

综述 · 乙烯

## 乙烯的生物合成与信号传递

陈涛, 张劲松\*

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 国家植物基因组重点实验室, 北京 100101

**摘要** 乙烯是气体植物激素, 它在植物的生长发育过程中有很多作用。所以了解乙烯的生物合成及其信号转导是非常重要的。二十年来, 通过筛选有异于正常三重反应的突变体, 人们发现了乙烯信号转导的粗略轮廓。在拟南芥中, 有5个受体蛋白感受乙烯, ETR1、ERS1、ETR2、ERS2、EIN4。它们表现出功能冗余, 是乙烯信号的负调控因子, 在植物体内以二聚体的形式存在。ETR1的N端与乙烯结合时需要铜离子( $\text{Cu}^{2+}$ )的参与。尽管已经发现ETR1有组氨酸激酶活性, 而其它受体有丝氨酸/苏氨酸激酶活性, 但受体参与乙烯信号转导的机制还不是很清楚。受体与Raf类蛋白激酶CTR1相互作用, CTR1是乙烯反应的负调控因子。CTR1蛋白失活使EIN2蛋白活化。EIN2的N端是跨膜结构域, 与Nramp家族金属离子转运蛋白的跨膜结构域类似。EIN2的C端是一个新的未知结构域, 与乙烯信号途径的下游组分相互作用。EIN3位于EIN2的下游, EIN3和EILs诱导ERF1和其它转录因子的表达, 这些转录因子依次激活乙烯反应目的基因的表达, 表现出乙烯的反应。EIN3受到蛋白酶体介导的蛋白降解途径的调节。由于乙烯是一种多功能的植物激素, 其信号途径与其它信号途径有多重的交叉。

**关键词** 乙烯, 信号转导, ETR1, CTR1, EIN2, EIN3, 激酶, 交叉

## Ethylene Biosynthesis and Signal Pathway Model

Tao Chen, Jinsong Zhang\*

State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Genetics and Development Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract** The gaseous hormone ethylene has numerous effects during plant growth and development. It is important to know how ethylene is synthesized and how the signal is transduced. During the past twenty years, the isolation and characterization of various mutants that show an altered triple-response phenotype has uncovered a largely linear ethylene signaling pathway with branches in the downstream response pathway. In *Arabidopsis*, perception of ethylene is performed by five receptors, ETR1, ERS1, ETR2, ERS2, EIN4, which exhibit structural and functional redundancy and are negative regulators of ethylene signaling. The receptors are homodimer in vivo. The membrane-bound N-terminal of ETR1 binds ethylene with the assistance of a copper cofactor  $\text{Cu}^{2+}$ . Although ETR1 was reported to possess histidine kinase activity whereas other receptors have serine/threonine kinase activity, the mechanism of ethylene receptor signaling is largely unclear. The receptors interact with a Raf-like protein kinase CTR1, which is a negative regulator in the ethylene response. Inactivation of CTR1 leads to activation of EIN2, which consists of a novel C-terminal signaling domain, and a N-terminal transmembrane domain with sequence similarity to the Nramp family of metal ion transporters.

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30370130)

\* Author for correspondence. E-mail: jszhang@genetics.ac.cn

Downstream of EIN2, EIN3 and EILs function as primary transcription factors that can induce expression of ERF1 and other secondary transcription factors, which in turn regulate a large number of ethylene response genes. EIN3 is regulated by a proteasome-mediated protein degradation pathway. As ethylene is a versatile phytohormone, its response pathway has multiple interactions (crosstalk) with other signaling pathways.

Key words ethylene, signal pathway, ETR1, CTR1, EIN2, EIN3, kinase, crosstalk

## 1 乙烯简介

乙烯( $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ )是最早发现的植物激素之一。早在1901年,俄罗斯植物生理学家Neljubov就发现照明气中的乙烯会引起黑暗中生长的豌豆幼苗产生“三重反应”(Neljubov, 1901)。1934年,英国人Gane研究发现植物能自身产生乙烯,因此说明了乙烯是植物生长发育的内源调节剂(Gane, 1934)。1965年Burg和Burg提出,乙烯是一种植物激素(Burg and Burg, 1965),此后这个观点便得到了公认。

乙烯是一种具有生物活性的简单气体分子,它调节着植物生长发育和许多生理过程,如种子萌发、根毛发育、植物开花、果实成熟、器官衰老及植物对生物和逆境胁迫的反应等(Bleecker and Kende, 2000)。典型的乙烯反应是“三重反应”,即:乙烯处理的暗生长的植物幼苗会表现出下胚轴变短和横向膨大;根伸长受到抑制;顶钩弯曲度增大。

乙烯几乎参与了植物生长发育直至衰老死

亡的全部过程,它的内源产生以及信号转导一直是人们所关注的焦点。

## 2 乙烯的合成及调节机制

### 2.1 乙烯的合成

几乎所有的植物组织都能产生乙烯,但大多数情况下浓度都很低。Yang和Hoffman(1984)通过一系列精巧的实验阐明了乙烯的合成途径(Bleecker and Kende, 2000)。乙烯衍生自甲硫氨酸(图1),它的产生过程分为以下几个步骤:

(1)甲硫氨酸在S-腺苷甲硫氨酸合成酶(S-adenosyl methionine synthetase, SAMS)催化下变成S-腺苷甲硫氨酸(SAM)(图1)。SAM是植物体内主要的甲基供体,用做许多生化合成途径的底物,例如乙烯合成途径和精胺/亚精胺合成途径等。

(2)SAM在ACC合酶(ACC synthase, ACS)的催化下产生氨基环丙烷羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)和5'-甲硫腺苷(MTA)。ACC合酶是整个乙烯合成途径中的

