

·综述·

转 C_4 光合固碳相关基因水稻的研究进展

张边江¹, 陈全战¹, 焦德茂^{2*}

¹南京晓庄学院生命科学系, 南京 211171; ²江苏农业科学院, 南京 210014

摘要 近10年来, 转 C_4 光合固碳相关基因水稻的研究取得了长足进展, 已受到国内外科学界的广泛关注。本文简要介绍并评述了有关方面的研究进展, 包括水稻的 C_4 光合固碳基因工程、转 C_4 固碳相关基因水稻光合和光氧化的生理特性及转 C_4 光合固碳相关基因水稻的生理育种3个方面; 提出以常规育种和生物技术相结合, 开展转 C_4 光合固碳相关基因水稻的生理育种, 是培育优质、高产超级稻的有效途径。

关键词 C_4 光合固碳相关基因, 光合作用, 生理育种, 水稻

张边江, 陈全战, 焦德茂 (2008). 转 C_4 光合固碳相关基因水稻的研究进展. 植物学通报 25, 161-166.

自从1966年澳大利亚学者Hatch-Slack发现 C_4 光合途径开始, 作物生理和育种学家们就试图利用 C_4 光合特性改造 C_3 作物, 以提高主要农作物如稻、麦和大豆等的光合生产力 (Aoyaki and Bassham, 1986; Hatch, 1987)。Rikisi等 (1988)以 *Atriplex rosea* (C_4) $\times$ *Atriplex putula* (C_3) $\times$ *Atriplex rosea*(C_4)得到了类似 C_4 的材料。但由于染色体不规则配对和遗传障碍等原因, 采用常规育种将 C_4 植物光合特性转入到 C_3 作物中, 在生产上难以奏效。后来我国科学家利用 C_3 植物水稻和 C_4 植物狼尾草(或玉米)的同室效应, 试图筛选出高光效的水稻种质, 虽然还未达到预期的目的, 但选出了适应广幅光强的广亲和种质 (崔继林, 2000)。近年来随着生物技术的发展, C_4 植物玉米和高粱等的 C_4 基因先后被克隆并导入到 C_3 双子叶植物矮牵牛 (Tagu et al., 1988)、烟草 (Tagu et al., 1991)、马铃薯 (Gehlen et al., 1996)、单子叶植物水稻 (Ku et al., 1999)及 C_3 - C_4 中间植物十字花科的 *Moricandia arvensis* (Tanabe et al., 2000)中; 尔后, 我国科学家开始了转 C_4 光合固碳相关基因水稻的育种和生理研究, 并取得了重要的进展。最近, 国际水稻研究所邀请各国有关科学家进行了主题为构建 C_4 水稻的讨论, 期望实现一次新的“绿色革命” (Dennis,

2006)。可见通过导入 C_4 光合固碳相关基因以改良水稻光合性能, 可能是在现有株型和杂种优势利用的基础上进一步提高水稻的光能利用效率, 实现水稻高光效育种的有效途径。

1 水稻的 C_4 固碳基因工程

随着分子生物学技术的广泛应用, Matsuoka和Yamamoto (1989)与Ku等(1996)比较了 C_4 植物玉米和 C_3 植物水稻叶内PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase)的基因构造和核苷酸序列, 发现两者具有相似同源性。在有关基因工程的工作中, 首先Hudspeth等 (1992)发现, 过量表达PEPC的转基因烟草的 CO_2 补偿点比对照稍有下降, 但同时转基因植株的暗呼吸和光呼吸加强。此后, Ku等 (1999)通过农杆菌介导系统, 首次成功地将玉米 C_4 光合途径的关键酶PEPC的基因导入 C_3 作物水稻中, 获得了过量表达的转基因植株, 特别是转PEPC基因的水稻株系表现出较高的光合能力, 通过测定发现其酶活性有了明显提高, 并且显示其光合作用的氧抑制降低, 单株产量提高10% - 15%。后来, Zhang等 (2003)将高粱 C_4 型PEPC基因导入水稻农

