

水稻调控淀粉合成基因的研究进展

高振楠^{1,2}, 郝媛媛², 李春寿², 黄福灯², 赵向前², 田志宏¹

(¹长江大学生命科学学院/湿地生态与农业利用教育部工程研究中心/涝渍灾害与湿地农业湖北省重点实验室, 荆州 434025;

²浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所, 杭州 310021)

摘要: 水稻是全球重要的粮食作物之一, 近年来随着人们生活质量提升, 对稻米的品质逐渐重视。胚乳是稻米的主要组成成分, 为种子萌发和种胚发育提供能量, 其中淀粉含量约占水稻种子干物质积累的80%, 研究淀粉生物合成的分子机制对水稻品质改良具有重要理论意义与应用价值。虽然淀粉的基本合成途径已比较清晰, 但是大田条件下淀粉的合成是一个受遗传和环境条件共同决定的复杂生物学过程。由于表型鉴定相对困难, 很难通过QTL等方法对稻米品质的影响因子进行图位克隆。通过物理化学诱变获得的淀粉合成缺陷突变体多为单基因控制, 这些突变体由于淀粉颗粒形态改变或填充不紧密, 通常表现为胚乳粉质的表型, 加代纯合后构建群体可对突变基因进行图位克隆。近年来, 利用突变体克隆的新调控因子逐渐增多, 参与合成的路径多样化, 充实完善了淀粉合成的调控网络。本研究通过对近年来的此类突变体进行概括综述, 探讨影响淀粉合成的不同调控因子类型及代谢通路, 以期对水稻品质改良提供参考。

关键词: 水稻; 胚乳缺陷突变体; 淀粉合成; 品质改良

Study on Genes Regulating Starch Synthesis in Rice

GAO Zhen-nan^{1,2}, HAO Yuan-yuan², LI Chun-shou², HUANG Fu-deng², ZHAO Xiang-qian², TIAN Zhi-hong¹

(¹College of Life Science, Yangtze University/Engineering Research Center of Ecology and Agricultural Use of Wetland, Ministry of Education/Hubei Key Laboratory of Waterlogging Disaster and Agricultural Use of Wetland, Jingzhou 434025;

²Institute of Crop and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou 310021)

Abstract: Rice is one of the most important crops worldwide. In recent years, with the improvement of life quality, people have paid more attention to the taste of rice. Endosperm is the main component of rice grain, which provides energy for seed germination and embryo development. Starch accounts for about 80% in rice grain. Unlocking the molecular mechanism of starch synthesis becomes of theoretical significance and application value in improving rice quality. Although the general pathway of starch synthesis has been relatively illustrated, this process is still complicated considering the genetic and environmental interaction under field conditions. Due to the difficulty of phenotypic identification, it is hard to genetically map and isolate the genes/QTL affecting rice quality. Mutants defected in starch synthesis obtained by physical and chemical mutagenesis were mostly controlled by single nuclear gene mutation and usually showed floury endosperm due to changes of starch grains morphology or loosely packed starch filling in rice. The mutated genes could be cloned by population construction using homozygote obtained through generational breeding. In recent years, scientists have basically cloned many genes participating in multiple biological processes using these mutants, perfected the regulation pathway of starch synthesis. This paper summarizes these starch synthesis related mutants isolated

收稿日期: 2022-07-25 修回日期: 2022-08-09 网络出版日期: 2022-10-21

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220725002>

第一作者研究方向为稻米品质的遗传机理研究, E-mail: 1799984818@qq.com; 郝媛媛为共同第一作者

通信作者: 田志宏, 研究方向为水稻遗传与分子育种, E-mail: zhtian@yangtzeu.edu.cn

赵向前, 研究方向为水稻优质杂交稻的选育, E-mail: zhaoxiangqian@zaas.ac.cn

基金项目: 湿地生态与农业利用教育部工程研究中心开放基金团队项目(KFT202002); 国家自然科学基金项目(32001524)

Foundation projects: Open Project from Engineering Research Center of Ecology and Agricultural Use of Wetland, Ministry of Education of China (KFT202002); National Natural Science Foundation of China (32001524)

in recent years, and discusses different metabolic pathways involving in starch synthesis, which expects to provide reference for rice breeding and quality improvement.

Key words: rice; defective endosperm mutants; starch synthesis; quality improvement

水稻(*Oryza sativa* L.)是世界上重要的粮食作物之一,全球超过一半的人口将水稻作为主食^[1]。近年来,中国水稻经过高产育种、超高产育种、超级稻育种等,产量大幅度提高,基本满足我国日益增长的人口对稻米的总量需求^[2-3]。与此同时,随着大众生活水平和消费层次的提高,提升水稻产量的同时,改良稻米品质日益重要^[4]。胚乳是稻米的主要组成部分,胚乳的灌浆过程及相应的调控因子对稻米品质的形成具有关键作用。

淀粉是水稻种子中最主要的储藏物质,约占胚乳干物质积累的80%,是植物中储存最丰富、分布最广泛的碳水化合物,也是人类日常饮食中碳水化合物的主要来源^[5-6]。作物胚乳中产出的储存淀粉占世界淀粉市场的90%以上,其中大部分淀粉可直接作为食物消费或用作动物饲料。而且,淀粉作为一种天然廉价的可再生物质,不仅可用于农业食品领域,还可将淀粉转化为乙醇用于能源物质等工业用途^[6]。淀粉的结构、理化性质是决定稻米品质的重要因素,研究淀粉生物合成过程的分子机制对高产优质育种具有重要指导意义。近年来,通过物理化学等诱变技术获得一系列淀粉合成缺陷突变体,可用于挖掘灌浆过程中调控胚乳发育的遗传因子。本研究系统地对这些因子进行总结、分类和归纳,充实了淀粉合成调控途径,以为稻米品质改良提供理论参考。

1 胚乳和淀粉的特征

1.1 胚乳的特性

水稻种子的主要组成部分是胚乳,它吸收来自母体组织的营养,作为支持种子萌发和种胚发育的储备能量^[7-8]。水稻种子由双受精作用发育而来,其胚乳发育经历4个时期:游离核时期、胚乳细胞化时期、胚乳细胞分化期和胚乳成熟期^[9]。在胚乳细胞分化期,胚乳细胞分化形成了胚乳外围的糊粉层和里层的淀粉储藏细胞,这时储藏物质开始积累,在胚乳中糖逐步转化为淀粉并积累^[10]。

1.2 淀粉的分子结构

淀粉根据其结构差异主要分为直链淀粉和支链淀粉。直链淀粉是由 α -1,4-糖苷键连接而成的多聚葡萄糖链构成,几乎没有分支。支链淀粉高度分支,

分支由 α -1,6-糖苷键连接而成,每20~25个 α -1,4-糖苷键就有1个 α -1,6-糖苷键分支。支链淀粉具有串联的簇结构,簇由无定形层和结晶层组成,其半结晶性使淀粉不溶于水,大多数分支点位于无定形层中^[11]。直链淀粉以双螺旋结构随机分布在无定形层中^[11]。来源于不同物种和组织的淀粉颗粒形态不同,水稻胚乳淀粉颗粒由单个淀粉粒组成复合淀粉颗粒,呈现多边形、表面不规则的形态,木薯根中的淀粉颗粒呈杯状,土豆块茎中的淀粉颗粒呈光滑的圆形,拟南芥叶片中的淀粉颗粒呈椭圆形^[12]。

1.3 淀粉的生物合成

胚乳中淀粉合成是植物通过光合作用合成葡萄糖,随后转化为蔗糖,蔗糖再通过维管束被运输到籽粒造粉体中,接着在尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UGPase, UDP-glucose pyrophosphorylase)的作用下水解为UDP-葡萄糖(UDPG, UDP-glucose)和果糖,然后转化为1-磷酸葡萄糖(Glc-1-P, Glucose-1-phosphate),接着在腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase, ADP glucose pyrophosphorylase)的催化下合成腺苷二磷酸葡萄糖(ADPG, ADP glucose),最后通过一系列的酶促反应将淀粉合成前体ADPG转化为葡聚糖的生化过程^[6, 13-14]。AGPase、颗粒结合型淀粉合成酶(GBSS, granule binding starch synthase)、淀粉合成酶(SS, starch synthase)、淀粉分支酶(BE, branching enzyme)和淀粉去分支酶(DBE, debranching enzyme)是淀粉合成的关键酶。AGPase参与直链淀粉和支链淀粉的合成,GBSS主要参与直链淀粉的合成,SS、BE和DBE主要参与支链淀粉的合成。其中SS通过催化ADPG转移到葡聚糖链非还原端的葡聚糖基单元上,延伸线性葡聚糖链;BE是一种能够催化葡聚糖链上 α -1,6糖苷键形成的特异酶;DBE能够水解葡聚糖链上的 α -1,6糖苷键^[15]。这些淀粉合成的关键酶功能异常时,导致淀粉合成受阻。近年来,除了这些关键酶外,还发现一些直接参与淀粉合成的新因子,充实了淀粉合成的调控网络。

2 粉质胚乳突变体的研究现状

水稻粉质胚乳突变体是经过物理化学诱变,淀粉的合成受阻与积累异常而形成的胚乳外观不透

明的材料。根据种子突变表型的不同,可将胚乳突变体分为粉质(*Floury*)、糯性(*Waxy*)、皱缩(*Shrunk*)、垩白(*Chalky*)、糖质(*Sugary*)、暗色(*Dull*)等6类^[16]。筛选研究粉质胚乳突变体并克隆相关基因将为进一步解析淀粉合成调控网络提供帮助。粉质突变体是垩白的极端表型,水稻正常胚乳内部淀粉颗粒排列紧密,造粉体内充满复合淀粉颗粒,而粉质胚乳内部淀粉颗粒排列松散,呈粉末状,造粉体内多为单个淀粉颗粒^[17]。研究发现在水稻垩白形成的过程中,遗传因素起着主要作用,但环境因素对垩白的形成影响也较大,使基因的克隆较为困难。而利用物理化学诱变获得的突变体多为单基因控制,且表型往往受环境因素影响小,因此,胚乳粉质突变体是克隆淀粉合成调控相关基因的优良材料^[18]。通过对前人发现的淀粉合成缺陷突变体的研究进行概括,将目前所报道的基因归纳为7类:(1)淀粉合成相关基因;(2)调控淀粉合成基因的因子;(3)造粉体发育相关基因;(4)线粒体相关基因;(5)贮藏蛋白相关基因;(6)脂质合成相关基因;(7)其他调控基因。

