



孔照胜, 中国科学院微生物研究所、植物基因组学国家重点实验室研究员, 博士生导师。中科院“百人计划”入选者, “百人计划”终期评估为“优秀”。主要从事植物细胞形态建成及免疫应答的细胞调控机制研究, 在活细胞水平、以四维空间的视角探究植物细胞形态建成及环境适应过程中细胞骨架-质膜-细胞壁连续体的时空特性与精准调控机制。在 *EMBO Journal*、*Current Biology*、*eLife*、*Plant Cell*、*Molecular Plant*、*Plant Physiology*、*New Phytologist* 等国际主流学术刊物上发表论文 20 余篇。担任中国细胞生物学学会“细胞结构与细胞行为”分会委员、中国植物学会“植物结构与生殖生物学”专业委员会委员以及中国植物生理与分子生物学会“青年工作委员会”委员。担任《植物学报》编委。

[http://www.im.cas.cn/jgsz/yjtx/zwjyxxgizdsys/201403/t20140317\\_4054760.html](http://www.im.cas.cn/jgsz/yjtx/zwjyxxgizdsys/201403/t20140317_4054760.html)

## 植物细胞微管研究进展

王朝凤 孔照胜\*

(植物基因组学国家重点实验室, 中国科学院微生物研究所, 北京 100101)

**摘要** 微管是一种重要的细胞骨架, 具有高度动态特性, 不断进行活跃的重排, 以响应时刻变化的胞内发育信号和外界环境刺激。处于不同细胞周期的植物细胞会组装一些植物特异的微管阵列来执行特定的生理功能, 比如分裂细胞中的早前期带和成膜体, 以及间期细胞中的周质微管等。该文重点综述近年来植物细胞微管起始组装与动态重构的核心控制机制、微管调控植物细胞形态建成与环境适应的机制等方面的研究进展。最后, 对未来植物细胞微管研究领域所要解决的一些重要科学问题进行了展望。

**关键词** 微管; 动态重排; 微管成核; 微管切割; 细胞分裂; 纤维素合成; 形态建成; 环境响应

## Research Advancements in Plant Cell Microtubules

Wang Chaofeng, Kong Zhaosheng\*

(State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract** As one of the two major cytoskeleton systems, microtubules (MTs) are highly dynamic and undergo rearrangement to respond to the ever-changing developmental cues and environmental stimuli. In particular, plant cells organize specific MT arrays, such as preprophase bands and phragmoplast in mitotic cells and cortical MTs in interphase cells, to fulfill various physiological functions. Here, we highlight the recent research advancements in plant cell MTs, including the core regulatory mechanism of initial assembly and dynamic remodeling of plant cell MTs, how MTs regulate plant cell morphogenesis and how MTs play roles in response to environmental cues. Finally, we also discuss future perspectives about the important questions in this field.

**Keywords** microtubules (MTs); dynamic rearrangement; microtubule nucleation; microtubule severing; cell division; cellulose synthesis; morphogenesis; environmental adaptation

国家自然科学基金(批准号: 31571378、31501088)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 010-64806099, E-mail: zskong@im.ac.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31571378, 31501088)

\*Corresponding author. Tel: +86-10-64806099, E-mail: zskong@im.ac.cn

网络出版时间: 2019-04-01 11:47:07

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190401.1147.020.html>

1963年, Slautterback<sup>[1]</sup>利用电子显微镜和超薄切片技术在水螅的间质细胞和刺细胞中观察到一种微小的管状结构, 称之为微管。同年, Ledbetter和Porter<sup>[2]</sup>在梯牧草根细胞中也发现了微管的存在。现在已知, 微管存在于所有的真核细胞中, 与微丝和中间纤维共同组成了细胞内三维网络结构的细胞骨架系统。在植物发育及环境应答过程中, 微管广泛参与了许多重要的细胞事件, 如细胞分裂、细胞形态建成、细胞信号转导等<sup>[3-11]</sup>。因此, 关于微管的动态组织及时空调控一直是植物细胞生物学研究中一个非常活跃的领域。本文重点综述近年来植物细胞微管动态组装及调控机制、微管调控植物细胞形态建成与环境适应的机制等方面的研究进展。

## 1 植物细胞周质微管起始组装及动态重构的核心调控机制

### 1.1 微管成核与微管的起始组装

植物微管骨架是植物细胞骨架的一种组织形式, 在植物细胞生长、细胞分裂、囊泡运输、细胞器运输、细胞壁合成以及生物和非生物胁迫反应等方面发挥着至关重要的作用。植物细胞中形成了一些植物特有的微管阵列, 比如间期细胞中的周质微管(cortical microtubules, CMTs)以及分裂细胞中的早前期带(preprophase band, PPB)和成膜体(phragmoplast), 关于这些微管阵列的动态组织调控还不清楚。植物细胞微管骨架系统的组织形式与动物细胞相比有着根本的区别。动物细胞微管的组织主要依赖于中心体。中心体是动物细胞的最主要微管组织中心(microtubule organizing centre, MTOC)。但是, 到目前为止, 人们在植物细胞中还没有发现有类似中心体的结构存在, 因此, 研究植物细胞这种非中心体组织的微管组织形式具有重要的意义, 也吸引了众多植物微管骨架研究者的兴趣。

微管成核(microtubule nucleation)是指 $\alpha$ -Tubulin/ $\beta$ -Tubulin异源二聚体从头(*de novo*)合成的起始事件, 由 $\gamma$ -Tubulin与GCPs( $\gamma$ -Tubulin complex proteins)结合形成的 $\gamma$ -Tubulin环式复合体( $\gamma$ -Tubulin ring complex,  $\gamma$ -TuRC)作为模板, 起始微管成核, 进一步聚合形成新的微管<sup>[12]</sup>。体外实验发现, 微管从头合成的起始速度十分缓慢; 而在体内, 微管成核速度则十分迅速<sup>[13]</sup>。在动物细胞中, 微管成核体( $\gamma$ -Tubulin complex)的各个组分主要存在于中心体, 因此中心体

一直被认为是动物细胞中最主要的微管组织中心<sup>[12]</sup>。然而, 高等植物中不含有类似中心体的细胞结构, 但仍能形成有极性的纺锤体微管。因此, 缺乏中心体的植物细胞如何组装微管一直是一个重要的科学问题。

