR 途径** 从 NHEJ 到 HR 的转变是渐进的。HR 是一种高保真修复途径,由多种成分介导,被认为比末端连接更能保护基因组完整性<sup>[38]</sup>。在 HR 途径中,首先以未受损的姐妹染色单体的同源序列作为修复模板 (图 3),随后 MRN 复合物识别受损位点,结合到 DNA 末端,通过核酸酶处理 DSB 位点产生 3' - ssDNA 尾部,3' - ssDNA 尾部由 RPA 结合蛋白包裹,使其免受核酸酶的降解并去除二级结构,BRCA2 蛋白介导 RPA 被 RAD51 取代,RAD51 在 DNA 上形成核蛋白丝,RAD51 核蛋白开始寻找同源 DNA 序列,侵入完整的双链 DNA 分子,形成置换环 (D-loop);最后 D-loop 延伸或与另一个末端连接,完成修复过程<sup>[37]</sup>。

## 4 DNA 损伤修复对水稻生长发育的影响

### 4.1 影响初生根

RecQ 解旋酶是 ATP 依赖性解旋酶家族的成员,积极参与基因组监测,在 DNA 复制、重组、修复等多种 DNA 代谢过程中具有不同的作用,在维持基因组的稳定性方面起重要作用。水稻 *OsRecQ14* 的表达仅限于分生组织 (RAM),*osrecq14* 突变体对 DNA 损伤剂 (博来霉素) 表现出超敏反应,表明



根据参考文献[37]修改

图3 DNA 双链断裂修复机制

*OsRecQ14* 可能参与 DNA 单链断裂 (SSB) 和 DSB 的修复;*osrecql4* 突变体对 DNA 聚合酶的抑制剂也表现出敏感性,表明 *OsRecQ14* 在 S 期停滞恢复过程中具有一定的作用。在 *osrecql4* 突变体中 HR 修复功能增强,可修复部分 DSB,未修复的 DSB 诱导根分生组织的细胞死亡<sup>[39]</sup>。因此,*OsRecQ14* 通过参与 RAM 中 DNA 复制及 DNA 损伤修复过程,影响根系的生长,维持基因组稳定。

#### 4.2 影响叶片生长

在 DNA 复制期间和复制后,生物体存在高度保守的调节作用和保护遗传物质的机制<sup>[40]</sup>。DNA 复制通过核糖核苷酸还原酶 (RNR) 严格控制 dNTP 的合成,将单个 dNTP 的浓度维持在不同水平。不平衡的 dNTP 会影响复制的保真度,此外 dNTP 浓度在 G1、S 期增加,与 DNA 复制开始时期相吻合。水稻 *ALR* 基因编码一种在所有组织中表达的典型 DCD 蛋白,*ALR* 基因功能的丧失,使 DCD 蛋白缺乏结合能力,降低 dNTP 水平并扰乱 dNTP 的平衡。*osalr* 突变体表现为植株矮小、叶片细胞数量减少和细胞长度增加,随着叶片的生长,近乎白化的叶片出现白绿色条纹和坏死斑点。*osalr* 突变体对 DNA 损伤剂敏感,DNA 损伤剂诱导 DNA 修复和 DNA 复制检查点的激活,但随着未修复 DNA 的积累,产生更严重的 DNA 损伤,细胞死亡增加。*osalr* 突变体中缺乏 DCD 蛋白,导致细胞周期进程出现缺陷,具体表现为从 G1/S 期到 G2/M 期的过渡受阻,不仅影响核基因组复制,使细胞分裂减少,质体基因组复制和叶绿体分裂也受到影响<sup>[41]</sup>。因此,*ALR* 基因通过影响 DNA 复制和增加 DSB 积累来影响叶片生长。

