

引用格式:

刘亚男, 荆朦, 时会影, 于海涛, 韩玉珍. 拟南芥RH31在调控种子萌发及幼苗生长发育中的作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2026, 52(1): 81–88.

LIU Y N, JING M, SHI H Y, YU H T, HAN Y Z. The role of RH31 in regulating seed germination and seedling growth and development in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2026, 52(1): 81–88.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 拟南芥RH31在调控种子萌发及幼苗生长发育中的作用

刘亚男<sup>1,2</sup>, 荆朦<sup>1</sup>, 时会影<sup>1</sup>, 于海涛<sup>2</sup>, 韩玉珍<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业大学生物学院, 北京 100193; 2. 潍坊市农业科学院小麦研究所, 山东 潍坊 261071)

**摘要:** 为解析RNA解旋酶(RHs)家族成员RH31功能缺失突变体 $rh31$ 生长缺陷表型的分子机制, 明确RH31在植物生长发育中的调控作用, 本研究以野生型拟南芥Col-0为对照, 对正常培养条件下 $rh31$ 及 $PROAtCAPE3$ 缺失纯合突变体 $atcape3$ 的种子萌发及幼苗生长表型进行统计分析; 通过外源添加乙烯前体(ACC)、乙烯信号通路抑制剂 $AgNO_3$ 以及6-苄氨基嘌呤(6-BA)、吲哚乙酸(IAA)、赤霉素(GA)等多种植物激素, 观察植株生长表型, 并检测植物信号通路相关基因表达量, 以探究 $PROAtCAPE3$ 及植物激素与 $rh31$ 突变体生长缺陷表型的关系。结果表明, 突变体 $atcape3$ 种子萌发势降低, 其种子萌发表型与 $rh31$ 的一致, 说明 $rh31$ 的种子萌发势降低可能是其 $PROAtCAPE3$ 的mRNA水平降低引起的。此外, 相较于Col-0,  $rh31$ 突变体对外源ACC及 $AgNO_3$ 的敏感性降低, 且其体内乙烯含量升高, 与 $rh31$ 突变体主根生长减弱的表型具有显著相关性;  $rh31$ 突变体内ABA信号通路增强, 与其萌发势降低的表型相符。综上可知, RH31可能通过影响拟南芥体内 $PROAtCAPE3$ 表达量及植物激素乙烯的含量和脱落酸信号通路调控植物生长发育。

**关键词:** 植物激素; RH31; 种子萌发; 生长发育

中图分类号: Q945.33

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2026)01-0081-08

## The role of RH31 in regulating seed germination and seedling growth and development in *Arabidopsis thaliana*

LIU Yanan<sup>1,2</sup>, JING Meng<sup>1</sup>, SHI Huiying<sup>1</sup>, YU Haitao<sup>2</sup>, HAN Yuzhen<sup>1\*</sup>

(1. College of Biology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Wheat Research Institute, Weifang Academy of Agricultural Sciences, Weifang, Shandong 261071, China)

**Abstract:** To elucidate the molecular mechanism underlying the growth-defective phenotype of  $rh31$ , a loss-of-function mutant of the RNA helicase(RH) family member RH31, and to comprehensively understand the role of RH31 in plant growth and development, the wild-type *Arabidopsis thaliana* Col-0 was used as the control, and seed germination and seedling growth phenotypes of  $rh31$  and  $PROAtCAPE3$  homozygous knockout mutants  $atcape3$  under normal culture conditions were statistically analyzed. The growth phenotypes of  $rh31$  and Col-0 seedlings were observed by exogenous application of ethylene precursor ACC, ethylene signaling pathway inhibitor  $AgNO_3$ , 6-benzylaminopurine(6-BA), indole-3-acetic acid(IAA) and gibberellin(GA). The expression levels of genes related to plant signal pathways were detected to determine the relationship between  $PROAtCAPE3$ , plant hormones and the growth-defective phenotype of the  $rh31$ . The results showed that compared with Col-0, the germination potential of  $atcape3$  was reduced, which was consistent with the seed germination phenotype of  $rh31$ . It was indicated that the decreased germination potential of  $rh31$  might be caused by the decreased mRNA levels of  $PROAtCAPE3$ . In addition, the  $rh31$  mutant was found to exhibit

收稿日期: 2025-05-28

修回日期: 2026-02-15

基金项目: 山东省青年科技人才托举工程项目(SDAST2024QTB007); 国家自然科学基金项目(31570254); 山东省重点研发计划项目(2024LZGC034-4)

作者简介: 刘亚男(1990—), 女, 山东滨州人, 博士, 高级农艺师, 主要从事小麦分子育种及高效栽培技术研究, liuyan0209@163.com; \*通信作者, 韩玉珍, 博士, 教授, 主要从事植物生理学与生物化学研究, hanyuzhen@cau.edu.cn

decreased sensitivity to exogenously applied ACC and AgNO<sub>3</sub>, accompanied by elevated endogenous ethylene content, which was significantly consistent with the shorter primary root lengths of *rh31*. Moreover, the ABA synthesis and signal transduction pathway in *rh31* were enhanced, which was consistent with its phenotype of reduced germination potential. In conclusion, RH31 may regulate plant growth and development in *Arabidopsis thaliana* by modulating the transcript level of *PROAtCAPE3*, the endogenous ethylene content, and the ABA signaling pathway.