间期植物细胞微管结合在细胞质膜内侧形成二维平面的阵列, 被称为周质微管(CMTs)。有趣的是, 在植物细胞中, 微管成核体 $\gamma$ -TuRC定位于已存在的母体微管(preexisting microtubules), 进而启动子微管成核生成, 这种微管依赖的微管成核(MT-dependent MT nucleation)是植物细胞周质微管的主要生成方式。根据新生子微管与母微管的夹角, 可以将微管成核分为两类: 一类为分支成核(branching nucleation), 平均成核角度大约为 $40^\circ$ ; 另一类为平行成核(parallel nucleation), 成核角度为 $0^\circ$ <sup>[14-15]</sup>。微管成核直接影响周质微管阵列的动态排布以及细胞形态建成, 因此受到严格的调控。Kong等<sup>[16]</sup>利用人工合成的microRNA下调GCP4的表达, 结果发现, 叶片表皮细胞中的周质微管高度平行、成束; amiR-GCP4株系表皮细胞中, 新生微管从母体微管成核起始角度仅为 $27^\circ$ , 而野生型则约为 $40^\circ$ 。Walia等<sup>[17]</sup>也发现了类似的现象, GCP-WD表达下调株系中平均成核角度降低为 $33.6^\circ$ , 并且分支成核比例下降, 周质微管阵列更趋向于平行。

$\gamma$ -Tubulin复合体介导的微管成核存在着精确的调控, 但关于其调控机制还不十分清楚。Augmin复合体是最近得到鉴定的一个蛋白复合体, 负责调控动物细胞内纺锤体内依赖于母体微管的微管成核<sup>[18]</sup>。有证据显示, Augmin复合体很可能将 $\gamma$ -Tubulin复合体招募到纺锤体微管上, 使得 $\gamma$ -Tubulin复合体发挥成核作用, 在长的纺锤体动力微管上成核形成许许多多的新生微管, 从而形成精巧、繁密排布的纺锤体<sup>[19]</sup>。但是这一推测一直缺乏直接的细胞生物学证据。另外, augmin复合体有8个组分, 但是与植物做同源性比较发现, 同源性非常低, 有些根本没有同源性。因此, 人们一直无法确定在植物中有没有augmin复合体的存在, augmin复合体是否在间期细胞中发挥作用。Liu等<sup>[20]</sup>首次发现, 植物细胞中augmin可以通过招募 $\gamma$ -TuRC介导分支成核和平行成核, 下调augmin的表达导致微管成核尤其是分支成核的频率显著下降, 周质微管平行成束。该研究为证实augmin调控微管成核提供了最可信的直接

活细胞显微成像证据, 并且为动物细胞内非中心体微管组织研究提供了重要的参考。另外, Kirik等<sup>[21]</sup>的研究发现, TON2/FASS通过改变分支成核和平行成核的比率来调控拟南芥下胚轴周质微管阵列重排。其中, TON2编码一个PP2A的调节亚基, 表明蛋白磷酸化作用也参与了微管成核调控。

## 1.2 微管切割与微管的动态重构

微管骨架具有高度动态特性, 不断进行活跃的重构, 以响应时刻变化的发育和外界环境(包括生物和非生物刺激)信号。在不同形式微管阵列的动态转换过程中, 微管切割(microtubule severing)处于一个中心枢纽的位置<sup>[22]</sup>。微管切割作用由katanin(来源于日本武士刀katana一词)蛋白复合体完成, 该复合体包含一个60 kDa的具有ATPase活性的催化亚基p60和一个80 kDa的包含WD-40重复基序的调节亚基p80<sup>[23]</sup>。体外实验显示, p60可以在单根微管的任一位点进行切割, 呈随机性<sup>[23]</sup>。微管切割异常会造成人类和动物的老年痴呆等神经退行性病变、小脑综合征以及生殖障碍等疾病。但由于神经元和纺锤体微管排布过密, 无法实现活细胞显微观察微管切割事件, 阻碍了活细胞中katanin复合体对微管切割的精细调控机制的研究。在植物研究领域, 科学家最先鉴定了拟南芥katanin p60编码基因*KTN1*的突变体, 发现其细胞伸长及细胞壁合成异常, 植物矮小, 茎秆脆化, 对光信号、激素信号及机械压力的响应均出现异常。令人兴奋的是, 研究者发现, KTN1介导的微管切割总是特异地发生在微管交叉(microtubule crossovers)位点以及新生微管成核位点, 并且在细胞周质微管受到光或者激素信号而发生动态重构时发挥最关键的作用<sup>[15,24-25]</sup>。因此, 近年来KTN1已经成为植物细胞生物学研究领域的明星蛋白。上述研究发现充分表明, 不同于体外实验中随机的微管切割, 在体内活细胞中微管切割存在精确的调控。但是, 微管的精准切割机制一直是个谜。另外, 尚不清楚katanin p60/p80复合体的具体组成及结构。利用遗传学、细胞生物学和生物化学等手段, Wang等<sup>[26]</sup>成功解码了微管的精准切割机制: 拟南芥中katanin p80亚基KTN80和p60亚基KTN1呈异源二聚体形式存在于细胞质中, 当发生微管切割作用时, KTN80具有精确制导作用, 可将KTN1-KTN80异源二聚体导向至微管切割位点, 而p60亚基KTN1介导KTN1-KTN80异源二聚体的六聚体化, 最

终形成十二聚体的环状超复合体, 并识别特异的微管构象, 完成切割。上述研究首次在活细胞水平揭示了微管的精准切割机制, 也为精确操控微管切割提供了新的思路及药物设计新靶标。

Wang等<sup>[27]</sup>最近的研究发现, augmin复合体除了介导微管成核之外, 还有一个之前从未报道过的功能: 负向调控由切割酶katanin介导的微管切割。活细胞显微成像发现, augmin更倾向于定位在微管交叉点上, 并且通过抑制katanin的切割、稳定微管交叉构象, 来调控微管动态重组与细胞形态建成。Wang等<sup>[27]</sup>进一步通过遗传和数学模拟分析解析了augmin调控微管动态组织的作用机制。SPIRAL2(SPR2)是植物特有的微管结合蛋白(microtubule-associated protein, MAP)<sup>[28]</sup>, 可以直接或间接地调控KTN1, 从而影响微管阵列的动态排布。活体成像观察发现, SPR2沿着微管运动并在交叉点处富集从而阻碍了katanin在此处的定位, 最终保护了交叉点处的微管不被切割<sup>[29]</sup>。最新研究发现, SPR2还可以定位于微管的负端稳定微管, 使微管交叉点持续时间加长, 提高katanin切割的几率<sup>[30-32]</sup>。

## 2 微管控制植物细胞形态建成

### 2.1 微管调控植物细胞分裂

在有丝分裂的早前期, 微管有序地沿质膜内侧环绕细胞核形成带状聚集的阵列形式, 称为早前期带(PPB)。PPB及其附近的细胞膜共同决定了未来细胞分裂的细胞板的位置<sup>[33-35]</sup>。但有意思的是, 最近的一个报道揭示, PPB的主要作用不是决定细胞板的位置, 而是限制纺锤体的旋转, 进而提高细胞分裂的准确性<sup>[36]</sup>。

