

# 水稻自噬相关基因 OsATG7 的功能

孟盼盼 陈秋红 林拥军

华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室/国家植物基因研究中心(武汉), 武汉 430070

**摘要** 通过对 OsATG7 突变体、OsATG7 超表达及干涉转基因植株表型的观察,对 OsATG7 突变体进行暗胁迫处理并观察自噬体产生情况,检测 OsATG7、SGR 基因的表达量以及叶绿素含量变化,阐述水稻细胞自噬基因缺失对水稻生长发育的影响。结果显示:OsATG7 基因与水稻育性相关,OsATG7 基因的缺失导致水稻高度不育;OsATG7 基因可以抵抗黑暗对水稻的非生物胁迫作用,随着暗胁迫时间的增加,水稻 OsATG7 基因表达量显著上升,该基因的缺失导致水稻衰老相关基因 SGR 表达量急剧上升,叶绿素流失加速,使植株表现出提早衰老的现象。

**关键词** 水稻; 细胞自噬; 非生物胁迫; 暗胁迫; 衰老

**中图分类号** S 511.053 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)02-0001-07

细胞自噬是一种通过在细胞内形成自噬泡将细胞内生物大分子和受损细胞器运送至溶酶体进行降解的机制,这种机制有利于增强植物对外界环境胁迫的适应能力,有利于维持植物体内稳态。这种进化保守机制在运行过程中主要包括自噬的诱导、自噬泡的形成、自噬泡与液泡融合以及自噬泡内物质在液泡腔内的降解等步骤。研究发现动植物和酵母细胞在营养缺乏的情况下会激活自噬,降解细胞内的物质来维持细胞的稳态。在动植物体内,细胞自噬除了帮助机体应对营养缺乏,也会参与机体其他重要的生命过程<sup>[1]</sup>。

在植物中最早的关于自吞噬的分子遗传研究主要是通过通过与酵母中 ATG 基因的同源性比对得到一些同源基因,进而获得相应的自噬基因缺失突变体,从而开展植物中自噬功能的研究<sup>[2-5]</sup>。如 Su 等<sup>[6]</sup>研究发现水稻中 OsATG8 与 OsATG4 发生互作; OsATG10b 突变后会导致水稻对高盐和甲基紫精敏感和氧化蛋白的积累<sup>[5]</sup>等。通过对植物核心 ATG 基因突变体的研究,发现 ATG 基因主要在营养缺乏等各种逆境胁迫下发挥生理功能,且几乎所有典型的 ATG 突变体都表现出对 N、C 胁迫敏感,叶片加速衰老的表型<sup>[3-4,7-10]</sup>,并且伴有加剧细胞死亡的现象<sup>[11]</sup>。

在线虫、植物、果蝇、小鼠以及人类中,ATG7 基因均发挥着重要功能,该基因主要负责 ATG12 以及 ATG8-PE 泛素化支路的激活,这 2 条支路涉及自噬体的延伸和闭合,是细胞自噬发挥功能的重要步骤之一,ATG7 基因的突变会导致这 2 条支路同时受到阻碍<sup>[3]</sup>,严重影响生物体整个细胞自噬过程。如拟南芥 AtATG7 突变体在长日照和短日照以及在正常栽培和 N 胁迫的条件下均表现出加速衰老的表型(成熟莲座叶会较早地枯黄),且在 N 胁迫条件下叶片衰老加速的表型更加显著<sup>[3]</sup>。

细胞自噬是真核生物特有的生命现象,贯穿于细胞的生长发育和生理病理的整个过程,在细胞发育、细胞免疫、组织重塑以及对环境适应等方面发挥着重要的作用。到目前为止,水稻中关于细胞自噬的研究还处于初级阶段,研究水稻自噬相关基因 (autophagy-related gene, ATG),探索水稻中自噬分子机制和生理功能,对水稻的生长及育种均有重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

突变体材料 PFG\_2D-20072 购自韩国 POSTEC (Pohang University of Science and Tech-

收稿日期: 2016-10-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31271314); 国家重大转基因专项(2014ZX08001001)

