

综述 Reviews

生长素和细胞分裂素参与构建水稻根系的研究进展

陈开¹, 唐塘², 张冬平¹, 陈云¹, 吕冰^{1,*}¹教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室, 扬州大学生物科学与技术学院, 江苏扬州225009²淮阴师范学院生命科学院, 江苏淮安223300

摘要: 植物根系除具有固着植株、吸收水分和养分等重要作用外, 还可作为信号源调控植株的发育。对于水稻(*Oryza sativa*)等作物而言, 根系的发育状况直接影响作物生产和抗逆能力, 而水稻根系构型又受到包括植物激素在内的内外因素调控。其中, 生长素和细胞分裂素是最为重要的两类激素。本文综述了生长素和细胞分裂素的合成、转运和信号转导等过程, 以及由此协作参与构建水稻根系(主要是不定根和侧根)的分子机制。

关键词: 生长素; 细胞分裂素; 激素互作; 水稻; 根系构型

水稻(*Oryza sativa*)是世界三大粮食作物之一, 我国是最大的稻米生产国。一直以来, 中外农业科学家们都在致力于实现稻作的高产和稳产。作为重要的地下器官, 水稻根系发育直接影响地上部性状, 进而影响水稻生产。在当今全球气候异常变化、区域性环境恶化的形势下, 根系发育调控机理的研究变得更为重要(Calleja-Cabrera等2020)。早在18世纪, 人们就已经开展了根系发育相关的研究。20世纪20年代, E. B. Weaver较为系统地研究了包括水稻在内的10余种作物的根系发育过程。半个多世纪后, 川田信一郎(1984)在水稻根系形态建成和土壤环境对根系发育的影响等方面进行了较为全面的研究, 为后续进行水稻根系发育机理的探究奠定了基础。21世纪以来, 随着一系列根系研究相关技术, 包括根系无损检测(微根窗成像)技术、现代分子生物学技术和各类组学技术等现代化科学研究技术的不断创建和发展, 水稻根系的研究得以进一步发展和深化。

水稻根系属于须根系, 由初生根(也称为胚根或种子根)、不定根(也称为冠根)和侧根构成。初生根在水稻种子萌发时由种胚生出, 构成初生根系, 但在不定根形成之后逐渐枯死。初生根发育之后, 胚轴或胚芽鞘节上会生成数条不定根, 并逐步取代初生根构成水稻主要根系(Hochholdinger等2004)。随着不定根的发育, 侧根会在其上顺序发生。因此, 水稻根系主要由不定根和侧根构成。

植物根系发育调控的大量研究表明, 激素是

所有根系形成过程中必需的和共同的信号(刘大同等2013)。其中, 生长素和细胞分裂素是最为重要的两类激素。本文概述了水稻中生长素和细胞分裂素的合成、转运、信号转导及其在根系构建中的作用, 重点阐述了两类激素相互作用协同参与构建水稻根系(主要是不定根和侧根)的研究进展。

1 生长素参与水稻根系构建

作为最早被发现的植物激素, 生长素在复杂的激素调控植物根系发育网络中发挥着极为关键的作用(Saini等2013; Meng等2019)。生长素的合成、运输和信号转导等途径相关基因都会不同程度地影响水稻根系的构建(图1)。

1.1 生长素合成相关基因对水稻根系构建的影响

生长素是一类含有一个不饱和芳香环和一个羧基侧链的植物激素。植物体内生长素的主要形式是吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA), 其生物合成前体物质是色氨酸(tryptophan, TRP)和色氨酸前体物质吲哚-3-甘油磷酸(indole-3-glycerol phosphate, IGP), 因而生长素的合成途径可分为以色氨酸为前体的色氨酸依赖性途径和以IGP为前体的非色氨酸依赖性途径两条途径。其中, 色氨酸依

收稿 2020-09-22 修定 2020-10-23

资助 国家自然科学基金(31471574)、江苏省大学生创新创业训练计划项目(201911117099Y)和江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室(HZHLAB1702)。

* 通讯作者(lubing@yzu.edu.cn)。

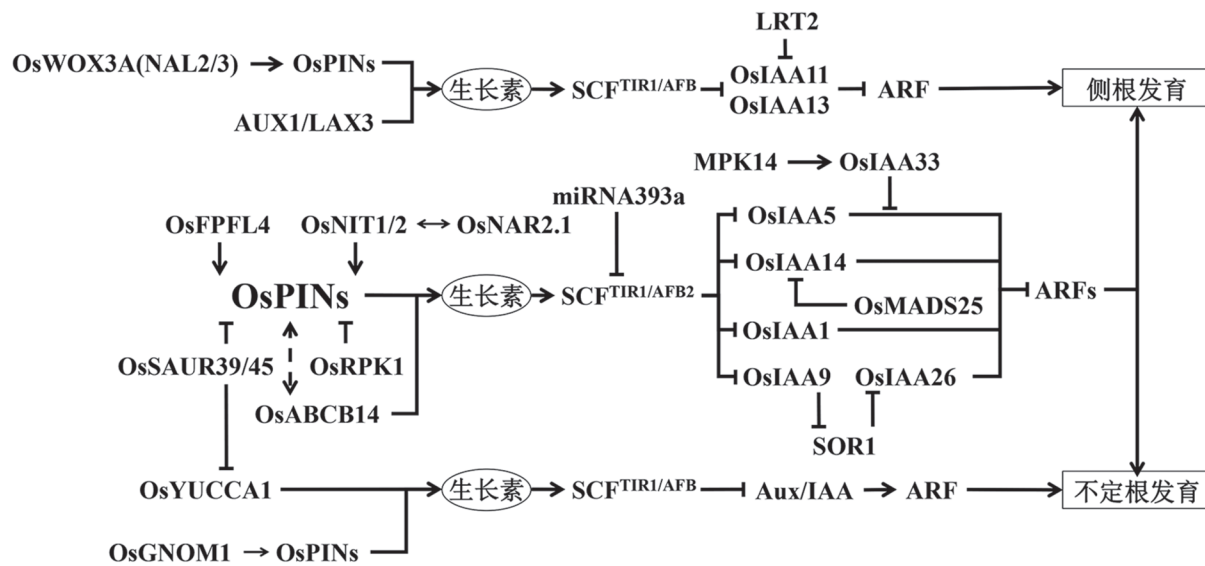


图1 生长素参与水稻根系发育的分子机制

Fig.1 Molecular mechanisms of auxin-mediated root development in rice

单向箭头表示箭尾的因子对箭头的因子有促进作用,双向箭头表示箭头两端的因子间存在相互作用,“T”形线表示尖头端的因子对平头端的因子有抑制作用,虚线表示具体机制尚不清晰的调控途径。ABCB: ATP-binding cassette B, ATP结合盒家族B亚族; ARF: auxin response factor, 生长素应答因子; Aux/IAA: auxin/indole-3-acetic acid transcriptional repressor, 生长素/吲哚乙酸转录抑制因子; AUX/LAX: auxin1/like Aux1, 生长素输入载体; FPFL: flowering-promoting factor, 水稻开花促进因子; GNOM: guanine nucleotide exchange factor for ADP ribosylation factor, ADP核糖基化因子的鸟苷酸交换因子; LRT: lateral rootless, “无侧根”基因编码蛋白; miRNA: microRNA, 微小RNA; MPK: mitogen-activated protein kinase, 促有丝分裂原活化蛋白激酶; NAR: nitrate assimilation related family, 硝酸盐同化相关蛋白家族; NIT: nitrilase, 腈水解酶; PIN: pin-formed, 生长素输出载体“针形”蛋白; RPK: receptor protein kinase, 受体蛋白激酶; SAUR: small auxin up RNA, 生长素上调小RNA; SCF: SKP-cullin-F box, SKP-cullin-F box蛋白复合物; SOR: soil-surface rooting, “土壤表面生根”基因编码蛋白; TIR1/AFB: transport inhibitor response1/auxin signaling F-box protein, 运输抑制剂响应蛋白/生长素信号转导F-box蛋白; WOX: WUSCHEL-related homeobox, WUSCHEL相关同源盒。

