赤霉素代谢与信号转导及其调控种子萌发与休眠的分子机制

宋松泉^{1,3*}, 刘军², 黄荟³, 伍贤进³, 徐恒恒², 张琪², 李秀梅², 梁娟³

1. 中国科学院植物研究所, 北京 100093;

2. 广东省农作物种质资源保存与利用重点实验室, 广东省农业科学院农业生物基因研究中心, 广州 510640;

3. 怀化学院生物与食品工程学院, 民族药用植物资源研究与利用湖南省重点实验室, 怀化 418008

* 联系人, E-mail: sqsong@ibcas.ac.cn

收稿日期: 2020-02-17; 接受日期: 2020-04-01; 网络版发表日期: 2020-05-15

国家科技支撑计划(批准号: 2012BAC01B05)、国家自然科学基金(批准号: 31871716)和广东省农作物种质资源保存与利用重点实验室项目(批准号: 2020B121201008)资助

摘要 种子的萌发能力由胚周围组织(种皮和胚乳)强加的物理限制与胚的生长潜能之间的平衡所决定. 覆盖胚根尖端的珠孔端胚乳细胞的弱化被植物激素赤霉素(gibberellin, GA)促进但被脱落酸抑制, 是胚根伸出的重要前提. GA是一种调控植物许多关键生理过程, 如种子萌发、根和茎的伸长、开花、座果和种子发育的重要激素. GA在种子萌发与休眠解除中的作用主要受其生物合成与分解代谢和信号转导途径的调控. 本文主要综述了GA的生物合成与代谢、GA的信号转导以及它们对种子萌发和休眠解除调控的研究进展. 此外, 本文也提出了本领域需要进一步研究的科学问题, 试图为解释GA调控种子萌发与休眠的分子机理提供新的研究信息.

关键词 休眠, 萌发, 赤霉素, 代谢, 种子, 信号转导

植物在长期进化过程中已形成许多策略来调控种子萌发, 以确保在自然环境条件下能够正常地生长发育和繁衍后代. 种子萌发随着水分吸收开始(吸胀作用), 当胚根突破覆盖组织(种皮和胚乳)时萌发完成. 种子的萌发能力是由覆盖组织的机械阻力和胚的生长势之间的平衡所决定的. 在许多物种中, 当覆盖组织的机械阻力或者抑制力超过胚的生长潜能时, 活性胚仍然不能完成萌发^[1,2]. 成熟种子的种皮是一种死组织, 覆盖组织的机械阻力主要取决于活的胚乳细胞的生理变化. 研究表明, 胚乳特性的变化也显著地影响非休眠

种子胚根的伸出. 因此, 胚乳弱化机理一直是种子萌发研究的重要方面^[2].

珠孔端胚乳(micropylar endosperm)包围着胚根尖端, 并对胚根的伸出产生机械阻力, 这种机械阻力由组织中厚而硬的细胞壁产生, 在种子萌发过程中能通过胚乳细胞的弱化而减少. 因此, 细胞壁的修饰被认为在珠孔端胚乳的弱化中起关键作用^[1]. 事实上, 编码细胞壁修饰蛋白, 例如木葡聚糖内转糖苷酶/水解酶(xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase)和扩展蛋白(expansion)的基因在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[3]、

引用格式: 宋松泉, 刘军, 黄荟, 等. 赤霉素代谢与信号转导及其调控种子萌发与休眠的分子机制. 中国科学: 生命科学, 2020, 50
Song S Q, Liu J, Huang H, et al. Gibberellin metabolism and signaling and its molecular mechanism in regulating seed germination and dormancy (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50, doi: 10.1360/SSV-2019-0289

家独行菜(*Lepidium sativum*)^[4]和番茄(*Lycopersicon esculentum*)^[5]种子萌发过程的珠孔端胚乳中表达。Steinbrecher和Leubner-Metzger^[6]提出, 由胚乳细胞分离引起的珠孔端胚乳机械阻力的减少是胚根突破覆盖组织(狭义萌发)的前提。

在许多物种中, 胚乳细胞的分离发生在种子完成萌发之前, 胚乳细胞的分离被赤霉素(gibberellin, GA)促进, 并与GA调控的细胞壁重塑酶(cell-wall remodeling enzyme)的协同表达有关^[7,8]。在GA缺陷的*gib-1*番茄种子中, GA促进珠孔端胚乳中的基因表达^[9]; GA也促进拟南芥种子珠孔端胚乳和外胚乳(peripheral endosperm)中的基因表达^[10]。De Giorgi等人^[11]提出, 多效唑(paclobutrazol, 一种GA生物合成的抑制剂)能够降低种子中的GA水平, 完全抑制野生型拟南芥种子的种皮破裂。

GA是一个四环二萜类的植物激素家族, 调控植物的许多生长发育过程, 包括种子萌发、茎伸长、叶片扩大、开花诱导、花粉成熟和种子发育^[12~15]。GA最早在致病真菌藤仓赤霉(*Gibberella fujikuroi*)中被发现, 藤仓赤霉是水稻恶苗病(foolish-seedling)病的病原菌, 可引起受感染植株的过度生长^[16]。自从GA被发现以来, 人们已经从植物、真菌和细菌中鉴定出了136种GA结构^[17,18], 按发现顺序将其命名为GA₁~GA₁₃₆。许多种类的GA常以高浓度存在于发育的种子中, 但它们的功能尚不明确^[17]。植物中的大多数GA是无生物活性的, 而是作为生物活性形式的前体, 或者是作为失去生物活性的代谢物。主要的生物活性GA包括GA₁, GA₃, GA₄和GA₇^[14,19], 它们的共同特征是具有一个基本的二萜羧酸骨架, 通常具有C3-羟基^[20]。双子叶和单子叶植物的GA生物合成酶突变体是GA敏感的, 表现出生长发育缺陷, 但能够被外源GA恢复。水稻(*Oryza sativa*)和大麦(*Hordeum vulgare*)的GA敏感突变体表现出矮化、不育和在种子萌发过程中不能通过 α -淀粉酶的诱导动员贮藏物的降解^[21], 在拟南芥突变体中也观察到类似的表型^[22]。通过遗传筛选, 研究人员已经从水稻和拟南芥中发现了GA信号转导途径的关键组分GA不敏感矮化1(GA INSENSITIVE DWARF1, GID1)、DELLA(Asp-Glu-Leu-Leu-Ala)抑制因子(DELLA inhibitor)、F-box蛋白SLY1(SLEEPY1)和SNE(SNEEZY)。DELLA蛋白抑制植株生长, 而GA信号转导则通过阻断DELLA介导的生长抑制来促进生长^[12,14,21,23]。

植物激素GA在拟南芥胚胎发生中起重要作用^[24,25]。生物活性GA在胚发育晚期大量合成, GA生物合成或信号转导的缺陷导致异常的胚表型, 包括子叶发育不完全和胚轴变短; 而过量的GA则引起成熟胚显著增大。DELLA与胚胎发生晚期的关键调控子LEC1(LEAFY COTYLEDON1)相互作用。GA引起DELLA降解, 解除其对LEC1转录活性的抑制, 从而促进胚的发育^[25]。本文主要综述了GA的生物合成与代谢、GA的信号转导以及它们对种子萌发与休眠解除的调控的研究进展。此外, 本文也提出了在本领域需要进一步研究的科学问题, 试图为解释GA调控种子萌发与休眠的分子机理提供新的信息。

1 GA的生物合成和分解代谢

1.1 GA的生物合成

(1) GA生物合成途径。植物中GA的生物合成通过异戊烯二磷酸(isopentenyl diphosphate, IPP)从牻牛儿基牻牛儿基二磷酸(geranylgeranyl diphosphate, GGDP)开始, IPP是所有类萜化合物/类异戊二烯化合物的5-C组成部分^[26]。在大多数植物组织中, 基本的类异戊二烯单位IPP由两条途径产生: 细胞质中的甲羟戊酸(mevalonic acid)途径和质体中的甲基赤藓醇磷酸(methyl erythritol phosphate)途径^[18]。根据亚细胞定位和所参与的酶, 整个GA生物合成途径可分为3个阶段。第一阶段由前质体(proplastid)中的可溶性酶催化, 产生内根-贝壳杉烯(ent-kaurene)。第二阶段, 内根-贝壳杉烯在内质网(endoplasmic reticulum)中被氧化成GA₁₂-醛, 这是GA生物合成的共同前体可被细胞色素P450单加氧酶(mono-oxygenase)进一步催化。第三阶段由细胞质中2-酮戊二酸依赖的二加氧酶(2-oxoglutarate-dependent dioxygenase, 2ODD)催化(图1)^[13,27,28]。

GA生物合成途径中, 第一个专一的中间产物内根-贝壳杉烯(ent-kaurene)从GGDP通过内根-柯巴基二磷酸(ent-copalyl diphosphate, CPP)的两个环化作用步骤生成。内根-贝壳杉烯在C-19位置的顺序氧化, 依次生成内根-贝壳杉烯醇(ent-kaurenol)、内根-贝壳杉烯醛(ent-kaurenal)和内根-贝壳杉烯酸(ent-kaurenoic acid), 内根-贝壳杉烯酸被进一步氧化生成内根-7 α -羟基贝壳杉烯酸(ent-7 α -hydroxykaurenoic acid)。C-6 β 位置的最后氧化产生GA₁₂-醛, 然后GA₁₂-醛被转化成为

图 1 从反式牻牛儿苗基二磷酸到生物活性末端产物 GA_4 和 GA_1 的生物合成途径(根据文献[13]和[28]重画). CPP: 内根-柯巴基二磷酸; CPS: 内根-柯巴基二磷酸合酶; GA_{3ox} : GA 3-氧化酶; GA_{13ox} : GA 13-氧化酶; GA_{20ox} : GA 20-氧化酶; GGDP: 牻牛儿苗基二磷酸; KAO: 内根-贝壳杉烯酸氧化酶; KO: 内根-贝壳杉烯氧化酶; KS: 内根-贝壳杉烯合酶

Figure 1 The biosynthetic pathway from *trans*-geranylgeranyl diphosphate to the biologically active end-products GA_4 and GA_1 (redraw according to Ref. [13] and [28]). CPP: *ent*-copalyl diphosphate; CPS: *ent*-copalyl diphosphate synthase; GA_{3ox} : GA 3-oxidase; GA_{13ox} : GA 13-oxidase; GA_{20ox} : GA 20-oxidase; GGDP: geranylgeranyl diphosphate; KAO: *ent*-kaurenoic acid oxidase; KO: *ent*-kaurene oxidase; KS: *ent*-kaurene synthase

GA_{12} (图1). 由于C-13位置上的羟基化(13-羟基化), GA_{12} 被转化成为 GA_{53} . GA_{12} 和 GA_{53} 分别是非13-羟基化和13-羟基化途径的前体, 可通过C-20位置上的氧化被分别转化为 GA_9 和 GA_{20} [18]. 植物中生物活性GA形成的最后步骤分别是 GA_9 和 GA_{20} 的3 β -羟基化作用, 最终生成 GA_4 和 GA_1 (图1)[13,28,29].

