

# 乙烯对豆科植物生长发育和根瘤形成的影响

沈 鸣, 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, 北京 100101)

**摘要:** 乙烯是一种重要的植物激素, 在植物生长和发育以及对外界环境信号的响应中发挥重要作用。乙烯调控了豆科植物的黄化苗的三重反应和光下幼苗的生长, 能够促进叶片和花的衰老和脱落。豆科植物能与根瘤菌形成互利共生关系, 在根部形成一种特异的固氮器官——根瘤。在结瘤过程中, 由于豆科植物结瘤习性或遗传背景的不同, 乙烯能够抑制或者促进根瘤的形成。乙烯与其它植物激素的互作也调控了豆科植物根瘤的形成。文章对乙烯信号途径调控豆科植物的生长发育和根瘤形成的相关研究做了综述和分析, 并就未来关于豆科植物乙烯信号转导的研究进行了探讨和展望。

**关键词:** 乙烯; 豆科植物; 生长发育; 结瘤

**中图分类号:** S565.1

**文献标识码:** A

**DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.02.0330

## Regulation of Ethylene on Plant Growth, Development and Nodulation in Legumes

SHEN Ming, CHEN Shou-yi, ZHANG Jin-song

(State Key Laboratory of Plant Genomics/Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** As an important gaseous phytohormone, ethylene plays important roles in plant growth, development and responses to external environmental cues. Ethylene regulates not only the triple response of etiolated seedlings, but also the growth and development of seedlings under light, which includes the senescence and abscission of leaf and flower in legumes. Legumes can establish a symbiotic relationship with rhizobia, resulting in the formation of root nodules that can fix nitrogen. Ethylene can inhibit or stimulate the nodulation depending on the differences of nodule development or genotypes of legumes. The crosstalk between ethylene and other phytohormones also plays a regulatory role in nodulation. This article reviewed the current advances in the ethylene regulation of growth, development and nodulation in legumes. The research prospect of ethylene signaling in legumes were also discussed.

**Keywords:** Ethylene; Legumes; Growth and development; Nodulation

### 1 植物激素乙烯的研究进展

乙烯( $C_2H_4$ )是一种独特的植物激素, 虽然结构简单, 只是含两个碳原子的烯烃气体, 但在植物生长、发育和对环境胁迫的适应方面发挥着重要作用<sup>[1-2]</sup>。当存在乙烯时, 黑暗中生长的双子叶植物的幼苗会产生一系列形态上的变化, 称为“三重反应”, 包括: 下胚轴径向变粗、顶端弯钩加剧以及下胚轴和根伸长的抑制<sup>[3-4]</sup>。在过去几十年, 基于三重反应, 人们在拟南芥中筛选到了大量的乙烯反应突变体。通过对乙烯反应突变体的遗传学和分子生物学研究, 人们已建立了近似线性的乙烯信号传导模型。拟南芥乙烯信号传导起始于乙烯与 ETR1、ETR2、ERS1、ERS2 和 EIN4 5 个成员构成的乙烯受体家族结合<sup>[5]</sup>。在没有乙烯时, 活化的受体招募 CTR1, 使得 EIN2 的 C 末端被磷酸化, 进而抑制下游的乙烯反应。当存在乙烯时, 乙烯与受体结

合, 能使受体和负调控因子 CTR1 都失活, 进而导致 EIN2 的去磷酸化和被剪切, 切下的 EIN2 C 末端含有核定位信号 (nuclear localization signal, NLS), 推测通过干扰了细胞核内 EBF1/2 蛋白与转录因子 EIN3/EIL1 的互作, 由此抑制 EIN3/EIL1 通过 26S 蛋白酶体的降解, 稳定的 EIN3/EIL1 得以激活下游基因的表达<sup>[6-10]</sup>。最近的研究结果发现 EIN2 蛋白在细胞质中的新功能, 揭示 EIN2 通过翻译抑制调控乙烯信号传导的另一种机制: EBF1/2 mRNA 的 3' UTR 存在响应乙烯信号的 PolyU 序列, 细胞质中的 EIN2 能识别并结合 EBF1/2 mRNA 的 3' UTR, 并通过招募 EIN5、PABs (poly (A)-binding protein) 和 UPFs (up-frameshift proteins) 等相关调节因子将 EBF1/2 mRNA 定位到细胞质中的点状结构 P-body (processing-body) 内, 进而抑制 EBF1/2 mRNA 的翻译, 导致 EBF1/2 蛋白含量急剧减少, 使得 EIN3/EIL1 在细胞核内大量积累, 从而激活下游乙烯

收稿日期: 2015-11-11

基金项目: 国家重点基础研究发展计划“973 计划”(2015CB755702, 2013CB835205); 国家自然科学基金(91317306, 31530004)。

第一作者简介: 沈鸣(1986-), 男, 博士, 主要从事大豆乙烯信号途径基因的克隆和功能解析研究。E-mail: mshen@genetics.ac.cn。

通讯作者: 张劲松(1965-), 男, 研究员, 博导, 主要从事植物乙烯信号转导及大豆功能基因组研究。E-mail: jszhang@genetics.ac.cn。