进入有丝分裂中期, PPB和核膜消失, 纺锤体出现。以 $\gamma$ -TuRC为核心的微管成核复合体的完整性也对纺锤体的组装至关重要<sup>[16,37-39]</sup>。在细胞分裂由后期向末期转变的过程中, 有些纺锤体被重新利用并组装为另一种微管阵列——成膜体(phragmoplast)<sup>[40]</sup>。最新研究发现, MAP65-4可以定位于PPB、两对纺锤体的中间结合区和两对成膜体的中间结合区以及PPB消失之后的细胞周质区。因此, MAP65-4可以作为指示细胞分裂板的一个标志蛋白。MAP65-3和MAP65-4可以促进成膜体微管成束, 提高成膜体的组装效率<sup>[41]</sup>。进一步研究发现, 纺锤体组装检查点蛋白BUB3能够增强MAP65-3与成

膜体的结合能力<sup>[42]</sup>。

最新研究发现, 拟南芥中AUG8的同源蛋白EDE1(endosperm D efective 1)在分裂细胞中特异表达, 定位于纺锤体和成膜体上, 通过调控微管依赖的微管成核来控制纺锤体和成膜体中微管的动态重排<sup>[43]</sup>。

## 2.2 微管指导细胞壁纤维素的合成与沉积

刚性的细胞壁赋予了植物多种多样的细胞形态, 以执行特定的功能。作为细胞壁的主要组分, 纤维素的合成和在细胞壁内的排列方向与周质微管阵列密切相关。早在1962年, 在研究圆柱状细胞形态建成时, Green<sup>[44]</sup>就推测在细胞质最边缘应该存在某种细胞质组分(cytoplasmic elements)可以调控细胞壁内纤维素的排布方向。第二年, Ledbetter和Porter<sup>[2]</sup>在梯牧草根细胞中观察到了微管, 证实了Green的猜测。随着显微镜技术的发展, 人们得以直接观察到纤维素合酶(cellulose synthase, CESA)沿着微管运动<sup>[45-46]</sup>。合成纤维素时, CESA以异源多聚体的形式存在, 被称为纤维素合酶复合体(cellulose synthase complex, CSC)。之后, 又有越来越多的CESA互作蛋白被鉴定出来, 如CSII/POM2和GH9A1/KORRIGAN1。在*csi1/pom2*里, 只有大约10%的CESA信号颗粒定位于微管, 而且较之野生型, 运动速率下降了2~3倍<sup>[47]</sup>。这说明, CSC在微管上的高效定位与运动需要CESA的互作蛋白CSII/POM2的帮助<sup>[47-48]</sup>。而*korrigan1*则表现出异常排布的微管阵列<sup>[49]</sup>, 同样的缺陷还出现在*procuste1/cesa6*里<sup>[50]</sup>, 说明纤维素的合成又能反过来调控周质微管阵列。

## 2.3 微管与下胚轴形态建成

下胚轴的形态建成是研究周质微管调控植物细胞形态建成的经典案例。下胚轴由暗形态建成(skotomorphogenesis)向光形态建成(photomorphogenesis)转变时, 其表皮细胞的外周层面的周质微管阵列发生显著而迅速的重新排布<sup>[7,51]</sup>。

许多MAPs参与此过程, 它们的突变体的下胚轴变得短小、肿胀或者扭曲。比如, *spiral1*<sup>[52-55]</sup>和*spiral2/tortifolia*<sup>[27,56]</sup>的下胚轴呈右手螺旋式(right-handed twisting)生长; 而热敏突变体*mor-1*的下胚轴则表现出左手螺旋(left-handed twisting)<sup>[57]</sup>。在黑暗条件下, 拟南芥突变体*wdl3*(wave dampened like 3)的下胚轴细胞周质微管是正常的横向排列, 当移至

光下时, 周质微管向纵向排列的转变速度较野生型变慢<sup>[10,58]</sup>, 说明WDL3在拟南芥下胚轴去黄化过程中促进了周质微管由横向向纵向的转变。下调表达MDP40(microtubule-destabilizing protein40)导致黑暗下的下胚轴变短, 说明MDP40促进下胚轴的伸长<sup>[59]</sup>, 而过表达MDP25则导致拟南芥下胚轴伸长受限, 说明MDP25抑制下胚轴的伸长<sup>[60]</sup>。微管切割在周质微管阵列重排过程中发挥不可替代的作用。因此, katanin相关突变体, 如*luel1*<sup>[61]</sup>、*fra2*<sup>[62]</sup>以及*ktn80.1234*<sup>[26]</sup>, 都表现出肿胀、短小的下胚轴。

## 2.4 微管与胞内运输

定向排布的微管就像是细胞内的高速公路, 为快速精确的物质运输提供轨道, 而驱动蛋白(kinesin)则利用其水解ATP所产生的能量沿着微管进行定向运动, 为细胞内物质运输提供动力。

单分子实验发现, 拟南芥kinesin-4家族的FRA1是一个向微管正端运动的马达蛋白, 其功能缺失突变体*fra1*表现为纤维素微纤丝无规则地沉积于细胞壁, 茎秆变脆<sup>[63-64]</sup>, 暗示FRA1携带的货物与细胞壁合成密切相关。Kong等<sup>[65]</sup>利用活细胞成像技术, 清晰展示了AtKINESIN-4A/FRA1沿着周质微管快速运动, 且其运动速率远高于CESA复合体的, 提示FRA1携带的货物可能是非纤维素类物质。

在陆生植物里, kinesin-14含量丰富, 和kinesin-7家族一起占据了拟南芥kinesin的半数以上, 也是研究的比较多的驱动蛋白家族。KCBP(kinesin-like calmodulin-binding protein)是植物特有的kinesin-14, 体内体外实验表明, KCBP在微管上呈非进行性(non-processive)运动模式, 并通过其N-端的FERM结构域结合微丝, 调控拟南芥表皮毛的形态建成<sup>[66]</sup>。在小立碗藓(*Physcomitrella patens*)中的研究发现, KCBP可以驱动细胞核和叶绿体沿着微管向其负极运动; 体外实验发现, KCBP可以直接结合磷脂脂质体(phospholipid liposomes), 并沿着微管单向运动<sup>[67]</sup>。Kinesin-14家族的另一个成员KCH(kinesin with calponin homology domain)表现出和KCBP相似的生化特性。体内体外实验发现, 水稻的OsKCH1、棉花的GhKCH2和烟草的NtKCH可以分别通过它们的马达结构域和CH结构域结合微管和微丝<sup>[68-71]</sup>。进一步研究发现, OsKCH1可以将微丝作为货物沿着微管以非进行性的方式向微管负极运动, 且运动速率与微丝相对于微管的方向有关<sup>[72]</sup>。在小立碗藓中最新的研究发现, KCH沿

着微管运动, 调节细胞核的动态与位置, 促进微管正端和微丝的合并, 最终调控小立碗藓的原丝体的顶端生长<sup>[73]</sup>。

### 3 微管调控植物对环境的适应

作为细胞骨架的重要组成部分, 微管具有高度保守的动态特性。当细胞受到外部环境信号的刺激后, 微管阵列快速重组, 以适应细胞生长、发育以及抗逆等方面的需求。微管参与响应和传递环境信号的功能已成为近年来的研究重点。