#### 4.3 影响花发育

减数分裂过程中,同源重组在增加遗传多样性和维持基因组稳定性方面起着重要作用,复制蛋白 A (RPA) 是由 RPA1、RPA2、RPA3 组成的异源三聚体,已被证明对 DNA 复制、DNA 损伤信号传导、DNA 修复和同源重组至关重要。RPA 通过多个寡核苷酸/寡糖结合折叠,包被和保护暴露的 ssDNA 免受核酸酶的伤害。作为一种典型的支架蛋白,RPA 可与多种蛋白质相互作用,包括 DNA 核酸酶、DNA 解旋酶和 DNA 聚合酶等。水稻 *RPA1a* 基因突变后,观察到减数分裂期出现缺陷,Ⅱ型 CO (cross over) 大大增加,出现染色体碎片和染色体桥,四分体中形成微核,最终导致植株雄配子体部分可育,而雌配子体完全不育。进一步试验表明,水稻

*RPA1a* 在减数分裂过程中限制交叉形成,并通过与 FANCM 复合物或 BTR 复合物相互作用,来调节重组中间体的准确加工<sup>[42]</sup>。此外,*osrpa1a* 突变体对紫外线辐射以及 DNA 损伤剂丝裂霉素和甲磺酸甲酯敏感<sup>[43]</sup>。因此,*OsRPA1a* 基因通过调节减数分裂过程中的同源重组修复以促进 DSB 修复,来维持基因组稳定性。

#### 4.4 影响种子发育

在植物中,DNA 损伤反应 (DDR) 和修复系统是抵御环境胁迫 (紫外线 B 辐射、干旱、盐、热和其他因素,如金属) 最重要的防御系统之一。在应对环境压力过程中产生的活性氧,可以改变碱基并损害糖残基,导致双链断裂和 DNA 片段化。在种子寿命相关研究中发现,DNA 修复机制和 DNA 损伤反应 (DDR) 是控制种子发芽和决定种子发芽潜力的关键因素<sup>[44]</sup>。拟南芥通过转录因子 SOG1 整合了 ATM、ATR 信号传导,延迟程序性细胞死亡,最大限度减少了 DNA 损伤的影响。*OsSOG1*、*OsSGL* 是拟南芥 DDR 蛋白 AtSOG1 的水稻同源基因,且 *OsSGL* 为 *OsSOG1* 的下游靶标。水稻中 *OsSOG1* 的缺乏,导致其对 DNA 损伤的敏感性显著增加,并抑制响应 DNA 损伤的基因表达 (如 *Rad51A2*、*PARP2A*、*MSH4*、*MSH5* 等),延迟 DDR 反应,积累 DNA 损伤。*sog1-sgl* 双突变植株倾向于严重的 DNA 损伤表型<sup>[45]</sup>。进一步试验表明,*OsSOG1* 在氧化应激反应中也起着重要作用<sup>[46]</sup>。因此 *OsSOG1* 通过调节 DNA 损伤反应进程和损伤修复,来影响水稻生长发育。

### 5 水稻基因组稳定性研究的未来方向

基因组的稳定性是长期进化形成的。前期研究主要集中在对新基因及其功能的挖掘,目前已经克隆出很多参与维持基因组稳定的关键性基因 (表 1)。但是,对于这些基因之间的相互关系以及其信号传递却鲜有报道。随着现代生物技术的不断发展和优化,对水稻生长发育过程中 DNA 损伤及修复调控网络的认识将会更加全面,同时也有助于水稻育种探索。

水稻基因组稳定与绿色超级稻 (GSR) 的培育。预计 2050 年全球人口将达到 90 亿,人口和环境的压力倍增;在此基础上,我国科学家提出了新目标,即开发绿色超级稻品种,在持续增产和品质提升的前提下,绿色超级稻应具备抗多种病虫害、养分表