**Keywords:** plant hormones; RH31; seed germination; growth and development

RNA解旋酶(RNA helicases, RHs)是在RNA代谢过程中发挥重要作用的一类高度保守的酶<sup>[1]</sup>。根据序列结构, RHs可分为6个超家族, 其中SF2为最大的超家族, 主要由DEAD-box RHs组成<sup>[2]</sup>。DEAD-box RHs广泛参与RNA代谢的各个过程, 并在病毒侵染、肿瘤形成、植物生长发育以及逆境适应等生理过程中发挥重要调控作用<sup>[3-6]</sup>。

RH31是DEAD-box RHs超家族成员之一。研究表明, 盐胁迫条件下, RH31定位于应激颗粒(SGs), 通过调控*PROAtCAPE3*的转录本水平, 正向调控拟南芥幼苗的耐盐性<sup>[6]</sup>。RH31功能缺失突变体*rh31*在正常条件下表现为主根长度缩短、生物量降低, 而过表达株系则表现为主根伸长、生物量增加<sup>[6]</sup>, 说明RH31参与调节拟南芥幼苗的生长发育。

已有研究表明, DEAD-box RNA解旋酶可通过植物激素信号通路调节植物生长发育。HSU等<sup>[7]</sup>发现拟南芥AtRH57突变体*rh57*表现为幼苗生长迟缓表型, 且AtRH57在种子萌发及幼苗生长阶段参与脱落酸信号通路介导的糖类应答反应; 番茄内42个SIDEAD基因的转录水平与植物激素信号密切相关, 其中SIDEAD32受ABA和IAA诱导上调, SIDEAD32受GA3诱导上调, SIDEAD36、SIDEAD40和SIDEAD41受SA诱导上调<sup>[8]</sup>; 菊花中DEAD-box RNA解旋酶基因*CmRH56*通过调控赤霉素(GA)分解代谢基因*CmGA2ox6*的表达, 介导GA的失活, 进而影响根茎生长<sup>[9]</sup>。

作为植物激素信号通路的重要成员, 脱落酸(ABA)在种子成熟阶段积累, 调控种子发育与萌发进程<sup>[10]</sup>。在ABA信号通路中, ABI1/ABI2磷酸酶通过控制SnRK2蛋白激酶活性, 介导ABA信号转导; ABI3和ABI4转录因子则参与胚胎基因表达调控及种子对ABA的敏感性调节<sup>[11]</sup>, *abi3*突变体种子休眠度降低, 萌发时间提前; *abi5*突变体种子萌发对ABA处理不敏感<sup>[11]</sup>; 研究<sup>[12]</sup>表明, ABI4与ABI5及相关bZIP转录因子具有协同效应, 且ABI4和bZIPs具有功能相似性。

乙烯作为气态植物激素, 可以抑制细胞分裂、促进果实成熟和脱落, 并参与植物逆境适应<sup>[13]</sup>。乙烯可正向调控多种植物种子萌发, 并调节植物在黑暗及光照条件下的生长。乙烯处理可诱导黄化拟南芥幼苗产生下胚轴缩短、横向增粗及顶端弯钩增大的三重反应表型, 其对主根生长的抑制作用部分是由植物激素的交联反应介导的<sup>[14-15]</sup>。在乙烯信号转导中, 乙烯受体与三重反应因子EIN2结合, 通过EIN3/EIN3-like(EIL)转录因子启动乙烯反应因子(ERFs)的表达, 进而调控靶基因转录。

RNA解旋酶家族成员RH31已被证实通过调控*PROAtCAPE3*的转录本水平正向调控拟南芥幼苗对盐胁迫的响应。然而, 其在正常生长条件下的调控机制仍不明确。本课题组前期研究结果表明, 正常生长条件下*rh31*突变体表现出主根缩短、生物量降低的生长缺陷, 且RH31缺失导致*PROAtCAPE3*表达量明显降低。为探究RH31是否通过*PROAtCAPE3*及激素信号通路协同调控拟南芥生长发育, 本研究首先比较*rh31*与*PROAtCAPE3*缺失纯合突变体(*atcape3*)的种子萌发及幼苗生长表型, 明确*PROAtCAPE3*对RH31调控表型的贡献; 其次, 通过外源施加乙烯前体(ACC)、乙烯信号抑制剂(AgNO<sub>3</sub>)及脱落酸(ABA)等植物激素, 分析*rh31*突变体的激素响应特性; 最后, 检测激素信号通路关键基因的表达水平, 探究*PROAtCAPE3*及植物激素与*rh31*突变体生长缺陷表型的关系, 以为后续解析RNA解旋酶家族成员的功能提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以模式植物拟南芥为试验材料, 所用野生型为Columbia-0(Col-0)生态型。