#### 3.1 微管对光的响应

由于在黑暗和光照条件下的两种截然不同的形态建成模式, 下胚轴成为研究微管响应光照(多是指蓝光)而发生重排的分子机制的理想材料。光照后, 下胚轴表皮细胞内周质微管阵列由横向迅速向纵向转变, 此过程中, katanin介导的微管切割发挥不可替代的作用。因此, 在katanin功能缺失突变的拟南芥下胚轴里, 微管重排被严重抑制, 持续蓝光照射依然不能改变微管杂乱无序的网状阵列<sup>[24]</sup>。

上文已经提到, TON2是微管成核的重要调控因子, 其功能缺失突变体的微管对蓝光刺激变得迟钝<sup>[21]</sup>。这表明, 微管成核也参与到了蓝光刺激的微管重排。微管成核和切割相互配合, 共同促进蓝光刺激的微管重排。

#### 3.2 微管对机械力的响应

许多研究表明, 来自细胞内外的机械力共同调控了植物细胞内微管的组织形式<sup>[74-81]</sup>。植物细胞各个面所受力的大小和方向并不一样, 有的面产生一个拉伸应力(tensile stress), 而有的面则会产生一个压缩应力(compressive stress), 微管倾向于规则地平行排列于最大拉伸应力一面的质膜下, 合成并指导纤维素在细胞壁内的沉积, 从而为刚性的细胞壁提供一个抵抗拉伸应力的作用力。

许多MAPs参与了微管响应机械力而发生的阵列重排。微管切割蛋白katanin是必不可少、也是研究得最多的调控因子, 通过微管精准切割, 参与机械力信号刺激导致的微管重排<sup>[78,80,82-83]</sup>。越来越多的研究表明, CLASP<sup>[84-85]</sup>和SPR2<sup>[32,82]</sup>也可以作为这种调控蛋白的候选者。

#### 3.3 微管对生物胁迫的响应

3.3.1 微管对细菌的响应 细菌在侵染植物时, 通过其分泌系统(type-III secretion system)向宿主细胞

注射效应蛋白, 如Harpin<sup>[86-87]</sup>、HopZ1a<sup>[88]</sup>、AvrBsT<sup>[89]</sup>、HopE1<sup>[90]</sup>和XopL<sup>[91]</sup>等, 促进微管解聚, 降低微管密度, 促进侵染。宿主可以利用自噬(autophagy)清除入侵机体的细菌。有研究发现, 拟南芥中的两个自噬相关蛋白ATG8和JOKA2可以与微管结合<sup>[92-93]</sup>。烟草中的研究发现, ATG6可以与微管以及微管蛋白单体TUB8结合, 促进自噬体的形成<sup>[94]</sup>。

3.3.2 微管对病毒的响应 可能是病毒本身较小的缘故, 病毒粒子(virions)和病毒RNAs可以沿着微管在宿主细胞内运动以及利用胞间连丝在宿主细胞间穿梭<sup>[95-96]</sup>, 以实施感染。所以, 植物对抗病毒的策略是改变自身微管动态性使病毒运动蛋白或RNAs在其上的运动受限, 阻止或减少感染。比如, 在烟草里的两项研究中发现, 过表达微管结合蛋白MPB2C, 能够降低烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)的运动蛋白MP30的细胞间运动活性, 减少TMV的感染<sup>[97]</sup>; 烟草SR1功能缺失突变体里, 微管稳定性增强, TMV的细胞间运动活性受到抑制<sup>[98]</sup>。

最近, 研究发现, 稳定的微管有利于stromule的形成, stromule进一步引导叶绿体向细胞核周围聚拢, 激活宿主对TMV的先天免疫<sup>[99-100]</sup>。Stromule是近年来刚发现不久的一类凸出于叶绿体的细长管状结构, 内部充满叶绿体基质, 其形成受到细胞内外信号刺激的诱导与调控, 如质体数量与大小、共生、生物和非生物胁迫<sup>[99,101-106]</sup>。因此, 在植物发育和植物与病原微生物互作过程中, 有关stromule的研究越发被人们关注。

3.3.3 微管对线虫的响应 线虫侵入植物根后, 通常刺激侵袭部位形成合胞体(syncytium)或者含有多核的巨大细胞(giant cells)。在此过程中, 微管阵列发生剧烈变化。

在合胞体和巨大营养细胞形成过程中, 周质微管明显片段化, 解聚的GFP-Tubulin单体形成弥散的云团状GFP信号; 但是, 微管蛋白单体Tubulin和微管结合蛋白的表达水平却是上升的<sup>[107-110]</sup>。这或许可以理解为被破坏的微管提供了反馈信号。同时, 合胞体和巨大细胞的形成需要大量的细胞分裂, 这依赖早前期带、纺锤体和成膜体微管的快速组装与排布, 而MAP65-3在有丝分裂期的微管动态调控中发挥重要作用。因此, 有研究发现, 拟南芥根感染根结线虫(*Meloidogyne incognita*)后, MAP65-3表达水平上升; 而MAP65-3功能缺失突变体则导致线虫发

育和巨大细胞分化失败<sup>[107]</sup>。近期还有研究表明, 感染根结线虫(*Meloidogyne* spp.)的拟南芥根里的微管成核蛋白(TUBG1、TUBG2、GCP3、GCP4)表达量上升, 通过增加微管成核频率加速微管重排, 使巨大营养细胞快速扩展<sup>[111]</sup>。此外, 马铃薯囊胞线虫(*Globodera rostochiensis*)在寄生宿主时, 分泌的效应因子RanBPM定位于MTOC, 促进纺锤体微管的生成与稳定<sup>[112]</sup>, 利于细胞分裂。最近, 研究人员又在另一种马铃薯囊胞线虫(*Globodera pallida*)中鉴定到一个效应蛋白GpSPRY-414-2, 发现它可以和马铃薯微管结合蛋白SiCLASP互作, 并共定位于宿主细胞的微管, 但微管的完整性对GpSPRY-414-2的致病力没有影响<sup>[113]</sup>。

#### 4 结语

如今, 植物微管研究已经过去半个多世纪, 激动人心的新技术、新方法和新知识层出不穷。因此, 领域内多位专家纷纷撰文称过去的这五十年是辉煌的半个世纪(a glorious half-century)<sup>[114-117]</sup>。植物微管是一个高度动态的纤维网络结构, 时刻发生着解聚、聚合、交叉、成束、成核与切割等动态事件, 借此方式, 植物微管可以在不同的细胞生长分化时期呈现出多种组织形式, 以执行特定的功能, 如PPB、纺锤体和成膜体之于细胞分裂, 周质微管之于细胞形态建成。在这几种微管阵列中, 周质微管紧贴质膜呈二维排布、清晰疏朗, 易于活体成像观察与分析, 所以, 很多微管特性与功能的解析得益于对周质微管的研究, 例如, 微管成核、微管切割、微管响应并传导环境信号等。但是, 随着认识的深入, 新的问题也不断出现, 亟待解决。例如, 植物细胞内, 诸多非中心体的成核位点是如何形成的? Katanin介导的微管切割在微管响应细胞内外的信号刺激而发生的重排过程中处于中心枢纽的位置, 那么, 微管切割是调控这一过程的唯一机制吗? 对于植物微管的精准切割, 除了katanin复合体, 还有没有其他的蛋白因子参与? 细胞内外的信号是如何协调和调控微管重排的? 另外, 微管如何响应环境信号, 特别是如何响应光信号、生物钟信号、机械应力信号? 在植物与微生物(包括病原微生物与共生微生物)的互作中微管的调控作用是什么? 这些问题都是未来要解决的重要科学问题。这也许正是人们对植物微管的兴趣长盛不衰的原因所在, 也是科学研究的魅力所在。

