

RUS 家族对植物生长发育的调控作用

胡垚¹, 李思蕊¹, 张欣欣¹, 汤青林¹, 魏大勇¹, 田时炳², 杨洋², 王志敏^{1*}

1 西南大学园艺园林学院 重庆市蔬菜学重点实验室, 重庆 400715

2 重庆市农业科学院蔬菜花卉研究所, 重庆 401329

胡垚, 李思蕊, 张欣欣, 汤青林, 魏大勇, 田时炳, 杨洋, 王志敏. RUS 家族对植物生长发育的调控作用[J]. 生物工程学报, 2024, 40(1): 81-93.

HU Yao, LI Sirui, ZHANG Xinxin, TANG Qinglin, WEI Dayong, TIAN Shibing, YANG Yang, WANG Zhimin. The regulatory role of the RUS family in plant growth and development[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(1): 81-93.

摘要: 叶绿体基因组编码许多参与光合作用和其他代谢过程的关键蛋白质, 在叶绿体中合成的代谢物对于植物正常的生长发育至关重要。根对紫外线-B 辐射敏感[Root-UVB (ultraviolet radiation B)-sensitive, RUS]蛋白属于叶绿体蛋白, 由高度保守的 DUF647 结构域组成, 在参与植物形态发生、物质运输和能量代谢等多种生命活动的调控中发挥作用。本文就近年来关于 RUS 家族在植物的胚胎发育、光形态建成、维生素 B6 稳态、生长素转运和花药发育等生长发育过程中的相关研究进行回顾和总结, 为深入研究其在植物生长发育中的分子调控机制提供了参考。

关键词: 根对紫外线-B 辐射敏感(RUS); 形态发生; 物质运输; 花药发育

The regulatory role of the RUS family in plant growth and development

HU Yao¹, LI Sirui¹, ZHANG Xinxin¹, TANG Qinglin¹, WEI Dayong¹, TIAN Shibing², YANG Yang², WANG Zhimin^{1*}

1 Chongqing Key Laboratory of Olericulture, College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 Institute of Vegetables and Flowers, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329, China

Abstract: The chloroplast genome encodes many key proteins involved in photosynthesis and other metabolic processes, and metabolites synthesized in chloroplasts are essential for normal plant growth and development. Root-UVB (ultraviolet radiation B)-sensitive (RUS) family

资助项目: 现代农业产业技术体系(CARS-23-A08)

This work was supported by the Earmarked Fond (CARS-23-A08).

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-23-68250731, E-mail: wzming08@swu.edu.cn

Received: 2023-02-20; Accepted: 2023-04-27; Published online: 2023-06-05

proteins composed of highly conserved DUF647 domain belong to chloroplast proteins. They play an important role in the regulation of various life activities such as plant morphogenesis, material transport and energy metabolism. This article summarizes the recent advances of the RUS family proteins in the growth and development of plants such as embryonic development, photomorphological construction, VB6 homeostasis, auxin transport and anther development, with the aim to facilitate further study of its molecular regulation mechanism in plant growth and development.

Keywords: root-UVB (ultraviolet radiation B)-sensitive (RUS); morphogenesis; transportation of substances; anther development

在漫长的进化过程中,植物为了维持自身正常的生长发育,在体内形成了一套既复杂又高效的调控网络,并通过细胞核与细胞质遗传系统,将性状传递给下一代。内共生起源假说认为:叶绿体源于原始真核细胞内共生的蓝细菌,当蓝细菌被原始真核细胞摄入胞内,蓝细菌原核基因组的绝大多数基因被转移到了原始真核细胞的细胞核中,被吞噬的蓝细菌形成了现在的叶绿体,所以目前的叶绿体(质体)基因组只保留了少数基因^[1-2],而这少数基因在整个基因组中却是不可或缺的。Yang 等^[3]研究发现叶绿体铁氧还蛋白 1 (ferredoxin 1, FD1)能够调节马铃薯细胞壁间脂质和蛋白质通道的胍糖沉积,调控植物激素水平的变化,以及抑制病毒的沉默抑制功能。庄焜扬等^[4]也发现叶绿体基因 *SIWHY1* 通过维持光系统 II (photosystem II complex, PSII)的功能和降解淀粉可以增强番茄对冷胁迫的抵抗力。根对紫外线-B 辐射敏感 [Root-UVB (ultraviolet radiation B)-sensitive, RUS]家族也属于叶绿体基因,一些研究表明其在参与植物胚胎发育、光形态建成、维生素 B6 稳态、生长素转运和花药发育等多种生命活动中发挥调控作用。本文就近年来关于 RUS 家族在植物生长发育过程中的相关研究进行回顾和总结,从而为深入研究其在植物生长发育中的分子调控机制提供参考。

1 RUS 家族的发 现

2008 年, Tong 等^[5]首次报道了 RUS 基因,他们通过 T-DNA 插入拟南芥野生型诱变的方式,筛选到了明显发育不良的突变体。因其突变体的根对低辐射通量率 UVB (280–320 nm)具有高度的敏感性,因而将它命名为 root-UVB-sensitive1 (*rus1*),这也是 RUS 基因命名的由来。RUS 蛋白主要由高度保守的未知功能域 647 (domain of unknown function 647, DUF647)结构域组成, RUS 蛋白的其他部分通常很小且不保守(图 1)。在 Pfam 数据库中注释的所有蛋白质中,约有 24%被归类为包含“未知功能域”(DUF)的蛋白质,其中 16 295 个蛋白质家族中,3 892 个是 DUF 蛋白,但这些 DUF 蛋白的功能和作用目前还不明确,尚待进一步研究探索^[6]。

2009 年, Leasure 等^[7]为了分析 RUS 蛋白之间的同源性,搜索了完整的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组,共发现了 6 个 DUF647 编码基因,并根据它们的基因组位置进行命名,分别是 *RUS1* (*WXR3*, *At3g45890*)、*RUS2* (*WXR1*,

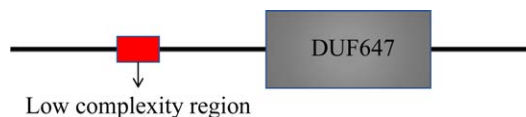


图 1 RUS 蛋白基本结构

Figure 1 Basic structure of the RUS protein.