(2) GA生物合成基因. 拟南芥的完整基因组信息已经鉴定和描述了与GA生物合成途径有关的大多数基因[29], 水稻GA 13-羟化酶的克隆也提供了一些补充数据[30], 这样为鉴定植物中与GA生物合成有关的所有酶的基因提供了详细的信息. 从GGDP合成具有生物活性的GA共需要7个酶(图1), 可分为三种不同的类型: 萜烯合酶、细胞色素P450单加氧酶和2-酮戊二酸依赖

的二加氧酶. GGDP转化成为内根-贝壳杉烯的两个步骤分别由内根-柯巴基二磷酸合酶(*ent*-copalyl diphosphate synthase, CPS)和内根-贝壳杉烯合酶(*ent*-kaurene synthase, KS)催化, 这两个酶在拟南芥(分别为 $GA1$ 和 $GA2$) [31]和水稻(分别为 $OsCPS1$ 和 $OsKSI$) [20]中被单个基因编码.

内根-贝壳杉烯转化成为 GA_{12} -醛, 并被内根-贝壳杉烯氧化酶(*ent*-kaurene oxidase, KO)和内根-贝壳杉烯酸氧化酶(*ent*-kaurenoic acid oxidase, KAO)催化. 研究人员已经在拟南芥中发现和和功能上鉴定了1个KO基因($GA3$)和2个KAO基因($KAO1$ 和 $KAO2$), 其中 $ga3$ 功能缺失突变体表现出严重矮化[32,33]. 在水稻中已经发现5个类KO基因簇, 通过在酵母中异源表达, 证明其中1个具有KO活性. 此外, $OsKO2$ 基因的突变引起严重的GA缺陷和矮化表型, 表明其在GA合成中起重要作用[34]. 研究人员在玉米(*Zea mays*)中鉴定了2个已知的KO基因, 并发现 $CYP701A26$ 表现出KO活性的底物复杂性[35], 而在大麦中只鉴定出1个KAO基因; 豌豆(*Pisum sativum*)拥有2个KAO基因, 一个具有通常的KAO活性, 另一个仅在发育的种子中表达[36].

从 GA_{12} / GA_{53} 转化成为 GA_4 / GA_1 是通过两条平行的途径完成的: 非13-羟基化和13-羟基化途径. 在水稻中, 13-羟基化途径涉及13-羟化酶活性, 它由 $CYP714B1$ 和 $CYP714B2$ 基因编码[30]. 最近, He等人[37]发现, $CYP72A9$ 编码GA 13-氧化酶, 该酶催化13-H GA(GA_{12} , GA_9 和 GA_4)转化成为相应的13-OH GA(GA_{53} , GA_{20} 和 GA_1), 从而降低13-H GA的生物活性. $cyp72a9$ 突变体表现出 GA_1 缺乏和 GA_4 水平增加, 而 $CYP72A9$ 过表达的植株显示出半矮化表型和 GA_4 水平显著降低; 以及重组的 $CYP72A9$ 蛋白催化13-H GA转化为相应的13-OH GA. GA_{53} 的连续转化由两种可溶性的2ODD催化, 它们分别被称为GA 20-氧化酶(GA_{20ox})和GA 3-氧化酶(GA_{3ox}) [38]. 研究人员已经在拟南芥中发现了5个 GA_{20ox} [39]和4个 GA_{3ox} [40]基因, 然而仅在 $AtGA_{20ox1}(ga5)$ 和 $AtGA_{3ox1}(ga4)$ 突变体中观察到半矮化的生长表型[41]. 此外, 在水稻中发现了4个 GA_{20ox} 和2个 GA_{3ox} 基因[42].

1.2 GA分解代谢与失活

植物对发育和环境信号的响应必须具有迅速改变GA含量的能力. 在植物中存在几种GA失活的机制, 包

括被GA 2-氧化酶(GA2ox)失活、被甲基转移酶催化成为GA甲基酯、被GA 16,17-氧化酶转化成为16 α ,17-环氧化物以及和葡萄糖结合生成GA葡萄糖酯。

GA2ox也是一种2ODD, 根据其作用底物, GA2ox可被分为两组, 其中一组对C19-GA起作用, 包括生物活性化合物和它们直接的非3 β -羟基化前体^[18]; 另一组作用于C20-GA^[18-19]。人们已经在拟南芥中发现了5个C19-GA2ox(*AtGA2ox1*, *AtGA2ox2*, *AtGA2ox3*, *AtGA2ox4*, *AtGA2ox6*)和2个C20-GA2ox(*AtGA2ox7*, *AtGA2ox8*)基因^[43]。在水稻中发现了7个C19-GA2ox(*OsGA2ox1*, *OsGA2ox2*, *OsGA2ox3*, *OsGA2ox4*, *OsGA2ox7*, *OsGA2ox8*, *OsGA2ox10*)和3个C20-GA2ox(*OsGA2ox5*, *OsGA2ox6*, *OsGA2ox9*)基因^[44]。在其他植物中也发现了这些基因的同源物, 包括多花菜豆(*Phaseolus coccineus*)^[45]、玉米^[46]和松属(*Pinus*)^[47]植物。C20-GA2ox被认为是一个不同于C19-GA2ox的家族^[48]。与其他的ODD一样, 编码GA2ox的基因是GA失活的一个主要调控位点。

生物活性GA也能被细胞色素P450单加氧酶(CYP714D1)失活。在水稻中, CYP714D1由长穗茎(*ELONGATED UPPERMOST INTERNODE, EUI*)基因编码, 在体外转化GA成为16 α ,17-环氧化物(16 α ,17-epoxy GA)^[49]。CYP714D1以GA₁₂, GA₉和GA₄作为底物, 但对13-羟基化GA的作用要小得多。水稻中EUI的过表达引起植株的极端矮化和最上端节间中GA₄含量降低, 表明环氧化作用(epoxidation)导致GA失活。拟南芥含有两种CYP714酶(CYP714A1和CYP714A2), 其中CYP714A2在C-13位置羟基化内根-贝壳杉烯酸成为甜菊醇(steviol)。两个CYP714基因的过表达导致植株矮化, 其中CYP714A1产生最严重的矮化表型^[50]。人们发现, GA二氢二醇(GA dihydrodiol)天然存在于许多植物中, 暗示环氧化作用可能是一种普遍的GA失活机制^[49]。

拟南芥中GA甲基转移酶1(GA methyl transferase1, GAMT1)和GAMT2是对GA专一的, 它们甲基化C19-GA的6-羧基, 使GA丧失生物活性。这些GAMT基因在拟南芥中的异位过表达导致植株矮化^[51]。GAMT基因在发育的种子中表达, 可显著地调控GA的含量, 其基因敲除系能积累GA, 因此, 它们的生理作用可能被限于种子发育和控制种子提前萌发^[51]。

在许多物种中已经发现了酯类和醚类GA结合物,

其中葡萄糖是主要的结合物^[52]。GA结合物的可逆性证据表明, 它们可能具有贮藏/运输作用, 这提供了一种迅速释放生物活性GA和促进种子萌发的机制^[52]。 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase)在转基因烟草(*Nicotiana tabacum*)中的异位表达导致几种GA水平的增加, 包括GA₁和GA₄^[53], 表明GA结合物可能作为一种储藏池起作用。GA结合物也可能提供一种潜在的可逆的失活机制, 例如2 β -羟基GA通过2 β -羟基与葡萄糖结合形成葡萄糖基醚^[52]。

1.3 GA稳态与反馈调节

植物中生物活性GA的水平还可以通过GA代谢的反馈机制进行调节。研究表明, 早期GA生物合成基因CPS, KS和KO的表达不受反馈机制的影响^[54]。在拟南芥中, GA处理或者引起GA信号增加的突变下调GA3ox1, GA20ox1, GA20ox2和GA20ox3的转录水平, 而GA处理上调GA分解代谢基因GA2ox1和GA2ox2的转录水平^[27]。相反, GA缺陷或者降低GA信号转导的突变导致GA3ox和GA20ox表达的上调以及GA2ox表达的下调^[20,27]。植物中GA₁的生物活性约为GA₄的1/1000^[30,55]。在拟南芥中, CYP72A9主要在发育的种子中表达, 参与种子的初生休眠, 新收获的cyp72a9突变体种子比野生型种子萌发更快, 而经层积处理和长期贮藏的种子其萌发率与野生型种子相同。这些结果表明, CYP72A9在发育的拟南芥种子生物活性GA₄的稳态中起调节作用^[37]。

在水稻gid1和gid2突变体中, OsGA20ox2基因的表达被上调并且生物活性GA₁的水平明显增加^[56]。在拟南芥DELLA功能缺失突变体中, AtGA3ox1的表达水平降低^[20]。OsYAB1可能是水稻DELLA蛋白下游GA稳态的介导因子, 因为其表达依赖于DELLA蛋白。OsYAB1的过表达导致半矮化表型和GA₁水平的降低, 这可能是由于OsGA3ox2基因下调和OsGA2ox3基因上调引起的^[57]。

GAS2(gain-of-function in ABA-modulated seed germination 2)过表达可减小拟南芥种子萌发和早期幼苗发育对脱落酸(abscisic acid, ABA)的敏感性, 其功能丧失突变增加对ABA的敏感性。GAS2是一种Fe²⁺依赖的2ODD超家族蛋白, 可催化GA₁₂水合作用产生GA₁₂ 16,17-二氢-16 α -醇(GA₁₂ 16,17-dihydro-16 α -ol, DHGA12)。与生物活性GA₄相比, DHGA12具有非典

型的GA结构, 但能与GA受体结合, 也能促进种子萌发、下胚轴伸长和子叶变绿. GAS2被认为在拟南芥种子萌发和幼苗早期发育过程中起调节激素平衡的作用^[58].

2 GA信号转导

核心GA信号转导途径主要由GA受体GID1、DELLA蛋白、F-box蛋白和DELLA调控的靶因子组成(表1, 图2)^[14,15,21,59]. 在GA信号转导模型中, GA与GID1的结合促进GID1与DELLA抑制因子相互作用, 从而通过泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin proteasome pathway)引起DELLA的降解和GA响应(图2).

2.1 GA与GID1的结合

(1) GA受体GID1. GID1是一种哺乳动物激素敏感的脂肪酶(hormone sensitive lipase, HSL)家族的同源物, 在植物中其脂质结合结构域已变为GA结合结构域^[60-63]. 通过对水稻严重矮化突变体*gid1*的图位克隆(map-based cloning), 研究人员首次发现了GA受体GID1^[56]. GID1是一种可溶性GA受体, 在水稻和拟南芥细胞中定位于细胞核和细胞质^[56,64], 但GID1蛋白缺乏水解酶活性, 可能是因为Val或者Ile取代了Ser-His-Asp催化三联体(catalytic triad)中的His残基(图3)^[59,60]. 相反, 这个位点形成了生物活性GA结合核心^[63,65]. 生物活性GA在C-4和C-10之间含有一个 γ -内酯环, 在C-6含有一个羧基且在C-3含有一个羟基. 催化三联体的Val/Ile残基通过与生物活性GA分子的 γ -内酯环的非极性相互作用在GA结合中起关键作用^[65,66].