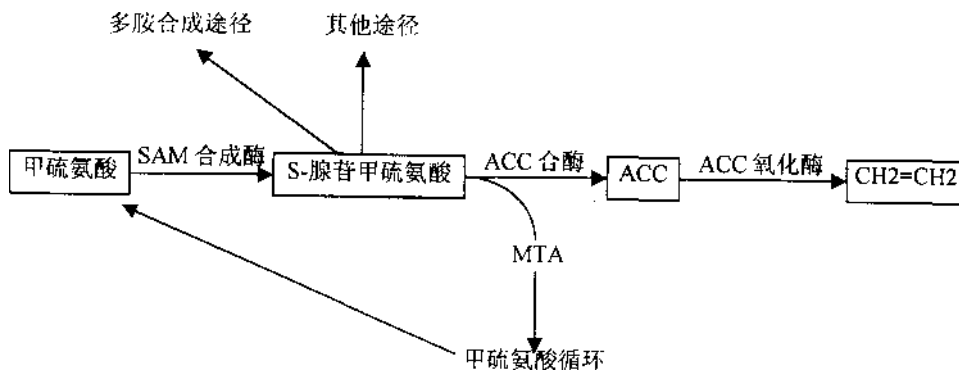


图1 乙烯的合成

Fig. 1 Ethylene biosynthesis

关键酶和限速酶。ACC 用于产生乙烯; MTA 则通过甲硫氨酸循环变回甲硫氨酸。

(3) ACC在ACC氧化酶(ACC oxidase, ACO)催化下产生乙烯。

## 2.2 乙烯合成的调控

由于 ACC 合酶是整个途径的关键酶和限速酶, 所以对ACC合酶的调控对整个合成途径来说是最重要的。

在植物体内, ACC合酶(ACS)是由一个大家族编码的。以拟南芥为例, 全基因组序列显示共有12个ACS, ACS1-12, 分布于整个5条染色体。其中, 8个(ACS2, 4-9, 11)是有功能的, ACS1是无功能的, ACS3是假基因, ACS10和ACS12编码对天冬氨酸和芳环氨基酸特异的转氨酶(aminotransferase, ATase)(Yamagami et al., 2003)。在其它植物中也有类似的情况, 例如番茄和水稻。ACS2 受环己酰亚胺(CHX)、伤害和乙烯处理诱导; ACS4 在幼苗期受 CHX、吲哚乙酸(IAA)及伤害诱导; ACS5受氯化锂诱导, 并且仅在黄化苗中受低浓度细胞分裂素诱导; ACS6 受氰化物诱导, 也受 CHX、IAA、乙烯诱导(Lian et al., 1992, 1996; Arteca and Arteca, 1999)。以上结果说明不同ACS基因受不同因素的调节。

对拟南芥中乙烯合成的遗传研究显示ACS受转录后调控。拟南芥中筛到3个乙烯过量表达突变体 *eto1*、*eto2*、*eto3*。*eto1* 是一个隐性突变体而*eto2*和*eto3*是显性突变体。*eto*突变体组成型乙烯反应的表型可以被乙烯合成及乙烯感受的抑制剂所抑制, 表明这些突变体在乙烯合成的调节时受到影响。分子分析显示 *eto2*突变体是由于ACS5基因的单碱基插入造成C端后11个氨基酸的中断产生的。虽然*eto2*中mRNA的水平有少许的变化, 但*eto2*黄化苗中乙烯的产量是野生型黄化苗的20倍, 表明乙烯产生的增加不是由于基因表达水平改变造成的, 而是由于ACS5的活性增加造成的。*cin*突变体的发现进一步阐明了ACS5的调控机制。

低剂量的细胞分裂素( $0.5-10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )能刺激乙烯的产生。通过筛选不能在有细胞分裂素的情况下增产乙烯的突变体, 得到了*cin*突变体(cytokinin-insensitive, *cin1-cin5*)。通过图位克隆得到CIN5, 它与ET02和ACS5非常近似, 也是ACS5的一种同工型, 这表明这种同工型是细胞分裂素调控的主要靶标。另外, 细胞分裂素介导的乙烯产生并不与ACS5 mRNA的诱导有关, 这说明细胞分裂素增强ACS5的功能主要是一种转录后调节机制。总之, 上述结果表明ACS5的C端对蛋白的功能有负调节作用, 细胞分裂素可能部分地通过减轻这种抑制来提高乙烯的合成(Vogel et al., 1998a, 1998b)。

从*eto1*和*eto3*突变体分析来看, ACS的功能也是受转录后调节的。ET01基因编码一个含有肽结合结构域蛋白, 通过这个结构域ET01与ACS5相互作用并抑制其活性, 但ET01并不与ACS5的一种同工型ET02相互作用。过量表达ET01可以抑制细胞分裂素诱导的乙烯产生并且通过依赖于蛋白酶体的途径加快ACS5的降解。ET01也与CUL3(Cullin3)相互作用, CUL3编码一个E3泛素连接酶复合体的亚基。因此表明, ET01有两种功能: 抑制ACS酶的活性并且使其降解(Wang et al., 2004)。*eto3*突变体与*eto2*相似, 它的表型是由于ACS9的C端有错义突变所致(Chae et al., 2003)。

总结以上结果, 乙烯合成调节的一种重要机制是调节ACS蛋白的活性, 这种调节至少部分通过蛋白的C端结构域来实现。

乙烯合成途径的最后一步, 由ACC变成乙烯, 是由ACC氧化酶(ACO)催化的。目前已经从很多植物中克隆出了ACO基因。在拟南芥中, ACO是一个多基因家族, 但是关于这些基因的更详细报道却比较少。知道在有外源乙烯情况下, AtACO2的转录水平升高; 3个ACO基因和1个类ACO基因受乙烯影响(Raz and Ecker, 1999; de Paepe et al., 2004)。

### 3 乙烯的信号转导

关于乙烯信号转导途径的了解大部分来源于遗传学的研究。通过分离突变体, 乙烯的信号转导途径已经有了一个大概的轮廓。最早筛选乙烯突变体的方法是基于植物对乙烯的三重反应特征, 乙烯反应的突变体主要分成两大类: 对乙烯不敏感或敏感性减弱的突变体, 特征是在黑暗中萌发的种子, 即使在存在乙烯或 ACC 的条件下, 也不再具有或者具有减弱的三重反应, 命名为 ethylene/ACC-insensitive (ein/ain) 和 ethylene-resistant (etr) 以及 weak ethylene-insensitive (wei) (Bleecker et al., 1988; Roman et al., 1995; Alonson et al., 2003)。组成型乙烯反应突变体, 特征是在黑暗中萌发的种子, 在不存在乙烯的条件下, 仍能表现出三重反应。这类突变体根据其对于乙烯合成抑制剂(例如 AVG、硫代硫酸银)的敏感程度又分为两类: 其表型能被抑制剂抑制的乙烯过量产生突变体 (ethylene-overproducers, eto); 其表型不能被抑制剂抑制的组成型乙烯反应突变体 (constitutive triple-response, ctr)。