反应<sup>[11-12]</sup>。

## 2 乙烯在豆科植物生长发育中的调控作用

研究表明,乙烯能够减少豌豆(*Pisum sativum*)、草木犀(*Melilotus alba*)和大豆(*Glycine max*)的根和茎的干重,使主根长度减小<sup>[13]</sup>。施加乙烯感知的抑制剂 Ag<sup>+</sup>能够恢复乙烯对豌豆主根长度和根干重的抑制效应。前人的研究发现,在豆科植物中存在与拟南芥类似的三重反应<sup>[14-16, 20, 22-23]</sup>。豌豆的 *PsEIN2* 基因发生突变后, *ein2* 突变体在黑暗中生长的黄化苗对乙烯不敏感,在红光、远红光和蓝光下,叶片明显变大,并且以一种依赖 *LONG1* 基因的方式增强光敏色素和隐花色素所介导的反应,这表明乙烯信号途径抑制豌豆幼苗去黄化过程中叶片的伸展。而 *ein2* 在黑暗、高光强白光和自然光下的表型与野生型差别很小,说明在这些条件下,乙烯信号途径可能不是调控幼苗生长发育的限制因素。在豌豆的光敏色素和隐花色素调控的光形态建成的发育过程中,乙烯生成和乙烯信号的参与可能是一种重要的机制<sup>[14]</sup>。

在蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)的 *sickle* 突变体中, *MtEIN2* 基因发生了突变。突变体黄化苗下胚轴和根的伸长对乙烯不敏感,根的伸长对细胞分裂素的敏感性减弱,子叶变大,根的直径也比野生型大。植株叶和花的衰老延迟,叶片和果荚的脱落减少<sup>[15-16]</sup>。

在百脉根(*Lotus japonicus*)中,过量表达拟南芥的突变受体基因 *AtETR1-1* 的转基因植株,其黄化苗下胚轴的伸长对乙烯不敏感,但根的生长没有显示出对乙烯的不敏感;幼苗的侧根数减少,但主根伸长与野生型一样,对 1-氨基环丙烷 1-羧酸(1-aminocyclopropane 1-carboxylic acid, ACC)的抑制作用仍然敏感;开花和果荚成熟时间推迟,花的衰老和脱落得到延迟,在果荚成熟时,花依然保留在果荚上<sup>[17-18]</sup>。同样,在对转突变的甜瓜乙烯受体基因 *Cm-ERS1/H70A* 的百脉根的研究中发现,转基因植株对乙烯的敏感性降低,花的衰老和脱落也发生了延迟<sup>[19]</sup>。

在百脉根突变体 *enigma* 中,与蒺藜苜蓿的 *sickle* 类似, *LjEIN2a* 基因发生了突变,与野生型 MG-20 相比, *enigma* 植株生长变慢,幼苗的侧根数微弱增加,根的干重增加,茎根比率(shoot-to-root ratio)降低,并且开花延迟,果荚和种子的长度减小<sup>[20]</sup>。这种生长发育受到的抑制,与蒺藜苜蓿的 *sickle* 突变体和转 *Cm-ERS1* 或 *AtETR1-1* 乙烯受体基因的百脉根的表型类似。

大豆的研究中发现,在大豆幼苗期成花前用乙烯合成抑制剂-氨基乙氧基乙烯甘氨酸(aminooxyvinylglycine, AVG)和乙烯合成前体 ACC 喷施叶片,与喷施清水的对照相比,AVG 处理后大豆的成花量、花粉量、秸秆生物量、单株荚数、单株产量等指标增加,但花荚脱落率没有明显变化。ACC 处理的效果与 AVG 相反,其成花总量、花粉量、秸秆生物量、单株荚数、单株产量等指标显著降低,而花荚脱落率高于对照<sup>[21]</sup>。

在对大豆突变体 *etr1-1* 的研究中发现,ACC 能够抑制野生型大豆 *Hobbit 87* 的主根的伸长,并且乙烯能够促进野生型大豆根毛的发育,而 *etr1-1* 由于对乙烯敏感性降低,使得主根的生长对 ACC 的抑制作用不敏感,根毛的发育也不受乙烯的影响<sup>[22-23]</sup>。在大田中,突变体叶片的长和宽及叶形没有变化,但叶柄的长度显著变短。在受外源乙烯诱导后离体叶片的衰老变黄和叶柄脱落延迟,但大田中植株在生育后期的正常叶片衰老与野生型类似。这说明乙烯能够促进大豆叶片的衰老,但不是生育后期叶片衰老的主要驱动因素。开花时间没有显著差别,但成熟期比野生型提前 5~8 d<sup>[24]</sup>。

最近关于大豆乙烯反应突变体的研究取得了一定进展,沈鸣等<sup>[25]</sup>在大豆中鉴定到了乙烯信号核心组分 *EIN2* 的突变体 *Gmein2-1*。对 *Gmein2-1* 形态、植物生理和产量性状等表型进行研究发现, *GmEIN2* 的突变导致了大豆以下表型的变化:(1)黄化苗下胚轴和根的伸长对乙烯的敏感性降低;(2)大豆乙烯相应基因 *EIN2*、*EIN3/EIL1* 和下游转录因子等基因的表达模式发生了改变;(3)幼苗的株高降低,地上部和根的生物量减少,叶片的叶绿素含量增加,侧根的数目和长度减少,但主根的长度没有显著差别;(4)乙烯诱导的离体叶片的衰老得到延迟;(5)在田间试验中,株高降低,主茎节数减少,单株荚数、单株粒数减少,单株粒重和百粒重等降低。这表明乙烯信号能促进大豆幼苗的生长发育,增加幼苗侧根的数目和长度,促进大豆的开花、成熟和衰老,调控了对大豆的产量相关形状。