#### 参考文献 (References)

- 1 Slautterback DB. Cytoplasmic microtubules I. Hydra. J Cell Biol 1963; 18: 367-88.
- 2 Ledbetter MC, Porter KR. A "microtubule" in plant cell fine structure. J Cell Biol 1963; 19(1): 239-50.
- 3 Lloyd C. Why should stationary plant cells have such dynamic microtubules? Mol Biol Cell 1994; 5(12): 1277-80.
- 4 Lloyd C and Chan J. Microtubules and the shape of plants to come. Nat Rev Mol Cell Biol 2004; 5(1): 13-22.
- 5 Smith LG and Oppenheimer DG. Spatial control of cell expansion by the plant cytoskeleton. Annu Rev Cell Dev Biol 2005; 21: 271-95.
- 6 Paradez A, Wright A, Ehrhardt DW. Microtubule cortical array organization and plant cell morphogenesis. Curr Opin Plant Biol 2006; 9(6): 571-8.
- 7 Ehrhardt DW and Shaw SL. Microtubule dynamics and organization in the plant cortical array. Annu Rev Plant Biol 2006; 57: 859-75.
- 8 Sedbrook JC and Kaloriti D. Microtubules, MAPs and plant directional cell expansion. Trends Plant Sci 2008; 13(6): 303-10.
- 9 Buschmann H and Lloyd CW. *Arabidopsis* mutants and the network of microtubule-associated functions. Mol Plant 2008; 1(6): 888-98.
- 10 Liu X, Qin T, Ma Q, Sun J, Liu Z, Yuan M, *et al.* Light-regulated hypocotyl elongation involves proteasome-dependent degradation of the microtubule regulatory protein WDL3 in *Arabidopsis*. Plant Cell 2013; 25(5): 1740-55.
- 11 McFarlane HE, Doring A, Persson S. The cell biology of cellulose synthesis. Annu Rev Plant Biol 2014; 65: 69-94.
- 12 Wiese C and Zheng Y. A new function for the  $\gamma$ -tubulin ring complex as a microtubule minus-end cap. Nat Cell Biol 2000; 2(6): 358-64.
- 13 Rice LM, Montabana EA, Agard DA. The lattice as allosteric effector: Structural studies of  $\alpha\beta$ - and  $\gamma$ -tubulin clarify the role of GTP in microtubule assembly. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105(14): 5378-83.
- 14 Chan J, Sambade A, Calder G, Lloyd C. *Arabidopsis* cortical microtubules are initiated along, as well as branching from, existing microtubules. Plant Cell 2009; 21(8): 2298-306.
- 15 Nakamura M, Ehrhardt DW, Hashimoto T. Microtubule and katanin-dependent dynamics of microtubule nucleation complexes in the acentrosomal *Arabidopsis* cortical array. Nat Cell Biol 2010; 12(11): 1064-70.
- 16 Kong Z, Hotta T, Lee YR, Horio T, Liu B. The  $\gamma$ -tubulin complex protein GCP4 is required for organizing functional microtubule arrays in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell 2010; 22(1): 191-204.
- 17 Walia A, Nakamura M, Moss D, Kirik V, Hashimoto T, Ehrhardt DW. GCP-WD mediates gamma-TuRC recruitment and the geometry of microtubule nucleation in interphase arrays of *Arabidopsis*. Curr Biol 2014; 24(21): 2548-55.
- 18 Goshima G, Mayer M, Zhang N, Stuurman N, Vale RD. Augmin: a protein complex required for centrosome-independent microtubule generation within the spindle. J Cell Biol 2008; 181(3): 421-9.
- 19 Goshima G and Kimura A. New look inside the spindle: microtubule-dependent microtubule generation within the spindle. Curr Opin Cell Biol 2010; 22(1): 44-9.
- 20 Liu T, Tian J, Wang G, Yu Y, Wang C, Ma Y, *et al.* Augmin triggers

