

乙烯与赤霉素协同调控水稻胚芽鞘伸长生长

吴斌¹, 葛秉坤², 秦田雨², 肖桂青^{1✉}, 秦华^{2✉}

¹湖南农业大学生物科学技术学院, 长沙 410128; ²中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081

摘要: 【目的】乙烯和赤霉素是调控水稻胚芽鞘伸长的关键激素, 但二者在该过程中的交互作用机制尚不明确, 本文旨在探究二者在调控胚芽鞘伸长中的分子机制。【方法】利用乙烯和赤霉素信号通路核心组分的相关水稻材料, 统计不同激素处理后胚芽鞘的长度, 采用 qPCR 技术检测 *OsEIN2/OsEIL2* 下游基因表达, 利用酵母双杂和 Pull-down 技术验证 *OsSLR1* 与 *OsEIL2* 互作。【结果】乙烯和赤霉素均能促进胚芽鞘的伸长, 且二者存在协同效应。赤霉素合成抑制剂多效唑 (Paclobutrazol, PAC) 处理或过表达赤霉素失活基因 *OsGA2ox3* 削弱了乙烯对胚芽鞘伸长的促进作用, 外源补充赤霉素也能够部分解除 1-MCP (1-Methylcyclopropene) 对胚芽鞘的抑制, 表明乙烯与赤霉素调控胚芽鞘的伸长存在共同的调控途径。进一步研究发现, 赤霉素信号负调控因子 *OsSLR1* 与 *OsEIL2* 存在相互作用, 且 *OsEIN2/OsEIL2* 调控的下游基因 *OsERF63*、*OsERF73*、*OsHKT2;1* 和 *OsGY1* 也受到了 *OsSLR1* 的调控, *OsSLR1* 功能缺失突变体 *slr1* 表现出长胚芽鞘的表型, 且乙烯对胚芽鞘伸长的促进作用在 *slr1* 中进一步增强, 表明 *OsSLR1* 参与调控乙烯促进的胚芽鞘生长和信号转导。【结论】*OsSLR1* 是乙烯和赤霉素协同调控胚芽鞘伸长生长的节点, 通过与 *OsEIL2* 互作来共同调控下游信号通路和胚芽鞘的伸长生长, 这不仅丰富了胚芽鞘生长中的植物激素互作网络, 也为直播稻新品种的培育提供了理论依据和有用的基因。

关键词: 水稻; 胚芽鞘; 乙烯; 赤霉素; *OsEIL2*; *OsSLR1*

Ethylene and Gibberellin Synergistically Regulate Coleoptile Elongation in Rice

WU Bin¹, GE BingKun², QIN TianYu², XIAO GuiQing^{1✉}, QIN Hua^{2✉}

¹College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128; ²Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081

Abstract: 【Objective】Ethylene and gibberellin are key phytohormones regulating rice coleoptile elongation, however, the interaction of ethylene and gibberellin in coleoptile elongation remains unclear. This study aimed to investigate the molecular mechanism of ethylene and gibberellin in regulating coleoptile elongation. 【Method】This study utilized transgenic rice lines of the core components of ethylene and gibberellin signaling pathways as experimental materials. The coleoptile lengths were examined with or without different phytohormone treatments. The expression levels of downstream genes of *OsEIN2/OsEIL2* were detected by RT-qPCR. Yeast two-hybrid and pull-down assays were further employed to verify the interaction between *OsSLR1* and *OsEIL2*. 【Result】Exogenous phytohormones treatment revealed that both ethylene and gibberellin promoted coleoptile elongation, and they exhibited a synergistic effect. Paclobutrazol (PAC, a GA biosynthesis inhibitor) treatment or overexpression of the gibberellin inactivation gene *OsGA2ox3* weakened the promoting effect of ethylene on coleoptile elongation, whereas exogenous application of gibberellin partially relieved the 1-MCP (1-Methylcyclopropene) inhibited coleoptile elongation, indicating that ethylene and gibberellin shared a common regulatory pathway in controlling coleoptile elongation. Further studies revealed that *OsSLR1*, a negative regulator of gibberellin signaling, interacted with *OsEIL2*. Moreover, *OsEIN2/OsEIL2*-regulated genes, such as *OsERF63*, *OsERF73*, *OsHKT2;1* and *OsGY1* were also regulated by *OsSLR1*. The *OsSLR1* loss-of-function mutant *slr1* exhibited a long coleoptile phenotype, and the

收稿日期: 2026-05-06; 接受日期: 2026-06-30

基金项目: 国家自然科学基金 (32472037)、中国农业科学院青年创新专项 (Y2024QC14)

联系方式: 吴斌, E-mail: 1377923781@qq.com. 通信作者肖桂青, E-mail: xhxgq22@163.com. 通信作者秦华, E-mail: qinhua@caas.cn

promoting effect of ethylene on coleoptile elongation was further enhanced in *slr1*, suggesting that OsSLR1 was involved in ethylene-mediated coleoptile elongation and signal transduction. 【Conclusion】 In summary, this study revealed that OsSLR1 served as a crosstalk node for the synergistic regulation of coleoptile elongation by ethylene and gibberellin, and it interacted with OsEIL2 to co-regulate downstream signaling pathways and coleoptile elongation. This study not only enriched the understanding of the phytohormone interaction network in coleoptile growth, but also provided a theoretical basis and useful genes for the breeding of rice varieties suitable for direct seeding cultivation.

Key words: rice; coleoptile; ethylene; gibberellin; *OsEIL2*; *OsSLR1*

0 引言

【研究意义】胚芽鞘是单子叶植物特有的锥形组织,能够抵御土壤的摩擦和挤压,避免胚芽受损^[1]。胚芽鞘通过快速伸长引导初生叶向上生长,为种子顺利破土开辟通道^[2]。在单子叶植物中,胚芽鞘的完整性直接决定了幼苗能否顺利出土,进而启动后续的光合器官发育与形态建成过程^[3-4]。在农业生产中,种子播种后能否成功出苗并形成健壮幼苗,直接关系到作物的群体结构和最终产量。胚芽鞘长度、机械强度、伸长速度等性状决定了作物从播种到出苗的能力。胚芽鞘长度与出苗率呈显著正相关关系,若种子播种深度超过胚芽鞘的长度,胚芽鞘将无法到达土壤表面,导致幼苗黄化甚至死亡^[5-6]。随着全球气候变化和水资源短缺问题的加剧,以及农业生产机械化程度的提高,深播是获取深层土壤水分的必要措施,而在机械化播种过程中,播种深度往往难以精确控制,容易出现播深不均的问题。在此背景下,培育长胚芽鞘品种对保障作物出苗具有重要意义。【前人研究进展】乙烯(Ethylene, C_2H_4)作为一种关键的气态植物激素,广泛参与调控植物生长发育的多个生物学过程^[7-9]。当乙烯被内质网定位的受体家族感知后,信号通过CTR1和EIN2进行转导,并由核心转录因子EIN3和EIL1放大信号,这些因子进一步激活乙烯响应基因的表达,从而触发乙烯反应^[10]。乙烯能够调控胚芽鞘的生长^[11-12]。在单子叶植物水稻中,土壤覆盖促进了胚芽鞘中乙烯的合成,减少胚芽鞘顶端活性氧的积累,最终促进胚芽鞘伸长^[2]。除此之外,土壤覆盖带来的机械压力诱导幼苗乙烯合成后一个以COP1-EBF1/2-EIN3为核心的信号模块,根据土壤的“深度”(即光强的微弱变化)来精确调控乙烯信号的强度,最终通过下游不同通路协调下胚轴伸长与子叶的光合准备^[13-14];乙烯也通过抑制*OsGY1*介导的茉莉酸生物合成,促进水稻黄化苗胚芽鞘和中胚轴的伸长^[15]。这些研究共同揭示了乙烯在调控胚芽鞘伸长生长中的核