2.1 参与淀粉合成相关基因

水稻中参与直链淀粉和支链淀粉合成的关键酶基因突变时,往往表现异常的淀粉合成,呈现粉质胚乳表型。*FLOURY ENDOSPERM8*(*FLO8*)编码UDP-葡萄糖焦磷酸化酶1(*Ugp1*, UDP-glucose pyrophosphorylase 1),突变后UGPase活性降低,影响UDPG的合成,且大部分淀粉合成相关酶基因表达改变,从而呈现粉质胚乳,淀粉粒小而圆,直链淀粉和总淀粉含量降低^[19]。*FLOURY AND SHRUNKEN ENDOSPERM2*(*FSE2*)编码鸟苷酸激酶(*GK*, guanylate kinase),突变体中AGPase亚基(*AGPS2b*)和质体磷酸化酶(*PHOI*, plastid phosphorylase 1)含量显著降低。由于突变蛋白不能正确靶向到胚乳造粉体,且AGP2b和PHOI酶活性显著降低,导致造粉体发育异常,从而产生粉质皱缩胚乳,胚乳中淀粉颗粒变小变圆,排列松散,不能形成正常的复合淀粉颗粒^[20]。*GRAIN INCOMPLETE FILLING2*(*GIF2*)编码ADPG-焦磷酸化酶大亚基AGPL2,突变体胚乳中AGPase酶活性显著降低,积累了高含量的蔗糖、果糖、葡萄糖,暗示淀粉的合成受阻,导致胚乳粉质,淀粉粒少且小^[21]。*FLO5*编码淀粉合成酶IIIa(*SSIIIa*, starch synthesis IIIa),该酶参与支链淀粉长链的合成,突变体中其他SS亚型不能完全补偿SSIIIa的功能,使得籽粒支链淀粉结构发生改

变,支链淀粉超长链显著增加,淀粉粒小且圆,排列松散,最终胚乳表现为心白粉质表型^[15]。水稻淀粉分支酶IIb(*OsBEIIb*, starch branching enzyme IIb)的缺失没有影响其他分支酶亚型(*BEI*和*BEIIa*)以及相关淀粉合成酶表达水平的显著变化,突变体的直链淀粉含量大幅增加,支链淀粉结构改变,短链显著减少,长链增多,籽粒粉质皱缩^[22]。

2.2 调控淀粉合成基因的因子

尽管目前研究已经明确了淀粉合成关键酶在淀粉合成过程中的协同表达,但除淀粉合成关键酶的重要作用外,还有其他大量的因子调控这些淀粉合成酶基因。

2.2.1 调控 *Wx* 的相关基因 水稻 *Waxy*(*Wx*)基因是直链淀粉合成的最主效基因,对稻米的蒸煮和食味品质起着重要作用。研究表明,多个暗色胚乳突变体通过影响 *Wx^b* 前体 mRNA 的剪接效率调控 *Wx^b* 基因的表达,导致直链淀粉含量显著降低。*Dull1*(*Du1*)和 *Du2* 通过与 *Wx^b* 基因的剪接增强子结合,引导 *Wx^b* 基因的剪接;*Du3* 编码细胞核帽子结合蛋白 20(*CBP20*, Cap-binding protein 20),参与 *Wx^b* 前体 mRNA 的剪切和向外转运;*Du13* 编码锌指蛋白,与细胞核 CBP 蛋白协调 *Wx^b* 基因转录本的剪接^[23-26]。*Rice Starch Regulator1*(*RSR1*)编码一个 AP2/EREBP 家族的转录因子,*RSR1* 负向调控部分淀粉合成基因 *Wx*、*SSIIa*、*SSIIIa*、*BEIIb*、*Isoamylase1*(*ISA1*)、*Pullulanase*(*PUL*)的转录,突变体 *rsr1* 胚乳中 *Wx* 转录水平提升,直链淀粉含量提高,支链淀粉结构等理化性质发生显著改变,籽粒增大,胚乳呈粉质心白表型^[27]。*Nuclear Factor-YB1*(*NF-YB1*)编码核因子 Y 转录因子亚基,*NF-YB1* 可结合到 *Wx* 的“G-box”区域并激活 *Wx* 的表达^[28]。

2.2.2 其他作用因子 核因子 NF-Y 家族广泛调控贮藏物质(蛋白和淀粉)的积累,影响胚乳的发育过程^[28-29]。*NF-YC12* 和 *NF-YB1* 编码核因子 Y 转录因子亚基,*NF-YC12* 可结合到 *FLO6* 和氨基酸合成酶基因 *OsGS1;3* 的启动子区域并调节其表达,且 *NF-YC12* 通过胞浆中保守的组蛋白折叠基序(HFMs, histone folding motif)和 *NF-YB1* 发生互作,协同调控蔗糖转运基因 *Sucrose transport1*(*OsSUT1*)的表达^[28-29]。*Basic leucine zipper58*(*OsbZIP58*)/*Rice seed b-zipper1*(*RISBZ1*)编码 bZIP 转录因子,*OsbZIP58* 在体内与多个淀粉合成相关酶基因的启动子区域结合并调节其表达^[30-31]。*OsbZIP58* 与醇溶蛋白盒结合因子(RPBF, prolamins box binding factor)可以结

合到籽粒贮藏蛋白(SSP, seed storage protein)基因启动子区域相应的顺式元件(*RISBZ1/GCN4*和*RPBF/P-box*)上,协同调控籽粒贮藏蛋白相关基因的表达,且*OsZIP58*与*RPBF*可激活*OsPPDKB*(*Pyruvate orthophosphate dikinase B*)基因的表达,间接调控胚乳中脂质和淀粉的合成^[32-33]。

2.3 造粉体发育相关基因

造粉体与叶绿体相同,是由原质体发育而来,其中造粉体属于白色体的一种,是植物细胞中唯一合成与储藏淀粉的细胞器。造粉体的基本结构主要包括外膜(OEM, outer envelope membrane)、内膜(IEM, inner envelope membrane)、膜间隙(IMS, intermembrane space)与淀粉颗粒之间的基质部分^[34]。水稻淀粉颗粒属于复合淀粉颗粒,内含多个单(亚)淀粉颗粒,被造粉体双层膜包裹。造粉体中的淀粉粒通过吸收基质提供的营养不断变大并相互挤压,最后形成规则的多面体晶体结构的成熟淀粉颗粒。当造粉体发育异常时,会影响淀粉合成和胚乳发育^[35]。*SUBSTANDARD STARCH GRAIN4*(*SSG4*)和*SSG6*分别编码含DUF490结构域的未知功能蛋白和氨基转移酶。突变体胚乳中造粉体都显著增大,亚淀粉颗粒略微变小,复合淀粉颗粒变大是由于亚淀粉颗粒数量的增加,籽粒表现为垩白增多^[36-37]。*FLOURY ENDOSPERM6*(*FLO6*)编码1个含CBM48结构域的蛋白,该蛋白作为脚手架蛋白,通过C端的CBM48结构域结合淀粉;通过N端的结构域与异淀粉酶(*ISA1*, isoamylase1)互作,参与*ISA1*与淀粉的结合。突变体*flo6*中存在3种不正常的造粉体结构,胚乳粉质不透明^[38]。*FLO7*编码1个含DUF1338结构域的未知功能蛋白,该蛋白定位于造粉体基质,与造粉体发育相关。突变体直链淀粉含量显著降低,支链淀粉结构改变,胚乳表现为外围粉质,中间透明^[39]。*FLO11*编码热激蛋白70(*OsHsp70cp-2*, heat shock protein 70),*OsHsp70cp-2*能与Tic复合物(Tic complex, protein translocons at inner envelope membrane complex)结合,调控蛋白进入造粉体中,突变体籽粒中*OsHsp70cp-2*表达水平显著降低,导致造粉体多为单个淀粉颗粒,形状不规则,籽粒中心和外围部分表现为粉质^[40]。

2.4 线粒体相关基因

线粒体是一种半自主复制细胞器,主要进行ATP合成、细胞内信号转导、代谢调控和程序性细胞死亡等生物过程,在植物生长发育中具有重要作用^[41]。线粒体为植物发育提供能量,是细胞进行有

氧呼吸的主要场所。有氧呼吸是在线粒体内膜上转移高能电子,并最终传递给氧气的过程,参与此过程的组分称为电子传递链,由复合体I、II、III、IV和复合体V(ATP合酶)组成^[42]。复合体I(NADH脱氢酶)嵌入线粒体内膜,并介导电子从NADH转移至泛醌(辅酶Q),是电子进入电子传递链的主要入口点^[43]。目前多项研究表明,与线粒体相关的粉质突变体基因造成的剪接缺陷能影响复合体I的装配和稳定。线粒体功能异常会使得突变体ATP合成受阻,造成胚乳粉质和皱缩的表型。

2.4.1 线粒体呼吸链组分 线粒体中的NADH脱氢酶在生物代谢过程中起着重要作用,是线粒体呼吸链的入口酶,*nad*(*NADH dehydrogenase subunit*)系列基因编码蛋白是NADH脱氢酶的重要亚基,对于正常线粒体的结构和功能至关重要。线粒体的呼吸作用为需氧细胞提供了几乎全部的能量,所以NADH脱氢酶的缺陷可能会造成需氧细胞的死亡,影响淀粉合成和胚乳发育^[44]。*FLOURY AND SHRUNKEN ENDOSPERM5*(*FSE5*)编码一种靶向线粒体的植物细胞RNA识别蛋白(PORR, plant organelle RNA recognition protein),*FSE5*通过参与线粒体*nad4-1*内含子的剪接影响线粒体功能,突变体NADH酶活性下降,产生异常的线粒体嵴,呼吸速率减慢导致ATP含量降低,最终影响种子发育和活力,导致突变体呈现籽粒或幼苗致死性表型,胚乳粉质^[45]。*FLO13*编码线粒体NADH脱氢酶 $\alpha 1$ 亚家族9亚基(*OsNDUFA9*, NADH dehydrogenase fragment A subunit 9),该蛋白高度保守,作用于复合体I的组装和稳定,*FLO13*功能缺失改变了线粒体中呼吸电子链复合体相关的基因表达和蛋白积累,电子传递可能在通过复合体I时受阻,使得线粒体呼吸链受损,ATP供能不足,导致部分胚致死和胚乳粉质^[46]。