- microtubule-dependent microtubule nucleation in interphase plant cells. *Curr Biol* 2014; 24(22): 2708-13.
- 21 Kirik A, Ehrhardt DW, Kirik V. TONNEAU2/FASS regulates the geometry of microtubule nucleation and cortical array organization in interphase *Arabidopsis* cells. *Plant Cell* 2012; 24(3): 1158-70.
- 22 Roll-Mecak A. Botany. Shining light at microtubule crossroads. *Science* 2013; 342(6163): 1180-1.
- 23 McNally F and Vale R. Identification of katanin, an ATPase that severs and disassembles stable microtubules. *Cell* 1993; 75(3): 419-29.
- 24 Lindeboom JJ, Nakamura M, Hibbel A, Shundyak K, Gutierrez R, Ketelaar T, *et al.* A mechanism for reorientation of cortical microtubule arrays driven by microtubule severing. *Science* 2013; 342(6163): 1245533.
- 25 Zhang Q, Fishel E, Bertroche T, Dixit R. Microtubule severing at crossover sites by katanin generates ordered cortical microtubule arrays in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2013; 23(21): 2191-5.
- 26 Wang C, Liu W, Wang G, Li J, Dong L, Han L, *et al.* KTN80 confers precision to microtubule severing by specific targeting of katanin complexes in plant cells. *EMBO J* 2017; 36(23): 3435-47.
- 27 Wang G, Wang C, Liu W, Ma Y, Dong L, Tian J, *et al.* Augmin antagonizes katanin at microtubule crossovers to control the dynamic organization of plant cortical arrays. *Curr Biol* 2018; 28(8): 1311-17.
- 28 Shoji T, Narita NN, Hayashi K, Asada J, Hamada T, Sonobe S, *et al.* Plant-specific microtubule-associated protein SPIRAL2 is required for anisotropic growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2004; 136(4): 3933-44.
- 29 Wightman R, Chomicki G, Kumar M, Carr P, Turner SR. SPIRAL2 determines plant microtubule organization by modulating microtubule severing. *Curr Biol* 2013; 23(19): 1902-7.
- 30 Fan Y, Burkart GM, Dixit R. The *Arabidopsis* SPIRAL2 protein targets and stabilizes microtubule minus ends. *Curr Biol* 2018; 28(6): 987-94.
- 31 Leong SY, Yamada M, Yanagisawa N, Goshima G. SPIRAL2 stabilises endoplasmic microtubule minus ends in the moss *Physcomitrella patens*. *Cell Struct Funct* 2018; 43(1): 53-60.
- 32 Nakamura M, Lindeboom JJ, Saltini M, Mulder BM, Ehrhardt DW. SPR2 protects minus ends to promote severing and reorientation of plant cortical microtubule arrays. *J Cell Biol* 2018; 217(3): 915-27.
- 33 Camilleri C, Azimzadeh J, Pastuglia M, Bellini C, Grandjean O, Bouchez D. The *Arabidopsis* TONNEAU2 gene encodes a putative novel protein phosphatase 2A regulatory subunit essential for the control of the cortical cytoskeleton. *Plant Cell* 2002; 14(4): 833-45.
- 34 Spinner L, Gadeyne A, Belcram K, Goussot M, Moison M, Duroc Y, *et al.* A protein phosphatase 2A complex spatially controls plant cell division. *Nat Commun* 2013; 4: 1863.
- 35 Pietra S, Gustavsson A, Kiefer C, Kalmbach L, Hörstedt P, Ikeda Y, *et al.* *Arabidopsis* SABRE and CLASP interact to stabilize cell division plane orientation and planar polarity. *Nat Commun* 2013; 4: 2779.
- 36 Schaefer E, Belcram K, Uyttewaal M, Duroc Y, Goussot M, Legland D, *et al.* The preprophase band of microtubules controls the robustness of division orientation in plants. *Science* 2017; 356: 186-9.
- 37 Janski N, Masoud K, Batzenschlager M, Herzog E, Evrard JL, Houlné G, *et al.* The GCP3-interacting proteins GIP1 and GIP2 are required for gamma-tubulin complex protein localization, spindle integrity, and chromosomal stability. *Plant Cell* 2012; 24(3): 1171-87.
- 38 Reschen RF, Colombie N, Wheatley L, Dobbelaere J, St Johnston D, Ohkura H, *et al.* Dgp71WD is required for the assembly of the acentrosomal meiosis I spindle, and is not a general targeting factor for the gamma-TuRC. *Biol Open* 2012; 1(5): 422-9.
- 39 Zeng CJ, Lee YR, Liu B. The WD40 repeat protein NEDD1 functions in microtubule organization during cell division in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 2009; 21(4): 1129-40.
- 40 Lee YR and Liu B. The rise and fall of the phragmoplast microtubule array. *Curr Opin Plant Biol* 2013; 16(6): 757-63.
- 41 Li H, Sun B, Sasabe M, Deng X, Machida Y, Lin H, *et al.* *Arabidopsis* MAP65-4 plays a role in phragmoplast microtubule organization and marks the cortical cell division site. *New Phytol* 2017; 215(1): 187-201.
- 42 Zhang H, Deng X, Sun B, Lee Van S, Kang Z, Lin H, *et al.* Role of the BUB3 protein in phragmoplast microtubule reorganization during cytokinesis. *Nat Plants* 2018; 4(7): 485-94.
- 43 Lee YJ, Hiwatashi Y, Hotta T, Xie T, Doonan JH, Liu B. The mitotic function of augmin is dependent on its microtubule-associated protein subunit EDE1 in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol* 2017; 27(24): 3891-7.
- 44 Green PB. Mechanism for plant morphogenesis. *Science* 1962; 138(3548): 1404-5.
- 45 Gutierrez R, Lindeboom JJ, Paredez AR, Emons AM, Ehrhardt DW. *Arabidopsis* cortical microtubules position cellulose synthase delivery to the plasma membrane and interact with cellulose synthase trafficking compartments. *Nat Cell Biol* 2009; 11(7): 797-806.
- 46 Paredez AR, Somerville CR, Ehrhardt DW. Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science* 2006; 312(5779): 1491-5.
- 47 Bringmann M, Li E, Sampathkumar A, Kocabek T, Hauser MT, Persson S. POM-POM2/cellulose synthase interacting1 is essential for the functional association of cellulose synthase and microtubules in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2012; 24(1): 163-77.
- 48 Li S, Lei L, Somerville CR, Gu Y. Cellulose synthase interactive protein 1 (CS11) links microtubules and cellulose synthase complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(1): 185-90.
- 49 Lei L, Zhang T, Strasser R, Lee CM, Gonneau M, Mach L, *et al.* The *jiaoyao1* mutant is an allele of *korrigan1* that abolishes endoglucanase activity and affects the organization of both cellulose microfibrils and microtubules in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2014; 26(6): 2601-16.
- 50 Paredez AR, Persson S, Ehrhardt DW, Somerville CR. Genetic evidence that cellulose synthase activity influences microtubule cortical array organization. *Plant Physiol* 2008; 147(4): 1723-34.
- 51 Vineyard L, Elliott A, Dhingra S, Lucas JR, Shaw SL. Progressive transverse microtubule array organization in hormone-induced *Arabidopsis* hypocotyl cells. *Plant Cell* 2013; 25(2): 662-76.
- 52 Furutani I, Watanabe Y, Prieto R, Masukawa M, Suzuki K, Naoi K, *et al.* The *SPIRAL* genes are required for directional control of cell elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 2000; 127: 4443-53.
- 53 Hashimoto T. Molecular genetic analysis of left-right handedness in plants. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2002; 357(1422):