赖性途径是生长素合成的主要途径,包括吲哚丙酮酸(indole-3-pyruvic acid, IPyA)途径、吲哚乙醛肟(indole-3-acetaldoxime, IAOx)途径、吲哚乙酰胺(indole-3-acetamide, IAM)途径和色胺(tryptamine, TAM)途径等(Olatunji等2017)。这些途径中,最为重要且研究得较为清晰的是IPyA途径。

IPyA途径是由色氨酸氨基转移酶TAA1 (tryptophan aminotransferase of *Arabidopsis*1)、TAR (tryptophan aminotransferases), 以及黄素单加氧酶YUCCA (YUC家族)催化的两步反应过程(TAA-YUC途径)完成的: 第一步, 色氨酸氨基转移酶催化色氨酸转变为IPyA; 第二步, YUCCA催化IPyA不可逆地生成IAA。植物体内生长素水平受到TAA-YUC途径中关键酶的调控。近期研究发现, 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中TAA1的101位苏氨

酸(T101)的磷酸化状态可作为调控TAA1依赖的生长素生物合成的开关, 同时也是调控根分生组织大小和根毛发育所必需的(Wang等2020a)。水稻中的研究表明, 编码TAA同源蛋白的“鱼骨”基因(*fish bone*, *FIB*)对于IAA的生物合成起到重要的作用, 其功能的丧失会导致水稻内源IAA水平降低、维管束和根系发育异常等多种表型(Yoshikawa等2014)。YUCCA是生长素合成TAA-YUC途径中的关键限速酶, 其催化的生长素合成反应是一种器官(组织)特异的反应(Zhao 2018)。YUCCA主要在植物分生组织、各类原基和幼嫩的器官中表达, 即与主要的生长素生物合成部位相对应。水稻中存在14个YUCCA同源基因。不同YUCCA基因成员的时空动态表达精确地调控植物各部位生长素的生物合成, 这有助于植株生长发育和适应环境(Zhang等

2018b)。例如*OsYUCCA1*的表达被严格限制在一些离散的区域,如叶尖和根尖等。并且*OsYUCCA1*过表达会引起其所在表达部位(如根尖)生长素含量升高,进而促进不定根的数目增加,却抑制根的伸长(Yamamoto等2007)。

1.2 生长素运输相关基因对水稻根系构建的影响

植物中的生长素主要在胚芽鞘尖端、胚和幼叶等部位中合成,而根系等迅速生长的器官中却含有大量的生长素,以至于被称为“生长素池”,这揭示了生长素从合成部位到作用部位之间进行高效运输的重要性。

植物中生长素的运输根据距离的远近可分为长距离运输和短距离运输。生长素的长距离运输是依赖韧皮部的从茎端至根部的快速运输方式,又被称为非极性运输(nonpolar transport),其运输方向主要取决于两端有机物浓度差等因素。通过长距离运输,生长素可以在较短时间内分布至整株植物。生长素的短距离运输则是细胞间的单向极性运输(polar transport),这是生长素特有的一种通过消耗能量进行的逆浓度梯度且不依赖重力的慢速运输方式。这种局部的细胞间的定向运输维持着植物各部位的生长素浓度梯度,对植物的发育及形态建成起到重要作用(Petrášek和Friml 2009)。如在植物根部存在着两种不同方向的生长素极性运输,在根表皮中主要为从根尖向根基的向基运输,而在维管束中则为从根基向根尖的向顶运输,从而形成生长素在植物根部的环路来调控根系的生长和发育(Petrášek和Friml 2009)。

化学渗透偶联学说认为:生长素的极性运输由细胞膜两侧的质子势差(主要为pH和电势差)驱动,同时需要载体的介导(Raven 1975)。生长素进入细胞称为生长素内流(auxin influx),而从细胞中流出称为生长素外流(auxin efflux)。因此,生长素的极性运输是由输入和输出载体协同介导的。

在生长素内流中,IAA可以通过两种不同方式进入植物细胞:一种是质子化的吲哚乙酸(protonated form of indole acetic acid, IAAH)被动扩散穿过质膜进入细胞,另一种是去质子化的吲哚乙酸阴离子(anionic form of indole acetic acid, IAA⁻)由输入载体介导的主动运输进入细胞。对于这两种

生长素内流方式,其运输形式和运输速率都受到膜外pH值的影响(Yang等2006)。细胞外侧通常是中性偏酸条件,而生长素是弱酸[酸度系数(pK_a) 4.75],因此,只有少部分(15%左右)生长素以非解离型的IAAH存在,能以被动扩散的方式进入细胞;而大部分(85%左右)生长素是以解离型的IAA⁻存在,须以主动运输的方式进入细胞(Swarup和Péret 2012)。主动运输需要输入载体的介导。作为主要的生长素输入载体,AUX/LAX (auxin1/like Aux1)参与了生长素介导的植物发育过程的调控,例如AUX1和LAX3对于水稻侧根的发育具有重要作用(Zhao等2015a; Swarup和Bhosale 2019)。

生长素的外流则需要通过定位在细胞膜上的输出载体进行。生长素的输出载体由调节亚基和催化亚基两种多肽组成(倪为民等2000)。调节亚基主要为生长素极性运输抑制剂*N*-1-萘甲酰苯甲酸萘酯(*N*-1-naphthylphthalamic acid, NPA)结合蛋白,可通过与NPA结合阻碍生长素的运输。如对水稻外源施用NPA不仅会抑制生长素的极性运输,还会延迟不定根原基出现,并抑制根系发育(Lin和Sauter 2019)。催化亚基“针形”(pin-formed, PIN)蛋白负责生长素的外流。全长的PIN蛋白在膜上的定位受到囊泡运输的调控(Geldner等2001),而正是PIN蛋白在细胞膜上非对称式分布决定了生长素的极性运输,进而建立了生长素的梯度分布(Tanaka等2006)。水稻基因组中含有12个编码输出载体PIN的基因(Wu和Cheng 2014)。例如*Os-PIN1*在根原基和维管组织中表达,直接决定了生长素的极性运输,并对于依赖生长素的不定根发生具有重要作用(Xu等2005)。OsPIN2则可介导水稻根尖的生长素极性转运,进而参与水稻根系的构建和重力响应(Wang等2017)。

一些生长素输出载体PIN的调节因子通过调控生长素极性运输影响生长素参与构建水稻根系。例如ADP核糖基化因子的鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor for ADP ribosylation factor1, OsGNOM1)功能缺失影响PIN2、PIN5b和PIN9等生长素输出载体的表达,进而调节生长素的极性运输,其缺失突变体有不同程度的不定根形成缺陷(Liu等2009)。再如,受体蛋白激