水稻中GID1功能的丧失导致其不能对GA的促进作用起反应, 包括叶片和细胞伸长、开花、育性以及种子萌发过程中 α -淀粉酶的表达. 虽然水稻中只有单个GID1 GA受体基因, 但在拟南芥中有3个GA受体基因*GID1a*, *GID1b*和*GID1c*(表1)^[21,59,60,67]. 拟南芥*gid1*三突变体表现出严重的GA不敏感表型, 包括完整种子不能萌发、严重矮化和完全不育^[64,68,69]. 根据叶片伸长过程中对GA的敏感性降低, 研究人员在大麦中鉴定了一个GID1等位基因^[70].

在GA信号转导中, 拟南芥的3个GID1基因具有部分重叠的作用, 单个T-DNA插入的GID1等位基因不表

图2 依赖和不依赖蛋白降解的GA信号转导模型^[59]. A和B: DELLA降解模型. A: GA缺乏时, DELLA蛋白是稳定的, 抑制GA的反应; B: GID1与GA的结合促进GID1-GA-DELLA复合物的形成, 依次促进其与SLY1/GID2 F-box蛋白结合和多泛素化DELLA, 从而通过26S蛋白酶体靶向降解DELLA. 这就解除了GA反应的DELLA抑制. SCF^{SLY1} E3泛素连接酶复合物由Skp1同源物ASK1, Cullin, SLY1 F-box蛋白和RBX1组成. SCF E3催化泛素(暗灰色圆圈)从E2转移到DELLA. C: GID1盖子关闭模型: GA缺乏时, GID1的盖子被认为是打开的, 不能与DELLA结合. 当GA被结合时, GID1的盖子关闭, 暴露出与DELLA蛋白相互作用所需的疏水残基(L, W, V, I, L和Y). D: 非蛋白降解的DELLA下调: 在*sly1*突变体中, DELLA不能被靶定降解, DELLA的过量积累抑制GA反应. GID1-GA-DELLA复合物的形成下调一些DELLA蛋白, 部分解除GA反应的抑制

Figure 2 Models of proteolysis-dependent and -independent GA signaling^[59]. A and B: The DELLA destruction model. A: In the absence of GA, DELLA proteins are stable and repress GA responses; B: The binding of GID1 to GA allows formation of the GID1-GA-DELLA complex, which in turn allows the SLY1/GID2 F-box protein to bind and polyubiquitinate DELLA, thereby targeting DELLA for destruction by the 26S proteasome. This lifts the DELLA repression of GA responses. The SCF^{SLY1} E3 ubiquitin ligase complex comprises the Skp1 homologue ASK1, Cullin, SLY1 F-box protein, and RBX1. The SCF E3 catalyzes the transfer of ubiquitin (dark grey circles) from E2 to DELLA. C: GID1 lid closure model: Without GA, the GID1 lid is believed to be open and unable to bind to DELLA. When GA is bound, the GID1 lid closes, exposing the hydrophobic residues (L, W, V, I, L, and Y) needed to interact with DELLA protein. D: Non-proteolytic DELLA downregulation: in the *sly1* mutant, DELLA cannot be targeted for degradation, and DELLA over-accumulation represses GA responses. Formation of the GID1-GA-DELLA complex downregulates some DELLA, partially relieving the repression of GA responses.

现出明显的GA不敏感表型; 然而, 双突变体和三突变体表现出不同程度的GA不敏感表型, 这表明拟南芥GID1基因具有不同的功能专一化作用^[64,69]. *gid1a gid1c*突变体比*gid1a gid1b*或者*gid1b gid1c*突变体具有更矮的表型, 表明GID1a和GID1c在茎的伸长中起重要

表 1 拟南芥、水稻和大麦的GA信号转导组分^[21,59]

Table 1 GA signaling components of *Arabidopsis*, rice, and barley^[21,59]

信号转导组分	拟南芥	水稻	大麦
GA受体	GID1a, GID1b, GID1c	GID1	GSE1
DELLA蛋白	GAI, RGA, RGL1, RGL2, RGL3	SLR1	SLN1
F-box蛋白	SLY1, SNE	GID2, SNE	—
DELLA靶标	JAZ1, PIF3, PIF4, SCL3, ALC, PIF1/PIL5, PIL2, SPT, BZR1, SWI3C	—	—

作用. *gid1a gid1b gid1c*三突变体比任何*gid1*双突变体都表现出更矮的表型, 表明*GID1b*也在茎的伸长中起作用. *gid1a gid1b*双突变体的角果长度和育性表现出更明显的降低, 而*gid1a gid1c*双突变体的种子萌发率表现出最显著的下降(4%萌发率)^[4,68]. 拟南芥GID1蛋白之间的序列比对显示, GID1a和GID1c之间的氨基酸同一性为85%, 但GID1a与GID1b、GID1b与GID1c之间的氨基酸同一性分别为66%和67%. 根据氨基酸的同源性, 高等植物GID1同源物能够分为2种类型: GID1a类型和GID1b类型^[4,71].

(2) GA与GID1的结合. Murase等人^[63]和Shimada等人^[65]已经解析了与GA₃和GA₄结合的水稻OsGID1 (*Oryza sativa* GID1)和拟南芥GID1a蛋白的晶体结构. GID1的结构类似于HSL, 由一个C-端核心和一个被称为盖子的N-端延伸组成(图3). C-端核心也称为 $\alpha\beta$ 水解酶折叠结构域, 由 α -螺旋包装两侧的8股 β -折叠围绕的一条 $\alpha\beta$ 水解酶折叠组成, 具有HSL和其他羧酸酯酶特征的保守的HGG和GXSG基序(图3). 在GID1核心内的催化三联体形成一个GA结合口袋(GA-binding pocket). 在结合口袋底部有6个水分子, 它们与GA的极性侧面形成氢键网络. 水稻和拟南芥的GID1蛋白对GA₄具有最大的亲和力^[60,61], 但对GA₁和GA₃的亲和力较低, 因为GA₁和GA₃含有一个13-羟基, 这个羟基插入到结合口袋中的一个带负电荷的Asp残基(GID1a中的Asp 243)^[60,63,65]. GID1的N-端延伸由1个环和3个 α -螺旋(αa , αb 和 αc)组成, 它们形成一个扁平的覆盖GA和GA结合口袋的盖子结构域. GA的疏水侧面与GID1的盖子相互作用诱导稳定的构象变化, GA分子和盖子之间的疏水相互作用很可能参与拉动盖子关闭. GA促进的N-端盖子的折叠在GID1的外表面为DELLA蛋白创建了一个结合结构域(图2C). GA和DELLA之间没有直接的相互作用, 因此, N-端盖子作为“分子胶水(mole-

cular glue)”, 一面与GA结合核心, 另一面与DELLA蛋白相互作用^[63].

2.2 GID1-GA-DELLA复合物的形成与DELLA降解

(1) DELLA蛋白. 拟南芥具有5个DELLA基因, 分别命名为*GAI*(GA-INSENSITIVE)、*RGA*(REPRESSOR OF GA)、*RGL1*(RGA-LIKE1)、*RGL2*和*RGL3*(表1), 它们编码具有55.2%~73.9%氨基酸一致性的蛋白. DELLA蛋白是核定位的GA信号转导的负调控因子, 由N-端DELLA调控结构域和C-端GRAS(*GAI*, *RGA*和*SCARECROW*)功能结构域组成(图3)^[59,72]. GRAS功能结构域的突变导致DELLA抑制因子功能的丧失, 产生一种高的或者纤细的植株生长表型. 这种隐性表型已经在*SLN1*(*SLENDER1*)和*SLR1*(*SLENDER RICE1*) GRAS结构域突变中观察到, *SLN1*和*SLR1*分别是大麦和水稻中唯一的DELLA基因^[72]. GRAS结构域基因是植物特有的一个大家族转录调控因子, 在苔藓、水稻和拟南芥中是保守的^[73]. C-端GRAS结构域包含一个核定位的序列(nuclear localisation signal, NLS), 两个位于VHIID氨基酸基序侧翼的亮氨酸七肽重复基序(LHR1和LHR2)以及PFYRE和SAW基序(图3)^[59]. C-端PFYRE和SAW基序与哺乳动物的STAT(signal transducers and activators of transcription)转录因子具有一些同源性.

N-端DELLA调控结构域包含DELLA、VHYNP(也称为TVHYNP)和多聚S/T/V基序(图3). 这些基序的缺失导致不能对GA起反应, 从而增加DELLA抑制, 引起半显性半矮化表型(semi-dominant semi-dwarf phenotype)^[72]. 最早分离的DELLA突变体*gai-1*是拟南芥中的一种GA不敏感的半显性半矮秆表型, 来源于DELLA/LE_xLE基序内一段17个氨基酸的缺失. 2个拟

图 3 GID1, DELLA和SLY1中的结构域、基序和关键氨基酸残基的图解^[59]. 基于拟南芥GID1a, DELLA GAI和SLY1的氨基酸序列按比例绘制蛋白. 在图的上方, 专一的蛋白-蛋白或者蛋白-配体相互作用有关的区域用虚线表示. GID1: 图上用黑线标记的两个主要结构域是GID1盖子和包括核心GA结合口袋的 α/β 水解酶折叠结构域. 关键基序和重要的氨基酸残基包括: (i) 铰链残基(GID1a Pro 92, OsGID1 P99的橙色条); (ii) 与GA结合有关的催化三联体(Ser 191, Asp 289, Val 319); (iii) 与DELLA结合有关的盖子的6个疏水残基(L, W, V, I, L和Y的棒棒糖结构); (iv) SUMO相互作用基序(SIM)的结构域(WVLI); (v) 具有激素敏感的脂肪酶特征的HGG和GXSXG基序. DELLA: 图上主要的DELLA调控结构域和GRAS功能结构域用黑线标记. 在DELLA调控结构域内, DELLA, LEXLE和VHYNP基序参与GID1的结合(阴影盒子), 多聚S/T/V基序含有有可能与一个未确定的“其他”GA信号转导组分结合有关的L(K/R)XI基序. GRAS功能结构域包括两个亮氨酸七肽重复(LHR1和LHR2), 一个核定位的信号(NLS), VHIID, PFYRE, LXXLL, 类SH2和SAW基序(阴影盒子). SLY1: SLY1和GID2包括与SKP1结合的F-box结构域、与DELLA结合有关的GGF和LSL基序以及一个可变的区域(VR1)

Figure 3 Diagrams of the domains, motifs, and key amino acid residues in GID1, DELLA, and SLY1^[59]. Proteins are drawn to scale based on the amino acid sequences of *Arabidopsis* GID1a, DELLA GAI, and SLY1. The regions involved in specific protein-protein or protein-ligand interactions are indicated with dotted bars above the diagram. GID1: Two major domains marked by black bars above the diagram represent the GID1 lid and the α/β hydrolase fold domain, including the core GA-binding pocket. Key motifs and significant amino acid residues include: (i) hinge residue (orange bar for GID1a Pro 92, OsGID1 P99); (ii) catalytic triad (Ser 191, Asp 289, Val 319) involved in GA binding; (iii) six lid hydrophobic residues involved in DELLA-binding (lollipops for L, W, V, I, L, and Y); (iv) SUMO-Interaction-Motif (SIM) domain (WVLI); (v) HGG and GXSXG motifs characteristic of hormone-sensitive lipases. DELLA: The major DELLA regulatory domain and the GRAS functional domain are marked by black bars above the diagram. Within the DELLA regulatory domain the DELLA, LEXLE, and VHYNP motifs are involved in GID1 binding (shaded boxes), and the poly S/T/V motif contains the L(K/R)XI motif likely involved in binding an undetermined “other” GA signalling component. The GRAS functional domain contains two leucine heptad repeats (LHR1 and LHR2), nuclear localisation signal (NLS), VHIID, PFYRE, LXXLL, SH2-like, and SAW motifs (shaded boxes). SLY1: SLY1 and GID2 contain the F-box domain that binds SKP1, GGF, and LSL motifs involved in DELLA-binding, and a variable region (VR1)

南芥DELLA基因GAI和RGA的克隆导致了小麦(*Triticum aestivum*)和玉米中类似的GA不敏感的半显性半矮化DELLA突变体的鉴定. 玉米和小麦半矮化DELLA突变体具有较短和较粗的茎, 可通过施用化肥提高产量且不引起植株倒伏^[59].

