

植物根尖生长素信号研究进展

沈燕霞 倪 君*

(杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036)

摘要 生长素信号调控植物生长发育的各个方面。该文综述了生长素信号在植物根尖的研究进展概况, 从生长素在根尖的运输与分布、生长素信号对根尖细胞命运的影响及静止中心细胞的生长素信号研究三个方面进行了阐述, 并对未来该领域的研究方向进行了展望。

关键词 生长素; 根尖; 静止中心

植物根系不仅能够为植物提供水分和养分, 而且还能够通过感受土壤中的环境信号影响植物的生长发育, 因而对整个植株具有非常重要的作用。植物的根系结构从上到下可分为成熟区、伸长区和分生区。位于根尖的分生区细胞持续快速分裂, 为植物根系提供了源源不断的新细胞, 并最终决定着植物根系的构型。

对生长素信号途径的研究源于80年代初生长素响应基因的发现^[1]。之后发现Aux/IAA(auxin/indole-3-acetic acid)和ARF(auxin response factor)两个家族的蛋白互作对生长素响应基因的表达具有重要影响^[2]。此后, 还发现泛素降解系统在生长素信号中也扮演了重要角色^[3]。在2005年发现生长素的受体后^[4-5], 开始建立起了较完整的生长素信号途径框架。植物生长素广泛参与了胚的发育、根系发育、输导组织形成、顶端优势建立、向性反应、生殖器官发育等各个方面。作为信号分子, 生长素通过生长素信号途径发挥对生长发育的调控作用。本文将综述近几年植物根尖生长素信号研究取得的主要进展。

1 生长素在根尖的运输与分布

生长素的极性运输和生长素浓度梯度的建立对根尖分生区干细胞的维持乃至对整个根系构型都具有重要的作用。虽然还有某些基本的问题没有解决, 但是在过去的几年中, 我们已经对这个整体过程有了一定的了解^[6]。

1.1 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)根尖细胞结构

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)根系发育起始于球型胚(globular stage)时期胚根原(hypophysis)细胞的一次不对称横向分裂。通过这次分裂形成了一个底部大细胞和一个上部小细胞, 这个小细胞被称为

透镜状细胞(lens-shaped cell), 它是静止中心细胞的前体。到心型胚(heart stage)时期, 静止中心细胞正式形成, 其周围的细胞, 根据位置效应便形成相应的干细胞^[7]。

成熟拟南芥根的同心细胞结构非常简单、典型: 由外到内分别是一层表皮细胞、一层皮层细胞、一层内皮层细胞和由一层中柱鞘细胞围绕着的中柱。根冠则由根冠柱细胞和侧根冠细胞组成。这种细胞结构在拟南芥胚的发育过程中就已经形成, 在胚后发育过程中, 由围绕着静止中心的四种干细胞来维持, 它们分别是表皮/侧根冠起始细胞、皮层/内皮层起始细胞、根冠柱起始细胞和中柱起始细胞。这些干细胞一方面进行不对称分裂, 不断地为植物分生区提供不同种类的细胞; 另一方面, 它们在周围静止中心影响下, 保持未分化的干细胞特征^[8-9](图1)。

1.2 生长素在根尖的合成和运输

虽然通过直接测定的方法, 人们发现植物的根部也有生长素合成的能力^[10], 并且更加细致的研究发现, 植物根尖的生长素合成能力显著高于成熟的根^[11], 但是, 大多数的生长素还是在生长旺盛的幼嫩叶片或子叶中合成的^[12], 之后通过韧皮部快速运输到根尖部位^[13], 而后再通过各种生长素运输载体抵达预定的部位。

生长素主要在茎尖分生组织中合成, 通过生长素输入载体AUX1(auxin resistant 1)和输出载体PIN1(PIN-formed 1)、PIN3和PIN7沿着中柱薄壁组织细胞和韧皮部向根尖进行运输^[14-16]。在根冠柱细胞内, 生长素的流动在PIN3和PIN7的介导下转向侧根冠和