至今, 用标准的三重反应筛选突变体似乎已经饱和了; 于是又发展了一些其它方法, 其中一种是筛选在低浓度乙烯下显示增强的乙烯反应的突变体, 得到了 eer1 (enhanced-ethylene-response 1) 突变体 (Larsen and Chang, 2001)。另外还发展了不同于三重反应的新筛选方法, 例如使用乙烯拮抗剂筛选对拮抗剂有反应的突变体。得到 ran 突变体 (response to antagonist) (Hirayama et al., 1999)。

通过对这些突变体进行遗传学及分子生物学的研究分析, 已在拟南芥中确立了一条从在膜上对乙烯的接受到在核内的转录调控的线性的乙烯信号转导途径。

#### 3.1 乙烯的感受

拟南芥中共有 5 个乙烯受体, ETR1、ETR2、ERS1、ERS2 和 EIN4, 这些受体和细菌

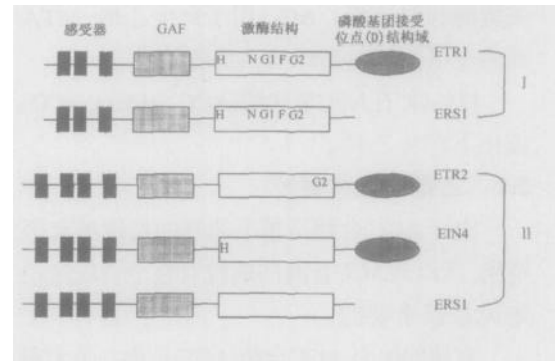


图2 拟南芥中乙烯受体家族 GAF: GAF结构域; I. 亚家族I; II. 亚家族II; H. 保守组氨酸; N,G1,F,G2. ATP 结合结构域

Fig. 2 Ethylene receptor family in Arabidopsis

的双组分调控蛋白具有相似性。根据结构上的特点可将其分为两类(图2), 第一类包括 ETR1 和 ERS1, 它们都具有氨基端乙烯结合结构域和非常保守的羧基端组氨酸激酶结构域; 第二类受体包括 ETR2、ERS2 和 EIN4, 它们具有氨基端乙烯结合结构域, 但组氨酸激酶结构域是不完整的, 缺少催化活性所必需的一个或多个元件。在 5 个受体中, ETR1、ETR2 和 EIN4 还有一个接收器结构域, 但其功能尚不清楚 (Guo and Ecker, 2004)。

拟南芥 5 个乙烯受体中的任何一个发生显性突变都会使植物变得对乙烯不敏感, 表明所有这 5 个乙烯受体都参与了对乙烯的感受。在酵母系统中的乙烯结合实验验证了这个推测并发现结合过程需要有 Cu( ) 参与 (Rodriguez et al., 1999; O'Malley et al., 2005)。通过对 ETR1、ETR2、EIN4 和 ERS2 这 4 个基因的功能缺失型突变体的分析发现, 一个和两个受体功能缺失的突变体没有明显的乙烯反应表型, 说明这些受体之间的功能是高度重叠的。而 3 个和 4 个受体的突变则表现出组成型乙烯反应的表型, 显示这些蛋白对乙烯反应起负调控作用, 拟南芥中乙烯反应的诱导是由于这些蛋白的失活而不是激活 (Hua and Meyerowitz, 1998)。

在ers1 etr1双重突变体(类受体全部功能缺失的突变体)中,过量表达任何一个类受体都不能互补其表型(Wang et al., 2003),而在etr2 ein4 ers2三重突变体中过量表达类受体也不能完全互补类受体缺失造成的表型(O'Malley et al., 2005),这说明类和类受体间虽有功能互补,但各自可能还有独特的功能。

作为最早被发现的乙烯受体,ETR1的研究最为详尽,Gamble等(1998)证明了ETR1有组氨酸激酶活性。Wang等(2003)在ers1-2 etr1-7双重突变体中过量表达ETR1、激酶活性失活的ETR1,都能互补其表型,说明激酶活性不是必需的,而Qu和Schaller(2004)在etr1-6etr2-3ein4-4三重突变体中转入全长ETR1可以互补其表型,但转入失去激酶活性的截短形式后却不能互补,说明ETR1的激酶活性是必需的,所以关于激酶活性与信号转导的关系还不是很清楚。

在烟草中发现的类受体NTHK1有丝氨酸/苏氨酸激酶活性;另一个类受体NTHK2在不同离子情况下,分别表现组氨酸激酶活性和丝氨酸/苏氨酸激酶活性(Xie et al., 2003; Zhang et al., 2004)。随后Moussatche等(2004)研究了全部5个拟南芥乙烯受体的激酶活性,除ETR1外,其余4个都有丝氨酸激酶活性,包括属于类受体的ERS1。ERS1可能还有组氨酸激酶活性。

在植物体内,有功能的乙烯受体是以二聚体形式存在的,乙烯与处于跨膜区内的氨基酸结合,此过程需要Cu离子的参与。RAN1是拟南芥的一种Cu<sup>2+</sup>转运蛋白,突变体功能分析表明它对于乙烯受体正常的功能发挥是必需的(Hirayama et al., 1999)。

### 3.2 乙烯的胞质内信号转导

对组成型乙烯反应突变体ctr1的研究发现,其表现为乙烯信号通路组成型激活,而ctr1是一个功能缺失型突变体,因此说明CTR1是乙烯信号转导的负调控因子(Kieber et al., 1993)。由于ctr1 etr1双重突变体仍表现为组成型乙烯

反应,所以CTR1应该位于ETR1的下游。

CTR1基因编码821个氨基酸的蛋白,其C端序列含有一个与Raf家族丝氨酸/苏氨酸激酶结构域相似的结构,且它的激酶活性得到验证(Huang et al., 2003);而其N端与Raf却有很少的相似性。酵母双杂交和体外结合实验表明,CTR1的N端可以与ETR1的接收器结构域(receiver domain)直接结合,也可以与ERS1的激酶结构域直接结合(ERS1无接收器结构域),这种结合对于乙烯信号的负调控是必需的(Clark et al., 1998)。但是类受体ETR2与CTR1结合比起类受体要弱得多(Cancel and Larsen, 2002)。通过这些发现,可以解释类受体在乙烯信号转导中扮演着极其重要的角色可能是由于两类受体与CTR1作用的强弱所致。

到此,乙烯信号转导的前几步可总结如下:当没有乙烯存在时,乙烯受体处于活性有功能的状态,与CTR1结合,CTR1抑制了下游的乙烯反应;当乙烯存在时,受体失活,不能与CTR1结合,CTR1抑制的下游乙烯反应开启,表现为乙烯反应。