At2g31190)、*RUS3* (*At1g13770*)、*RUS4* (*At2g23470*)、*RUS5* (*At5g01510*) 和 *RUS6* (*EMB1879*, *At5g49820*), 进一步分析发现这 6 个 RUS 蛋白的氨基酸序列相似度介于 31%–44%; 在水稻 (*Oryza sativa*)、苔藓 (*Physcomitrella patens*) 的基因组中也分别发现 6 个 *RUS* 基因, 它们与拟南芥的 *RUS* 基因具有明显的同源性^[8-10]。本文从 NCBI 数据库中获取了与 *AtRUS* 同源性较高的氨基酸序列, 并为此构建了系统进化树, 进化树显示其与亚麻荠、盐芥等处在同一分支, 亲缘关系最近 (图 2)。目前研究已证明 *AtRUS2*^[11]、*AtRUS4*^[12] 蛋白定位于叶绿体中, Yu 等^[8]通过 TargetP、Plant-mPloc 等软件预测 *OsRUS* 定位于叶绿体, 并使用原生质体瞬时表达方法检测 *OsRUS1* 的亚细胞定位, 结果表明 *OsRUS1* 定位于叶绿体膜, 支持了预测结果。

Leasure 等^[7]研究认为大多数动物基因组中都至少存在一个 *RUS* 基因, 且通过系统进化树分析发现, 植物 *RUS3* 蛋白是动物谱系中 *RUS* 蛋白的真正直系同源物。但在一些真菌生物如酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中没有发现 *RUS* 蛋白, 这种现象表明, 某些真核生物可以在没有 *RUS* 蛋白的情况下生存。由此可以看出, *RUS* 蛋白虽然存在于大多数植物、动物以及一些真菌中, 但不同生物体中的 *RUS* 蛋白结构是否相同、功能是否一样, 还有待进一步验证。

2 RUS 家族参与植物体生长发育

植物个体的生长发育, 从受精卵的最初分裂开始, 经历了种子萌发、营养体形成、生殖体形成、开花、传粉、受精和结实等阶段, 直至衰老和死亡。*RUS* 家族在植物体不同组织以

及发育过程的不同阶段均发挥着重要的调控作用 (表 1)。

2.1 参与植物形态发生

植物形态发生是植物的外部形状和内部结构的起源、发育和建成的过程。影响植物形态发生的因素大致分为 3 类: 物理因素 (光、温度、水、机械力)、化学因素 (碳氮比、激素) 和遗传因子^[18]。研究发现 *RUS* 家族在植物形态发生的过程中有着重要的调控作用。

2.1.1 参与早期胚胎发育

多种因素对植物体生长发育的不同阶段起调控作用^[19]。植物每个特定的发育阶段都需要一些关键基因发挥特定功能。植物的胚胎发育从双受精形成合子开始, 到胚胎发育成熟成为种子, 先后经历了合子激活、细胞的分裂与分化、极性的建立及器官的形成等, 特别是胚胎发育受到精确的遗传调控^[20]。截至 2020 年, 已在拟南芥中鉴定出了胚胎发育所必需的 510 个胚胎缺陷 (*embryo-defective, emb*) 基因^[21], 这些基因中有一个或多个成员的缺失都会导致胚胎发育在某个阶段停滞。

Nathaniel 等^[17]研究表明 *RUS6* 是拟南芥胚胎发育中必不可少的基因, 在整个植物生命周期中发挥作用。*rus6* 敲除突变体表现出强烈的胚胎致死表型, 且突变只能通过杂合子维持, 而 *rus6* 纯合突变体则无法存活。野生型拟南芥中正常发育的种子是绿色的, 而 *rus6* 突变体拟南芥中发育异常和败育的种子则呈现出白色或棕色^[17,22]。对败育种子进行微分干涉差显微镜 (*differential interference contrast microscopy, DIC*) 检查, 发现胚胎发育似乎在过渡阶段之前的球状期就已停止, 表明 *AtRUS6* 很可能是在拟南芥胚胎发育的早期发挥作用。