- 799-808.
- 54 Nakajima K, Furutani I, Tachimoto H, Matsubara H, Hashimoto T. *SPIRAL1* encodes a plant-specific microtubule-localized protein required for directional control of rapidly expanding *Arabidopsis* cells. *Plant Cell* 2004; 16(5): 1178-90.
- 55 Sedbrook JC, Ehrhardt DW, Fisher SE, Scheible WR, Somerville CR. The *Arabidopsis sku6/spiral1* gene encodes a plus end-localized microtubule-interacting protein involved in directional cell expansion. *Plant Cell* 2004; 16(6): 1506-20.
- 56 Buschmann H, Fabri CO, Hauptmann M, Hutzler P, Laux T, Lloyd CW, *et al.* Helical growth of the *Arabidopsis* mutant *tortifolia1* reveals a plant-specific microtubule-associated protein. *Curr Biol* 2004; 14(16): 1515-21.
- 57 Whittington AT, Vugrek O, Wei KJ, Hasenbein NG, Sugimoto K, Rashbrooke MC, *et al.* MOR1 is essential for organizing cortical microtubules in plants. *Nature* 2001; 411(6837): 610-3.
- 58 Lian N, Liu X, Wang X, Zhou Y, Li H, Li J, *et al.* COP1 mediates dark-specific degradation of microtubule-associated protein WDL3 in regulating *Arabidopsis* hypocotyl elongation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(46): 12321-6.
- 59 Wang X, Zhang J, Yuan M, Ehrhardt DW, Wang Z, Mao T. *Arabidopsis* microtubule destabilizing protein40 is involved in brassinosteroid regulation of hypocotyl elongation. *Plant Cell* 2012; 24(10): 4012-25.
- 60 Li J, Wang X, Qin T, Zhang Y, Liu X, Sun J, *et al.* MDP25, a novel calcium regulatory protein, mediates hypocotyl cell elongation by destabilizing cortical microtubules in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2011; 23(12): 4411-27.
- 61 Bouquin T, Mattsson O, Naested H, Foster R, Mundy J. The *Arabidopsis lue1* mutant defines a katanin p60 ortholog involved in hormonal control of microtubule orientation during cell growth. *J Cell Sci* 2003; 116(5): 791-801.
- 62 Burk DH, Liu B, Zhong R, Morrison WH, Ye ZH. A katanin-like protein regulates normal cell wall biosynthesis and cell elongation. *Plant Cell* 2001; 13: 807-27.
- 63 Zhong R, Burk DH, Morrison WH 3rd, Ye ZH. A kinesin-like protein is essential for oriented deposition of cellulose microfibrils and cell wall strength. *Plant Cell* 2002; 14: 3101-17.
- 64 Zhu C and Dixit R. Single molecule analysis of the *Arabidopsis* FRA1 kinesin shows that it is a functional motor protein with unusually high processivity. *Mol Plant* 2011; 4(5): 879-85.
- 65 Kong Z, Ioki M, Braybrook S, Li S, Ye ZH, Julie Lee YR, *et al.* Kinesin-4 functions in vesicular transport on cortical microtubules and regulates cell wall mechanics during cell elongation in plants. *Mol Plant* 2015; 8(7): 1011-23.
- 66 Tian J, Han L, Feng Z, Wang G, Liu W, Ma Y, *et al.* Orchestration of microtubules and the actin cytoskeleton in trichome cell shape determination by a plant-unique kinesin. *Elife* 2015; 4: e09351.
- 67 Yamada M, Tanaka-Takiguchi Y, Hayashi M, Nishina M, Goshima G. Multiple kinesin-14 family members drive microtubule minus end-directed transport in plant cells. *J Cell Biol* 2017; 216(6): 1705-14.
- 68 Frey N, Klotz J, and Nick P. Dynamic bridges—a calponin-domain kinesin from rice links actin filaments and microtubules in both cycling and non-cycling cells. *Plant Cell Physiol* 2009; 50(8): 1493-506.
- 69 Klotz J and Nick P. A novel actin-microtubule cross-linking kinesin, NtKCH, functions in cell expansion and division. *New Phytol* 2012; 193(3): 576-89.
- 70 Umezu N, Umeki N, Mitsui T, Kondo K, Maruta S. Characterization of a novel rice kinesin O12 with a calponin homology domain. *J Biochem* 2011; 149(1): 91-101.
- 71 Xu T, Qu Z, Yang X, Qin X, Xiong J, Wang Y, *et al.* A cotton kinesin GhKCH2 interacts with both microtubules and microfilaments. *Biochem J* 2009; 421(2): 171-80.
- 72 Walter WJ, Machens I, Rafieian F, Diez S. The non-processive rice kinesin-14 OsKCH1 transports actin filaments along microtubules with two distinct velocities. *Nat Plants* 2015; 1: 15111.
- 73 Yamada M and Goshima G. The KCH kinesin drives nuclear transport and cytoskeletal coalescence to promote tip cell growth in *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* 2018; 30(7): 1496-510.
- 74 Hamant O, Heisler MG, Jönsson H, Krupinski P, Uyttewaal M, Bokov P, *et al.* Developmental patterning by mechanical signals in *Arabidopsis*. *Science* 2008; 322(5908): 1650-5.
- 75 Hejnowicz Z, Rusin A, Rusin T. Tensile tissue stress affects the orientation of cortical microtubules in the epidermis of sunflower hypocotyl. *J Plant Growth Regul* 2000; 19(1): 31-44.
- 76 Jacques E, Verbelen JP, Vissenberg K. Mechanical stress in *Arabidopsis* leaves orients microtubules in a ‘continuous’ supracellular pattern. *BMC Plant Biol* 2013; 13: 163.
- 77 Louveaux M, Rochette S, Beauzamy L, Boudaoud A, Hamant O. The impact of mechanical compression on cortical microtubules in *Arabidopsis*: a quantitative pipeline. *Plant J* 2016; 88(2): 328-42.
- 78 Sampathkumar A, Krupinski P, Wightman R, Milani P, Berquand A, Boudaoud A, *et al.* Subcellular and supracellular mechanical stress prescribes cytoskeleton behavior in *Arabidopsis* cotyledon pavement cells. *Elife* 2014; 3: e01967.
- 79 Sampathkumar A, Yan A, Krupinski P, Meyerowitz EM. Physical forces regulate plant development and morphogenesis. *Curr Biol* 2014; 24(10): R475-83.
- 80 Uyttewaal M, Burian A, Alim K, Landrein B, Borowska-Wykręt D, Dedieu A, *et al.* Mechanical stress acts via katanin to amplify differences in growth rate between adjacent cells in *Arabidopsis*. *Cell* 2012; 149(2): 439-51.
- 81 Yanagisawa M, Desyatova AS, Belteton SA, Mallery EL, Turner JA, Szymanski DB. Patterning mechanisms of cytoskeletal and cell wall systems during leaf trichome morphogenesis. *Nat Plants* 2015; 1: 15014.
- 82 Hervieux N, Dumond M, Sapala A, Routier-Kierzkowska AL, Kierzkowski D, Roeder AH, *et al.* A mechanical feedback restricts sepal growth and shape in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2016; 26(8): 1019-28.
- 83 Sassi M, Ali O, Boudon F, Cloarec G, Abad U, Cellier C, *et al.* An auxin-mediated shift toward growth isotropy promotes organ formation at the shoot meristem in *Arabidopsis*. *Curr Biol* 2014; 24(19): 2335-42.
- 84 Ambrose C, Allard JF, Cytrynbaum EN, Wasteneys GO. A CLASP-modulated cell edge barrier mechanism drives cell-wide cortical microtubule organization in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 2011; 2: 430.
- 85 Lindeboom JJ, Nakamura M, Saltini M, Hibbel A, Walia A, Ketelaar T, *et al.* CLASP stabilizes microtubule plus ends created by serving to drive cortical array reorientation. *J Cell Biol* 2019; 218(1): 190-205.