收稿日期: 2007-01-19; 接受日期: 2007-06-28

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(No. G1998010100)、国家转基因专项(No. 16100004)和南京晓庄学院生态学重点学科(No. 2005NXY01)

* 通讯作者。E-mail: jiaodm_123@yahoo.com.cn

垦 58 和中花 10 号两个粳稻品种, 也显示出饱和光合速率和羧化效率明显提高, CO_2 补偿点和光呼吸速率显著降低的特性。近几年来, C_4 基因工程也成为国内研究的热点。罗素兰等 (2003) 和张桂芳等 (2005) 分别克隆了 C_4 植物甘蔗和稗草的 *PEPC* 基因并进行了功能验证。Chen 等 (2004) 又成功地将玉米 C_4 型 *PEPC* 基因在另一禾本科作物小麦中实现了有效表达。刘峰等 (2005) 利用双农杆菌 / 双质粒的共转化系统获得了无选择标记的转 *PEPC* 基因的水稻植株, 从而克服了转基因在生产上安全应用的技术障碍。

Ishimaru 等 (1997) 将玉米 PPDK (pyruvate orthophosphate dikinase) 基因转入拟南芥中, 并在其叶绿体中表达, 转基因植株中的 PPDK 活性为对照的 4 倍, 表明 C_4 单子叶植物玉米的 C_4 型 PPDK 的转运在 C_3 双子叶植物拟南芥中也能起作用。后来 Sheriff 等 (1998) 将兼性 CAM 植物 *Mesembryanthemum crystallinum* 的质体 PPDK 的基因转入烟草, 这些转基因植株的叶片和种子中 PPDK 含量均得到明显提高。另外, 他们还将玉米的 PPDK 基因转入马铃薯中, 转基因植株的 PPDK 酶活性比对照高 5.4 倍。Fukayama 等 (2001) 将玉米的 PPDK 基因导入水稻后, 有 40% 的植株 PPDK 的表达活性高于原种 40 倍以上, 达到了玉米的 1/2 水平。但转 PPDK 基因是否有提高植株光合速率的作用, 不同研究组研究的结果则不同。

叶绿体中的 NADP-ME (NADP-malic enzyme) 是 C_4 光合途径中的另一个关键酶, 用 C_3 植物 *Flaveria pringlei* 和水稻的 C_3 型 NADP-ME 分别转化马铃薯和水稻, 转化植株的 NADP-ME 含量有所提高, 但对光合作用及植株的生长都没有影响。Takeuchi 等 (2000) 将玉米 C_4 型 NADP-ME 基因的 cDNA 转入水稻, 转化植株酶活性最高提高了 70 倍, 在叶绿体中超量表达了 NADP-ME, 但叶绿体内结构异常, 推测叶绿体内 NADP-ME 的高活性可能是影响叶绿体发育的重要因素。Huang 等 (2002) 的研究指出转玉米 C_4 型 NADP-ME 基因的水稻光合作用并未得到改善; Chi 等 (2004) 将高粱的 C_4 型 NADP-ME 基因导入水稻并实现有效表达, 发现 NADP-ME 有增加转基因水稻光抑制的作用。

目前, 我们已经获得了转 *PEPC*+*PPDK*+*ME* 3 基因的水稻植株, 在喷施 NaHSO_3 后, 其光合速率达到玉米的 82%, 构建了类似 C_4 植物光合能力的水稻 (待发表)。上述工作将 C_4 光合固碳相关基因成功导入 C_3 植物, 使通过分子育种途径来改善 C_3 作物光合作用以提高其光合效率成为可能, 同时展示了通过基因工程手段提高作物光合生产力的广阔前景。