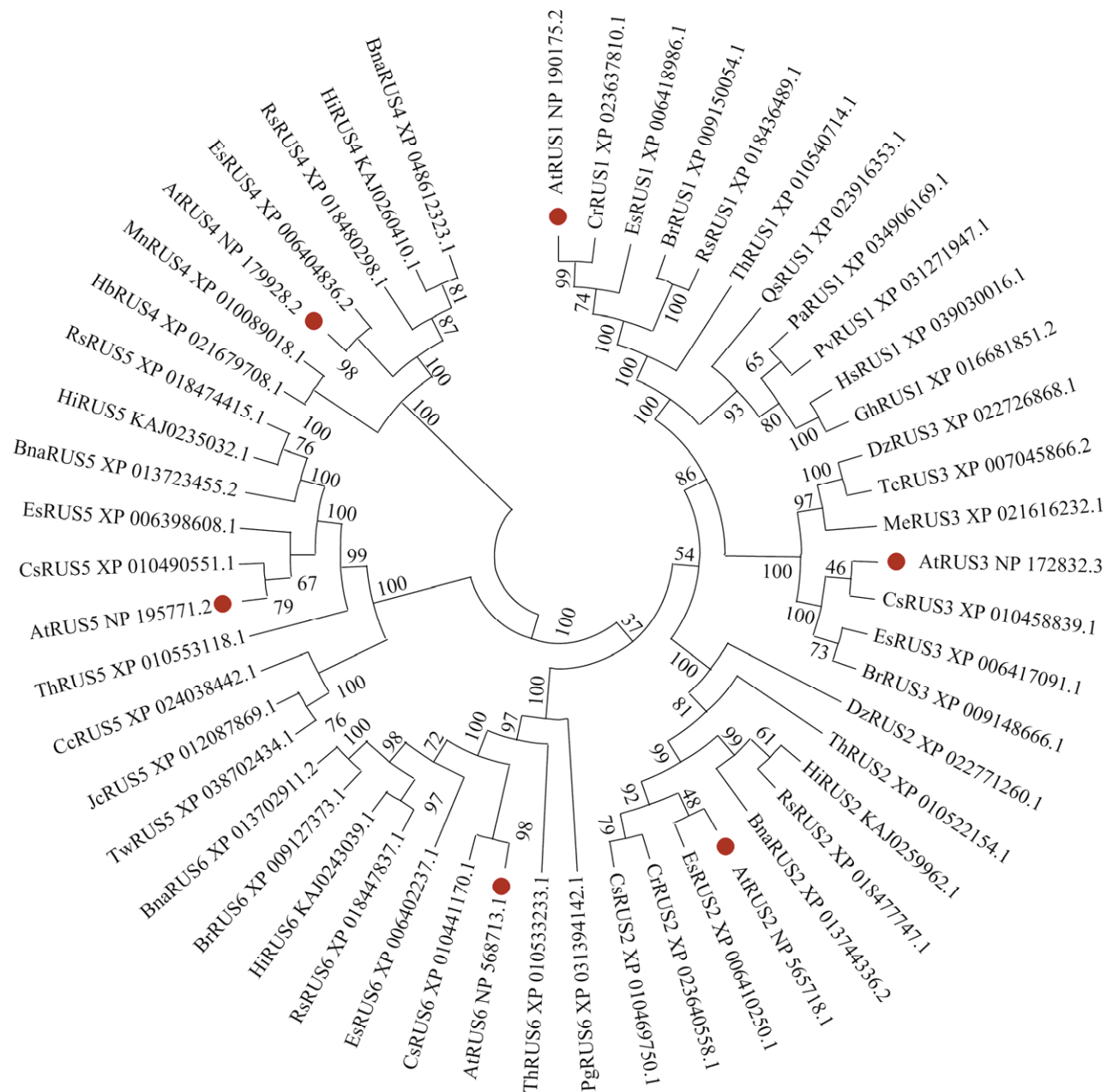


图 2 植物 RUS 的系统进化树

Figure 2 Phylogenetic tree of RUS from plants. Protein sequences of RUS were used for alignment by ClustalW, and the phylogenetic tree was developed by the method of neighbor-joining tested with bootstrap 1 000 using MEGA 11. The scientific names of species are abbreviated as: At: *Arabidopsis thaliana*; Bna: *Brassica napus*; Br: *Brassica rapa*; Cc: *Citrus clementina*; Cr: *Capsella rubella*; Cs: *Camelina sativa*; Dz: *Durio zibethinus*; Es: *Eutrema salsugineum*; Gh: *Gossypium hirsutum*; Hb: *Hevea brasiliensis*; Hi: *Hirschfeldia incana*; Hs: *Hibiscus syriacus*; Jc: *Jatropha curcas*; Me: *Manihot esculenta*; Mn: *Morus notabilis*; Pa: *Populus alba*; Pg: *Punica granatum*; Pv: *Pistacia vera*; Qs: *Quercus suber*; Rs: *Raphanus sativus*; Tc: *Theobroma cacao*; Th: *Tarenaya hassleriana*; Tw: *Tripterygium wilfordii*.

表 1 RUS 家族基因对植物生长发育的调控作用

Table 1 Regulatory role of the RUS family genes in plant growth and development

Species	Gene	Accession	CDS (bp)	Protein (aa)	Function reported	References
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtRUS1</i>	At3g45890	1 827	608	Root development	[5]
					Vitamin B6 photo-protection	[13]
					Polar auxin transport	[14]
					Starch metabolism	[15]
	<i>AtRUS2</i>	At2g31190	1 302	433	Root development	[7]
					Vitamin B6 photo-protection	[13]
					Polar auxin transport	[11]
					Starch metabolism	[15]
	<i>AtRUS4</i>	At2g23470	1 563	520	Anthry development	[12,16]
	<i>AtRUS6</i>	At5g49820	1 494	497	Embryonic development	[17]

已有的研究报道已确定了生长素的生物合成在胚胎发育中发挥作用,包括胚胎形态发生以及胚胎早期大多数模式建成,并且也明确了生长素的特定时空分布^[23-26]。Figueiredo 等^[27]研究认为这些分布模式是通过色氨酸氨基转移酶(tryptophan aminotransferase, TAA)和黄素单氧化酶(flavin monooxygenase enzyme, YUC)家族成员的局部生长素生物合成或生长素转运蛋白来实现的。目前的研究表明 *AtRUS6* 对于拟南芥胚胎发育是必不可少的,而 *RUS6* 是否也是通过生长素途径调控胚胎的发育还未可知。在今后的研究工作中,可将 *RUS6* 与 TAA/YUC 家族蛋白以及生长素转运蛋白的关系作为研究重点,明确 *RUS6* 是否在生长素合成与转运中发挥作用,从而调控胚胎的发育。

2.1.2 参与幼苗形态建成

在动态的光环境下,植物通过感知光的方向、强度、质量以及持续时间,调节自身的形态发生与新陈代谢^[28-30]。UV-B [(UVB) 280–320 nm] 虽然仅占太阳能总量的 1.5%,但对生物体来说却有着严重的危害。UVB 可以与包括氨基酸、核酸、蛋白质和脂质在内的许多生物分子发生不利反应,并在分子、细胞和整个生物体水平上引发应激反应^[31-33]。研究发现,低通量 UVB 可调节拟南芥幼苗发育过程,包括抑制下胚轴和根伸长、促进子叶开放,以及诱导 UVB 耐受所需的

特定基因组^[34-36]。

Tong 等和 Leasure 等^[5,7]研究发现拟南芥 *rus1-1* 突变体对低辐射通量率 UVB [$<0.1 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 高度敏感,且辐射强度与 *rus1* 根长之间具有强相关性,进一步研究发现拟南芥 *rus2* 突变体幼苗与 *rus1* 幼苗表型几乎一致, *rus1-2*、*rus2-1* 双突变体的表型缺陷与单突变体相比差异不明显。这些研究表明 *RUS1* 和 *RUS2* 基因是同一遗传途径的一部分,并且可能在同一调控途径中发挥相同的作用。

RUS1/RUS2 是植物幼苗形态发生的重要调节因子,并且对光高度敏感,之前已鉴定出许多光敏突变体,但它们在此通量率 [$<0.1 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 下都没有表现出对光的敏感性^[37-39],而 *RUS1/RUS2* 不参与其中任何一条途径,表明 *RUS1* 和 *RUS2* 可能参与了一种新的 UV-B 信号通路,并且主要在幼苗发育的后期发挥作用(图 3)。

磷酸吡哆醛(pyridoxal phosphate, PLP)是维生素 B6 (vitamin B6, VB6)的酶促辅因子形式,可以被 UV-B 光解破坏,是一种在代谢中起重要作用的多功能化合物。PLP 稳态在拟南芥胚后发育,特别是根的发育过程中起重要作用^[40]。Leasure 等^[13]研究发现 *AtRUS1* 和 *AtRUS2* 在 PLP 稳态中也发挥作用,此外,通过在 MS 生长培养基中外源添加维生素 B6 可以挽救 *rus1* 和 *rus2* 的根缺陷表型。这些发现表明, *RUS1* 和 *RUS2* 可以通过维生素 B6 的稳态调节早期幼苗发育。

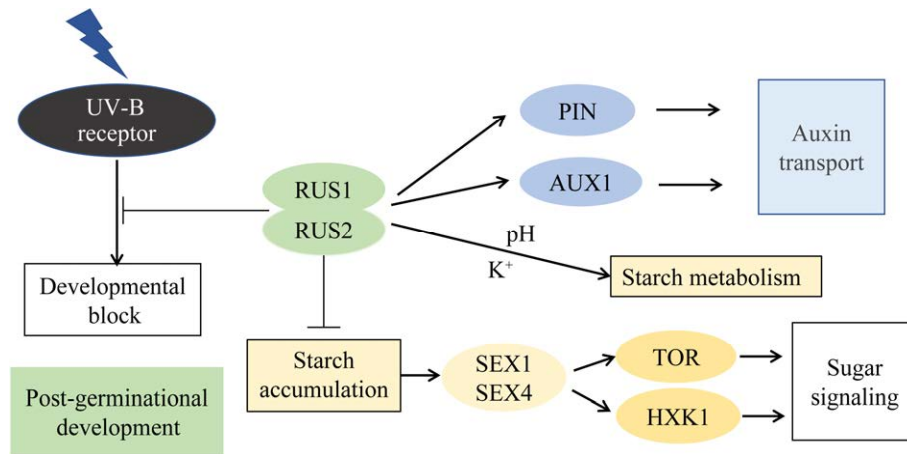


图3 RUS1与RUS2在植物生长发育中的调控模型

Figure 3 A model showing the interaction of RUS1 and RUS2 in the plant growth and development. “ \longrightarrow ” indicates positive regulation; “ $\longrightarrow|$ ” indicates negative regulation.