DELLA蛋白作为共活化因子(coactivator)或者共抑制因子(corepressor)与转录因子结合起作用^[21]. 研究表明, DELLA蛋白与许多转录调控因子相互作用, 包括光敏色素相互作用因子3(PHYTOCHROME INTER-

ACTING FACTOR3, PIF3), PIF4, PIF1/PIL5(PIF3-LIKE5), PIL2, 茉莉酸ZIM结构域1(JASMONATE ZIM DOMAIN1, JAZ1), ALCATRAZ(ALC), SPATULA (SPT), 芸薹素唑耐受因子1(BRASSINOZALE-RESISTANT1, BZR1)以及GRAS蛋白SCARECROW-LIKE3 (SCL3)^[12,74~79]. DELLA蛋白也与染色质重塑因子SWI3C(chromatin remodelling factor SWI3C, SWITCH3C)相互作用^[80]. JAZ1, PIF4和BZR1通过LHR1基序与DELLA蛋白相互作用^[75,78].

(2) GID1-DELLA蛋白-蛋白相互作用. 当GID1未与GA结合时, 开放的GID1盖子的暴露表面是亲水的; 当与GA结合后经历一种构象变化, 暴露出疏水的能与DELLA相互作用的残基(图2C)^[59,63,65,66]. GID1与GA的结合物具有一些从N-端盖子的外表面伸出的疏水氨基酸侧链, 这为DELLA蛋白提供了结合结构域. Os-GID1和GID1a的 α -螺旋ab中的疏水残基是Leu-18, Trp-21, Leu-或者Val-29和Ile-33; α -螺旋ac中的疏水残基是Leu-18, Trp-21, Leu-或者Val-29, Leu-45和Tyr-48^[56,63-65]. 丙氨酸扫描表明, 在水稻GID1中的这些疏水残基对于与DELLA SLR1的蛋白-蛋白相互作用是必需的, 但对GA结合是非必需的^[65]. 此外, 拟南芥GID1a-GA-DELLA复合物的晶体结构表明, 这些残基是GID1a关闭的盖子与DELLA GAI之间相互作用的主要位点^[63]. 疏水性是蛋白质折叠的一种主要作用力, 已知在水环境中天然的蛋白质结构通常不允许疏水侧链的暴露. DELLA存在时GID1与GA结合的活性比DELLA缺乏时更强^[60,61], 可能是DELLA的存在促进了稳定的DELLA蛋白结合所需的GID1盖子疏水残基的暴露.

与GID1-DELLA蛋白-蛋白相互作用有关的主要DELLA蛋白基序定位于DELLA调控结构域. 两个邻近的基序DELLA和LExLE(有时统称为DELLA基序)是DELLA与GID1蛋白相互作用所必需的^[63]. 晶体结构表明, GID1在残基DeLLa Φ LxYxV和MAxVAxxLExLE Φ (其中, 大写的残基代表相互作用的直接位点, Φ 代表一个非极性残基, “x”代表任何残基)上直接与DELLA基序结合. 突变分析表明, DELLA基序是与GID1结合所必需的, 而LExLE基序的突变仅仅引起GA与GID1结合的亲和力下降(图3)^[59,63]. VHYNP基序也通过残基TVhynPxxLxxWxxxM稳定GID1-DELLA相互作用, 在GID1的结合中发挥效应^[59].

GRAS功能结构域中的一些氨基酸残基似乎也参与了GID1的结合(图3)^[59,81,82]. 水稻DELLA SLR1^{G576V}的半显性突变导致酵母双杂实验中与GID1的结合降低, 表明SAW基序可能参与GID1-DELLA蛋白-蛋白相互作用^[81]. 丙氨酸扫描也检测到, 由于VHIID基序的变化DELLA与GID1的结合有所下降. SLR1的GRAS结构域与GID1的结合比DELLA结构域具有更低的亲和性^[82]. 根据突变分析, SAW基序的Gly-576在GRAS-GID1相互作用中似乎是一个关键的残基. DELLA

SLR1的水稻同源物SLRL1(SLR1-Like1)能够像SLR1一样起作用, 当其过度表达时抑制生长^[83].

在拟南芥中, 3个GID1受体都能与5个DELLA抑制因子相互作用^[65,84]. 竞争性酵母三杂(competitive yeast 3-hybrid)和体外QCM(*in vitro* quartz crystal microbalance)分析表明, RGA和GAI对GID1b的结合表现出最大的亲和力; RGL1, RGL2和RGL3对GID1a具有最大的亲和力, 其次是对GID1b; DELLA蛋白对GID1c的亲和性较低. 根据氨基酸的序列同源性以及对GID1的亲和力, 拟南芥的DELLA蛋白可以分为两组: (i) RGA组, 对GID1b具有较高的亲和性, 包括GAI和RGA; (ii) RGL组, 对GID1a具有较高的亲和性, 包括RGL1, RGL2和RGL3.

(3) DELLA蛋白被SLY1/GID2和泛素-蛋白酶体途径降解. GA信号转导通过泛素-蛋白酶体途径靶定/降解DELLA, 下调GA反应的DELLA抑制因子^[68,70,85,86]. 研究发现, GA生物合成突变体的恢复与DELLA蛋白RGA的迅速消失有关, 从而提出了GA信号转导的“DELLA降解模型(DELLA destruction model)”(图2A和B)^[21,59]. DELLA被SCF(Skp1, Cullin, F-box)E3泛素连接酶泛素化和靶定/降解(图2B)^[59,87-89]. 拟南芥SLY1和水稻GID2(GA-INSENSITIVE DWARF2)蛋白是专一与DELLA蛋白结合的SCF复合物的F-box亚单位, 可导致DELLA蛋白的多泛素化(polyubiquitination). F-box基因(拟南芥SLY1和水稻GID2)的突变阻止GA诱导的DELLA蛋白降解, 导致GA不敏感的表现型, 包括*slY1*的矮化、不育和种子休眠增加^[87]. 因此, DELLA的过度积累与GA信号转导的降低有关(图2D)^[59].

蛋白泛素化(ubiquitination)通过一个多步骤的过程发生, 随着76个氨基酸的泛素肽共价连接到靶蛋白上这个过程结束^[90]. E1泛素激活酶(E1 ubiquitin activating enzyme)催化泛素C-端的甘氨酸和E1半胱氨酸残基之间形成一个硫酯键. 通过转酯反应活化的泛素被转移到泛素结合酶E2的一个半胱氨酸残基上. E2泛素结合酶(E2 ubiquitin conjugating enzyme)将泛素转移到靶蛋白的一个赖氨酸残基上. 在单个复合物中, E3泛素连接酶(E3 ubiquitin ligase), 如SCF^{SLY1/GID2}能使E2和靶蛋白在一起, 并催化泛素转移到一个特定的靶点. 含有4个泛素组分的多泛素链的附加将靶定一种蛋白并通过26S蛋白酶体降解.

GA信号转导的SCF E3泛素连接酶主要包括: (i)

SLY1/GID2 F-box蛋白, 在其C-端与DELLA靶点结合以及通过F-box基序与一个ASK(拟南芥SKP1同源物)结合; (ii) ASK蛋白, 它与CUL1(CULLIN1)结合; (iii) CUL1, 复合物的骨架, 在其N-端与ASK结合、在其C-端与RBX1(RING BOX1蛋白)结合; (iv) RBX1同源物, 它与E2泛素结合酶结合(图2B)^[59,86,89]. 拟南芥SLY1和水稻GID2分别是由151和212个氨基酸组成的小分子蛋白, 它们具有36.8%的氨基酸一致性和56%的氨基酸相似性^[87,91], 以及含有与DELLA蛋白相互作用必需的一个F-box基序和一个C-端结构域(图3)^[59,81]. 在酵母、哺乳动物和植物中保守的F-box基序与SKP1同源物结合, 促进SCF复合物的形成. 在酵母双杂分析中, SLY1和GID2都与SKP1同源物相互作用^[87,92]. SLY1与CUL1的免疫共沉淀(coimmunoprecipitation)依赖于存在一个完整的F-box基序, 表明在植物中, SLY1通过F-box基序形成一个SCF复合物^[89]. SLY1/GID2 C-端保守的GGF和LSL氨基酸基序是与DELLA蛋白VHIID和LHR2基序相互作用所必需的(图3)^[59,81,89].

GID1-GA-DELLA复合物的形成是引起SCF^{SLY1/GID2}多泛素化DELLA的信号, 从而靶定DELLA通过26S蛋白酶体降解(图2A和B). 虽然通过酵母双杂最初检测到SLY1和DELLA蛋白之间的一些相互作用, 但后来的研究表明, 当DELLA处于GID1-GA-DELLA复合物中时, SLY1/GID2对DELLA的亲合力被大大增强^[64,81,89]. 因此, SLY1-DELLA蛋白-蛋白相互作用和DELLA降解都被GA感受促进. 正如在体内和无细胞提取物中所证明的那样, 在对GA的反应中GID1和SLY1对有效的DELLA蛋白降解都是必需的^[64,86]. 26S蛋白酶体被普遍认为负责DELLA蛋白降解, 因为GA促进的DELLA降解被26S蛋白酶体抑制剂阻止, 从而导致泛素化DELLA蛋白的积累^[86,88].

