

水稻乙烯信号转导

马彪, 陈受宜, 张劲松*

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 植物基因组学国家重点实验室, 植物基因研究中心, 北京 100101

* 联系人, E-mail: jszhang@genetics.ac.cn

2009-07-13 收稿, 2009-10-10 接受

国家自然科学基金(90717005, 30925006)资助项目

摘要 乙烯在植物生长发育过程中以及在应对多种环境胁迫的防御反应中起着重要的调控作用. 其发挥作用的分子机制在以拟南芥为主的双子叶植物中得到了系统研究, 已建立了一个线性信号转导模型. 与拟南芥相比, 人们对水稻等单子叶植物中乙烯作用机制还了解较少. 本文介绍了水稻乙烯信号转导目前取得的研究进展, 并与拟南芥及其他植物进行了比较. 拟南芥乙烯信号转导通路中的大多数组分在水稻中已找到了同源序列, 包括 5 个乙烯受体, OsCTR1, OsEIN2, OsEIL1 和 OsERFs 等. 与拟南芥的同源组分相比, 水稻乙烯受体家族各成员在功能上可能更具有特异性. 但是 OsEIN2 和 OsEIL1 对水稻乙烯反应只表现了有限的调控作用. ERF 类转录因子 OsERF1 和 OsEBP-89 可能也参与水稻乙烯反应, 但它们是否被 OsEIN2-OsEIL1 介导的信号途径激活并不清楚. 鉴于水稻的乙烯反应在多方面与拟南芥不同, 推测水稻中或许存在着新的信号传递组分或新机制. 筛选水稻乙烯反应突变体并鉴定相应基因将可能初步揭示水稻乙烯信号转导的新机制.

关键词

乙烯
信号转导
水稻
根
胚芽鞘

气体植物激素乙烯在植物生长发育过程中以及在应对多种环境胁迫的防御反应中起着重要的调控作用^[1]. 人们通过对拟南芥乙烯反应突变体的研究已建立了一个乙烯信号的线性转导模型^[2,3]. 乙烯结合到位于膜上的受体家族蛋白, 乙烯受体在结构上与细菌双组分信号系统类似. 乙烯结合使受体活性钝化, 导致下游组分 CTR1 失活. CTR1 在结构上类似于哺乳动物 Raf 的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 是乙烯反应的负调控因子. EIN2 作用于 CTR1 下游, 正调控乙烯反应. EIN3/EILs 是位于 EIN2 下游的转录因子, 诱导转录级联反应从而调控各种乙烯相关基因的表达. 最近, 人们分离鉴定了乙烯信号通路中新的调控因子, 包括调控 ETR1 受体功能的膜蛋白 REVERSION-TO-ETHYLENE SENSITIVITY1(RTE1)^[4,5]、调节 EIN2 蛋白稳定性的两个 F-box 蛋白 EIN2 TARGETING PROTEIN1/2 (ETP1/2)^[6]、调节 EIN3 蛋白稳定性的两个 F-box 蛋白 EBF1/2^[7-9]以及可能参与乙烯信号转导

和/或乙烯合成的丝裂原激活蛋白激酶系统 MKK9-MPK3/6^[10,11]. 这些发现进一步加深了人们对乙烯信号转导网络调控的理解. 不过, 迄今对乙烯信号转导的研究主要集中在双子叶植物, 单子叶植物的乙烯信号转导机制有待于进一步分析.

水稻(*Oryza sativa* L.)是单子叶模式植物, 它与双子叶模式植物拟南芥在生长发育方面有很多不同^[12]. 作为半水生植物, 水稻进化出一系列对缺氧环境的适应机制, 如胚芽鞘伸长、不定根发生、通气组织形成、地上部迅速伸长(逃逸机制)或生长受阻(忍耐机制)^[13]. 乙烯在这些应对缺氧环境的反应过程中起着至关重要的作用^[13-16]. 近年来, 人们已从水稻中初步鉴定了与拟南芥乙烯合成和信号转导同源的一些组分. 本文将着重介绍水稻乙烯信号转导方面的研究现状及最新进展(有关乙烯合成参见文献[17]), 并进一步讨论水稻和拟南芥乙烯信号转导机制的差异.

1 乙烯在水稻中的生理效应

1.1 胚芽鞘伸长

在缺氧条件下(如淹水),水稻胚芽鞘可快速伸长.该特性可促使胚芽鞘伸出水面从而像通气管那样吸入氧气使幼苗正常生长^[16,18,19].大量研究表明,水稻胚芽鞘的伸长生长受乙烯诱导^[20-25].这种生长促进作用与拟南芥三重反应中乙烯抑制下胚轴伸长的作用完全相反^[2](图 1).在黑暗条件下,乙烯处理明显促进水稻幼苗的胚芽鞘伸长,同时抑制根的伸长生长(图 1).水稻这种明显的乙烯反应如同拟南芥的三重反应那样可用于乙烯反应突变体的筛选.

1.2 茎伸长

水稻特别是深水水稻在水淹条件下茎秆迅速伸长,这样可使其上部叶片露出水面保持与空气接触.研究表明,乙烯是淹水诱导伸长生长的起始调节因子^[14].淹水条件下,低氧分压促进受淹组织中乙烯合成,新增乙烯则与 GA 和 ABA 互作促进细胞的分裂和伸长活性^[13,19].作为支持这种生长促进作用的实验证据,研究发现用乙烯或其前体物 ACC 处理水稻节间或幼苗可引发类似淹水诱导的伸长反应,而施加乙烯作用抑制剂,如 Ag⁺等则抑制其伸长^[26-29].