Leasure 等^[7]利用酵母双杂交技术研究发现 AtRUS1 与 AtRUS2 之间存在互作, 并且它们之间的互作依赖于 DUF647 中的保守氨基酸, 而潘家强等^[41]在水稻的研究中却未发现 OsRUS1 与 OsRUS2.1 之间存在直接的互作。这些研究表明可能由于不同物种间的基因序列存在差异, 导致不同 RUS 蛋白的功能不同。同时, 可能因为酵母体内表达的外源蛋白与水稻细胞内的真实加工过程存在一定的差异, 导致出现不同的结果, 因此需采用不同的蛋白互作研究技术如双分子荧光互补(bimolecular fluorescence complementation, BiFC)技术或免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, Co-IP)等进行进一步的功能验证。

2.2 参与植物体内物质运输与能量代谢

植物为了维持生存必须依赖环境供给的物质、能量和信息, 并通过复杂的运输和代谢过程来完成生长发育。

2.2.1 参与极性生长素运输

生长素是一类天然存在于植物中具有生长诱导作用的低分子量物质, 参与响应各种环境刺激的多种生物过程, 如细胞信号传导、细胞周期

调节、内吞作用、胚胎发生、器官发生和生长调节等^[42]。其中植物激素吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)是最重要的天然生长素, 几乎调节植物发育的各个方面, 包括胚胎发生、根的形成、侧根发育、叶片形成、茎伸长和果实发育等^[43-46]。

Ge 等^[11,14]研究发现拟南芥 *wxr1* 和 *wxr3* 突变体幼苗极性生长素转运减少, 表明突变体中生长素的转运存在一定的缺陷。在植物的生长发育过程中, 生长素在子叶和发育中的叶片中合成, 并通过下胚轴主动运输到根部, 从而使初生根伸长和侧根发育。与野生型相比, *wxr1* 和 *wxr3* 拟南芥突变体的气生组织中游离 IAA 水平升高, 根尖区 IAA 减少, 表明突变体幼苗在地上部合成的生长素不能有效转运至根尖。此外, 生长素转运蛋白(PIN-FORMED auxin exporter, PIN)和生长素输入蛋白(auxin resistant, AUX1)的蛋白质水平在质膜上也显著降低, 说明 *wxr1*、*wxr3* 拟南芥突变体中生长素极性转运的缺陷是由转运蛋白水平降低引起的。可见 RUS1 (WXR3)、RUS2 (WXR1)是生长素转运和维持根系中 PIN 蛋白正常水平所必需的(图 3), 但是其对于生长素转运的调控机制还不清楚。

2.2.2 调控淀粉代谢

淀粉主要是由光合作用产物转化所形成的碳水化合物,在植物体的代谢活动中扮演着非常重要的角色^[47]。淀粉的积累保证了充足的碳源储备,同时在淀粉酶作用下的分解产物可用于蔗糖合成。在质体中瞬时淀粉合成与降解的启动主要取决于昼夜循环、酶活性的翻译后调节和淀粉磷酸化^[48]。

高雪萍^[15]研究发现 *WXR1* 和 *WXR3* 在淀粉代谢途径以及糖信号转导途径中发挥作用;*WXR1* 和 *WXR3* 的突变影响了拟南芥子叶叶绿体中淀粉粒的降解,造成大量的大颗粒淀粉粒在叶绿体中积累,从而破坏叶绿体的结构,影响了叶绿体的正常发育及光合作用;他们还发现 *WXR1* 和 *WXR3* 还具有一定的生物节律性,认为这与淀粉降解酶的生物节律性表达特性相一致。

植物可以感知糖信号,而糖信号可以调控许多基因的表达,从而来调控植物的生长发育。在植物中主要通过己糖激酶(hexokinase 1, *HXK1*)和雷帕霉素靶蛋白(target-of-rapamycin, *TOR*)这2个独立的信号通路来完成糖信号的转导^[49-50]。 α -葡聚糖水二激酶(starch excess 1, *SEX1*)、磷酸葡聚糖磷酸酶(starch excess 4, *SEX4*)是淀粉降解过程中2个重要的调控因子,高雪萍^[15]研究发现 *wxr1* 和 *wxr3* 拟南芥突变体中过多的淀粉积累诱导了 *SEX1*、*SEX4* 转录水平的上调,导致突变体内游离糖水平升高,从而诱导了 *HXK1* 和 *TOR* 表达量的上调,说明 *WXR1* 和 *WXR3* 能够调控拟南芥中糖信号的转导(图 3)。

此外,体外酵母双杂实验表明 *WXR1* (*RUS2*)和 *WXR3* (*RUS1*)蛋白与 *RUS5* 和 *RUS3* 以及 K^+ 输出蛋白(K^+ efflux antiporters, *KEAs*)存在间接的相互作用。高雪萍^[15]推测 *WXR1* 和 *WXR3* 可能是通过调控叶绿体内环境的 K^+ 离子浓度和 pH

来促进淀粉降解和利用,同时促进单糖的利用,从而调控植物的生长。

2.3 参与花药发育过程

植物花药发育可分为两个主要阶段:第一阶段,花药形态建立、细胞和组织分化、小孢子母细胞减数分裂;第二阶段,花粉粒分化、花药开裂和花粉粒释放^[51]。花药开裂是雄蕊成熟中的重要过程,其过程涉及局部细胞分化和变性,中间层和绒毡层退化促进内皮发育,内皮层局部次生壁二次增厚,为花药开裂和释放提供机械力,结合花药脱水和花粉膨胀,以促进花药的完全开放和花粉释放^[52]。

2.3.1 生长素途径

生长素在花的发育、器官形成和花粉发育中起着至关重要的作用,并且在协调花粉成熟和花药开裂以及花丝伸长过程中发挥作用^[53]。木质素是一种天然聚合物,在次级细胞壁中与纤维素和半纤维素交织在一起。生长素通过其信号转导调节大部分植物的生长发育,而木质素可以响应生长素信号,并影响植物中花药和次生木质部的发育^[54]。