表 1 参与维持基因组稳定的关键性基因

基因 ID	基因名称	功能注释	参与特性
LOC_Os05g43610	<i>OsBRCA1</i>	包含 BRCA 的锌指蛋白	HR 修复通路
LOC_Os04g54340	<i>OsMRE11</i>	DNA 双链断裂修复蛋白	HR 修复通路
LOC_Os02g29464	<i>OsRad50</i>	DNA 修复蛋白	HR 修复通路
LOC_Os10g34580	<i>OsNBS1</i>	富含叉头关联 (FHA) 的蛋白	HR 修复通路
LOC_Os01g45530	<i>OsSSB</i>	单链 DNA 结合蛋白	HR 修复通路
LOC_Os07g30240	<i>OsMSH4</i>	DNA 错配修复蛋白	HR 修复通路
LOC_Os07g08729	<i>OsKu70</i>	ATP 依赖性 DNA 解旋酶	NHEJ 修复通路
LOC_Os04G51700	<i>OsLig4</i>	DNA 连接酶	NHEJ 修复通路
LOC_Os03G53000	<i>OsXRCC4</i>	DNA 修复蛋白	NHEJ 修复通路
LOC_Os07g23110	<i>OsPARP1</i>	DNA 聚合酶	NHEJ 修复通路

达仅限于分生组织 (RAM), *osrecql4* 突变体对 DNA 损伤剂 (博来霉素) 表现出超敏反应, 表明率高、抗旱等特点, 有望大幅减少农药、化肥、水的消耗, 对粮食安全的保障和可持续农业的发展具有重要意义<sup>[47]</sup>。GSR 可以通过 2 个阶段来实现, 第 1 阶段的任务是研究水稻重要农艺性状的基因功能及其分子调控网络, 目前已经部分实现; 第 2 阶段的任务是在整个基因组稳定遗传的基础上将所需基因进行积累, 使水稻品种得到逐步改良, 这是具有很大挑战性的。GSR 育种计划已经出现使用上述育种策略改良优良品种的成功案例, 即表现出对 1 种或多种非生物/生物胁迫的耐受性。水稻基因组稳定性是体现各种绿色性状 (基因) 育种价值的基础。

水稻是最古老的驯化谷物之一, 水稻的驯化过程体现在对农学重要性状进行人工选择的过程, 如种子落粒性、打破种子休眠、株型、每穗粒数、耐胁迫性和籽粒颜色等, 以及对维持基因组稳定关键基因的选择<sup>[48]</sup>, 例如水稻驯化和现代育种过程中 *HUO* 基因的去除。*HUO* 是一个活跃的长末端重复 (LTR) 逆转录转座子, 存在于所有野生物种和 42% 的地方品种中, 在水稻驯化和现代育种过程中, *HUO* 可能已从水稻品种中去除。*HUO* 可以触发强烈的宿主基因组防御或监视系统, 有效抑制 *HUO* 的转录, 而且还在整个基因组中诱导表观遗传的不稳定性。进一步分析表明, *HUO* 通过 RNA 定向的 DNA 甲基化途径受到严格的沉默, 多个 *HUO* 拷贝可以通过改变全基因组 DNA 甲基化和小 RNA 生物发生以及改变基因表达来触发基因组的不稳定, 导致抗病性和产量下降<sup>[49]</sup>。因此, 水稻驯化和现代育种是维持水稻基因组稳定研究的又一重要方向。

综上所述, 在生长发育过程中有多种因素会造

成水稻基因组不稳定, 同时触发保护机制来抵抗这种不稳定。对水稻基因组稳定性的研究, 聚焦在减少损伤和增强修复的基因挖掘方面, 优化和加强这些基因的应用研究, 是科学育种的又一方向, 也是人工促进水稻的定向进化。

参考文献:

[1] Tong A H Y, Evangelista M, Parsons A B, et al. Systematic genetic analysis with ordered arrays of yeast deletion mutants[J]. Science, 2001, 294(5550): 2364 – 2368.

[2] Puddu F, Herzog M, Selivanova A, et al. Genome architecture and stability in the *Saccharomyces cerevisiae* knockout collection [J]. Nature, 2019, 573(7774): 416 – 420.