以生长7~8 d的*rh31*及Col-0拟南芥幼苗为材料提取总RNA, 反转录合成cDNA后将其作为实时定

量PCR模板,对植物激素信号通路相关基因进行表达分析,内参基因为*AT4G34270*,内参基因及目的基因引物序列见表1。

表1 实时定量PCR引物

Table 1 Real-time quantitative PCR primers	
引物	引物序列(5'—3')
<i>AT4G34270</i> -qLP	GTGAAAACGTGGAGAGAAGCAA
<i>AT4G34270</i> -qRP	TCAACTGGATACCCTTTTCGCA
<i>RH31</i> -qLP	TGGAAGGCTCAAAGACCATATC
<i>RH31</i> -qRP	CCTTGCGAAAGCCCATATCTA
<i>ABI1</i> -qLP	GTCTCACATCTTCGTCGCTAAC
<i>ABI1</i> -qRP	CGCAGCTTCATCTTCTCTATCC
<i>ABI2</i> -qLP	CGGTTCTCAGGTAGCGAATTAT
<i>ABI2</i> -qRP	AGCCTTCTTCCACTTCTCTTG
<i>ABI4</i> -qLP	ATGGACCCTTTAGCTTCCCAAC
<i>ABI4</i> -qRP	CTTTGCGTTTGCCTTGAGCG
<i>ABI5</i> -qLP	CAGCTGCAGGTTACATTCTG
<i>ABI5</i> -qRP	CACCCTCGCTCCATTGTTAT
<i>AAO1</i> -qLP	GACGGGCTCGCAACAG
<i>AAO1</i> -qRP	CATGAAAACCGGCGATACG
<i>AAO3</i> -qLP	GAAGGTCCTGGAAACACGAAGAA
<i>AAO3</i> -qRP	GAAATACACATCCCTGGTGTACAAAAC
<i>AAO4</i> -qLP	CAGGGAGTATCGGTGGTAATCTA
<i>AAO4</i> -qRP	CTCGTGTCTCCAGCATTTATC

## 1.2 培养基配制

基础(MS)培养基配制:每100 mL ddH<sub>2</sub>O中加入0.443 g MS干粉,3 g蔗糖,1 g琼脂粉,调节pH为5.6~5.8,高温高压灭菌20 min。

植物激素培养基配制:MS培养基经高温高压灭菌之后,待其冷却至合适温度时加入相应浓度的植物激素。本研究所用植物激素分别为10 μmol/L 乙烯合成前体ACC,20 μmol/L乙烯反应抑制剂AgNO<sub>3</sub>,0.5、1.0、5.0 μmol/L 6-苄氨基嘌呤(6-BA),0.1、1.0、5.0 μmol/L吲哚乙酸(IAA),0.5 μmol/L赤霉素(GA)。

## 1.3 拟南芥培养

在超净工作台中,向装有适量干燥拟南芥种子的1.5 mL离心管中加入900 μL ddH<sub>2</sub>O及100 μL次氯酸钠(游离碱含量小于4%),充分混匀后,平放消毒15 min。15 min后,倒掉离心管中的消毒液,反复加入1 mL无菌水洗涤种子6~8次。将消毒完成的种子均匀播种在MS固体培养基上,待培养基表面干燥后,用封口膜密封;在4 °C条件下放置2 d后,将其移入光照培养箱中培养。

光照培养箱中拟南芥生长环境如下:温度为19~22 °C,相对湿度为50%~70%,16 h光照/8 h黑暗,光照强度为60~100 μmol/(m<sup>2</sup>·s)。

## 1.4 植物激素处理的幼苗根长测量

将供试拟南芥种子播种于MS培养基上,于4 °C处理3 d,转移至光照培养箱中正常生长24 h之后,选取萌发状况一致的种子,转移至含有相应浓度植物激素的MS培养基上继续生长6 d,之后测量根长并参照文献[16]计算相对根长度 $l=(l_1/l_2) \times 100\%$ ,其中, $l_1$ 为外源添加植物激素的MS培养基上的幼苗根长, $l_2$ 为正常MS培养基上的幼苗根长。

## 1.5 植物体内的乙烯含量测定

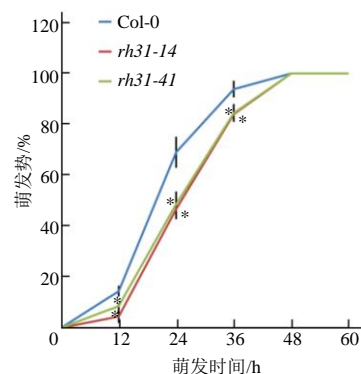
参照文献[17]测定植物体内乙烯含量。将供试拟南芥种子消毒后播种于含有MS固体培养基的小玻璃瓶内,于4 °C处理4 d,在移入光照培养箱避光培养之前,将小玻璃瓶盖密封,以便收集拟南芥幼苗产生的乙烯气体。在光照培养箱避光培养4 d后,采用气相色谱法,分别测量含有*rh31*及Col-0的小玻璃瓶内的乙烯含量。

## 2 试验结果

### 2.1 *rh31*及*atcape3*种子萌发及幼苗生长表型分析结果

前期研究<sup>[6]</sup>表明,RH31功能缺失纯合突变体*rh31*表现为主根生长受抑制及生物量减少。本文基于上述研究结果,进一步开展*rh31*种子萌发特性研究。

将纯合T<sub>2</sub>代*rh31*及Col-0种子播种于MS培养基上,4 °C处理3 d后,分别于0、12、24、36、48及60 h统计种子萌发势。结果(图1)显示,在12、24、36 h时,*rh31*萌发势均显著低于Col-0的,且24 h时植株幼苗间的差异最显著;24 h时Col-0种子萌发势为69%,而*rh31-14*和*rh31-41*的萌发势分别为47%和49%。