孟盼盼, 硕士研究生. 研究方向: 水稻分子生物学. E-mail: mpp95335@163.com

通信作者: 林拥军, 博士, 教授. 研究方向: 水稻分子生物学. E-mail: yongjunlin@mail.hzau.edu.cn

nology), 材料背景为 Dongjin。遗传转化受体品种为中花 11(ZH11), 由华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室保存并提供。

## 1.2 菌株材料

大肠杆菌 (*Escheerichia coli*) 菌株 Top10 及根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 菌株 EHA105, 由笔者所在实验室保存和提供。

## 1.3 载体

克隆载体 pEASY-T3(TransGen)、超表达载体 pCAMBIA1301S 及干涉载体 pDS1301<sup>[12]</sup>, 由笔者所在实验室保存和提供。

## 1.4 遗传转化和阳性转基因植株的检测

遗传转化依照林拥军等<sup>[13]</sup>建立的方法进行。将构建好的超表达和干涉载体转入根癌农杆菌菌株, 以 ZH11 种子诱导的胚性愈伤组织作为转化受体, 在根癌农杆菌中加入诱导剂乙酰丁香酮, 侵染胚性愈伤, 共培养 3 d 后, 置于潮霉素筛选培养基上筛选抗性愈伤 2 次, 每次 15 d。得到抗性愈伤后, 将抗性愈伤置于分化培养基上, 待分化出转基因苗后, 转到生根培养基中, 获得转入目的基因的转基因植株。

阳性转基因植株的检测, 首先采用小量抽提法<sup>[14]</sup>提取再生植株 DNA, 随后使用 PCR 的方法, 以提取的 DNA 为模板, 用潮霉素引物 hpt-F 和 hpt-R 进行扩增检测。

## 1.5 水培方法

水培液按照国际水稻研究所营养液配方配制。将待用的 *OsATG7* 转基因杂合植株收获的种子经消毒处理后置于发芽培养基上培养 7 d, 随后转入水培液中进行培养。

## 1.6 透射电镜观察

将水培液中培养了 4 周的 *OsATG7* 转基因纯合突变体及阴性植株置于添加了 100  $\mu\text{mol/L}$  E-64d(Sigma-Aldrich)的水培液中, 暗处理 1 d。取叶片顶端处, 并将叶片样品切成 1 mm  $\times$  1 mm 的碎片, 随后置于 5% 戊二醛固定液中固定, 抽真空 1 h 后置 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。制片后置于透射镜下观察。

## 1.7 MDC 染色

将水培液中培养了 4 周的 *OsATG7* 转基因纯合突变体及阴性植株置于添加了 100  $\mu\text{mol/L}$  E-64 d(Sigma-Aldrich)的水培液中, 暗处理 1 d。于根尖处取样, 并立即浸没于 100  $\mu\text{mol/L}$  MDC(Sigma-Aldrich)染料中, 在暗环境中染色 1 h, 随后用 PBS 缓冲液漂洗 2 次后, 于荧光显微镜下观察。MDC 染料

是一种酸性的荧光染料, 多年来在植物和哺乳动物中被广泛应用于检测自噬体的产生<sup>[2, 15-16]</sup>。

## 1.8 RT-PCR 分析

将叶片样品于液氮中磨成粉末, 使用 Tizol(Tiagen)抽提总 RNA, 最后将总 RNA 溶于 DEPC 水中。以 oligo(dT)(上海生工)作为反转录引物, MLV 为反转录酶, 将总 RNA 反转录为 cDNA, 用于 RT-PCR 分析。

## 1.9 叶绿素含量检测

将 *OsATG7* 转基因纯合突变体、杂合转基因植株和阴性植株置于暗培室培养, 分别于第 0、2、4 和 6 天取样。将样品于暗光条件下剪碎并快速称取 20 mg, 放入 2 mL 离心管中, 并迅速加入 1 mL 叶绿素抽提液( $V_{\text{丙酮}} : V_{\text{乙醇}} : V_{\text{双蒸水}} = 4.5 : 4.5 : 1$ ), 然后用封口膜及锡箔纸包好后混匀, 置 4  $^{\circ}\text{C}$  抽提 12 h。使用 DU640 分光计, 于 645 和 663 nm 测量其吸光值, 计算叶绿素含量<sup>[17]</sup>。