## 3 乙烯在豆科植物根瘤形成中的调控作用

豆科植物的根系能与土壤中的根瘤菌形成互利共生关系,称之为共生固氮。宿主植物通过光合作用为根瘤菌提供固氮所需的良好的生存环境、碳源和能源,以及其他必需营养;作为交换,根瘤菌则为宿主植物生长提供氮素营养。这种相互作用在宿主植物根部形成了新器官——根瘤,能够将大气中的氮气转化为植物可利用的氮。

根瘤的形成和维持对宿主植物来说是一个非常耗能的过程,因此长期的进化过程中,宿主植物已经能严格控制形成适宜的根瘤数目。已有研究表明豆科植物有两种机制调控根瘤的数目:一是长距离信号交流的自主调控途径 (autoregulation of nodulation, AON)<sup>[26-28]</sup>;另外一种是乙烯参与的局部调控方式。乙烯调节结瘤过程的很多方面。在白三叶草 (*Trifolium repens*) 和豌豆中施加外源乙烯会减少根瘤数目<sup>[29-30]</sup>,用乙烯或者乙烯前体 ACC 处理豆科植物的根部,包括大豆<sup>[31]</sup>、百脉根<sup>[17]</sup>、菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)<sup>[30]</sup>、豌豆<sup>[13]</sup> 和蒺藜苜蓿<sup>[15]</sup>,结瘤过程均受到抑制。乙烯合成抑制剂 AVG 和感知抑制剂 Ag<sup>+</sup> 的使用能够增加紫花苜蓿 (*Medicago sativa*)<sup>[32]</sup>、豌豆<sup>[33]</sup> 和百脉根<sup>[34]</sup> 的根瘤数目。乙烯对结瘤选择性抑制的机制还不是很清楚,可能参与了根瘤发育的各个过程。在豌豆中,施加外源乙烯不会增加根瘤数目,但是阻碍了侵染线进入内皮层<sup>[13]</sup>。蒺藜苜蓿乙烯不敏感突变体 *sickle* 的侵染线数目与野生型比大量增加,进一步证明了乙烯在侵染线发育中的作用<sup>[15]</sup>。随后 Oldroyd 等<sup>[35]</sup> 在 2001 年发现乙烯能够通过调控钙尖峰信号进而抑制了早期结瘤反应,包括根毛卷曲、侵染线起始、早期基因表达和根瘤形成等。以上的研究结果显示乙烯信号途径可能负调控了根瘤发育的早期阶段,包括侵染线的形成和根瘤原基的发生。

相反地,一些研究显示外源乙烯或乙烯抑制剂并不影响根瘤数目<sup>[23, 36-37]</sup>。这些发现可能与不同实验条件(例如培养体系、处理强度)或者植物的遗传背景有关。例如, Xie 等<sup>[38]</sup> 1996 年证实不同的大豆栽培品种对乙烯的敏感性不同。Lee 等<sup>[13]</sup> 1992 年的研究也显示大豆的结瘤与其他豆科植物相比对外源乙烯更不敏感。乙烯能够调控长喙田菁 (*Sesbania rostrata*) 在干旱和淹水条件下的结瘤。干旱条件下,与百脉根和蒺藜苜蓿等豆科植物情况相同,根瘤菌通过根毛卷曲形成的侵染线进入根皮层,结瘤反应受乙烯的负调控。然而在淹水条件下,根瘤菌通过侧根伸出表皮产生的细胞间裂缝直接进入皮层细胞,这种裂缝侵染方式涉及到细胞程序性死亡,导致侵染穴 (infection pocket) 的形成,侵染穴缩小变细成为侵染线 (infection threads) 进入根瘤原基。与通过根毛的侵入方式相反,此过程需要乙烯的参与,乙烯能促进根瘤菌对淹水条件下长喙田菁 (*Sesbania rostrata*) 的侵染<sup>[39]</sup>。

蒺藜苜蓿接种苜蓿中华根瘤菌 (*Sinorhizobium medicae*) 后,对接种 3 d 之内的多个时间点的转录组测序和 ACS promoter: *GUS* 的研究结果表明:在接种

最初的几个小时, Nod 结瘤因子的感知促进了乙烯在根毛和表皮细胞等根瘤菌响应区域的合成,来减弱本身的信号转导,随后乙烯合成主要分布在成熟根瘤的分生组织中,这说明乙烯合成的时空分布的调控,是共生关系建立和根瘤发育调控的重要组成部分<sup>[40]</sup>。

根瘤菌采用两种策略降低宿主共生体的乙烯含量,从而调控根瘤的发育<sup>[41]</sup>。埃氏慢生根瘤菌 (*Bradyrhizobium elkanii*) 能够产生一种根瘤菌毒素 (rhizobitoxine), 通过抑制宿主大翼豆 (*Macroptilium atropurpureum*) 乙烯的产生,从而增强结瘤<sup>[42]</sup>。而豌豆根瘤菌 (*Rhizobium leguminosarum*) 中存在 ACC 脱氨酶,能够将乙烯前体 ACC 降解为  $\alpha$ -丁酮酸和氨,减少了根瘤发育早期阶段乙烯的产生,从而促进了结瘤<sup>[43]</sup>。不论是根瘤菌毒素的合成,还是 ACC 脱氨酶的存在都是根瘤菌通过减少共生体乙烯的合成,进而降低乙烯对结瘤的抑制效应,促进根瘤的发育,这进一步说明了乙烯在宿主和根瘤菌共生关系建立过程中的重要性。