\*表示突变体与Col-0间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

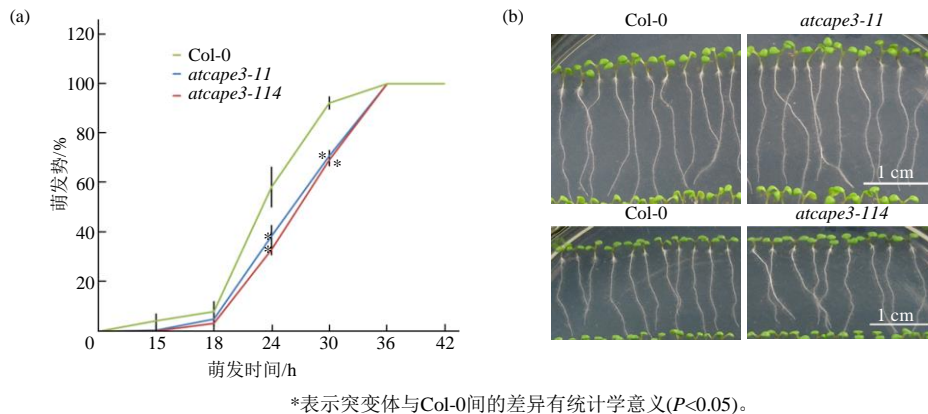
图1 *rh31*植株幼苗萌发势统计Fig. 1 Germination potential statistics of *rh31* lines

在正常条件下, *rh31*中*PROAtCAPE3* mRNA水平显著降低<sup>[6]</sup>。为明确*rh31*突变体生长缓慢的表型是否由*PROAtCAPE3* mRNA水平降低所致, 本研究对*PROAtCAPE3*缺失纯合突变体*atcape3-11*和*atcape3-114*的种子萌发及幼苗生长表型进行分析。

将纯合T2代*atcape3*及Col-0种子播种于同一MS培养基上, 4 °C处理3 d后, 分别于不同时间点统计种子萌发势。由图2(a)可见, 在24 h和30 h时, *atcape3*种子萌发势均显著低于Col-0的。24 h时, Col-0种子萌发势为58.3%, 而*atcape3-11*和*atcape3-114*种子萌发势分别为38.5%和33.0%; 30 h

时, Col-0种子萌发势为92.2%, 而*atcape3-11*和*atcape3-114*种子萌发势分别为70.9%和69.2%。以上结果说明*PROAtCAPE3*缺失导致拟南芥种子萌发势降低, 其萌发表型与*rh31*的一致。

将*atcape3*和Col-0种子分别播种于MS培养基上, 4 °C处理3 d, 于光照培养箱中生长24 h后, 挑选萌发状态一致的*atcape3*及Col-0种子, 同时移于另一MS培养基上继续生长6 d, 观察并统计幼苗的生长状况。由图2(b)可见, *atcape3*幼苗的生长状况与Col-0并无明显差异。



\*表示突变体与Col-0间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

(a) *atcape3*种子萌发统计; (b) 7 d时*atcape3*及Col-0幼苗表型

图2 *atcape3*种子萌发及幼苗生长表型分析

Fig. 2 Seed germination and growth phenotype characterization of *atcape3* lines

## 2.2 植物激素乙烯与*rh31*生长缺陷表型的关系

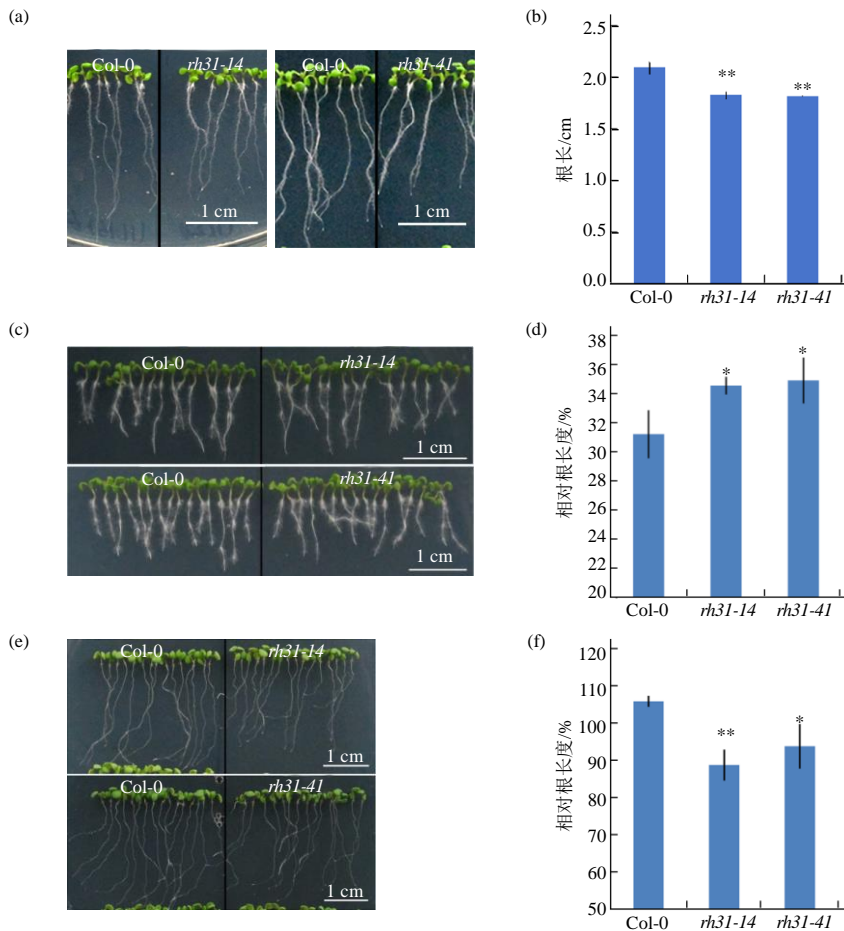
乙烯对主根生长具有抑制作用。鉴于*rh31*表现出主根生长减弱表型, 推测其可能与植物体内乙烯代谢或信号转导异常相关。本研究通过外源施加乙烯合成前体ACC及乙烯反应抑制剂AgNO<sub>3</sub>, 测定乙烯信号转导通路相关基因表达量及乙烯含量, 探究乙烯代谢及信号转导途径与*rh31*主根生长缺陷表型的关联性。

