

植物肌动蛋白解聚因子 ADF 的研究进展

王 楠¹,吕香玲¹,李 亮²,吴金凤²,尚佳微²,郝转芳²,李凤海^{1*}

(1 沈阳农业大学 特种玉米研究所,沈阳 110866,辽宁;2 中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081)

摘要:肌动蛋白解聚因子/丝切蛋白(actin depolymerizing factor, ADF/cofilin)是一种重要的肌动蛋白结合蛋白。在植物细胞中,ADF/cofilin 通过与肌动蛋白相结合,在植物生长发育以及响应外界刺激方面起着重要的作用,以此对各种动态生命活动进行调控。该文对国内外近年来有关 ADF/cofilin 家族的序列结构特征及定位,与肌动蛋白的互作机制、促进细胞生长、抗生物和非生物逆境胁迫能力等的生物学功能,以及磷酸化作用、环境 pH、PIP2 对其功能影响的调控模式和作用机制进行了综述,为 ADF/cofilin 新的抗逆功能机制解析提供参考。

关键词:肌动蛋白解聚因子/丝切蛋白;序列特征;功能;调控机制

中图分类号:Q753;Q789 文献标志码:A

Research Progress of ADF/cofilin in Plant

WANG Nan¹, LÜ Xiangling¹, LI Liang², WU Jinfeng²,
SHANG Jiawei², HAO Zhuanfang², LI Fenghai^{1*}

(1 Special Maize Institute, Shenyang Agriculture University, Shenyang 110866, China; 2 Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Actin depolymerizing factor (ADF/cofilin) is one of the important actin-binding proteins. In plant cells, ADF/cofilin plays an indispensable role on signal transduction during plant development and responds to external stimulus by combining with actin, and by this way controls various biological activities. This paper summarizes the sequence characteristics of ADF/cofilin family, their localization, functions on cell growth, abiotic and biotic stress resistance and regulation mechanism of Phosphorylation, pH and PIP2, to lay the foundation for revealing ADF/cofilin new function mechanism in stress resistance.

Key words: actin depolymerizing factor (ADF/cofilin); sequence characteristics; gene function; regulation mechanism

肌动蛋白(actin)作为一种古老的蛋白质是构成细胞骨架的主要成分,普遍存在于真核生物细胞中,对于细胞运动、物质转运、胁迫响应和细胞结构维持等起着关键作用^[1-2]。在植物细胞中,肌动蛋白以 2 种形式存在,单体肌动蛋白(globular actin, G-actin)以及它的聚合物丝状肌动蛋白(filamentous actin, F-actin)。当细胞发生形态变化或受到生物

及非生物刺激时,肌动蛋白骨架会发生重排,肌动蛋白丝的快速变化和重排则受到肌动蛋白结合蛋白(actin-binding protein, ABP)的调控,如抑制蛋白、纤维蛋白和肌动蛋白解聚因子/丝切蛋白(actin depolymerizing factors, ADF/ cofilin)等^[3]。其中,肌动蛋白解聚因子/丝切蛋白(ADF/ cofilin)家族基因被认为是肌动蛋白变化的主要调控因子^[4-5]。自 30

收稿日期:2015-07-29;修改稿收到日期:2015-10-15

基金项目:国家自然科学基金(31271735);国家转基因专项(2014ZX0800304B)

作者简介:王 楠,男,硕士研究生,主要从事玉米遗传育种研究。E-mail: wang6152496@163.com

* 通信作者:李凤海,博士,博士生导师,主要从事玉米遗传育种研究。E-mail: lifenghai@126.com

多年前第一个 *ADF/cofilin* 基因从鸡的胚胎细胞中被分离和提纯出来后,逐渐证明 *ADF/cofilin* 基因是一个极其庞大重要的调控家族^[6]。相比于动物,植物细胞中拥有更多数量的 *ADF/cofilin* 基因,但对植物 *ADF/cofilin* 基因的研究相对较晚。目前,已经分离克隆了一些植物的 *ADF/cofilin* 基因,比如玉米的 *ZmADF3*、拟南芥的 *AtADF9* 和水稻的 *OsADF3* 等^[3,7-8],它们主要在促进植物生长和提高抗逆性方面起到重要作用。为了进一步研究植物中的 *ADF/cofilin* 基因的功能,本文对该基因家族的基因结构、序列特征、作用机制等研究进行了简述,为新的植物抗逆调控基因的克隆和功能机制解析奠定基础。