- 86 Chang X, Heene E, Qiao F, Nick P. The phytoalexin resveratrol regulates the initiation of hypersensitive cell death in *Vitis* cell. *PLoS One* 2011; 6(10): e26405.
- 87 Qiao F, Chang XL, Nick P. The cytoskeleton enhances gene expression in the response to the Harpin elicitor in grapevine. *J Exp Bot* 2010; 61(14): 4021-31.
- 88 Lee AH, Hurley B, Felsensteiner C, Yea C, Ckurshumova W, Bartetzko V, *et al.* A bacterial acetyltransferase destroys plant microtubule networks and blocks secretion. *PLoS Pathog* 2012; 8(2): e1002523.
- 89 Cheong MS, Kirik A, Kim JG, Frame K, Kirik V, Mudgett MB. AvrBsT acetylates *Arabidopsis* ACIP1, a protein that associates with microtubules and is required for immunity. *PLoS Pathog* 2014; 10(2): e1003952.
- 90 Guo M, Kim P, Li G, Elowsky CG, Alfano JR. A bacterial effector Co-opts calmodulin to target the plant microtubule network. *Cell Host Microbe* 2016; 19(1): 67-78.
- 91 Erickson JL, Adlung N, Lampe C, Bonas U, Schattat MH. The *Xanthomonas* effector XopL uncovers the role of microtubules in stromule extension and dynamics in *Nicotiana benthamiana*. *Plant J* 2018; 93(5): 856-70.
- 92 Ketelaar T, Voss C, Dimmock SA, Thumm M, Hussey PJ. *Arabidopsis* homologues of the autophagy protein Atg8 are a novel family of microtubule binding proteins. *FEBS Lett* 2004; 567(2/3): 302-6.
- 93 Zientara-Rytter K and Sirko A. Selective autophagy receptor Joka2 co-localizes with cytoskeleton in plant cells. *Plant Signaling Behavior* 2014; 9(5): e28523.
- 94 Wang Y, Zheng X, Yu B, Han S, Guo J, Tang H, *et al.* Disruption of microtubules in plants suppresses macroautophagy and triggers starch excess-associated chloroplast autophagy. *Autophagy* 2015; 11(12): 2259-74.
- 95 Harries PA, Schoelz JE, Nelson RS. Intracellular transport of viruses and their components: utilizing the cytoskeleton and membrane highways. *Mol Plant Microbe Interact* 2010; 23(11): 1381-93.
- 96 Takemoto D and Hardham AR. The cytoskeleton as a regulator and target of biotic interactions in plants. *Plant Physiol* 2004; 136(4): 3864-76.
- 97 Kragler F. MPB2C, a Microtubule-associated plant protein binds to and interferes with cell-to-cell transport of tobacco mosaic virus movement protein. *Plant Physiol* 2003; 132(4): 1870-83.
- 98 Ouko MO, Sambade A, Brandner K, Niehl A, Peña E, Ahad A, *et al.* Tobacco mutants with reduced microtubule dynamics are less susceptible to TMV. *Plant J* 2010; 62(5): 829-39.
- 99 Caplan JL, Kumar AS, Park E, Padmanabhan MS, Hoban K, Modla S, *et al.* Chloroplast stromules function during innate immunity. *Dev Cell* 2015; 34(1): 45-57.
- 100 Kumar AS, Park E, Nedo A, Alqarni A, Ren L, Hoban K, *et al.* Stromule extension along microtubules coordinated with actin-mediated anchoring guides perinuclear chloroplast movement during innate immunity. *Elife* 2018; 7: e23625.
- 101 Brunkard JO, Runkel AM, Zambryski PC. Chloroplasts extend stromules independently and in response to internal redox signals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(32): 10044-9.
- 102 Caplan JL, Mamillapalli P, Burch-Smith TM, Czymmek K, Dinesh-Kumar SP. Chloroplastic protein NRIP1 mediates innate immune receptor recognition of a viral effector. *Cell* 2008; 132(3): 449-62.
- 103 Erickson JL, Ziegler J, Guevara D, Abel S, Klösgen RB, Mathur J, *et al.* Agrobacterium-derived cytokinin influences plastid morphology and starch accumulation in *Nicotiana benthamiana* during transient assays. *BMC Plant Biol* 2014; 14: 127.
- 104 Gray JC, Hansen MR, Shaw DJ, Graham K, Dale R, Smallman P, *et al.* Plastid stromules are induced by stress treatments acting through abscisic acid. *Plant J* 2012; 69(3): 387-98.
- 105 Schattat MH and Klosgen RB. Induction of stromule formation by extracellular sucrose and glucose in epidermal leaf tissue of *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol* 2011; 11: 115.
- 106 Waters MT, Fray RG, Pyke KA. Stromule formation is dependent upon plastid size, plastid differentiation status and the density of plastids within the cell. *Plant J* 2004; 39(4): 655-67.
- 107 Caillaud MC, Lecomte P, Jammes F, Quentin M, Pagnotta S, Andrio E, *et al.* MAP65-3 microtubule-associated protein is essential for nematode-induced giant cell ontogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2008; 20(2): 423-37.
- 108 de Almeida Engler J, Van Poucke K, Karimi M, De Groodt R, Gheysen G, Engler G, *et al.* Dynamic cytoskeleton rearrangements in giant cells and syncytia of nematode-infected roots. *Plant J* 2004; 38(1): 12-26.
- 109 Klink VP, Alkharouf N, MacDonald M, Matthews B. Laser capture microdissection (LCM) and expression analyses of *Glycine max* (soybean) syncytium containing root regions formed by the plant pathogen *Heterodera glycines* (soybean cyst nematode). *Plant Mol Biol* 2005; 59(6): 965-79.
- 110 Swiecicka M, Filipecki M, Lont D, Van Vliet J, Qin L, Goverse A, *et al.* Dynamics in the tomato root transcriptome on infection with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Mol Plant Pathol* 2009; 10(4): 487-500.
- 111 Banora MY, Rodiuc N, Baldacci-Cresp F, Smertenko A, Bleve-Zacheo T, Mellilo MT, *et al.* Feeding cells induced by phytoparasitic nematodes require gamma-tubulin ring complex for microtubule reorganization. *PLoS Pathog* 2011; 7(12): e1002343.
- 112 Davis EL, Hussey RS, Baum TJ. Getting to the roots of parasitism by nematodes. *Trends Parasitol* 2004; 20(3): 134-41.
- 113 Mei Y, Wright KM, Haegeman A, Bauters L, Diaz-Granados A, Goverse A, *et al.* The globodera pallida SPRYSEC effector GpSPRY-414-2 that suppresses plant defenses targets a regulatory component of the dynamic microtubule network. *Front Plant Sci* 2018; 9: 1019.
- 114 Brandizzi F and Wasteneys GO. Cytoskeleton-dependent endomembrane organization in plant cells: an emerging role for microtubules. *Plant J* 2013; 75(2): 339-49.
- 115 Nick P. Microtubules, signalling and abiotic stress. *Plant J* 2013; 75(2): 309-23.
- 116 Rasmussen CG, Wright AJ, Muller S. The role of the cytoskeleton and associated proteins in determination of the plant cell division plane. *Plant J* 2013; 75(2): 258-69.
- 117 Wasteneys GO and Brandizzi F. A glorious half-century of microtubules. *Plant J* 2013; 75(2): 185-8.