# 2 结果与分析

## 2.1 *OsATG7* 突变体株高及育性变化

*OsATG7* 突变体种子经多代种植及观察, 发现相比于阴性植株和杂合转基因植株, *OsATG7* 转基因纯合突变体植株变矮(图 1A)且高度不育(图 1B)。因此, 每次获得转基因纯合突变体植株需要从杂合转基因植株的种子中分离。为了进一步确定转基因纯合突变体高度不育的表型, 构建了 *OsATG7* 超表达及干涉载体, 并将其转入同为梗稻的 ZH11 中, 结果显示, *OsATG7* 干涉转基因植株结实率明显下降(图 1C), 超表达转基因植株结实率变化不明显(图 1D)。

## 2.2 暗胁迫对自噬体产生的影响

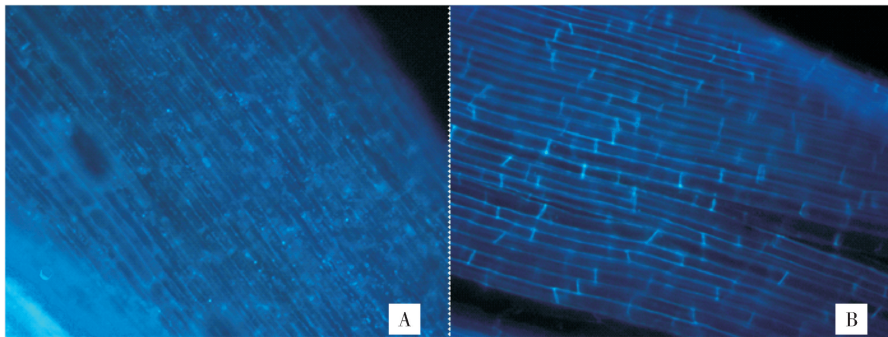
为了验证暗胁迫是否可以诱导水稻细胞自噬, 采用了 2 种方法来检测自噬体。将阴性植株及 *OsATG7* 突变体置于暗培室处理 1 d, 随后取根尖(约 1 cm)浸入 MDC 染料中染色, 置于荧光显微镜下观察, 结果显示: 在阴性植株中可以看到很多自噬体荧光(图 2A), 在转基因纯合突变体中几乎没有荧光产生(图 2B)。为了进一步验证上述结果, 取暗胁迫处理后的叶尖部分进行固定, 制片后于透射电镜下观察, 结果显示, 在阴性植株中可以看到液泡中有自噬体产生(图 3A), 而转基因纯合突变体中没有观察到这一现象。结果表明, 黑暗条件可诱导自噬体的产生, *OsATG7* 基因的缺失影响自噬体的形成。



A.由左至右依次为 *OsATG7* 阴性植株、转基因杂合植株及转基因纯合突变体成熟期表型；B.由左至右依次为 *OsATG7* 阴性植株、转基因杂合植株及转基因纯合突变体单穗；C.阴性对照单穗(左)及 *OsATG7* 干扰转基因植株(右)；D.阴性对照单穗(左)及 *OsATG7* 超表达转基因植株(右)。A.The phenotype of *OsATG7* mutants in maturation period,from left to right is negative,heterozygous,homozygous; B.The panicle of *OsATG7* mutants,from left to right is negative,heterozygous,homozygous; C.The panicle of interference transgenic plants,the left one is control; D.The panicle of overexpression transgenic plants,the left one is control.

