

刘慧丽, 郭子鸣, 程泰然, 等. *OsRAC3* 调控水稻籽粒性状的功能分析 [J]. 华南农业大学学报, 2023, 44(5): 690-695.
LIU Huili, GUO Ziming, CHENG Tairan, et al. Functional analysis of *OsRAC3* regulating seed traits in rice[J]. Journal of South China Agricultural University, 2023, 44(5): 690-695.

OsRAC3 调控水稻籽粒性状的功能分析

刘慧丽[†]✉, 郭子鸣[†], 程泰然, 张志成
(华南农业大学 生命科学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】RAC/ROPs 是一类植物特有的小 G 蛋白, 作为分子开关参与众多的植物信号转导途径。*OsRAC3* 通过与细胞分裂素信号组分互作, 调控水稻 *Oryza sativa* L. 冠根发育, 但是否影响水稻地上部分的性状尚不清楚。本研究主要分析 *OsRAC3* 对水稻穗发育以及产量性状的影响。【方法】对水稻 *OsRAC3promoter::GUS* 转基因植株的花序组织进行 GUS 染色, 分析 *OsRAC3* 的表达模式。分析转基因材料持续激活型突变体 (*CA-osrac3*) 和显性失活型突变体 (*DN-osrac3*) 2 种试验材料的每穗粒数、粒长、粒宽、千粒质量等主要农艺性状。【结果】*OsRAC3* 在花序分生组织、雄蕊和雌蕊中强烈表达; *CA-osrac3* 株系的穗粒数减少, 籽粒更加饱满, 粒长、粒宽、千粒质量均显著高于野生型; *DN-osrac3* 株系的穗分枝数少且育性差, 籽粒粒长、粒宽、千粒质量则显著低于野生型。【结论】*OsRAC3* 影响水稻穗的发育过程, 持续激活型突变体 *CA-osrac3* 促进水稻籽粒的发育; *OsRAC3* 在水稻高产育种和遗传改良中具有重要的应用价值。

关键词: 水稻; RAC/ROP; *OsRAC3*; 穗; 籽粒

中图分类号: S511

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2023)05-0690-06

Functional analysis of *OsRAC3* regulating seed traits in rice

LIU Huili[†]✉, GUO Ziming[†], CHENG Tairan, ZHANG Zhicheng
(College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】RAC/ROPs are a class of plant-specific small G proteins, which are involved in multiple signaling pathways as molecular switches. *OsRAC3* regulates rice (*Oryza sativa* L.) crown root development by interacting with cytokinin signaling components. However whether it affects traits in the aboveground parts of rice remains unclear. This study mainly aims to analyze the effects of *OsRAC3* on spike development and yield traits of rice. 【Method】The inflorescence tissue of rice *OsRAC3promoter::GUS* transgenic plants were stained with GUS to analyze the expression pattern of *OsRAC3*. We also analyzed the main agronomic traits such as number of grains per spike, grain length, grain width and thousand grain weight of two experimental materials, constitutively activated mutant (*CA-osrac3*) and dominant negative mutant (*DN-osrac3*). 【Result】*OsRAC3* was strongly expressed in floral meristems, stamen and pistill. *CA-osrac3* had fewer grains but its grain length, grain width and thousand grain weight were significantly higher than those of wild-type. *DN-osrac3* had a low number of spike branches and poor fertility, while the grain length, grain width and thousand grain weight were significantly lower than those of wild-type. 【Conclusion】*OsRAC3* affects

收稿日期: 2023-04-22 网络首发时间: 2023-06-30 17:02:15

首发网址: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/44.1110.S.20230630.1431.002.html>

作者简介: 刘慧丽, 副研究员, 博士, 主要从事植物信号转导研究, E-mail: liuhuili@scau.edu.cn; 郭子鸣, 主要从事植物信号转导研究, E-mail: zmguo@stu.scau.edu.cn; †表示同等贡献

基金项目: 国家自然科学基金 (31870177); 华南农业大学校级大学生创新创业训练项目 (X202210564137)

the developmental process of rice spikes, and the constitutively activated mutant *CA-osrac3* promotes the growth of rice seeds. *OsRAC3* has important applications in high-yield breeding and genetic improvement of rice.