收稿日期: 2012-05-22 接受日期: 2012-06-25

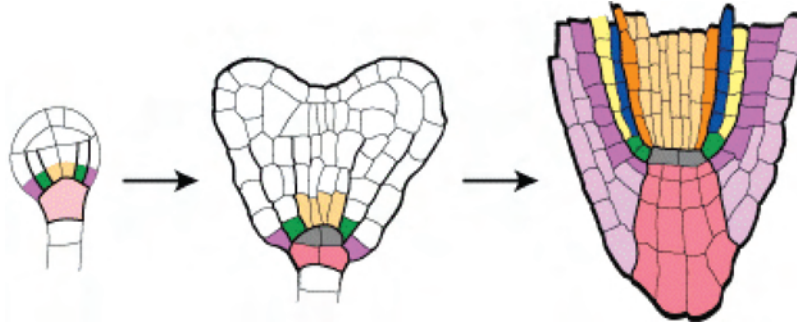
*通讯作者。Tel: 0571-28868542, E-mail: nijun_hznu@163.com

表皮, 然后又通过PIN2向上运输到伸长区^[17-18], 在向上运输的过程中, 部分生长素又通过PIN1、PIN3和PIN7回流到中柱^[16](图2)。

1.3 生长素在根尖的分佈

到目前为止, 已经有很多种方法来指示植物体

内的生长素分布。其中, 最常用的办法是利用含有生长素响应元件的人工启动子*DR5*驱动报告基因*GUS*(β -glucuronidase)或*GFP*(green fluorescent protein)^[20-22]的表达来研究生长素的分布情况; 也有研究者利用天然生长素响应基因的启动子来驱动报告基

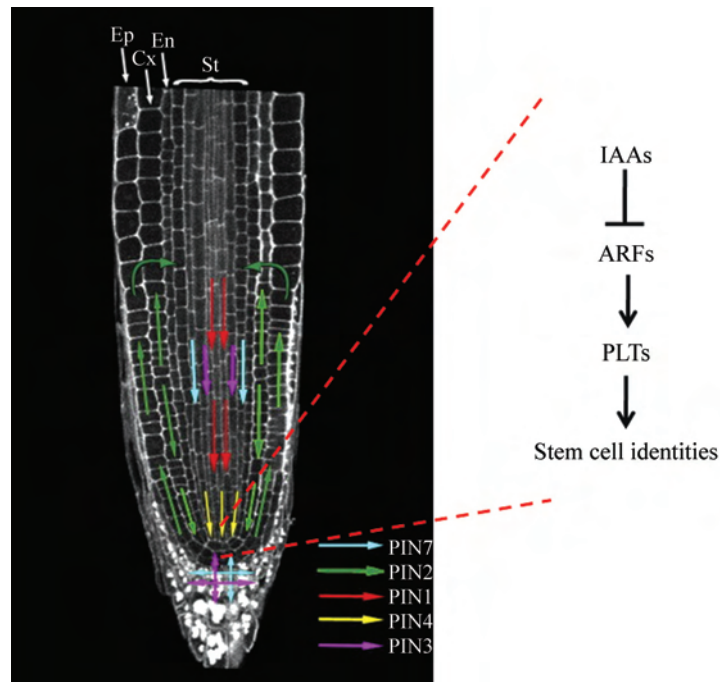


从左到右分别为球型胚时期、心型胚时期和成熟的根尖。其中成熟根尖的不同细胞用不同颜色标出: 侧根冠(淡紫色)、表皮(紫色)、皮层(黄色)、内皮层(蓝色)、中柱鞘(暗橙色)、维管束(橙色)、根冠柱(粉红色)、静止中心(灰色)和皮层/内皮层起始细胞(绿色)。

The pictures from left to right are globular stage, heart stage and the mature root tip. The different cell types are marked by colors: lateral root cap(light purple), epidermis(purple), cortex(yellow), endodermis(blue), pericycle(dark orange), vascular bundle(orange), columella root cap(pink), quiescent center(grey) and cortical/endodermal initial cell(green).