心地位,进一步凸显了其在植物适应土壤环境中的重要作用。赤霉素(Gibberellic acid, GA)作为调控植物生长发育的关键激素之一,同样在胚芽鞘伸长过程中发挥着重要作用。通过对水稻胚芽鞘离体培养发现外源赤霉素处理能够促进胚芽鞘切段的伸长^[16]。研究发现赤霉素生物合成抑制剂多效唑(PAC)处理能够显著抑制水稻胚芽鞘伸长,表明赤霉素在水稻胚芽鞘的伸长生长中发挥重要作用^[17]。在小麦胚芽鞘相关研究中发现对赤霉素不敏感的小麦其胚芽鞘的伸长受到限制^[18]。在大麦胚芽鞘相关研究中则发现,赤霉素诱导的淀粉酶活性不依赖于内源生长素,提示赤霉素在某些组织中可能具有独立于生长素的作用路径,这反映了赤霉素作用机制的复杂性^[19]。赤霉素信号转导途径的关键负调控因子SLR1是水稻中的DELLA蛋白,在抑制下游基因转录、调控植物生长发育中发挥核心作用。SLR1通过与其他转录因子相互作用来抑制下游基因的表达,是连接多种激素信号网络的“分子枢纽”^[20]。在赤霉素缺乏条件下,DELLA蛋白(如水稻中的SLR1)作为转录抑制因子在细胞核内积累,通过直接结合PIF等转录因子启动子抑制细胞伸长相关基因的表达^[21]。SLR1与OsMADS23互作增强OsMADS23稳定性,导致OsMADS23介导的D14转录抑制增强^[22]。当赤霉素存在时,DELLA蛋白被SCF E3泛素连接酶复合体泛素化降解,从而解除其对下游转录因子的抑制促进胚芽鞘细胞伸长^[23-25]。乙烯和赤霉素之间的串扰在一些研究中已经得到证实。在拟南芥中,DELLA蛋白与EIN3/EIL1互作来抑制EIN3/EIL1对顶端弯钩形成关键基因*HLS1*的激活,赤霉素促进DELLA蛋白的降解,从而解除对EIN3转录活性的抑制,使得乙烯对*HLS1*的诱导作用显著增强,共同促进顶端弯钩的形成以保护子叶免受土壤损伤^[26]。在水稻中,中胚轴(位于幼苗种子根基部与胚芽鞘节之间的结构)在推动茎尖穿透土壤表层时提供生长活力,对于直播稻的均匀出苗至关重要。研究发现覆土诱导的乙烯通过转录因子*OsEIL1*直接激

活赤霉素合成基因 *OsSD1* 的表达,解除对 *OsPIF* 转录因子的抑制,进而驱动中胚轴细胞伸长帮助幼苗破土^[27]。而在水稻初生根伸长的调控中,赤霉素与乙烯则呈现出拮抗关系:乙烯信号转录因子 *OsEIL1* 直接结合到多个赤霉素代谢基因 *OsGA2oxs* 的启动子上并激活其表达,从而降低根中活性赤霉素的含量,导致根尖分生区细胞增殖受阻,从而抑制根的伸长^[28]。在小麦株高调控的研究中,乙烯信号转录因子 *TaEIL1* 抑制赤霉素合成基因 *TaGA3ox2* 的转录抑制因子 *TaERF1* 的表达,导致赤霉素水平升高,促进节间伸长和株高增加^[29]。【本研究切入点】以上研究揭示了乙烯与赤霉素互作调控植物的生长发育机制的复杂性,但两者在水稻胚芽鞘生长中的调控关系还不清楚。【拟解决的关键问题】以外源激素处理乙烯和赤霉素信号通路核心组分的相关水稻材料,解析乙烯和赤霉素在调控水稻胚芽鞘伸长中的关系,明确 SLR1-*OsEIL2* 模块通过调控 *OsEIL2* 下游靶基因表达介导胚芽鞘伸长的分子路径,揭示乙烯与赤霉素协同调控水稻胚芽鞘伸长的内在机制,为选育适宜直播栽培的水稻新品种提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料与主要试剂

水稻野生型 NIP, ZH11, *ein2*, *eil2-1*, *eil2-2*, *eil2-3*, *EIL2-RNAi*, *EIN2-OX*, *EIL2-OX*, *EIL2-OX-1*, *EIL2-OX-2*, *EIL2-OX-3* 由实验室保存。Eva Green Mix 购于加拿大 ABM 公司; RNA 提取试剂盒购于北京康为世纪生物科技有限公司; 反转录试剂盒购于南京诺唯赞生物科技有限公司; 植物激素 C₂H₄、GA₃、PAC 和 1-MCP 购于西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司。

1.2 试验仪器

PCR 仪(北京东胜创新生物科技有限公司); PowerPac 系列通用电泳仪(美国 Bio-Rad 公司); 7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国应用生物系统公司)。

1.3 水稻幼苗的培养和处理

将水稻种子用清水恒温 37 °C 浸种 24 h 后,倒掉多余的水分。然后置于 37 °C 继续培养,每天早晚各换 1 次水,直至种子露白。挑取萌发一致的种子种到铁架上,并将铁架放到密封的塑料盒中,放置于黑暗的培养架上,恒温 28 °C 培养,后续均在此基础上添加植物生长调节剂处理。

基本处理分为 4 组: C₂H₄ 处理(1 μL·L⁻¹)、1-MCP (1 μL·L⁻¹) 处理、GA₃ 处理(2 μmol·L⁻¹)、PAC 处

理(1 μmol·L⁻¹); PAC、GA₃ 处理对照组加入等体积无水乙醇, C₂H₄、1-MCP 处理对照组仅加入无菌水。水稻培养 2 d 后拍照,观察并记录表型,取水稻胚芽鞘用于检测赤霉素合成基因和 *EIN2/EIL1* 下游基因的表达。3 次生物学重复,每次重复处理 30 株苗。本研究所有试验均为 2025 年 3 月至 10 月在中国农业科学院作物科学研究所重大工程楼完成。

1.4 水稻生长发育状况的统计

为研究水稻种子胚芽鞘的伸长状况,统计 30 粒萌发种子生长 2 d 的胚芽鞘长度,胚芽鞘取种子破壳处至胚芽鞘尖端之间长度。本研究统计胚芽鞘长度做 3 次生物学重复试验,每次重复 30 株幼苗。