酶(receptor protein kinase1, OsRPK1)是一种 Mn^{2+}/Mg^{2+} 依赖的丝氨酸/苏氨酸激酶, 过表达*OsRPK1*能降低*OsPIN*的表达, 从而影响生长素运输, 进而抑制水稻不定根和侧根的发育(Zou等2014)。另外, “窄叶”(narrow leaf, *NAL*)基因*NAL2*和*NAL3*是一对编码WUSCHEL相关同源盒(WUSCHEL-related homeobox3a, *OsWOX3A*)的重复基因, 其双突变也会抑制*OsPIN*基因表达, 影响侧根发育(Yoo等2013)。此外, 作为最大的一类生长素早期应答蛋白家族, 生长素上调小RNA (small auxin up RNA, SAUR)家族广泛参与植物生长发育的调控(Ren和Gray 2015)。水稻中有58个SAUR基因(包括两个假基因; Jain等2006): *OsSAUR39*是生长素合成和运输的负调控因子, 其过表达可抑制水稻根系的发育(Kant等2009); *OsSAUR45*编码蛋白可通过抑制水稻*OsYUCCA*和*OsPIN*基因的表达来影响生长素的合成和运输, 从而导致水稻株高降低和不定根减少(Xu等2017)。2020年初以来, 已有两项相关研究发表: 一是水稻开花促进因子(flowering-promoting factor1, FPF1)的类似蛋白OsFPFL4参与OsPIN介导的生长素极性运输和活性氧调节, 过表达*OsFPFL4*可使水稻根系积累较多生长素, 活性氧水平也显著升高, 进而导致水稻初生根变短, 侧根和不定根的数目增多(Guo等2020); 另一研究中, 水稻硝酸盐同化相关蛋白家族(nitrate assimilation related family, NAR)成员OsNAR2.1可以与腈水解酶(nitrilase, NIT) OsNIT1和OsNIT2相互作用, 由此改变生长素游离形式(活化型)与结合形式(钝化型)的比值, 同时参与PIN介导的生长素运输来调控水稻根系的生长(Song等2020)。此外, 拟南芥中的研究表明, 脯氨酸可能通过抑制生长素运输载体的表达, 影响生长素的正常流动, 从而打破生长素浓度梯度的维持, 最终抑制根的生长(王翠平等2017)。

植物中还存在着非极性的同时具有生长素输入和输出功能的载体——ABCB载体蛋白, 该蛋白属于ATP结合盒(ATP-binding cassette, ABC)家族的B亚族, 其稳定性比PIN蛋白高, 对生长素的基础转运起到重要作用(Cho和Cho 2013)。水稻基因组中推测有22个ABCB基因, 因其编码蛋白不太保守而被分为7个亚组(Chai和Subudhi 2016)。其中,

*OsABCB14*表达于除叶片外的所有水稻器官, 其编码蛋白可作为生长素的输入载体参与生长素的极性运输, 同时参与维持植物体内铁平衡(Chai和Subudhi 2016)。此外, 拟南芥中的研究表明, ABCB和PIN之间可能存在相互作用, 两者共表达时生长素的运输效率和特异性都有所提高(Geisler等2017)。

1.3 生长素信号转导途径对水稻根系构建的影响

生长素对植物生长发育的调控主要是通过生长素的信号转导来发挥作用的。生长素信号转导机制的核心成员由作为生长素共受体的运输抑制剂响应蛋白/生长素信号转导F-box蛋白(transport inhibitor response1/auxin signaling F-box protein, TIR1/AFB)、生长素/吲哚乙酸转录抑制因子(auxin/indole-3-acetic acid transcriptional repressor, Aux/IAA)和生长素应答因子(auxin response factor, ARF)三个蛋白家族共同构成(Lavy和Estelle 2016)。生长素可通过促进TIR1/AFB和Aux/IAA蛋白间的相互作用, 导致Aux/IAA的降解和ARF抑制的解除, 进而激活生长素应答基因的转录表达。生长素信号转导系统各成员的不同组合、转录调控复合物的形成、翻译后修饰以及核心信号成员与其他信号通路因子的相互作用共同构成了生长素应答的多样性和特异性(Lavy和Estelle 2016)。

1.3.1 生长素共受体

Ruegger等(1998)从拟南芥中分离获得了TIR1蛋白, 其后被证明是一种生长素受体(Dharmasiri等2005)。TIR1是E3泛素连接酶复合体SKP-Cullin-F box (SCF^{TIR1/AFB})的组分, 可与AFB一起构成瞬时的生长素共受体TIR1/AFB。感知到生长素后, 该共受体与Aux/IAA结合后形成复合物SCF^{TIR1/AFB}-Aux/IAA, 进而导致泛素介导的Aux/IAA降解, 从而解除基于ARF的转录抑制, 调控生长素应答基因的转录表达(Wang等2018)。

作为生长素共受体, TIR1/AFB对生长素介导的植物生长过程起到重要作用。拟南芥中的研究表明, TIR1和AFB2通过影响生长素信号转导, 直接调控侧根的起始(Lakehal等2019)。因为所有的拟南芥中公认的生长素信号转导组分在水稻中都能找到同源蛋白, 所以生长素的信号转导路径在两物种间可能是非常保守的(Wang等2018)。现已

有研究表明, 作为miRNA393a的靶基因, *OsTIR1*和*OsAFB2*编码的蛋白可通过与*OsIAA1*的互作来调控水稻不定根和侧根的生长过程(Bian等2012)。

1.3.2 生长素/吲哚乙酸转录抑制因子

*Aux/IAA*属于生长素早期应答基因, 在生长素信号转导中起核心作用(Rouse等1998)。*Aux/IAA*编码一类半衰期较短的核蛋白。这类核蛋白含有4个保守结构域(I~IV), 结构域I与生长素应答因子ARF相互作用, 介导转录抑制(Rouse等1998)。结构域II与TIR1结合, 并具有泛素化的作用位点, 参与*Aux/IAA*蛋白的降解。结构域III和IV参与构成*Aux/IAA*蛋白间的同源二聚体, 或与同样具有结构域III和IV的ARF蛋白构成异源二聚体, 从而调控ARF的活性状态(Gray等2001)。*Aux/IAA*家族蛋白可与ARF家族蛋白形成多种形式的二聚体, 从而以不同方式调节基因的表达(Luo等2018)。在低浓度生长素条件下, *Aux/IAA*蛋白稳定性较高, 与ARF结合从而抑制生长素应答基因的表达; 而在高浓度生长素水平时, 生长素受体TIR1与*Aux/IAA*的结合能力提高, *Aux/IAA*脱离ARF后被泛素化降解, ARF解阻遏后调控生长素应答基因的表达(Chandler 2016)。

水稻基因组中有多种*Aux/IAA*基因参与根系的构建过程。例如*OsIAA1*受到生长素等多种植物激素诱导, 并且, 过表达*OsIAA1*会降低生长素处理对水稻根系伸长的抑制效应(Song等2009)。再如, *OsIAA11*和*OsIAA13*调控水稻侧根发育, 其突变体存在侧根发育缺陷, 但其他部分例如不定根的发育不受影响(Zhu等2012; Yamauchi等2019)。基于转录组测序(RNA sequencing, RNA-seq)的研究发现, 进化关系相邻的*OsIAA11*和*OsIAA13*基因表现出在根尖和侧根区独特的差异表达模式, 即*OsIAA11*和*OsIAA13*在侧根中均被激活表达, 而在根尖被抑制表达。虽然仍无法确定与*OsIAA11*和*OsIAA13*相互结合的*OsARF*成员, 但正是不同的ARF-*Aux/IAA*表达模式及其组合方式极大地拓展了生长素响应的多样性和复杂性(黄伊子等2020)。同时, *Aux/IAA*蛋白间也存在互作机制, 例如IAA33会和IAA5竞争结合ARF10/ARF16, 以解除IAA5介导的抑制效应, 进而调控根尖干细胞的稳态。并