Key words: *Oryza sativa* L.; RAC/ROP; *OsRAC3*; Spike; Grain

水稻 *Oryza sativa* L. 作为最重要的粮食作物之一, 是世界上一半以上人口的主要食物来源^[1]。为了满足日益增长的粮食需求, 缓解农业生产面临的巨大压力, 利用生物技术高效育种来提高作物产量至关重要^[2]。水稻产量与 3 个性状密切相关: 株穗数、穗粒数和粒质量^[3]。穗粒数和粒质量主要在穗的分化与发育过程中受影响, 与花序分生组织的活性密切相关^[4-7]。研究表明, 在水稻生长发育过程中, 分生组织活性下降会导致穗分支数和籽粒数减少^[8-10]。一些与高产相关的基因如 *Gn1a*、*PROG1*、*DEP1*、*APO1*、*IPA1* 等被证明能够增强花序分生组织活性^[11-18]。

RAC/ROPs (Rac GTPase protein/Rho-of-plant) 是植物特有的一个 Rho GTPase 亚家族, 作为分子开关广泛参与植物生长发育、激素信号转导以及响应环境刺激等多种生理过程^[19-24]。植物中小 G 蛋白 RAC/ROPs 通常在与 GDP 结合的非活性形式和与 GTP 结合的活性形式之间相互转换。GTP 结合状态的 RAC/ROPs 与效应蛋白相互作用, 调控下游的信号转导^[25]。RAC/ROPs 活性与非活性形式之间的转换, 受到鸟苷酸交换因子 (Guanine nucleotide exchange factors, GEFs)、GTPase 活化蛋白 (GTPase-activating proteins, GAPs) 和鸟苷酸水解阻遏因子 (Guanine nucleotide dissociation inhibitors, GDIs) 的调控。GEFs 可以促进与 RAC/ROPs 结合的 GDP 与 GTP 发生交换, 从而激活 RAC/ROPs。GAPs 的作用是激活 RAC/ROPs 的 GTP 酶活性, 使与 RAC/ROPs 结合的 GTP 水解。GDIs 可以抑制与 RAC/ROPs 结合的 GDP 的解离和 GTP 的水解^[26]。拟南芥中 RAC/ROPs 参与调节生长发育的多个过程和对环境刺激作出应答^[27-34]。有研究表明, 在拟南芥中, *Rop1* 参与调控花粉管的极性生长^[27-29, 34], *Rop2*、*Rop4*、*Rop6* 参与根毛发育的调控^[30-31], *Rop2*、*Rop4* 参与叶片表皮发育^[32], *Rop9*、*Rop10* 参与脱落酸和生长素诱导的根的发育和种子的萌发^[33]。水稻中 RAC/ROPs 共有 7 个成员, 其中, *OsRac4*、*OsRacD* 和 *OsRacB* 作为负调控因子参与水稻病害应答的调控^[35-37]。研究发现水稻中 RAC/ROP 家族的 *OsRAC1* 同样能使水稻籽粒变大,

产量提高; *OsRAC1* 通过与 OsMAPK6 相互作用提高后者的磷酸化水平, 从而促进颖壳细胞分裂, 增加细胞数量, 导致水稻籽粒变大^[38]。目前鲜见有关于其他的 RAC/ROPs 影响水稻产量性状的报道。

本研究将探究 *OsRAC3* 在水稻幼穗和花器官中的表达情况, 并进一步了解其在水稻产量性状方面的作用。通过持续激活型突变体 (Constitutively activated, CA) *CA-osrac3* 和显性失活型突变体 (Dominant negative, DN) *DN-osrac3* 与野生型的比较, 揭示 *OsRAC3* 对水稻籽粒大小、千粒质量等产量性状的影响, 证实其在水稻籽粒发育过程中的重要作用; 这将有助于加深我们对水稻产量的调控机制的理解, 并为水稻育种和农业生产提供改良策略。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用的野生型水稻品种为粳稻 ‘中花 11’ (ZH11), 生长周期为 80~90 d; 基于 ZH11 构建的外源导入点突变转基因植株为 *CA-osrac3* 和 *DN-osrac3*。材料种植于广东省广州市华南农业大学增城基地。