选取生长24 h、萌发状态一致的*rh31*和Col-0幼苗, 分别转移至含有10 μmol/L ACC的MS培养基及不含ACC的MS培养基上继续生长6 d, 测量主根长度后计算其相对根长度。结果显示, *rh31*的主根根长极显著小于Col-0的(图3(a)、图3(b))。Col-0的相对根长度为31.2%, 而*rh31-14*和*rh31-41*的相对根长度分别为34.5%和34.9%(图3(c)、图3(d))。*rh31*的相对根长度大于Col-0的, 说明外源添加乙烯合成前体ACC时, *rh31*幼苗的敏感度相较于Col-0降低。

选取生长24 h、萌发状态一致的*rh31*和Col-0幼

苗, 将其转移到含有20 μmol/L AgNO<sub>3</sub>的MS培养基及不含AgNO<sub>3</sub>的MS培养基上继续生长6 d, 测量主根长度后计算其相对根长度。结果显示, Col-0的相对根长度为106%, *rh31-14*和*rh31-41*的相对根长度分别为88.8%和93.9%(图3(e)、图3(f))。以上结果表明, 外源添加AgNO<sub>3</sub>缓解了乙烯对Col-0幼苗根长的抑制作用, 但是*rh31*的根的生长对外源添加AgNO<sub>3</sub>不敏感。

乙烯三重反应的典型表型之一为黄化苗下胚轴缩短变粗。如果*rh31*体内乙烯含量升高, 那么暗处理条件下其下胚轴伸长应受抑制。基于此, 本研究对暗处理条件下*rh31*的下胚轴伸长表型进行分析。选取生长24 h、萌发状态一致的Col-0、*rh31-14*和*rh31-41*幼苗, 并将其转移到新的MS培养基上, 暗处理4 d, 测量下胚轴长度。结果表明, *rh31*的下胚轴长度明显短于Col-0的(图4(a)、图4(b))。采用气相色谱测量暗处理4 d的*rh31*及Col-0幼苗内的乙烯含量, 发现*rh31*幼苗内的乙烯含量明显高于Col-0的(图4(c))。

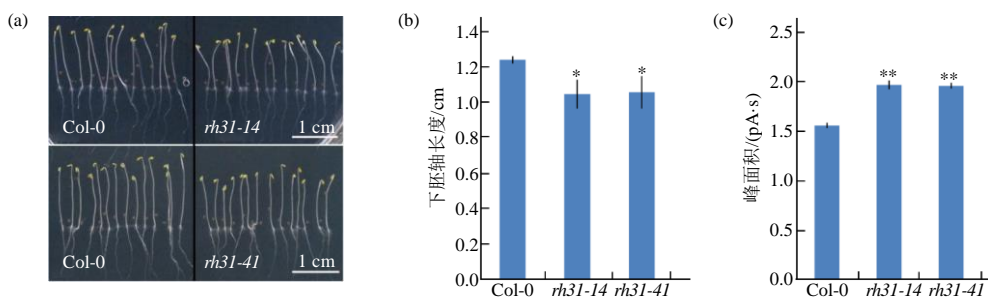


\*和\*\*分别表示突变体与Col-0间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ )；主根测量数量不少于30根，3次生物学重复。

(a) MS培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0幼苗表型；(b) MS培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0的幼苗根长；(c) 10  $\mu\text{mol/L}$  ACC培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0幼苗表型；(d) 10  $\mu\text{mol/L}$  ACC培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0的幼苗相对根长度；(e) 20  $\mu\text{mol/L}$   $\text{AgNO}_3$ 培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0幼苗表型；(f) 20  $\mu\text{mol/L}$   $\text{AgNO}_3$ 培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0的幼苗相对根长度

图3 ACC及 $\text{AgNO}_3$ 处理对*rh31*幼苗根伸长的影响

Fig. 3 The effects of ACC and  $\text{AgNO}_3$  treatments on the root elongation of *rh31* seedlings