Pentatricopeptide repeat(PPR)是一种三角状五肽重复结构域,具有该结构域的蛋白称为PPR蛋白。PPR蛋白家族主要包括两个亚家族,P型PPR蛋白和PLS型PPR蛋白(E型、E'型及DYW型)。P型PPR蛋白主要参与RNA稳定、切割、剪接以及翻译激活等,而PLS型PPR蛋白主要功能为细胞器中胞嘧啶(C)到尿嘧啶(U)的RNA编辑^[47]。定位于细胞内不同细胞器的PPR蛋白,会影响不同细胞器基因表达。叶绿体定位PPR蛋白的突变体会发育为致死性白化幼苗或白条纹叶片^[48-49];线粒体定位PPR蛋白的突变体会导致胚乳粉质、生长延缓,严重的

同样导致胚致死或幼苗夭亡^[8, 10, 47, 50];细胞核定位 PPR 蛋白的突变体参与胚乳或者胚的发育^[51-53]。目前水稻方面发现突变导致胚乳粉质的 PPR 蛋白多为 P 型 PPR 蛋白,该类型蛋白可以结合到底物 RNA 的 3'或 5'端,负责 II 型内含子的剪接或切割。大多数线粒体 II 型内含子位于复合体 I 亚基的编码基因中,复合体 I 是细胞色素途径的主要入口并启动电子运输^[8]。编码 PPR 蛋白的粉质胚乳突变体的相关基因有 *FLO10*、*PPR5*、*FLO18*、*FLOURY AND GROWTH RETARDED1 (FGR1)*、*Nuclear pentatricopeptide repeat2 (OsNPPR2)* 以及 *FLO14* 等,参与呼吸链复合体亚基的编辑、切割或者剪接,突变导致线粒体呼吸速率降低,ATP 供能不足,线粒体形态发生改变,突变体呈现幼苗致死或者胚乳粉质表型^[8, 10, 47, 51-53]。*FLO18*、*PPR5* 和 *FLO10* 定位于线粒体,分别结合到 *nad1-1*、*nad-4* 和 *nad5* mRNA 的 5'UTR 区域,参与特定位点的外切,突变后,降低了剪接效率和复合体 I 的装配和活性,ATP 合成减少,使得线粒体形态发生改变,ATP 供能不足,导致胚乳粉质和幼苗致死表型^[8, 10, 47]。*FGR1*、*OsNPPR2* 以及 *FLO14* 定位于细胞核,*OsNPPR2* 突变后,*nad1-1* 不能正常剪切,从而不能积累成熟的 Nad1;*FLO14* 突变后,*nad1-2* 和 *nad2* 发生剪接缺陷,线粒体形态和结构发生异常,呼吸途径受损,进而产生胚致死和胚乳粉质的表型^[51-53]。*FLO10* 和 *OsNPPR2* 突变后,呼吸途径受损,会显著上调交替氧化酶编码基因(*AOX*, *Alternative oxidase*)的表达,*AOX* 蛋白积累明显增加^[8, 52]。*AOX* 途径是在细胞色素途径发生缺陷时启动的替代途径,通过改变自身结构等形式来主动调节线粒体中呼吸速率,以适应环境条件的改变^[52]。

2.4.2 线粒体基质 线粒体基质是由内膜包裹封闭形成的空间,三羧酸循环(TCA cycle, tricarboxylic acid cycle)主要在线粒体基质中进行,糖类、脂质、氨基酸等的代谢产物经 TCA 循环进行最终的氧化分解,从而关联磷酸戊糖途径、乙二醛酶系统、苹果酸代谢、糖酵解等多种代谢途径^[54]。线粒体基质中的 TCA 循环是能量物质代谢的核心途径,当 TCA 循环发生缺陷时,将会影响能量传输,进而影响胚乳发育^[55]。*FLO15* 编码乙二醛酶 I (*OsGLY I*, glyoxalase I),与 TCA 循环紧密相关的氨基酸代谢、蛋白质代谢以及糖酵解等途径是产生甲基乙二醛(MG, methylglyoxal)的主要来源,植物体内甲基乙二醛的分解主要依赖乙二醛酶系统,乙二醛酶 I 参与清除呼吸作用中过量积累的有毒醛类化合物。突

变体中 *GLYI* 活性显著降低/无活性,细胞质中只产生少数无定形的造粉体和较小的造粉体簇,不能形成正常的复合淀粉颗粒,总淀粉和直链淀粉含量显著减少,导致胚乳表现为心白粉质^[56]。*FLO16* 编码 NAD 依赖的胞质苹果酸脱氢酶(CMDH, cytosolic malate dehydrogenase),线粒体中苹果酸脱氢酶可催化苹果酸脱氢生成 NADH。突变导致 CMDH 活性丧失,NADH 和 ATP 含量显著减少导致能量供给不足,淀粉合成酶活性减弱,产生较多且小的造粉体,胚乳粉质不透明^[57]。*OsAlaAT1* 和 *FLO4* 分别编码丙氨酸转氨酶(AlaAT, alanine aminotransferase)和丙酮酸磷酸双激酶(PPDKB, pyruvate orthophosphate dikinase B),两者参与糖酵解途径,可在缺氧条件下被激活,*AlaAT1* 催化丙酮酸向丙氨酸的相互转化,*PPDKB* 催化丙酮酸向磷酸烯醇式丙酮酸的转化,二者协同调节水稻胚乳中磷酸烯醇式丙酮酸、丙酮酸和丙氨酸之间的连续代谢过程,调控灌浆过程中淀粉和脂质生物合成的碳流通^[58-59]。

2.5 贮藏蛋白相关基因

贮藏蛋白是水稻胚乳的重要组成部分,约占蛋白总量的 90%,贮藏蛋白主要积累于两种类型蛋白体(Protein body)中:蛋白体 I (PBI) 和蛋白体 II (PB II)。PBI 主要积累醇溶蛋白,PBII 主要积累谷蛋白和 α -球蛋白^[60]。液泡贮藏蛋白首先聚集在顺式高尔基体,通过高尔基体运输,以致密囊泡(DV, dense vesicles)的形式从反面高尔基体出芽,然后致密囊泡与前液泡区室(PVC, prevacuolar compartment)结合,最后前液泡区室与蛋白储藏囊泡(PSV, protein storage vacuole)融合完成整个贮藏蛋白的运输,或不经前液泡区室,致密囊泡与 PBII 直接融合^[61-63]。水稻种子中谷蛋白前体异常积累的突变体,是用于解析囊泡运输途径优良的遗传资源^[63]。贮藏蛋白与淀粉的合成相互协调,当贮藏蛋白合成受阻就有可能影响到淀粉的积累,造成胚乳粉质表型。

2.5.1 内质网相关途径 包被蛋白复合体 II (COPII, coat protein complex II) 介导内质网中新合成蛋白质向高尔基体的正向运输(Anterograde transport),COPI 介导内质网和高尔基体之间的逆向运输(Retrograde transport)^[64]。*GLUTELIN PRECURSOR ACCUMULATION4 (GPA4)* 编码 1 个膜蛋白 GOLGI TRANSPORT 1B (GOT1B),特异定位于内质网输出位点(ERES, ER exit sites)的 GOT1B 与 Secretion-associated Ras-related protein 1 (Sar1) 共同招募 SEC23/SEC24 异二聚体 (SECRETORY23/SECRETORY24

complex)形成出芽前复合物,完成货物的预装,然后招募SEC13/SEC31异二聚体形成COPII囊泡的外被^[65]。*OsSar1*编码1个小G蛋白,充当分子开关,起始COPII囊泡的形成。当GPA4和*OsSar1*功能受到抑制会影响COPII囊泡的形成,阻碍蛋白从内质网的输出,导致谷蛋白和 α -球蛋白滞留在内质网中,引起内质网胁迫反应,胚乳呈现粉质表型^[66-67]。*DERLIN-like1 (OsDER1)*编码1个类DERLIN蛋白,该蛋白参与内质网相关蛋白降解途径(ERAD, ER-associated protein degradation),可以清除种子发育过程中因不利环境诱发形成的内质网未折叠蛋白,从而维持内质网中正常的蛋白稳态,突变引起严重的内质网胁迫反应,导致籽粒呈现粉质皱缩表型^[68]。

2.5.2 后高尔基途径 *GPA1*、*GPA2*、*GPA3*、*GPA5*、*GPA6*、*GPA7*和*GPA8*这些基因的突变体都出现了致密囊泡错误靶向到质外体空间,形成了异常的壁旁体结构,使得致密囊泡携带的谷蛋白前体没有正常到达蛋白储藏囊泡,PBII显著变小,突变体内谷蛋白前体异常积累,影响胚乳发育并产生粉质表型^[63, 69-74]。这些基因突变体中由内质网衍生并贮存醇溶蛋白的PBI正常,说明上述突变体谷蛋白从内质网向高尔基体的运输正常,而后高尔基体运输途径存在缺陷。*GPA3*编码1个含kelch重复结构域的蛋白质,招募鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF, Guanine nucleotide exchange factor)。*GPA2/GLUTELIN PRECURSOR6 (GLUP6)/Vacuolar protein sorting-associated protein 9A (OsVPS9A)*形成一个蛋白质复合体,*GPA2*激活小G蛋白*GPA1/GLUP4/ Rat brain 5a (OsRab5a)*,调控致密囊泡到蛋白储藏囊泡的定向转运^[69-71]。因此,*GPA3*、*GPA2*、*GPA1*组成一个功能性复合体,促进从反面高尔基体管网结构(TGN, Trans-Golgi network)上出芽的致密囊泡的成熟,调控谷蛋白前体的液泡运输^[71]。最近的研究发现小G蛋白*GPA1*被GEF因子*GPA2*激活后,将招募*GPA5*到致密囊泡上,接着*GPA5*与栓系复合物Class C core vacuole/endosome tethering (CORVET)以及Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor (SNARE)共同作用,介导致密囊泡和蛋白储藏囊泡的融合,并使得谷蛋白前体释放到蛋白储藏囊泡中,发生酶解,剪切为成熟的谷蛋白,最终形成PBII^[72]。*GPA7*编码含DUF1712结构域的CALCIUM CAFFEINE ZINC SENSITIVITY1 (CCZ1)蛋白,CCZ1与MONENSIN SENSITIVITY1 (MON1)组成二聚体,作为*GPA1/Rab5a*效应子和*Rab7b*鸟苷