图1 拟南芥根尖不同细胞的来源

Fig.1 The cell origin of the root meristem of *Arabidopsis thaliana*



不同颜色的箭头代表不同PIN介导的根尖生长素流向。Ep: 外皮层; Cx: 皮层; En: 内皮层; St: 中柱。右边为静止中心附近的生长素信号途径, IAAs抑制ARFs的功能, 而ARFs介导的生长素信号正调控PLTs的表达, PLTs是根尖干细胞命运的主要调控者。

The different color arrows represent different PIN mediated auxin flows in the root tip. Ep: epidermis; Cx: cortex; En: endodermis; St: stele tissues. On the right is the auxin signaling pathway around the quiescent center. IAAs repress the function of ARFs, and ARF mediated auxin signaling positively regulates the expressions of PLTs, which are master regulators of stem cell identities in the root tip.

图2 拟南芥根尖的生长素流动途径及静止中心附近干细胞内的生长素信号途径(根据参考文献[19]修改)

Fig.2 Auxin fluxes at the root tip and the auxin signaling pathway in the stem cell niche(modified from reference [19])

因^[23]。上述方法都是利用生长素信号的强度来间接反映生长素的浓度。

利用不同的生长素运输载体在根尖的分布建立计算机模型,也可以间接推断出生长素的浓度分布^[24]。也有学者利用生长素的抗体做免疫组化来直接反映生长素的分布情况^[21],但这种方法只能大概反映生长素的分布,无法做到精确和定量。

有学者利用高敏感的质谱仪分析植物根尖各个细胞内的生长素含量,得到一个精确的根尖生长素分布图。根据这个结果发现,在根尖,静止中心的生长素含量最高,这个和前期*DR5*的结果一致;而根冠的生长素含量是极低的,这个结果就和*DR5*的结果有差别,表明生长素含量与生长素信号强度在某些位置可能并不成正比关系^[11]。

2 生长素信号对根尖细胞命运的影响

生长素对根尖细胞的命运起着非常重要的作用。生长素运输抑制剂NPA(*N*-1-naphthylphthalamic acid)抑制生长素运输后,生长素就在其它部位聚集,紧接着根尖细胞的命运也发生了变化^[20],很多生长素信号相关的突变体,其根尖结构也会出现一定程度的变异。*AXR1*(*AUXIN RESISTANT 1*)基因编码一个参与SCF(Skp1-Cullin-F-box)复合体修饰的蛋白,*axr1*突变体对生长素信号不敏感^[3,25],同时*axr1*突变体根冠柱的起始细胞数量减少,导致根冠柱细胞的列数减少^[20]。*IAA17/AXR3*是生长素信号途径中的基因^[26],*IAA17*的第二结构域发生点突变后,根冠柱细胞不再成熟,只保留根冠柱的起始细胞^[20]。进一步研究发现,生长素信号过强会促进根冠柱起始细胞的分化成熟,而过弱则会对其产生抑制作用。这个过程通过一个由*IAA17/AXR3*、*ARF10*和*ARF16*介导

的生长素信号途径控制,最终由*WOX5*(*WUSCHEL related homeobox*)和*PLT*(*PLETHORA*)来控制根冠柱细胞的分化成熟^[27]。*ARF5/MP*(*MONOPTEROS*)和其互作蛋白*IAA12/BDL*(*BODENLOS*)介导的生长素信号途径控制拟南芥胚的胚根原(*hypophysis*)细胞分化及后期胚根的形成,这条生长素信号途径如果中断,将导致拟南芥的胚根不发生^[28-31]。进一步的研究发现,*ARF5*控制一系列基因的表达,其中一个基因*TMO7*(*TARGET OF MP 7*)编码的蛋白可以从胚细胞转移到边上的垂体前体细胞,这个发现可以部分解释*ARF5*对垂体细胞非细胞自主性(*non-cell-autonomous*)的控制作用^[32]。

通过筛选拟南芥根尖特异表达基因,发现了四个带有AP2(*Apetala 2*)结构域的同源蛋白: *PLT1*、*PLT2*、*PLT3*和*BBM*(*BABY BOOM*)。它们的插入突变体能引起根系变短,多突变能引起更加严重的表型缺陷。进一步研究表明,它们的功能存在冗余,表达受到生长素信号的诱导,属于生长素信号的下游,在拟南芥的根尖呈现以干细胞区域为中心的梯度表达。不同的表达强度水平具有不同的功能:高水平表达可以维持干细胞的特征;中等水平的表达会驱动细胞的有丝分裂;低水平的表达则会促使细胞的分化成熟。除了有剂量效应外,*PLT*的异位表达还会引起异位根系的发生。*PLT*蛋白的这些特征,使得它被认为是根系发育中响应生长素信号的主要调控者^[33-34],而后期的研究发现,组氨酸的乙酰化在*PLT*途径中也起了非常关键的作用^[35](表1)。