1.5 提取水稻幼苗的 RNA

取黑暗条件下恒温 28 °C 培养 2 d 长的水稻胚芽鞘 0.1 g,样品保存于 -80 °C 冰箱中,用于 RNA 提取。每个株系设置 3 个生物学重复,使用超纯 RNA 提取试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司)提取水稻胚芽鞘的 RNA,具体的操作步骤参照试剂盒说明书。

1.6 水稻 cDNA 的制备

以提取的水稻胚芽鞘总 RNA 为模板,使用反转录试剂盒(诺唯赞生物科技有限公司)制备水稻 cDNA,具体的试验步骤参照试剂盒说明书,制备的水稻 cDNA 于 -20 °C 保存备用。

1.7 实时荧光定量 PCR

本研究使用的荧光染料为 SYBR Green,使用的仪器为 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪。qPCR 反应体系(20 μL)为:模板 1 μL,上、下游引物各 1 μL, qPCR Master Mix 10 μL,双蒸水 7 μL。qPCR 反应程序为:95 °C 10 min; 95 °C 15 s, 60 °C 60 s,共 40 个循环。以水稻中的 *actin* 肌动蛋白基因作为 qPCR 反应的内参,每个样品做 3 次平行重复试验。

1.8 数据测量、处理、作图与分析

利用 Image J 软件测量水稻幼苗地上部的长度;采用 GraphPad Prism 9 软件进行数据统计分析,试验结果以“平均值±标准差”表示。组间差异采用单因素方差分析(ANOVA),显著性差异通过 Tukey 多重比较法进行检验。

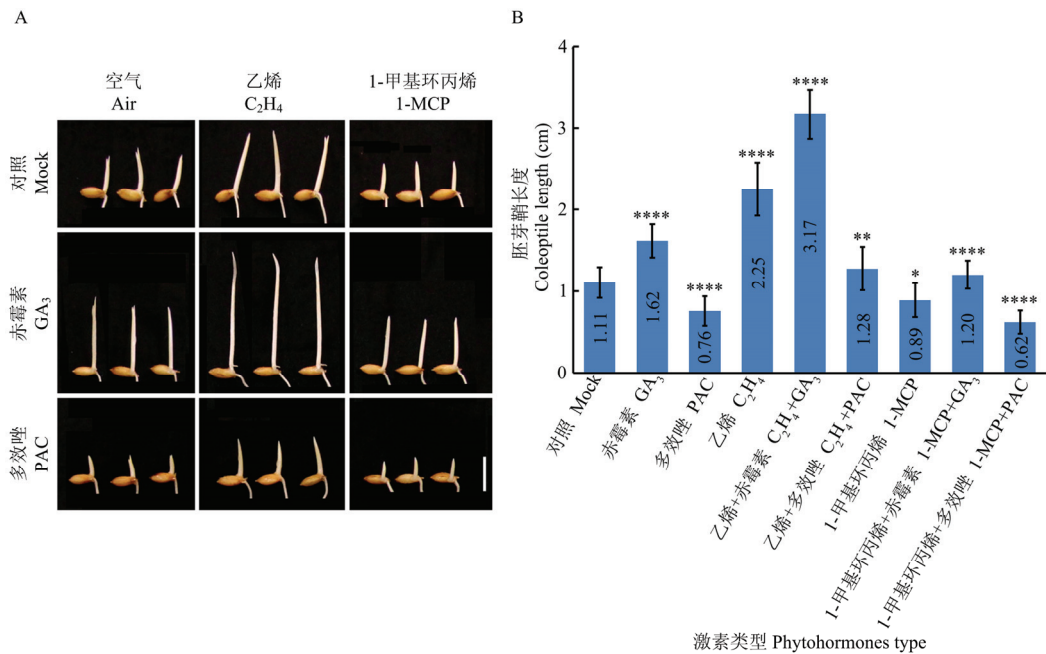
2 结果

2.1 乙烯与 GA 协同调控胚芽鞘伸长生长

乙烯(C₂H₄)和赤霉素(GA)均能促进胚芽鞘的伸长。为了探究二者在调控胚芽鞘伸长生长中的关系,本研究统计了不同植物生长调节剂处理下 NIP 的胚芽

鞘长度，试验结果表明，C₂H₄ 处理显著促进了胚芽鞘的伸长，GA₃ 处理同样表现出明显的促进效应，1-MCP、PAC 处理则强烈抑制了胚芽鞘的伸长。C₂H₄、GA₃ 共同处理时，表现出显著的协同效应，其胚芽鞘长度超过了任一激素单独处理的效果，而赤霉素合成抑制剂 PAC 和乙烯竞争性抑制剂 1-MCP 共同处理时，其对胚芽鞘的抑制超过了任一激素单独处理的效果（图 1），表明乙烯与 GA 在调控水稻胚芽鞘伸长生

长上存在协同效应。C₂H₄ 与 PAC 复合处理显示 PAC 显著抑制了乙烯的促进作用，而 GA₃ 与 1-MCP 复合处理显示 GA₃ 在一定程度上缓解了 1-MCP 的抑制效果，表明乙烯促进胚芽鞘的伸长生长需要 GA₃ 的参与，扰乱内源赤霉素合成会削弱乙烯对胚芽鞘的伸长生长的促进作用。以上结果表明乙烯与 GA₃ 均能促进水稻胚芽鞘的伸长生长，且两者在促进水稻胚芽鞘的伸长生长中可能存在相同的调控途径。



A: 不同激素处理下的 NIP 胚芽鞘表型; B: 胚芽鞘长度统计。图中显著性标记均为各处理组与对照组比较所得，*、**和****分别表示在 $P<0.05$ 、 $P<0.005$ 和 $P<0.001$ 水平差异显著。下同
A: Coleoptile phenotypes of NIP treated with different hormones; B: Statistical analysis of coleoptile length. All significance symbols in the figure represent comparisons between each treatment group and the Mock group. *, ** and **** indicate significant differences at $P<0.05$, $P<0.005$ and $P<0.001$, respectively. The same as below

图 1 不同激素处理 NIP 的胚芽鞘长度
Fig. 1 Coleoptile length of NIP treated with different hormone treatments