2 转 C_4 光合固碳相关基因水稻的光合生理特性

2.1 转 C_4 光合固碳相关基因水稻的光合特性

C_4 光合固碳相关基因导入水稻后, 能否改善水稻的光合生理特性? 日本学者 Fukayama 等 (2000) 在光强 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、温度 25°C 的人工培养室里培育的植株中并未发现转 *PEPC* 基因水稻植株光合特性的改善和光合能力的提高; 但 Jiao 等 (2001, 2002) 在我国长江中下游地区夏季高光强和高温的自然条件下, 对培育出的高世代稳定种质的研究发现, 转 *PEPC* 基因水稻植株不仅 *PEPC* 活性提高 20 倍, 而且其光合速率和羧化效率也分别比原种提高 55% 和 50%, CO_2 补偿点比原种下降 27%, 光饱和点比原种高 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 其产量提高 14% - 22%。在高光强下, 与原种相比转 *PEPC* 基因水稻中 Rubisco 羧化酶活性变化不明显, 但碳酸酐酶 (carbonic anhydrase, CA) 诱导活性增加了 1.8 倍, 显示出与 CO_2 浓缩机制相关的酶得到显著改善。Jiao 等 (2003) 进一步的研究发现, 光合速率的提高并不与气孔导度的增加相关, 揭示了转 *PEPC* 基因的水稻植株具有初级的 CO_2 浓缩机制, 同时用 ^{13}C 测定转 *PEPC* 基因水稻及其 16 个杂种后代材料, 发现转 *PEPC* 基因水稻仍属于 C_3 或初级的 C_3 - C_4 中间型作物。此后, Ji 等 (2004) 向 C_3 植物水稻中外加 C_4 光合原初产物草酰乙酸 (oxaloacetic acid, OAA), 可提高叶片的光合能力, 进一步证明了 C_3 植物叶片细胞中具有 C_4 微循环的运转系统。在转高粱 C_4 型 *PEPC* 基因水稻的植株中, Zhang 等 (2003) 的实验也显示转化植株的 CO_2 补偿点和光呼吸速率显著降低, 光饱和速率和羧化效率明显提高, 认为

这可能是由于光呼吸的降低致使累积了更多的 ATP 分子, 富余的 ATP 分子增强了 Rubisco 羧化酶的活性, 从而有更多的 Rubisco 酶分子处于激活状态, 从而提高了羧化效率。从以往的工作(Chi et al., 2001)可以看到, 转 *PEPC*+*PPDK* 双基因水稻的光合速率与转 *PEPC* 基因的水稻一样, 但施用 ATP 激活剂 NaHSO_3 后, 可增加其光合速率 (32.6%), 说明 ATP 是转 C_4 光合固碳相关基因水稻光合速率的限制因子 (朱素琴等, 2004)。

Fukayama 等 (2001) 将玉米的 *PPDK* 基因导入水稻后, 高表达的转化植株光合速率比对照提高 35%, 气孔导度和胞间 CO_2 浓度也高于对照, 在转 *PEPC* 基因水稻的基础上, 又进一步提高了植株产量, 增强了抗逆性, 这可能是由于 *PPDK* 在叶绿体中的过量表达使种子器官的类 C_4 光合速率增强, 进而增加了种子的产量。Chi 等 (2004) 克隆了来自高粱的 *NADP-ME* 基因并转入水稻, 与对照相比转化植株苹果酸含量降低 30%, 丙酮酸含量上升 20%, 证明转入的 *NADP-ME* 有活性, 且活性比对照提高了 1-7 倍, 但光合作用有所下降, C_4 循环途径的其它光合酶 *PEPC*、*PPDK*、*NADP-MDH* (*NADP-malate dehydrogenase*) 及 C_3 循环的限速酶 Rubisco 的活性均没有明显变化, 暗示着转入的 *NADP-ME* 对水稻的碳同化过程影响不大。

另外, 也有人对转 C_4 光合固碳相关基因水稻叶片的结构基础进行了研究。袁莉民等 (2006) 对转 C_4 光合固碳相关基因水稻叶的解剖结构进行分析, 表明其叶片具有气孔多、面积大以及叶鞘维管束结构发达, 叶肉细胞中叶绿体基粒堆积密集的特点。这些结果说明水稻虽不是 C_4 植物, 但导入 C_4 光合固碳相关基因后, 转 C_4 光合固碳相关基因水稻在结构、代谢和光合特性上均得到较大改善, 这为水稻的高光合效率育种提供了有益的启示。