NAC 转录因子 *NST1*、*NST2* 为次生壁合成的关键转录因子^[55-56],通过调节花药中次生壁的木质素合成,使花药内皮层细胞的次生壁增厚,从而调控花药开裂^[57]。赵淑清等^[12]研究发现拟南芥 *amiR-RUS4* 植株花药不开裂,雄性育性严重下降,*NAC* 转录因子 *NST1*、*NST2* 以及 *MYB* 转录因子 *MYB103* 和 *MYB85* 在 *amiR-RUS4* 植株的花蕾中的表达也显著降低,推测 *RUS4* 可能通过改变花药组织内的生长素分布激活 *NST1* 和 *NST2* 的转录,诱导下游转录因子(如 *MYB103* 和 *MYB85*)的表达,进而调节次生壁生物合成基因的表达,如纤维素合成酶基因 *CESA4*、*CESA7*、*CESA8* 和木聚糖还原性末端序列合成基因 *GAU12*,从而控制花药次生壁增厚,最终导致花药开裂和花粉释放(图 4)。

此外, Cecchetti 等^[58-59]研究发现花药的裂口细胞破裂取决于内皮层木质化, 进一步研究表明生长素能够通过调节内皮层木质化和茉莉酸的生物合成来控制拟南芥花药开裂, Xu 等^[60]研究也发现拟南芥 *arf17* 突变体表现出内皮层木质化缺陷, 导致花药开裂缺陷。目前已知 RUS1、RUS2 能够调控生长素运输, 但是 RUS1、RUS2 调控花药开裂的研究还未见报道; RUS4 与木质素合成紧密相关, 而 RUS4 是否通过生长素转运影响木质素合成尚不清楚; RUS 家族是否能通过影响生长素转运调控花药开裂有待深入研究。

2.3.2 茉莉酸途径

茉莉酸(jasmonic acid, JA)及其前体和衍生物, 称为茉莉酸酯(jasmonate, JAs), 是调节植物生长发育的重要因子之一, 特别是调节植物对生物和非生物胁迫的反应。雄蕊发育同样受到 JAs 的调控, 已发现与茉莉酸代谢途径相关的基因有

DAD1、*FAD*、*LOX*、*AOS*、*AOC* 和 *OPR* 等^[61-62]。拟南芥 *dad1* 突变体在花药开裂、花粉成熟和花蕾发育等方面存在缺陷, *dde2-2* 雄性不育突变体表现出与花丝伸长和花药开裂相关的问题^[63-64], 这些研究表明, JAs 在拟南芥雄蕊发育的晚期起关键作用^[65]。MYB 转录因子是 JA 介导的雄蕊和花粉成熟所必需的^[66], Huang 等^[67]研究发现 DELLA 蛋白与 MYB21 和 MYB24 相互作用, 调节拟南芥的细丝伸长; Ajin 等^[68]研究发现拟南芥 *myb108* 突变体表现出花药开裂延迟、花粉活力降低、雄性育性下降。

陈雅洁等^[16]研究发现 *AtRUS4* 定位于叶绿体, 可能参与 JA 介导的雄蕊发育, 通过影响 JA 相关基因的表达在协调花药开裂和花粉成熟中发挥作用(图 4)。与野生型相比, 拟南芥 *amiR-RUS4* 在花药开裂和花粉成熟方面存在缺陷, 雄蕊中 JA 响应 MYB 转录因子, 尤其是 MYB108 的转

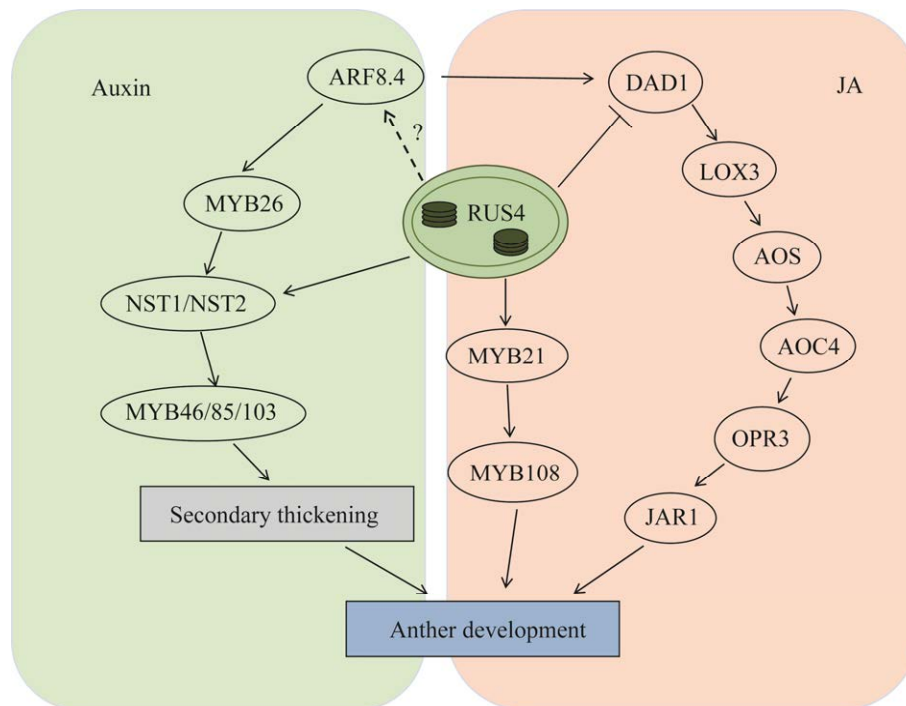


图 4 RUS4 在花药发育中的调控作用

Figure 4 The regulatory role of RUS4 in anther development. “ \longrightarrow ” indicates positive regulation; “ $\longrightarrow|$ ” indicates negative regulation.