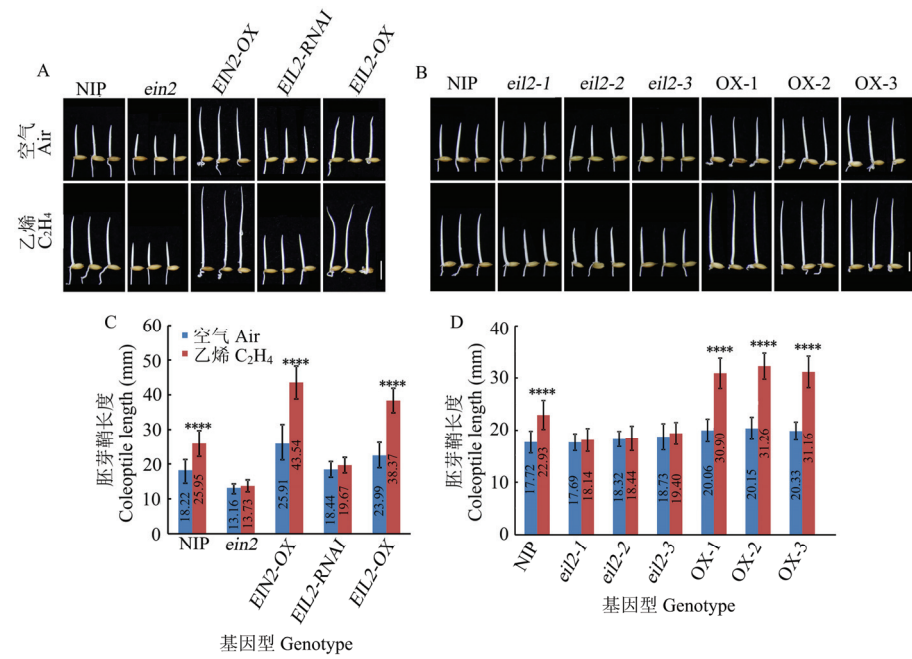
2.2 乙烯通过乙烯信号途径调控胚芽鞘伸长

为了验证乙烯信号通路核心组分在乙烯调控胚芽鞘伸长生长中的作用，对实验室已有的乙烯信号通路核心调控因子 *EIN2* 与 *EIL2* 的相关水稻材料进行乙烯处理，观察胚芽鞘的生长情况。发现在没有乙烯时，*ein2* 突变体植株的胚芽鞘长度显著短于日本晴，而 *eil2-1*、*eil2-2*、*eil2-3* 突变体植株和 *EIL2-RNAi* 植株胚芽鞘长度与日本晴相比无明显差异，过表达 *EIN2* (*EIN2-OX*) 与 *EIL2* (*EIL2-OX*、*OX-1*、*OX-2*、*OX-3*) 的植株的胚芽鞘长度显著长于日本晴。外源施加乙烯

显著促进 NIP 胚芽鞘的伸长，这种促进作用在 *ein2*、*eil2-1*、*eil2-2*、*eil2-3* 突变体植株和 *EIL2-RNAi* 中则明显被抑制，而在 *EIN2-OX*、*EIL2-OX*、*OX-1*、*OX-2*、*OX-3* 植株中则显著增强（图 2）。

2.3 赤霉素参与调控乙烯促进的胚芽鞘伸长生长

为了探究赤霉素与乙烯在调控水稻胚芽鞘伸长生长中调控关系，本研究用 GA₃ 与赤霉素合成抑制剂 PAC 处理野生型、*ein2*、*eil2* 突变体及 *EIN2*、*EIL2* 过表达材料，并观察胚芽鞘长度变化（图 3）。结果显示，外源 GA₃ 处理显著促进各基因型材料胚芽鞘的伸



A、B：乙烯处理 *EIN2*、*EIL2* 过表达和突变体材料的胚芽鞘表型
A, B: Coleoptile phenotypes of *EIN2* and *EIL2* overexpression lines and mutants with or without ethylene treatment

图 2 乙烯促进胚芽鞘的伸长生长依赖于乙烯信号通路

Fig. 2 Ethylene promotes coleoptile elongation depending on ethylene signaling pathway

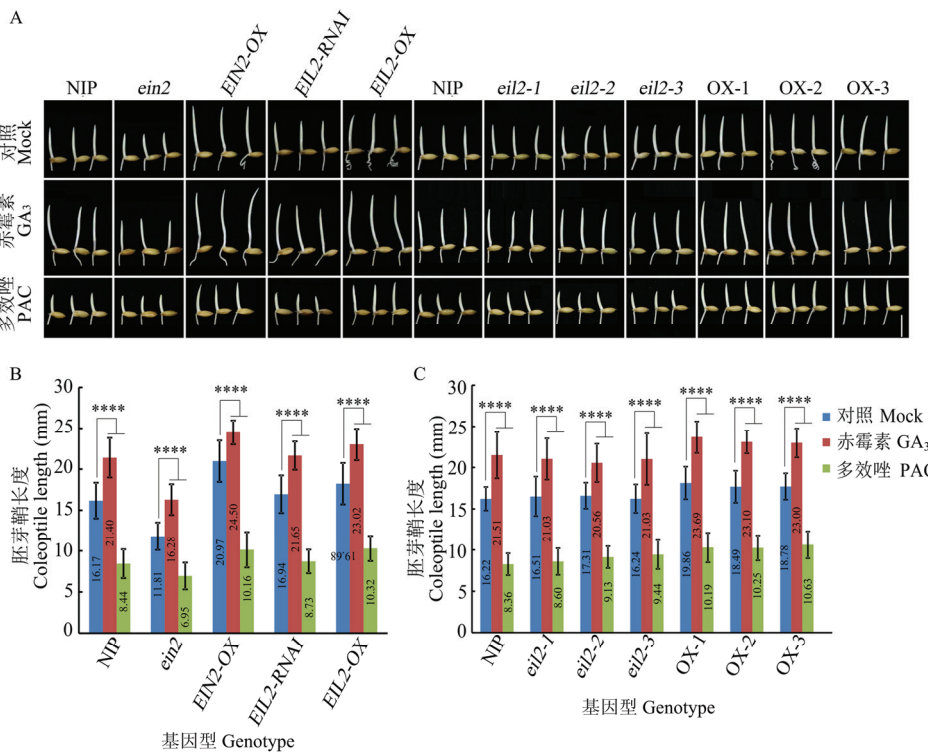


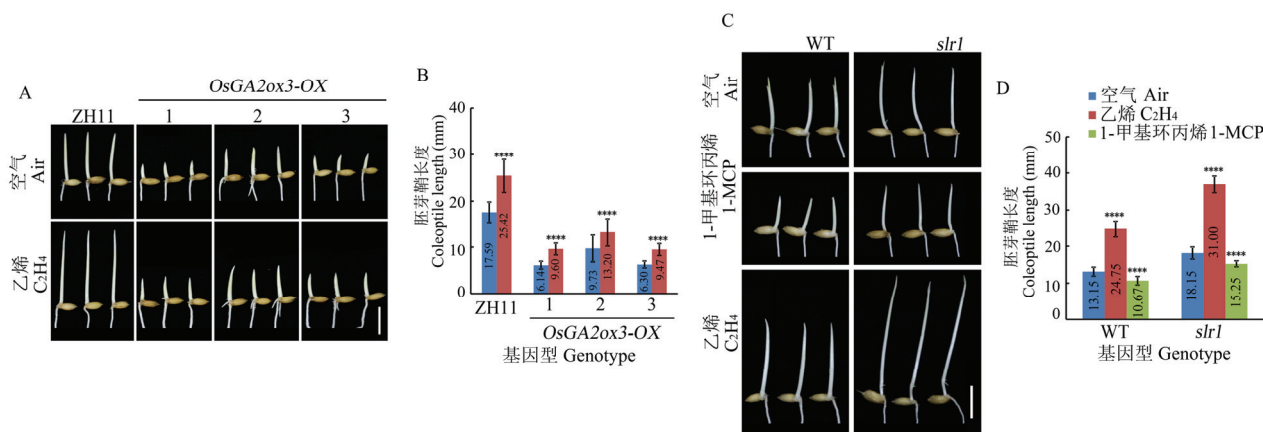
图 3 GA_3 或 PAC 处理下 *EIN2*/*EIL2* 过表达和突变体材料的胚芽鞘表型