近些年来,对豆科模式植物功能丧失型和功能获得型突变体的筛选,尤其对蒺藜苜蓿和百脉根各类突变体的研究,已经鉴定了结瘤信号途径中的多个组分。对蒺藜苜蓿的 *sickle* 突变体的研究是一项开创性的工作。*sickle* 最初被鉴定为一个过量结瘤的突变体<sup>[15]</sup>,在接种苜蓿根瘤菌 (*Rhizobium meliloti*) 后表现为侵染线持续形成并增加 10 倍以上,而且导致最终的结瘤数目增加。后来证明 *sickle* (*skl*) 的乙烯不敏感表型由 *EIN2* 发生突变导致, *MtSKL1* 编码了拟南芥乙烯信号关键组分 *EIN2* 的同源基因,过表达野生型 *EIN2* C 末端的植株的根瘤数目比未转化植株减少 18 倍,说明激活 *EIN2* 下游的乙烯信号转导途径能够充分抑制结瘤过程<sup>[16]</sup>。

在百脉根中,高浓度的 ACC 能完全抑制野生型百脉根根瘤的产生,但在同样条件下转拟南芥突变受体基因 *AtETR1-1* 的株系依然能够保持结瘤能力。不同转基因株系的根瘤数目与乙烯不敏感度的高低(以黄化苗在 ACC 处理时下胚轴长度表示)成正相关,并且对乙烯高度不敏感的株系,其根瘤数目均显著多于野生型,而且根尖附近结瘤区的根瘤数目增加。与野生型相比,在转 *AtETR1-1* 株系中,起始位置分布在原生木质部之间的根瘤数占总根瘤数的比例增加了 7~8 倍。这种根瘤起始位置的变化和根瘤菌侵染的增加共同导致了转 *AtETR1-1* 百脉根的结瘤数目的增多。除此之外,转 *AtETR1-1* 百脉根的单个共生体中类菌体的数目也比野生型增加 2~3 倍<sup>[17-18]</sup>。在对转 *Cm-ERS1/H70A* 的百脉根

的研究中发现,接种中慢生型根瘤菌(*Mesorhizobium loti*)后,转基因植株的侵染线和根瘤原基的数目显著增加,与用乙烯抑制剂 AVG 和 STS 的处理野生型的结果类似,根瘤原基形成增加可能是由于控制侵染线形成的 *NIN* 基因的上调表达所引起,这些结果暗示了内源乙烯通过下调 *NIN* 基因的表达抑制了根瘤菌的侵染,从而实现根瘤早期发育的调控<sup>[19]</sup>。

在百脉根中也筛选到了 3 个等位的乙烯不敏感突变体 *enigma*, 均是 *LjEIN2a* 基因发生了突变,在结瘤表型上,突变体在根瘤发生位置发生了改变,更多的分布于原生木质部极的径向部分之间,而不是正对原生木质部的方向。在根瘤数目上,*enigma* 侵染线的形成受到抑制,根瘤数目减少,而没有检测到由乙烯不敏感突变导致的结瘤数目的增多,这与乙烯抑制根瘤的形成的预期不符。*enigma* 在根瘤数目上的减少可能是因为基因组中存在有 *LjEIN2a* 同源的 *LjEIN2b*, *LjEIN2b* 补偿突变的 *LjEIN2a* 的功能,也可能由于 *enigma* 中突变的 *LiEIN2a* 依然能够调控部分乙烯反应或者通过某种未知途径来抑制根瘤的形成,使得在结瘤过程仍然受到乙烯的负调控<sup>[20]</sup>。在另外的研究中,*LjEIN2b* 的 RNAi 转基因株系的根瘤数目微弱地增加,而同时抑制 *LjEIN2b* 和 *LjEIN2a* 表达的 RNAi 株系的根瘤数目则明显增加,这表明这两个 *LjEIN2* 基因可能协同调控乙烯信号途径,从而抑制根瘤的形成<sup>[44]</sup>。

除 *sickle* 和 *enigma* 之外,对超结瘤突变体的筛选鉴定了一系列自主调控途径的组分,包括百脉根中的 *har1* (*hypernodulation aberrant root formation 1*)<sup>[45]</sup>、大豆中的 *nark* (*nodule autoregulation receptor kinase*)<sup>[46]</sup> 和蒺藜苜蓿中的 *sun* (*supernumerary nodules*)<sup>[47]</sup>,以上突变体均被认为在自主调控途径中有缺陷,表现为超结瘤(*hypernodulation or supernodulation*)和根部变短,并且都对乙烯敏感。*HAR1/NARK/SUNN* 是拟南芥中茎分生组织决定基因 *CLV1* (*CLAVATA1*) 的直系同源基因<sup>[48]</sup>。与 *sickle* 不同,*har1/nark/sun* 突变并不影响根瘤在正对木质部的位置发生,并且 *har1* 和 *sun* 不影响 Nod 因子对钙尖峰信号的激活。

Schmidt 等<sup>[23]</sup> 在 1999 年对乙烯敏感性降低的突变体 *etr1-1* 的研究中发现,与野生型相比,*etr1-1* 根瘤数目没有明显差异。用乙烯信号抑制剂  $Ag^+$  处理时,野生型和 *etr1-1* 之间和各自在不同的  $Ag^+$  浓度下的根瘤数目,在统计学上都没有显著差异。用乙烯合成前体 ACC 处理时,野生型大豆根瘤数目减少了 2 倍以上,而 *etr1-1* 由于对乙烯不敏感,根瘤数目上只有不显著的微弱的减少,ACC 处理前后在统