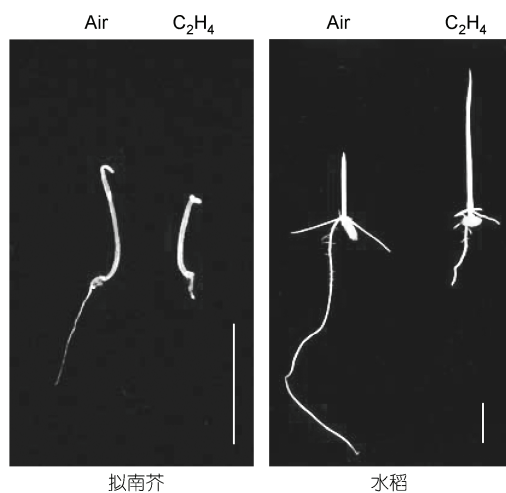


图 1 水稻和拟南芥黄化苗乙烯反应表型比较

拟南芥(*Columbia*)为 MS 培养基上暗培养 3 d 的黄化幼苗,培养条件为 23℃,乙烯处理(C₂H₄)或不处理(空气对照 Air);水稻(日本晴)为装有湿纱布的培养皿上暗培养 4 d 的黄化幼苗,培养条件为 28℃,乙烯处理(C₂H₄)或不处理(空气对照 Air).乙烯处理浓度为 10 μL/L.标尺=1 cm

1.3 不定根形成

淹水诱导水稻特别是深水水稻的不定根形成,乙烯在不定根形成过程中起着关键的调控作用^[30,31].不定根原基在正常条件下作为水稻茎节的一部分已经存在,在后续的发育过程中一直被表皮细胞所覆盖.不定根的形成由这些表皮细胞的程序化死亡而引发,后者是一个乙烯触发的、H₂O₂介导的复杂生理过程^[32].进一步研究发现细胞死亡可能取决于表皮细胞的均一性,即不定根发生部位的表皮细胞在形态上和分子上较其他表皮细胞更为均一^[33].

1.4 通气组织形成

水稻根内通气组织为溶生性,属组成型发生,即在氧气供应充足的土壤条件下也会形成;而在水涝的土壤中通气组织的量会进一步增加^[15,34].关于水稻通气组织的形成是否受乙烯调控的问题一直存在争议.近年来,基于乙烯和乙烯反应抑制剂处理的研究显示,水稻根内通气组织形成受乙烯诱导且呈现剂量效应,而该诱导作用可被乙烯作用抑制剂抑制,表明乙烯很可能介导了水稻根内通气组织的形成过程^[35-37].进一步研究发现乙烯诱导的根皮层细胞的程序化死亡启动了通气组织形成^[38,39].

除上述应对缺氧环境的反应外,乙烯还调控水稻的种子萌发^[40]、籽粒灌浆^[41]、叶片凋落^[42]及产量形成^[43]等多个生理过程.

2 乙烯信号的感知

乙烯信号被受体家族感知,拟南芥中乙烯受体共有 5 个成员,包括 ETR1, ETR2, ERS1, ERS2 和 EIN4^[44].这些受体蛋白具有相似的结构:氨基端为 3~4 个跨膜结构域组成的疏水区,其后为 GAF 结构域,羧基端为组氨酸激酶结构域.此外,ETR 类受体的羧基端多出一个信号接收结构域^[44].根据蛋白结构特点,乙烯受体可被进一步划分为两个亚家族.一类受体包括 ETR1 和 ERS1,它们具有保守的组氨酸激酶结构域;二类受体包括 ETR2, ERS2 和 EIN4,它们具有退化的组氨酸激酶结构域^[2].研究表明,拟南芥和番茄的所有乙烯受体都能够结合乙烯^[45,46].此外,其他一些植物的受体也被证明具有乙烯结合能力^[47].在激酶活性方面,ETR1 被证明确实具有组氨酸激酶活性^[48].然而,拟南芥的其他乙烯受体以及

烟草的二类受体 NTHK1 和 NTHK2 则具有丝/苏氨酸激酶活性^[49-51]。关于受体的亚细胞定位, 研究发现, 作为跨膜蛋白乙烯受体定位在多个内膜系统, 如内质网^[52-54]、质膜^[50]和高尔基体^[55]。在膜上, 受体蛋白可通过非共价结合形成多聚体复合体, 从而调控广泛的乙烯反应^[56]。