Fig. 3 Coleoptile length of *EIN2* and *EIL2* overexpression lines and mutants under GA_3 or PAC treatment

长, 而 PAC 处理则显著抑制胚芽鞘伸长, 且 GA_3 的促进作用和 PAC 的抑制作用在野生型、*ein2*、*eil2* 突变体及 *EIN2*、*EIL2* 过表达株系中无显著差异 (图 3)。以上结果表明, 赤霉素对胚芽鞘伸长的促进作用不依赖于乙烯信号核心组分 *EIN2* 和 *EIL2*, 结合图 1 中乙烯和赤霉素协同调控胚芽鞘的伸长生长的结果, 证明赤霉素可能作用于 *EIL2* 下游组分来调控胚芽鞘的伸长生长。

为了进一步探究赤霉素与乙烯在调控水稻胚芽鞘伸长生长中调控关系, 对野生型 ZH11 及 3 个 *OsGA2ox3* 过表达株系 (*OsGA2ox3-ox-1*、*OsGA2ox3-ox-2*、*OsGA2ox3-ox-3*) 进行乙烯处理。*OsGA2ox3* 属于 *GA2ox* 家族, 其功能是将具有生物活性的赤霉素转化为无活性形式, 从而降低植物体内活性赤霉素水平^[28]。结果发现, 过表达 *OsGA2ox3* 显著抑制了胚芽鞘的伸长 (图 4-A、B), 表明降低内源活性赤霉素含量导致胚芽鞘

的生长受到了抑制, 从而进一步证明了赤霉素对胚芽鞘的伸长生长的促进作用。外源 C_2H_4 处理促进了野生型和 *OsGA2ox3* 过表达株系胚芽鞘的伸长, 但这种促进作用在 *OsGA2ox3* 过表达植株中要弱于野生型 (图 4-A、B), 表明降低内源赤霉素水平削弱了乙烯促进的胚芽鞘生长, 赤霉素可能作用于乙烯信号下游途径来调控胚芽鞘的生长。进一步用乙烯和 1-MCP 处理野生型 (WT) 及赤霉素信号通路的核心负调控因子 *OsSLR1* 的功能缺失突变体 *slr1*, 并观察胚芽鞘长度变化 (图 4-C、D)。结果发现, *slr1* 突变体的胚芽鞘长度显著长于野生型, 1-MCP 处理显著抑制了 WT 和 *slr1* 突变体胚芽鞘的伸长, 而乙烯处理则促进了两者的胚芽鞘伸长, 且对 *slr1* 突变体的促进效果更为显著 (图 4-C、D), 表明 SLR1 参与调控乙烯促进的胚芽鞘伸长生长, 且 SLR1 可能是乙烯和赤霉素协同调控胚芽鞘伸长生长的互作节点。



A: 乙烯处理 ZH11 和 *OsGA2ox3* 过表达植株胚芽鞘表型; B: ZH11 和 *OsGA2ox3* 过表达植株胚芽鞘长度统计; C: 乙烯和 1-MCP 处理 WT 和 *slr1* 突变体胚芽鞘表型; D: WT 和 *slr1* 突变体胚芽鞘长度统计

A: Coleoptile phenotypes of ZH11 and *OsGA2ox3* overexpression plants treated with ethylene; B: Statistical analysis of coleoptile length in ZH11 and *OsGA2ox3* overexpression plants; C: Coleoptile phenotypes of WT and *slr1* mutants treated with ethylene and 1-MCP; D: Statistical analysis of coleoptile length in WT and *slr1* mutants

图 4 乙烯和 1-MCP 处理胚芽鞘长度

Fig. 4 Coleoptile length under ethylene and 1-MCP treatment

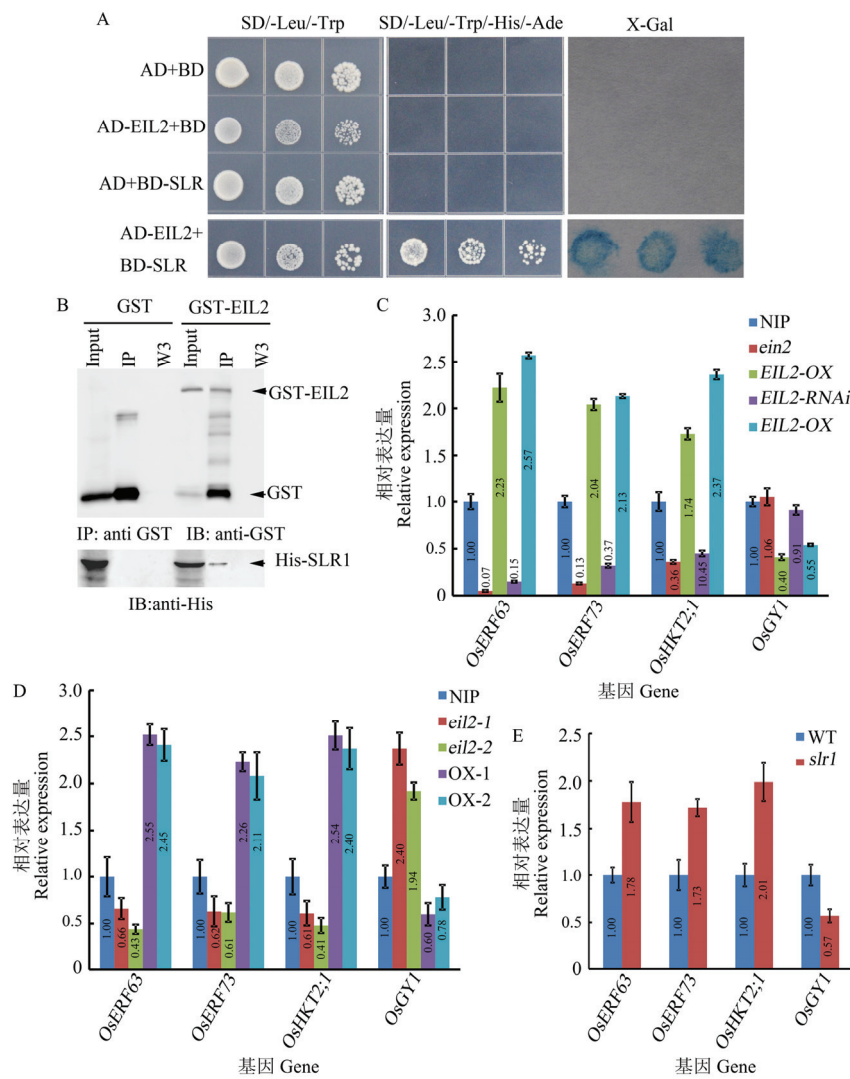
2.4 SLR1 与 EIL2 互作来共同调控下游基因表达

已有研究表明 SLR1 通过与转录因子互作来调节其结合或转录活性, 从而调控植物的生长发育进程^[30-31]。本研究发现 SLR1 参与调控乙烯促进的胚芽鞘伸长生长, 且乙烯信号核心组分 *EIN2* 和 *EIL2* 突变体能够正常响应 GA_3 和 PAC 处理, 因此推测 SLR1 可能与 *EIL2* 互作来共同调控下游信号途径, 从而影响胚