2.2 转 C_4 光合固碳相关基因水稻的抗光氧化特性

水稻生活在一个变动的自然环境条件下, 如果叶片长时间暴露在高温和高光强下, 光合作用就会受到抑制, 长时间叶片失绿, 通常称为光氧化。 C_4 植物玉米比 C_3 植物水稻更耐光氧化, C_3 作物水稻、大豆和 C_4 作物玉米在

创伤、低氧、低温、盐渍和紫外辐射等逆境胁迫下, 其叶片的 *NADP-ME* 和 *PEPC* 活性也被诱导提高, 暗示外源 *PEPC* 基因在水稻中的过量表达, 可能也引发了 *PEPC* 酶在植物体中的其它抗逆生理功能, 反过来增强了 C_3 植物内源逆境相关因子的活性, 从而诱导超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, *SOD*) 和过氧化物酶 (peroxidase, *POD*) 产生交叉适应, 表现出耐光氧化能力增强 (彭长连等, 2000)。

以粳稻品种 Kitaake 为受体的转 *PEPC* 基因水稻, 由于 C_3 光合途径中 C_4 光合固碳基因的导入引起了一系列的变化。王仁雷等 (2002)、Jiao 等 (2005) 和李霞等 (2005a) 对转 *PEPC* 基因水稻材料的世代繁殖鉴定表明, 与原种相比, 在高光强 (3 小时) 或光氧化剂甲基紫精 (methylviologen, *MV*) 处理后, 转 *PEPC* 基因水稻的 *PSII* 光化学效率 (F_v/F_m) 和光化学淬灭 (q_P) 值下降较少, 其饱和光强为 $1\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 比原种高 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光饱和光合速率比原种高 50% 以上, 叶绿素含量和组分的衰减较慢, O_2^- 的产生速率较低, 丙二醛 (malonyldialdehyde, *MDA*) 积累较少, 维持了较稳定的 *PSII* 活性和光合能力, 表现出耐光抑制和光氧化的特性。转双基因 *PEPC*+*PPDK* 的水稻株系在光氧化条件下, 它们的叶绿素和蛋白质含量下降较少, 同样表现出耐光氧化特性。张谦等 (2005) 研究表明, 转入 *PEPC* 基因于水稻中有利于诱导提高其抗逆境酶的活性, 如 *SOD* 和 *POD* 的活性, 从而加速清除逆境中形成的活性氧, 这可能是转 *PEPC* 基因水稻耐光抑制的生理基础之一。

可见将 C_4 光合固碳相关基因导入水稻, 在高温和高光强等逆境条件下可以提高水稻的光化学效率和抗光氧化的能力, 启示我们将常规株型育种和转 C_4 光合固碳相关基因水稻耐光氧化种质选择相结合, 可能是进一步提高水稻的光合能力和减轻光氧化, 防止其早衰的一条有效途径。