图 1 *OsATG7* 突变体成熟期表型

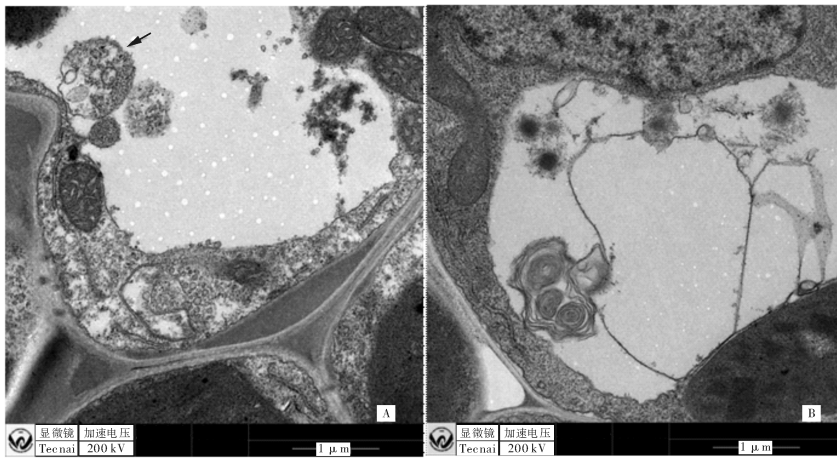
Fig.1 The phenotype of *OsATG7* mutant in maturation period



A.使用 MDC 染料浸染暗胁迫 1 d 后的阴性植株根尖,于显微镜下观察到自噬体荧光；B.MDC 染料浸染同样处理的纯合突变体,几乎没有观察到自噬体荧光。A.MDC-stained autophagyosomes in the control plant roots after 1 day in darkness observed by fluorescence microscope; B.No fluorescence in homozygous plant was observed.

图 2 在荧光显微镜下观察自噬的产生

Fig.2 Visualization of autophagy by fluorescence microscope



A. 阴性植株在暗胁迫 1 d 后有自噬体形成, 箭头位置即为观察到的自噬体; B. 纯合突变体在暗胁迫 1 d 后没有观察到自噬体形成。  
A. The autophagosome in control plant leaf after 1 day of exposure to darkness. The arrow indicates autophagosome; B. No autophagosome in homozygous mutant plants leaf after 1 day of exposure to darkness.

图 3 透射电镜下观察 *OsATG7* 突变体叶片自噬体

Fig.3 TEM of autophagosome in leaves of *OsATG7* mutant plant

### 2.3 暗胁迫条件下 *OsATG7* 的基因表达情况

*OsATG7* 基因在水稻叶片的不同发育阶段均有表达<sup>[18]</sup>。多数植物 *ATG* 基因受各种胁迫诱导表达, 不同基因在不同胁迫中诱导表达的情况不一样<sup>[1]</sup>。为了检测在暗胁迫条件下 *OsATG7* 诱导表达情况, 将 *OsATG7* 阴性植株置于暗培室处理 0、1、2、3、4、5、6 d 后取样, 检测 *OsATG7* 在不同暗胁迫处理时长中的表达量, 结果显示, 随着暗胁迫时间的增加, *OsATG7* 基因在阴性植株中表达量逐渐上升 (图 4)。

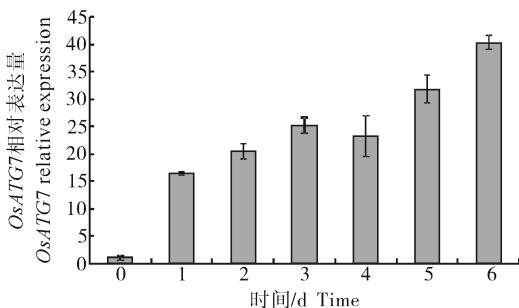


图 4 黑暗处理不同时间后检测 *OsATG7* 的表达量

Fig.4 The *OsATG7* relative expression after different periods in darkness

### 2.4 暗胁迫条件下 *OsATG7* 突变体的表型

将 *OsATG7* 突变体置于暗培养室处理, 随着时间的增加, 纯合突变体表现出明显的黄化、萎蔫的早衰现象, 但杂合转基因植株及阴性植株变化不明显 (图 5)。为进一步检测各基因型植株衰老程度, 选