1.2 试验方法

1.2.1 材料的获取 使用 RAC/ROPs 功能获得性突变体 (Gain of function mutant) 进行分析。通过基因点突变的方法替换特定的氨基酸, 使得 RAC/ROPs 蛋白一直处于与 GTP 结合的持续活性状态, 即持续激活型; 或一直处于与 GDP 结合的非活性状态, 即显性失活型。本研究通过点突变将 *OsRAC3* 中距离 ATG 的第 50 个碱基发生突变, 使甘氨酸 G 替换成缬氨酸 V, 转化水稻构建 *OsRAC3* 持续激活型突变体; 在第 65 个碱基处将胞嘧啶突变为腺嘌呤, 实现苏氨酸 T 替换成天冬酰胺 N (图 1), 转化水稻获得显性失活型突变体。载体构建参照 Liu 等^[39]的方法。

1.2.2 qRT-PCR 本研究采用 AceQ® qPCR SYBR® Green Master Mix 试剂盒进行 qRT-PCR。采用 Trizol 法提取水稻不同时期的总 RNA, 进行 RT-PCR 反转录得到 cDNA。利用设计好的引物进行 qPCR 定量分析, 反应体系 (10 μL): 5 μL 2× SYBR Premix Ex Taq、1 μL cDNA 模板、0.5 μL 上游引物、

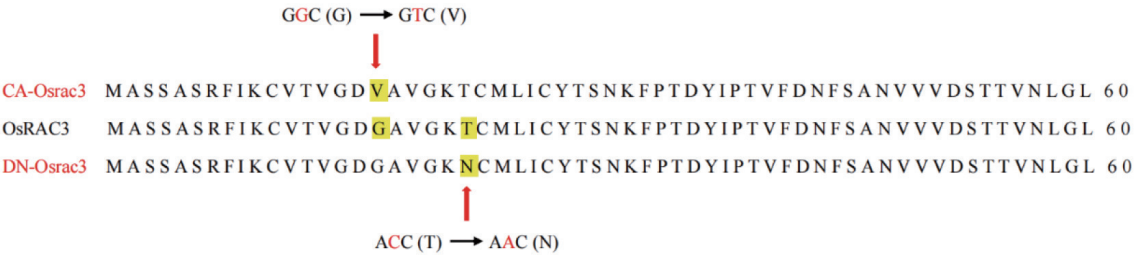


图 1 突变体 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 的突变位点

Fig. 1 Mutation site of mutant *CA-osrac3*, *DN-osrac3*

0.5 μL 下游引物以及 3 μL ddH₂O。挑选其中表达量较高的植株作进一步分析。qRT-PCR 所用试剂购于诺唯赞公司, 上游引物序列为 5'-GTGGTGATCATGTCGTCGGA-3', 下游引物序列为 5'-ATCTGATACGGCTGCAGAGC-3'。

1.2.3 GUS 组织化学染色 取转基因植株花序组织, 用适量的 GUS 染液 (pH 为 7.0 的 0.1 mol/L 磷酸钠缓冲液、10 mmol/L Na₂EDTA、2 mmol/L K₄Fe(CN)₆·3H₂O、2 mmol/L K₃[Fe(CN)₆]、1 mg/mL X-gluc) 处理, 在 37 °C 条件下避光染色过夜。镜检观察到出现蓝色后除去 GUS 染液, 加入 70%(φ) 乙醇溶液洗脱 2~3 次后, 使用 Retiga 2000R 数码相机在 Olympus BX51 显微镜下拍照。

1.2.4 水稻穗与籽粒表型性状的观察与统计 在水稻的成熟期, 挑选野生型 ZH11 和突变体 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 植株主穗, 测量籽粒长、宽等农艺性状。每种材料随机挑取 30 粒种子, 使用游标卡尺测量籽粒长、宽。随机挑选至少 1 000 粒饱满籽粒称量千粒质量。种子挑选过程中避免刻意挑取肥大或者瘦小的种子, 以保证取样的随机性。各项数据统计均重复 3 次, 采用 GraphPad Prism 9.3.0 软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 *OsRAC3* 在水稻中的表达模式分析