另外,有几个现象表明乙烯的信号转导并非完全依赖于CTR1。一个是在ctr1功能缺失突变体中仍有一点对乙烯反应的能力(Larsen and Chang, 2001);另一个是乙烯受体的四重突变体有着比ctr1功能缺失突变体更加严重的表型(Hua and Meyerowitz, 1998)。这些现象表明植物体内还存在不依赖于CTR1的其它乙烯信号转导途径。Hass等(2004)研究发现了一条不依赖于CTR1的、传统的两组分信号系统的途径。

虽然存在不依赖于CTR1的乙烯信号转导途径,但总体上来说,植物体内的大部分乙烯反应是通过CTR1转导的。CTR1作为一个有激酶活性的MAPKKK,可能通过激活MAPK级联信号系统来行使功能。

近来发现,乙烯能活化拟南芥中MAPK 47 kD蛋白。Quaked等(2003)在研究苜蓿中MAPK

对不同生物和非生物胁迫时发现, 两个MAPK—盐胁迫诱导的MAPK(SALT-STRESS-INDUCIBLE MAPK, SIMK)和苜蓿MAPK3(Medicago MAPK3, MMK3), 被ACC诱导, 并且它们的活性是受SIMKK(SIMK Kinase)诱导的, 而且ACC处理刺激SIMKK的活性。在拟南芥中发现, 乙烯能诱导拟南芥MAPK(MPK6)的活化, 而且此过程需要有功能的乙烯受体和CTR1参与, 但并不需要EIN2和EIN3。这些证据暗示了由SIMKK和SIMK(MPK6)组成的MAPK级联信号系统参与了乙烯反应途径, 并且处于乙烯受体和CTR1的下游。

过量表达SIMKK的转基因拟南芥显示组成型的乙烯反应表型。与ctr1表型类似, 此转基因植物表型不被乙烯合成抑制剂AVG所抑制, 表明此表型是由于乙烯信号转导增强而非乙烯过量表达所致。在SIMKK过量表达植物中, AtMPK6的活性被组成型地活化了。这些证据表明SIMKK-MPK6途径是乙烯反应的正调节因子(Quaked et al., 2003)。Liu等(2004)发现ACS2和ACS6是AtMPK6的底物。ACS6被MPK6磷酸化后稳定性增强, 导致胞内ACS的水平增高从而提高乙烯产量。

虽然此途径看似可行, 但还有几个问题需要解决: 一个是如果CTR1是SIMKK的上游, 由于CTR1为乙烯反应的负调节因子而SIMKK-MPK6途径是乙烯反应的正调节因子, 所以CTR1必须负调节SIMKK, 但动物和植物的MAPK级联信号系统中从未报道过负调节的情况, 所以需要更多的证据来证明这种情况。另外, 由于EIN2和EIN3是乙烯反应所必需的组分, 需要在ein2和ein3突变体中过量表达SIMKK以确定它处于EIN2和EIN3的上游还是不依赖于EIN2和EIN3。

在CTR1之后是EIN2, ein2功能缺失突变体表现为乙烯完全不敏感, 因此, 在乙烯信号转导途径中, EIN2具有关键性的作用。上位分析表明EIN2位于CTR1的下游。EIN2编码一个

1294个氨基酸的膜蛋白, 它有12个跨膜结构域。其N端与阳离子转运蛋白Nramp家族有较高的同源性, 而其C端是一个未知的结构域。EIN2的C端参与了乙烯的信号转导, 在EIN2缺失突变体ein2-5中过量表达EIN2的C端(EIN2CEND), 成年的转基因植株显示组成型的乙烯反应和组成型表达乙烯调控的基因, 但在暗生长的幼苗不能诱导三重反应。这个结果说明EIN2的N端作为一个信号接受域与上游的信号因子相互作用; 而C端是将此信号向下转导所必需的结构域(Alonso et al., 1999)。

由于EIN2与Nramp家族蛋白类似, 所以EIN2被假设能作为二价阳离子转运蛋白发挥作用, 然而并没有发现EIN2的金属结合或金属转运功能。所以EIN2在乙烯信号转导中究竟如何发挥作用至今仍不清楚。

有趣的是, 在其它信号途径的突变体筛选中也独立地筛选到ein2突变体, 例如筛选生长素极性运输、细胞分裂素反应、ABA敏感性和衰老延迟等。这表明EIN2在多种信号途径中起作用, 或者可能是多种信号途径的交叉点, 当然也存在其它可能性。另外, ein2突变体也对某些细菌及真菌的敏感性有变化, 因此EIN2可能也参与了生物胁迫。

### 3.3 乙烯的核内信号转导

在ein2缺失突变体中过量表达EIN3引起植物表现组成型乙烯应答, 这表明EIN3在乙烯信号途径中处于EIN2的下游。ein3功能缺失突变体表现乙烯部分不敏感, 这说明EIN3是一个乙烯反应的正调节因子(Chao et al., 1997)。EIN3编码一个由628个氨基酸组成的转录因子。

乙烯对EIN3调控是通过泛素降解途径来完成的。乙烯不存在条件下, EIN3很快地通过由两个F-box蛋白, EBF1和EBF2(EIN3-binding F-box protein 1和2), 介导的泛素/蛋白酶体途径降解。过量表达EBF1的植物对乙烯不敏感; 相反的, ebf1ebf2双突变体显示组成型的乙烯反应

(Guo and Ecker, 2003, Potuschak et al., 2003)。通过上述研究表明泛素/蛋白酶体途径通过降解 EIN3 来对乙烯反应进行负调控。在乙烯信号转导中, EIN3 的降解需要降低或关闭以允许乙烯刺激后 EIN3 的积累。有几种机制可以解释乙烯是怎样调控 EIN3 活性的。一种是感知乙烯刺激后, SCFEBF1/EBF2 被负调节以积累 EIN3; 另一种是直接保护 EIN3 不被泛素途径降解。

EIN3/EILs 作为转录因子的直接证据是发现它们能结合 ERF1 (ethylene response factor) 基因的启动子元件, 即初级乙烯应答元件 (primary ethylene-response element, PERE)。ERF1 是 EIN3 的已知仅有的目标。EIN3/EIL1/EIL2 是以同源二聚体形式与 ERF1 的 PERE 结合的。