3 转 C_4 光合固碳相关基因水稻的生理育种

3.1 转 C_4 光合固碳相关基因水稻的遗传特性

王德正等 (2002, 2004a) 通过杂交将转 *PEPC* 基因

水稻的高光效特性传递到杂种稻的不育系中, 之后对这些材料的世代跟踪研究显示: 玉米的 *PEPC* 基因在杂交转育的转基因水稻中, 以显性基因稳定地传递给后代, 符合孟德尔分离规律, 表现出自交 F_2 代为 3:1 分离, BC_1 为 1:1 分离; 转育的转基因水稻中 *PEPC* 表达水平与受体亲本和转基因拷贝数有关, 来源相同的世代间有相似的表达水平, 但同一世代不同个体间的表达水平有差异, 这可能与其位置效应、拷贝数和环境条件有关。高东迎等 (2003) 和焦德茂等 (2002) 以普通水稻品种 9516 为母本, 以转玉米 *PEPC* 基因水稻 (HPTER) 为父本杂交获得杂种 F_1 , 并对其进行花药培养, 测定了 120 个株系的 *PEPC* 活性, 从中鉴定出 3 个株系, 其光合速率较对照 9516 增加 11.1% - 25.1%, 单株产量较对照增加 7.7% - 35.8%, 这说明通过常规杂交和花药培养相结合可以将玉米 *PEPC* 基因快速转移到普通水稻品种中, 并可能培育出高光合速率且高产的水稻新品种。同时李霞等 (2005b) 报道了 γ 射线对杂交得到的 3 个 *PEPC* 高表达株系辐照后, 选育出生育期与 9516 相近, 重穗且大粒的株系 JAAS 45。说明通过采用杂交、花药培养及 γ 射线辐照的方法, 可以将玉米 *PEPC* 基因快速转移到普通水稻品种中, 从而培育出高光合效率和高产的水稻品系。凌丽俐等 (2006) 进一步用父本转 *PEPC* 基因水稻、母本 9516 及其后代 JAAS 为材料进行光合和荧光生理的测定, 证明高光效特性可以稳定地从父本传递到子代 JAAS 株系中。

上述结果说明, 转 *PEPC* 基因水稻的优良种质特性可以稳定地遗传给后代, 从而为我国水稻的高光效育种提供了一条新的途径。

3.2 转 C_4 光合固碳相关基因水稻的生理育种

从常规育种到生理育种再到分子育种是水稻育种的发展趋势。王德正等 (2002) 通过回交在合肥、南京和海南的 5 年 7 代的选育中, 采用抗生素催芽初筛、PCR 分析抽检、*PEPC* 酶活性测定和田间表型观测获得转玉米 *PEPC* 基因的水稻选育筛选体系, 现已育成 3 个含玉米 *PEPC* 基因的水稻新株系。此外, 王德正等 (2004b) 通过杂交转育的方法, 用高表达的转 *PEPC* 基

因水稻作父本, 与水稻不育系培矮 64S、2304S 和 2306S 杂交后, 获得高 *PEPC* 酶活性和高光合效率 F_1 材料, 说明 *PEPC* 基因在新的遗传背景下不仅稳定遗传和高水平表达, 而且表现增穗(数)增产。与此同时, 四川农业大学何立斌等 (2006) 和李季航等 (2006) 利用江苏农业科学院遗传生理所的转 *PEPC* 基因水稻种质, 对转育 *PEPC* 基因水稻的后代, 进行分子标记辅助选育, 成功地培育出与轮回亲本蜀恢 881 遗传相似度达 97.09% - 99.03% 的改良蜀恢 881, 之后用此改良恢复系与 3 个不育系冈 46A、776A 和 2480A 形成组合, 单株产量增幅为 25% - 65%, 再通过大田繁殖, 配组杂交, 形成品系(组合), 培育出携带 *PEPC* 基因的高光效杂交水稻。

以上研究证明, 将 C_4 植物光合特性转移到 C_3 植物的常规育种与生物技术相结合的生理育种方法是可以培育出高光效且高产量水稻品种的, 从而拓展了一条水稻超高产育种的新途径。

4 结语

由于半矮秆基因和杂种优势的利用, 我国水稻产量已有大幅度提高, 然而现有高产水稻品种的光能利用率仅为 1.0% - 1.5%, 而理想的光能利用率为 3% - 5%。作物的物质积累途径主要是通过光合作用, 而现有高产水稻品种群体叶面积指数已达 8% 以上, 试图通过改良株型提高群体光能利用率已比较困难, 因此国家水稻改良中心提出通过基因工程方法, 将 C_4 植物或藻类生物的高光效基因转移到受体水稻, 在良好株型基础上, 提高水稻的单叶光合效率(包括 CO_2 同化效率和光能转化效率), 以进一步挖掘水稻增产潜力, 这是实现“超级水稻”育种计划的一条有效途径 (袁隆平和赵炳然, 2004), 并将会缓解我国由于自然灾害、耕地减少造成的粮食总产量下降的状况。基于以上各项研究, 今后应加强不同学科的相互合作, 开辟以常规育种和生物技术相结合的水稻高光效生理育种的新途径, 相信不久的将来一定能够培育出高产且优质的“超级水稻”, 使我国水稻育种实现第 3 次突破, 从而使我国水稻产量再上一个新台阶, 提前完成第 3 期超级杂交稻产量达到 $13.5 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 的指标。