在水稻中, 已经分离鉴定了 5 个乙烯受体同源序列, 分别为两个一类受体 *OsERS1* 和 *OsERS2* 以及 3 个二类受体 *OsETR2*, *OsETR3* 和 *OsETR4*^[57-59]。值得一提的是, 水稻中没有发现 *ETR1* 类受体, 同样在小麦^[60]和玉米^[61]中也未发现, 其生物学意义尚不清楚。基因表达分析显示, 水稻的 5 个受体中只有 *OsETR2* 的表达明显受内源和外源乙烯诱导, 且被淹水、IAA 和 GA 处理上调, 暗示该受体可能参与了水稻适应缺氧胁迫的反应^[58,59]。为了更加深入了解 *OsETR2* 的生化功能, 最近笔者研究小组鉴定了该受体的激酶活性及其在水稻生长发育过程中的调控作用^[62]。基因过表达和基因敲除分析显示, *OsETR2* 通过调控 *OsGI*, *RCN1* 和 *RAmy3D* 等相应基因的表达介导水稻花芽分化和茎秆中淀粉积累等乙烯调控的生理过程。磷酸化分析发现, *OsETR2* 蛋白具有丝/苏氨酸激酶活性而非组氨酸激酶活性, 且 N-box 突变可使其激酶活性完全丧失, 表明 N-box 对其激酶活性的维持是必需的。在烟草受体 NTHK1 的激酶活性研究中也观察到了类似的生化特性, 即 N-box 突变使 NTHK1 的丝/苏氨酸激酶失活, 并同时失去了对盐胁迫反应的调控能力^[63]。与此相比, 拟南芥乙烯受体的 N-box 突变只部分抑制其激酶活性^[49]。此外, *OsETR2* 蛋白可磷酸化自己的信号接收结构域, 该特性在其他受体中均未发现^[62]。这些结果暗示水稻和拟南芥乙烯受体的作用方式可能存在差异, 不过 *OsETR2* 的激酶活性特性在介导受体信号输出方面的作用还有待于进一步阐明。除此之外, 水稻 *OsETR2*, *OsETR3* 或 *OsERS2* 的单个受体功能缺失突变体可导致乙烯过敏感和早开花表型, 而 *OsETR2* 过表达水稻呈现乙烯敏感性降低和晚花的表型, 这些研究表明水稻乙烯受体与乙烯反应之间也是负调控关系^[62]。拟南芥的大多数单个受体的功能缺失突变体表型与野生型类似, 只有 *etr1-7* 突变体表现轻微的乙烯过敏感反应^[64]。上述研究结果表明, 与拟南芥相比, 水稻乙烯受体各成员在功能上更具有特异性。进一步研究水稻乙烯受体与其他组分间的互作将有助于深入了解受体生化功能

及其信号传递机制。

3 水稻中与拟南芥乙烯信号转导组分同源的信号组分

3.1 水稻中 *CTR1* 同源基因

CTR1 位于乙烯受体下游负调控乙烯反应。拟南芥 *CTR1* 功能缺失突变体表现组成型乙烯反应^[65]。遗传和生化研究表明 *CTR1* 与受体结合形成受体-*CTR1* 复合体来调控乙烯信号转导^[66-68]。但 *CTR1* 与一类受体结合作用较强而与二类受体结合较弱。一般认为, 受体在未结合乙烯时处于活性状态并激活 *CTR1* 的激酶活性, 从而抑制乙烯反应发生。而乙烯结合于受体则导致其活性丧失, 致使 *CTR1* 构象发生改变并丧失活性, 因而诱发乙烯反应^[64,66,67,69]。*CTR1* 在拟南芥中是单拷贝基因, 但在其他植物如番茄、莴苣、大豆和苜蓿中则存在多拷贝^[70]。在水稻中发现了 3 个 *CTR1* 同源基因, 分别为 *OsCTR1* (*Os02g32610*), *OsCTR2* (*Os09g39320*) 和 *OsCTR3* (*Os04g52140*)^[17]。关于这些推定的 *OsCTR*s 是否参与水稻乙烯信号转导尚无任何报道, 它们的功能有待于通过基因突变分析或基因敲除手段等进一步解析。

3.2 *OsEIN2*

EIN2 是乙烯反应的第一个正调控因子, 是乙烯信号转导通路的关键组分^[71]。拟南芥 *EIN2* 的氨基端含有 12 个推测的跨膜结构域, 与哺乳动物 *Nramp* 金属离子转运蛋白家族有很高同源性, 不过目前尚未发现 *EIN2* 具有转运金属离子的功能^[72]。*EIN2* 的羧基端足以激活乙烯反应, 而且在目前发现的所有植物的同源序列中都保守性很高^[71,73,74]。在水稻中, 同源基因 *OsEIN2* 已被鉴定^[75]。*OsEIN2* 在所检测的组织器官中均组成型表达, 且其表达不受外源 ACC 或 Ag^+ 的影响。*OsEIN2* 反义基因株系表现为幼苗株高略矮, 与 Ag^+ 处理的野生型表型一致, 因此认为 *OsEIN2* 反义基因株系表现乙烯不敏感表型^[75]。此外, 作为乙烯敏感性降低的分子证据, 发现 *OsEIN2* 反义基因株系中乙烯反应下游基因 *SCI29* 和 *SC255* 的表达受到下调^[75]。基于上述研究结果, Jun 等 (2004) 认为 *OsEIN2* 是水稻乙烯反应的正调控因子^[75]。在拟南芥中, *EIN2* 功能缺失突变体表现很强的完全乙烯不敏感表型^[71,76]。与之相比, 水稻 *OsEIN2* 反义基因株系

的乙烯反应表型相当弱. 可见关于 *OsEIN2* 调控水稻乙烯反应的功能还需要更多的实验证据支持. 除上述已鉴定的 *OsEIN2* 外, 进一步分析发现水稻基因组中还存在另外 3 个 *EIN2* 同源序列, 它们基因座位分别为 *Os07g06190*, *Os07g06300* 和 *Os03g49400*. 上述 *OsEIN2* 反义基因株系较弱的乙烯反应表型或许是由于 *OsEIN2* 家族成员之间存在功能冗余所致, 但也不能排除不依赖于 *OsEIN2* 的乙烯信号转导通路存在的可能性.