2.3 不依赖GA的DELLA调控和不依赖DELLA降解的GA信号转导

(1) 不依赖GA的DELLA调控. 拟南芥GID1b和一些GID1b类型的同源物, 如大豆(*Glycine max*)GID1b-2, 在某种程度上甚至在GA缺乏时具有与DELLA蛋白相互作用的能力, 表明GID1b类型受体可能在低水平GA的条件下作为GA信号转导的“启动泵”发挥作用^[60,71]. 水稻GID1的突变分析为不依赖GA的GID1b-DELLA

蛋白-蛋白相互作用的结构基础提供了信息, 并提出了一个解释这种相互作用的模型^[71]. 在水稻GID1 N-端盖子结构域与链体(盖子的铰链)之间的环中, 引起P99S氨基酸替换的错义突变能够模拟GID1b的表型, 从而通过OsGID1^{P99S}在GA缺乏时与DELLA结合和抑制gid1-8功能缺失突变的GA不敏感表型. 在拟南芥GID1a Pro-92和GID1c Pro-91的环区存在相同的Pro残基, 但在GID1b中被His-91取代. 定点突变分析表明, OsGID1中P99I, P99V和P99A的氨基酸替代导致不依赖GA的DELLA结合, 而在GA缺乏时拟南芥GID1b中H91P的替代减少了与DELLA的结合. 在这个模型中, 当GA不存在时为了关闭GID1受体上的盖子, 拟南芥GID1a Pro-92(OsGID1 Pro-99)对于阻止DELLA结合是必需的; GID1b环/铰链区的His替代Pro引起GID1b盖子结构域保持部分关闭, 从而通过盖子在GA缺乏时与DELLA结合. 值得注意的是, 部分关闭的盖子不能像完全关闭的盖子一样与DELLA结合, 因此GA结合大大增加了GID1b类型受体对DELLA的亲合力. 此外, 芸薹属(*Brassica*)和大豆中的GID1b同源物也显示出对不依赖GA的DELLA结合活性^[59].

由于DELLA的SUMO(small ubiquitin-like modifier)修饰, Conti等人^[93]提出了另一种通过DELLA抑制增加的不依赖GA的信号转导方式. SUMO是一种短肽, 能够像泛素一样共价连接到蛋白序列上^[94]. 在GA缺乏时, GID1a通过一个具有序列WVLI(GAI中残基21~24)的SUMO相互作用基序(SUMO-interaction-motif, SIM)与SUMO化的DELLA RGA结合(图3). DELLAs的SUMO化导致一种不依赖GA的SUMO化DELLA与GID1蛋白的相互作用, 这种相互作用减少了可用于GA依赖的与非SUMO化DELLA相互作用的GID1量, 导致DELLA泛素化/降解的减少和DELLA蛋白水平的增加. 在对胁迫激素ABA和乙烯以及对环境胁迫包括盐、冷和淹水的反应中, 已经观察到DELLA蛋白积累和生长抑制增加^[95,96].

(2) 没有DELLA降解的GA信号转导. GID1能够介导GA信号转导而没有DELLA降解. GID1过表达部分恢复sly1和gid2突变体的GA不敏感突变体表型, 而不引起DELLA蛋白水平的下降^[85,97,98]. 因此, 在通过26S蛋白酶体无法降解DELLA蛋白的F-box突变体中, GID1和GA能够下调DELLA蛋白. 此外, 由GID1过表达所引起的恢复被GID1-DELLA相互作用需要的

DELLA基序的删除所阻断, 表明GID1-GA-DELLA复合物的形成是必需的. 因此, GID1-GA-DELLA复合物的形成降低了DELLA抑制GA反应的能力, 从而导致GA反应增加而没有DELLA降解(图2D).

3 GA代谢和信号转导对种子萌发与休眠的调控

在种子萌发过程中, GA具有促进种子萌发、释放休眠和拮抗ABA的作用^[2,99-102]. GA的上述作用主要取决于组织中生物活性GA的浓度(GA代谢)和组织对GA的敏感性(GA信号转导)^[103,104].

3.1 GA代谢与种子萌发

Sánchez-Montesino等人^[105]提出, 种子萌发的一个关键因素是控制胚生长的机械力和周围胚乳组织限制的作用力的相互作用. 生物活性GA在种子萌发过程中具有两个作用: (i) 增加胚的生长势, 促进胚根和下胚轴细胞的生长和伸长; (ii) 通过弱化包围胚根的组织(种皮、珠孔端胚乳)克服种子覆盖层的机械抑制^[106-109]. 生物活性GA₄在干燥和后熟种子中存在, 在萌发后期进一步增加^[104]. 拟南芥种子萌发过程中GA生物合成的时空表达模式显示, 生物活性GA仅在胚根伸出前积累, 在胚内的两个不同部位合成. 在GA生物合成早期包括由CPS(拟南芥GA1基因, At4G02780)和KO(拟南芥GA3基因, At5G25900)催化的步骤在原维管组织中进行; 在GA生物合成后期由GA3ox催化的生物活性GA的形成在根的皮层和内皮层中进行^[104]. Ogawa等人^[110]研究表明, AtKO1和AtKAO1的转录丰度在吸胀后8 h达到峰值, 然后下降, 而AtKAO2在萌发过程中变化很小; AtGA20ox1和AtGA20ox3分别在种子吸胀后32 h和24 h达到峰值, 然后下降, AtGA20ox2在萌发过程中变化较小; AtGA3ox1和AtGA3ox2分别在吸胀后8 h和32 h达到峰值, 然后下降.

AtCPS和AtKS的转录丰度在胚(包括胚根(radicle)、下胚轴(hypocotyl)和子叶(cotyledon))比胚乳(包括珠孔端胚乳、合点端胚乳(chalazal endosperm, CE))和外胚乳中更高, AtKO和AtKAO的转录丰度在胚根和下胚轴比子叶和胚乳中更高^[3,18], 表明拟南芥种子萌发过程中胚根和下胚轴是GA₁₂产生的主要场所. 拟南芥5个GA20ox基因中, 3个在种子萌发过程中表达, 但

在种子中的表达部位是不同的^[106,110]. GA20ox1主要在胚根和下胚轴中表达, 当种皮破裂时其转录丰度明显降低; GA20ox2主要在珠孔端和合点端胚乳中表达, 在萌发早期达到峰值; GA20ox3在珠孔端胚乳、合点端胚乳和子叶中表达, 在整个萌发过程中都表现出最高的水平^[104,111]. 在拟南芥4种GA3ox基因中, 2种在种子萌发过程中表达. GA3ox1和GA3ox2转录物在萌发早期阶段在胚根和下胚轴中迅速积累, 在萌发后期阶段在所有种子组织中积累; 当种皮破裂时, 胚根、下胚轴、珠孔端胚乳和合点端胚乳中GA3ox1的转录物丰度显著增加. GA20ox基因在萌发过程中不被表达, 但在萌发晚期GA20ox6在珠孔端和合点端胚乳中被诱导, GA20ox2在胚根和下胚轴中被诱导^[3,110,111].

当种皮破裂时, 无活性的前体被胚(胚根、下胚轴和子叶)和胚乳(珠孔端和合点端胚乳、外胚乳)中增加表达的GA3ox转化成为生物活性GA, 导致珠孔端胚乳弱化必需的GA₄含量增加^[3]. GA缺陷突变体种子的萌发依赖于吸胀过程中向培养介质添加GA^[107]. 拟南芥GA缺陷突变体gal种子的休眠解除与萌发需要GA^[112], gal突变体种子的萌发能力能够通过去除胚周围的种皮和胚乳恢复, 不需要任何外源GA的作用; 此外, 当种皮突变减少对胚根伸出的抑制时, 萌发必需的胚生长势阈值降低^[107].

在种子萌发过程中, GA除了能促进种子萌发外, 还能拮抗ABA对种子萌发起抑制作用. 在非休眠的拟南芥种子萌发早期和后期, GA/ABA的比例由于ABA的降解分别增加了约3倍和10倍^[110]. 在吸胀的拟南芥种子中, AtGA20ox, AtGA3ox和AtGA20ox基因的表达被光照(通过光敏色素信号转导)和温度(冷层积和热抑制)调控^[111,113-116]. GA20ox和GA3ox基因被红光和冷层积诱导. 拟南芥种子的湿冷层积, 即吸胀种子在黑暗和4℃中培育1~4 d, 通常被用来打破休眠和促进萌发. 冷层积与GA20ox和GA3ox转录物的积累以及生物活性GA含量的增加有关, 冷层积时GA3ox1转录物在珠孔端胚乳、胚根和下胚轴中大量积累^[117].

3.2 GA信号转导与种子萌发

Voegelé等人^[4]对拟南芥3个AtGID1敲除突变体的研究发现, AtGID1b受体不能补偿gid1a gid1c双突变体种子的萌发表型, 因此通过GID1ac类型受体的GA信号转导是种子萌发所必需的. 相反, AtGID1a和At-

GID1c受体是部分冗余的,能够代替AtGID1b.根据拟南芥基因敲除突变体的种子萌发表型以及家独行菜珠孔端胚乳、胚根和下胚轴中与ABA相关的*LesGID1a*和*LesGID1b*的转录表达模式发现,GID1c受体对种子萌发具有重要的影响.在干燥和吸胀种子中,*AtGID1a*的转录丰度>*AtGID1c*>*AtGID1b*.在萌发过程中,*AtGID1a*和*AtGID1c*的时空转录表达模式是类似的,但*AtGID1b*不同,即在萌发过程中*AtGID1b*的转录丰度增加,而*AtGID1a*和*AtGID1c*的转录丰度降低^[3].在拟南芥和家独行菜种子萌发过程中,GA触发*AtGID1a*和*AtGID1c*的负反馈循环,但不触发*AtGID1b*的负反馈循环^[4,104].

在GA处理后5~60 min,已鉴定的拟南芥和其他植物的所有DELLA蛋白发生降解^[86,118,119].因此普遍认为,GA通过DELLA蛋白的降解来解除其对种子萌发的抑制.4个DELLA基因(*RGL2*,*RGL1*,*RGA*和*GAI*)的功能丧失能够使种子在光和GA缺乏的条件下萌发,种子中的GA能够引起RGA和GAI的去稳定或者失活^[104].*EXP2*(*EXPANSIN 2*)编码一种胚乳专一的 α -扩展蛋白(α -expansin),它的表达增加促进细胞扩大和种子萌发.NAC转录因子NAC25和NAC1L被鉴定为*EXP2*表达、GA介导的胚乳扩大和种子萌发的上游调控因子.DELLA蛋白RGL2通过NAC25/NAC1L抑制*EXP2*启动子的活化^[105].在F-box基序中携带一个19 bp或者31 bp缺失的水稻*GID2*突变体导致一种GA不敏感的表型,这种表型与矮化和种子萌发过程中不能产生GA诱导的 α -淀粉酶有关^[87].拟南芥*sly1*突变体表现出种子休眠增强,这与种子萌发中GA信号转导的作用一致^[118].