芽鞘的伸长。为了验证这一猜想, 首先通过酵母双杂交 (Y2H) 试验在酵母体内验证二者的互作。结果如图 5-A 所示: 在 SD/-Leu/-Trp 培养基上, 所有转化组合均能正常生长, 证明质粒成功转入酵母细胞; 而在 SD/-Leu/-Trp/-His/-Ade 培养基上, 仅共转化 AD-EIL2 与 BD-SLR 的酵母菌株能够正常生长, 且在 X-Gal 显色试验中呈现明显的 β -半乳糖苷酶活性 (蓝色菌落),

而共转化 AD+BD、AD-EIL2+BD、AD+BD-SLR1 的酵母菌株不能在 SD/-Leu/-Trp/-His/-Ade 培养基上生长,表明 EIL2 与 SLR1 在酵母细胞内存在相互作用。在此基础上,进一步通过 Pull-down 试验验证二者的互作(图 5-B)。以 GST 标签蛋白为阴性对照,GST-EIL2 融合蛋白作为诱饵蛋白,His-SLR1 为猎物蛋白进行体外孵育与亲和捕获。Western blot 结果显示: anti-GST 抗体检测证实在 Input 及 IP 样品中均能检测到 GST 与 GST-EIL2 蛋白,表明 GST 与 GST-EIL2

蛋白被有效捕获,W3 洗涤样品无明显信号,证明洗涤充分、非特异性结合已被去除; anti-His 抗体检测结果显示,仅在 Input 和 GST-EIL2 组的 IP 样品中可检测到 His-SLR1 的特异性条带,GST 对照组 IP 样品中无对应信号,表明 EIL2 与 SLR1 存在直接的物理相互作用。综合酵母双杂交与 Pull-down 试验结果,本研究证实 SLR1 与 EIL2 存在特异性的相互作用,赤霉素与乙烯信号可通过 OsSLR1-OsEIL2 模块调控胚芽鞘伸长生长。



A: 酵母双杂交试验验证 EIL2 与 SLR1 的互作; B: GST pull-down 试验验证 EIL2 与 SLR1 的体外直接结合
A: Yeast two-hybrid assay confirms EIL2-SLR1 interaction; B: GST pull-down assay verifies their direct binding *in vitro*

图 5 EIL2 与 SLR1 互作及乙烯响应基因在 *EIN2*、*EIL2*和 *SLR1* 不同株系中的表达情况

Fig. 5 The interaction of EIL2 with SLR1 and the expression profiles of ethylene-responsive genes in different lines of EIN2, EIL2, and SLR1

为了研究 SLR1 与 EIL2 互作对下游信号通路的影响,本研究利用 qRT-PCR 检测了乙烯 marker 基因 *OsERF63*, *OsERF73* 及 EIL2 下游靶基因 *OsHKT2;1*、*OsGY1* 的表达(图 5-C—E)。结果表明, *eil2*、*ein2* 突变体株系中 *OsERF63*、*OsERF73* 和 *OsHKT2;1* 3 个基因的表达水平均显著低于 NIP, 而 *OsGY1* 的表达水平高于 NIP; 在 *OsEIL2*、*OsEIN2* 过表达株系中 *OsERF63*、*OsERF73* 和 *OsHKT2;1* 3 个基因的表达水平均显著高于 NIP, 而 *OsGY1* 的表达水平低于 NIP(图 5-C、D)。在 *slr1* 突变体中, *OsOsERF63*、*OsOsERF73* 及 *OsHKT2;1* 的表达水平显著高于 WT, 而 *OsGY1* 的表达则显著低于 WT(图 5-E), 与 *OsEIL2*、*OsEIN2* 过表达的效果类似。以上结果表明, OsSLR1 与 OsEIL2 拮抗调控乙烯信号途径下游通路, OsSLR1 可能通过与 OsEIL2 互作来抑制 OsEIL2 的转录活性, 进而调控乙烯信号途径下游信号通路和胚芽鞘的生长。

3 讨论

3.1 乙烯与 GA 调控胚芽鞘伸长生长存在共同的调控通路

胚芽鞘的快速伸长是单子叶植物幼苗成功破土并成功建立光合能力的关键, 直接决定作物出苗效率与后期群体产量, 尤其在水稻直播、机械化深播等轻简化栽培模式推广的当下, 解析胚芽鞘伸长的调控机制, 对培育耐深播、出苗整齐的水稻品种具有重要的理论与生产实践意义。乙烯与赤霉素作为调控植物生长发育的核心激素, 二者在胚芽鞘伸长中的单独作用已得到证实, 但二者的作用模式及分子调控网络仍不完善。本研究以水稻为研究材料, 探究了乙烯与赤霉素协同调控水稻胚芽鞘伸长的机制, 为水稻直播栽培与分子育种提供了新的靶点与思路。

本研究通过外源激素及抑制剂处理试验证实乙烯与 GA₃ 单独处理均能显著促进水稻胚芽鞘的伸长, 二者共同处理时呈现显著的协同效应, 其促进效果显著优于单一激素处理; 而乙烯竞争性抑制剂 1-MCP 与 GA 合成抑制剂 PAC 单独处理均强烈抑制胚芽鞘伸长, 且二者联合处理的抑制效应更显著。Lu 等^[27]报道乙烯-GA 信号级联调控水稻中胚轴伸长, 说明乙烯-GA 信号通过多方面促进幼苗出土。本研究发现二者之间并非简单的级联模式, 而是存在更加复杂的协同调控, 研究发现 PAC 可部分解除乙烯的促进作用, GA₃ 也可部分缓解 1-MCP 的抑制效应, 暗示二者可能通过相同的信号通路共同推动胚芽鞘伸长。进一步

qRT-PCR 检测发现, 乙烯通过 EIN2/EIL 模块正调控 *OsOsERF63*、*OsOsERF73* 及 *OsHKT2;1* 的表达, 同时负调控 *OsGY1* 的表达; 而赤霉素信号通路负调控因子 SLR1 负调控 *OsOsERF63*、*OsOsERF73* 及 *OsHKT2;1* 的表达, 同时正调控 *OsGY1* 的表达, 进一步证实两者在胚芽鞘生长中存在相同的调控途径。Xiong 等^[15]发现 *OsGY1* 介导的茉莉酸生物合成位于乙烯信号途径下游调控胚芽鞘的伸长, 结合本研究结果可推测, 乙烯和赤霉素可能协同调控 *OsGY1* 介导的茉莉酸生物合成来调控胚芽鞘的伸长。