录丰度显著降低, 而 JA 合成途径基因 *DAD1*、*LOX3*、*AOS*、*AOC4*、*OPR3*、*JAR1*、*JMT* 与 JA 分解代谢基因 *CYP94B3* 的转录丰度却显著增加, 推测拟南芥 *amiR-RUS4* 雄蕊中 JA 代谢基因表达的变化可能是 JA 信号网络中负反馈调节的结果。

本课题组的前期研究发现 JA 合成途径主要基因 *DAD1*、*AOS*、*COII* 等以及 MYB 转录因子 MYB108 在茄子花药开裂中有一定的作用^[69-71], 但是 *RUS4* 在茄子花药开裂中是否与 JA、生长素等途径相互作用调控花药的开裂目前还不清楚, 通过分析已有的基因组数据和已测定的转录组数据, 推测 *RUS4* 可能与 MYB 转录因子共同参与花药发育调控过程, 深入研究其与 MYB 转录因子以及 JA 合成途径的调控关系是必要的。

3 展望

RUS 家族在动植物以及大多数真菌中广泛存在, 在真核生物的整个发育过程中发挥重要作用, 但是目前关于 RUS 家族的功能研究较少, 且集中于模式作物(拟南芥), 因而对 RUS 家族的了解存在一定的局限性, 对于其在其他植物是否有同样的功能还有待探索。

RUS1 和 *RUS2* 通过参与 UV-B 反应、淀粉代谢、维持维生素 B6 稳态调节幼苗早期形态发生, 同时在极性生长素转运中也发挥重要作用。*RUS4* 可与 NAC 转录因子 *NST1*、*NST2* 及 *MYB26* 相互作用, 通过影响花药内皮层次生壁的生长调控花药开裂, 同时可能参与 JA 介导的雄蕊发育, 通过影响 JA 相关基因的表达调控花药开裂。*RUS6* 是胚胎缺陷基因, 在胚胎发育早期发挥重要作用。而目前还没有研究表明 *RUS3*、*RUS5* 在植物生长发育过程中发挥作用, 深入研究 *RUS3*、*RUS5* 的功能有助于进一步了解 RUS 家族中高度保守的 DUF647 结构域在植物发育

中的调控作用。

之前研究表明, *RUS4* 可能通过调控生长素的运输或动态平衡, 影响花中 JA 的生物合成, 控制雄蕊发育。目前关于生长素与 JA 协同调控花药开裂的研究还较为分散, 没有形成一个清晰的调控网络。*RUS4* 可能作为其中一个关键基因, 将两个途径串联起来, 因而进一步研究 *RUS4* 与生长素响应因子 ARF 以及 JA 合成基因 *DAD1*、*LOX*、*OPDA* 等的关系是必要的。此外, *RUS1*、*RUS2*、*RUS4* 与生长素关系紧密, *RUS6* 以及其他 RUS 家族基因是否也在生长素转运过程中发挥作用? *RUS3* 作为动物基因组中的直系同源基因, 在植物的生长发育过程中发挥着什么调控作用? 这些问题都有待进一步探索。通过不断完善 RUS 家族在植物中的功能研究, 将更好地揭示 RUS 在不同物种中的调控机制, 也为植物的分子育种研究奠定一定的基础。

REFERENCES

- [1] HUANG CY, AYLIFFE MA, TIMMIS JN. Direct measurement of the transfer rate of chloroplast DNA into the nucleus[J]. *Nature*, 2003, 422(6927): 72-76.
- [2] MARTIN W, RUJAN T, RICHLY E, HANSEN A, CORNELSEN S, LINS T, LEISTER D, STOEBE B, HASEGAWA M, PENNY D. Evolutionary analysis of *Arabidopsis*, cyanobacterial, and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(19): 12246-12251.
- [3] YANG X, LU YW, WANG F, CHEN Y, TIAN YZ, JIANG LL, PENG JJ, ZHENG HY, HOU LX, YAN CQ, TALIANSKY M, MACFARLANE S, WU YH, CHEN JN, YAN F. Involvement of the chloroplast gene *ferredoxin 1* in multiple responses of *N. benthamiana* to potato virus X infection[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 71(6): 2142-2156.
- [4] ZHUANG KY, KONG FY, ZHANG S, MENG C, YANG MM, LIU ZB, WANG Y, MA NN, MENG QW. Whirly1 enhances tolerance to chilling stress in tomato via protection of photosystem II and regulation of

- starch degradation[J]. *The New Phytologist*, 2019, 221(4): 1998-2012.
- [5] TONG HY, LEASURE CD, HOU XW, YUEN G, BRIGGS W, HE ZH. Role of root UV-B sensing in *Arabidopsis* early seedling development[J]. *PNAS*, 2008, 105(52): 21039-21044.
- [6] ZHANG XS, CARTER MS, VETTING MW, SAN FRANCISCO B, ZHAO SW, AL-OBAIDI NF, SOLBIATI JO, THIAVILLE JJ, de CRÉCY-LAGARD V, JACOBSON MP, ALMO SC, GERLT JA. Assignment of function to a domain of unknown function: DUF1537 is a new kinase family in catabolic pathways for acid sugars[J]. *PNAS*, 2016, 113(29): E4161-E4169.
- [7] LEASURE CD, TONG HY, YUEN G, HOU XW, SUN XF, HE ZH. ROOT UV-B SENSITIVE2 acts with ROOT UV-B SENSITIVE1 in a root ultraviolet B-sensing pathway[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(4): 1902-1915.
- [8] YU N, LIANG YP, PENG XX, HOU XW. Molecular and bioinformatic characterization of the rice ROOT UV-B SENSITIVE gene family[J]. *Rice (New York, N Y)*, 2016, 9(1): 55.
- [9] GOFF S, RICKE D, LAN T, PRESTING G, WANG RL, DUNN M, GLAZEBROOK J, SESSIONS A, OELLER P, VARMA H, HADLEY D, HUTCHISON D, MARTIN CH, KATAGIRI F, LANGE BM, MOUGHAMER T, XIA YM, BUDWORTH P, ZHONG JP, MIGUEL T, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica)[J]. *Science*, 2002, 296(5565): 92-100.
- [10] RENSING SA, LANG D, ZIMMER AD, TERRY A, SALAMOV A, SHAPIRO H, NISHIYAMA T, PERROUD PF, LINDQUIST EA, KAMISUGI Y, TANAHASHI T, SAKAKIBARA K, FUJITA T, OISHI K, SHIN-I T, KUROKI Y, TOYODA A, SUZUKI Y, HASHIMOTO SI, YAMAGUCHI K, et al. The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants[J]. *Science*, 2008, 319(5859): 64-69.
- [11] GE L, PEER W, ROBERT S, SWARUP R, YE S, PRIGGE M, COHEN JD, FRIML J, MURPHY A, TANG D, ESTELLE M. *Arabidopsis* ROOT UVB SENSITIVE2/WEAK AUXIN RESPONSE 1 is required for polar auxin transport[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(6): 1749-1761.
- [12] ZHAO SQ, LI WC, ZHANG Y, TIDY AC, WILSON Z. Knockdown of *Arabidopsis* ROOT UVB SENSITIVE4 disrupts anther dehiscence by suppressing secondary thickening in the *Endothecium*[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2019, 60(10): 2293-2306.
- [13] LEASURE CD, TONG H, HOU XW, SHELTON A, MINTON M, ESQUERRA R, ROJE S, HELLMANN H, HE ZH. Root uv-b sensitive mutants are suppressed by specific mutations in ASPARTATE AMINOTRANSFERASE2 and by exogenous vitamin B6[J]. *Molecular Plant*, 2011, 4(4): 759-770.
- [14] YU H, KARAMELIAS M, ROBERT S, PEER WA, SWARUP R, YE SQ, GE L, COHEN J, MURPHY A, FRIML J, ESTELLE M. ROOT ULTRAVIOLET B-SENSITIVE1/WEAK AUXIN RESPONSE3 is essential for polar auxin transport in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2013, 162(2): 965-976.
- [15] 高雪萍. 拟南芥 WXR1 和 WXR3 蛋白参与淀粉代谢作用机理的研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2015.
- GAO XP. Functional analysis of the *Arabidopsis* WXR1 WXR3 proteins during the starch metabolism[D]. Taian: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [16] CHEN YJ, YANG XX, LI WC, ZHAO SQ. Knockdown of the DUF647 family member RUS4 impairs stamen development and pollen maturation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Science*, 2020, 301: 110645.
- [17] NATHANIEL P, LEASURE COLIN D, TONG HY, DUARTE ELIAS M, HE ZH. RUS6, a DUF647-containing protein, is essential for early embryonic development in *Arabidopsis thaliana*[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1): 232.
- [18] 姚敦义. 谈谈植物形态发生学[J]. *生物学通报*, 1965(6): 9-12.
- YAO DY. On plant morphogenesis[J]. *Bulletin of Biology*, 1965(6): 9-12 (in Chinese).
- [19] CASTLE LA, ERRAMPALLI D, ATHERTON TL, FRANZMANN LH, YOON ES, MEINKE DW. Genetic and molecular characterization of embryonic mutants identified following seed transformation in *Arabidopsis*[J]. *Molecular & General Genetics: MGG*, 1993, 241(5/6): 504-514.
- [20] 唐丽苹, 李兴国, 张宪省, 苏英华. 体细胞胚胎发生: 植物体细胞命运的重塑[J]. *植物生理学报*, 2020, 56(8): 1664-1680.
- TANG LP, LI XG, ZHANG XS, SU YH. Somatic embryogenesis: remodeling of plant somatic cells[J]. *Plant Physiology Journal*, 2020, 56(8): 1664-1680 (in Chinese).