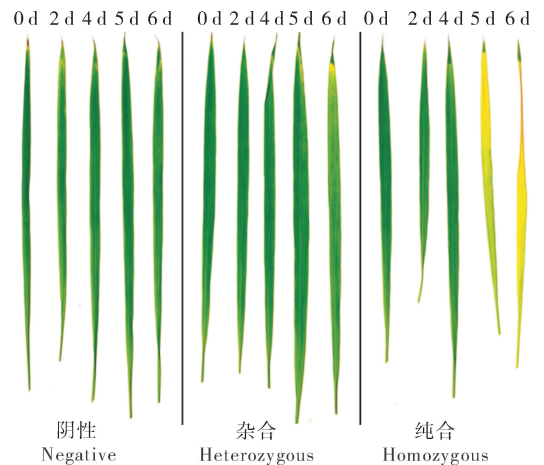
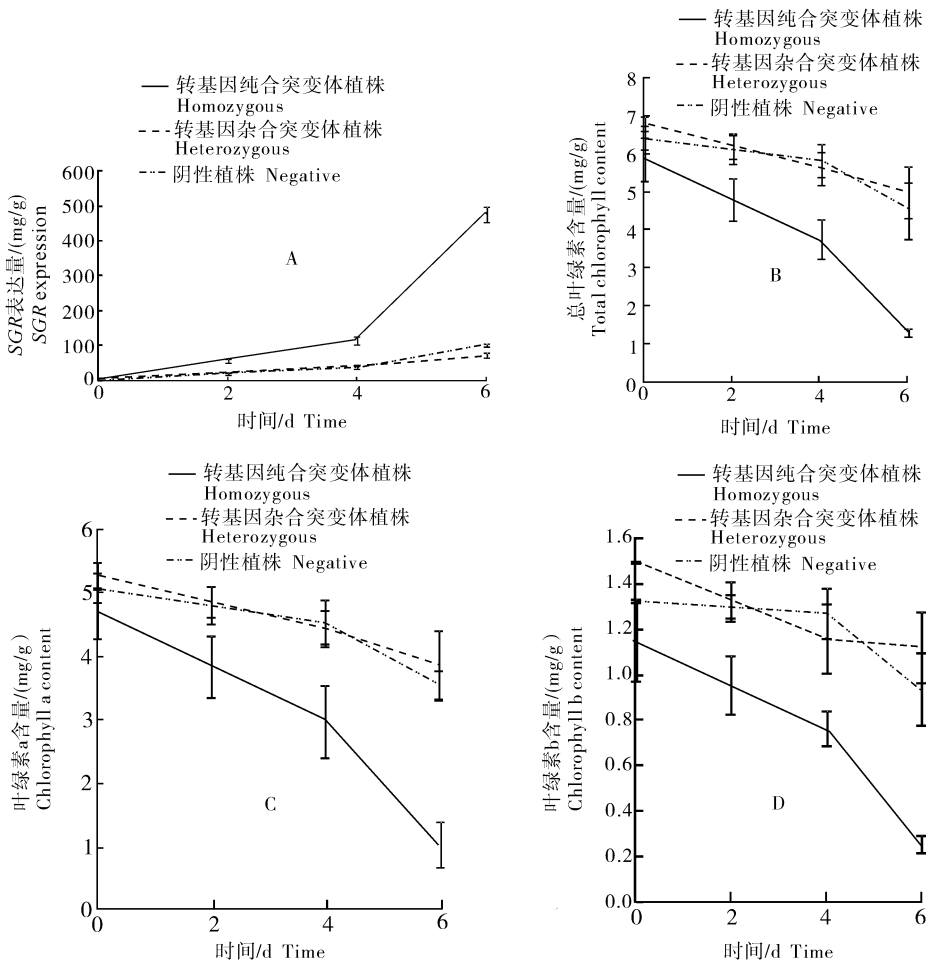


图 5 暗胁迫处理不同时间的 *OsATG7* 突变体叶片

Fig.5 The leaves of *OsATG7* mutant plants after various periods in darkness

用衰老标记基因 *SGR* 基因作为检验个体衰老程度的标志<sup>[16]</sup>, 抽提了 3 种基因型个体的总 RNA, 检测 *SGR* 基因的表达量, qRT-PCR 结果显示, 随着暗胁迫时间的增加, 该基因在纯合突变体中的表达量远远高于杂合和阴性植株 (图 6A), 说明纯合突变体在暗胁迫的诱导下表现出加速衰老的现象。植物的衰老往往伴随着叶绿体的降解, 因此, 进一步检测了 3 种基因型个体的叶绿素含量, 结果表明: 纯合突变体的叶绿体随着暗胁迫的时间增加而逐渐减少 (图 6B-D), 进一步证实了 *OsATG7* 基因缺失的纯合突变体在暗胁迫诱导下出现提早衰老的表型。