计学上没有显著性差异。研究发现,野生型大豆的根瘤着生位置比 *etr1-1* 更靠近侧根的顶端,由此推测野生型根瘤数目的减少可能归因于 ACC 对根伸长的抑制作用,由根系总长度显著降低引起,而乙烯信号在调控大豆根瘤数目上所起的作用有限。

为了进一步解析乙烯信号途径在大豆结瘤中的作用,沈鸣等<sup>[24]</sup> 用筛选到的大豆乙烯不敏感突变体来接种不同的大豆慢生型根瘤菌(*Bradyrhizobium japonicum*)菌株,包括 USDA6 和 USDA110,并在不同的环境体系下培养。发现在各种培养条件下,*Gmein2-1* 的结瘤数目比野生型均有所减少,与百脉根 *EIN2* 突变体 *enigma* 的结瘤数目减少的情况类似,但与蒺藜苜蓿中 *EIN2* 突变体 *sickle* 的结瘤数目显著增多的情况不同。

这种现象可能与豆科植物的有限结瘤(*determinate nodulation*)和无限结瘤(*indeterminate nodulation*)习性相关<sup>[49]</sup>,大豆和百脉根属于有限结瘤,根瘤发育起始于外皮层的细胞分裂,并且成熟的根瘤没有顶端分生组织,根瘤形状一般为圆球形;而蒺藜苜蓿、豌豆和三叶草等属于无限结瘤,根瘤发生起始于内皮层,并且根瘤中一直保留分生组织,根瘤形状一般为圆柱形或分支状<sup>[18, 50]</sup>。

推测不同豆科植物中 *EIN2* 突变对结瘤数目影响的差异,可能与 *EIN2* 在不同豆科植物中功能的特异性有关,或者与 *EIN2* 在结瘤信号途径发挥功能的节点有关。不同的培养体系和生长条件,不同处理(如  $Ag^+$ 、AVG 和 ACC)对植物的毒害性,施用方法的差异以及大豆品种的遗传背景也有可能導致在结瘤上的差异性<sup>[32]</sup>。

#### 4 乙烯和其他激素的互作对结瘤的影响

植物激素间以相互协调或者相互拮抗的方式共同调控了植物的生长发育进程,这种激素间的相互作用是以调控激素的浓度或者信号转导途径实现的。在豆科植物中,各种激素相互作用,共同调控了根瘤的发育。

在豌豆中,赤霉素合成缺陷突变体 *na-1* 与野生型相比根瘤的数目大大减少,根瘤体积变小,颜色发白,可能没有功能。*na-1* 释放的乙烯量比野生型多 2 倍,这可能是通过促进茎部乙烯合成相关基因 *PsACS1* 和 *PsACO1* 的表达实现的。乙烯合成的抑制剂 AVG 能够部分恢复 *na-1* 的根瘤数目减少的表型,但不能恢复突变体根瘤的畸形。这说明 *na-1* 根瘤数目的减少可能部分是由于过量的乙烯导致的,而乙烯不是突变体根瘤结构异常的原因<sup>[51]</sup>。

茉莉酸如乙烯一样,调节 Nod 因子诱导的钙尖

峰的保持,钙尖峰对结瘤因子浓度的发应性,以及钙尖峰的周期,并能够影响早期结瘤相关基因的表达,进而抑制蒺藜苜蓿的结瘤。在乙烯信号突变体 *skl* 中,茉莉酸对钙尖峰周期的延长效应更敏感,而用 AVG 处理增强了茉莉酸处理下根毛细胞对 Nod 因子的敏感性,这说明在正常条件下乙烯抑制茉莉酸在钙尖峰信号的调节作用,茉莉酸降低钙尖峰的频率,延长了钙尖峰的周期,与茉莉酸的作用相反,乙烯缩短了钙尖峰的周期。在乙烯信号突变体 *skl* 和用乙烯合成抑制剂 AVG 处理的野生型中,茉莉酸对结瘤的抑制效应减小,但没有完全消除。以上数据说明茉莉酸和乙烯对结瘤的抑制具有协同效应,而在 Nod 因子诱导的钙尖峰信号的调节和对 Nod 因子的反应性方面,乙烯和茉莉酸具有拮抗作用<sup>[52]</sup>。另外的研究表明,AP2/EREBP 类转录因子基因 *LjERF1* 在百脉根中以根部特异的方式受乙烯和茉莉酸的协同诱导表达,也在根瘤菌 (*Mesorhizobium loti*) 侵染后 3~24 h 的结瘤早期上调表达。过量表达 *LjERF1* 能够增加转基因毛状根根瘤数,而 *LjERF1* RNAi 转基因则抑制了根瘤的形成,这表明 *LjERF1* 是百脉根结瘤的正调控因子<sup>[53]</sup>。这与乙烯和茉莉酸结瘤的负调控作用相矛盾,暗示乙烯和茉莉酸的对 *LjERF1* 协同诱导可能对结瘤不是必须的,*LjERF1* 的本底表达就能够促进根瘤的形成。此外,*LjERF1* 的 RNAi 转基因植株的生长受到阻滞,植株矮小,这种表型能够被外源施加的氮源所恢复,说明由于结瘤的减少能引起氮素的缺乏,进而导致百脉根幼苗发育的迟缓<sup>[53]</sup>。对乙烯和茉莉酸的结瘤调控机制的进一步解析,将提升对两种激素相互作用的理解和认识。