本研究前期获得了 *OsRAC3*promoter::*GUS* 转基因植株, 发现 *OsRAC3* 在幼苗的根尖和冠根原基表达^[39]。我们通过对转基因植株的花序组织进行 GUS 染色, 观察到 *OsRAC3* 在幼穗的花序分生组织中强烈表达 (图 2A), 在花器官中包括颖壳 (图 2B) 和雄蕊、雌蕊 (图 2C) 中均有较强的表达, 这些结果暗示 *OsRAC3* 可能在小穗发育和种子发育过程中发挥作用。

2.2 野生型 ZH11 以及突变体 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 的穗表型特征

本研究前期获得了在 ZH11 背景中过量表达、持续性激活和显性失活的转基因植株——*CA-*

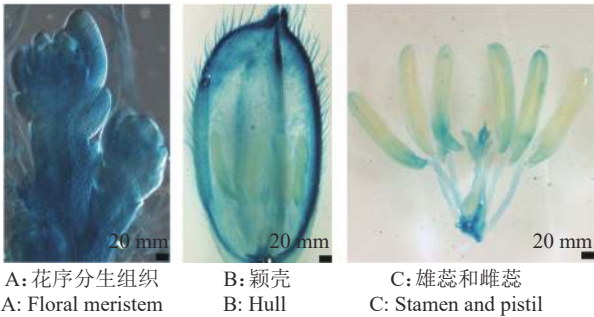


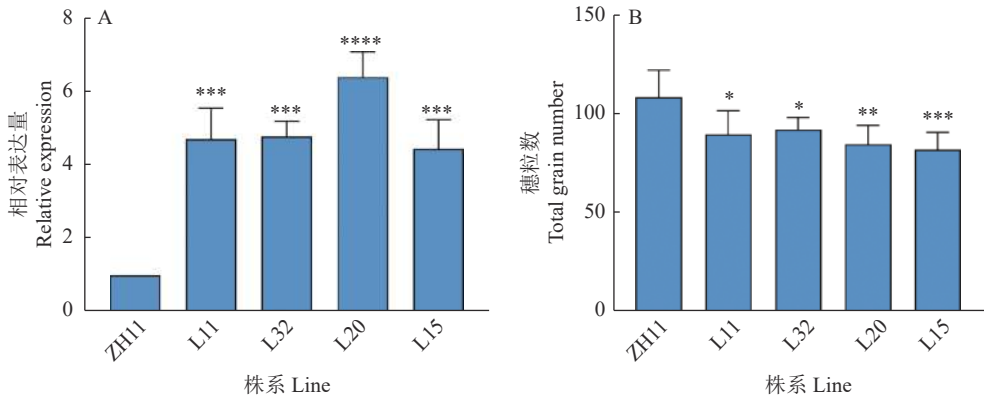
图 2 *OsRAC3* 在水稻中的表达模式

Fig. 2 Expression profiles of *OsRAC3* in rice

osrac3 和 *DN-osrac3*, *CA-osrac3* 对 GTPase 激活蛋白不敏感, 可以持续与 GTP 结合, 因而持续保持激活状态; *DN-osrac3* 持续处于结合 GDP 或者不结合核苷酸的状态, 故而持续处于失活状态, 在细胞中过表达时通过竞争 GEFs 抑制其他 ROP 的激活^[40]。我们首先利用 qPCR 对 *CA-osrac3* 和 *DN-osrac3* 突变体株系进行检测, 发现 *CA-osrac3* L11、L32 以及 *DN-osrac3* L20 和 L15 转基因株系中 *CA-osrac3* 以及 *DN-osrac3* 的表达上调 (图 3A), 后续选用这些株系进行表型分析。与野生型植株相比, 生殖期 *DN-osrac3* 株系穗直挺 (图 4A), 分枝数少, 结实率降低; 而 *CA-osrac3* 株系穗粒数减少 (图 3B), 籽粒饱满 (图 4B)。这些结果暗示 *OsRAC3* 影响稻穗的发育过程。

2.3 野生型 ZH11 以及突变体 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 籽粒大小等表型性状的鉴定