- [21] MEINKE D. Genome-wide identification of EMBRYO-DEFECTIVE (*EMB*) genes required for growth and development in *Arabidopsis*[J]. *New Phytol*, 2020, 226(2): 306-325.
- [22] TAMBASCO-STUDART M, TITIZ O, RASCHLE T, FORSTER G, AMRHEIN N, FITZPATRICK T. Vitamin B6 biosynthesis in higher plants[J]. *PNAS*, 2005, 102(38): 13687-13692.
- [23] MÖLLER B, WEIJERS D. Auxin control of embryo patterning[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2009, 1(5): a001545.
- [24] FIGUEIREDO DUARTE D, BATISTA RITA A, ROSZAK PAWEL J, LARS H, CLAUDIA K. Auxin production in the endosperm drives seed coat development in *Arabidopsis*[J]. *eLife*, 2016, 5: e20542.
- [25] FIGUEIREDO DUARTE D, BATISTA RITA A, ROSZAK PAWEL J, CLAUDIA K. Auxin production couples endosperm development to fertilization[J]. *Nature Plants*, 2015, 1(12): 15184.
- [26] ROBERT H, GRONES P, STEPANOVA A, ROBLES L, LOKERSE A, ALONSO J, WEIJERS D, FRIML J. Local auxin sources orient the apical-basal axis in *Arabidopsis* embryos[J]. *Current Biology*, 2013, 23(24): 2506-2512.
- [27] FIGUEIREDO DD, KÖHLER C. Auxin: a molecular trigger of seed development[J]. *Genes & development*, 2018, 32(7-8): 479-490.
- [28] CHEN M, CHORY J, FANKHAUSER C. Light signal transduction in higher plants[J]. *Annual review of genetics*, 2004, 38: 87-117.
- [29] JIAO YL, LAU OS, DENG XW. Light-regulated transcriptional networks in higher plants[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2007, 8(3): 217-230.
- [30] QUAIL P. Photosensory perception and signalling in plant cells: new paradigms?[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2002, 14(2): 180-188.
- [31] BROWN BA, CLOIX C, JIANG G, KAISERLI E, HERZYK P, KLIEBENSTEIN D, JENKINS G. A UV-B-specific signaling component orchestrates plant UV protection[J]. *PNAS*, 2005, 102(50): 18225-18230.
- [32] FRITSCH E, SCHÄFER C, CALLES C, BERNSMANN T, BERNSHAUSEN T, WURM M, HÜBENTHAL U, CLINE JE, HAJIMIRAGHA H, SCHROEDER P, KLOTZ LO, RANNUG A, FÜRST P, HANENBERG H, ABEL J, KRUTMANN J. Lightning up the UV response by identification of the arylhydrocarbon receptor as a cytoplasmic target for ultraviolet B radiation[J]. *PNAS*, 2007, 104(21): 8851-8856.
- [33] ULM R, NAGY F. Signalling and gene regulation in response to ultraviolet light[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(5): 477-482.
- [34] BOCCALANDRO HE, MAZZA CA, MAZZELLA MA, CASAL JJ, BALLARÉ CL. Ultraviolet B radiation enhances a phytochrome-B-mediated photomorphogenic response in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2001, 126(2): 780-788.
- [35] FUGLEVAND G, JACKSON JA, JENKINS GI. UV-B, UV-A, and blue light signal transduction pathways interact synergistically to regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 1996, 8(12): 2347-2357.
- [36] KIM BC, TENNESSEN DJ, LAST RL. UV-B-induced photomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Journal*, 1998, 15(5): 667-674.
- [37] SUESSLIN C, FROHNMEYER H. An *Arabidopsis* mutant defective in UV-B light-mediated responses[J]. *The Plant Journal*, 2003, 33(3): 591-601.
- [38] LUCA D, STEFANO C, HELEN N, ANNIE MP, ROBERTO B. The *Arabidopsis* *Aba4-1* mutant reveals a specific function for neoxanthin in protection against photooxidative stress[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(3): 1048-1064.
- [39] PATRICIA MM, TALILA G, NIYOGI KRISHNA K. Ascorbate-deficient mutants of *Arabidopsis* grow in high light despite chronic photooxidative stress[J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(3): 1163-1172.
- [40] SVETLANA B, ANA D, JAKUB R, THOMAS B, FITZPATRICK TERESA B. Consequences of a deficit in vitamin B6 biosynthesis *de novo* for hormone homeostasis and root development in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(1): 102-117.
- [41] 潘家强, 侯学文. 采用酵母双杂交技术研究 *OsRUS1* 与 *OsRUS2.1* 之间的相互作用[J]. *植物生理学报*, 2012, 48(11): 1050-1056.
- PAN JQ, HOU XW. Study of interaction between *OsRUS1* and *OsRUS2.1* by yeast two-hybrid technology[J]. *Plant Physiology Journal*, 2012, 48(11): 1050-1056 (in Chinese).
- [42] GOMES GB, SCORTECCI K. Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms[J]. *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, 2021, 23(6): 894-904.
- [43] CAVALLARI N, ARTNER C, BENKOVA E. Auxin-regulated lateral root organogenesis[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2021, 13(7):