酸交换因子。CCZ1功能紊乱后,可增强*GPA2/OsVPS9A*在前液泡区室的定位^[73]。*GPA6*和*GPA8*分别编码液泡 Na^+/H^+ 反转运体蛋白(*OsNHX5*, Na^+/H^+ antiporter5)和液泡 H^+ -ATP酶的E亚基1亚型(*OsVHA-E1*, subunit E isoform 1 of vacuolar H^+ -ATPase),二者调控膜腔内pH稳态,电镜观察发现*gpa6*和*gpa8*发育胚乳细胞中,高尔基体弯曲,反面高尔基体管网结构发生缺陷,致密囊泡增大,且突变体*gpa8*中*GPA1*和*GPA3*的亚细胞定位发生改变,说明膜腔内pH稳态对致密囊泡的形成及后高尔基体运输至关重要^[63, 74]。*FLO20*编码丝氨酸羟甲基转移酶(SHMT, serine hydroxymethyltransferase),突变体内谷蛋白没有正确运输到PBII中,PBII呈不规则形状,贮藏蛋白积累异常,影响胚乳发育,导致胚乳粉质^[75]。

2.6 脂质合成相关基因

半乳糖基二酰甘油酯(MGDG, monogalactosyldiacylglycerol)和二半乳糖基二酰甘油酯(DGDG, digalactosyldiacylglycerol)是质体膜的主要组成部分,MGDG由MGDG合成酶催化UDP-半乳糖上的半乳糖基转移到甘油二酯(DAG, diacylglycerol)上合成,DGDG由DGDG合成酶催化UDP-半乳糖上的半乳糖基添加到MGDG上合成^[76]。半乳糖酯含量或组成的变化可导致造粉体膜分离,产生异常的造粉体和淀粉颗粒,影响胚乳发育和淀粉合成^[77]。*FLO19²*编码质体丙酮酸脱氢酶复合物E1组分 $\alpha 1$ 亚基(ptPDC-E1- $\alpha 1$, plastidic pyruvate dehydrogenase complex E1 component subunit $\alpha 1$),ptPDC为糖酵解催化产生丙酮酸,依次进行脱酸和氧化产生乙酰-CoA和NADH,用于脂肪酸从头合成。突变体的质体丙酮酸脱氢酶活性下降,导致质体糖酵解途径和脂肪酸从头合成之间的连接被破坏,使得籽粒的半乳糖酯和淀粉含量大幅降低,影响造粉体发育,产生单个淀粉颗粒,淀粉粒破碎分散,胚乳呈现粉质不透明^[77]。*ENLARGED STARCH GRAINI (ESGI)*编码1个细菌型ATP结合脂质转运体(ATP-binding cassette lipid transporter),其拟南芥同源蛋白负责脂质从外膜到内膜的逆向运输^[78-79]。*esg1*突变体中半乳糖酯含量、淀粉含量、千粒重下降,灌浆速率显著降低,淀粉粒显著增大。突变体造粉体变大是由于亚淀粉颗粒数量的增加,与*ssg4*和*ssg6*类似^[78]。*FSE1*编码1个类磷脂酶蛋白,磷脂酶催化磷脂水解的初始步骤,磷脂酸是其他质膜脂质合成的初始分子,突变后导致籽粒总半乳糖酯含量显著降低,淀粉含量显著减少,造粉体

小而碎裂,籽粒表现为粉质皱缩^[80]。*FSE6* 编码糖基转移酶,该酶是用于合成鞘脂以构成质膜的重要酶,且鞘脂能通过糖基转移酶改变糖基化程度影响纤维素合成,导致突变体中蛋白质、纤维素、脂质含量明显上升,产生籽粒棕色粉质皱缩表型^[81]。

2.7 其他调控基因

通过对水稻发育胚乳的转录组分析,发现高垩白水稻胚乳的淀粉合成相关基因趋向于表达量上升,而糖类代谢相关基因多为表达量下降,蛋白质降解及参与胁迫反应的相关基因表达与稻米垩白相关基因表达变化趋势相近,说明水稻垩白表型的形成是受多基因控制、涉及多条代谢通路的复杂过程,除了上述六类代谢通路,还存在其他调控基因参与^[82]。*GIF1* 编码细胞壁转化酶,调控水稻粒重和灌浆过程中蔗糖运输与卸载等碳分配过程。突变后灌浆速率和粒重降低,部分淀粉合成相关基因显著下调,籽粒垩白增多^[83]。*FLO2* 编码 1 个含三十四肽重复 (TPR, tetratricopeptide repeat) 结构域的蛋白,通过 TPR 结构域与碱性螺旋-环-螺旋结构相互作用,调控淀粉和贮藏蛋白合成相关基因的表达;且可通过 TPR 结构域与 *FLO2*-interacting cupin

domain protein1 (*FLOC1*) 蛋白互作,协调调控籽粒品质形成^[84-85]。突变体 *flo2* 籽粒变小,直链淀粉含量降低,支链淀粉结构改变,胚乳粉质^[84]。*FLO19'* 编码谷氨酰胺转移酶 I (*OsGATI*, Class I glutamine amidotransferase),该酶是氮同化的关键酶,负责将从土壤中吸收的无机氮 (NO_3^- 和 NH_4^+) 转化为有机氮 (谷氨酰胺),被水稻进一步转化利用。突变体中 *OsGATI* 酶活性显著降低,使得氮同化和碳同化受到显著抑制,造粉体碎裂,籽粒胚乳表现为粉质^[86]。*FSE4* 编码 $\Delta 1$ -吡咯啉-5-羧酸合成酶 (*OsP5CS*, $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase),该酶是合成脯氨酸的关键限速酶,脯氨酸与精氨酸、谷氨酸等氨基酸合成密切相关。*FSE4* 发生突变影响了种子胚乳中氨基酸的合成与代谢,造成籽粒胚乳蛋白合成缺陷,最终胚乳呈现粉质皱缩表型^[2]。*FERONIA-like receptoe1* (*FLR1*) 编码一个类 *FERONIA* 蛋白,该蛋白可结合并激活细胞膜上的 Ras-related C3 botulinum toxin substrate1 (*OsRac1*),使得 *OsRac1* 从细胞膜上释放并结合到下游效应子,正调控水稻籽粒粒型。*FLR1* 过表达会提高突变体灌浆速率,粒宽显著增大(表 1)^[87-88]。

表 1 水稻淀粉合成缺陷突变体

Table 1 Mutants defective in starch synthesis in rice

代谢通路 Metabolic pathway	基因号 Gene ID	基因名称 Gene name	编码蛋白 Coding protein	亚细胞定位 Subcellular localization	突变体胚乳表型 Endosperm phenotype of mutant	参考文献 Reference
淀粉合成相关 基因	<i>Os09g0553200</i>	<i>FLO8/Ugp1</i>	UDP-葡萄糖 焦磷酸化酶	细胞质	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[19]
	<i>Os03g0320900</i>	<i>FSE2/ OsGK1</i>	鸟苷酸激酶	线粒体和质体	胚乳粉质皱缩	[20]
	<i>Os01g0633100</i>	<i>GIF2</i>	ADP-葡萄糖 焦磷酸化酶	细胞质	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[21]
	<i>Os08g0191433</i>	<i>FLO5/OsSSIIIa</i>	淀粉合成酶 IIIa	质体	胚乳心白粉质, 淀粉粒圆且小	[15]
	<i>Os02g0528200</i>	<i>OsBEIIb</i>	淀粉分支酶 IIb	质体	籽粒粉质皱缩	[22]
调控淀粉合成 基因的因子	<i>OSJNBa0017EO8.20</i>	<i>Du1</i>	Prp1 蛋白	—	暗胚乳	[23]
	<i>Os02g3989000</i>	<i>Du3</i>	帽子结合蛋白 20	细胞核	暗胚乳	[25]
	<i>Os06g0648530</i>	<i>Du13</i>	锌指蛋白	细胞核	暗胚乳	[26]
	<i>Os05g0121600</i>	<i>RSR1</i>	AP2/EREBP 家族的 转录因子	细胞核	籽粒变大, 胚乳心白	[27]
	<i>Os10g0191900</i>	<i>NF-YC12</i>	核因子 Y 转录 因子 C 亚基	细胞核	籽粒变小, 胚乳粉质	[28]
	<i>Os02g0725900</i>	<i>NF-YB1</i>	核因子 Y 转录 因子 B 亚基	细胞核和 细胞质	籽粒变小, 胚乳垩白率增加	[29]
	<i>Os07g0182000</i>	<i>OsZIP58/RISBZ1</i>	bZIP 转录因子	细胞核	籽粒腹白	[30-33]
造粉体发育相关 基因	<i>Os01g0179400</i>	<i>SSG4</i>	含 DUF490 结构域的 功能未知蛋白	造粉体基质	籽粒垩白增多, 淀粉粒变大	[36]

表 1 (续)