ERF1 属于一大类植物特异的转录因子家族, 在拟南芥中有 124 个成员, 这个家族也被称为 EREBPs (ethylene response element binding proteins)。其中的某些转录因子能结合次级乙烯反应元件 (secondary ethylene response element, SERE), GCC-box。这个元件序列是一些防御基因表达所必需的。一些 ERF 基因编码转录激活因子, 而另一些编码转录抑制因子。不同 ERF 基因的表达所受的调控也不同, 其中只有一小部分受乙烯调节, 例如 ERF1、ERF14

等。一些 ERF 基因的启动子序列也包含了 GCC box, 表明这些 ERF 基因能被 ERF 家族其它成员调控。这种家族多个成员转录级联使得其能在多个点被不同途径调节 (Solano et al., 1998)。

综上所述, 乙烯的信号转导通路可以用图 3 来概括。

### 3.4 乙烯信号转导中的其它组分

除了上面已详尽鉴定的突变体外, 还有一些突变体也显示影响了乙烯信号转导。基于双重突变体分析, 乙烯不敏感突变体 *ain/ein5*、*ein6* 和 *ein7* 位于 CTR1 的下游 (van der Straeten et al., 1993; Roman et al., 1995)。隐性突变体 *aux1* 和 *eir1/pin2/agr1*, 其下胚轴对乙烯有反应而根显示乙烯不敏感。*aux1* 突变体是生长素抗性的而 *eir1* 突变体是对生长素有反应的。*Aux1* 是生长素转运蛋白, 在生长素的转运和重新分配中起作用 (Bennet et al., 1996)。*aux1* 和 *eir1/pin2/agr1* 的根对乙烯不敏感可能与乙烯调控生长素的运输有关。

通过使用低浓度的乙烯, 鉴定出了增强的乙烯反应突变体 *eer1* (enhanced ethylene response)。*eer1* 突变体在其下胚轴和茎有增强的乙烯敏感度而在根部的乙烯敏感度却降低了。对 *eer1* 进行分子克隆显示, 它的表型是由 RCN1 的功能缺失造成的。RCN1 是拟南芥中蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的三个调节亚基之一。其参与乙烯途径可能是 PP2A 调节 CTR1 的活性 (Larsen and Cancel, 2003)。

用低剂量筛选到了弱的乙烯不敏感突变体 *we1*。*we1*、*we2* 和 *we3* 幼苗仅在根部显示乙烯不敏感性, 而 *we4* 和 *we5* 在根和下胚轴显示不敏感性。*we1* 是 TIR1 的隐性突变, TIR1 编码一个生长素反应中 SCF 蛋白泛素连接酶的一个组分。*we4* 是由于乙烯受体 ERS1 的一个突变造成的。*we2* 和 *we7* 分别编码邻氨基苯甲酸酯合酶 (anthranilate synthase) 的  $\alpha$  和  $\beta$  两个亚基。邻氨基苯甲酸酯合酶是色氨酸合成途径的限速酶。

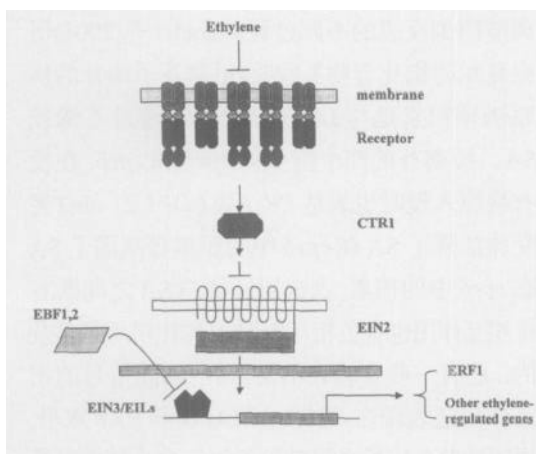


图3 乙烯信号转导通路模型(引自Chang, 2003)

Fig. 3 Ethylene signal pathway model (Chang, 2003)

最近, Resnick等(2006)在etr1-2乙烯不敏感突变体基础上进行突变筛选, 得到两个有乙烯反应的突变体, etr1-2 rte1-1和etr1-2 rte1-2。RTE1编码一个可能膜蛋白, 它在植物和原生生物中高度保守。遗传分析表明, RTE1是乙烯信号转导的负调控因子并通过调节ETR1的功能参与乙烯反应(Resnick et al., 2006)。

#### 4 乙烯与其它信号转导通路间的交叉

激素的相互作用在植物的整个生活周期内、不同组织器官内、不同类型细胞内一直存在。不同激素信号的整合介导了植物的生长发育、衰老死亡以及对环境的反应。

##### 4.1 乙烯与生长素

上述的aux1和eir1突变体说明了乙烯与生长素之间有相互作用。另外一个例子是hls1突变体, 它在暗生长时有乙烯的情况下失去形成显著的顶钩的能力。这种无顶钩的表型可以通过加入生长素或生长素转运抑制剂来模拟。HLS1编码一个预测的N-乙酰转移酶, 它通过抑制生长素反应因子ARF2在顶钩区控制生长素的反应。乙烯和光都通过HLS1来调节ARF2, 这表明HLS1在乙烯、光、生长素共同调节的顶钩的形成、保持和展开的过程中起着关键的枢纽作用(Lehman et al., 1996; Li et al., 2004)。另外一个突变体alh1是ACC相关的长下胚轴突变体, 它的表型是在有光没有乙烯情况下, 比野生型有更长的下胚轴, 这个表型可以被生长素转运抑制剂所恢复(Vandenbussche et al., 2003)。近来研究发现两个生长素反应因子ARF19和ARF7既参与了生长素的信号也参与了乙烯的反应(Li et al., 2006)。总之, 上述证据都表明乙烯与生长素在很多点都有交叉。

##### 4.2 乙烯与ABA

筛选ABA信号转导途径突变体时发现, EIN2和CTR1分别是ABA不敏感突变体abi1的抑制因子和增强因子(Beaudion et al., 2000)。era3突变体以前被鉴定是ABA超敏感的, 后来

发现与ein2是等位的。植物对乙烯不敏感的突变体, 例如etr1和ein2, 在萌发过程中对ABA的敏感性增强, 而ctr1突变体在萌发过程中对ABA的敏感性降低。ctr1突变体加强了abi1-1对ABA不敏感性, 而ein2则相反。这些结果说明这两种激素作用于同一条或两条平行的途径。