3.3 OsEILs

拟南芥 *EIN3* 和 *EIL1* (*EIN3*-like protein1) 是位于 *EIN2* 下游调控乙烯反应的重要转录因子^[77,78]. *EIN3* 功能缺失突变体表现部分乙烯不敏感表型, 过表达 *EIN3* 或 *EIL1* 表现组成型乙烯反应, 表明 *EIN3/EIL1* 正调控拟南芥乙烯反应^[77]. 在水稻中已发现 6 个 *EIL* 同源基因, 即 *OsEIL1~OsEIL6*^[79]. 其中, *OsEIL1* 与拟南芥 *EIN3* 的同源性最高. 基因表达分析显示, *OsEIL1* 在水稻的所有组织中表达, 但在根和叶中转录产物的丰度较高^[79]. 在拟南芥 *ein3-1* 突变体中异源表达 *OsEIL1* 可部分恢复其乙烯不敏感表型, 在水稻中过表达 *OsEIL1* 导致弱的乙烯过敏感表型, 同时促进乙烯合成相关基因 *OsACO1* 及乙烯反应相关基因 *OsEBF-89* 的表达. 上述结果暗示 *OsEIL1* 可能参与水稻乙烯信号转导并正调控水稻乙烯反应^[79]. 水稻中其他 *OsEIL* 同源序列在乙烯信号转导中的作用还需要进一步鉴定.

3.4 OsERFs

ERFs 是位于 *EIN3/EIL1* 下游的转录因子. 研究表明拟南芥中 *ERF1* 是 *EIN3* 的直接靶标^[77]. *EIN3* 能够结合到 *ERF1* 启动子的顺势作用因子 PERE 位点上来诱导该基因表达, 而 *ERF1* 又可结合到许多次级乙烯反应基因启动子的 GCC-box 上诱导这些基因的表达, 从而引起乙烯反应^[78]. *OsEBP-89* 是水稻中鉴定的第一个 ERF 类转录因子^[80]. *OsEBP-89* 基因主要在发育中的胚乳里表达, 且受乙烯诱导. *OsEBP-89* 蛋白含有一个保守的 AP2/EREBP 结构域, 具有结合 GCC-box 的潜力. *OsEBP-89* 基因的启动子中含有一个 PERE 序列^[80]. 研究发现 *OsEBP-89* 的表达受 *OsEIL1* 诱导^[79]. 上述研究结果暗示 *OsEBP-89* 可能作为 *OsEIL1* 的直接靶标参与水稻乙烯信号转导. 不

过其 DNA 结合能力还有待验证. *OsERF1* 是水稻中鉴定的另一个 ERF 类蛋白^[81]. 该基因在水稻各器官中表达, 且被乙烯诱导. 在拟南芥中过表达 *OsERF1* 导致乙烯过敏感表型, 同时上调乙烯反应基因 *PDF1.2* 和 *b-chitinase* 的表达, 暗示 *OsERF1* 可能参与水稻乙烯信号转导^[81]. 最近, 水稻中鉴定了一些与淹水胁迫相关的 ERFs. 研究表明 ERF 类基因 *Snorkel1* 和 *Snorkel2* 介导淹水诱导的深水水稻节间迅速伸长反应^[82~84]. 另一个 ERF 类基因 *Sub1A* 调控低地水稻对淹水胁迫的耐受反应^[85,86]. 这些 ERF 类转录因子的表达是否通过 *EIN2* 和 *EIL* 介导的信号途径被激活还需要进一步研究.

3.5 其他调控因子

RTE1 编码一个进化上保守的膜蛋白, 通过正调控 *ETR1* 的受体功能来负调控拟南芥的乙烯反应^[4]. *RTE1* 是依赖于 *ETR1* 的乙烯反应调控因子^[4,5]. 进一步研究发现 *RTE1* 与 *ETR1* 蛋白共定位在高尔基体和内质网, 为两者之间的特异性互作提供了细胞学依据^[87]. F-box 蛋白 *ETP1* 和 *ETP2* 调控 *EIN2* 蛋白通过泛素/26S 蛋白酶体途径降解, 推测拟南芥可能通过乙烯、*ETP1/2* 和 *EIN2* 降解三者之间复杂的相互作用来引发乙烯反应^[6]. *EIN3* 蛋白稳定性也受两个 F-box 蛋白 *EBF1* 和 *EBF2* 的调控^[7~9], 而 *EBF1* 和 *EBF2* 的 mRNA 水平又受到 *EIN5* 编码的 5'→3'核酸外切酶 *XRN4* 的调节^[88,89]. 在水稻中已发现了上述调控因子的同源序列, 包括 *OsRTE1* (*Os01g51430*)、*OsRTE2* (*Os05g46240*)、*OsRTE3* (*Os03g58520*)、*OsEBF1* (*Os06g40360*)、*OsEBF2* (*Os02g10700*)、*OsETP1* (*Os05g08010*) 和 *OsETP2* (*Os12g06740*). 然而它们在水稻乙烯信号转导中的作用还有待于实验验证.

4 水稻乙烯信号转导通路中新的因子

水稻和拟南芥在以下方面存在明显不同: (i) 生长环境: 水稻生长在半水生环境, 而拟南芥是陆生植物; (ii) 实生苗结构: 水稻有短的中胚轴, 而拟南芥有长的下胚轴; (iii) 乙烯反应: 在黑暗条件下, 乙烯促进水稻胚芽鞘伸长并抑制根的伸长, 而拟南芥黄化苗则表现典型的三重反应, 即下胚轴变短变粗、根变短、顶端弯钩加剧; (iv) 通气组织: 水稻可形成通气组织而拟南芥则不能; (v) 乙烯受体功能: 与拟

南芥相比,水稻乙烯受体各成员在功能上更具特异性;(vi)水稻和拟南芥基因组间的共线性关系有限^[90].鉴于上述水稻和拟南芥间存在的广泛差异,加之下面将描述的水稻乙烯反应突变体的信息,我们推测水稻乙烯信号转导通路中可能存在新的信号组分或新机制.目前有关水稻乙烯信号转导的研究主要采用逆向遗传学手段,大大制约了该研究领域的进一步发展.只有利用乙烯反应突变体的研究才能更全面地揭示水稻乙烯信号转导的分子机制.