代谢通路 Metabolic pathway	基因号 Gene ID	基因名称 Gene name	编码蛋白 Coding protein	亚细胞定位 Subcellular localization	突变体胚乳表型 Endosperm phenotype of mutant	参考文献 Reference
	<i>Os06g0130400</i>	<i>SSG6</i>	氨基转移酶	造粉体膜	籽粒轻度蛋白, 淀粉粒增大	[37]
	<i>Os03g0686900</i>	<i>FLO6</i>	含 CBM48 结构域的蛋白质	质体	胚乳粉质不透明, 淀粉粒变小	[38]
	<i>Os10g0463800</i>	<i>FLO7</i>	含 DUF1338 结构域的功能未知蛋白	造粉体基质	籽粒外围粉质, 中心透明	[39]
	<i>Os12g0244100</i>	<i>FLO11</i>	热激蛋白 70	质体	籽粒中心部位和外围粉质	[40]
线粒体相关基因	<i>Os09g2976000</i>	<i>FSE5/OsPPOR1</i>	含 PORR 结构域的蛋白质	线粒体	籽粒粉质皱缩, 淀粉粒松散排列	[45]
	<i>Os02g0816800</i>	<i>FLO13</i>	线粒体呼吸链复合体 I 附属亚基	线粒体	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[46]
	<i>Os03g0720000</i>	<i>FLO10</i>	P 型 PPR 蛋白	线粒体	籽粒小且粉质, 淀粉粒小且松散排列	[8]
	<i>Os05g0207200</i>	<i>PPR5</i>	P 型 PPR 蛋白	线粒体	籽粒小且粉质皱缩	[47]
	<i>Os07g0688100</i>	<i>FLO18</i>	P 型 PPR 蛋白	线粒体	胚乳粉质不透明, 淀粉粒小且松散排列	[10]
	<i>Os08g0290000</i>	<i>FGRI/OsNPPR1</i>	P 型 PPR 蛋白	细胞核	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[51]
	<i>Os01g0908800</i>	<i>OsNPPR2</i>	P 型 PPR 蛋白	细胞核	胚乳粉质皱缩不透明	[52]
	<i>Os07g0508300</i>	<i>FLO14/OsNPPR3</i>	P 型 PPR 蛋白	细胞核	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[53]
	<i>Os05g0230900</i>	<i>FLO15</i>	乙二醛酶 I	质体	籽粒中心粉质, 外围半透明	[56]
	<i>Os10g0478200</i>	<i>FLO16</i>	NAD 依赖的胞质苹果酸脱氢酶	细胞质	籽粒粉质	[57]
	<i>Os10g2513000</i>	<i>OsAlaAT1</i>	丙氨酸转氨酶	细胞质	胚乳里面粉质, 外部正常	[58]
	<i>Os05g0405000</i>	<i>FLO4/OsPPDKB</i>	丙酮酸磷酸双激酶	叶绿体和细胞质	胚乳心白粉质, 外部正常	[59]
贮藏蛋白相关基因	<i>Os12g0631100</i>	<i>GPA1</i>	GTP 酶	前液泡区室和高尔基体	籽粒粉质, 谷蛋白前体增加	[69]
	<i>Os03g0262900</i>	<i>GPA2</i>	鸟苷酸交换因子	细胞质	胚乳粉质	[70]
	<i>Os03g0835800</i>	<i>GPA3</i>	含 Kelch repeat 基序的蛋白质	反面高尔基体管网结构和前液泡区室	胚乳粉质	[71]
	<i>Os03g0209400</i>	<i>GPA4</i>	膜蛋白 GOT1B	内质网输出位点	胚乳粉质	[65]
	<i>Os06g0643000</i>	<i>GPA5</i>	含 PX 结构域的蛋白质	致密囊泡	籽粒心白, 淀粉粒松散排列	[72]
	<i>Os09g0286400</i>	<i>GPA6</i>	Na ⁺ /H ⁺ 反转运体蛋白	高尔基体, 反面高尔基体管网结构和前液泡区室	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[73]
	<i>Os08g3307600</i>	<i>GPA7</i>	含 DUF1712 结构域的 CCZ1 蛋白	前液泡区室	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[74]
	<i>Os01g4698000</i>	<i>GPA8</i>	液泡 H ⁺ -ATP 酶 OsVHA 的 E 亚基型 1	反面高尔基体管网结构和液泡膜	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[63]
	<i>Os01g0874900</i>	<i>FLO20</i>	含丝氨酸羟甲基转移酶的蛋白质	细胞核	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[75]
	<i>Os01g2362000</i>	<i>Sar1a/b/c/d</i>	小 G 蛋白	内质网	籽粒粉质皱缩	[66-67]

表 1 (续)

代谢通路 Metabolic pathway	基因号 Gene ID	基因名称 Gene name	编码蛋白 Coding protein	亚细胞定位 Subcellular localization	突变体胚乳表型 Endosperm phenotype of mutant	参考文献 Reference
	<i>Os12g3736000</i>					
	<i>Os01g1501000</i>					
	<i>Os06g1209000</i>					
	<i>Os05g0187800</i>	<i>OsDER1</i>	类DERLIN蛋白	内质网	籽粒粉质皱缩	[68]
脂质合成相关基因	<i>Os04g0290000</i>	<i>FLO19²</i>	丙酮酸脱氢酶复合物 E1组分 α 1亚基	质体	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[77]
	<i>Os04g4670000</i>	<i>ESG1</i>	ATP结合脂质 转运体	叶绿体膜和 造粉体膜	胚乳粉质, 淀粉粒变大	[78]
	<i>Os08g0192000</i>	<i>FSE1</i>	类磷脂酶蛋白	细胞质和 细胞内膜	籽粒粉质皱缩	[80]
	<i>Os05g0540000</i>	<i>FSE6</i>	糖基转移酶	高尔基体和 前液泡区室	籽粒粉质皱缩, 淀粉粒松散排列	[81]
其他调控基因	<i>Os04g0413500</i>	<i>GIF1</i>	细胞壁转化酶	细胞壁	籽粒垩白增多, 淀粉粒松散排列	[83]
	<i>Os04g0645100</i>	<i>FLO2</i>	含TPR结构域的蛋白质	—	籽粒变小, 胚乳粉质	[84-85]
	<i>Os03g4806000</i>	<i>FLO19¹</i>	谷氨酰胺转移酶I	—	胚乳粉质, 淀粉粒松散排列	[86]
	<i>Os05g0455500</i>	<i>FSE4</i>	Δ 1-吡咯啉-5-羧酸 合成酶	细胞质	籽粒粉质皱缩, 淀粉粒松散排列	[2]
	<i>Os03g2154000</i>	<i>FLR1</i>	类FERONIA蛋白	质体膜	籽粒垩白增多	[87-88]

3 粉质胚乳突变体应用价值与未来展望

稻米品质包括籽粒的碾磨品质、外观品质(粒型、垩白率、垩白度和透明度等)、营养品质和蒸煮食味品质(直链淀粉含量、胶稠度和糊化温度等)。常规稻米硬度高,碾磨过程中易产生受损淀粉,最终影响稻米品质;粉质胚乳稻米内部淀粉排列松散,硬度较低容易粉碎,干磨产生受损淀粉较少^[89]。不同大小的淀粉颗粒也可应用于现代工业生产中,例如在面条加工时,小型的淀粉粒由于面积小,所以质量更好,并且A型颗粒含量较高的小麦能够提高面包的烘培品质^[63]。粉质胚乳突变体一般由于灌浆受阻,产生的淀粉粒较小,满足需要小型淀粉颗粒的工业开发需求,而淀粉颗粒明显变大的*ssg4*、*ssg6*和*esg1*,或可用于需要大淀粉颗粒的工业生产等。另一方面,*RSR1*、*FLO16*、*OsAlaAT1*和*FLO19²*过表达时,突变体籽粒明显增大,在水稻产量提升方面具有一定的应用前景。在稻米营养品质中,人体必需氨基酸含量高的稻米具有较好的营养品质,稻米中的脂肪酸、维生素类和矿物质元素等微量储藏物质也是近年来受到广泛关注的营养成分^[90]。

水稻种子中的蛋白质主要为贮藏蛋白,少部分为结构蛋白,而胚乳中过高的蛋白质含量将导致适口性下降,因此培育蛋白质含量低的水稻品种是水稻优质稻育种的重要方向;另一方面,精米中的蛋白质以谷蛋白和醇溶蛋白为主,其中,谷蛋白含量高且易被消化吸收,从稻米的功能性角度来看,低谷蛋白含量的稻米适用于肾脏病患者^[3]。贮藏蛋白相关基因粉质胚乳突变体*gpa1~gpa8*由于谷蛋白前体异常积累导致谷蛋白含量降低,或许将来可将这些基因抑制/过表达或利用CRISPR/Cas9技术获取符合人们需求的低谷蛋白水稻品种。抗性淀粉不能被小肠吸收,可作为发酵底物直接进入大肠,有助于降低血糖及胆固醇、预防胃肠道疾病、促进矿物质吸收^[91]。*BEI1b*和*SSIIIa*突变后抗性淀粉含量增加,可作为中间材料,培育适用于糖尿病患者食用的功能稻品种^[22, 92]。

目前为止,人们对参与淀粉合成过程中的酶的功能已经相对清楚,但是人类仍然不能在体外的系统中自主大量且廉价地合成淀粉,这说明目前已知的调控网络并不清晰,还有许多未知的因子参与其中。粉质胚乳突变体表型易于观察和鉴定,因此可用于在水稻中发掘、克隆新的调控淀粉合成基因,