3 静止中心细胞生长素信号的研究

根据前期研究,根尖静止中心的生长素浓度是最高的^[11],由此可见,此处的生长素信号可能具有非

表1 参与根尖命运决定的生长素信号相关基因及其突变体的表型

Table 1 Auxin signaling related genes responsible for the cell identities in the root tip and the phenotypes of the mutants

基因名	突变体根尖表型	参考文献
Gene names	Root tip phenotypes of the mutants	References
<i>AXR1</i>	Reduced columella stem cells	[20]
<i>IAA17</i>	Fail to produce mature columella cells	[20]
<i>ARF10/ARF16</i>	Tumor-like root apex, loss of gravity-sensing	[36]
<i>PLTs</i>	Short root	[33-34]
<i>IAA12</i>	Fail to initiate the root meristem	[29]
<i>ARF5</i>	Fail to initiate the root meristem	[28]
<i>PIN4</i>	Abnormal cell divisions around quiescent center	[15]
<i>OsIAA23</i>	Fail to maintain quiescent center identities	[37]

常重要的作用。但可能是由于研究材料的缺乏,在很长一段时间内,关于此处生长素信号作用的研究一直停留在间接证据阶段。

NPA阻断生长素运输后,生长素浓度的最高点发生了弥散,作为静止中心的标记,QC46的表达部位也相应发生了弥散,这个结果说明高浓度的生长素对静止中心的形成具有重要作用^[20]。PIN是生长素输出载体,但可能是由于PIN家族存在功能冗余,很多PIN的突变不产生根尖很大的变异。但PIN4突变后,根尖静止中心及其附近的细胞会产生一定程度的变异,这与PIN4在这个部位执行生长素运输的功能相关^[15]。PLT家族蛋白在根尖呈现以静止中心为最高点的梯度浓度分布,该种分布方式被认为是对生长素浓度的响应,并对植物根尖的细胞命运起了决定性的影响。但是具体到静止中心的生长素信号作用却没有详细分析。

Ni等^[37]报道了一个具有静止中心缺陷的功能获得性水稻突变体。在胚后发育过程中,该突变体的静止中心缺陷会导致根冠脱落及根系停止生长。通过图位克隆发现,所有的突变表型都是由*OsIAA23*基因的点突变造成的。该点突变引起*OsIAA23*蛋白第二结构域最保守的核心序列发生变化,使其无法被正常降解,从而阻断生长素信号,引起表型突变。虽然*OsIAA23*在各个检测的部位都有表达,但是在根尖,*OsIAA23*却仅特异性地在静止中心表达。利用*DR5::GUS*的转基因材料研究突变体根尖的生长素信号情况,*Osiaa23*突变体在静止中心区域的生长素信号中断,这个结果和*OsIAA23*的表达方式相吻合。该研究结果为静止中心生长素信号的作用提供了直接证据,表明静止中心细胞内的生长素信号对于静止中心正常功能的维持具有重要作用(表1)。

4 结语和展望

生长素信号与根系发育之间的关系很早就被人们注意到。由于植物细胞的不可移动性,根尖分生区细胞的活性对植物整个根系构型具有重要影响。静止中心细胞对于根尖分生区内的干细胞维持具有决定性的作用^[38],所以,研究静止中心的生长素信号对于根系构型的改良具有重要的指导意义。通过在水稻中的研究,我们已经发现*OsIAA23*介导的生长素信号对维持水稻静止中心功能的重要作用,但是*OsIAA23*究竟与哪个(或哪几个)*OsARF*互作,下