3.2 EIL2-SLR1 模块在改善胚芽鞘伸长促进幼苗出土方面的育种应用潜力

赤霉素信号通路的核心负调控因子 SLR1 (DELLA 蛋白) 在乙烯-GA 协同调控中的枢纽作用, 是本研究的重要创新点。SLR1 作为植物激素信号整合的关键节点^[32], 其经典功能是通过自身降解解除对 GA 响应基因的抑制; 然而本研究发现, *OsSLR1* 还可通过调控乙烯信号通路下游基因的表达, 负向调控乙烯对胚芽鞘伸长的促进作用——*ossrlr1* 功能缺失突变体中, 乙烯诱导的胚芽鞘伸长效应更显著, 且 *OsERF63*、*OsERF73* 及 *OsHKT2;1* 的表达量显著升高, *OsGY1* 的表达量显著降低, 这与 *EIN2* 和 *EIL2* 过表达的效果类似, 意味着 SLR1 可能是整合乙烯和赤霉素协同调控胚芽鞘伸长生长的节点, 这一发现拓展了 DELLA 蛋白的功能, 证实其不仅参与 GA 信号转导, 还可通过与乙烯信号通路的交互, 整合两种激素的调控作用。Hirano 等^[33]研究发现 GA 积累可通过 GA-GID1-DELLA 三聚体形成, 促进 SLR1 泛素化降解。本研究进一步通过酵母双杂交与 pull-down 试验证实, SLR1 与 EIL2 存在直接的互作, 推测 SLR1 可能通过与 EIL2 结合, 抑制其下游转录因子的转录活性, 从而抑制乙烯信号的传递。而 GA 介导的 SLR1 降解可解除这种抑制, 实现乙烯信号的增强, *ossrlr1* 突变增强乙烯敏感性的研究, 进一步印证了二者的协同关系。*OsGA2ox3* 作为 GA 失活基因, 其过表达可显著降低体内活性 GA 水平, 本研究发现, *OsGA2ox3* 过表达株系中, 乙烯促进胚芽鞘伸长的效果显著弱于野生型, 推测植物内源 GA 水平越高, 植物对乙烯的敏感性越强。

结合当前水稻生产实际, 直播栽培因省工节本、生育期短等优势, 已成为水稻生产的主流模式之一, 但土壤不平整、覆土厚度不均、干旱等问题, 常导致水稻出苗不齐、成苗率低, 而胚芽鞘长度是影响直播

稻出苗能力的核心性状——胚芽鞘越长, 幼苗破土能力越强, 越能适应深播及逆境环境。本研究揭示的乙烯-GA 协同调控机制, 为培育长胚芽鞘水稻品种提供了明确的分子靶点: 可通过调控 *EIN2*、*EIL2* 基因的过表达, 同时结合 *SLR1* 基因的适度沉默, 一方面增强乙烯信号传递, 另一方面削弱 *SLR1* 的抑制作用, 协同促进胚芽鞘伸长; 也可通过抑制 *OsGA2ox3* 的表达, 减少活性 GA 的降解, 增强植株对乙烯的敏感性, 从而提升幼苗破土能力。此外, 本研究发现的 *OsOsERF63*、*OsOsERF73* 等下游响应基因, 也可作为分子标记, 用于水稻胚芽鞘长度性状的分子标记辅助育种, 加快长胚芽鞘品种的培育进程, 为解决直播稻出苗难题提供技术支撑。

综上, 本研究系统揭示了乙烯与赤霉素协同调控水稻胚芽鞘伸长: 乙烯经 *EIN2/EIL* 通路激活 *OsERF63*、*OsERF73* 等下游基因, 正向调控胚芽鞘伸长; 赤霉素诱导 *SLR1* 蛋白降解, 解除 *SLR1* 对细胞伸长基因的抑制, 同时也解除 *SLR1* 对 *OsEIL2* 的抑制以放大乙烯信号, 二者依托 *EIL2-SLR1* 模块协同调控下游功能基因表达, 促进胚芽鞘伸长, 提升水稻幼苗破土能力与直播出苗效率。

4 结论

乙烯和赤霉素是 2 种重要的植物激素, 共同促进胚芽鞘伸长生长, 乙烯和赤霉素通过 *EIL2-SLR1* 模块调控乙烯下游关键基因的表达促进水稻胚芽鞘的伸长生长, 进而改善幼苗破土能力、提升直播水稻出苗率。

参考文献 References

- [1] 许晨慧. 玉米胚芽鞘生长的生理和蛋白质组学研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2018.
- [2] Xu C H. Physiological and protein omics study on the growth of maize coleoptile [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [3] Qiao J Z, Quan R D, Wang J, Li Y X, Xiao D L, Zhao Z H, Huang R F, Qin H. *OsEIL1* and *OsEIL2*, two master regulators of rice ethylene signaling, promote the expression of *ROS* scavenging genes to facilitate coleoptile elongation and seedling emergence from soil [J]. *Plant Communications*, 2024, 5(3): 100771.
- [4] Rebetzke G J, Richards R A, Fettell N A, Long M, Condon A G, Forrester R I, Botwright T L. Genotypic increases in coleoptile length improves stand establishment, vigour and grain yield of deep-sown wheat [J]. *Field Crops Research*, 2007, 100(1): 10-23.
- [5] Yu S M, Lee H T, Lo S F, Ho T D. How does rice cope with too little oxygen during its early life? [J]. *The New Phytologist*, 2021, 229(1): 36-41.
- [6] 陈丽, 孙建昌. 水稻种子特性与直播栽培出苗状况的关系研究[J]. *东北农业科学*, 2024, 49(5): 1-5.
- [7] Chen L, Sun J C. The relationship between seed characteristics and seedling emergence in direct seeding cultivation [J]. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2024, 49(5): 1-5. (in Chinese)
- [8] Lollato R, Pradella L O, Cuell A R, others. Coleoptile length of winter wheat varieties 2025: MF3612[R]. Kansas State University, 2025.
- [9] Hu Y M, Vandenbussche F, Van Der Straeten D. Regulation of seedling growth by ethylene and the ethylene - auxin crosstalk [J]. *Planta*, 2017, 245(3): 467-489.
- [10] Yin C C, Zhao H, Ma B, Chen S Y, Zhang J S. Diverse roles of ethylene in regulating agronomic traits in rice [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1676.
- [11] Qin H, He L N, Huang R F. The coordination of ethylene and other hormones in primary root development [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 874.
- [12] Zhao H, Yin C C, Ma B, Chen S Y, Zhang J S. Ethylene signaling in rice and *Arabidopsis*: New regulators and mechanisms [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, 63(1): 102-125.
- [13] Ma B, He S J, Duan K X, Yin C C, Chen H, Yang C, Xiong Q, Song Q X, Lu X, Chen H W, Zhang W K, Lu T G, Chen S Y, Zhang J S. Identification of rice ethylene-response mutants and characterization of *MHZ7/OsEIN2* in distinct ethylene response and yield trait regulation [J]. *Molecular Plant*, 2013, 6(6): 1830-1848.
- [14] Ma N N, Wang Y, Qiu S C, Kang Z H, Che S G, Wang G X, Huang J L. Overexpression of *OsEXPA8*, a root-specific gene, improves rice growth and root system architecture by facilitating cell extension [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(10): e75997.
- [15] Zhong S W, Shi H, Xue C, Wei N, Guo H W, Deng X W. Ethylene-orchestrated circuitry coordinates a seedling's response to soil cover and etiolated growth [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(11): 3913-3920.
- [16] Shi H, Liu R L, Xue C, Shen X, Wei N, Deng X W, Zhong S W. Seedlings transduce the depth and mechanical pressure of covering soil using *COP1* and ethylene to regulate *EBF1/EBF2* for soil emergence [J]. *Current Biology*, 2016, 26(2): 139-149.
- [17] Xiong Q, Ma B, Lu X, Huang Y H, He S J, Yang C, Yin C C, Zhao H, Zhou Y, Zhang W K, Wang W S, Li Z K, Chen S Y, Zhang J S. Ethylene-inhibited jasmonic acid biosynthesis promotes mesocotyl/