参考文献

- 崔继林 (2000). 光合作用与生产力. 南京: 江苏科学技术出版社. pp. 347-347.
- 高东迎, 焦德茂, 龚志云, 张云华, 李霞 (2003). 花药培养转育玉米 *PEPC* 基因研究. 见: 陆维忠, 郑企成主编. 全国作物细胞工程与分子技术育种学术研讨会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社. pp. 329-333.
- 何立斌, 向均朝, 李季航, 钟黎, 张楷正, 李平 (2006). 蜀恢881 含玉米 C_4 型 *PEPC* 基因改良系的遗传背景及其光合特性. 中国水稻科学 20, 31-35.
- 李霞, 焦德茂, 戴传超 (2005a). 转 *PEPC* 基因水稻对光氧化逆境的响应. 作物学报 31, 408-413.
- 李霞, 高东迎, 迟伟, 张云华, 周月兰, 焦德茂 (2005b). 转玉米 *PEPC* 基因水稻株系 JAAS45 的选育路径与技术. 江苏农业学报 21, 12-16.
- 李季航, 向均朝, 何立斌, 张楷正, 李平 (2006). 含玉米 *PEPC* 恢复系的 MAS 转育及其杂交稻的光合特性和杂种优势研究. 作物学报 36, 1779-1787.
- 凌丽俐, 林宏辉, 焦德茂 (2006). 转 *PEPC* 基因水稻种质的稳定光合生理特性. 作物学报 32, 527-531.
- 刘峰, 赵伊英, 苏永昌, 许明, 陈丽娜, 郑金贵 (2005). 双农杆菌共转化获得无标记转 *PEPC* 基因的水稻植株. 应用与环境生物学报 11, 393-398.
- 罗素兰, 陈如凯, 潘大仁, 林俊芳 (2003). 高光效基因植物表达载体的构建. 生物技术通报 4, 38-41.
- 焦德茂, 高东迎, 李霞 (2002). 转入 C_4 植物 *PEPC* 基因的水稻能稳定表达的育种技术. 中国发明专利公开(公告)号 CN1353925.
- 彭长连, 林植芳, 林桂珠 (2000). 光氧化胁迫下几种植物叶片的超氧自由基产生速率和光合特性. 植物生理学报 26, 81-87.
- 王德正, 焦德茂, 吴爽, 李霞, 李莉, 迟伟, 王守海, 李成荃, 罗彦长, 汪秀峰 (2002). 转玉米 *PEPC* 基因的杂交水稻亲本的选育. 中国农业科学 35, 1165-1170.
- 王德正, 王守海, 吴爽, 李成荃, 焦德茂, 罗彦长, 汪秀峰, 杜士云 (2004a). 玉米 *PEPC* 基因在杂交转育的转基因水稻后代中的传递和表达特征. 遗传学报 31, 195-201.
- 王德正, 迟伟, 王守海, 焦德茂, 吴爽, 李霞, 李成荃, 张云华, 罗彦长 (2004b). 转 C_4 光合基因水稻特征特性及其在两系杂交稻育种中的应用. 作物学报 30, 248-252.
- 王仁雷, 华春, 李霞, 张其德, 焦德茂 (2002). 光抑制条件下转 *PEPC* 基因水稻的光合表现. 作物学报 28, 321-326.
- 袁莉民, 仇明, 王朋, 王志琴, 杨建昌 (2006). C_4 转基因水稻秧苗叶片气孔与叶鞘维管束结构特征. 中国农业科学 39, 902-909.
- 袁隆平, 赵炳然 (2004). 超级杂交稻的培育需要基因工程的加盟. 科技中国 9, 26-27.
- 张桂芳, 赵明, 丁在松, 张丽, 肖俊涛 (2005). 稗草磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(*PEPCase*)基因的克隆与分析. 作物学报 31, 1365-1369.
- 张谦, 焦德茂, 张云华, 黄雪清 (2005). 转 *PEPC* 基因水稻的光保护效应的研究. 中国农业科学 37, 1812-1818.
- 朱素琴, 季本华, 焦德茂 (2004). 亚硫酸氢钠对转 *PEPC* 基因水稻叶片光合作用的促进作用. 科技通报 20, 523-528.
- Aoyaki K, Bassham JA (1986). Appearance and accumulation of C_4 carbon pathway enzymes in developing wheat leaves. *Plant Physiol* 80, 334-340.