##### 4.3 乙烯与水杨酸(SA)和茉莉酸(JA)

在大多数情况下, 植物对广谱病原的系统获得抗性, 是通过提高内源水杨酸(SA)的水平来实现的。SA诱导表达一些病原相关基因, PR基因的表达。然而有一些病原通过激活乙烯和茉莉酸(JA)的信号通路来诱导植物的防御反应。乙烯信号途径突变体ein2和JA信号途径的突变体coi1不能诱导一些PR基因的表达, 这些基因包括PDF1.2、PR-3、PR-4, 于是导致了这些突变体对某些病原的易感性。有趣的是PDF1.2的诱导需要JA和乙烯信号的共同参与, 而这两个激素介导的大多数其它反应只对其中一个激素有特异性。这说明乙烯与JA信号途径相互作用, 共同调节一些参与植物防御的基因表达。由于只有少数基因是受两个信号影响的, 所以两个信号通路的相互作用可能是在下游, 可能是在某些防御基因的启动子水平上。然而乙烯和JA信号通路也可以独立地作用来调节防御反应的不同过程。Brader等(2001)研究显示防御化合物3-吲哚-甲基芥子油苷的病原诱导积累是与JA介导的而不通过乙烯或SA。拟南芥的两个突变体cpr5和cpr6, 在没有病原入侵时也表达PR-1和PDF1.2。ein2突变体加强了SA在cpr5中的积累却减弱了SA在cpr6中的积累, 这说明乙烯与SA之间既有正相互作用也有负相互作用, 其作用机理是复杂的。还有一些实验表明SA与乙烯间信号的相互作用还表现在CTR1、MAPK和ERF水平, 说明这两个信号之间存在多个点, 多个层面以及多种调节机制的相互作用。

##### 4.4 乙烯与细胞分裂素



低剂量的细胞分裂素( $0.5-10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )能刺激乙烯的产生。上面提到的突变体 *cin5* 是细胞分裂素不能诱导产生乙烯的突变体,此表型是由于 ACS5 发生突变造成的。这表明 ACS5 是细胞分裂素调控乙烯生产的目标之一,这种调控主要是通过增强 ACS5 功能而不是通过提高其 mRNA 的表达水平,是一种转录后调节(Vogel et al., 1998a, 1998b)。另外,过量表达 ET01 可以抑制细胞分裂素诱导的乙烯产生(Wanget al., 2004)。

#### 4.5 乙烯与糖

Gibson等(2001)分离出了糖不敏感突变体 *sis1*(sugar insensitive 1),它的表型是幼苗发育期对高浓度糖的抑制效应不敏感。*SIS1* 基因是 *CTR1* 的等位基因(Gibson et al., 2001)。另外一个突变体 *sis4*也和 *ctr1*是等位的(Zhou et al., 1998)。这些遗传研究表明乙烯信号通路在植物对糖的反应中扮演角色。然而以上并不能说明 *CTR1* 是乙烯调节糖信号途径的位点,而可以解释为 *CTR1* 失去功能使乙烯信号组成型产生,从而导致了糖的不敏感性。糖对乙烯信号途径的调节可能发生在转录因子水平。研究发现糖和乙烯在调节 EIN3 蛋白稳定性上起拮抗作用。糖加速了 EIN3 的降解而乙烯使 EIN3 更加稳定。植物糖感受器己糖激酶介导了这个反应(Yanagisawa et al., 2003)。DNA microarray 分析显示有几个乙烯合成和信号转导的基因受糖抑制(Price et al., 2004)。

#### 4.6 乙烯与逆境胁迫

由于乙烯合成可以被病原、机械伤害、干旱、高温、盐等多种逆境所诱导(Johnson and Ecker, 1998),因此乙烯也常常被认为是与逆境应答有关的植物激素。逆境条件下乙烯信号的提高主要是由于 SAM 到 ACC 的转化效率提高,这表明 ACS 表达水平的提高是植物在逆境条件下乙烯产量提高的主要原因。

在研究中发现,拟南芥乙烯受体 ERS2 的表达受盐诱导。烟草乙烯受体 NTHK1 的表达也

受盐诱导,过量表达 NTHK1 的拟南芥和烟草都对盐敏感性增加,盐处理转基因拟南芥和烟草能使 NTHK1 的 mRNA 积累。转基因 NTHK1 拟南芥中,盐反应基因 *AtERF4*、*Cor6.6* 和 *rd17* 的表达都增强了。NTHK1 的不同结构域在植物的盐胁迫反应中具有不同的功能,GAF 结构域能诱导 *Cor6.6* 的表达,激酶结构域能诱导 *AtERF4* 的表达。NTHK1 可能通过调控下游 NAC 基因等参与盐胁迫反应。另外,乙烯受体功能获得突变体 *etr1-1*、*ein4-1* 等都有盐敏感表型,乙烯受体功能缺失突变体 *etr1-6*、*etr1-8* 等与野生型相比并没有明显提高盐敏感性,这与这些受体对乙烯的反应是一致的。研究 *ein2* 功能缺失突变体也发现其对盐敏感性增强,表明 EIN2 能增加植物的抗盐能力。但是另外一个乙烯不敏感突变体 *ein3-1*,与野生型相比其对盐的敏感性没有明显变化,说明植物的盐胁迫反应并不通过 EIN3,可能由 EIN2 沿另一个支路向下转导(Zhanget al., 2001; Xie et al., 2003; He et al., 2005; Cao et al., 2006; Zhou et al., 2006)。这些发现都表明乙烯信号途径是植物盐胁迫反应所需要的。

#### 参考文献

- Alonso, J.M., Hirayama, T., Roman, G., Nourizadeh, S., and Ecker, J.R. (1999). EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in *Arabidopsis*. *Science* 284, 2148-2152.
- Alonso, J.M., Stepanova, A.N., Solano, R., Wiseman, E., Ferrari, S., Ausubel, F.M., and Ecker, J.R. (2003). Five components of the ethylene-response pathway identified in a screen for weak ethylene-insensitive mutants in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 2992-2997.
- Arteca J.M., and Arteca R.N. 1999. A multi-responsive gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS6) in mature *Arabidopsis* leaves. *Plant Mol. Biol.* 39, 209-219.
- Beaudoin, N., Serizet, C., Gosti, F., and Giraudat, J. (2000). Interactions between abscisic acid and