如前所述,乙烯明显促进水稻黄化幼苗胚芽鞘的伸长生长并抑制根的生长(图1).基于该乙烯反应,我们建立一个筛选水稻乙烯反应突变体的技术体系.利用该体系已分离得到了一系列水稻乙烯反应突变体,暂时命名为 *maohuzi* (*mhz*).运用 Tail-PCR 等手段获得了 *mhz1* 突变体的相关基因,它编码一个在已知乙烯信号通路中未发现的蛋白激酶,且具有乙烯反应特异性,暗示水稻中新的信号组分的存在.通过遗传和生化分析将可能明确该组分在水稻乙烯信号转导通路中的位置.进一步鉴定这些乙烯反应突变体相关基因无疑有助于阐明水稻乙烯信号转导的分子机制.

5 水稻乙烯信号转导的可能机制

根据水稻乙烯信号转导研究中已有的发现,我们提出一个水稻乙烯信号转导的可能机制.乙烯信号被受体家族感知,并可能与拟南芥中一样乙烯与其受体之间呈现负调控关系^[2,3,62].信号从受体输出后,可能进入与拟南芥类似的 CTR1-EIN2-EIN3 途径,也可能进入由突变体分析鉴定的 MHZ 途径,或者同时进入这两个途径,从而调控下游反应.目前,还不清楚 MHZ 和 CTR1 之间在生化水平或遗传水平上是否存在互作.CTR1-EIN2-EIN3 途径和 MHZ 途径可能并不互相排斥,两个途径可能通过某个交叉整合到一起,从而调控一系列下游基因的表达.这些下游基因包括与淹水胁迫反应相关的 *Sub1A* 和 *Snorkel1/2*,

与开花有关的 *OsGI* 和 *RCN1* 以及与淀粉代谢有关的 *Ramy3D* 等乙烯反应相关基因.进一步鉴定 *MHZ* 基因功能将有助于深入了解水稻中乙烯作用机制.

6 展望

目前,有关水稻乙烯信号转导的研究主要采用逆向遗传学手段,已鉴定了一些信号转导组分,但对乙烯信号转导机制的了解还十分有限.乙烯受体 OsETR2 可能参与调控水稻生长发育和应对环境胁迫等过程.进一步研究该受体蛋白的丝/苏氨酸激酶活性及其信号接受域磷酸化在受体信号输出中的作用将有助于揭示其生化功能和作用方式.对于水稻其他乙烯受体和 CTR1 类似物也应进行研究以阐明其在乙烯信号转导中的作用.由于 *OsEIN2* 反义基因株系和 *OsEIL1* 过表达株系的乙烯反应表型微弱,需要通过多重突变体分析或 RNA 干扰等手段进一步鉴定这两个组分在乙烯信号转导中的调控作用.*MHZ1* 编码一个蛋白激酶,进一步研究它与乙烯受体以及其他已知组分在生化水平或遗传水平上的互作将揭示该组分在乙烯信号通路中的位置.*Sub1A* 和 *Snorkel1/2* 等与淹水胁迫反应相关的 ERF 类蛋白的鉴定使人们更深入地认识了水稻适应缺氧环境的分子机制.进一步研究这些 EFR 类蛋白是受 EIN2-EIL 途径激活还是受 MHZs 途径调控将是令人感兴趣的课题.通气组织形成和不定根发生都是与细胞程序化死亡有关的生理过程,鉴定调控这些过程的 ERF 类蛋白将使人们更全面认识水稻适应缺氧环境的分子机制.一些新鉴定的乙烯反应调控因子如 RTE1 和 EBF1/2 等在水稻中存在同源序列,它们在水稻乙烯信号转导中的调控功能还有待于进一步确定.与拟南芥相比,水稻对乙烯的反应存在明显不同,水稻中或许存在水稻甚至单子叶植物特有的新的信号传递组分或新机制.鉴定一系列水稻乙烯反应突变体 *mhz* 的相应基因是阐明水稻乙烯信号转导分子机制的必要手段.

致谢 感谢本研究室雷刚在本文准备过程中给予的帮助.

参考文献

- 1 Abeles F B, Morgan P W, Saltveit M E. Ethylene in Plant Biology. San Diego: Academic Press, 1992
- 2 Guo H W, Ecker J R. The ethylene signaling pathway: new insights. Curr Opin Plant Biol, 2004, 7: 40—49