且, 生长素还可通过促有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase14, MPK14)稳定缺乏TIR1结合域的IAA33蛋白, 且不影响IAA33基因表达(Lv等2019)。

一些*Aux/IAA*的调控蛋白(酶)也会影响水稻根系的构建。例如, 水稻“无侧根”(lateral rootless2, *LRT2*)基因编码一种亲环蛋白型脯氨酰异构酶。该酶催化*OsIAA11*的顺反异构化, 从而调节*OsIAA*的稳定性及其与TIR1的相互作用, 进而调控生长素信号转导过程。突变体*lrt2*表现为*OsIAA11*蛋白积累和侧根数目减少, 即*LRT2*作用于*OsIAA11*的上游, 对侧根发育起正向调控作用(Jing等2015)。再如, “土壤表面生根”(soil-surface rooting1, *SOR1*)基因编码一种环指E3泛素连接酶。该蛋白可分别与*OsIAA26*和*OsIAA9*相互作用: 当*SOR1*与*OsIAA26*互作时可介导其泛素化降解; 当*SOR1*与*OsIAA9*互作时, 却可通过抑制*SOR1*活性来保护*OsIAA26*蛋白不被降解。此过程中, 生长素通过促进SCF^{OsTIR1/AFB2}介导的*SOR1*辅助降解*OsIAA9*, 进而促进*SOR1*依赖的*OsIAA26*的降解。因此, *SOR1*-*OsIAA26*组合作用于*OsTIR1/AFB2*-*auxin*-*OsIAA9*信号转导通路的下游, 调控水稻幼苗根系的生长(Chen等2018)。此外, 一种MADS-box转录因子*OsMADS25*可以与*OsIAA14*启动子中的CArG-box结合从而抑制其转录。因而过表达*OsMADS25*可以促进水稻根系发育, 抑制*OsMADS25*表达则会缩短水稻种子根长度和减少侧根密度(Zhang等2018a)。

1.3.3 生长素应答因子

Ulmasov等(1997)发现了调控生长素应答基因表达的转录因子——ARF, 并且, ARF调控的基因表达可被*Aux/IAA*抑制。ARF蛋白N端有保守的DNA结合区(DNA binding domain, DBD), 能与生长素应答元件AuxRE (auxin response element)的TGTCTC序列特异性结合, 从而调节生长素应答基因表达的转录激活或抑制(Tiwari等2003)。ARF蛋白中部有非保守的转录激活区MR (middle region), 具有转录活化或抑制的功能。ARF蛋白的C端结构域(C-terminal domain, CTD)含有与*Aux/IAA*蛋白的结构域III和IV同源的结构域III和IV, 可介导

ARF间形成同源二聚体或者ARF和Aux/IAA形成异源二聚体。如Aux/IAA蛋白与ARF结合可以特异性地抑制生长素应答基因的转录。而若Aux/IAA被降解, ARF可形成活性同源二聚体从而调控生长素应答基因的转录表达(Tiwari等2003)。

陆生植物体内多种ARF可分为A~C三类, 其中生长素依赖性的A类ARF多被认为是生长素相关基因转录激活因子, 而B类和C类ARF通常是其抑制因子, 通过与A类ARF的拮抗作用抑制目标基因的表达(Mutte等2018)。这种作用模式可以对植物发育部位的生长素应答进行量化调控, 这很可能是复杂植物发育调控系统的基础(Kato等2020)。

水稻中有25个*OsARF*基因(Wang等2007)。一些ARF蛋白被发现对于水稻根系生长极为重要, 例如*OsARF12*调控水稻的根系发育, 维持植物体内磷的稳态和对铁的吸收(Qi等2012; Wang等2014)。

2 细胞分裂素参与水稻根系构建

作为主要在植物根部合成的植物激素, 细胞分裂素是植物根系发育调控中的另一类重要激素。细胞分裂素的代谢、运输和信号转导等途径相关基因也会影响水稻根系的构建(图2)。

2.1 细胞分裂素代谢相关基因对水稻根系构建的影响

水稻根系构建需要一定量的细胞分裂素, 但

细胞分裂素水平过高或过低都会影响水稻根系的发育。植物体内局部和瞬时的细胞分裂素的稳态主要通过其代谢过程来平衡, 即通过负责细胞分裂素合成的异戊烯基转移酶(isopentenyl transferase, IPT)蛋白家族、活化的细胞分裂素激活酶(lonely guy, LOG)蛋白家族, 以及降解的细胞分裂素氧化酶/脱氢酶(cytokinin oxidase/dehydrogenase, CKX)蛋白家族等来维持细胞分裂素的含量和活性(Ciesielska等2012)。

细胞分裂素是一类腺嘌呤的衍生物。其合成途径主要分为两种: 一种是从头合成途径, 主要合成反式玉米素型及异戊烯基腺嘌呤型的细胞分裂素; 另一种是tRNA的分解途径, 主要合成顺式玉米素型细胞分裂素。植物中大部分细胞分裂素是通过从头合成的途径产生的(Haberer和Kieber 2002)。在此合成途径中, IPT是最为重要的限速酶。IPT以异戊烯基焦磷酸和磷酸腺苷(ATP或ADP)为底物, 催化异戊烯基团转移到腺苷上生成异戊烯腺苷-5'-磷酸盐等物质, 这些物质再羟基化形成玉米素类的细胞分裂素(Mok和Mok 2001)。

细胞分裂素合成后需要激活才能产生作用。作为活化细胞分裂素的酶, LOG可直接将非活性的细胞分裂素核苷酸转化为具有生物活性的游离碱基形式, 并由此调控活性细胞分裂素的分布和浓度, 进而影响分生组织发育(Kyozuka 2007)。这

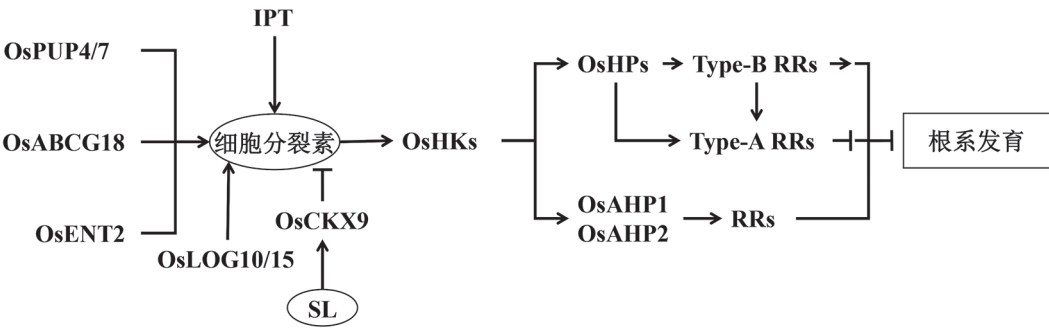


图2 细胞分裂素参与水稻根系发育的分子机制

Fig.2 Molecular mechanisms of cytokinin-mediated root development in rice

箭头表示箭尾的因子对箭头的因子有促进作用, “T”形线表示尖头端的因子对平头端的因子有抑制作用。ABCG: ATP-binding cassette G, ATP结合盒家族G亚族; AHP: authentic histidine phosphotransfer protein, 真组氨酸磷酸基团转移蛋白; CKX: cytokinin oxidase/dehydrogenase, 细胞分裂素氧化酶/脱氢酶; ENT: equilibrative nucleoside transporter, 平衡型核苷转运蛋白; HK: histidine kinase, 组氨酸蛋白激酶; HP: histidine phosphotransfer protein, 组氨酸磷酸转移蛋白; IPT: isopentenyl transferase, 异戊烯基转移酶; LOG: lonely guy, 细胞分裂素激活酶; PUP: purine permease, 嘌呤通透酶; RR: response regulator, 反应调节子; SL: strigolactone, 独脚金内酯。