\*和\*\*分别表示突变体与Col-0间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ )。

(a) *rh31*及Col-0幼苗表型；(b) *rh31*及Col-0幼苗下胚轴长度；(c) *rh31*及Col-0幼苗内乙烯含量对比

图4 *rh31*在暗处理条件下的下胚轴长度统计及乙烯含量测定

Fig. 4 Hypocotyl length statistics and ethylene content determination of *rh31* seedlings under dark treatment

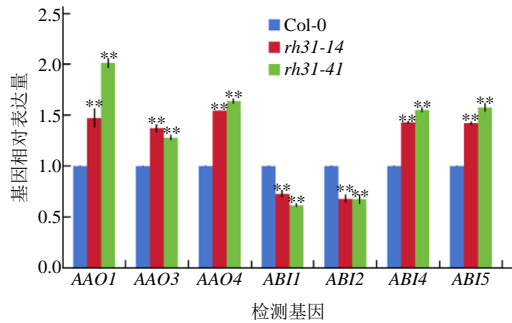
以上结果表明，RH31功能缺失确实导致*rh31*幼苗内乙烯含量升高，*rh31*的主根长度变短与乙烯含量升高有关。进一步对乙烯信号转导通路相关基因的表达水平进行检测发现，*EIN2*、*EIN3*以及*EIL1*的转录水平没有发生明显变化，说明RH31功能缺失

可能并没有影响乙烯信号转导通路。

2.3 ABA与*rh31*生长缺陷表型的关系

鉴于脱落酸在种子萌发过程中的关键作用，且*rh31*突变体表现出种子萌发势降低的表型，推测其可能与突变体内ABA代谢及信号转导异常相关。

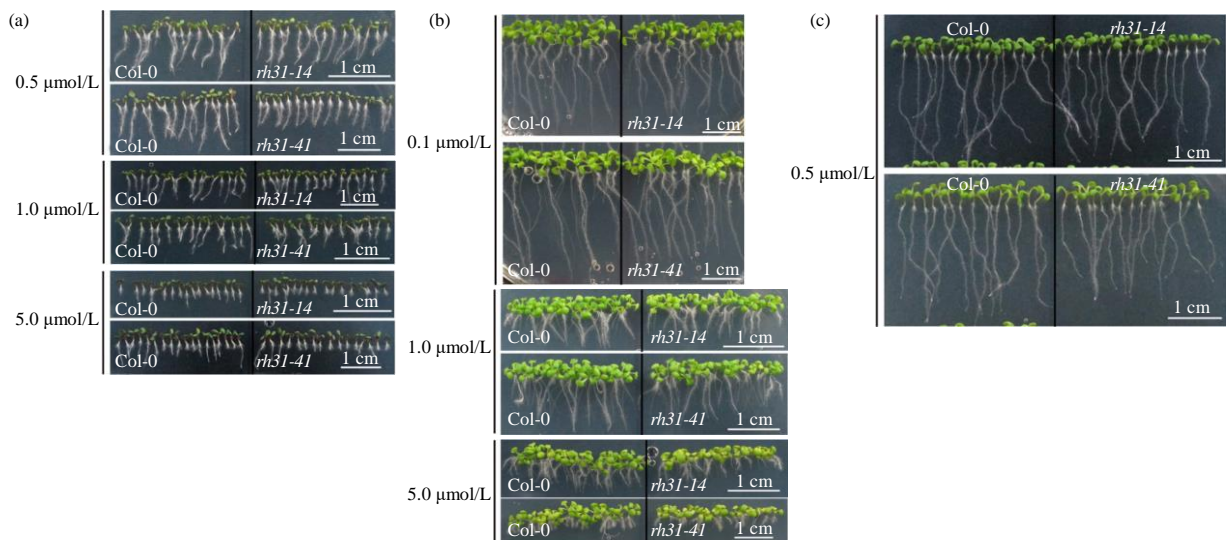
为探究ABA代谢及信号通路与*rh31*生长缺陷表型的关联性,本研究对*rh31*及Col-0植株内ABA代谢及信号通路相关基因的表达水平进行了分析。结果(图5)表明,相较于Col-0, *rh31*中ABA醛氧化酶的编码基因AAO1、AAO3及AAO4的相对表达量均有



\*\*表示突变体与Col-0间的差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

图5 Col-0及*rh31*内ABA相关基因的相对表达量

Fig. 5 Relative expression of ABA-related genes in Col-0 and *rh31* seedlings



(a) 不同浓度6-BA培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0幼苗表型; (b) 不同浓度IAA培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0幼苗表型;

(c) 0.5 μmol/L GA培养皿上生长6 d的*rh31*及Col-0幼苗表型

图6 6-BA、IAA及GA处理对*rh31*幼苗根伸长的影响

Fig. 6 The effects of 6-BA, IAA and GA treatments on the root elongation of *rh31* seedlings

### 3 讨论

DEAD-box RHs在植物生长发育进程中发挥重要调控作用。研究表明,定位于水稻细胞核的RHs-OsRH53可调控逆境条件下拟南芥种子的萌发及植株生长<sup>[18]</sup>。此外,水稻中的2个DEAD-box RH家族成员OsRH2和OsRH34在花粉发育和种子形成过程中发挥不可或缺的作用<sup>[19]</sup>。番茄中SIDEAD39基因的功能缺失导致植株出现叶片黄化表型及发育异常<sup>[20]</sup>。