1 *ADF/cofilin* 基因家族的蛋白质结构与序列特征

从 NCBI 网站上下载了目前为止在主要植物中发现的标注为 *ADF* 或 *ADF-like* 的蛋白质序列 82 个。其中玉米 14 个,水稻 15 个,拟南芥 12 个,大豆

11 个,高粱 9 个,谷子 9 个和马铃薯 12 个。*ADF* 蛋白序列长度在 90~179 个范围内,最短的是 *GmADF5_2* 为 90 个氨基酸,最长的是 *ZmADFn_4* 和 *SbADF3* 为 179 个氨基酸。序列比对显示不同植物的 *ADF/cofilin* 蛋白序列有 50.12% 相似性。同时对 *ADF/cofilin* 蛋白的基序进行序列预测,发现主要有 5 个基序结构,其中基序 5 和基序 3 的相似度比较高,达到 70%。几乎所有的 *ADF* 基因(97.6%)中均含有以上 5 个基序,其中 *OsADFn_4* 蛋白和 *AtADF11_2* 蛋白中没有基序 2, *GmADF5_2* 蛋白中不含有基序 2 及基序 3,通过序列比对说明 *ADF* 家族基因相对保守。

对植物中 *ADF* 家族的蛋白序列聚类结果表明该家族可大体分为 4 个类群(图 1),其中,第一、三、四群又可分别分成 3 个亚群。根据已知 *ADF* 的功能推测第一类群中第二亚群可能为花粉特异性表达,而第二类群可能为单子叶植物所特有^[5],且在第二类群中除了水稻 *OsADF4* 外,其余均为 *ADF3*,这也可能说明这类 *ADF3* 在不同的植物中可能有相