些对于水稻等植物根系构建是极为重要的, 例如OsLOG10和OsLOGL5可通过调控细胞分裂素的活性来影响水稻根系伸长和侧根发育(Wang等2020b)。

植物体内细胞分裂素水平维持的另一重要途径是降解作用。在此过程中, CKX发挥了极为关键的作用。CKX可催化异戊烯基腺嘌呤、玉米素及其核糖核苷侧链不可逆地降解(Schmülling等2003), 从而调控植物器官中细胞分裂素水平, 进而参与根系等器官发育的调控。例如根特异表达的CKX可以精确调控细胞分裂素的代谢, 进而影响水稻对锌等无机离子的吸收及其产量(Gao等2019)。这一作用还受到独脚金内酯(strigolactone, SL)的调控。SL可以诱导水稻根部OsCKX9的表达, 从而下调细胞分裂素含量, 影响下游OsRR5表达, 进而调控水稻分蘖、株高和穗型等表型(Duan等2019)。

2.2 细胞分裂素运输相关基因对水稻根系构建的影响

由于细胞分裂素合成中编码重要限速酶的IPT的表达具有组织特异性, 细胞分裂素需要运输至其他部位来产生作用(Ma和Liu 2009)。例如反式玉米素型细胞分裂素主要在根系中合成, 经过木质部运输途径进入芽中, 从而调控植株地上部分的生长。与此相反, 异戊烯基腺嘌呤型细胞分裂素在芽中合成, 需通过韧皮部运输至根系, 进而影响植物根系发育(Liu等2019)。

本世纪以来, 细胞分裂素输入蛋白——嘌呤通透酶(purine permease, PUP)、平衡型核苷转运蛋白(equilibrative nucleoside transporter, ENT), 以及细胞分裂素输出蛋白——ATP结合转运蛋白G(ATP-binding cassette G, ABCG)等三类蛋白家族陆续被发现参与了细胞分裂素的运输(Liu等2019)。例如OsPUP7和OsPUP4是水稻中最同源的嘌呤通透酶, 两者都参与了细胞分裂素在细胞间的转运、长距离运输和局部分配(Qi和Xiong 2013; Xiao等2019)。其中, “大粒”(big grain3, BG3)基因编码的OsPUP4可能通过增强细胞分裂素装载入维管束来促进细胞分裂素的长距离运输, 并调控下游细胞分裂素信号应答, 进而影响水稻根系发育和籽粒大小等表型(Xiao等2019)。另外, ENT蛋白家族主

要在水稻根中表达, 负责转运嘌呤等底物。例如, 作为水稻ENT蛋白的主要类型, OsENT2在核苷型细胞分裂素的长距离转运中起作用(Hirose等2005)。再如, OsABCG负责细胞分裂素的输出, 其与参与生长素运输的ABCB亚家族在组成上基本类似, 但ABCG结构域的构成与ABCB互为反向型(Verrier等2008)。与OsABCBs功能类似, OsABCG也因调控细胞分裂素的运输而参与水稻根系构建的调控。例如OsABCG18执行细胞分裂素从根至芽的长距离转运, 其突变体幼苗根系发育受到明显抑制(Zhao等2019)。

2.3 细胞分裂素信号转导途径对水稻根系构建的影响

Kakimoto (1996)在拟南芥中发现一个编码组氨酸激酶类似物的非细胞分裂素依赖性蛋白CKI1(cytokinin-independent1), 可作为一个细胞分裂素受体参与其信号转导过程, 并由此推测: 植物中存在一种类似细菌双元组分信号转导系统的跨膜信号转导系统。该系统主要由两部分组成: 感受信号的组氨酸激酶感受器(sensor histidine kinase)和下游的反应调节子RR(response regulator)。组氨酸激酶感受器是膜结合蛋白, 有两个不同的结构域: 信号感受结构域和组氨酸激酶结构域。RR也具有两个不同结构域: 接受域和信号输出域。双元组分系统信号在植物体内转导的主要过程为: 信号感受结构域接受激素信号后, 会改变组氨酸激酶结构域中组氨酸激酶的活性并形成二聚体, 随后结构域中一个保守的组氨酸残基发生自身磷酸化而激活, 接着一种组氨酸磷酸转移蛋白(histidine phosphotransfer protein, HP)将该磷酸化基团转移到RR的一个天冬氨酸残基上, 磷酸化的天冬氨酸调节RR信号输出域的活性, 从而激活转录, 调控植物的发育(Hwang和Sheen 2001; Kieber和Schaller 2018)。双组份信号转导机制普遍存在于包括水稻在内的很多植物中(Tsai等2012)。

2.3.1 细胞分裂素受体组氨酸激酶

Inoue等(2001)发现了对细胞分裂素不敏感的cre1(cytokinin receptor1)突变体。CRE1是一种与CKI1结构上具有一定相似性的组氨酸蛋白激酶(histidine kinase, HK)类受体, 两者具有相似的功能

能,即CRE1也是一个细胞分裂素受体(Schmülling 2001)。CRE1等细胞分裂素受体都含有一个保守的环化酶/组氨酸激酶相关的胞外感知(cyclase/histidine kinase-associated sensing extracellular, CHASE)结构域,该结构域感知细胞分裂素后可以激活组氨酸激酶结构域,使得保守组氨酸残基发生自磷酸化并激活下游应答基因(Schmülling 2001)。这些受体结构相似,但是基因表达和配体偏好的差异使得其在植物体内产生了不同的作用(Stolz等2011)。

水稻中有6个组氨酸蛋白激酶(OsHK; Du等2007; Zhao等2020)。其中,OsHK4可识别反式玉米素和异戊烯基腺嘌呤,而OsHK6对异戊烯基腺嘌呤高度敏感;两者都能介导经典的双组分信号转导过程(Choi等2012; Ding等2017)。作为细胞分裂素的受体,组氨酸蛋白激酶HK参与了水稻根系发育调控。例如OsHK1可与乙烯受体相互作用协作调控水稻根系生长(Du等2007)。再如定位在内质网的OsHK6在细胞分裂素的感知和水稻根系构建中具有重要的作用(Ding等2017)。

2.3.2 组氨酸磷酸基团转移蛋白

在植物的双组份信号转导系统中,HP蛋白介导组氨酸激酶受体和反应调节子之间磷酸转移过程。在质膜上的受体HK感知细胞分裂素之后,其结构域中保守的组氨酸残基发生磷酸化,随后HP迅速将磷酸基团转移至自身组氨酸上,再转移到细胞核内的B型RR接受域内的天冬氨酸残基上,从而激活B型RR与A型RR基因的启动子结合,启动A型RR基因的转录。HP也可以直接磷酸化A型RR,进而启动细胞分裂素应答(Hutchison等2006; Kieber和Schaller 2018)。植物中HP大多是冗余的。HP可以正调控细胞分裂素信号转导,从而影响植物发育过程(Hutchison等2006)。拟南芥中的研究表明,HP对于根系发育是必要的,其缺失突变体会出现根系发育缩短、维管发育减少等多方面异常(Hutchison等2006)。