细胞分裂素在结瘤的调控中处于中心位置,细胞分裂素能够激活皮层细胞的分裂,最终导致根瘤的器官发生。蒺藜苜蓿细胞分裂素受体 MtCRE1 发生突变后,根瘤数目大大减少,并且根瘤的结构上发生变异。在 AVG 处理时,*cre1* 根瘤数目增加,但明显少于野生型,这说明在根瘤形成方面,*cre1* 依然对乙烯的抑制效应是敏感的。*skl/cre1* 双突变体植株与野生型相比,根瘤数目明显减少,但多于单突变体 *cre1*。以上的结果说明,在根瘤数目的调控上,依赖于 EIN2 的抑制途径和依赖细胞分裂素的途径是相互独立的。*skl/cre1* 的成熟根瘤的结构更像 *skl*,而 *cre1* 的分化区域受到干扰而不明显,这有可能暗示了乙烯对调根瘤起始的空间位置的调控,从而限制了细胞分裂素激活细胞分裂的区域<sup>[54]</sup>。

对其它大豆突变体,尤其是其它激素信号突变体的结瘤表型的研究将有助于探索激素之间的互

作对根瘤形成和发育的影响。

## 5 展望

在结瘤方面,沈鸣等<sup>[24]</sup>通过对 *Gmein2-1* 的研究发现,在大豆中 *EIN2* 以一种复杂的方式来调控根瘤的发育,与野生型相比,突变体的根瘤数目减少,但单个根瘤的体积增大。*GmEIN2* 可能通过调控早期结瘤基因来促进根瘤产生但抑制根瘤的大小。对 *Gmein2* 突变体接种根瘤菌后不同时间点的根和根瘤的转录组进行分析,将有助于阐明乙烯信号在大豆根瘤形成过程中的调控机制,为促进大豆根瘤的高效固氮提供理论指导。

尽管用乙烯及乙烯合成和信号的抑制剂处理大田中生长的作物,但具有稳定表型的乙烯反应突变体几乎没有得到多少研究。乙烯信号对大豆生长和发育的作用在实验室和田间研究较少。因此通过构建大豆的突变体库,筛选各类大豆的乙烯反应突变体,用来研究乙烯反应的降低或增强对一系列生长发育表型的影响,将增进乙烯信号对大豆生长发育的调控作用的认识,对大豆农艺性状的改良提供一定的基因资源和理论基础。

未来对具有乙烯不敏感表型的突变体和转基因豆科作物,进行遗传学、基因组学、植物生理和生化的分析,将有助于更深入的理解乙烯信号转导、植物生长发育和根瘤形成的之间的相互作用。这将对提高豆科作物的固氮效率,缓解由于氮肥过度使用造成的环境污染,对提高豆科作物的产量有着十分重要的意义。

## 参考文献

- [1] Bleecker A B, Patterson S E. Last exit: Senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 1997, 9(7): 1169-1179.
- [2] Dugardeyn J, van der Straeten D. Ethylene: Fine-tuning plant growth and development by stimulation and inhibition of elongation [J]. *Plant Science*, 2008, 175(1-2): 59-70.
- [3] Bleecker A B, Estelle M A, Somerville C, et al. Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Science*, 1988, 241(4869): 1086-1089.
- [4] Ecker J R. The ethylene signal transduction pathway in plants [J]. *Science*, 1995, 268(5211): 667-675.
- [5] Chang C, Stadler R. Ethylene hormone receptor action in *Arabidopsis*[J]. *Bioessays*, 2001, 23(7): 619-627.
- [6] Ju C L, Yoon G M, Shemansky J M, et al. CTR1 phosphorylates the central regulator EIN2 to control ethylene hormone signaling from the ER membrane to the nucleus in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(47): 19486-19491.