阐明其调控分子机制,具有重要的科学意义;同时进一步挖掘利用新基因,对高产优质育种具有重要的指导意义。

参考文献

- [1] 方慧敏,张龙,韦存虚.水稻粉质胚乳突变体基因的克隆与功能研究进展.扬州大学学报:农业与生命科学版,2020,41(6):15-21
Fang H M, Zhang L, Wei C X. Research progress on cloning and functional analysis of rice floury endosperm mutant genes. Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Science Edition, 2020, 41(6): 15-21
- [2] 杜溢墨,潘天,田云录,刘世家,刘喜,江玲,张文伟,王益华,万建民.水稻粉质皱缩胚乳突变体*fse4*的表型分析与基因克隆.中国水稻科学,2019,33(6):499-512
Du Y M, Pan T, Tian Y L, Liu S J, Liu X, Jiang L, Zhang W W, Wang Y H, Wan J M. Phenotypic analysis and gene cloning of rice floury endosperm mutant *fse4*. Chinese Journal of Rice Science, 2019, 33(6): 499-512
- [3] 张昌泉,赵冬生,李钱峰,顾铭洪,刘巧泉.稻米品质性状基因的克隆与功能研究进展.中国农业科学,2016,49(22):4267-4283
Zhang C Q, Zhao D S, Li Q F, Gu M H, Liu Q Q. Progresses in research on cloning and functional analysis of key genes involving in rice grain quality. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(22): 4267-4283
- [4] Rao Y C, Li Y Y, Qian Q. Recent progress on molecular breeding of rice in China. Plant Cell Reports, 2014, 33(4): 551-564
- [5] Zhang L, Ren Y L, Lu B Y, Yang C Y, Feng Z M, Liu Z, Chen J, Ma W W, Wang Y, Yu X W, Wang Y L, Zhang W W, Wang Y H, Liu S J, Wu F Q, Zhang X, Guo X P, Bao Y Q, Jiang L, Wan J M. *FLOURY ENDOSPERM7* encodes a regulator of starch synthesis and amyloplast development essential for peripheral endosperm development in rice. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(3): 633-647
- [6] Smith A M. Prospects for increasing starch and sucrose yields for bioethanol production. The Plant Journal, 2008, 54(4): 546-558
- [7] Zhang S S, Zhan J P, Yadegari R. Maize *opaque* mutants are no longer so opaque. Plant Reproduction, 2018, 31(3): 319-326
- [8] Wu M M, Ren Y L, Cai M H, Wang Y L, Zhu S S, Zhu J P, Hao Y Y, Teng X, Zhu X P, Jing R N, Zhang H, Zhong M S, Wang Y F, Lei C L, Zhang X, Guo X P, Cheng Z J, Lin Q B, Wang J, Jiang L, Bao Y Q, Wang Y H, Wan J M. Rice *FLOURY ENDOSPERM10* encodes a pentatricopeptide repeat protein that is essential for the *trans*-splicing of mitochondrial *nad1* intron 1 and endosperm development. New Phytologist, 2019, 223(2): 736-750
- [9] Oisen O A, Potter R H, Kalla R. Histo-differentiation and molecular biology of developing cereal endosperm. Seed Science Research, 1992, 2(3): 117-131
- [10] Yu M Z, Wu M M, Ren Y L, Wang Y H, Li J F, Lei C L, Sun Y L, Bao X H, Wu H M, Yang H, Pan T, Wang Y F, Jing R N, Yan M Y, Zhang H D, Zhao L, Zhao Z C, Zhang X, Guo X P, Cheng Z J, Yang B, Jiang L, Wan J M. Rice *FLOURY ENDOSPERM 18* encodes a pentatricopeptide repeat protein required for 5' processing of mitochondrial *nad5* messenger RNA and endosperm development. Journal of Integrative Plant Biology, 2021, 63(5): 834-847
- [11] Ball S G, Morell M K. From bacterial glycogen to starch: Understanding the biogenesis of the plant starch granule. Annual Review of Plant Biology, 2003, 54: 207-233
- [12] Streb S, Zeeman S C. Starch metabolism in Arabidopsis. The Arabidopsis Book, 2012, 2012(10): 160
- [13] Denyer K, Dunlap F, Thornbjornsen T, Peter K, Alison M. The major form of ADP-glucose pyrophosphorylase in maize endosperm is extra-plastidial. Plant Physiology, 1996, 112: 779-785
- [14] Ballicora M A, Iglesias A A, Preiss J. ADP-glucose pyrophosphorylase: A regulatory enzyme for plant starch synthesis. Photosynthesis Research, 2004, 79(1): 1-24
- [15] Ryoo N, Yu C, Park C S, Baik M Y, Park I M, Cho M H, Bhoo S H, An G, Hahn T R, Jeon J S. Knockout of a starch synthase gene *OssSIIIa/Flo5* causes white-core floury endosperm in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Cell Reports, 2007, 26(7): 1083-1095
- [16] 于艳芳,刘喜,田云录,刘世家,陈亮明,朱建平,王云龙,江玲,张文伟,王益华,万建民.水稻粉质胚乳*fse3*突变体的表型分析及基因定位.中国农业科学,2018,51(11):2023-2037
Yu Y F, Liu X, Tian Y L, Liu S J, Chen L M, Zhu J P, Wang Y L, Jiang L, Zhang W W, Wang Y H, Wan J M. Phenotypic analysis and gene mapping of a floury and shrunken endosperm mutant *fse3* in rice. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(11): 2023-2037
- [17] 应逸宁,庞悦涵,包劲松.胚乳突变体在水稻淀粉合成调控研究中的作用.核农学报,2019,33(12):2362-2375
Ying Y N, Pang Y H, Bao J S. Progresses in the studies on rice endosperm mutants for starch biosynthesis and regulation. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2019, 33(12): 2362-2375
- [18] 周立军,江玲,翟虎渠,万建民.水稻垩白的研究现状与改良策略.遗传,2009,31(6):563-572
Zhou L J, Jiang L, Zhai H Q, Wan J M. Current status and strategies for improvement of rice grain chalkiness. Hereditas (Beijing), 2009, 31(6): 563-572
- [19] Long W H, Dong B N, Wang Y H, Pan P Y, Wang Y L, Liu L L, Chen X L, Liu X, Liu S J, Tian Y L, Chen L M, Wan J M. *FLOURY ENDOSPERM8*, encoding the UDP-glucose pyrophosphorylase 1, affects the synthesis and structure of starch in rice endosperm. Journal of Plant Biology, 2017, 60(5): 513-522
- [20] 李景芳,田云录,刘喜,刘世家,陈亮明,江玲,张文伟,徐

- 大勇, 王益华, 万建民. 鸟苷酸激酶OsGK1对水稻种子发育至关重要. 中国水稻科学, 2018, 32 (5): 415-426
- Li J F, Tian Y L, Liu X, Liu S J, Chen L M, Jiang L, Zhang W W, Xu D Y, Wang Y H, Wan J M. The guanylate kinase OsGK1 is essential for seed development in rice. Chinese Journal of Rice Science, 2018, 32 (5): 415-426
- [21] Wei X J, Jiao G A, Lin H Y, Sheng Z H, Shao G N, Xie L H, Tang S Q, Xu Q G, Hu P S. *GRAIN INCOMPLETE FILLING 2* regulates grain filling and starch synthesis during rice caryopsis development. Journal of Integrative Plant Biology, 2017, 59 (2): 134-153
- [22] Tanaka N, Fujita N, Nishi A, Satoh H, Hosaka Y, Ugaki M, Kawasaki S, Nakamura Y. The structure of starch can be manipulated by changing the expression levels of starch branching enzyme IIb in rice endosperm. Plant Biotechnology Journal, 2004, 2 (6): 507-516
- [23] Zeng D L, Yan M X, Wang Y H, Liu X F, Qian Q, Li J Y. *Dul1*, encoding a novel Prp1 protein, regulates starch biosynthesis through affecting the splicing of *Wxb* pre-mRNAs in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Molecular Biology, 2007, 65 (4): 501-509
- [24] Isshiki M, Nakajima M, Satoh H, Shimamoto K. *dull*: Rice mutants with tissue-specific effects on the splicing of the *waxy* pre-mRNA. The Plant Journal, 2000, 23 (4): 451-460
- [25] Isshiki M, Matsuda Y, Takasaki A, Wong H L, Satoh H, Shimamoto K. *Du3*, a mRNA cap-binding protein gene, regulates amylose content in Japonica rice seeds. Plant Biotechnology, 2008, 25 (5): 483-487
- [26] Cai Y, Zhang W W, Fu Y S, Shan Z Z, Xu J H, Wang P, Kong F, Jin J, Yan H G, Ge X Y, Wang Y X, You X M, Chen J, Li X, Chen W W, Chen X G, Ma J, Tang X J, Zhang J, Bao Y Q, Jiang L, Wang H Y, Wan J M. *Dul3* encodes a C₂H₂ zinc-finger protein that regulates *Wxb* pre-mRNA splicing and microRNA biogenesis in rice endosperm. Plant Biotechnology Journal, 2022, 20 (7): 1387-1401
- [27] Fu F F, Xue H W. Coexpression analysis identifies rice starch regulator1, a rice AP2/EREBP family transcription factor, as a novel rice starch biosynthesis regulator. Plant Physiology, 2010, 154 (2): 927-938
- [28] Bello B K, Hou Y X, Zhao J, Jiao G A, Wu Y W, Li Z Y, Wang Y F, Tong X H, Wang W, Yuan W Y, Wei X J, Zhang J. NF-YB1-YC12-bHLH144 complex directly activates *Wx* to regulate grain quality in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Biotechnology Journal, 2019, 17 (7): 1222-1235
- [29] Xiong Y F, Ren Y, Li W, Wu F S, Yang W J, Huang X L, Yao J L. NF-YC12 is a key multi-functional regulator of accumulation of seed storage substances in rice. Journal of Experimental Botany, 2019, 70 (15): 3765-3780
- [30] Wang J C, Xu H, Zhu Y, Liu Q Q, Cai X L. OsbZIP58, a basic leucine zipper transcription factor, regulates starch biosynthesis in rice endosperm. Journal of Experimental Botany, 2013, 64 (11): 3453-3466
- [31] Xu H, Li X F, Zhang H, Wang L C, Zhu Z G, Gao J P, Li C S, Zhu Y. High temperature inhibits the accumulation of storage materials by inducing alternative splicing of *Os bZIP58* during filling stage in rice. Plant, Cell & Environment, 2020, 43 (8): 1879-1896
- [32] Kawakatsu T, Yamamoto M P, Touno S M, Yasuda H, Takaiwa F. Compensation and interaction between RISBZ1 and RPBF during grain filling in rice. The Plant Journal, 2009, 59 (6): 908-920
- [33] Yamamoto M P, Onodera Y, Touno S M, Takaiwa F. Synergism between RPBF Dof and RISBZ1 bZIP activators in the regulation of rice seed expression genes. Plant Physiology, 2006, 141 (4): 1694-1707
- [34] Toyosawa Y, Kawagoe Y, Matsushima R, Crofts N, Ogawa M, Fukuda M, Kumamaru T, Okazaki M, Kusano M, Saito K, Toyooka K, Sato M, Ai Y F, Jane J L, Nakamura Y, Fujita N. Deficiency of starch synthase IIIa and IVb alters starch granule morphology from polyhedral to spherical in rice endosperm. Plant Physiology, 2016, 170 (3): 1255-1270
- [35] Yun M S, Kawagoe Y. Septum formation in amyloplasts produces compound granules in the rice endosperm and is regulated by plastid division proteins. Plant & Cell Physiology, 2010, 51 (9): 1469-1479
- [36] Cai Y, Chen H Y, Xiao N, Wu Y Y, Yu L, Chen Z C, Liu J J, Shi W, Pan C H, Li Y H, Zhou C H, Ji H J, Huang N S, Zhang X X, Zhang Y H, Li A H. *Substandard starch grain4* may function in amyloplast development by influencing starch and lipid metabolism in rice endosperm. Journal of Plant Physiology, 2022, 270: 153638
- [37] Matsushima R, Maekawa M, Kusano M, Tomita K, Kondo H, Nishimura H, Crofts N, Fujita N, Sakamoto W. Amyloplast membrane protein SUBSTANDARD STARCH GRAIN6 controls starch grain size in rice endosperm. Plant Physiology, 2016, 170 (3): 1445-1459
- [38] Peng C, Wang Y H, Liu F, Ren Y L, Zhou K N, Lv J, Zheng M, Zhao S L, Zhang L, Wang C M, Jiang L, Zhang X, Guo X P, Bao Y Q, Wan J M. *FLOURY ENDOSPERM6* encodes a CBM48 domain-containing protein involved in compound granule formation and starch synthesis in rice endosperm. The Plant Journal, 2014, 77 (6): 917-930
- [39] Zhang L, Ren Y L, Lu B Y, Yang C Y, Feng Z M, Liu Z, Chen J, Ma W W, Wang Y, Yu X W, Wang Y L, Zhang W W, Wang Y H, Liu S J, Wu F Q, Zhang X, Guo X P, Bao Y Q, Jiang L, Wan J M. *FLOURY ENDOSPERM7* encodes a regulator of starch synthesis and amyloplast development essential for peripheral endosperm development in rice. Journal of Experimental Botany, 2016, 67 (3): 633-647
- [40] Zhu X P, Teng X, Wang Y L, Hao Y Y, Jing R N, Wang Y F, Liu Y, Zhu J P, Wu M M, Zhong M S, Chen X L, Zhang Y Y, Zhang W W, Wang C M, Wang Y H, Wan J M. *FLOURY ENDOSPERM11* encoding a plastid heat shock protein 70 is essential for amyloplast development in rice. Plant Science, 2018, 277: 89-99