A. 暗胁迫处理 0、2、4、6 d 后叶片中 SGR 表达量；B. 暗胁迫处理 0、2、4、6 d 后叶片中总叶绿素含量 (mg/g)；C. 暗胁迫处理 0、2、4、6 d 后叶片中叶绿素 a 含量 (mg/g)；D. 暗胁迫处理 0、2、4、6 d 后叶片中叶绿素 b 含量 (mg/g)。A. The SGR relative expression of plants after 0 day, 2 day, 4 day and 6 day of exposure in darkness; B. The total chlorophyll content of plants after 0 day, 2 day, 4 day and 6 day of exposure in darkness; C. The chlorophyll a content of plants after 0 day, 2 day, 4 day and 6 day of exposure in darkness; D. The chlorophyll b content of plants after 0 day, 2 day, 4 day and 6 day of exposure in darkness.

图 6 暗胁迫处理不同时间的 *OsATG7* 突变体 SGR 表达量及叶绿素含量

Fig.6 The SGR relative expression and chlorophyll content of *OsATG7* mutant plants after different periods in darkness

### 3 讨论

细胞自噬在植物生长发育和响应干旱、营养、黑暗、衰老等胁迫中扮演着重要的角色，是真核生物中一种降解细胞内物质的进化保守机制，目前在双子叶模式植物拟南芥中已经获得了多个自噬相关基因的突变体，并进行了相关的功能研究。然而，在单子叶模式植物水稻中的研究尚处于初级阶段。

在水稻中一共发现了 33 个自噬相关的基因，许多 ATG 基因具有多个同源基因，如 *OsATG8* 具有 7 个同源基因，分别是 *OsATG8a*、*OsATG8b*、

*OsATG8c*、*OsATG8d*、*OsATG8e*、*OsATG8f* 和 *OsATG8i*<sup>[19]</sup>。不同的 *OsATG8* 基因发挥不同的功能<sup>[9]</sup>。而在水稻中 *OsATG7* 基因只有 1 个，且在酵母中，ATG7 基因在自噬体的 ATG8 和 ATG12 两个类泛素蛋白多聚化的过程中起作用，是形成正常的自噬体不可或缺的，研究水稻中 *OsATG7* 基因的功能，对揭示水稻中细胞自噬的分子机制非常重要。

#### 3.1 *OsATG7* 基因对水稻生长发育的影响

在拟南芥中发现，大多数自噬相关基因突变体在整个植物生长期除了早衰现象外没有明显的发育异常现象<sup>[3-4, 7, 9-10, 20-22]</sup>，但多伴随开花数减少及

结实率降低等<sup>[1]</sup>。

在本研究中,经过多代种植并观察,发现纯合突变体也有类似的表型,即早衰和不育。纯合突变体 *OsATG7* 基因为敲除突变,通过 qRT-PCR 检测得知,该基因在纯合突变体中的相对表达量为 0,通过对 *OsATG7* 突变体及干涉和超表达转基因植株的表型观察发现,株高变矮的表型只有纯合突变体中才表现出来,而育性下降的表型在干涉转基因植株和纯合突变体中都能观察到,这说明 *OsATG7* 基因表达量低于某一阈值时会导致水稻育性下降、结实率降低,具体的阈值还需要进一步研究;而植株变矮这一表型目前只有在纯合突变体中观察到且该表型非常稳定,但由于缺少互补试验,目前还不能肯定 *OsATG7* 基因的突变导致植株变矮。在以往的研究中发现,细胞自噬在小麦的小花发育过程中起作用<sup>[1,23]</sup>,随后 Kurusu 等<sup>[24]</sup>也发现,细胞自噬参与到水稻花粉发育过程中,自噬基因的缺失会影响花粉的正常发育,造成水稻不育。因此,该突变体不育可能是由于 *OsATG7* 基因的缺失导致细胞自噬过程受影响,从而进一步扰乱水稻花的发育。