- [7] Qiao H, Shen Z X, Huang S C, et al. Processing and subcellular trafficking of ER-tethered EIN2 control response to ethylene gas [J]. *Science*, 2012, 338(6105): 390-393.
- [8] Wen X, Zhang C L, Ji Y S, et al. Activation of ethylene signaling is mediated by nuclear translocation of the cleaved EIN2 carboxyl terminus[J]. *Cell Research*, 2012, 22(11): 1613-1616.
- [9] Ji Y S, Guo H W. From endoplasmic reticulum (ER) to nucleus; EIN2 bridges the gap in ethylene signaling[J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(1): 11-14.
- [10] Ju C, Chang C. Mechanistic insights in ethylene perception and signal transduction[J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(1): 85-95.
- [11] Li W, Ma M, Feng Y, et al. EIN2-directed translational regulation of ethylene signaling in *Arabidopsis* [J]. *Cell*, 2015, 163(3): 670-683.
- [12] Merchante C, Brumos J, Yun J, et al. Gene-specific translation regulation mediated by the hormone-signaling molecule EIN2[J]. *Cell*, 2015, 163(3): 684-697.
- [13] Lee K H, Larue T A. Exogenous ethylene inhibits nodulation of *Pisum Sativum* L. Cv Sparkle[J]. *Plant Physiology*, 1992b, 100(4): 1759-1763.
- [14] Weller J L, Foo E M, Hecht V, et al. Ethylene signaling influences light-regulated development in pea[J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(1): 115-124.
- [15] Penmetsa R V, Cook D R. A legume ethylene-insensitive mutant hyperinfected by its rhizobial symbiont [J]. *Science*, 1997, 275(5299): 527-530.
- [16] Penmetsa R V, Uribe P, Anderson J, et al. The *Medicago truncatula* ortholog of *Arabidopsis* EIN2, sickle, is a negative regulator of symbiotic and pathogenic microbial associations [J]. *Plant Journal*, 2008, 55(4): 580-595.
- [17] Lohar D, Stiller J, Kam J, et al. Ethylene insensitivity conferred by a mutated *Arabidopsis* ethylene receptor gene alters nodulation in transgenic *Lotus japonicus* [J]. *Annals of Botany*, 2009, 104(2): 277-285.
- [18] Gresshoff P M, Lohar D, Chan P K, et al. Genetic analysis of ethylene regulation of legume nodulation [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, 4(9): 818-823.
- [19] Nukui N, Ezura H, Minamisawa K. Transgenic *Lotus japonicus* with an ethylene receptor gene *Cm-ERS1/H70A* enhances formation of infection threads and nodule primordia [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2004, 45(4): 427-435.
- [20] Chan P K, Biswas B, Gresshoff P M. Classical ethylene insensitive mutants of the *Arabidopsis* EIN2 orthologue lack the expected 'hypermodulation' response in *Lotus japonicus* [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2013, 55(4): 395-408.
- [21] 程云清. 乙烯调控对大豆营养生长与生殖生长影响研究[D]. 大连:大连理工大学, 2009. (Cheng Y Q. Effects of ethylene regulation on the vegetative and reproductive growth of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2009.)
- [22] Hoffman T, Schmidt J S, Zheng X Y, et al. Isolation of ethylene-insensitive soybean mutants that are altered in pathogen susceptibility and gene-for-gene disease resistance [J]. *Plant Physiology*, 1999, 119(3): 935-949.
- [23] Schmidt J S, Harper J E, Hoffman T K, et al. Regulation of soybean nodulation independent of ethylene signaling [J]. *Plant Physiology*, 1999, 119(3): 951-959.
- [24] Bent A F, Hoffman T K, Schmidt J S, et al. Disease- and performance-related traits of ethylene-insensitive soybean [J]. *Crop Science*, 2006, 46(2): 893-901.
- [25] 沈鸣. 大豆乙烯反应突变体基因的鉴定和功能解析[D]. 北京:中国科学院, 2015. (Shen M. Identification and functional analysis of the gene from soybean ethylene-response mutant [D]. Beijing: Chinese Academy of Sciences, 2015.)
- [26] Delves A C, Mathews A, Day D A, et al. Regulation of the soybean-*Rhizobium* nodule symbiosis by shoot and root factors [J]. *Plant Physiology*, 1986, 82(2): 588-590.
- [27] Reid D E, Ferguson B J, Hayashi S, et al. Molecular mechanisms controlling legume autoregulation of nodulation [J]. *Annals of Botany*, 2011, 108(5): 789-795.
- [28] van Brussel A A N, Tak T, Boot K J M, et al. Autoregulation of root nodule formation: Signals of both symbiotic partners studied in a split-root system of *Vicia sativa* subsp. *nigra* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, 15(4): 341-349.
- [29] Goodlass G, Smith K A. Effects of ethylene on root extension and nodulation of pea (*Pisum sativum* L.) and white clover (*Trifolium repens* L.) [J]. *Plant and Soil*, 1979, 51: 387-395.
- [30] Grobbelaar N, Clarke B, Hough M C. The nodulation and nitrogen fixation of isolated roots of *Phaseolus vulgaris* L. III. The effect of carbon dioxide and ethylene [J]. *Plant and Soil* (Special Volume), 1971: 215-223.
- [31] Caba J M, Poveda J L, Gresshoff P M, et al. Differential sensitivity of nodulation to ethylene in soybean cv. Bragg and a supernodulating mutant [J]. *New Phytologist*, 1999, 142(2): 233-242.
- [32] Caba J M, Recalde L, Ligerio F. Nitrate-induced ethylene biosynthesis and the control of nodulation in alfalfa [J]. *Plant Cell and Environment*, 1998, 21(1): 87-93.
- [33] Guinel F C, Larue T A. Ethylene inhibitors partly restore nodulation to pea mutant E107 (*brz*) [J]. *Plant Physiology*, 1992, 99(2): 515-518.
- [34] Nukui N, Ezura H, Yuhashi K I, et al. Effects of ethylene precursor and inhibitors for ethylene biosynthesis and perception on nodulation in *Lotus japonicus* and *Macropitium atropurpureum* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2000, 41(7): 893-897.
- [35] Oldroyd G E D, Engstrom E M, Long S R. Ethylene inhibits the nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula* [J]. *Plant Cell*, 2001, 13(8): 1835-1849.
- [36] Hunter W J. Ethylene production by root-nodules and effect of ethylene on nodulation in *Glycine max* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(6): 1947-1950.
- [37] Saganuma N, Yamauchi H, Yamamoto K. Enhanced production of ethylene by soybean roots after inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* [J]. *Plant Science*, 1995, 111(2): 163-168.
- [38] Xie Z P, Staehelin C, Wiemken A, et al. Ethylene responsiveness of soybean cultivars characterized by leaf senescence, chitinase induction and nodulation [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1996, 149(6): 690-694.
- [39] Goormachtig S, Capoen W, James E K, et al. Switch from intracellular to intercellular invasion during water stress-tolerant legume nodulation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*