- Chen XQ, Zhang XD, Liang RQ, Zhang LQ, Yang FP, Cao MQ (2004). Expression of the intact C_4 type *PEPC* gene cloned from maize in transgenic winter wheat. *Chin Sci Bull* 49, 1976-1982.
- Chi W, Jiao DM, Huang XQ, Li X, Kuang TY, Ku MSB (2001). Photosynthetic characteristics of transgenic rice plants overexpressing maize phosphoenolpyruvate carboxylase. *Acta Bot Sin* 43, 657-660.
- Chi W, Zhou JS, Zhang F, Wu NH (2004). Photosynthetic features of transgenic rice expressing Sorghum C_4 type NA DP-ME. *Acta Bot Sin* 46, 873-882.
- Dennis N (2006). Agricultural research: consortium aims to supercharge rice photosynthesis. *Science* 28, 423-423.
- Fukayama H, Im anari E, Tsuchida H, Izui K, Matsuoka M, Miyao TM (2000). *In vivo* activity of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plant. *Plant Cell Physiol* 41, S112-S112.
- Fukayama H, Tsuchida H, Agarie S, Nomura M, Onodera H (2001). Significant accumulation of C_4 -specific pyruvate, orthophosphate dikinase in a C_3 plant rice. *Plant Physiol* 127, 1136-1146.
- Gehlen J, Panstruga R, Smets H (1996). Effects of altered phosphoenolpyruvate carboxylase activities on transgenic C_3 plant *Solanum tuberosum*. *Plant Mol Biol* 32, 831-848.
- Hatch MD (1987). C_4 photosynthesis: a unique blend of modified biochemistry anatomy and ultrastructure. *Biochim Biophys Acta* 895, 81-106.
- Huang XQ, Jiao DM, Chi W, Ku MSB (2002). Characteristics of CO_2 exchange and chlorophyll fluorescence of transgenic rice with C_4 genes. *Acta Bot Sin* 44, 405-412.
- Hudspeth RL, Grula JW, Dai Z, Edwards GE, Ku MSB (1992). Expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic tobacco. *Plant Physiol* 98, 458-464.
- Ishimaru K, Ichikawa H, Matsuoka M, Ohsugi R (1997). Analysis of a C_4 maize pyruvate, orthophosphate dikinase expressed in C_3 transgenic Arabidopsis plants. *Plant Sci* 129, 57-64.
- Ji BH, Zhu SQ, Jiao DM (2004). A limited photosynthetic C_4 microcycle and its physiological function in transgenic rice plant expressing the maize *PEPC* gene. *Acta Bot Sin* 46, 542-