- [41] Logan D C. The mitochondrial compartment. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57 (6): 1225-1243
- [42] Dudkina N V, Heinemeyer J, Sunderhaus S, Boekema E J, Braun H P. Respiratory chain supercomplexes in the plant mitochondrial membrane. *Trends in Plant Science*, 2006, 11 (5): 232-240
- [43] 郝媛媛, 赵向前, 黄福灯, 李春寿. PPR蛋白在植物细胞器组分转录后调控中的作用机制. *遗传*, 2021, 43 (11): 1050-1065
Hao Y Y, Zhao X Q, Huang F D, Li C S. The role of PPR proteins in posttranscriptional regulation of organelle components in plants. *Hereditas (Beijing)*, 2021, 43 (11): 1050-1065
- [44] Rasmuson A G, V Heiser V, Zabaleta E, Brennicke A, Grohmann L. Physiological, biochemical and molecular aspects of mitochondrial complex I in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1998, 1364 (2): 101-111
- [45] Wang L, Zhang W W, Liu S J, Tian Y L, Liu X, Yan H G, Cai Y, Teng X, Dong H, Chen R B, Jiang X K, Wang Y H, Wan J M. Rice *FLOURY SHRUNKEN ENDOSPERM 5* encodes a putative plant organelle RNA recognition protein that is required for *cis*-splicing of mitochondrial *nad4* intron 1. *Rice*, 2021, 14 (1): 29
- [46] Hu T T, Tian Y L, Zhu J P, Wang Y L, Jing R N, Lei J, Sun Y L, Yu Y F, Li J F, Chen X L, Zhu X P, Hao Y Y, Liu L L, Wang Y H, Wan J M. *OsNDUFA9* encoding a mitochondrial complex I subunit is essential for embryo development and starch synthesis in rice. *Plant Cell Reports*, 2018, 37 (12): 1667-1679
- [47] Zhang L, Qi Y Z, Wu M M, Zhao L, Zhao Z C, Lei C L, Hao Y Y, Yu X W, Sun Y L, Zhang X, Guo X P, Ren Y L, Wan J M. Mitochondrion-targeted PENTATRICOPEPTIDE REPEAT5 is required for *cis*-splicing of *nad4* intron 3 and endosperm development in rice. *The Crop Journal*, 2020, 9 (2): 282-296
- [48] Asano T, Miyao A, Hirochika H, Kikuchi S, Kadowakia K I. A pentatricopeptide repeat gene of rice is required for splicing of chloroplast transcripts and RNA editing of *ndhA*. *Plant Biotechnology Journal*, 2013, 30 (1): 57-64
- [49] Tang J P, Zhang W W, Wen K, Chen G M, Sun J, Tian Y L, Tang W J, Yu J, An H Z, Wu T T, Kong F, Terzaghi W, Wang C M, Wan J M. OsPPR6, a pentatricopeptide repeat protein involved in editing and splicing chloroplast RNA, is required for chloroplast biogenesis in rice. *Plant Molecular Biology*, 2017, 95 (4-5): 1-13
- [50] Kim S R, Yang J I, Moon S, Ryu C H, An K, Kim K M, Yim J, An G. Rice *OGR1* encodes a pentatricopeptide repeat-DYW protein and is essential for RNA editing in mitochondria. *The Plant Journal*, 2009, 59 (5): 738-749
- [51] Hao Y Y, Wang Y L, Wu M M, Zhu X P, Teng X, Sun Y L, Zhu J P, Zhang Y Y, Jing R N, Lei J, Li J F, Bao X H, Wang C M, Wang Y H, Wan J M. The nuclear-localized PPR protein OsNPPR1 is important for mitochondrial function and endosperm development in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70 (18): 4705-4720
- [52] 毕梦蕾, 唐小涵, 王云龙, 段二超, 滕烜, 张元燕, 江玲, 张文伟, 王益华, 万建民. 一个细胞核定位PPR蛋白OsNPPR2在水稻种子发育中起重要作用. *植物生理学报*, 2019, 56 (4): 789-798
Bi M L, Tang X H, Wang Y L, Duan E C, Teng X, Zhang Y Y, Jiang L, Zhang W W, Wang Y H, Wan J M. A nucleus-localized PPR protein OsNPPR2 is important for seed development in rice. *Plant Physiology Journal*, 2019, 56 (4): 789-798
- [53] Xue M Y, Liu L L, Yu Y F, Zhu J P, Gao H, Wang Y H, Wan J M. Lose-of-function of a rice nucleolus localized pentatricopeptide repeat protein is responsible for the *floury endosperm14* mutant phenotypes. *Rice*, 2019, 12 (1): 100
- [54] Schwarzlander M, Fuchs P. Plant mitochondrial membranes: Adding structure and new functions to respiratory physiology. *Current Opinion in Plant Biology*, 2017, 40: 147-157
- [55] Ishimaru T, Ida M, Hirose S, Shimamura S, Masumura T, Nishizawa N K, Nakazono M, Kondo M. Laser microdissection-based gene expression analysis in the aleurone layer and starchy endosperm of developing rice caryopses in the early storage phase. *Rice*, 2015, 8 (1): 22
- [56] You X M, Zhang W W, Hu J L, Jing R N, Cai Y, Feng Z M, Kong F, Zhang J, Yan H G, Chen W W, Chen X G, Ma J, Tang X J, Wang P, Zhu S S, Liu L L, Wan J M. *FLOURY ENDOSPERM15* encodes a glyoxalase I involved in compound granule formation and starch synthesis in rice endosperm. *Plant Cell Reports*, 2019, 38 (3): 345-359
- [57] Teng X, Zhong M S, Zhu X P, Wang C M, Ren Y L, Wang Y L, Zhang H, Jiang L, Wang D, Hao Y Y, Wu M M, Zhu J P, Zhang X, Guo X P, Wang Y H, Wan J M. *FLOURY ENDOSPERM16* encoding a NAD-dependent cytosolic malate dehydrogenase plays an important role in starch synthesis and seed development in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17 (10): 1914-1927
- [58] Yang J, Kim S R, Lee S K, Choi H, Jeon J S, An G. Alanine aminotransferase 1 (OsAlaAT1) plays an essential role in the regulation of starch storage in rice endosperm. *Plant Science*, 2015, 240: 79-89
- [59] Kang H G, Park S, Matsuoka M, An G. White-core endosperm *floury endosperm-4* in rice is generated by knockout mutations in the C4-type pyruvate orthophosphate dikinase gene (*OsPPDKB*). *The Plant Journal*, 2005, 42 (6): 901-911
- [60] Bachtel D B, Juliano B O. Formation of protein bodies in the starchy endosperm of rice (*Oryza sativa* L.): A re-investigation. *Annals of Botany*, 1980, 45 (5): 503-509
- [61] Yamagata H, Sugimoto T, Tanaka K, Kasai Z. Biosynthesis of storage proteins in developing rice seeds. *Plant Physiology*, 1982, 70 (4): 1094-1100
- [62] Krishnan H B, Franceschi V R, Okita T W. Immunochemical studies on the role of the Golgi complex in protein-body formation in rice seeds. *Planta*, 1986, 169 (4): 471-480
- [63] Zhu J P, Ren Y L, Zhang Y Y, Yang J, Duan E C, Wang Y L, Liu F, Wu M M, Wang Y F, Hu T T, Hao Y Y, Teng X,