- of the United States of America, 2004, 101(16): 6303-6308.
- [40] Larrainzar E, Riely B K, Kim S C, et al. Deep sequencing of the *Medicago truncatula* root transcriptome reveals a massive and early interaction between nodulation factor and ethylene signals[J]. *Plant Physiology*, 2015, 169(1): 233-265.
- [41] Ma W B, Penrose D M, Glick B R. Strategies used by rhizobia to lower plant ethylene levels and increase nodulation[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2002, 48(11): 947-954.
- [42] Yuhashi K I, Ichikawa N, Ezura H, et al. Rhizobitoxine production by *Bradyrhizobium elkanii* enhances nodulation and competitiveness on *Macroptilium atropurpureum*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(6): 2658-2663.
- [43] Ma W B, Guinel F C, Glick B R. *Rhizobium leguminosarum* biovar viciae 1-aminocyclo-propane-1-carboxylate deaminase promotes nodulation of pea plants[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(8): 4396-4402.
- [44] Miyata K, Kawaguchi M, Nakagawa T. Two distinct *EIN2* genes cooperatively regulate ethylene signaling in *Lotus japonicus* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2013, 54(9): 1469-1477.
- [45] Wopereis J, Pajuelo E, Dazzo F B, et al. Short root mutant of *Lotus japonicus* with a dramatically altered symbiotic phenotype[J]. *Plant Journal*, 2000, 23(1): 97-114.
- [46] Searle I R, Men A E, Laniya T S, et al. Long-distance signaling in nodulation directed by a CLAVATA1-like receptor kinase[J]. *Science*, 2003, 299(5603): 109-112.
- [47] Penmetsa R V, Frugoli J A, Smith L S, et al. Dual genetic pathways controlling nodule number in *Medicago truncatula*[J]. *Plant Physiology*, 2003, 131(3): 998-1008.
- [48] Clark S E, Williams R W, Meyerowitz E M. The *CLAVATA1* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*[J]. *Cell*, 1997, 89(4): 575-585.
- [49] Ferguson B J, Indrasumunar A, Hayashi S, et al. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2010, 52(1): 61-76.
- [50] Hirsch A M. Developmental biology of legume nodulation[J]. *New Phytologist*, 1992, 122(2): 211-237.
- [51] Ferguson B J, Foo E, Ross J J, et al. Relationship between gibberellin, ethylene and nodulation in *Pisum sativum*[J]. *New Phytologist*, 2011, 189(3): 829-842.
- [52] Sun J H, Cardoza V, Mitchell D M, et al. Crosstalk between jasmonic acid, ethylene and Nod factor signaling allows integration of diverse inputs for regulation of nodulation [J]. *Plant Journal*, 2006, 46(6): 961-970.
- [53] Asamizu E, Shimoda Y, Kouchi H, et al. A positive regulatory role for *LjERF1* in the nodulation process is revealed by systematic analysis of nodule-associated transcription factors of *Lotus japonicus* [J]. *Plant Physiology*, 2008, 147(4): 2030-2040.
- [54] Plet J, Wasson A, Ariel F, et al. MtCRE1-dependent cytokinin signaling integrates bacterial and plant cues to coordinate symbiotic nodule organogenesis in *Medicago truncatula*[J]. *Plant Journal*, 2011, 65(4): 622-633.

## 国际豆类年能否为大豆市场带来转机

据中国乡村之声《三农中国》报道,近日,记者在中国大豆主产区黑龙江省采访了解到,今年黑龙江大豆获丰收,但购销市场清淡,大豆价格下跌趋势十分明显。种植户就把大豆囤起来不愿意卖,市场观望情绪浓厚。哈尔滨的大豆收购点出现了无豆可收的局面,而在大豆的主产区,农民家里即使屯着几千斤大豆也不愿意出售。是什么原因导致国内大豆市场如此尴尬? 2016年是“国际豆类年”,这是否能带来转机呢? 记者从黑龙江省大豆协会获悉,目前黑龙江地区大豆主流装车价格为3 900~4 000元·t<sup>-1</sup>左右,同比去年下滑11%左右。资讯市场分析师卢宁认为:农户惜售,市场上货源不足,导致大豆市场出现了供销两弱的僵持局面。下游需求偏弱、进口大豆价低是导致2015年东北大豆市场运行低迷的主因。另外,因2015年湖北大豆种植面积大增,导致上市价格偏低,进而拖累安徽、河南等南方产区价格,对东北市场也形成一定压制。

2015年,为了提高公众对豆科作物营养价值的认识,联合国粮食与农业组织将2016年定为“国际豆类年”,即便如此,卢宁仍然认为,大豆后期价格走势难言乐观。预计第一、二季度东北大豆市场或稳中偏弱运行。目前南方大豆销区需求呈下滑趋势,因担忧后期价格回落及出货不快,贸易商囤货意向偏弱,但受农户惜售支撑,预计春节前东北大豆市场或延续僵持维稳态势。据消息称,中储粮3~4月有抛储意向,受此影响,节后大豆市场难言乐观。2015年12月底吉林大豆国储轮换拍卖的成交价格3 400元·t<sup>-1</sup>,预计抛储将利空后期大豆市场。既然如此,面对不容乐观的市场前景,种植大豆的农民该如何应对呢? 卢宁认为,农民们应该理智科学地面对降价。给各位农民朋友的建议,第一是科学种植。通过合理的种植技术提高蛋白含量、增加产量等。另外,也可以根据当地情况,轮换种植其他作物,据了解,今年青豆种植效益要好于黄豆。第二,要建立产销对接机制,据订单生产,促进合作社和销区市场的紧密合作。第三,还可以通过新型金融产品抵抗价格风险,目前部分区域已经开始试点保险加期货的模式,在一定程度上可以减少市场下滑带来的收益损失。

节选自《中国广播网》