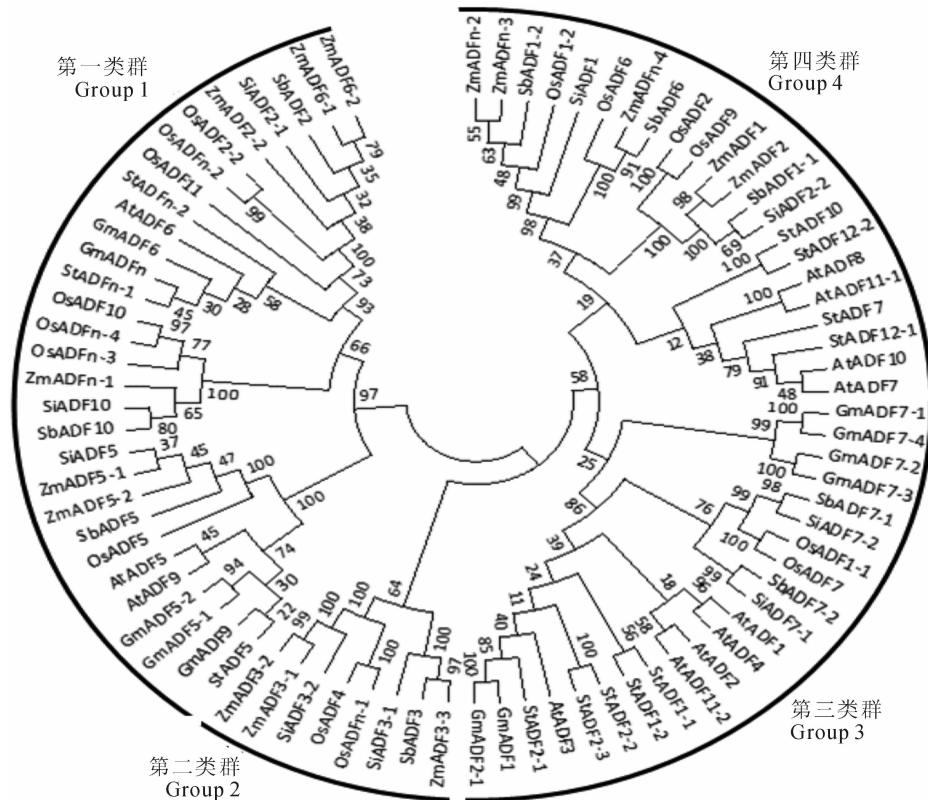


图 1 *ADF* 家族蛋白 Neighbor-Joining 聚类图

Os. 水稻; At. 拟南芥; Zm. 玉米; Si. 谷子; Gm. 大豆; Sb. 高粱; St. 马铃薯

Fig. 1 Neighbor-Joining tree of *ADF* family

Os. Rice; At. Arabidopsis; Zm. Maize; Si. Foxtail millet; Gm. Soybean; Sb. Sorghum; St. Potato

似的功能。

利用在线分析工具 SWISS-MODEL 对 ADF/cofilin 的蛋白结构进行预测,可以看出 ADF/cofilin 由一个折叠区构成,这种类似的同源区在其他的肌动蛋白结合蛋白中也同样存在(图 2),包括 Abp1p、脑发育蛋白(drebrins)、双丝蛋白(twinfilin)、毛状蛋白(coactosin)、凝溶胶蛋白(gelsolin)和切割蛋白(severin)^[5]。研究表明,ADF/cofilin 与肌动蛋白的结合部位在第 112~128 位氨基酸形成的 α -螺旋处,而这个区域也是 ADF/cofilin 与磷脂酰肌醇 4,5-双磷酸(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate,PIP2)的结合位点^[9],因此,这个 α -螺旋被认为是 ADF/cofilin 的关键部位。

2 ADF/cofilin 蛋白的亚细胞定位和作用部位

在植物细胞中,ADF/cofilin 存在于细胞质和细胞核,通常分布在肌动蛋白比较活跃的区域,比如植物细胞的生长区和分裂区^[7]。当细胞中缺少 ADF/cofilin 时会使得细胞运动受限,细胞分裂受到影响^[10];相反当 ADF/cofilin 基因过表达时则可以促使细胞更活跃^[11-12]。外界环境胁迫的刺激同样能造成 ADF/cofilin 基因在细胞内的过表达。比如在受到高温或化学胁迫时,ADF/cofilin 也会通过对肌动蛋白的调控,促进肌动蛋白进入细胞核,并形成紧密的肌动蛋白,保留正常功能,使其在胁迫消除后仍能正常发挥作用,由此说明 ADF/cofilin 可以抑制

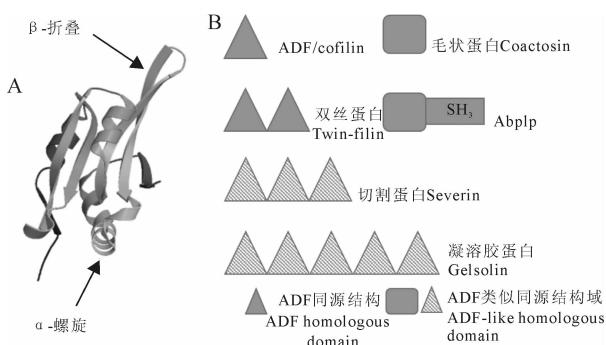


图 2 玉米 ZmADF5 蛋白结构及 ADF/cofilin 与其他肌动蛋白结合蛋白的关系示意图^[5]
A 为玉米 ZmADF5 蛋白结构示意图;B 为 ADF/cofilin 与其他肌动蛋白结合蛋白的关系

Fig. 2 Protein structure of maize ZmADF5 and relationship of ADF/cofilin and other actin banding proteins
A shows the protein structure of maize ZmADF5;
B refers the relationship of ADF/cofilin and other actin banding proteins^[5]