游是否也有类似拟南芥的*OsPLT*基因参与仍不是很清楚(图2)。对这条途径的深入研究将有可能进一步揭示水稻中的生长素信号是如何调控静止中心的状态的。另外,水稻中的研究结果也可以为拟南芥未来的研究提供方向,鉴于静止中心细胞内生长素信号的重要性,我们可以通过转基因的方式特异性地阻断拟南芥静止中心细胞内的生长素信号,研究其根尖表型及下游基因的表达变化,从而构建出拟南芥静止中心细胞内的生长素信号网络,阐明生长素信号和静止中心状态之间的具体联系。

参考文献 (References)

- Walker JC, Key JL. Isolation of cloned cDNAs to auxin-responsive poly(A)RNAs of elongating soybean hypocotyls. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79(23): 7185-9.
- Ulmasov T, Murfett J, Hagen G, Guilfoyle TJ. Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell* 1997; 9(11): 1963-71.
- Leyser HM, Lincoln CA, Timpote C, Lammer D, Turner J, Estelle M. *Arabidopsis* auxin-resistance gene AXR1 encodes a protein related to ubiquitin-activating enzyme E1. *Nature* 1993; 364(6433): 161-4.
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M. The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 2005; 435(7041): 441-5.
- Kepinski S, Leyser O. The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature* 2005; 435(7041): 446-51.
- Peer WA, Blakeslee JJ, Yang H, Murphy AS. Seven things we think we know about auxin transport. *Mol Plant* 2011; 4(3): 487-504.
- Jenik PD, Gillmor CS, Lukowitz W. Embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23: 207-36.
- Dolan L, Janmaat K, Willemsen V, Linstead P, Poethig S, Roberts K, et al. Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root. *Development* 1993; 119(1): 71-84.
- van den Berg C, Weisbeek P, Scheres B. Cell fate and cell differentiation status in the *Arabidopsis* root. *Planta* 1998; 205(5): 483-91.
- Ljung K, Hull AK, Celenza J, Yamada M, Estelle M, Normanly J, et al. Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell* 2005; 17(4): 1090-104.
- Petersson SV, Johansson AI, Kowalczyk M, Makoveychuk A, Wang JY, Moritz T, et al. An auxin gradient and maximum in the *Arabidopsis* root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of IAA distribution and synthesis. *Plant Cell* 2009; 21(6): 1659-68.
- Ljung K, Bhalerao RP, Sandberg G. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *Plant J* 2001; 28(4): 465-74.
- Robert HS, Friml J. Auxin and other signals on the move in plants. *Nat Chem Biol* 2009; 5(5): 325-32.
- Swarup R, Friml J, Marchant A, Ljung K, Sandberg G, Palme K, et al. Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the