- 3 Kendrick M D, Chang C. Ethylene signaling: new levels of complexity and regulation. *Curr Opin Plant Biol*, 2008, 11: 479—485
- 4 Resnick J S, Wen Q K, Shockey J A, et al. REVERSION-TO-ETHYLENE SENSITIVITY1, a conserved gene that regulates ethylene receptor function in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 7917—7922
- 5 Zhou X, Liu Q, Xie F, et al. RTE1 is a Golgi-associated and ETR1-dependent negative regulator of ethylene responses. *Plant Physiol*, 2007, 145: 75—86
- 6 Qiao H, Chang K N, Yazaki J, et al. Interplay between ethylene, ETP1/ETP2 F-box proteins, and 6 degradation of EIN2 triggers ethylene responses in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 2009, 23: 512—521
- 7 Guo H, Ecker J. Plant responses to ethylene gas are mediated by SCFEBF1/EBF2-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. *Cell*, 2003, 115: 667—677
- 8 Potuschak T, Lechner E, Parmentier Y, et al. EIN3-dependent regulation of plant ethylene hormone signaling by two *Arabidopsis* F Box proteins: EBF1 and EBF2. *Cell*, 2003, 115: 679—689
- 9 Gagne J M, Smalle J, Gingerich D J, et al. *Arabidopsis* EIN3-binding F-box1 and 2 from ubiquitin-protein ligases that repress ethylene action and promote growth by directing EIN3 degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 6803—6808
- 10 Yoo S, Cho Y, Tena G, et al. Dual control of nuclear EIN3 by bifurcate MAPK cascades in C₂H₄ signaling. *Nature*, 2008, 451: 789—795
- 11 Hahn A, Harter K. Mitogen-activated protein kinase cascades and ethylene: signaling, biosynthesis, or both? *Plant Physiol*, 2009, 149: 1207—1210
- 12 Itoh J, Nonomura K, Ikeda K. Rice plant development: from zygote to spikelet. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46: 23—47
- 13 Fukao T, Bailey-Serres J. Ethylene-A key regulator of submergence responses in rice. *Plant Sci*, 2008, 175: 43—51
- 14 Jackson M B. Ethylene-promoted elongation: An adaptation to submergence stress. *Ann Bot*, 2008, 101: 229—248
- 15 Shiono K, Takahashi H, Colmer T D, et al. Role of ethylene in acclimations to promote oxygen transport in roots of plant in waterlogged soils. *Plant Sci*, 2008, 175: 52—58
- 16 Magneschi L, Perata P. Rice germination and seedling growth in the absence of oxygen. *Ann Bot*, 2009, 103: 181—196
- 17 Rzewuski G, Sauter M. Ethylene biosynthesis and signaling in rice. *Plant Sci*, 2008, 175: 32—42
- 18 Jackson M B. Ethylene and responses of plants to soil waterlogging and submergence. *Annu Rev Plant Physiol*, 1985, 36: 145—174
- 19 Kende H, Van der Knaap E, Cho H T. Deepwater rice: A model plant to study stem elongation. *Plant Physiol*, 1998, 118: 1105—11104
- 20 Ku H S, Suge H, Rappaport L, et al. Stimulation of rice coleoptile growth by ethylene. *Planta*, 1970, 90: 333—339
- 21 Satler S O, Kende H. Ethylene and the growth of rice seedling. *Plant Physiol*, 1985, 79: 194—198
- 22 Raskin I, Kende H. Regulation of growth in rice seedling. *J plant Growth Regul*, 1983, 2: 193—203
- 23 Ishizawa K, Esashi Y. Action mechanism of ethylene in the control of sugar translocation in relation to rice coleoptile growth. I. Sucrose metabolism. *Plant, Cell & Environment*, 1988, 29: 131—141
- 24 Lee T M, Lin Y H. Peroxidase activity in relation to ethylene-induced rice (*Oryza sativa* L.) coleoptile elongation. *Bot Bull Acad Sin*, 1996, 37: 239—245
- 25 Ismail A M, Ella E S, Vergara G V, et al. Mechanisms associated with tolerance to flooding during germination and early seedling growth in rice (*Oryza sativa*). *Ann Bot*, 2009, 103: 197—209
- 26 Mettraux J P, Kende H. The role of ethylene in the growth response of submerged deep water rice. *Plant Physiol*, 1983, 72: 441—446
- 27 Raskin I, Kende H. Regulation of growth in stem sections of deep-water rice. *Planta*, 1984, 160: 66—72
- 28 van der Straeten, Zhou Z, Prinsen E, et al. A comparative molecular-physiological study of submergence response in lowland and deep-water rice. *Plant Physiol*, 2001, 125: 955—968
- 29 Yang S H, Choi D. Characterization of genes encoding ABA 8'-hydroxylase in ethylene-induced stem growth of deepwater rice (*Oryza sativa* L.). *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 350: 685—690
- 30 Lorbiecke R, Sauter M. Adventitious root growth and cell-cycle induction in deepwater rice. *Plant Physiol*, 1999, 119: 21—29
- 31 Steffens B, Sauter M. Epidermal cell death in rice (*Oryza sativa* L.) is regulated by ethylene, gibberellin and abscisic acid. *Plant Physiol*, 2005, 139: 713—721
- 32 Mergemann H, Sauter M. Ethylene induces epidermal cell death at the site of adventitious root emergence in rice. *Plant Physiol*, 2000, 124: 609—614
- 33 Steffens B, Sauter M. Epidermal cell death in rice is confined to cells with a distinct molecular identity and is mediated by ethylene and H₂O₂ through an autoamplified signal pathway. *Plant Cell*, 2009, 21: 184—196
- 34 Evans D E. Aerenchyma formation. *New Phytol*, 2003, 161: 35—49
- 35 Justin S H F W, Armstrong W. Evidence for the involvement of ethene in aerenchyma formation in adventitious roots of rice (*Oryza sativa* L.) *New Phytol*, 1991, 118: 49—62
- 36 Colmer T D, Cox M C H, Voisenek L A C J B. Root aeration in rice (*Oryza sativa*): Evaluation of oxygen, carbon dioxide, and ethylene as