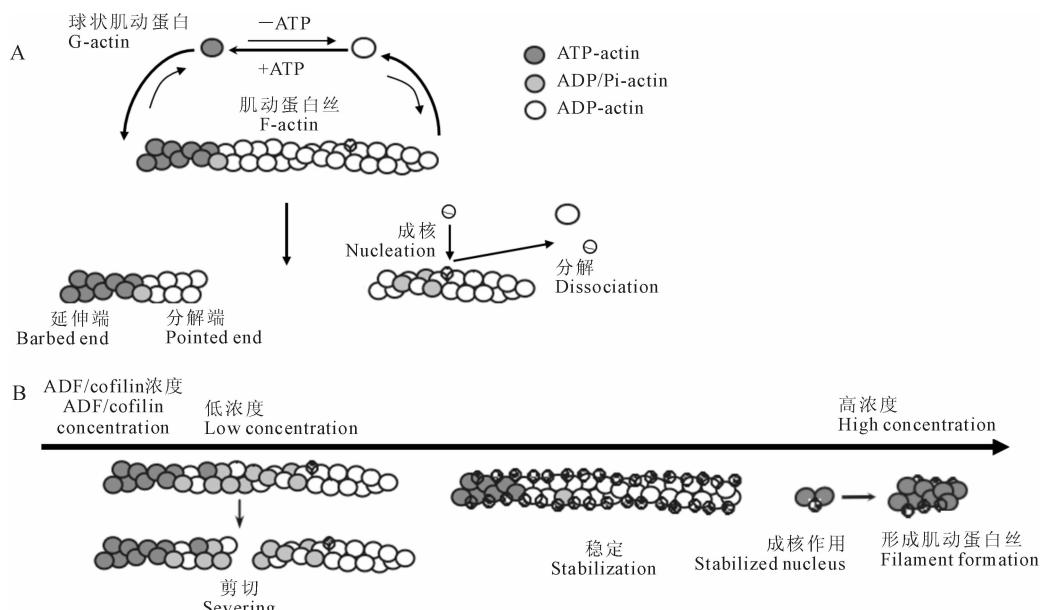
肌动蛋白变性^[13]。

与上述 ADF/cofilin 通过转移肌动蛋白位置而抑制其变性不同,一些组织特异性表达的 ADF/cofilin 基因与肌动蛋白结合一起发挥功能。如花粉特异性表达的 ADF/cofilin 存在于各种花粉中,包括花粉突变体、失水的花粉、花粉管顶部与周围基质间的部位。在茉莉花中,这种 ADF 基因并没有解聚肌动蛋白的能力,它是通过和其他的肌动蛋白结合蛋白共同发挥作用^[14]。除此之外,玉米的 ZmADF3 基因位于生长的根毛细胞的顶部,在生物体内并没有发现与肌动蛋白丝结合,它主要的作用是促进肌动蛋白的翻转,在根毛细胞中,通过提高根毛顶端的肌动蛋白动力以此来促进根毛的生长^[7]。

3 ADF/cofilin 和肌动蛋白的互作机制

F-actin 有 2 个末端,延伸端(bared end)以及分解端(pointed end),其中,延伸端为 ATP 结合的肌动蛋白,使 F-actin 伸长;分解端为 ADP 结合的肌动蛋白,解离出 G-actin。ADF/cofilin 与 ADP 结合的肌动蛋白更有亲和力,它们的结合促使 F-actin 上的 ATP 绑定肌动蛋白的磷酸基解离出来,从而加速了 F-actin 的解离作用。ADF/cofilin 与 F-actin 的结合还使得丝状的肌动蛋白发生构象上的变化,这是 ADF/cofilin 能够切开 F-actin 的基础(图 3)。