- a039941.
- [44] SUNDBERG E, ØSTERGAARD L. Distinct and dynamic auxin activities during reproductive development[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2009, 1(6): a001628.
- [45] TAKAHASHI H, MIYAZAWA Y, FUJII N. Hormonal interactions during root tropic growth: hydrotropism versus gravitropism[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(4): 489-502.
- [46] OVERVOORDE P, FUKAKI H, BEECKMAN T. Auxin control of root development[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010, 2(6): a001537.
- [47] STREB S, ZEEMAN SC. Starch metabolism in *Arabidopsis*[J]. *The Arabidopsis Book*, 2012, 10: e0160.
- [48] ORZECZOWSKI S. Starch metabolism in leaves[J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2008, 55(3): 435-445.
- [49] FICHTNER F, DISSANAYAKE IM, LACOMBE B, BARBIER F. Sugar and nitrate sensing: a multi-billion-year story[J]. *Trends in plant science*, 2021, 26(4): 352-374.
- [50] LEE K, SEO PJ. *Arabidopsis* TOR signaling is essential for sugar-regulated callus formation[J]. *Journal of integrative plant biology*, 2017, 59(10): 742-746.
- [51] GOLDBERG R, BEALS T, SANDERS PM. Anther development: basic principles and practical applications[J]. *The Plant Cell*, 1993, 5: 1217-1229.
- [52] WILSON ZA, SONG J, TAYLOR B, YANG CY. The final split: the regulation of anther dehiscence[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(5): 1633-1649.
- [53] CARDARELLI M, CECCHETTI V. Auxin polar transport in stamen formation and development: how many actors?[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 333.
- [54] QU GY, PENG D, YU ZQ, CHEN XL, CHENG X, YANG YZ, YE T, LV Q, JI WJ, DENG X, ZHOU B. Advances in the role of auxin for transcriptional regulation of lignin biosynthesis[J]. *Functional plant biology*, 2021, 48(8): 743-754.
- [55] ZHONG RQ, DEMURA T, YE ZH. SND1, a NAC domain transcription factor, is a key regulator of secondary wall synthesis in fibers of *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(11): 3158-3170.
- [56] ZHONG RQ, YE ZH. The *Arabidopsis* NAC transcription factor NST2 functions together with SND1 and NST1 to regulate secondary wall biosynthesis in fibers of inflorescence stems[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2015, 10(2): e989746.
- [57] MITSUDA N, IWASE A, YAMAMOTO H, YOSHIDA M, SEKI M, SHINOZAKI K, OHME-TAKAGI M. NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(1): 270-280.
- [58] CECCHETTI V, ALTAMURA MM, FALASCA G, COSTANTINO P, CARDARELLI M. Auxin regulates *Arabidopsis* anther dehiscence, pollen maturation, and filament elongation[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(7): 1760-1774.
- [59] CECCHETTI V, ALTAMURA MM, BRUNETTI P, PETROCELLI V, FALASCA G, LJUNG K, COSTANTINO P, CARDARELLI M. Auxin controls *Arabidopsis* anther dehiscence by regulating endothecium lignification and jasmonic acid biosynthesis[J]. *The Plant Journal*, 2013, 74(3): 411-422.
- [60] XU XF, WANG B, FENG YF, XUE JS, QIAN XX, LIU SQ, ZHOU J, YU YH, YANG NY, XU P, YANG ZN. AUXIN RESPONSE FACTOR17 directly regulates MYB108 for anther dehiscence[J]. *Plant Physiology*, 2019, 181(2): 645-655.
- [61] RUAN JJ, ZHOU YX, ZHOU ML, YAN J, KHURSHID M, WENG WF, CHENG JP, ZHANG KX. Jasmonic acid signaling pathway in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(10): 2479.
- [62] 郭航, 王志敏, 汤青林, 田时炳, 杨洋, 宋明. 茉莉酸调控花药开裂的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2015, 31(2): 10-17.
- GUO H, WANG ZM, TANG QL, TIAN SB, YANG Y, SONG M. Progress on regulation of anther dehiscence by jasmonic acid[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2015, 31(2): 10-17 (in Chinese).
- [63] ISHIGURO S, KAWAI-ODA A, UEDA J, NISHIDA I, OKADA K. The DEFECTIVE IN ANTHER DEHISCENCE gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2001, 13(10): 2191-2209.
- [64] von MALEK B, van der GRAAFF E, SCHNEITZ K, KELLER B. The *Arabidopsis* male-sterile mutant dde2-2 is defective in the allene oxide synthase gene encoding one of the key enzymes of the jasmonic acid

- biosynthesis pathway[J]. *Planta*, 2002, 216(1): 187-192.
- [65] MARCINIAK K, PRZEDNICZEK K. Comprehensive insight into gibberellin- and jasmonate-mediated stamen development[J]. *Genes*, 2019, 10(10): 811.
- [66] 胡若琳, 袁超, 牛义, 汤青林, 魏大勇, 王志敏. 植物 MYB 转录因子在花药发育中的调控作用[J]. *生物工程学报*, 2020, 36(11): 2277-2286.
- HU RL, YUAN C, NIU Y, TANG QL, WEI DY, WANG ZM. Regulation of plant MYB transcription factors in anther development[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2020, 36(11): 2277-2286 (in Chinese).
- [67] HUANG H, GONG Y, LIU B, WU DW, ZHANG M, XIE D, SONG SS. The DELLA proteins interact with MYB21 and MYB24 to regulate filament elongation in *Arabidopsis*[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 64.
- [68] AJIN M, JOHN B. MYB108 acts together with MYB24 to regulate jasmonate-mediated stamen maturation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(2): 851-862.
- [69] ZHANG SW, YUAN C, AN LY, NIU Y, SONG M, TANG QL, WEI DY, TIAN SB, WANG YQ, YANG Y, WANG ZM. *SmCOI1* affects anther dehiscence in a male-sterile *Solanum melongena* line[J]. *Plant Biotechnology (Tokyo, Japan)*, 2020, 37(1): 1-8.
- [70] WANG ZM, YUAN C, ZHANG SW, TIAN SB, TANG QL, WEI DY, NIU Y. Screening and interaction analysis identify genes related to anther dehiscence in *Solanum melongena* L[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 648193.
- [71] 胡若琳. 茄子 *SmMYB108* 基因调控花药开裂的作用机制研究[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2022.
- HU RL. Mechanism of eggplant *SmMYB108* gene regulating anther dehiscence[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2022 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)