551.

Jiao DM, Li X, Hang XQ, Chi W, Kuang TY, Ku MSB (2001). The characteristics of CO₂ assimilation of photosynthesis and chlorophyll fluorescence in transgenic PEPC rice. *Chin Sci Bull* **46**, 414-418.

Jiao DM, Huang XQ, Li X, Chi W, Kuang TY, Zhang QD, Ku MSB, Chao DG (2002). Photosynthetic characteristics and tolerance to photo-oxidation of transgenic rice expressing C₄ photosynthesis enzymes. *Photosyn Res* **72**, 85-93.

Jiao DM, Kuang TY, Li X, Ge QY, Huang XQ, Hao NB (2003). Physiological characteristics of the primitive CO₂ concentrating mechanism in PEPC transgenic rice. *Sci China C Life Sci* **46**, 438-446.

Jiao DM, Li X, Ji BH (2005). Photoprotective effects of high level expression of C₄ phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice during photoinhibition. *Photosynthetica* **43**, 501-508.

Ku MSB, Kano-Murakami Y, Matsuoka M (1996). Evolution and expression of C₄ photosynthesis genes. *Plant Physiol* **111**, 949-957.

Ku MSB, Agarie S, Nomura M, Fukayama H, Tsuchida H, Ono K, Hirose S, Toki S, Miyao M, Matsuoka M (1999). High level expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plant. *Nat Biotechnol* **17**, 76-80.

Matsuoka M, Yamamoto N (1989). Induction of mRNAs for phosphoenolpyruvate carboxylase and pyruvate, orthophosphate dikinase in leaves of a C₃ plant exposed to light. *Plant Cell Physiol* **30**, 479-486.

Rikisi K, Oquero H, Sameima M (1988). C₄-like plants derived from a cross *Atriplex rosea* (C₄)×*Atriplex putula* (C₃)×*Atriplex rosea* (C₄). *Japan J Breed* **38**, 397-408.

Sheriff A, Meyer H, Riedel E, Schmitt JM, Lapke C (1998). The influence of plant pyruvate, orthophosphate dikinase on a C₃ plant with respect to the intracellular location of the enzyme. *Plant Sci* **136**, 43-57.

Tagu D, Bergounioux C, Cretin C, Perennes C, Gadal P (1988). Direct gene transfer in *Petunia hybrida* electroporated protoplasts: evidence for co-transformation with a phosphoenolpyruvate carboxylase cDNA from sorghum leaf. *Protoplasma* **146**, 101-105.

Tagu D, Cretin C, Bergounioux C, Lepiniec L, Gadal P (1991). Transcription of a sorghum phosphoenolpyruvate carboxylase gene in transgenic tobacco leaves: maturation of monocot pre-mRNA by dicot cells. *Plant Cell Rep* **9**, 688-690.

Takeuchi Y, Akagi H, Kamasawa N, Osumi M, Honda H (2000). Aberrant chloroplasts in transgenic rice plants expressing a high level of maize NADP-dependent malic enzyme. *Planta* **211**, 265-274.

Tanabe M, Izui K, Toriyama K (2000). Production and analysis of transgenic C₃-C₄ intermediate *Moricondia arvensis* expressing a maize C₄ phosphoenolpyruvate carboxylase gene. *Plant Biotechnol* **17**, 93-98.

Zhang F, Chi W, Wang Q, Zhang QD, Wu NH (2003). Molecular cloning of C₄-specific *Ppc* gene of sorghum and its high level expression in transgenic rice. *Chin Sci Bull* **48**, 1835-1840.

Advances in the Study of Transgenic Rice with C₄ Gene Related to Carbon Fixation

Bianjiang Zhang¹, Quanzhan Chen¹, Demao Jiao^{2*}

¹Department of Life Sciences, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing 211171, China

² Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China

Abstract In past ten years, the rapid research of transgenic rice with C₄ gene related to fixed carbon has drawn wide attention from the scientific community all over the world. We briefly discuss related research, including C₄ fixed carbon gene engineering of rice and the physiological characters of photosynthesis and photooxidation in transgenic rice with C₄ gene related to fixed carbon and its physiological breeding. The physiological breeding of C₄ transgenic rice with C₄ gene related to fixed carbon by a combination of conventional breeding and biotechnology will be one of the pathways in developing high grain yield of super-rice.

Key words C₄ fixed carbon gene, photosynthesis, physiological breeding, rice

Zhang BJ, Chen QZ, Jiao DM (2008). Advances in the study of transgenic rice with C₄ gene related to carbon fixation. *Chin Bull Bot* **25**, 161-166.

* Author for correspondence. E-mail: jiaodm_123@yahoo.com.cn

(责任编辑: 孙冬花)