- ethylene signaling cascades. *Plant Cell* 12, 1103-1115.
- Bennet, M. J., Marchant, A., Green, H. G., May, S. T., Ward, S. P., Millner, P. A., Walker, A. R., Schulz, B., and Feldmann, K. A. (1996). Arabidopsis AUX1 gene: a permease-like regulator of root gravitropism. *Science* 273, 948-950.
- Bleecker, A. B., and Kende, H. (2000). Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16, 1-18.
- Bleecker A. B., Estelle M. A., Somerville C., and Kende H. (1988) Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana*. *Science* 241, 1086-1089.
- Brader, G., Tas, E., and Palva, E. T. (2001). Jasmonate-dependent induction of indole glucosinolates in *Arabidopsis* by culture filtrates of the nonspecific pathogen *Erwinia carotovora*. *Plant Physiol.* 126, 849-860.
- Burg, S. P., and Burg, E. A. (1965). Ethylene action and the ripening of fruits. *Science* 28, 1190-1196.
- Cancel, J. D. and Larsen, P. B. (2002). Loss-of-function mutations in the ethylene receptor ETR1 cause enhanced sensitivity and exaggerated response to ethylene in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 129, 1557-1567.
- Cao, W. H., Liu, J., Zhou, Q. Y., Cao, Y. R., Zheng, S. F., Du, B. X., Zhang, J. S., and Chen, S. Y. (2006). Expression of tobacco ethylene receptor NTHK1 alter plant response to salt stress. *Plant Cell Environ.* 29, 1210-1219.
- Chang, C. (2003). Ethylene signaling: the MAPK module has finally landed. *Trends Plant Sci.* 8, 365-368.
- Chae, H. S., Faure, F. and Kieber, J. J. (2003). The *eto1*, *eto2* and *eto3* mutations and cytokinin treatment increase ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* by increasing the stability of ACS protein. *Plant Cell* 15, 545-559.
- Chao, Q., Rothenberg, M., Solano, R., Roman, G., Terzaghi, W., and Ecker, J. R. (1997). Activation of the ethylene gas response pathway in *Arabidopsis* by the nuclear protein ETHYLENE INSENSITIVE3 and related proteins. *Cell* 89, 1133-1144.
- Clark, K. L., Larsen, P. B., Wang, X., and Chang, C. (1998). Association of the *Arabidopsis* CTR1 Raf-like kinase with the ETR1 and ERS ethylene receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 5401-5406.
- de Paepe, A., Vuylsteke, M., van Hummelen, P., Zabeau, M., and van der Straeten, D. (2004). Transcriptional profiling by cDNA-AFLP and microarray analysis reveals novel insights into the early response in *Arabidopsis*. *Plant J.* 39, 537-559.
- Gamble, R. L., Coonfield, M. L., and Schaller, G. E. (1998) Histidine kinase activity of the ETR1 ethylene receptor from *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 7825-7829.
- Gane, R. (1934). Production of ethylene by some ripening fruits. *Nature* 134, 1008-1008.
- Gibson, S. I., Laby, R. J., and Kim, D. (2001). The sugar-insensitive 1 (*sis1*) mutant of *Arabidopsis* is allelic to *ctr1*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280, 196-203.
- Guo, H., and Ecker, J. R. (2003) Plant responses to ethylene gas are mediated by SCF<sup>EBF1/EBF2</sup>-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. *Cell* 115, 667-677.
- Guo, H., and Ecker, J. R. (2004). The ethylene signaling pathway: new insights. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7, 40-49.
- Hass, C., Lohrmann, J., Albrecht, V., Sweere, U., Hummel, F., Yoo, S. D., Hwang, I., Zhu, T., Schafer, E., Kudla, J., and Harter, K. (2004). The response regulator 2 mediates ethylene signaling and hormone signal integration in *Arabidopsis*. *EMBO J.* 23, 3290-3302.
- He, X. J., Mu, R. L., Cao, W. H., Zhang, Z. G., Zhang, J. S., and Chen, S. Y. (2005). Plant responses to ethylene gas are mediated by and lateral root development. *Plant J.* 44, 903-916.
- Hirayama, T., Kieber, J. J., Hirayama, N., Kogan, M., Guzman, P., Nourizadeh, S., Alonso, J. M., Dailey, W. P., Dancis, A., and Ecker, J. R. (1999). RESPONSIVE-TO-ANTAGONIST1, a Menkes/Wilson disease-related copper transporter, is required for ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Cell* 97, 383-393.
- Hua, J., and Meyerowitz, E. M. (1998). Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 94, 261-271.