以野生型 ZH11 为对照, 利用上述突变体材料, 对籽粒长度、籽粒宽度以及千粒质量等重要农艺性状进行测量。发现 *CA-osrac3* 各株系籽粒的粒宽和粒长均显著大于野生型的, *DN-osrac3* 各株系籽粒的粒宽和粒长则显著小于野生型的 (图 5A、5B)。在千粒质量方面同样发现, *CA-osrac3* 株系均显著高于野生型的而 *DN-osrac3* 株系均显著低于野生型的 (图 5C)。观察籽粒表型也发现, *CA-osrac3* 籽粒较野生型的更大, 而突变体 *DN-osrac3* 籽粒则较小 (图 6)。这些结果说明持续性激活 *OsRAC3* 能促进水稻籽粒的生长, 提高粒质量, 正调控水稻籽粒的大小。

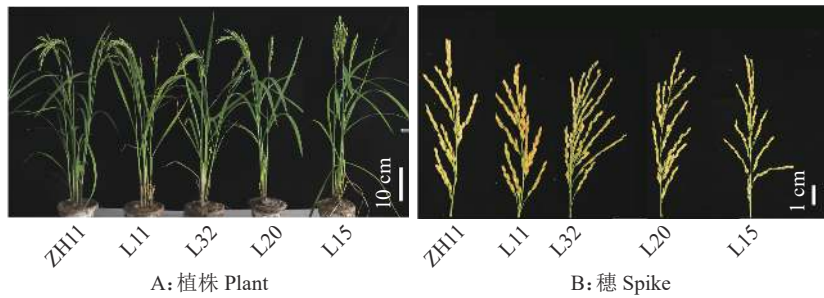


L11、L32 为 *CA-osrac3* 株系, L20、L15 为 *DN-osrac3* 株系; “*” “**” “***” “****” 分别表示突变体株系与野生型在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$ 、 $P<0.0001$ 水平差异显著 (t 检验)

L11 和 L32 是 *CA-osrac3* lines, L20 和 L15 是 *DN-osrac3* lines; “*” “**” “***” “****” indicate that the mutant strains differed from the wild-type respectively at $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$, $P<0.0001$ levels of significant difference (t test)

图 3 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 在野生型 ZH11 以及突变体 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 中的表达情况

Fig. 3 Expression of *CA-osrac3*, *DN-osrac3* in wild-type ZH11 and mutant lines *CA-osrac3*, *DN-osrac3*

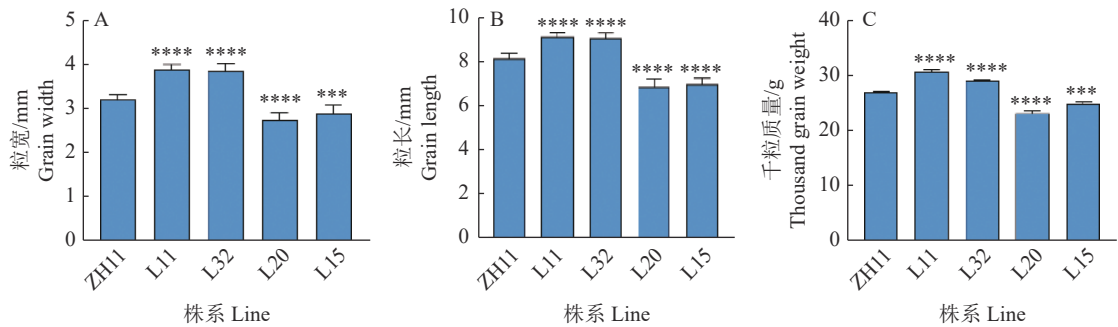


L11、L32 为 *CA-osrac3* 株系, L20、L15 为 *DN-osrac3* 株系

L11 和 L32 是 *CA-osrac3* lines, L20 和 L15 是 *DN-osrac3* lines

图 4 野生型 ZH11 以及突变体 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 的表型特征

Fig. 4 Phenotypic characterization of wild-type ZH11 and mutant lines *CA-osrac3*, *DN-osrac3*



L11、L32 为 *CA-osrac3* 株系, L20、L15 为 *DN-osrac3* 株系; “****” “*****” 分别表示突变体株系与野生型在 $P<0.001$ 、 $P<0.0001$ 水平差异显著 (t 检验)

L11 和 L32 是 *CA-osrac3* lines, L20 和 L15 是 *DN-osrac3* lines; “****” “*****” indicate that the mutant lines differed from the wild-type respectively at $P<0.001$, $P<0.0001$ levels of significant difference (t test)