不同程度的升高;而ABA信号转导途径中,负调控基因ABI1和ABI2的相对表达量平均下降约30%,正调控基因ABI4和ABI5的相对表达量平均升高约50%,说明*rh31*突变体内ABA信号通路整体明显增强。该试验结果与*rh31*突变体种子萌发势降低、生长受抑制的表型相符。

### 2.4 其他植物激素与*rh31*生长缺陷表型的关系

对*rh31*外源添加6-苄氨基嘌呤(6-BA)、吲哚乙酸(IAA)、赤霉素(GA),分析*rh31*的生长缺陷表型。结果(图6)显示,上述3种激素对*rh31*幼苗的生长缺陷表型均未产生显著影响。进一步对这些激素信号通路中相关基因的表达水平进行检测发现,各激素处理组基因的表达水平相较于野生组无明显变化。

前期研究结果<sup>[6]</sup>显示, *rh31*表现为主根缩短、生物量减少的表型,而*RH31*过表达转基因株系则表现为主根伸长、生物量增加的表型;同时, *rh31*突变体内*PROAtCAPE3*的mRNA水平显著降低。本研究中, *atcape3*种子萌发势降低的表型与*rh31*突变体一致,但其幼苗生长表型与*rh31*突变体不一致,说明*PROAtCAPE3*的mRNA水平降低可能是导致*rh31*的种子萌发延迟的因素之一,而*rh31*幼苗的主根生长受抑制及生物量降低,可能与*RH31*基因敲除导致其他生长相关基因的表达调控异常有关。

PENG等<sup>[21]</sup>研究表明, *PROAtCAPE3*基因表达受EIN3转录因子诱导, 揭示乙烯信号通路可能参与RH31对*PROAtCAPE3*的调控过程。本研究结果显示, *rh31*突变体对外源施加的乙烯合成前体ACC及乙烯反应抑制剂AgNO<sub>3</sub>不敏感; 在暗处理条件下, *rh31*突变体下胚轴长度显著短于野生型的, 且气相色谱检测结果显示*rh31*突变体内乙烯含量显著升高。上述结果表明, RH31缺失可导致拟南芥体内乙烯代谢紊乱。黄维娜等<sup>[22]</sup>研究发现, 乙烯可通过调控细胞纵向延伸及根细胞分化影响根长发育。ZHOU等<sup>[15]</sup>的研究则表明, 乙烯信号通路可促进OsEIL1积累并诱导生长素合成, 通过上调根尖*OsCSLC1*、*OsCSLC2*、*OsCSLC7*、*OsCSLC9*基因的表达促进木葡聚糖积累, 进而抑制根的伸长。这与本研究中*rh31*突变体因乙烯含量升高导致根长缩短的表型具有一致性。

植物激素间存在复杂的调控关联网。本研究中, *rh31*中ABA醛氧化酶编码基因*AAO1*、*AAO3*及*AAO4*的相对表达量升高, 而ABA信号转导途径中的负调控基因*ABI1*和*ABI2*的相对表达量下调, 正调控基因*ABI4*和*ABI5*的相对表达量上调(图5)。上述结果说明, RH31缺失会导致植物体内ABA信号通路增强, 且该变化与*rh31*突变体萌发势降低、生长受抑制的表型具有相关性。

已有研究<sup>[23]</sup>表明, 拟南芥中约17%的基因参与激素调控网络并共同介导植物生长发育进程。本研究发现, *rh31*突变体内乙烯含量升高, ABA信号通路增强, 与*rh31*突变体的种子萌发势降低及生长受抑制的表型一致, 推测RH31可能通过调控植物激素代谢网络参与植物生长发育调控, 但其具体分子机制仍需深入研究。此外, 本研究中, *rh31*突变体内6-苄氨基嘌呤、吲哚乙酸及赤霉素代谢通路及信号转导途径未表现出显著差异。

#### 4 结论

本研究通过对*rh31*突变体外源施加乙烯合成前体ACC、乙烯信号通路抑制剂AgNO<sub>3</sub>以及植物激素ABA、6-BA、IAA、GA, 观察植株生长表型, 并对植物激素信号通路相关基因表达进行分析, 发现*rh31*突变体内乙烯含量显著升高, 与该突变体主根生长受抑制的表型相符; 鉴于*rh31*突变体内

*PROAtCAPE3*转录本水平明显降低, 且*PROAtCAPE3*缺失纯合突变体*atcape3*表现出与*rh31*一致的萌发势降低表型, 说明RH31至少部分通过调控*PROAtCAPE3*转录本水平来调控种子萌发。此外, *rh31*突变体内ABA信号通路增强, 与*rh31*突变体萌发势降低的表型具有相关性。综上所述, RNA解旋酶RH31可能通过调控*PROAtCAPE3*转录本水平、乙烯代谢及ABA信号通路, 实现对拟南芥种子萌发及幼苗生长发育进程的调控。