- Huang, Y., Li, H., Hutchison, C.E., Laskey, J., and Kieber, J.J. (2003). Biochemical and functional analysis of CTR1, a protein kinase that negatively regulates ethylene signaling in Arabidopsis. *Plant J.* 33, 221-233.
- Johnson, P.R., and Ecker, J.R. (1998). The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective. *Annu. Rev. Genet.* 32, 227-254.
- Kieber, J.J., Rothenberg, M., Roman, G., Feldmann, K.A., and Ecker, J.R. (1993). CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in Arabidopsis, encodes a member of the Raf family of protein kinases. *Cell* 72, 427-441.
- Larsen, P.B., and Cancel, J.D. (2003). Enhanced ethylene responsiveness in the Arabidopsis *eer1* mutant results from a loss-of-function mutation in the protein phosphatase 2A regulatory subunit, RCN1. *Plant J.* 34, 709-718.
- Larsen, P.B., and Chang, C. (2001). The Arabidopsis *eer1* mutant has enhanced ethylene responses in the hypocotyl and stem. *Plant Physiol.* 125, 1061-1073.
- Lehman, A., Black, P., and Ecker, J.R. (1996). HOOKLESS 1, an ethylene response gene, is required for differential cell elongation in Arabidopsis hypocotyls. *Cell* 85, 183-194.
- Li, H., Johnson, P., Stepanova, A., Alonso, J.M., and Ecker, J.R. (2004). Convergence of signaling pathways in the control of differential cell growth in Arabidopsis. *Dev. Cell* 7, 193-204.
- Li, J.S., Dai, X.H., and Zhao, Y.D. (2006). A role for auxin response factor 19 in auxin and ethylene signaling in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 140, 899-908.
- Liang, X.W., Abel, S., Keller, J.A., Shen, N.F., and Theologis, A. (1992). The 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family of Arabidopsis thaliana. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 11046-11050.
- Liang, X.W., Shen, N.F., and Theologis, A. (1996). Li<sup>+</sup>-regulated 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene expression in Arabidopsis thaliana. *Plant J.* 10, 1027-1036.
- Liu, Y., and Zhang, S. (2004). Phosphorylation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase by MPK6, a stress-responsive mitogen-activated protein kinase, induces ethylene biosynthesis in Arabidopsis. *Plant Cell* 16, 3386-3399.
- Moussatche, P., and Klee, H.J. (2004). Autophosphorylation activity of the Arabidopsis ethylene receptor multigene family. *J. Biol. Chem.* 279, 48734-48741.
- Neljubov, D. (1901). Über die horizontale Nutation der Stengel von Pisum sativum und einiger Anderer. *Pflanzen Beih. Bot. Zentralb.* 10, 128-139.
- O'Malley, R.C., Rodriguez, F.I., Esch, J.J., Binder, B.M., O'Donnell, P., Klee, H.J., and Bleeker, A.B. (2005). Ethylene-binding activity, gene expression levels, and receptor system output for ethylene receptor family members from Arabidopsis and tomato. *Plant J.* 41, 651-659.
- Potuschak, T., Lechner, E., Parmentier, Y., Yanagisawa, S., Grava, S., Koncz, C., and Genschik, P. (2003). EIN3-dependent regulation of plant ethylene hormone signaling by two Arabidopsis F Box proteins: EBF1 and EBF2. *Cell* 115, 679-689.
- Price, J., Laxmi, A., St Martin, S.K., and Jang, J.C. (2004). Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in Arabidopsis. *Plant Cell* 16, 2128-2150.
- Qu, X., and Schaller, G.E. (2004). Requirement of the histidine kinase domain for signal transduction by the ethylene receptor ETR1. *Plant Physiol.* 136, 2961-2970.
- Quaked, F., Rozhon, W., Lecourieux, D., and Hirt, H. (2003). A MAPK pathway mediates ethylene signaling in plants. *EMBO J.* 22, 1282-1288.
- Raz, V., and Ecker, J.R. (1999). Regulation of differential growth in the apical hook of Arabidopsis. *Development* 126, 3661-3668.
- Resnick, J.S., Wen, C.K., Shockey, J.A., and Chang, C. (2006). REVERSION-TO-ETHYLENE SENSITIVITY 1, a conserved gene that regulates ethylene receptor function in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 7917-7922.
- Rodriguez, F.I., Esch, J.J., Hall, A.E., Binder, B.M., Schaller, G.E., and Bleeker, A.B. (1999). A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from

- Arabidopsis. *Science* 283, 996-998.
- Roman, G., Lubarsky, B., Kieber, J. J., Rothenberg, M., and Ecker, J. R. (1995). Genetic analysis of ethylene signal transduction in *Arabidopsis thaliana*: five novel mutant loci integrated into a stress response pathway. *Genetics* 139, 1393-1409.
- Solano, R., Stepanova, A., Chao, Q., and Ecker, J. R. (1998). Nuclear events in ethylene signaling: a transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1. *Genes Dev.* 12, 3703-3714.
- Vandenbussche, F., Smalle, J., Le, J., Saibo, N. J., de Paepe, A., Chaerle, L., and van der Straeten, D. (2003). The *Arabidopsis* mutant *alh1* illustrates a cross talk of between ethylene and auxin. *Plant Physiol.* 131, 1228-1238.
- van der Straeten, D., Djudzman, A., van Caeneghem, W., Smalle, J., and van Montagu, M. (1993). Genetic and physiological analysis of a new locus in *Arabidopsis* that confers resistance to 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and ethylene and specifically affects the ethylene signal transduction pathway. *Plant Physiol.* 102, 401-408.
- Vogel, J. P., Schuerman, P., Woeste, K., Brandstatter, I., and Kieber, J. J. (1998a). Isolation and characterization of *Arabidopsis* mutants defective in the induction of ethylene biosynthesis by cytokinin. *Genetics* 149, 417-427.
- Vogel, J. P., Woeste, K. E., Theologis, A., and Kieber, J. J. (1998b). Recessive and dominant mutations in the ethylene biosynthetic gene *ACS5* of *Arabidopsis* confer cytokinin insensitivity and ethylene overproduction, respectively. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 4766-4771.
- Wang, K. L., Yoshida, H., Lurin, C., and Ecker, J. R. (2004). Regulation of ethylene gas biosynthesis by the *Arabidopsis* *ET01* protein. *Nature* 428, 945-950.
- Wang, W., Hall, A. E., O'Malley, R., and Bleeker, A. B. (2003). Canonical histidine kinase activity of the transmitter domain of the *ETR1* ethylene receptor from *Arabidopsis* is not required for signal transmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 352-357.
- Xie, C., Zhang, J. S., Zhou, H. L., Li, J., Zhang, Z. G., Wang, D. W., and Chen, S. Y. (2003). Serine/threonine kinase activity in the putative histidine kinase-like ethylene receptor *NTHK1* from tobacco. *Plant J.* 33, 385-393.
- Yamagami, T., Tsuchisaka, A., Yamada, K., Haddon, W. F., Harden, L. A., and Theologis, A. (2003). Biochemical diversity among the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase isozymes encoded by the *Arabidopsis* gene family. *J. Biol. Chem.* 278, 49102-49112.
- Yanagisawa, S., Yoo, S. D., and Sheen, J. (2003). Differential regulation of *EIN3* stability by glucose and ethylene signaling in plants. *Nature* 425, 521-525.
- Yang, S. F., and Hoffman, N. E. (1984). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 155-189.
- Zhang, J. S., Xie, C., Shen, Y. G., and Chen, S. Y. (2001). A two-component gene (*NTHK1*) encoding a putative ethylene-receptor homolog is both developmentally and stress-regulated in tobacco. *Theor. Appl. Genet.* 102, 815-824.
- Zhang, Z. G., Zhou, H. L., Chen, T., Gong, Y., Cao, W. H., Wang, Y. J., Zhang, J. S., and Chen, S. Y. (2004). Evidence for serine/threonine and histidine kinase activity in the tobacco ethylene receptor protein *NTHK2*. *Plant Physiol.* 136, 2970-2981.
- Zhou, H. L., Cao, W. H., Cao, Y. R., Liu, J., Hao, Y. J., Zhang, J. S., and Chen, S. Y. (2006). Roles of ethylene receptor *NTHK1* domains in plant growth, stress response and protein phosphorylation. *FEBS Lett.* 580, 1239-1250.
- Zhou, L., Jang, J. C., Jones, T. L., and Sheen, J. (1998). Glucose and ethylene signal transduction crosstalk revealed by an *Arabidopsis* glucose-insensitive mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 10294-10299.