图 5 野生型 ZH11 以及突变体 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 籽粒特征分析

Fig. 5 Grain analysis of wild-type ZH11 and mutant lines *CA-osrac3*, *DN-osrac3*

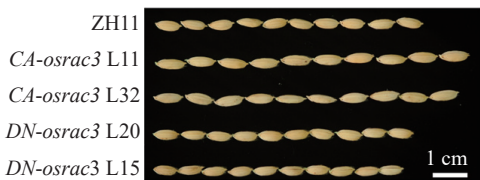


图 6 野生型 ZH11 以及突变体 *CA-osrac3*、*DN-osrac3* 籽粒的表型特征

Fig. 6 Phenotypic characteristics of grain in wild-type ZH11 and mutant lines *CA-osrac3*, *DN-osrac3*

3 讨论与结论

在穗的发育过程中, 花序分生组织的活性是决定水稻产量性状的核心因素^[4,41]。本研究发现 *OsRAC3* 在水稻的花器官中有表达, 尤其在幼穗与小花分生组织中强烈表达; 持续激活型突变体 *CA-osrac3* 株系的籽粒显著增大。

华南农业大学陶利珍教授课题组前期研究报

道 *OsRAC3* 作为细胞分裂素信号转导途径的负调控因子参与水稻冠根发育的调控; 在水稻原生质体中, 激活形式的 *OsRAC3*, 即结合 GTP 的 *OsRAC3* 能与细胞分裂素信号途径中的 *OsAHP1/2* 直接互作, 招募 *OsAHP1/2* 到质膜上, 阻碍 *OsAHP1/2* 的核质穿梭, 从而抑制细胞分裂素信号^[39]。 *CA-osrac3* 转基因植株的细胞分裂素信号转导途径受到抑制, 而 *DN-osrac3* 转基因植株的细胞分裂素信号转导途径受到的抑制较弱。

水稻的每穗粒数与花序分生组织中的细胞分裂素水平密切相关^[42]。花序分生组织中细胞分裂素水平升高能增强分生组织的活性, 形成更多的分支, 使水稻穗粒数增加^[11], 我们推测在水稻花序分生组织发育过程中, 过表达 *CA-osrac3* 会抑制细胞分裂素信号, 导致分生组织活性下降, 形成的穗分支减少, 最终导致每穗粒数减少。对于 *DN-osrac3* 转基因植株, 虽然细胞分裂素信号受到的抑制减弱, 但是每穗粒数仍然减少, 对此, 我们认为可能是过表达的 *DN-osrac3* 与其他 RAC/ROPs 竞争 GEFs, 使得其他 RAC/ROPs 的激活受到抑制, 从而导致籽粒减少。

但是细胞分裂素对籽粒大小的调控作用比较复杂。不同类型的作用组织、信号通路中不同组分的变化均可能对籽粒大小产生影响, 对于茎尖分生组织和正在发育的籽粒而言, 细胞分裂素的水平可能是影响籽粒大小最为显著的因素之一^[43]。 *HK6* (*Histidine kinase 6*) 编码细胞分裂素组氨酸激酶受体, *hk6* 失活突变体表现出对细胞分裂素敏感性下降, 水稻籽粒数量减少, 但籽粒增大^[44]。 *CA-osrac3* 株系籽粒和千粒质量均显著大于野生型 ZH11 的, 而 *DN-osrac3* 转基因植株显著小于 ZH11 的。在水稻中, 小穗的颖壳限制籽粒的生长, 在决定籽粒大小方面起主要作用^[45]。基因影响籽粒大小主要是通过调节小穗颖壳中细胞分裂和细胞大小来实现^[45], 同时也受到细胞分裂素水平的影响^[44]。我们推测 *OsRAC3* 对籽粒性状的影响可能是通过抑制细胞分裂素信号实现的。 *DN-osrac3* 转基因植株中, 其他 RAC/ROPs 的激活也受到抑制, 因此其籽粒减小可能是通过其他 RAC/ROPs 所介导的未知途径造成的。 *CA-osrac3* 转基因植株籽粒增大, 可能是由于花序分生组织细胞分裂素信号受阻, 导致细胞分裂活性降低, 表现为穗小分支少, 穗粒数减少; 因此在灌浆期时, 每个籽粒分配得到的光合同化物增加, 籽粒增大。但是目前尚不清楚 *OsRAC3* 是否可以通过其他途径影响水稻籽粒性状, 有待进一步研究阐明。

参考文献:

[1] ROSEGRANT M W, CLINE S A. Global food security: Challenges and policies[J]. *Science*, 2003, 302(5652): 1917-1919.