ADF/cofilin 的活性与肌动蛋白的动力学密切相关。ADF/cofilin 如何准确推动肌动蛋白的聚合过程进行,研究者通过长期研究提出两种模型,一是 ADF/cofilin 加速了分解末端的分解速率,二是 ADF/cofilin 将肌动蛋白丝切开^[16-19]。2 种模型都表明了 ADF/cofilin 对 F-actin 的分解作用,而第二种模型也指出了 ADF/cofilin 快速形成延伸末端的能力。Andrianantoandro 等^[20]利用实时显微技术对一条肌动蛋白丝进行研究,发现了 ADF/cofilin 的不同作用,包括剪切、末端动力学、成核作用,并发现 ADF/cofilin 活性与浓度有关。在低浓度时,对 F-actin 的切割活性更高,这时只有少量的 ADF/cofilin 与肌动蛋白丝结合,使得卷曲部分和非卷曲部分之间的处于紧张、扭曲状态连接部位的数量达到最大值,这就是 Bobkov 等^[21]提出 ADF/cofilin 作用机制的假说。随着浓度的升高,肌动蛋白丝上结合的 ADF/cofilin 数量增加(这种高度结合的状态可以减少处于紧张状态的连接部位)。在这种情况下,末端的分解作用明显加强,但与前人的研究结果不同,作用的强弱与分解端肌动蛋白与 ADP 的结

图3 ADF/cofilin作用原理^[15]

A. ADF/cofilin与肌动蛋白的作用过程; B. ADF/cofilin浓度对其活性的影响

Fig. 3 Function mechanism of ADF/cofilin^[15]

A. Actin effects of ADF/cofilin; B. ADF/cofilin concentration influences its activity

合情况无关。这种明显的分解作用与 ADF/cofilin 促进 Pi 分离的能力呈线性关系,从而促进肌动蛋白丝老化转变为与 ADP 绑定的状态。最终,在高浓度下,ADF/cofilin 与肌动蛋白单体的结合和成核作用促进肌动蛋白的聚合作用,这种重新集合的作用是新的肌动蛋白丝形成的重要机制,但却被人们所忽略。总的来说,这些观察结果表明,同一细胞内 ADF/cofilin 的浓度存在差异,且 ADF/cofilin 的功能会随之发生转变:(1)高浓度 ADF/cofilin 会促进形成新的肌动蛋白丝;(2)随着浓度的降低,ADF/cofilin 通过结合作用使肌动蛋白丝稳定和老化;(3)在低浓度下,ADF/cofilin 促使肌动蛋白丝被切开,出现新的延长端和分解端。

4 ADF/cofilin 家族的生物学功能

植物中,ADF/cofilin 蛋白具有多种生物学作用,这种作用表现在他们与肌动蛋白单体和丝状肌动蛋白的复杂关联中。ADF/cofilin 对肌动蛋白丝的解聚作用发生在各种生命活动中,如细胞质分裂^[10,22]、细胞运动^[5,12]、细胞伸长、细胞的应激反应以及抵御病原侵入。在促进细胞活动方面,拟南芥中的基因 *AtADF4*^[23],*AtADF9*^[8] 与植株的生长发育有关;玉米中的 *ZmADF3* 可以促进根毛的伸长^[7];玉米 *ZmADF1*^[24],水稻的 *OsADF*^[25] 以及拟南芥 *AtADF7*^[26] 则是花粉特异表达基因,对花粉的

形成和花粉管的伸长发挥着不同的作用。

除此之外,值得一提的是植物细胞中 ADF/cofilin 基因的抗生素和非生物逆境胁迫能力。据报道,水稻 *OsADF3*^[3]、拟南芥 *AtADF2*^[27]、*AtADF4*^[28]、*AtADF5*^[29] 和小麦 *TaADF7*^[30] 可以提高植株的抵御生物或非生物胁迫以及抗病的能力。其中,拟南芥 *AtADF4* 不仅影响植株的生长发育,还在病原体感知方面有一定作用,说明一种 ADF 基因在植物体中可能参与多种代谢活动。此外,一些关联分析结果也表明 ADF 基因参与抵御胁迫的作用,比如, *Samayoa* 等^[31] 通过全基因组关联分析的方法发现玉米 *ZmADF4* 与对地中海玉米螟的抗性显著相关。在适应生物逆境方面,ADF 基因主要通过两种方式来抵御胁迫。在受到高温和化学胁迫时,ADF/cofilin 家族蛋白可以利用自身的核定位信号(nuclear localization signal, NLS),将肌动蛋白转移到细胞核中,使高度密集的肌动蛋白得到保护而不发生变性;而在受到生物胁迫时,则是通过肌动蛋白动力学来提高植株的抗性,例如在抵御病原时,小麦 *TaADF7* 蛋白通过改变肌动蛋白动力学来调节 SOD 积累,以及过敏反应,来提高植株的抗条锈病能力;当拟南芥受到线虫侵入时, *AtADF2* 基因表达量会下调, *AtADF2* 是细胞发育和植物生长相关基因,表达量的下调会影响 F-actin 的稳定性,导致肌动蛋白的运动受到影响,肌动蛋白网络紊乱,从而使