#### 参考文献:

- [1] LINDER P, JANKOWSKY E. From unwinding to clamping: the DEAD box RNA helicase family[J]. Nature Reviews. Molecular Cell Biology, 2011, 12(8): 505–516.
- [2] FAIRMAN-WILLIAMS M E, GUENTHER U P, JANKOWSKY E. SF1 and SF2 helicases: family matters[J]. Current Opinion in Structural Biology, 2010, 20(3): 313–324.
- [3] LI Y Z, XIONG R Y, BERNARDS M, et al. Recruitment of *Arabidopsis* RNA helicase AtRH9 to the viral replication complex by viral replicase to promote turnip mosaic virus replication[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 30297.
- [4] CARGILL M, VENKATARAMAN R, LEE S. DEAD-box RNA helicases and genome stability[J]. Genes, 2021, 12(10): 1471.
- [5] JIA K N, CHENG H M, MA W Q, et al. RNA helicase DDX5 maintains cardiac function by regulating CamkII $\delta$  alternative splicing[J]. Circulation, 2024, 150(14): 1121–1139.
- [6] LIU Y N, LIU S J, SHI H Y, et al. The TSN1 binding protein RH31 is a component of stress granules and participates in regulation of salt-stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 804356.
- [7] HSU Y F, CHEN Y C, HSIAO Y C, et al. AtRH57, a DEAD-box RNA helicase, is involved in feedback inhibition of glucose-mediated abscisic acid accumulation during seedling development and additively affects pre-ribosomal RNA processing with high glucose[J]. The Plant Journal, 2014, 77(1): 119–135.
- [8] CAI J, MENG X Q, LI G, et al. Identification, expression analysis, and function evaluation of 42 tomato DEAD-box RNA helicase genes in growth development and stress response[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2018, 40(5): 94.
- [9] ZHANG L L, XU Y J, LIU X N, et al. The chrysanthemum DEAD-box RNA helicase CmRH56

- regulates rhizome outgrowth in response to drought stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(16): 5671–5681.
- [10] 周述波, 林伟, 萧浪涛, 等. 外源GA<sub>3</sub>和ABA对杂交水稻种子萌发的影响[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2005, 31(3): 269–271.
- [11] FINKELSTEIN R R, GAMPALA S S L, ROCK C D. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings[J]. *The Plant Cell*, 2002, 14: S15–S45.
- [12] REEVES W M, LYNCH T J, MOBIN R, et al. Direct targets of the transcription factors ABA-insensitive(ABI)4 and ABI5 reveal synergistic action by ABI4 and several bZIP ABA response factors[J]. *Plant Molecular Biology*, 2011, 75(4/5): 347–363.
- [13] CHEN H C, HUANG S C, CHEN Y F, et al. Overexpression of OsERF106MZ promotes parental root growth in rice seedlings by relieving the ABA-mediated inhibition of root growth under salinity stress conditions[J]. *BMC Plant Biology*, 2023, 23(1): 144.
- [14] ZHOU Y, MA B, TAO J J, et al. Rice EIL1 interacts with OsIAAs to regulate auxin biosynthesis mediated by the tryptophan aminotransferase MHZ10/OsTAR2 during root ethylene responses[J]. *The Plant Cell*, 2022, 34(11): 4366–4387.
- [15] ZHOU Y, GAO Y H, ZHANG B C, et al. CELLULOSE SYNTHASE-LIKE C proteins modulate cell wall establishment during ethylene-mediated root growth inhibition in rice[J]. *The Plant Cell*, 2024, 36(9): 3751–3769.
- [16] EZAKI B, KIYOHARA H, MATSUMOTO H, et al. Overexpression of an auxilin-like gene(F9E10.5) can suppress Al uptake in roots of *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(3): 497–506.
- [17] LYU B S, TIAN H Y, ZHANG F, et al. Brassinosteroids regulate root growth by controlling reactive oxygen species homeostasis and dual effect on ethylene synthesis in *Arabidopsis*[J]. *PLoS Genetics*, 2018, 14(1): e1007144.
- [18] NAWAZ G, SAI T Z T, LEE K, et al. Rice DEAD-box RNA helicase OsRH53 has negative impact on *Arabidopsis* response to abiotic stresses[J]. *Plant Growth Regulation*, 2018, 85(1): 153–163.
- [19] HUANG C K, SIE Y S, CHEN Y F, et al. Two highly similar DEAD box proteins, OsRH2 and OsRH34, homologous to eukaryotic initiation factor 4AIII, play roles of the exon junction complex in regulating growth and development in rice[J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16: 84.
- [20] CAPEL C, ALBALADEJO I, EGEA I, et al. The res (restored cell structure by salinity) tomato mutant reveals the role of the DEAD-box RNA helicase SIDEAD39 in plant development and salt response[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43(7): 1722–1739.
- [21] PENG J Y, LI Z H, WEN X, et al. Salt-induced stabilization of EIN3/EIL1 confers salinity tolerance by deterring ROS accumulation in *Arabidopsis*[J]. *PLoS Genetics*, 2014, 10(10): e1004664.
- [22] 黄维娜, 康玉凡. 乙烯在幼苗根生长发育中调控作用的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2013, 29(12): 6–12.
- [23] 方荣俊, 赵华, 廖永辉, 等. 乙烯对植物次生代谢产物合成的双重调控效应[J]. *植物学报*, 2014, 49(5): 626–639.

责任编辑: 伍锦花  
英文编辑: 张承平