水稻中存在5个OsHP基因(Du等2007),其编码蛋白均参与了组氨酸激酶受体和反应调节子之间的磷酸转移过程,从而参与细胞分裂素的信号转导过程和调控植物发育。例如OsAHP1 (authentic histidine phosphotransfer protein1)和OsAHP2作

为细胞分裂素信号通路的正调节因子,可调控水稻的逆境响应和根系发育,两基因干扰表达能提高水稻幼苗忍耐渗透胁迫的能力并促进侧根的生长(Sun等2014)。

2.3.3 反应调节子

RR基因与双元组分系统反应调节子的接受域同源性较高,是组氨酸激酶感受器的下游靶蛋白。在植物中,细胞分裂素信号转导的双元组分系统中反应调节子分为两种类型:细胞分裂素诱导的A型(type-A) RR和DNA结合的B型(type-B) RR (Hwang和Sheen 2001)。受体识别细胞分裂素后,通过HP进行磷酸基团转移,A型RR与B型RR参与竞争磷酸化反应,磷酸化的A型RR与各种效应器因子相互作用,介导细胞分裂素反应(To等2007)。同时,A型RR之间存在功能重叠,在一定程度上可以负反馈调节细胞分裂素信号(To等2004);而B型RR是细胞分裂素的正调控因子,介导细胞分裂素作用产物和A型RR转录的调控(To等2007)。例如OsRR22可以与上调细胞分裂素应答的基因结合,进而促进细胞分裂素信号转导(Raines等2016)。

水稻中存在15个A型RR基因(*OsRR1~15*)和7个B型RR基因(*OsRR16~22*) (Du等2007)。RR对于根系发育极为重要,例如作为细胞分裂素信号负调控因子的OsRR6可维持水稻内源细胞分裂素的水平,过度表达会导致根系生长受损(Hirose等2007)。

3 生长素和细胞分裂素协作参与水稻根系构建

生长素在植物根系构建过程中起主导作用,而细胞分裂素是必要的抑制因子。在激素诱导的根器官发生过程中,生长素和细胞分裂素之间的平衡是细胞命运的主要决定因素(Lakehal和Bellini 2019)。例如,水稻中编码植物特异的NAC (NAM/ATAF/CUC)转录因子的*OsNAC2*可直接与生长素失活相关基因*GH3.6*和*GH3.8*、生长素信号转导相关基因*OsARF25*以及细胞分裂素氧化酶基因*Os-CKX4*的启动子结合,即OsNAC2作用于OsCKX4和OsGH3.6的上游。并且,*OsNAC2*过表达下调“无不定根”(crown rootless, CRL)基因和细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent protein kinase,

CDK)基因的表达。因此, *OsNAC2*基因可以整合生长素和细胞分裂素途径, 调控水稻根系的发育(Mao等2020)。另外, 生长素信号相关的*OsARF16*基因也参与整合生长素和细胞分裂素途径。*OsARF16*可以负调控细胞分裂素对磷摄取和磷信号的影响, 其突变体中细胞分裂素信号受到明显抑制。这一作用可能是通过*OsARF16*对生长素载体基因表达的调控来产生的, 但其具体机制目前尚不清晰(Shen等2014)。因此, 生长素和细胞分裂素可协作调控水稻根系(侧根和不定根)的发育。

3.1 生长素与细胞分裂素协作参与水稻侧根的发育

生长素和细胞分裂素的相互作用调控了包括侧根发育在内的多个植物发育过程(图3)。在以生长素为中心的植物侧根的发育调控过程中, 生长素通过各类合成及运输基因的表达调控以及多种信号元件组合, 直接参与并调控植物的侧根发育(Teixeira和ten Tusscher 2019)。细胞分裂素会抑制植物侧根的形成, 其既能直接作用于侧根起始或发育相关的细胞, 抑制或破坏这些细胞的分裂或

分化(Jing和Strader 2019), 又能通过阻碍根原基细胞由G₂期至M期的转变从而抑制侧根的启动, 但同时也刺激G₁期向S期转变而促进侧根的延伸(Li等2006)。外源生长素处理可以抵消细胞分裂素对于侧根起始和伸长的影响, 表明细胞分裂素通过生长素依赖途径作用于侧根的延伸(Debi等2005)。

生长素影响细胞分裂素的生物合成和降解过程, 从而调控侧根发育。“短下胚轴”(short hypocotyl2, *SHY2*)基因会提高细胞分裂素合成相关基因*IPT5*的表达, 生长素通过促进*SHY2*蛋白降解抑制细胞分裂素的合成(Ioio等2008), 并调控*CKX*基因的表达从而影响细胞分裂素的降解(Werner等2006)。但与此同时, 植物体内细胞分裂素含量降低也会影响生长素合成, 进而降低其含量(Jones等2010)。进一步的研究发现, 随着细胞分裂素水平下降, 生长素通过合成及运输使自身水平不断上升, 进而阶段性地影响侧根发生直至完成发育(Teixeira和ten Tusscher 2019)。这表明细胞分裂素对于生长素促进侧根发育是必须的, 植物会维持自身适当的激素浓度比例以适应根系发育。

细胞分裂素对于生长素引起的侧根发生起到抑制作用。外源施加细胞分裂素会增强PIN在特定极性区域的消耗, 同时抑制PIN的表达, 进而抑制生长素运输至侧根原基, 从而抑制侧根形成(Marhavý等2014)。同时细胞分裂素会促进*SHY2*的表达。*SHY2*蛋白参与抑制PIN的表达, 并介导编码Aux/IAA蛋白, 进而抑制侧根和根尖分生组织发育, 而生长素通过参与降解*SHY2*蛋白拮抗作用于这一效应(Ioio等2008)。

综上所述, 生长素和细胞分裂素拮抗调控水稻侧根发育。

3.2 生长素与细胞分裂素协作参与水稻不定根的发育

生长素与细胞分裂素协作调控不定根的发育与侧根类似。生长素能诱导形成层位点和启动早期分裂, 促进不定根原基发生(Blakesley和Chaldecott 1993)。提高生长素水平或者外施生长素能够促进植物不定根的形成。细胞分裂素同样调控水稻不定根的发育, 并能与生长素相互拮抗(Meng等2019), 共同调控水稻不定根发育(图4)。

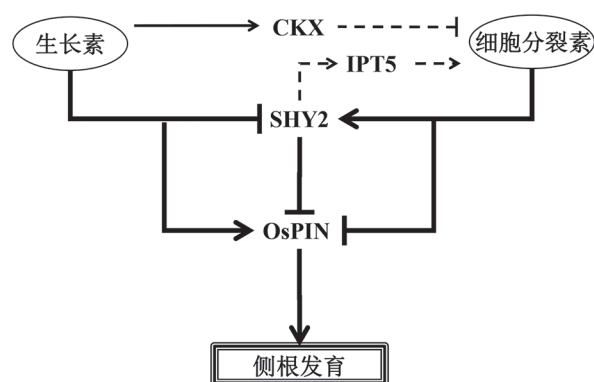


图3 生长素和细胞分裂素协作参与水稻侧根发育

Fig.3 Auxin-cytokinin interactions in lateral root development of rice

箭头表示箭尾的因子对箭头的因子有促进作用, “T”形线表示尖头端的因子对平头端的因子有抑制作用, 细实线表示生长素对水稻根系发育的影响途径, 虚线表示细胞分裂素对水稻根系发育的影响途径, 粗实线表示生长素和细胞分裂素协同途径。在协同途径(PIN路径和SHY2路径)中, 两种激素通过拮抗调控SHY2的表达, 直接或间接介导PIN的表达, 影响生长素的极性运输进而调控侧根发育。CKX: cytokinin oxidase/dehydrogenase, 细胞分裂素氧化酶/脱氢酶; IPT: isopentenyl transferase, 异戊烯基转移酶; PIN: pin-formed, 生长素输出载体“针形”蛋白; SHY: short hypocotyl, “短下胚轴”基因。