[3] Kennedy J A, Syed S, Schmidt K H. Structural motifs critical for *in vivo* function and stability of the RecQ – mediated genome instability protein Rmi1 [J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0145466.

[4] Jackson S P, Bartek J. The DNA – damage response in human biology and disease[J]. Nature, 2009, 461(7267): 1071 – 1078.

[5] Lambert S, Carr A M. Replication stress and genome rearrangements: lessons from yeast models [J]. Current Opinion in Genetics & Development, 2013, 23(2): 132 – 139.

[6] Alexandrov L B, Nik – Zainal S, Wedge D C, et al. Deciphering signatures of mutational processes operative in human cancer [J]. Cell Reports, 2013, 3(1): 246 – 259.

[7] Jiang J M, Mao N, Hu H A, et al. A SWI/SNF subunit regulates chromosomal dissociation of structural maintenance complex 5 during DNA repair in plant cells[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(30): 15288 – 15296.

[8] Motofei I G. Biology of cancer; from cellular and molecular mechanisms to developmental processes and adaptation[J]. Seminars in Cancer Biology, 2022, 86(Pt3): 600 – 615.

[9] Alexander J L, Orr – Weaver T L. Replication fork instability and the consequences of fork collisions from rereplication [J]. Genes & Development, 2016, 30(20): 2241 – 2252.