- coleoptile elongation of etiolated rice seedlings [J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(5): 1053-1072.
- [16] Kefford N P. Auxin-gibberellin interaction in rice coleoptile elongation [J]. *Plant Physiology*, 1962, 37(3): 380-386.
- [17] 刘婧, 柳艳梅, TAKANO Makoto, 王宝山, 谢先芝. 光敏色素影响赤霉素调控的水稻幼苗光形态建成特征 [J]. *科学通报*, 2010, 55(24): 2384-2390.
- Liu J, Liu Y M, Makoto T, Wang B S, Xie X Z. Involvement of phytochromes in gibberellin-mediated photomorphogenesis in rice seedlings [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2010, 55(24): 2384-2390. (in Chinese)
- [18] 唐娜, 姜莹, 何蓓如, 胡银岗. 赤霉素敏感性不同矮秆基因对小麦胚芽鞘长度和株高的效应[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(11): 3774-3784. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2009.11.003.
- Tang N, Jiang Y, He B R, Hu Y G. Effects of dwarfing genes of *rht-B1b*, *rht-D1b* and *Rht8* with different response to GA3 on coleoptile length and plant height of wheat [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(11): 3774-3784. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2009.11.003. (in Chinese)
- [19] Cleland R, McCombs N. Gibberellic acid: Action in barley endosperm does not require endogenous auxin [J]. *Science*, 1965, 150(3695): 497-498.
- [20] 费思恬, 侯鹰翔, 李兰, 张超. 水稻赤霉素信号负调控因子 SLR1 的生物学功能及其调控网络[J]. *生物技术通报*, 2026, 42(1): 13-30.
- Fei S T, Hou Y X, Li L, Zhang C. Biological functions and regulatory network of SLR1, a negative regulator of gibberellin signaling in rice [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2026, 42(1): 13-30. (in Chinese)
- [21] 黄先忠, 蒋才富, 廖立力, 傅向东. 赤霉素作用机理的分子基础与调控模式研究进展[J]. *植物学通报*, 2006, 23(5): 499-510.
- Huang X Z, Jiang C F, Liao L L, Fu X D. Progress on molecular foundation of GA biosynthesis pathway and signaling [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2006, 23(5): 499-510. (in Chinese)
- [22] Li X X, Xie Z Z, Qin T, Zhan C H, Jin L, Huang J L. The SLR1-OsMADS23-D14 module mediates the crosstalk between strigolactone and gibberellin signaling to control rice tillering [J]. *New Phytologist*, 2025, 246(5): 2137-2154.
- [23] Dahal P, Wang Y, Hu J H, Park J, Forker K, Zhang Z L, Sharma K, Borgnia M J, Sun T P, Zhou P. Structural insights into proteolysis-dependent and-independent suppression of the master regulator DELLA by the gibberellin receptor [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2025, 122(32): e2511012122.
- [24] Ueguchi-Tanaka M, Nakajima M, Katoh E, Ohmiya H, Asano K, Saji S, Xiang H Y, Ashikari M, Kitano H, Yamaguchi I, Matsuoka M. Molecular interactions of a soluble gibberellin receptor, GID1, with a rice DELLA protein, SLR1, and gibberellin [J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(7): 2140-2155.
- [25] Islam S, Park K, Xia J, Kwon E, Kim D Y. Structural insights into gibberellin-mediated DELLA protein degradation [J]. *Molecular Plant*, 2025, 18(7): 1210-1221.
- [26] An F Y, Zhang X, Zhu Z Q, Ji Y S, He W R, Jiang Z Q, Li M Z, Guo H W. Coordinated regulation of apical hook development by gibberellins and ethylene in etiolated *Arabidopsis* seedlings [J]. *Cell Research*, 2012, 22(5): 915-927.
- [27] Lü Y S, Dong X L, Niu S P, Cao R J, Shao G N, Sheng Z H, Jiao G A, Xie L H, Hu S K, Tang S Q, Wei X J, Hu P S. An orchestrated ethylene-gibberellin signaling cascade contributes to mesocotyl elongation and emergence of rice direct seeding [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2024, 66(7): 1427-1439.
- [28] Qin H, Pandey B K, Li Y X, Huang G Q, Wang J, Quan R D, Zhou J H, Zhou Y, Miao Y C, Zhang D B, Bennett M J, Huang R F. Orchestration of ethylene and gibberellin signals determines primary root elongation in rice [J]. *The Plant Cell*, 2022, 34(4): 1273-1288.
- [29] Dong C Q, Cheng X L, Yuan M, Zhang Z, Wang Y Q, Liu J, Song L, Wang H R, Jiang Y J, Liu X Q, Wu J H, Yao Y Y, Ni Z F, Sun Q X, Chai L L, Liu J. Phase separation of *Rht8*-derived RNHL1 integrates ethylene and gibberellin signaling to regulate wheat internode elongation [J]. *The Plant Cell*, 2026, 38(4): koag081.
- [30] Mo W P, Tang W J, Du Y X, Jing Y J, Bu Q Y, Lin R C. PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR-LIKE14 and SLENDER RICE1 interaction controls seedling growth under salt stress [J]. *Plant Physiology*, 2020, 184(1): 506-517.
- [31] Wu H, He Q, He B, He S Y, Zeng L J, Yang L B, Zhang H, Wei Z R, Hu X M, Hu J, Zhang Y, Shang L G, Wang S K, Cui P, Xiong G S, Qian Q, Wang Q. Gibberellin signaling regulates lignin biosynthesis to modulate rice seed shattering [J]. *The Plant Cell*, 2023, 35(12): 4383-4404.
- [32] Garg R, Tyagi A K, Jain M. Microarray analysis reveals overlapping and specific transcriptional responses to different plant hormones in rice [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2012, 7(8): 951-956.
- [33] Hirano K, Asano K, Tsuji H, Kawamura M, Mori H, Kitano H, Ueguchi-Tanaka M, Matsuoka M. Characterization of the molecular mechanism underlying gibberellin perception complex formation in rice [J]. *The Plant Cell*, 2010, 22(8): 2680-2696.

(责任编辑 李秋雨)