[2] GODFRAY H C J, BEDDINGTON J R, CRUTE I R, et al. Food security: The challenge of feeding 9 billion people[J]. *Science*, 2010, 327(5967): 812-818.

[3] ZHOU Y, TAO Y, YUAN Y, et al. Characterisation of a novel quantitative trait locus, *GN4-1*, for grain number and yield in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131(3): 637-648.

[4] SAKAMOTO T, MATSUOKA M. Identifying and exploiting grain yield genes in rice[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2008, 11(2): 209-214.

[5] LI S, ZHAO B, YUAN D, et al. Rice zinc finger protein DST enhances grain production through controlling *Gn1a/OsCKX2* expression[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(8): 3167-3172.

[6] 吴琳华, 陈文丰. 水稻花序结构调控机制研究进展[J]. *广东农业科学*, 2022, 49(9): 42-52.

[7] 董皓, 李懿星, 宋书锋, 等. 水稻穗粒数相关基因研究进展[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(18): 6045-6050.

[8] KOMATSU K, MAEKAWA M, UJIIE S, et al. *LAX* and *SPA*: Major regulators of shoot branching in rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(20): 11765-11770.

[9] IKEDA K, ITO M, NAGASAWAO N, et al. Rice *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1*, encoding an F-box protein, regulates meristem fate[J]. *Plant Journal*, 2007, 51(6): 1030-1040.

[10] KURAKAWA T, UEDA N, MAEKAWA M, et al. Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme[J]. *Nature*, 2007, 445(7128): 652-655.

[11] ASHIKARI M, SAKAKIBARA H, LIN S Y, et al. Cytokinin oxidase regulates rice grain production[J]. *Science*, 2005, 309(5735): 741-745.

[12] TAN L, LI X, LIU F, et al. Control of a key transition from prostrate to erect growth in rice domestication[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(11): 1360-1364.

[13] JIN J, HUANG W, GAO J, et al. Genetic control of rice plant architecture under domestication[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(11): 1365-1369.

[14] HUANG X, QIAN Q, LIU Z, et al. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice[J]. *Nature Genetics*, 2009, 41(4): 494-497.

[15] IKEDA-KAWAKATSU K, YASUNO N, OIKAWA T, et al. Expression level of *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION1* determines rice inflorescence form through control of cell proliferation in the meristem[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(2): 736-747.

[16] JIAO Y, WANG Y, XUE D, et al. Regulation of *OsSPL14* by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice[J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(6): 536-541.

[17] OOKAWA T, HOBO T, YANO M, et al. New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield[J]. *Nature Communications*,