[10] Brown R E, Freudenreich C H. Structure – forming repeats and their

- impact on genome stability [J]. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2021, 67: 41–51.
- [11] Hamperl S, Cimprich K A. The contribution of co-transcriptional RNA:DNA hybrid structures to DNA damage and genome instability [J]. *DNA Repair*, 2014, 19: 84–94.
- [12] Yang Z, Li M M, Sun Q W. RHON1 co-transcriptionally resolves R-loops for *Arabidopsis* chloroplast genome maintenance [J]. *Cell Reports*, 2020, 30(1): 243–256.
- [13] Srinivas U S, Tan B W Q, Vellayappan B A, et al. ROS and the DNA damage response in cancer [J]. *Redox Biology*, 2019, 25: 101084.
- [14] Chatterjee N, Walker G C. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis [J]. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2017, 58(5): 235–263.
- [15] Chirinos-Arias M C, Spampinato C P. Role of the mismatch repair protein MSH7 in *Arabidopsis* adaptation to acute salt stress [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 169: 280–290.
- [16] Hartman P E, Hartman Z. Direct interception of mutagens and carcinogens by biomolecules [M]//Antimutagenesis and anticarcinogenesis mechanisms III. Boston, MA: Springer US, 1993: 351–366.
- [17] Beranek D T. Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents [J]. *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1990, 231(1): 11–30.
- [18] Angon P B, Tahjib-Ul-Arif M, Samin S I, et al. How do plants respond to combined drought and salinity stress? —a systematic review [J]. *Plants*, 2022, 11(21): 2884.
- [19] Hasanuzzaman M, Nahar K, Alam M, et al. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(5): 9643–9684.
- [20] Morgan C, Zhang H K, Bomblies K. Are the effects of elevated temperature on meiotic recombination and thermotolerance linked via the axis and synaptonemal complex? [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2017, 372(1736): 20160470.
- [21] Ning Y J, Liu Q P, Wang C, et al. Heat stress interferes with formation of double-strand breaks and homolog synapsis [J]. *Plant Physiology*, 2021, 185(4): 1783–1797.
- [22] Zhao K, Sun X X, Zheng C H, et al. Enhancement of xrc1-mediated base excision repair improves the genetic stability and pluripotency of iPSCs [J]. *Science Bulletin*, 2022, 67(11): 1126–1130.
- [23] Maddukuri L, Dudzińska D, Tudek B. Bacterial DNA repair genes and their eukaryotic homologues; 4. The role of nucleotide excision DNA repair (NER) system in mammalian cells [J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2007, 54(3): 469–482.
- [24] Foustier M, Mullenders L H. Transcription-coupled nucleotide excision repair in mammalian cells: molecular mechanisms and biological effects [J]. *Cell Research*, 2008, 18(1): 73–84.
- [25] Jeppesen D K, Bohr V A, Stevnsner T. DNA repair deficiency in neurodegeneration [J]. *Progress in Neurobiology*, 2011, 94(2): 166–200.
- [26] Kunz B A, Anderson H J, Osmond M J, et al. Components of nucleotide excision repair and DNA damage tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2005, 45(2/3): 115–127.
- [27] David C. Replication-coupled DNA repair [J]. *Molecular Cell*, 2019, 74(5): 866–876.
- [28] Hays J B. *Arabidopsis thaliana*, a versatile model system for study of eukaryotic genome-maintenance functions [J]. *DNA Repair*, 2002, 1(8): 579–600.
- [29] Roldán-Arjona T, Ariza R R. Repair and tolerance of oxidative DNA damage in plants [J]. *Reviews in Mutation Research*, 2009, 681(2/3): 169–179.
- [30] Garcia-Diaz M, Bebenek K. Multiple functions of DNA polymerases [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2007, 26(2): 105–122.
- [31] Jiang M, Wu X J, Song Y, et al. Effects of *OsMSH6* mutations on microsatellite stability and homeologous recombination in rice [J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 220.
- [32] Spampinato C P, Gomez R L, Galles C, et al. From bacteria to plants: a compendium of mismatch repair assays [J]. *Reviews in Mutation Research*, 2009, 682(2/3): 110–128.
- [33] Singh S K, Roy S, Choudhury S R, et al. DNA repair and recombination in higher plants: insights from comparative genomics of *Arabidopsis* and rice [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 443.
- [34] Gómez R, Spampinato C P. Mismatch recognition function of *Arabidopsis thaliana* MutSγ [J]. *DNA Repair*, 2013, 12(4): 257–264.
- [35] Ceccaldi R, Rondinelli B, D'Andrea A D. Repair pathway choices and consequences at the double-strand break [J]. *Trends in Cell Biology*, 2016, 26(1): 52–64.
- [36] Karanam K, Kafri R, Loewer A, et al. Quantitative live cell imaging reveals a gradual shift between DNA repair mechanisms and a maximal use of HR in mid S phase [J]. *Molecular Cell*, 2012, 47(2): 320–329.
- [37] Spampinato C P. Protecting DNA from errors and damage: an overview of DNA repair mechanisms in plants compared to mammals [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2017, 74(9): 1693–1709.
- [38] House N C, Polleys E J, Quasem I, et al. Distinct roles for *S. cerevisiae* H2A copies in recombination and repeat stability, with a role for H2A.1 threonine 126 [D]. United States: Tufts University, University of Alaska Anchorage, 2019, 8.
- [39] Yong-Ik K, Kiyomi A, Masaki E, et al. DNA replication arrest leads to enhanced homologous recombination and cell death in meristems of rice *OsRecQ4* mutants [J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 13(1): 62.
- [40] Buckland R J, Watt D L, Chittoor B, et al. Increased and imbalanced dNTP pools symmetrically promote both leading and lagging strand replication infidelity [J]. *PLoS Genetics*, 2014, 10(12): e1004846.



和国优,郭建伟,孔垂思.生防菌对烟草青枯病控制的研究进展[J].江苏农业科学,2023,51(23):9-16.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.23.002

# 生防菌对烟草青枯病控制的研究进展

和国优<sup>1</sup>,郭建伟<sup>2</sup>,孔垂思<sup>1,2</sup>

(1. 云南省农业科学院农业环境资源研究所,云南昆明 650221; 2. 中国科学院昆明植物研究所,云南昆明 650201)