光通过光敏色素在DELLA介导的拟南芥种子萌发反应中起作用^[120,121].红光活化的光敏色素(Pfr形式)降低PIL5的活性,从而促进种子萌发.在黑暗中,PIL5直接与*RGA*和*GAI*基因的启动子结合,促进DELLA抑制因子的表达,以及间接地增加*GA2ox*基因(GA失活)和ABA生物合成基因的表达.此外,GA生物合成基因*GA20ox*和*GA3ox*被PIL5下调.Penfield等人^[122]发现,转录因子SPT与PIF3和PIL5一起参与介导种子萌发的光和温度的反应;在休眠种子中这涉及*GA3ox*的下调.此外,PIL5促进*SOM*(*SOMNUS*)的表达,*SOM*编码一种CCHH类型的锌指蛋白^[123].*SOM*分别通过下调GA和促进ABA合成基因的表达抑制萌发.在吸胀的拟南芥种子中,ABA不敏感3(*ABA-INSENSITIVE3*,*ABI3*),

*ABI5*和DELLA相互作用活化*SOM*和其他高温诱导基因的表达^[124].DELLA *RGL2*和*RGL3*通过促进ABA生物合成和*ABI5*活性^[125,126]以及降低细胞壁重塑蛋白基因的表达^[4,127,128]来抑制拟南芥种子的萌发.Piskurewicz和Lopez-Molina^[126]报道,*RGL2*在对GA和ABA水平变化的反应中抑制种皮破裂,*rgl2*突变体的种皮破裂对低水平的GA或者高水平的ABA不敏感.远红光通过依赖DELLA的ABA合成和转录因子*ABI3*的促进作用抑制萌发^[129].在白光下,由*RGL2*启动子驱动的*GAI*和*RGA*的转基因表达能够替代*RGL2*促进ABA合成和抑制种子萌发.3个DELLA因子抑制种皮破裂,而*ABI3*阻止胚乳破裂^[129].在暗处,胚乳的ABA通过转录因子*ABI5*拮抗光敏色素(phytochrome)A的信号转导,*ABI5*与bHLH转录因子PIF1一起共享几个负调控胚萌发的靶基因.*ABI5*不但增强光敏色素信号转导基因*PIF1*,*SOM*,*GAI*和*RGA*的表达,而且增强ABA和GA代谢基因的表达^[130].

4 结束语

GA是调控种子发育、萌发与休眠的重要激素,显著地影响种子萌发、幼苗建成和作物产量^[1,99,100].因此,GA的代谢、生理作用和信号转导一直被广泛地研究和应用于农业^[15,17,19,59].尽管近年来这些领域的研究已取得了重要进展,但仍有一些重要的科学问题需要进一步研究.例如,在GA代谢中,生物活性GA(*GA₄*和*GA₁*)及其前体(*GA₁₂*,*GA₉*和*GA₂₀*等)能够被*GA2ox*失活;*GA₄*和*GA₁*能够被甲基转移酶催化为GA甲基酯;*GA₄*被GA 16,17-氧化酶转化成为16 α ,17-环氧化物;以及GA能与葡萄糖结合生成GA葡萄糖酯,作为GA的储存和运输形式,GA葡萄糖酯又能被 β -葡萄糖苷酶水解成为GA和葡萄糖^[18,131].那么,这些酶及其基因如何响应生长发育和环境变化以维持适当范围的GA浓度尚不清楚.此外,*GA3ox*和*GA20ox*是在细胞质和细胞核中双重定位的^[13,28],细胞如何调节这些酶在2个分室中的表达,以及它们的功能有何差异仍需进一步研究.

水稻和拟南芥的遗传和分子生物学研究已经鉴定了GA信号转导途径的主要组分,并阐明了其作用方式^[15,21,59].GA诱导的DELLA蛋白降解作为GA信号转导的调控开关发挥作用,然而,在植物细胞中也存在不依赖DELLA蛋白水解的GA信号转导^[15,21,59].不清楚

的是, 在整合生理条件或者对环境信号反应时哪一条途径优先响应, 以及这2条途径之间怎样联系. 此外, GA受体GID1也是细胞质和细胞核双重定位的, 那么, 它们对GA的感受和随后的信号转导有何区别?

在植物中, DELLA蛋白已成为主要的转录调控因子, 负责抑制GA依赖的生长和发育的各个方面^[132]. DELLA与PIF和BZR1相互作用, 抑制它们的DNA结合活性. DELLA也与JAZ蛋白相互作用, 导致MYC2从JAZ中释放. 此外, DELLA通过与DNA结合的转录因子, 如结构域不确定蛋白(INDETERMINATE domain protein, IDD)和B型拟南芥反应调控因子(type-B ARA-

BIDOPSIS RESPONSE REGULATOR, ARR)被招募到启动子中, 以及作为转录共激活因子起作用^[15,59]. SLR1以独脚金内酯(strigolactone, STRI)依赖的方式与STRI受体D14相互作用^[133]. DELLA除了起转录控制作用外, 还直接参与拟南芥下胚轴微管的重新定向^[59]. 但是, 是否还有一些新的下游靶点被DELLA蛋白调控, 以及多个不同功能的下游DELLA靶点之间的关系如何也不清楚. 结合DELLA功能获得与丧失的突变体, 利用相应的抑制剂实验和组学研究体系, 包括转录组、蛋白质组、代谢组和表型组可能有助于进一步理解DELLA蛋白的功能.

参考文献

- Bewley J D, Bradford K J, Hilhorst H W M, et al. Physiology of Development, Germination and Dormancy. 3rd ed. New York: Springer, 2013
- Nonogaki H. Seed dormancy and germination—Emerging mechanisms and new hypotheses. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 233
- Dekkers B J W, Pearce S, van Bolderen-Veldkamp R P, et al. Transcriptional dynamics of two seed compartments with opposing roles in *Arabidopsis* seed germination. *Plant Physiol*, 2013, 163: 205–215
- Voegele A, Linkies A, Müller K, et al. Members of the gibberellin receptor gene family *GID1* (*GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1*) play distinct roles during *Lepidium sativum* and *Arabidopsis thaliana* seed germination. *J Exp Bot*, 2011, 62: 5131–5147
- Chen F, Nonogaki H, Bradford K J. A gibberellin-regulated xyloglucan endotransglycosylase gene is expressed in the endosperm cap during tomato seed germination. *J Exp Bot*, 2002, 53: 215–223
- Steinbrecher T, Leubner-Metzger G. The biomechanics of seed germination. *J Exp Bot*, 2016, 68: 765–783
- Sechet J, Frey A, Effroy-Cuzzi D, et al. Xyloglucan metabolism differentially impacts the cell wall characteristics of the endosperm and embryo during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Physiol*, 2016, 170: 1367–1380
- Yan A, Wu M, Yan L, et al. *AtEXP2* is involved in seed germination and abiotic stress response in *Arabidopsis*. *PLoS ONE*, 2014, 9: e85208
- Nonogaki H, Gee O H, Bradford K J. A germination-specific endo- β -mannanase gene is expressed in the micropylar endosperm cap of tomato seeds. *Plant Physiol*, 2000, 123: 1235–1246
- Nonogaki H. Seed germination and dormancy: The classic story, new puzzles, and evolution. *J Integr Plant Biol*, 2019, 61: 541–563
- De Giorgi J, Piskurewicz U, Loubery S, et al. An endosperm-associated cuticle is required for *Arabidopsis* seed viability, dormancy and early control of germination. *PLoS Genet*, 2015, 11: e1005708
- Li J, Li C Y. Seventy-year major research progress in plant hormones by Chinese scholars (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2019, 49: 1227–1281 [黎家, 李传友. 新中国成立70年来植物激素研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49: 1227–1281]
- Chen Y, Tan B C. New insight in the gibberellin biosynthesis and signal transduction. *Plant Signal Behav*, 2015, 10: e1000140
- Davière J M, Achard P. Gibberellin signaling in plants. *Development*, 2013, 140: 1147–1151
- Ito T, Okada K, Fukazawa J, et al. DELLA-dependent and -independent gibberellin signaling. *Plant Signal Behav*, 2018, 13: e1445933
- Yabuta T, Sumiki T. Communication to the editor. *J Agric Chem Soc Japan*, 1938, 14: 1526
- Hedden P, Sponsel V. A century of gibberellin research. *J Plant Growth Regul*, 2015, 34: 740–760
- Hedden P, Thomas S G. Gibberellin biosynthesis and its regulation. *Biochem J*, 2012, 444: 11–25
- Salazar-Cerezo S, Martínez-Montiel N, García-Sánchez J, et al. Gibberellin biosynthesis and metabolism: A convergent route for plants, fungi and bacteria. *Microbiol Res*, 2018, 208: 85–98
- Yamaguchi S. Gibberellin metabolism and its regulation. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 225–251
- Hauvermale A L, Ariizumi T, Steber C M. Gibberellin signaling: A theme and variations on DELLA repression. *Plant Physiol*, 2012, 160: 83–92
- Plackett A R G, Powers S J, Fernandez-Garcia N, et al. Analysis of the developmental roles of the *Arabidopsis* gibberellin 20-oxidases