- 2010, 1: 132. doi: 10.1038/ncomms1132.
- [18] MIURA K, IKEDA M, MATSUBARA A, et al. *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice[J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(6): 545-549.
- [19] WU H, HAZAK O, CHEUNG A Y, et al. RAC/ROP GTPases and auxin signaling[J]. *Plant Cell*, 2011, 23(4): 1208-1218.
- [20] FEIGUELMAN G, FU Y, YALOVSKY S. ROP GTPases structure-function and signaling pathways[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(1): 57-79.
- [21] 刘礼瑶, 赵博, 熊仁次. 植物小 G 蛋白 ROPs 生物学功能研究进展[J]. *现代园艺*, 2023, 46(9): 37-40.
- [22] 吕畅, 周利明. ROP 信号途径在细胞极性发育中的研究进展[J]. *农业与技术*, 2023, 43(6): 10-13.
- [23] 郭亚如, 陈欣, 黄俊骏. ROP 蛋白在植物生长发育及逆境响应中的作用研究进展[J]. *河南农业科学*, 2021, 50(11): 1-5.
- [24] 廖恒毅, 王若霖, 黄进. ROPs: 植物细胞内多种信号通路的分子开关[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2022, 38(3): 271-283.
- [25] ETIENNE-MANNEVILLE S, HALL A. Rho GTPases in cell biology[J]. *Nature*, 2002, 420(6916): 629-635.
- [26] BERKEN A, WITTINGHOFFER A. Structure and function of Rho-type molecular switches in plants[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2008, 46(3): 380-393.
- [27] KOST B, LEMICHEZ E, SPIELHOFER P, et al. Rac homologues and compartmentalized phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate act in a common pathway to regulate polar pollen tube growth[J]. *Journal of Cell Biology*, 1999, 145(2): 317-330.
- [28] FU Y, WU G, YANG Z. Rop GTPase-dependent dynamics of tip-localized F-actin controls tip growth in pollen tubes[J]. *Journal of Cell Biology*, 2001, 152(5): 1019-1032.
- [29] WU G, GU Y, LI S, et al. A genome-wide analysis of *Arabidopsis* Rop-interactive CRIB motif-containing proteins that act as Rop GTPase targets[J]. *Plant Cell*, 2001, 13(12): 2841-2856.
- [30] MOLENDIJK A J, BISCHOFF F, RAJENDRAKUMAR C S, et al. *Arabidopsis thaliana* Rop GTPases are localized to tips of root hairs and control polar growth[J]. *The EMBO Journal*, 2001, 20(11): 2779-2788.
- [31] JONES M A, SHEN J J, FU Y, et al. The *Arabidopsis* Rop2 GTPase is a positive regulator of both root hair initiation and tip growth[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(4): 763-776.
- [32] CRADDOCK C, LAVAGI I, YANG Z. New insights into Rho signaling from plant ROP/Rac GTPases[J]. *Trends in Cell Biology*, 2012, 22(9): 492-501.
- [33] CHOI Y, LEE Y, HWANG J. *Arabidopsis* ROP9 and ROP10 GTPases differentially regulate auxin and ABA responses[J]. *Journal of Plant Biology*, 2014, 57(4): 245-254.
- [34] LI H, LIN Y, HEATH R M, et al. Control of pollen tube tip growth by a Rop GTPase-dependent pathway that leads to tip-localized calcium influx[J]. *Plant Cell*, 1999, 11(9): 1731-1742.
- [35] CHEN L, SHIOTANI K, TOGASHI T, et al. Analysis of the Rac/Rop small GTPase family in rice: Expression, subcellular localization and role in disease resistance[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2010, 51(4): 585-595.
- [36] ONO E, WONG H L, KAWASAKI T, et al. Essential role of the small GTPase Rac in disease resistance of rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(2): 759-764.
- [37] KIM S H, OIKAWA T, KYOZUKA J, et al. The bHLH Rac immunity1 (RAI1) is activated by OsRac1 via OsMAPK3 and OsMAPK6 in rice immunity[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2012, 53(4): 740-754.
- [38] ZHANG Y, XIONG Y, LIU R, et al. The Rho-family GTPase OsRac1 controls rice grain size and yield by regulating cell division[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(32): 16121-16126.
- [39] LIU H, HUANG J, ZHANG X, et al. The RAC/ROP GTPase activator OsRopGEF10 functions in crown root development by regulating cytokinin signaling in rice[J]. *Plant Cell*, 2022, 35(1): 453-468.
- [40] YANG Z B. Small GTPases: Versatile signaling switches in plants[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(S): S375-S388.
- [41] SAKAMOTO T, MATSUOKA M. Generating high-yielding varieties by genetic manipulation of plant architecture[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2004, 15(2): 144-147.
- [42] YIN C, ZHU Y, LI X, et al. Molecular and genetic aspects of grain number determination in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(2): 728. doi: 10.3390/ijms22020728.
- [43] LI N, XU R, DUAN P, et al. Control of grain size in rice[J]. *Plant Reproduction*, 2018, 31(3): 237-251.
- [44] BURR C A, SUN J, YAMBURENKO M V, et al. The HK5 and HK6 cytokinin receptors mediate diverse developmental pathways in rice[J]. *Development*, 2020, 147(20): dev191734. doi: 10.1242/dev.191734.
- [45] LI N, LI Y. Signaling pathways of seed size control in plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2016, 33: 23-32.