- Arabidopsis* root apex. *Genes Dev* 2001; 15(20): 2648-53.
- 15 Friml J, Benkova E, Blilou I, Wisniewska J, Hamann T, Ljung K, *et al.* AtPIN4 mediates sink-driven auxin gradients and root patterning in *Arabidopsis*. *Cell* 2002; 108(5): 661-73.
 - 16 Blilou I, Xu J, Wildwater M, Willemsen V, Paponov I, Friml J, *et al.* The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots. *Nature* 2005; 433(7021): 39-44.
 - 17 Muller A, Guan C, Galweiler L, Tanzler P, Huijser P, Marchant A, *et al.* AtPIN2 defines a locus of *Arabidopsis* for root gravitropism control. *EMBO J* 1998; 17(23): 6903-11.
 - 18 Friml J, Vieten A, Sauer M, Weijers D, Schwarz H, Hamann T, *et al.* Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature* 2003; 426(6963): 147-53.
 - 19 Tromas A, Perrot-Rechenmann C. Recent progress in auxin biology. *C R Biol* 2010; 333(4): 297-306.
 - 20 Sabatini S, Beis D, Wolkenfelt H, Murfett J, Guilfoyle T, Malamy J, *et al.* An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the *Arabidopsis* root. *Cell* 1999; 99(5): 463-72.
 - 21 Benkova E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann T, Seifertova D, Jurgens G, *et al.* Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell* 2003; 115(5): 591-602.
 - 22 Ottenschlager I, Wolff P, Wolverson C, Bhalerao RP, Sandberg G, Ishikawa H, *et al.* Gravity-regulated differential auxin transport from columella to lateral root cap cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(5): 2987-91.
 - 23 Swarup R, Kramer EM, Perry P, Knox K, Leyser HM, Haseloff J, *et al.* Root gravitropism requires lateral root cap and epidermal cells for transport and response to a mobile auxin signal. *Nat Cell Biol* 2005; 7(11): 1057-65.
 - 24 Grieneisen VA, Xu J, Maree AF, Hogeweg P, Scheres B. Auxin transport is sufficient to generate a maximum and gradient guiding root growth. *Nature* 2007; 449(7165): 1008-13.
 - 25 Walker L, Estelle M. Molecular mechanisms of auxin action. *Curr Opin Plant Biol* 1998; 1(5): 434-9.
 - 26 Rouse D, Mackay P, Stirnberg P, Estelle M, Leyser O. Changes in auxin response from mutations in an AUX/IAA gene. *Science* 1998; 279(5355): 1371-3.
 - 27 Ding Z, Friml J. Auxin regulates distal stem cell differentiation in *Arabidopsis* roots. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(26): 12046-51.
 - 28 Hardtke CS, Berleth T. The *Arabidopsis* gene MONOPTEROS encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development. *EMBO J* 1998; 17(5): 1405-11.
 - 29 Hamann T, Benkova E, Baurle I, Kientz M, Jurgens G. The *Arabidopsis* BODENLOS gene encodes an auxin response protein inhibiting MONOPTEROS-mediated embryo patterning. *Genes Dev* 2002; 16(13): 1610-5.
 - 30 Weijers D, Benkova E, Jager KE, Schlereth A, Hamann T, Kientz M, *et al.* Developmental specificity of auxin response by pairs of ARF and Aux/IAA transcriptional regulators. *EMBO J* 2005; 24(10): 1874-85.
 - 31 Weijers D, Schlereth A, Ehrismann JS, Schwank G, Kientz M, Jurgens G. Auxin triggers transient local signaling for cell specification in *Arabidopsis* embryogenesis. *Dev Cell* 2006; 10(2): 265-70.
 - 32 Schlereth A, Moller B, Liu W, Kientz M, Flipse J, Rademacher EH, *et al.* MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor. *Nature* 2010; 464(7290): 913-6.
 - 33 Aida M, Beis D, Heidstra R, Willemsen V, Blilou I, Galinha C, *et al.* The PLETHORA genes mediate patterning of the *Arabidopsis* root stem cell niche. *Cell* 2004; 119(1): 109-20.
 - 34 Galinha C, Hofhuis H, Luijten M, Willemsen V, Blilou I, Heidstra R, *et al.* PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of *Arabidopsis* root development. *Nature* 2007; 449(7165): 1053-7.
 - 35 Kornet N, Scheres B. Members of the GCN5 histone acetyltransferase complex regulate PLETHORA-mediated root stem cell niche maintenance and transit amplifying cell proliferation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2009; 21(4): 1070-9.
 - 36 Wang JW, Wang LJ, Mao YB, Cai WJ, Xue HW, Chen XY. Control of root cap formation by microRNA-targeted auxin response factors in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2005; 17(8): 2204-16.
 - 37 Ni J, Wang GH, Zhu ZX, Zhang HH, Wu YR, Wu P. OsIAA23-mediated auxin signaling defines postembryonic maintenance of QC in rice. *Plant J* 2011; 68(3): 433-42.
 - 38 van den Berg C, Willemsen V, Hendriks G, Weisbeek P, Scheres B. Short-range control of cell differentiation in the *Arabidopsis* root meristem. *Nature* 1997; 390(6657): 287-9.

Advances in Research of Auxin Signaling in the Root Tip

Shen Yanxia, Ni Jun*

(College of Life and Environmental Science, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China)

Abstract Auxin signaling regulates many aspects of plant development. In this article, we gave a brief review of advances in research of auxin signaling in the root tip. We summarized recent progress from three aspects, auxin transport and distribution in root tip, the influences of auxin signaling in root tip cell identities, and auxin signaling in the quiescent center. In addition, we provided prospective views of this field in the end of this article.

Key words auxin; root tip; quiescent center

Received: May 22, 2012 Accepted: June 25, 2012

*Corresponding author. Tel: 86-571-28868542, E-mail: nijun_hznu@163.com