- possible regulators of root acclimatizations. *New Phytol*, 2006, 170: 767—778
- 37 Kong Y, Wang Z, Gu Y J, et al. Induction of ethephon on aerenchyma formation in rice roots. *Rice Sci*, 2009, 23: 65—70
- 38 Kawai M, Samarajeewa P K, Barrero R A, et al. Cellular dissection of the degradation pattern of cortical cell death during aerenchyma formation of rice roots. *Planta*, 1998, 204: 277—287
- 39 Drew M C, He C J, Morgan P W. Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. *Trends Plant Sci*, 2000, 5: 123—127
- 40 Gianinetti A, Laarhoven L J J, Persijn S T, et al. Ethylene production is associated with germination but not seed dormancy in red rice. *Ann Bot*, 2007, 99: 735—745
- 41 Yang J C, Zhang J H, Wang Z Q, et al. Post-anthesis development of inferior and superior spikelets in rice in relation to abscisic acid and ethylene. *J Exp Bot*, 2006, 57: 149—160
- 42 Kao C H, Yang S F. Role of ethylene in the senescence of detached rice leaves. *Plant Physiol*, 1983, 73: 881—885
- 43 Klassen S P, Bugbee B. Sensitivity of wheat and rice to low levels of atmospheric ethylene. *Crop Sci*, 2000, 42: 746—753
- 44 Bleecker A B, Esch J J, Hall A E, et al. The ethylene-receptor family from *Arabidopsis*: Structure and function. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1998, 353: 1405—1412
- 45 Schaller G E, Bleecker A B. Ethylene-binding sites generated in yeast expressing the *Arabidopsis ETR1* Gene. *Science*, 1995, 270: 1809—1811
- 46 O'Malley R C, Rodriguez F I, Esch J J, et al. Ethylene-binding activity, gene expression levels, and receptor system output for ethylene receptor family members from *Arabidopsis* and tomato. *Plant J*, 2005, 41: 651—665
- 47 Wang W Y, Esch J J, Shiu, S H, et al. Identification of important regions for ethylene binding and signaling in the transmembrane domain of the ETR1 ethylene receptor of *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18: 3429—3442
- 48 Gamble R L, Coonfield M L, Schaller G E. Histidine kinase activity of the ETR1 ethylene receptor from *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 7825—7829
- 49 Moussatche P, Klee H J. Autophosphorylation activity of the *Arabidopsis* ethylene receptor multigene family. *J Biol Chem*, 2004, 279: 48734—48741
- 50 Xie C, Zhang J S, Zhou H L, et al. Serine/threonine kinase activity in the putative histidine kinase-like ethylene receptor NTHK1 from tobacco. *Plant J*, 2003, 33: 385—393
- 51 Zhang Z G, Zhou H L, Chen T, et al. Evidence for serine/threonine and histidine kinase activity in the tobacco ethylene receptor protein NTHK2. *Plant Physiol*, 2004, 136: 2971—2981
- 52 Chen Y F, Randlett M D, Findell J L, et al. Localization of the ethylene receptor ETR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 2002, 277: 19861—19866
- 53 Ma B, Cui M L, Sun H j, et al. Subcellular localization and membrane topology of the melon ethylene receptor CmERS1. *Plant Physiol*, 2006, 141: 587—597
- 54 Grefen C, Städele K, Ruzicka K, et al. Subcellular localization and *in vivo* interactions of the *Arabidopsis thaliana* ethylene receptor family members. *Mol Plant*, 2007, 1: 308—320
- 55 Dong C H, Rivarola M, Resnick J S, et al. Subcellular co-localization of *Arabidopsis* RTE1 and ETR1 supports a regulatory role for RTE1 in ETR1 ethylene signaling. *Plant J*, 2008, 53: 275—286
- 56 Gao Z Y, We C Q, Binder B M, et al. Heteromeric interactions among ethylene receptors mediate signaling in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 2008, 283: 23801—23810
- 57 曹宛虹, 董亿, 张劲松, 等. 水稻乙烯受体类似物基因的克隆及其表达特性. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2003, 33: 125—132
- 58 Watanabe H, Saigusa M, Hase S, et al. Cloning of a cDNA encoding an ETR2-like protein (Os-ERL1) from deep water rice (*Oryza sativa* L.) and increase in its mRNA level by submergence, ethylene, and gibberellin treatments. *J Exp Bot*, 2004, 55: 1145—1148
- 59 Yau C P, Wang L, Yu M, et al. Differential expression of three genes encoding an ethylene receptor in rice during development, and in response to indole-3-acetic acid and silver ions. *J Exp Bot*, 2004, 55: 547—556
- 60 Ma Q H, Wang X M. Characterization of an ethylene receptor homologue from wheat and its expression during leaf senescence. *J Exp Bot*, 2003, 54: 1489—1490
- 61 Gallie D R, Young T E. The ethylene biosynthetic and perception machinery is differentially expressed during endosperm and embryo development in maize. *Mol Genet Genomics*, 2004, 271: 267—281
- 62 Wuriyangan H, Zhang B, Cao W H, et al. The Ethylene receptor ETR2 delays floral transition and affects starch accumulation in rice. *Plant Cell*, 2009, 21: 1473—1494
- 63 Chen T, Liu J, Lei G et al. Effects of tobacco ethylene receptor mutations on receptor kinase activity, plant growth and stress responses. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50: 1636—1650
- 64 Cancel J D, Larsen P B. Loss-of-function mutations in the ethylene receptor *ETR1* cause enhanced sensitivity and exaggerated response to