### 3.2 暗胁迫对 *OsATG7* 突变体的影响

在研究暗胁迫诱导自噬的试验中,通过 MDC 染色和透射电镜观察 2 种方法证明了暗胁迫可以诱导自噬体的形成;荧光定量 PCR 的结果表明暗胁迫可以诱导 *OsATG7* 基因的表达,且随着暗胁迫时间的增加而表达量上升,进一步说明暗胁迫可以诱导细胞自噬。随着暗胁迫时间的增加,*OsATG7* 纯合突变体植株叶片叶绿素降低、衰老相关基因表达量上升,表现出加速衰老的现象。植物衰老最典型的外部特征就是叶片的黄化,这是由于叶绿素含量下降,叶绿体发生降解的缘故,近几年的研究表明,叶片衰老过程中的叶绿体降解机制涉及细胞自噬<sup>[1]</sup>。Ishida 等<sup>[25]</sup>和 Izumi 等<sup>[26]</sup>发现在衰老的叶片中存在着依赖于细胞自噬降解叶绿体的 2 种途径:一种是通过包含有 Rubisco 蛋白的圆形结构 RCBs 对叶绿体中的蛋白质进行逐步降解,另一种是通过自噬小泡直接包裹叶绿体进行降解。因此,推测暗胁迫诱导 *OsATG7* 纯合突变体早衰的原因可能是由于细胞自噬过程的缺陷,使叶绿体不能依赖自噬过程有序降解,在植株受到暗胁迫后不能将叶绿体中的营养物质有效地循环利用,所以表现出加速衰老的现象。

**致 谢** 感谢武汉病毒研究所公共技术服务中心张配老师在透射电镜实验中的帮助。

### 参 考 文 献

- [1] 王燕,刘玉乐.植物细胞自噬研究进展[J].中国细胞生物学学报,2010,32(5):677-698.
- [2] CONTENTO A L, XIONG Y, BASSHAM D C. Visualization of autophagy in *Arabidopsis* using the fluorescent dye monodansylcadaverine and a GFP-AtATG8e fusion protein[J]. Plant J, 2005, 42: 598-608.
- [3] DOELLING J H, WALKER J M, FRIEDMAN E M, et al. The APG8/12-activating enzyme APG7 is required for proper nutrient recycling and senescence in *Arabidopsis thaliana* [J]. J Biol Chem, 2002, 277(36): 33105-33114.
- [4] PHILLIPS A R, SUTTANGKAKUL A, VIERSTRA R D. The ATG12-conjugating enzyme ATG10 is essential for autophagic vesicle formation in *Arabidopsis thaliana* [J]. Genetics, 2008, 178(3): 1339-1353.
- [5] SHIN J H, YOSHIMOTO K, OHSUMI Y, et al. *OsATG10b*, an autophagosome component, is needed for cell survival against oxidative stresses in rice [J]. Mol Cells, 2009, 27(1): 67-74.
- [6] SU W, MA H, LIU C, et al. Identification and characterization of two rice autophagy associated genes, *OsAtg8* and *OsAtg4* [J]. Mol Biol Rep, 2006, 33(4): 273-278.
- [7] HANAOKA H, NODA T, SHIRANOY, et al. Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an *Arabidopsis* autophagy gene [J]. Plant physiology, 2002; 129(3): 1181-1193.
- [8] INOUE Y, SUZUKI T, HATTORIM, et al. *AtATG* genes, homologs of yeast autophagy genes, are involved in constitutive autophagy in *Arabidopsis* root tip cells [J]. Plant cell physiology, 2006, 47(12): 1641-1652.
- [9] THOMPSON A R, DOELLING J H, SUTTANGKAKUL A, et al. Autophagic nutrient recycling in *Arabidopsis* directed by the ATG8 and ATG12 conjugation pathways [J]. Plant physiology, 2005, 138(4): 2097-2110.
- [10] YOSHIMOTO K, HANAOKA H, SATO S, et al. Processing of ATG8s, ubiquitin-like proteins, and their deconjugation by ATG4s are essential for plant autophagy [J]. Plant cell, 2004, 16(11): 2967-2983.
- [11] HAYWARD A P, DINESH-KUMARS P. What can plant autophagy do for an innate immune response [J]. Annual review of phytopathology, 2011, 49: 557-576.
- [12] 陈秋红, 褐飞虱体内 small RNA 的鉴定, 利用 RNAi 技术培育抗褐飞虱水稻及 *OsATG7* 基因的功能研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.
- [13] 林拥军, 陈浩, 曹应龙, 等. 农杆菌介导的牡丹江 8 号高效转基