**摘要:**烟草是我国主要的经济作物之一,其种植面积和产量均居世界首位。生产优质烟叶的基础是具备适宜的土壤条件,随着我国烟草种植年限的加长,植烟过程中多种病虫害的危害不断加剧,特别是烟草青枯病的发生严重影响我国烟草行业的可持续发展。烟草青枯病是由茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的系统性维管束病害,主要侵染植株的根、茎、叶,尤其是根、茎部位感染较严重,且寄主范围、分布范围极广,是烟叶生产过程中的毁灭性病害,给烟农造成重大的经济损失。目前,在生产中以化学农药防治、选育抗病品种、优化栽培技术措施及生物防治等手段来控制烟草青枯病的发生,其中以化学防治为主。近年来,随着资源的可持续发展及农业病虫害绿色防控技术的不断推进,利用生防菌防治烟草青枯病受到越来越多人的关注。本文主要总结了三大类烟草青枯病生防菌(细菌、真菌和放线菌)的来源、防治效果以及对应的防治机制,并对目前存在的问题和发展方向进行了简单的阐述,为烟草青枯病的绿色防控技术提供参考依据。

**关键词:**烟草青枯病;生防菌;防治机制;竞争作用;拮抗作用;促生作用

**中图分类号:**S435.72 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)23-0009-08

我国植烟历史悠久,且是世界上最大的烟叶生产及消费大国<sup>[1]</sup>。我国烟草行业的快速发展,带动了农民的就业及收入,对农业经济产生了积极的影

响<sup>[2]</sup>。但烟草行业受到青枯病等病虫害的不利影响,给产业发展造成重大损失。数据显示我国烟叶主产区由病虫害造成的经济损失高达 12 亿元,占有损失的 80% 左右<sup>[3]</sup>。烟草青枯病是由茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的细菌性土传病害,其典型的症状是枯萎,感染较重时可导致整株枯萎死亡<sup>[4]</sup>。我国已有 30 个省份报道了青枯病的发生,其中烟草青枯病在 22 个主产区的 14 个地区广泛发生,且青枯病的发生有向北扩张的趋势<sup>[5-6]</sup>。

收稿日期:2023-03-04

基金项目:云南省重大科技专项(编号:202202AE0910015)。

作者简介:和国优(1994—),女,云南丽江人,硕士,研究实习员,研究方向为烟草病害防治。E-mail:www1995hgy@163.com。

通信作者:孔垂思,博士,研究员,研究方向为烟草病害防治。E-mail:wwwkcs@126.com。

[41] Niu M, Wang Y H, Wang C M, et al. ALR encoding dCMP deaminase is critical for DNA damage repair, cell cycle progression and plant development in rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(21/22): 5773-5786.

[42] Chang Y X, Gong L, Yuan W Y, et al. Replication protein A (RPA1a) is required for meiotic and somatic DNA repair but is dispensable for DNA replication and homologous recombination in rice[J]. Plant Physiology, 2009, 151(4): 2162-2173.

[43] Ishibashi T, Kimura S, Furukawa T, et al. Two types of replication protein A 70 kDa subunit in rice, *Oryza sativa*; molecular cloning, characterization, and cellular & tissue distribution[J]. Gene, 2001, 272(1/2): 335-343.

[44] Waterworth W M, Latham R, Wang D P, et al. Seed DNA damage responses promote germination and growth in *Arabidopsis thaliana* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(30): e2202172119.

[45] Nishizawa Y, Yokoi A, Motoyama R, Tanaka T, et al. SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1 plays rice-specific roles in DNA damage response and repair[J]. Plant Physiology, 2023, 191(2): 1288-1304.

[46] Mahapatra K, Roy S. SOG1 transcription factor promotes the onset of endoreduplication under salinity stress in *Arabidopsis* [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 11659.

[47] Zhang Q F. Strategies for developing green super rice [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(42): 16402-16409.

[48] Izawa T, Konishi S, Shomura A, et al. DNA changes tell us about rice domestication[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12(2): 185-192.

[49] Peng Y, Zhang Y Y, Gui Y J, et al. Elimination of a retrotransposon for quenching genome instability in modern rice [J]. Molecular Plant, 2019, 12(10): 1395-1407.