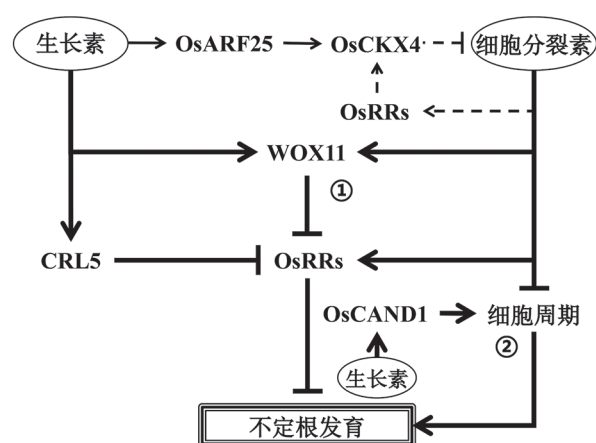


图4 生长素和细胞分裂素协作参与水稻不定根发育

Fig.4 Auxin–cytokinin interactions in crown root development of rice

箭头表示箭尾的因子对箭头的因子有促进作用,“T”形线表示尖头端的因子对平头端的因子有抑制作用,细实线表示生长素对水稻根系发育的影响途径,虚线表示细胞分裂素对水稻根系发育的影响途径,粗实线表示生长素和细胞分裂素协同途径。其中,①为WOX11途径,两种激素拮抗调控WOX11的表达,通过WOX11抑制RR表达调控不定根发育;②表示细胞分裂素途径,两种激素通过拮抗调控细胞分裂进而调控不定根发育。ARF: auxin response factor, 生长素应答因子; CAND: cullin-associated and neddylation-dissociated, 类泛素化修饰相关重组蛋白; CKX: cytokinin oxidase/dehydrogenase, 细胞分裂素氧化酶/脱氢酶; CRL: crown rootless, “无不定根”基因; RR: response regulator, 反应调节子; WOX: WUSCHEL-related homeobox, WUSCHEL相关同源盒。

生长素信号通路直接参与不定根的形成。生长素信号通路中*OsCAND1* (*cullin-associated and neddylation-dissociated1*)基因参与调节水稻不定根分生组织细胞G₂/M期细胞的周期转变,进而促进不定根的发生(Wang等2011)。而细胞分裂素可以通过抑制根分生组织细胞分裂周期,进而抑制不定根的发生(Kuroha等2006)。外源生长素诱导编码APETALA2/乙烯响应因子(APETALA2/ethylene responsive factor, AP2/ERF)的转录因子*OsCRL5*在不定根发生的茎部表达。*CRL5*通过抑制*OsRR1*基因的表达,整合生长素和细胞分裂素信号,从而正向调节不定根的发生(Kitomi等2011)。

*OsCKX4*通过整合细胞分裂素与生长素的相互作用而介导不定根的发育。生长素应答因子*OsARF25*和*OsRR2*可以与*OsRR3*直接结合并启动*OsCKX4*的转录表达,*OsCKX4*蛋白不可逆地降解

细胞分裂素以减少根中细胞分裂素的含量,进而抑制细胞分裂素对不定根形成的负调控作用,从而促进不定根的生成(Gao等2014)。

此外,一些水稻根系表达基因参与了生长素和细胞分裂素互作对不定根发育的调控。例如水稻根系存在一种属于WOX基因家族的细胞分裂素应答的基因*OsWOX11*。*OsWOX11*在根尖分生组织和根原基发生早期表达,参与不定根分生组织的形成和维持,从而增加不定根的数目。生长素和细胞分裂素均可诱导*OsWOX11*表达,特别是生长素可通过TAA/YUC途径促进合成生长素,进而诱导*OsWOX11*表达(Zhang等2018b),其表达产物则可通过结合*OsRR2*的启动子而抑制*OsRR2*的表达(Zhao等2009)。*OsERF3*与*OsWOX11*功能类似,两者协同作用,共同调控细胞分裂素响应,促进水稻不定根的发生(Zhao等2015b)。

4 小结与展望

生长素和细胞分裂素是调控水稻根系发育的两类最为重要的激素。在两者复杂的调控网络中,生长素发挥着主要作用,而细胞分裂素通过影响生长素参与调节(Saini等2013)。生长素和细胞分裂素协作调控构建植物根系主要是通过调控两种激素的合成、运输和信号转导途径而进行的。

生长素对侧根形成发挥主要作用(Debi等2005; Teixeira和ten Tusscher 2019)。生长素极性运输相关基因可影响侧根发育(Zhao等2015a; Wang等2017; Swarup和Bhosale 2019),细胞分裂素通过影响生长素输出载体PIN进而介导侧根形成(Ioio等2008; Marhavý等2014)。细胞分裂素还会诱导*SHY2*的表达,从而影响生长素信号转导,进而调控侧根发育;生长素则通过参与降解SHY2蛋白拮抗作用于这一效应(Ioio等2008),并通过调控*CKX*表达,解除细胞分裂素的抑制作用(Werner等2006)。因此,两种激素相互协作,共同调控侧根的发育。

生长素能促进不定根的发育(Yamamoto等2007; Jones等2010)。而细胞分裂素与生长素相互拮抗,共同调控水稻不定根的发育(Zhao等2009; Meng等2019)。细胞分裂素还可抑制根分生组织细胞分裂周期,进而抑制不定根发育(Kuroha等2006);生

长素信号则会促进细胞分裂周期的转变(Wang等2011), 并通过介导细胞分裂素信号转导解除抑制作用(Kitomi等2011)。此外, 生长素和细胞分裂素均可诱导*OsWOX11*表达(Zhang等2018b), 其表达产物影响细胞分裂素信号转导, 与功能类似的*Os-ERF3*协同调控细胞分裂素反应, 影响水稻不定根的发育(Zhao等2009, 2015b)。

生长素和细胞分裂素是以一种极其复杂而又高度严谨的调节网络协作调控水稻根系发育的。近年来生长素和细胞分裂素协同调控植物发育机理的大致框架已构建完成, 具体细节逐渐得到完善, 但有部分内容仍不清晰。例如: 生长素载体蛋白间的互作机理, 以及这种蛋白互作对生长素运输效率影响的具体机制; 细胞分裂素运输载体之间是否也存在类似的互作效应, 以及生长素和细胞分裂素与其他激素之间是否存在功能上的协同或拮抗作用。这些问题都有待于进一步地探究。

参考文献(References)