- ethylene in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 129: 1557—1567
- 65 Kieber J J, Rothenberg M, Roman G, et al. *CTR1*, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the Raf family of protein kinases. *Cell*, 1993, 72: 427—441
 - 66 Clark K L, Larsen P B, Wang X, et al. Association of the *Arabidopsis* CTR1 Raf-like kinase with the ETR1 and ERS1 ethylene receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 5401—5406
 - 67 Gao Z Y, Chen Y F, Randlett M D, et al. Localization of the Raf-like kinase CTR1 to the endoplasmic reticulum of *Arabidopsis* through participation in ethylene receptor signaling complex. *J Biol Chem*, 2003, 278: 34725—34732
 - 68 Zhong S L, Lin Z F, Grierson D. Tomato ethylene receptor-CTR interactions: visualization of NEVER-RIPE interactions with multiple CTRs at the endoplasmic reticulum. *J Exp Bot*, 2008, 59: 965—972
 - 69 Huang Y F, Li H, Hutchison C E, et al. Biochemical and functional analysis of CTR1, a protein kinase that negatively regulates ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Plant J*, 2003, 33: 221—233
 - 70 Adams-Phillips L, Barry C, Kannan P, et al. Evidence that CTR1-mediated ethylene signal transduction in tomato is encoded by a multi-gene family whose members display distinct regulatory features. *Plant Mol Biol*, 2004, 54: 387—404
 - 71 Alonso J M, Hirayama T, Roman G, et al. EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in *Arabidopsis*. *Science*, 1999, 284: 2148—2152
 - 72 Thomine S, Wang R, Ward J M, et al. Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in *Arabidopsis* with homology to Nramp genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 4991—4996
 - 73 Shibuya K, Barry K G, Ciardi J A, et al. The central role of PhEIN2 in ethylene responses throughout plant development in petunia1. *Plant Physiol*, 2004, 136: 2900—2912
 - 74 Varma Penmetsa R, Uribe P, Anderson J, et al. The *Medicago truncatula* ortholog of *Arabidopsis* EIN2, sickle, is a negative regulator of symbiotic and pathogenic microbial associations. *Plant J*, 2008, 55: 580—595
 - 75 Jun S H, Han M J, Lee S, et al. OsEIN2 is a positive component in ethylene signaling in rice. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45: 281—285
 - 76 Guzman P, Ecker J R. Exploiting the triple response of *Arabidopsis* to identify ethylene-related mutants. *Plant Cell*, 1990, 2: 513—523
 - 77 Chao Q, Rothenberg M, Solano R, et al. Activation of the ethylene gas response pathway in *Arabidopsis* by the nuclear protein ETHYLENE-INSENSITIVE3 and related proteins. *Cell*, 1997, 89: 1133—1144
 - 78 Solano R, Stepanova A, Chao Q, et al. Nuclear events in ethylene signaling: A transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENERESPONSE-FACTOR1. *Genes Dev*, 1998, 12: 3703—3714
 - 79 Mao C, Wang S, Jia Q, et al. OsEIL1, a rice homolog of the *Arabidopsis* EIN3 regulates the ethylene response as a positive component. *Plant Mol Biol*, 2006, 61: 141—152
 - 80 Yang H J, Shen H, Chen L, et al. The *OsEBP-89* gene of rice encodes a putative EREBP transcription factor and is temporally expressed in developing endosperm and intercalary meristem. *Plant Mol Biol*, 2002, 50: 379—391
 - 81 Hu Y B, Zhao L F, Chong K, et al. Overexpression of *OsERF1*, a novel rice ERF gene, up-regulates ethylene-responsive genes expression besides affects growth and development in *Arabidopsis*. *J Plant Physiol*, 2008, 165: 1717—1725
 - 82 Hattori Y, Miura K, Asano K, et al. A major QTL confers rapid internode elongation in response to water rise in deepwater rice. *Breeding Sci*, 2007, 57: 305—314
 - 83 Hattori Y, Nagai K, Mori H, et al. Mapping of three QTLs that regulate internode elongation in deepwater rice. *Breeding Sci*, 2008, 58: 38—44
 - 84 Hattori1 Y, Nagai K, Furukawa S, et al. The ethylene response factors *Snorkel1* and *Snorkel2* allow rice to adapt to deep water. *Nature*, 2009, 460: 1026—1030
 - 85 Xu K, Xu X, Fukao T, et al. Sub1A is an ethylene-response-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice. *Nature*, 2006, 442: 705—708
 - 86 Fukao T, Xu K, Ronald P C, et al. A variable cluster of ethylene response factor-like genes regulates metabolic and developmental acclimation responses to submergence in rice. *Plant Cell*, 2006, 18: 2021—2034
 - 87 Dong H, Rivarola M, Resnick J S, et al. Subcellular co-localization of *Arabidopsis* RTE1 and ETR1 supports a 5'→3' regulatory role of RTE1 in ETR1 ethylene signaling. *Plant J*, 2008, 53: 275—286
 - 88 Olmedo G, Guo H, Gregory B, et al. ETHYLENE-INSENSITIVE5 encodes a exoribonuclease required for regulation of the EIN3-targeting F-box proteins EBF1/2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 13286—13293
 - 89 Potuschak T, Vansiri A, Binder B, et al. The exoribonuclease XRN4 is a component of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2006, 18: 3047—3057
 - 90 Schoof H, Karlowski W M. Comparison of rice and *Arabidopsis* annotation. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 3: 106—112