- demonstrates that *GA20ox1*, -2, and -3 are the dominant paralogs. *Plant Cell*, 2012, 24: 941–960
- 23 Achard P, Genschik P. Releasing the brakes of plant growth: How GAs shutdown DELLA proteins. *J Exp Bot*, 2009, 60: 1085–1092
 - 24 Plackett A R G, Wilson Z A. Gibberellins and plant reproduction. In: Hedden P, Thomas S G, eds. *Annual Plant Reviews*, Volume 49: The Gibberellins. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. 323–358
 - 25 Hu Y, Zhou L, Huang M, et al. Gibberellins play an essential role in late embryogenesis of *Arabidopsis*. *Nat Plants*, 2018, 4: 289–298
 - 26 Sponsel V M, Hedden P. Gibberellin biosynthesis and inactivation. *Plant Hormones*. Dordrecht: Springer, 2010. 63–94
 - 27 Sun T P. Gibberellin metabolism, perception and signaling pathways in *Arabidopsis*. *Arabidopsis Book*, 2008, 6: e0103
 - 28 Hedden P. Gibberellin biosynthesis in higher plants. In: Hedden P, Thomas SG, eds. *Annual Plant Reviews*, Volume 49: The Gibberellins. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. 37–72
 - 29 Bönke C, Tudzynski B. Diversity, regulation, and evolution of the gibberellin biosynthetic pathway in fungi compared to plants and bacteria. *Phytochemistry*, 2009, 70: 1876–1893
 - 30 Magome H, Nomura T, Hanada A, et al. *CYP714B1* and *CYP714B2* encode gibberellin 13-oxidases that reduce gibberellin activity in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 1947–1952
 - 31 Regnault T, Davière J M, Heintz D, et al. The gibberellin biosynthetic genes *AtKAO1* and *AtKAO2* have overlapping roles throughout *Arabidopsis* development. *Plant J*, 2014, 80: 462–474
 - 32 Helliwell C A, Chandler P M, Poole A, et al. The CYP88A cytochrome P450, *ent*-kaurenoic acid oxidase, catalyzes three steps of the gibberellin biosynthesis pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 2065–2070
 - 33 Helliwell C A, Sullivan J A, Mould R M, et al. A plastid envelope location of *Arabidopsis ent*-kaurene oxidase links the plastid and endoplasmic reticulum steps of the gibberellin biosynthesis pathway. *Plant J*, 2001, 28: 201–208
 - 34 Sakamoto T, Morinaka Y, Ishiyama K, et al. Genetic manipulation of gibberellin metabolism in transgenic rice. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 909–913
 - 35 Mao H, Shen Q, Wang Q. CYP701A26 is characterized as an *ent*-kaurene oxidase with putative involvement in maize gibberellin biosynthesis. *Biotechnol Lett*, 2017, 39: 1709–1716
 - 36 Davidson S E, Elliott R C, Helliwell C A, et al. The pea gene *NA* encodes *ent*-kaurenoic acid oxidase. *Plant Physiol*, 2003, 131: 335–344
 - 37 He J, Chen Q, Xin P, et al. CYP72A enzymes catalyse 13-hydroxylation of gibberellins. *Nat Plants*, 2019, 5: 1057–1065
 - 38 Sakamoto T, Miura K, Itoh H, et al. An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice. *Plant Physiol*, 2004, 134: 1642–1653
 - 39 Hedden P, Phillips A L, Rojas M C, et al. Gibberellin biosynthesis in plants and fungi: A case of convergent evolution? *J Plant Growth Regul*, 2001, 20: 319–331
 - 40 Yamaguchi S, Sun T, Kawaide H, et al. The *GA2* locus of *Arabidopsis thaliana* encodes *ent*-kaurene synthase of gibberellin biosynthesis. *Plant Physiol*, 1998, 116: 1271–1278
 - 41 Chiang H H, Hwang I, Goodman H M. Isolation of the *Arabidopsis* *GA₄* locus. *Plant Cell*, 1995, 7: 195–201
 - 42 Plackett A R G, Thomas S G, Wilson Z A, et al. Gibberellin control of stamen development: A fertile field. *Trends Plant Sci*, 2011, 16: 568–578
 - 43 Rieu I, Eriksson S, Powers S J, et al. genetic analysis reveals that *C₁₉*-GA 2-oxidation is a major gibberellin inactivation pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2008, 20: 2420–2436
 - 44 Lo S F, Yang S Y, Chen K T, et al. A novel class of gibberellin 2-oxidases control semidwarfism, tillering, and root development in rice. *Plant Cell*, 2008, 20: 2603–2618
 - 45 Thomas S G, Phillips A L, Hedden P. Molecular cloning and functional expression of gibberellin 2-oxidases, multifunctional enzymes involved in gibberellin deactivation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 4698–4703
 - 46 Bolduc N, Hake S. The maize transcription factor KNOTTED1 directly regulates the gibberellin catabolism gene *ga2ox1*. *Plant Cell*, 2009, 21: 1647–1658
 - 47 Niu S, Yuan L, Zhang Y, et al. Isolation and expression profiles of gibberellin metabolism genes in developing male and female cones of *Pinus tabulaeformis*. *Funct Integr Genomics*, 2014, 14: 697–705
 - 48 Han F, Zhu B. Evolutionary analysis of three gibberellin oxidase genes in rice, *Arabidopsis*, and soybean. *Gene*, 2011, 473: 23–35
 - 49 Zhu Y, Nomura T, Xu Y, et al. *ELONGATED UPPERMOST INTERNODE* encodes a cytochrome P450 monooxygenase that epoxidizes gibberellins in a novel deactivation reaction in rice. *Plant Cell*, 2006, 18: 442–456

- 50 Zhang Y, Zhang B, Yan D, et al. Two *Arabidopsis* cytochrome P450 monooxygenases, CYP714A1 and CYP714A2, function redundantly in plant development through gibberellin deactivation. *Plant J*, 2011, 67: 342–353
- 51 Varbanova M, Yamaguchi S, Yang Y, et al. Methylation of gibberellins by *Arabidopsis* GAMT1 and GAMT2. *Plant Cell*, 2007, 19: 32–45
- 52 Schneider G, Schliemann W. Gibberellin conjugates: An overview. *Plant Growth Regul*, 1994, 15: 247–260
- 53 Jin S, Kanagaraj A, Verma D, et al. Release of hormones from conjugates: Chloroplast expression of β -glucosidase results in elevated phytohormone levels associated with significant increase in biomass and protection from aphids or whiteflies conferred by sucrose esters. *Plant Physiol*, 2011, 155: 222–235
- 54 Helliwell C A, Sheldon C C, Olive M R, et al. Cloning of the *Arabidopsis* ent-kaurene oxidase gene *GA3*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 9019–9024
- 55 Eriksson S, Böhlenius H, Moritz T, et al. GA₄ is the active gibberellin in the regulation of *LEAFY* transcription and *Arabidopsis* floral initiation. *Plant Cell*, 2006, 18: 2172–2181
- 56 Ueguchi-Tanaka M, Ashikari M, Nakajima M, et al. *GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1* encodes a soluble receptor for gibberellin. *Nature*, 2005, 437: 693–698
- 57 Dai M, Zhao Y, Ma Q, et al. The rice *YABBY1* gene is involved in the feedback regulation of gibberellin metabolism. *Plant Physiol*, 2007, 144: 121–133
- 58 Liu H, Guo S, Lu M, et al. Biosynthesis of DHGA12 and its roles in *Arabidopsis* seedling establishment. *Nat Commun*, 2019, 10: 1768
- 59 Nelson S K, Steber C M. Gibberellin hormone signal perception: Down-regulating DELLA repressors of plant growth and development. In: Hedden P, Thomas S G, eds. Annual Plant Reviews, Volume 49: The Gibberellins. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. 153–187
- 60 Nakajima M, Shimada A, Takashi Y, et al. Identification and characterization of *Arabidopsis* gibberellin receptors. *Plant J*, 2006, 46: 880–889
- 61 Ueguchi-Tanaka M, Nakajima M, Katoh E, et al. Molecular interactions of a soluble gibberellin receptor, GID1, with a rice DELLA protein, SLR1, and gibberellin. *Plant Cell*, 2007, 19: 2140–2155
- 62 Hirano K, Ueguchi-Tanaka M, Matsuoka M. GID1-mediated gibberellin signaling in plants. *Trends Plant Sci*, 2008, 13: 192–199
- 63 Murase K, Hirano Y, Sun T P, et al. Gibberellin-induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1. *Nature*, 2008, 456: 459–463
- 64 Willige B C, Ghosh S, Nill C, et al. The DELLA domain of GA INSENSITIVE mediates the interaction with the GA INSENSITIVE DWARF1A gibberellin receptor of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19: 1209–1220
- 65 Shimada A, Ueguchi-Tanaka M, Nakatsu T, et al. Structural basis for gibberellin recognition by its receptor GID1. *Nature*, 2008, 456: 520–523
- 66 Ueguchi-Tanaka M, Matsuoka M. The perception of gibberellins: Clues from receptor structure. *Curr Opin Plant Biol*, 2010, 13: 503–508
- 67 Yano K, Aya K, Hirano K, et al. Comprehensive gene expression analysis of rice aleurone cells: Probing the existence of an alternative gibberellin receptor. *Plant Physiol*, 2015, 167: 531–544
- 68 Griffiths J, Murase K, Rieu I, et al. Genetic characterization and functional analysis of the GID1 gibberellin receptors in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18: 3399–3414
- 69 Iuchi S, Suzuki H, Kim Y C, et al. Multiple loss-of-function of *Arabidopsis* gibberellin receptor AtGID1s completely shuts down a gibberellin signal. *Plant J*, 2007, 50: 958–966
- 70 Chandler P M, Harding C A, Ashton A R, et al. Characterization of gibberellin receptor mutants of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Mol Plant*, 2008, 1: 285–294
- 71 Yamamoto Y, Hirai T, Yamamoto E, et al. A rice *gid1* suppressor mutant reveals that gibberellin is not always required for interaction between its receptor, GID1, and DELLA proteins. *Plant Cell*, 2010, 22: 3589–3602
- 72 Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sato Y, et al. The gibberellin signaling pathway is regulated by the appearance and disappearance of *SLENDER RICE1* in nuclei. *Plant Cell*, 2002, 14: 57–70
- 73 Engstrom E M. Phylogenetic analysis of GRAS proteins from moss, lycophyte and vascular plant lineages reveals that GRAS genes arose and underwent substantial diversification in the ancestral lineage common to bryophytes and vascular plants. *Plant Signal Behav*, 2011, 6: 850–854
- 74 Bai M Y, Shang J X, Oh E, et al. Brassinosteroid, gibberellin and phytochrome impinge on a common transcription module in *Arabidopsis*. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 810–817
- 75 Gallego-Bartolomé J, Minguet E G, Grau-Enguix F, et al. Molecular mechanism for the interaction between gibberellin and brassinosteroid signaling pathways in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 13446–13451
- 76 Heo J O, Chang K S, Kim I A, et al. Funneling of gibberellin signaling by the GRAS transcription regulator SCARECROW-LIKE 3 in the