- Zhu X P, Lei J, Jing R N, Yu Y F, Sun Y L, Bao X H, Bao Y Q, Wang Y H, Wan J M. Subunit E isoform 1 of vacuolar H⁺-ATPase OsVHA enables post-Golgi trafficking of rice seed storage proteins. *Plant Physiology*, 2021, 187 (4): 2192-2208
- [64] Sato K, Nakano A. Mechanisms of COPII vesicle formation and protein sorting. *FEBS Letters*, 2007, 581 (11): 2076-2082
- [65] Wang Y H, Liu F, Ren Y L, Wang Y L, Liu X, Long W H, Wang D, Zhu J P, Zhu X P, Jing R N, Wu M M, Hao Y Y, Jiang L, Wang C M, Wang H Y, Bao Y Q, Wan J M. GOLGI TRANSPORT 1B regulates protein export from the endoplasmic reticulum in rice endosperm cells. *The Plant Cell*, 2016, 28 (11): 2850-2865
- [66] Tian L H, Dai L L, Yin Z J, Fukuda M, Kumamaru T, Dong X B, Xu X P, Qu L Q. Small GTPase Sar1 is crucial for proglutelin and α -globulin export from the endoplasmic reticulum in rice endosperm. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64 (10): 2831-2845
- [67] Qian D D, Tian L H, Qu L Q. Proteomic analysis of endoplasmic reticulum stress responses in rice seeds. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14255
- [68] Qian D D, Chen G Q, Tian L H, Qu L Q. OsDER1 is an ER-associated protein degradation factor that responds to ER stress. *Plant Physiology*, 2018, 178 (1): 402-412
- [69] Wang Y H, Ren Y L, Liu X, Jiang L, Chen L M, Han X H, Jin M N, Liu S J, Liu F, Lv J, Zhou K N, Su N, Bao Y Q, Wan J M. OsRab5a regulates endomembrane organization and storage protein trafficking in rice endosperm cells. *The Plant Journal*, 2010, 64 (5): 812-824
- [70] Liu F, Ren Y L, Wang Y H, Peng C, Zhou K N, Lv J, Guo X P, Zhang X, Zhong M S, Zhao S L, Jiang L, Wang H Y, Bao Y Q, Wan J M. OsVPS9A functions cooperatively with OsRAB5A to regulate post-Golgi dense vesicle-mediated storage protein trafficking to the protein storage vacuole in rice endosperm cells. *Molecular Plant*, 2013, 6 (6): 1918-1932
- [71] Ren Y L, Wang Y H, Liu F, Zhou K N, Ding Y, Zhou F, Wang Y, Liu K, Gan L, Ma W W, Han X H, Zhang X, Guo X P, Wu F Q, Cheng Z J, Wang J L, Lei C L, Lin Q B, Jiang L, Wu C Y, Bao Y Q, Wang H Y, Wan J M. *GLUTELIN PRECURSOR ACCUMULATION3* encodes a regulator of post-Golgi vesicular traffic essential for vacuolar protein sorting in rice endosperm. *The Plant Cell*, 2014, 26 (1): 410-425
- [72] Ren Y L, Wang Y H, Pan T, Wang Y L, Wang Y F, Gan L, Wei Z Y, Wang F, Wu M M, Jing R N, Wang J C, Wan G X, Bao X H, Zhang B L, Zhang P C, Zhang Y, Ji Y, Lei C L, Zhang X, Cheng Z J, Lin Q B, Zhu S S, Zhao Z C, Wang J, Wu C Y, Qiu L J, Wang H Y, Wan J M. *GPA5* encodes a Rab5a effector required for post-Golgi trafficking of rice storage proteins. *The Plant Cell*, 2020, 32 (3): 758-777
- [73] Pan T, Wang Y H, Jing R N, Wang Y F, Wei Z Y, Zhang B L, Lei C L, Qi Y Z, Wang F, Bao X H, Yan M Y, Zhang Y, Zhang P C, Yu M Z, Wan G X, Chen Y, Yang W K, Zhu J P, Zhu Y, Zhu S S, Cheng Z J, Zhang X, Jiang L, Ren Y L, Wan J M. Post-Golgi trafficking of rice storage proteins requires the small GTPase Rab7 activation complex MON1-CCZ1. *Plant Physiology*, 2021, 187 (4): 2174-2191
- [74] Zhu J P, Ren Y L, Wang Y L, Liu F, Teng X, Zhang Y Y, Duan E C, Wu M M, Zhong M S, Hao Y Y, Zhu X P, Lei J, Wang Y F, Yu Y F, Pan T, Bao Y Q, Wang Y H, Wan J M. OsNHX5-mediated pH homeostasis is required for post-Golgi trafficking of seed storage proteins in rice endosperm cells. *BMC Plant Biology*, 2019, 19 (1): 295
- [75] Yan M Y, Pan T, Zhu Y, Jiang X K, Yu M Z, Wang R Q, Zhang F, Luo S, Bao X H, Chen Y, Zhang B L, Jing R N, Cheng Z J, Zhang X, Lei C L, Lin Q B, Zhu S S, Guo X P, Ren Y L, Wan J M. *FLOURY ENDOSPERM20* encoding SHMT4 is required for rice endosperm development. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20 (8): 1438-1440
- [76] Heemskerk J W M, Storz T, Schmidt R R, Heinz E. Biosynthesis of digalactosyldiacylglycerol in plastids from 16:3 and 18:3 plants. *Plant Physiology*, 1990, 93 (4): 1286-1294
- [77] Lei J, Teng X, Wang Y F, Jiang X K, Zhao H H, Zheng X M, Ren Y L, Dong H, Wang Y L, Duan E C, Zhang Y Y, Zhang W W, Yang H, Chen X L, Chen R B, Zhang Y, Yu M Z, Xu S B, Bao X H, Zhang P C, Liu S J, Liu X, Tian Y L, Jiang L, Wang Y H, Wan J M. Plastidic pyruvate dehydrogenase complex E1 component subunit Alpha1 is involved in galactolipid biosynthesis required for amyloplast development in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20 (3): 437-453
- [78] Wang R Q, Ren Y L, Yan H G, Teng X, Zhu X P, Wang Y P, Zhang X, Guo X P, Lin Q B, Cheng Z J, Lei C L, Wang J L, Jiang L, Wang Y H, Wan J M. *ENLARGED STARCH GRAIN1* affects amyloplast development and starch biosynthesis in rice endosperm. *Plant Science*, 2021, 305: 110831
- [79] Xu C C, Fan J L, Roehlich J E, Awai K, Benning C. Mutation of the TGD1 chloroplast envelope protein affects phosphatidate metabolism in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 2005, 17 (11): 3094-3110
- [80] Long W H, Wang Y L, Zhu S S, Jing W, Wang Y H, Ren Y L, Tian Y L, Liu S J, Liu X, Chen L M, Wang D, Zhong M S, Zhang Y Y, Hu T T, Zhu J P, Hao Y Y, Zhu X P, Zhang W W, Wang C M, Zhang W H, Wan J M. *FLOURY SHRUNKEN ENDOSPERM1* connects phospholipid metabolism and amyloplast development in rice. *Plant Physiology*, 2018, 177 (2): 698-712
- [81] Yang H, Liu L L, Wu K, Liu S J, Liu X, Tian Y L, Wang Y L, Duan E C, Lei J, Bao X H, Chen R B, Chen X L, Ji Y, Zhang Y, Wang Y H, Wan J M. *FLOURY AND SHRUNKEN ENDOSPERM6* encodes a glycosyltransferase and is essential for the development of rice endosperm. *Journal of Plant Biology*, 2021, 65: 187-198
- [82] Liu X L, Guo T, Wan X Y, Wang H Y, Zhu M Z, Li A L, Su N, Shen Y Y, Mao B G, Zhai H Q, Mao L, Wan J M. Transcriptome analysis of grain-filling caryopses reveals involvement of multiple regulatory pathways in chalky grain

- formation in rice. *BMC Genomics*, 2010, 11: 730
- [83] Wang E T, Wang J J, Zhu X D, Hao W, Wang L Y, Li Q, Zhang L X, He W, Lu B R, Lin H X, Ma H, Zhang G Q, He Z H. Control of rice grain-filling and yield by a gene with a potential signature of domestication. *Nature Genetics*, 2008, 40 (11): 1370-1374
- [84] She K C, Kusano H, Koizumi K, Yamakawa H, Hakata M, Imamura T, Fukuda M, Maito N, Tsurumaki Y, Yaeshima M, Tsuge T, Matsumoto K, Kudoh M, Itoh E, Kikuchi S, Kishimoto N, Yazaki J, Ando T, Yano M, Aoyama T, Sasaki T, Satoh H, Shimada H. A novel factor *FLOURY ENDOSPERM2* is involved in regulation of rice grain size and starch quality. *The Plant Cell*, 2010, 22 (10): 3280-3294
- [85] Suzuki R, Imamura T, Nonaga Y, Kusano H, Teramura H, Sekine K T, Yamashita T, Shimada H. A novel *FLOURY ENDOSPERM2* (*FLO2*)-interacting protein, is involved in maintaining fertility and seed quality in rice. *Plant Biotechnology*, 2020, 37 (1): 47-55
- [86] Lou G M, Chen P L, Zhou H, Li P B, Xiong J W, Wan S S, Zheng Y Y, Alam M, Liu R J, Zhou Y, Yang H Y, Tian Y H, Bai J J, Rao W T, Tan X, Gao H Z, Li Y H, Gao G J, Zhang Q L, Li X H, Liu C G, He Y Q. *FLOURY ENDOSPERM19* encoding a class I glutamine aminotransferase affects grain quality in rice. *Molecular Breeding*, 2021, 41 (5): 36
- [87] Li C Y, Wang L, Cui Y C, He L M, Qi Y Y, Zhang J X, Lin J Z, Liao H D, Lin Q L, Yang T, Yu F, Liu X M. Two *FERONIA-like receptor (FLR)* genes are required to maintain architecture, fertility, and seed yield in rice. *Molecular Breeding*, 2016, 36 (11): 151
- [88] Wang L, Wang D D, Yang Z H, Jiang S, Qu J N, He W, Liu Z M, Xing J J, Ma Y C, Lin Q L, Yu F. Roles of *FERONIA-like receptor* genes in regulating grain size and quality in rice. *Science China Life Sciences*, 2021, 64 (2): 294-310
- [89] Mo Y J, Jeung J U, Shin Y S, Park C S, Kang K H, Kim B K. Agronomic and genetic analysis of Suweon 542, a rice floury mutant line suitable for dry milling. *Rice*, 2013, 6 (1): 37
- [90] Long X H, Liu Q Q, Chan M L, Wang Q, Sun S S M. Metabolic engineering and profiling of rice with increased lysine. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, 11 (4): 490-501
- [91] Raigond P, Ezekeel R, Raigond B. Resistant starch in food: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, 95 (10): 1968-1978
- [92] Zhou H J, Wang L J, Liu G F, Meng X B, Jing Y H, Shu X L, Kong X L, Sun J, Yu H, Smith S M, Wu D X, Li J Y. Critical roles of soluble starch synthase *SS III a* and granule-bound starch synthase *Waxy* in synthesizing resistant starch in rice. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (45): 12844-12849