瘤中细胞不能正常生长,线虫失去营养来源,生长也受到了抑制^[32]。

5 影响 ADF/cofilin 功能的调控因素

影响 ADF/cofilin 作用于肌动蛋白的因素很多。首先,磷酸化作用被认为是细胞内 ADF 基因活性以及肌动蛋白自我调控的一种重要因素。动物中,磷酸化的作用过程已研究的比较深入(图 4),而植物中则相对较少,一般认为 ADF/cofilin N 端第六位的丝氨酸磷酸化会使其结合肌动蛋白的能力降低^[33-34],这种磷酸化作用是由钙调蛋白激酶(CD-PKs)调控的。比如拟南芥中,AtCDPK6 基因可以调控拟南芥 AtADF1 N 端的丝氨酸磷酸化过程,从而调节 AtADF1 与肌动蛋白的互作^[35]。而植物中是否有与动物中类似的其他调控方式,还有待进一步研究。其次,大部分 ADF/cofilin 对环境 pH 情况反应敏感,当 pH 为 6 时,ADF/cofilin 与 F-actin 结合,当 pH 大于 7.4 时,ADF/cofilin 更倾向于与 G-actin 结合(ADF/cofilin)。此外,pH 还会影响 ADF 的磷酸化作用^[36]。第三,PIP2 被认为是 ADF/cofilin 活性的调控因素之一。Troys 等^[9]通过对载肌动蛋白 α -螺旋区域不同的突变体的研究,发现肌动蛋白和 PIP2 于 cofilin 的结合位点重叠,并证明 ADF/cofilin 是凝溶胶蛋白的一种同系物,其与肌动

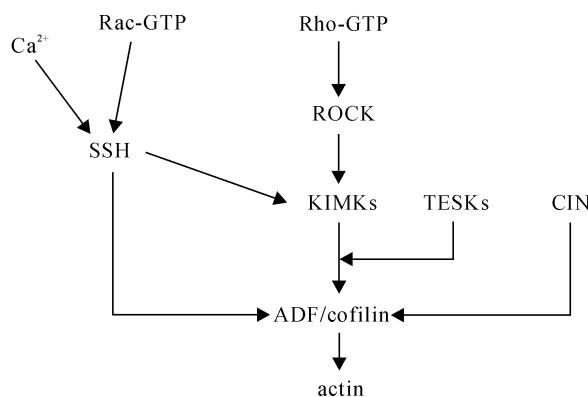


图 4 ADF/cofilin 磷酸化调控模型^[15]

Fig. 4 Phosphorylation regulation system of ADF/cofilin^[15]

蛋白的结合不依赖于钙离子。

人们对 ADF/cofilin 基因的研究很长一段时间一直集中在动物,尤其是人类疾病方面,对其在植物中的关注尚少,通过以上分析我们可以得知,ADF/cofilin 基因在决定植物生长和抵御外界环境胁迫方面具有重要的调控作用,对任何真核生物中来说必不可少。因此,对不同植物物种的 ADF/cofilin 基因调控模式和决定肌动蛋白的动力学过程,以及其在抗逆方面功能的研究都具有重要意义,深入研究将为新的抗逆反应调控基因克隆提供新的基因资源和信息。

参考文献:

- POLLARD T D, COOPER J A. Actin, a central player in cell shape and movement[J]. *Science*, 2009, **326**(5957): 1208-1212.
- SZYMANSKI D B, COSGROVE D J. Dynamic coordination of cytoskeletal and cell wall systems during plant cell morphogenesis[J]. *Current Biology*, 2009, **19**(17): 800-811.
- HUANG Y C, HUANG W L, HONG C Y, et al. Comprehensive analysis of differentially expressed rice actin depolymerizing factor gene family and heterologous overexpression of OsADF3 confers *Arabidopsis thaliana* drought tolerance[J]. *Rice (N Y)*, 2012, **5**(1): 33.
- BAMBURG J R. Proteins of the ADF/cofilin family: essential regulators of actin dynamics[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 1999, **15**: 185-230.
- MACIVER S K, HUSSEY P J. The ADF/cofilin family: actin-remodeling proteins[J]. *Genome Biology*, 2002, **3**(5): 3007.1-3007.12.
- GUO L L(郭林林), LI X B(李学宝). ADF/cofilin: protein family of actin remodeling[J]. *Chemistry of Life (生命的化学)*, 2005, **25**(3): 216-218.
- JIANG C J, WEEDS A G, HUSSEY P J. The maize actin depolymerizing factor, ZmADF3, redistributes to the growing tip of elongating root hairs and can be induced to translocate into the nucleus with actin[J]. *Plant Journal*, 1997, **12**(5): 1035-1043.
- RIVERA B B, RUZICKA D R, DEAL R B, et al. ACTIN DEPOLYMERIZING FACTOR9 controls development and gene expression in *Arabidopsis*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2008, **68**(6): 619-632.
- TROYS M, DEWITTE D, VERSCHELDE J L, et al. The competitive interaction of actin and PIP2 with actophorin is based on overlapping target sites: Design of a gain-of-function mutant[J]. *Biochemistry*, 2000, **39**(40): 12181-12189.
- GUNSLAS K C, BONACCORSI S, WILLIAMS E, et al. Mutations in twinstar, a drosophila gene encoding a cofilin Adf homolog, result in defects in centrosome migration and cytokinesis[J]. *Journal of Cell Biology*, 1995, **131**(5): 1243-1259.
- AIZAWA H, SUTOH K, YAHARA I. Overexpression of cofilin stimulates bundling of actin filaments, membrane ruffling, and cell move-

ment in *Dictyostelium*[J]. *Journal of Cell Biology*, 1996, **132**(3):335—344.

[12] CHEN J, GODT D, GUNSAULUS K, et al. Cofilin/ADF is required for cell motility during *Drosophila ovary* development and oogenesis [J]. *Nature Cell Biology*, 2001, **3**(2):204—209.

[13] HAYDEN S M, MILLER P S, BRAUWEILER A, et al. Analysis of the interactions of actin depolymerizing factor with G- and F-actin [J]. *Biochemistry*, 1993, **32**(38):9 994—10 004.

[14] SMERTENKO A P, ALLWOOD E G, KHAN S, et al. Interaction of pollen-specific actin-depolymerizing factor with actin[J]. *Plant Journal*, 2001, **25**(2):203—212.

[15] TROYS M, HUYCK L, LEYMAN S, et al. Ins and outs of ADF/cofilin activity and regulation[J]. *European Journal of Cell Biology*, 2008, **87**(8—9):649—667.

[16] BAMBURG J R, WIGGAN O P. ADF/cofilin and actin dynamics in disease[J]. *Trends in Cell Biology*, 2002, **12**(12):598—605.

[17] CARLIER M F, RESSAD F, PANTALONI D. Control of actin dynamics in cell motility. Role of ADF/cofilin[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, **274**(48):33 827—33 830.

[18] ICHETOVKIN I, GRANT W, CONDEELIS J. Cofilin produces newly polymerized actin filaments that are preferred for dendritic nucleation by the Arp2/3 complex[J]. *Current Biology*, 2002, **12**(1):79—84.

[19] PAVLOV D, MUHLRAD A, COOPER J, et al. Actin filament severing by cofilin[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2007, **365**(5):1 350—1 358.