- Arabidopsis* root. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 2166–2171
- 77 Hirano K, Kouketu E, Katoh H, et al. The suppressive function of the rice DELLA protein SLR1 is dependent on its transcriptional activation activity. *Plant J*, 2012, 71: 443–453
 - 78 Hou X, Lee L Y C, Xia K, et al. DELLAs modulate jasmonate signaling via competitive binding to JAZs. *Dev Cell*, 2010, 19: 884–894
 - 79 Zhang Z L, Ogawa M, Fleet C M, et al. SCARECROW-LIKE 3 promotes gibberellin signaling by antagonizing master growth repressor DELLA in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 2160–2165
 - 80 Sarnowska E A, Rolicka A T, Bucior E, et al. DELLA-interacting SWI3C core subunit of switch/sucrose nonfermenting chromatin remodeling complex modulates gibberellin responses and hormonal cross talk in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2013, 163: 305–317
 - 81 Hirano K, Asano K, Tsuji H, et al. Characterization of the molecular mechanism underlying gibberellin perception complex formation in rice. *Plant Cell*, 2010, 22: 2680–2696
 - 82 Sato T, Miyanoiri Y, Takeda M, et al. Expression and purification of a GRAS domain of SLR1, the rice DELLA protein. *Protein Express Purif*, 2014, 95: 248–258
 - 83 Itoh H, Shimada A, Ueguchi-Tanaka M, et al. Overexpression of a GRAS protein lacking the DELLA domain confers altered gibberellin responses in rice. *Plant J*, 2005, 44: 669–679
 - 84 Suzuki H, Park S H, Okubo K, et al. Differential expression and affinities of *Arabidopsis* gibberellin receptors can explain variation in phenotypes of multiple knock-out mutants. *Plant J*, 2009, 60: 48–55
 - 85 Ariizumi T, Murase K, Sun T P, et al. Proteolysis-independent downregulation of DELLA repression in *Arabidopsis* by the gibberellin receptor GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1. *Plant Cell*, 2008, 20: 2447–2459
 - 86 Wang F, Zhu D, Huang X, et al. Biochemical insights on degradation of *Arabidopsis* DELLA proteins gained from a cell-free assay system. *Plant Cell*, 2009, 21: 2378–2390
 - 87 Sasaki A, Itoh H, Gomi K, et al. Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant. *Science*, 2003, 299: 1896–1898
 - 88 Hussain A, Cao D, Cheng H, et al. Identification of the conserved serine/threonine residues important for gibberellin-sensitivity of *Arabidopsis* RGL2 protein. *Plant J*, 2005, 44: 88–99
 - 89 Ariizumi T, Lawrence P K, Steber C M. The role of two F-box proteins, SLEEPY1 and SNEEZY, in *Arabidopsis* gibberellin signaling. *Plant Physiol*, 2011, 155: 765–775
 - 90 Wang F, Deng X W. Plant ubiquitin-proteasome pathway and its role in gibberellin signaling. *Cell Res*, 2011, 21: 1286–1294
 - 91 Itoh H, Matsuoaka M, Steber C M. A role for the ubiquitin-26S-proteasome pathway in gibberellin signaling. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 492–497
 - 92 Fu X, Richards D E, Fleck B, et al. The *Arabidopsis* mutant sleepy1^{gar2-1} protein promotes plant growth by increasing the affinity of the SCF^{SLY1} E3 ubiquitin ligase for DELLA protein substrates. *Plant Cell*, 2004, 16: 1406–1418
 - 93 Conti L, Nelis S, Zhang C, et al. Small ubiquitin-like modifier protein SUMO enables plants to control growth independently of the phytohormone gibberellin. *Dev Cell*, 2014, 28: 102–110
 - 94 Vierstra R D. The expanding universe of ubiquitin and ubiquitin-like modifiers. *Plant Physiol*, 2012, 160: 2–14
 - 95 Achard P, Gong F, Chémant S, et al. The cold-inducible CBF1 factor-dependent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism. *Plant Cell*, 2008, 20: 2117–2129
 - 96 Fukao T, Bailey-Serres J. Submergence tolerance conferred by Sub1A is mediated by SLR1 and SLRL1 restriction of gibberellin responses in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 16814–16819
 - 97 Ueguchi-Tanaka M, Hirano K, Hasegawa Y, et al. Release of the repressive activity of rice DELLA protein SLR1 by gibberellin does not require SLR1 degradation in the *gid2* mutant. *Plant Cell*, 2008, 20: 2437–2446
 - 98 Ariizumi T, Hauvermale A L, Nelson S K, et al. Lifting DELLA repression of *Arabidopsis* seed germination by nonproteolytic gibberellin signaling. *Plant Physiol*, 2013, 162: 2125–2139
 - 99 Deng Z J, Song S Q, Ai X R, et al. Principle and Technology of Plant Seed Preservation and Detection (in Chinese). Beijing: Science Press, 2019 [邓志军, 宋松泉, 艾训儒, 等. 植物种子保存和检测的原理与技术. 北京: 科学出版社, 2019]
 - 100 Xu H H, Li N, Liu S J, et al. Research progress in seed germination and its control (in Chinese). *Acta Agron Sin*, 2014, 40: 1141–1156 [徐恒恒, 黎妮, 刘树君, 等. 种子萌发及其调控的研究进展. 作物学报, 2014, 40: 1141–1156]
 - 101 Deng Z J, Cheng H Y, Song S Q. Effects of temperature, scarification, dry storage, stratification, phytohormone and light on dormancy-breaking

- and germination of *Cotinus coggygia* var. *cinerea* (Anacardiaceae) seeds. *Seed Sci Technol*, 2010, 38: 572–584
- 102 Nonogaki H. Seed biology updates—Highlights and new discoveries in seed dormancy and germination research. *Front Plant Sci*, 2017, 8: e524
- 103 Gao X H, Fu X D. Research progress for the gibberellin signaling and action on plant growth and development (in Chinese). *Biotech Bull*, 2018, 34: 1–13 [高秀华, 傅向东. 赤霉素信号转导及其调控植物生长发育的研究进展. *生物技术通报*, 2018, 34: 1–13]
- 104 Urbanova T, Leubner-Metzger G. Gibberellin and seed germination. In: Hedden P, Thomas S G, eds. *Annual Plant Reviews*, Volume 49: The Gibberellins. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. 253–284
- 105 Sánchez-Montesino R, Bouza-Morcillo L, Marquez J, et al. A regulatory module controlling GA-mediated endosperm cell expansion is critical for seed germination in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2019, 12: 71–85
- 106 Yamaguchi S, Kamiya Y, Nambara E. Regulation of ABA and GA levels during seed development and germination in *Arabidopsis*. In: Bradford K, Nonogaki H, eds. *Seed Development, Dormancy and Germination*. Oxford: Blackwell, 2007
- 107 Kucera B, Cohn M A, Leubner-Metzger G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci Res*, 2005, 15: 281–307
- 108 Nonogaki H. Seed germination — The biochemical and molecular mechanisms. *Breed Sci*, 2006, 56: 93–105
- 109 Linkies A, Leubner-Metzger G. Beyond gibberellins and abscisic acid: How ethylene and jasmonates control seed germination. *Plant Cell Rep*, 2012, 31: 253–270
- 110 Ogawa M, Hanada A, Yamauchi Y, et al. Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell*, 2003, 15: 1591–1604
- 111 Seo M, Nambara E, Choi G, et al. Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. *Plant Mol Biol*, 2009, 69: 463–472
- 112 North H, Baud S, Debeaujon I, et al. *Arabidopsis* seed secrets unravelled after a decade of genetic and omics-driven research. *Plant J*, 2010, 61: 971–981
- 113 Toh S, Imamura A, Watanabe A, et al. High temperature-induced abscisic acid biosynthesis and its role in the inhibition of gibberellin action in *Arabidopsis* seeds. *Plant Physiol*, 2008, 146: 1368–1385
- 114 Seo M, Jikumaru Y, Kamiya Y. Profiling of hormones and related metabolites in seed dormancy and germination studies. *Methods Mol Biol*, 2011, 773: 99–111
- 115 Toh S, Kamiya Y, Kawakami N, et al. Thermoinhibition uncovers a role for strigolactones in *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell Physiol*, 2012, 53: 107–117
- 116 Yang L, Jiang Z, Liu S, et al. Interplay between REVEILLE1 and RGA-LIKE2 regulates seed dormancy and germination in *Arabidopsis*. *New Phytol*, 2020, 225: 1593–1605
- 117 Weitbrecht K, Müller K, Leubner-Metzger G. First off the mark: Early seed germination. *J Exp Bot*, 2011, 62: 3289–3309
- 118 Ariizumi T, Steber C M. Seed germination of GA-insensitive *sleepy1* mutants does not require RGL2 protein disappearance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, 19: 791–804
- 119 Zhang Y, Liu Z, Wang L, et al. Sucrose-induced hypocotyl elongation of *Arabidopsis* seedlings in darkness depends on the presence of gibberellins. *J Plant Physiol*, 2010, 167: 1130–1136
- 120 Holdsworth M J, Bentsink L, Soppe W J J. Molecular networks regulating *Arabidopsis* seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. *New Phytol*, 2008, 179: 33–54
- 121 Penfield S, Hall A. A role for multiple circadian clock genes in the response to signals that break seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2009, 21: 1722–1732
- 122 Penfield S, Josse E M, Kannangara R, et al. Cold and light control seed germination through the bHLH transcription factor SPATULA. *Curr Biol*, 2005, 15: 1998–2006
- 123 Park J, Lee N, Kim W, et al. ABI3 and PIL5 collaboratively activate the expression of *SOMNUS* by directly binding to its promoter in imbibed *Arabidopsis* Seeds. *Plant Cell*, 2011, 23: 1404–1415
- 124 Lim S, Park J, Lee N, et al. ABA-INSENSITIVE3, ABA-INSENSITIVE5, and DELLAs interact to activate the expression of *SOMNUS* and other high-temperature-inducible genes in imbibed seeds in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2013, 25: 4863–4878
- 125 Piskurewicz U, Jikumaru Y, Kinoshita N, et al. The gibberellic acid signaling repressor RGL2 inhibits *Arabidopsis* seed germination by stimulating abscisic acid synthesis and ABI5 activity. *Plant Cell*, 2008, 20: 2729–2745
- 126 Piskurewicz U, Lopez-Molina L. The GA-signaling repressor RGL3 represses testa rupture in response to changes in GA and ABA levels. *Plant*

- [Signal Behav](#), 2009, 4: 63–65
- 127 Morris K, Linkies A, Müller K, et al. Regulation of seed germination in the close arabidopsis relative *Lepidium sativum*: A global tissue-specific transcript analysis. [Plant Physiol](#), 2011, 155: 1851–1870
 - 128 Stamm P, Ravindran P, Mohanty B, et al. Insights into the molecular mechanism of RGL2-mediated inhibition of seed germination in *Arabidopsis thaliana*. [BMC Plant Biol](#), 2012, 12: 179–195
 - 129 Piskurewicz U, Turečková V, Lacombe E, et al. Far-red light inhibits germination through DELLA-dependent stimulation of ABA synthesis and ABI3 activity. [EMBO J](#), 2009, 28: 2259–2271
 - 130 Lee K P, Piskurewicz U, Turečková V, et al. Spatially and genetically distinct control of seed germination by phytochromes A and B. [Genes Dev](#), 2012, 26: 1984–1996
 - 131 Magome H, Kamiya Y. Inactivation processes. In: Hedden P, Thomas S G, eds. Annual Plant Reviews, Volume 49: The Gibberellins. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. 73–94
 - 132 Thomas S G, Blázquez M A, Alabadí D. DELLA protein: Master regulators of gibberellin-responsive growth and development. In: Hedden P, Thomas S G, eds. Annual Plant Reviews, Volume 49: The Gibberellins. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. 189–228
 - 133 Nakamura H, Xue Y L, Miyakawa T, et al. Molecular mechanism of strigolactone perception by DWARF14. [Nat Commun](#), 2013, 4: 2613

Gibberellin metabolism and signaling and its molecular mechanism in regulating seed germination and dormancy

SONG SongQuan^{1,3}, LIU Jun², HUANG Hui³, WU XianJin³, XU HengHeng², ZHANG Qi², LI XiuMei² & LIANG Juan³

¹ Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China;

² Guangdong Key Lab for Crop Germplasm Resources Preservation and Utilization, Agro-Biological Gene Research Center, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

³ Key Laboratory of Research and Utilization of Ethnomedicinal Plant Resources of Hunan Province, College of Biological and Food Engineering, Huaihua University, Huaihua 418008, China

The ability of seeds to germinate is determined by a balance between the physical restriction imposed by the embryo-surrounding tissues, i.e., testa and endosperm, and the potential of the embryo to grow. The weakening of the micropylar endosperm cells covering the radicle tip is promoted by phytohormone gibberellin (GA) but inhibited by abscisic acid, which is an important prerequisite for radicle protrusion. GA is a major phytohormone regulating various key physiological processes in plants such as seed germination, root and shoot elongation, flowering, fruiting, and seed development. The role of GA in seed germination and dormancy release is mainly regulated by its biosynthesis and catabolism as well as signaling pathways. Herein, we mainly summarize the research progresses of GA biosynthesis and catabolism, signaling, and their regulation on seed germination and dormancy release. In addition, we propose some scientific issues required for further investigations in this field to provide a research clue for understanding the molecular mechanisms of seed germination and dormancy that are regulated by GA.

dormancy, germination, gibberellin, metabolism, seed, signaling

doi: [10.1360/SSV-2019-0289](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0289)