- 因体系的建立[J].作物学报,2002,28(3):294-300.
- [14] 张娟娟,林拥军,周菲.水稻新型核转化筛选标记基因的鉴定及应用[J].华中农业大学学报,2015,34(1):1-8.
- [15] BIEDERBICK A, KERN H F, ELSÄSSER H P. Monodansylcadaverine (MDC) is a specific in vivo marker for autophagic vacuoles[J]. Eur J Cell Biol, 1995, 66: 3-14.
- [16] MUNAFÓ D B, COLOMBO M I A. A novel assay to study autophagy: regulation of autophagosome vacuole size by amino acid deprivation[J]. J Cell Sci, 2001, 114: 3619-3629.
- [17] 唐银凤. 叶绿素含量测定中的误差分析[J]. 南京理工大学学报, 1997, 21(2): 130-132.
- [18] 夏天. 水稻 LOC\_Os01g42850 基因 (*Atg7*) 突变体分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [19] XIA K, LIU T, OUYANG J, et al. Genome-wide identification, classification, and expression analysis of autophagy-associated gene homologues in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. DNA research, 2011, 18: 363-377.
- [20] XIONG Y, CONTENTO A L, BASSHAM D C. *AtATG18a* is required for the formation of autophagosomes during nutrient stress and senescence in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2005, 42(4): 535-546.
- [21] CHUNG T, PHILLIPS A R, VIERSTRA R D. *ATG8* lipidation and *ATG8*-mediated autophagy in *Arabidopsis* require *ATG12* expressed from the differentially controlled *ATG12A* and *ATG12B* loci [J]. Plant J, 2010, 62(3): 483-493.
- [22] PATEL S, DINESH-KUMAR S P. *Arabidopsis ATG6* is required to limit the pathogen-associated cell death response [J]. Autophagy, 2008, 4(1): 20-27.
- [23] GHIGLIONE H O, GONZALEZ F G, SERRAGO R, et al. Autophagy regulated by day length determines the number of fertile florets in wheat [J]. Plant J, 2008, 55(6): 1010-1024.
- [24] KURUSU T, KOYANO T, HANAMATA S, et al. *OsATG7* is required for autophagy-dependent lipid metabolism in rice post-meiotic anther development [J]. Autophagy, 2014, 10(5): 878-888.
- [25] ISHIDA H, WADA S. Autophagy of whole and partial chloroplasts in individually darkened leaves: a unique system in plants? [J]. Autophagy, 2009, 5(5): 736-737.
- [26] IZUMI M, HIDEMA J, WADA S, et al. Establishment of monitoring methods for autophagy in rice reveals autophagic recycling of chloroplasts and root plastids during energy limitation [J]. Plant physiology, 2015, 167(4): 1307-1320.

## Functions of autophagy related gene *OsATG7* in rice

MENG Panpan CHEN Qiuhong LIN Yongjun

National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement/National Center of Plant Gene Research (Wuhan), Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** The relationships between autophagy and senescence in rice under darkness condition were discussed. The phenotype of *OsATG7* mutants was observed. *OsATG7* transgenic plants were over-expressed and interfered. The expression of *OsATG7*, *SGR* gene and the variation of chlorophyll content in different genotypes of *OsATG7* mutants treated with darkness was studied. Results showed that the expression of *OsATG7* was associated with rice fertility. The expression of *OsATG7* and *SGR* gene increased sharply in homozygous mutant. The chlorophyll content of *OsATG7* mutants decreased faster than that of control plants. Under darkness condition, the autophagosome only formed in control plants rather than homozygous mutants.

**Keywords** rice; autophagy; abiotic stress; darkness stress; senescence

(责任编辑: 张志钰)