[20] ANDRIANANTOANDRO E, POLLARD T D. Mechanism of actin filament turnover by severing and nucleation at different concentrations of ADF/cofilin[J]. *Molecular Cell*, 2006, **24**(1):13—23.

[21] BOBKOV A A, MUHLRAD A, PAVLOV D A, et al. Cooperative effects of cofilin(ADF) on actin structure suggest allosteric mechanism of cofilin function[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2006, **356**(2):325—334.

[22] NAGAOKA R, ABE H, KUSANO K, et al. Concentration of cofilin, a small actin-binding protein, at the cleavage furrow during cytokinesis[J]. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 1995, **30**(1):1—7.

[23] PENG SH Q(彭世清), HUANG D F(黄冬芬). Expression of an *Arabidopsis* actin-depolymerizing factor 4 gene(*AtADF4*) in tobacco causes morphological change of plants[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*(植物生理与分子生物学学报), 2006, **32**(1):52—56.

[24] HUSSEY P J, YUAN M, CALDER G, et al. Microinjection of pollen-specific actin-depolymerizing factor, *ZmADF1*, reorients F-actin strands in *Tradescantia stamen* hair cells[J]. *Plant Journal*, 1998, **14**:353—357.

[25] LI L, LI Y X, SONG S F, et al. An anther development F-box(ADF) protein regulated by tapetum degeneration retardation(TDR) controls rice anther development[J]. *Planta*, 2015, **241**(1):157—166.

[26] ZHENG Y Y, XIE Y R, JIANG Y X, et al. *Arabidopsis ACTIN-DEPOLYMERIZING FACTOR7* severs actin filaments and regulates actin cable turnover to promote normal pollen tube growth[J]. *Plant Cell*, 2013, **25**(9):3 405—3 423.

[27] CLEMENT M, KETELAAR T, RODIUC N, et al. Actin-depolymerizing factor2 mediated actin dynamics are essential for root-Knot nematode infection of *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2009, **21**(9):2 963—2 979.

[28] HENTY-RIDILLA J L, LI J J, DAY B, et al. ACTIN DEPOLYMERIZING FACTOR4 regulates actin dynamics during innate immune signaling in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2014, **26**(1):340—352.

[29] 叶佳. 低温胁迫下拟南芥肌动蛋白解聚因子 ADF5 的功能研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2014.

[30] FU Y P, DUAN X Y, TANG C L, et al. *TaADF7*, an actin-depolymerizing factor, contributes to wheat resistance against *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*[J]. *Plant Journal*, 2014, **78**(1):16—30.

[31] SAMAYOA L F, MALVAR R A, OLUKOLU B A, et al. Genome-wide association study reveals a set of genes associated with resistance to the Mediterranean corn borer(*Sesamia nonagrioides* L.) in a maize diversity panel[J]. *BMC Plant Biology*, 2015, **15**:35.

[32] CLEM BERNSTEIN B W, PAINTER W B, CHEN H, et al. Intracellular pH modulation of ADF/cofilin proteins[J]. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 2000, **47**(4):319—336.

[33] SMERTENKO A P, JIANG C J, SIMMONS N J, et al. Ser6 in the maize actin-depolymerizing factor, *ZmADF3*, is phosphorylated by a calcium-stimulated protein kinase and is essential for the control of functional activity[J]. *Plant Journal*, 1998, **14**(2):187—193.

[34] ALLWOOD E G, SMERTENKO A P, HUSSEY P J. Phosphorylation of plant actin-depolymerising factor by calmodulin-like domain protein kinase[J]. *Febs Letters*, 2001, **499**(1—2):97—100.

[35] DONG C H, HONG Y. *Arabidopsis CDPK6* phosphorylates *ADF1* at N-terminal serine 6 predominantly[J]. *Plant Cell Reports*, 2013, **32**(11):1 715—1 728.

[36] BERNSTEIN B W, PAINTER W B, CHEN H, et al. Intracellular pH modulation of ADF/cofilin proteins[J]. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 2000, **47**(4):319—336.