- Bian H, Xie Y, Guo F, et al (2012). Distinctive expression patterns and roles of the miRNA393/TIR1 homolog module in regulating flag leaf inclination and primary and crown root growth in rice (*Oryza sativa*). *New Phytol*, 196: 149–161
- Blakesley D, Chaldecott MA (1993). The role of endogenous auxin in root initiation. Part II. Sensitivity, and evidence from studies on transgenic plant tissues. *Plant Growth Regul*, 13: 77–84
- Calleja-Cabrera J, Boter M, Oñate-Sánchez L, et al (2020). Root growth adaptation to climate change in crops. *Front Plant Sci*, 11: 544
- Chai CL, Subudhi PK (2016). Comprehensive analysis and expression profiling of the *OsLAX* and *OsABCB* auxin transporter gene families in rice (*Oryza sativa*) under phytohormone stimuli and abiotic stresses. *Front Plant Sci*, 7: 593
- Chandler JW (2016). Auxin response factors. *Plant Cell Environ*, 39 (5): 1014–1028
- Chen H, Ma B, Zhou Y, et al (2018). E3 ubiquitin ligase SOR1 regulates ethylene response in rice root by modulating stability of Aux/IAA protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115 (17): 4513–4518
- Cho M, Cho HT (2013). The function of ABCB transporters in auxin transport. *Plant Signal Behav*, 8 (2): e22990
- Choi J, Lee J, Kim K, et al (2012). Functional identification of *OsHk6* as a homotypic cytokinin receptor in rice with preferential affinity for iP. *Plant Cell Physiol*, 53 (7): 1334–1343
- Ciesielska A, Ruszkowski M, Kasperska A, et al (2012). New insights into the signaling and function of cytokinins in higher plants. *BioTechnologia*, 93 (4): 400–413
- Debi BR, Taketa S, Ichii M (2005). Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (*Oryza sativa*). *J Plant Physiol*, 162 (5): 507–515
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M (2005). The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435 (7041): 441–445
- Ding W, Tong H, Zheng W, et al (2017). Isolation, characterization and transcriptome analysis of a cytokinin receptor mutant *Osc1* in rice. *Front Plant Sci*, 8: 88
- Du L, Jiao F, Chu J, et al (2007). The two-component signal system in rice (*Oryza sativa* L.): a genome-wide study of cytokinin signal perception and transduction. *Genomics*, 89 (6): 697–707
- Duan J, Yu H, Yuan K, et al (2019). Strigolactone promotes cytokinin degradation through transcriptional activation of *CYTOKININ OXIDASE/DEHYDROGENASE 9* in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116 (28): 14319–14324
- Gao S, Fang J, Xu F, et al (2014). *CYTOKININ OXIDASE/DEHYDROGENASE4* integrates cytokinin and auxin signaling to control rice crown root formation. *Plant Physiol*, 165 (3): 1035–1046
- Gao S, Xiao Y, Xu F, et al (2019). Cytokinin-dependent regulatory module underlies the maintenance of zinc nutrition in rice. *New Phytol*, 224: 202–215
- Geisler M, Aryal B, di Donato M, et al (2017). A critical view on ABC transporters and their interacting partners in auxin transport. *Plant Cell Physiol*, 58 (10): 1601–1614
- Geldner N, Friml J, Stierhof YD, et al (2001). Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature*, 413: 425–428
- Gray WM, Kepinski S, Rouse D, et al (2001). Auxin regulates SCF^{TIR1}-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature*, 414 (6861): 271–276
- Guo Y, Wu Q, Xie Z, et al (2020). *OsFPFL4* is involved in the root and flower development by affecting auxin levels and ROS accumulation in rice (*Oryza sativa*). *Rice*, 13: 2
- Haberer G, Kieber JJ (2002). Cytokinins. New insights into a classic phytohormone. *Plant Physiol*, 128 (2): 354–362
- Hirose N, Makita N, Kojima M, et al (2007). Overexpression of a type-A response regulator alters rice morphology and cytokinin metabolism. *Plant Cell Physiol*, 48 (3): 523–539
- Hirose N, Makita N, Yamaya T, et al (2005). Functional characterization and expression analysis of a gene, *OsENT2*,

- encoding an equilibrative nucleoside transporter in rice suggest a function in cytokinin transport. *Plant Physiol*, 138 (1): 196–206
- Hochholdinger F, Park WJ, Sauer M, et al (2004). From weeds to crops: genetic analysis of root development in cereals. *Trends Plant Sci*, 9 (1): 42–48
- Huang YZ, Guo F, Han N, et al (2020). RNA-seq-based differential expression analysis of auxin-related genes during callus induction derived from root tip and lateral root region in rice (*Oryza sativa*). *Plant Physiol J*, 56 (8): 1745–1755 (in Chinese with English abstract) [黄伊子, 郭芾, 韩凝等(2020). 基于RNA-seq的水稻根尖和侧根区愈伤组织诱导中生长素相关基因差异表达分析. *植物生理学报*, 56 (8): 1745–1755]
- Hutchison CE, Li J, Argueso C, et al (2006). The *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins are redundant positive regulators of cytokinin signaling. *Plant Cell*, 18 (11): 3073–3087
- Hwang I, Sheen J (2001). Two-component circuitry in *Arabidopsis* cytokinin signal transduction. *Nature*, 413 (6854): 383–389
- Inoue T, Higuchi M, Hashimoto Y, et al (2001). Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from *Arabidopsis*. *Nature*, 409 (6823): 1060–1063
- Ioio RD, Nakamura K, Moubayidin L, et al (2008). A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science*, 322 (5906): 1380–1384
- Jain M, Tyagi AK, Khurana JP (2006). Genome-wide analysis, evolutionary expansion, and expression of early auxin-responsive *SAUR* gene family in rice (*Oryza sativa*). *Genomics*, 88: 360–371
- Jing H, Yang X, Zhang J, et al (2015). Peptidyl-prolyl isomerization targets rice Aux/IAAs for proteasomal degradation during auxin signaling. *Nat Commun*, 6: 7395
- Jing HW, Strader LC (2019). Interplay of auxin and cytokinin in lateral root development. *Int J Mol Sci*, 20 (3): 486
- Jones B, Gunnerås SA, Petersson SV, et al (2010). Cytokinin regulation of auxin synthesis in *Arabidopsis* involves a homeostatic feedback loop regulated via auxin and cytokinin signal transduction. *Plant Cell*, 22 (9): 2956–2969
- Kakimoto T (1996). CKI1, A histidine kinase homolog implicated in cytokinin signal transduction. *Science*, 274 (5289): 982–985
- Kant S, Bi YM, Zhu T, et al (2009). *SAUR39*, a small auxin-up RNA gene, acts as a negative regulator of auxin synthesis and transport in rice. *Plant Physiol*, 151 (2): 691–701
- Kato H, Mutte SK, Suzuki H, et al (2020). Design principles of a minimal auxin response system. *Nat Plants*, 6: 473–482
- Kawabata S (1984). Rice Root. Shen TX, Liu ZJ, Peng WY, trans. Beijing: Agriculture Press, 1–18 (in Chinese) [川田信一郎(1984). 水稻的根系. 申廷秀, 刘执钧, 彭望瑗, 译. 北京: 农业出版社, 1–18]
- Kieber JJ, Schaller GE (2018). Cytokinin signaling in plant development. *Development*, 145 (4): dev149344
- Kitomi Y, Ito H, Hobo T, et al (2011). The auxin responsive AP2/ERF transcription factor *CROWN ROOTLESS5* is involved in crown root initiation in rice through the induction of *OsRR1*, a type-A response regulator of cytokinin signaling. *Plant J*, 67 (3): 472–484
- Kuroha T, Ueguchi C, Sakakibara H, et al (2006). Cytokinin receptors are required for normal development of auxin-transporting vascular tissues in the hypocotyl but not in adventitious roots. *Plant Cell Physiol*, 47 (2): 234–243
- Kyozuka J (2007). Control of shoot and root meristem function by cytokinin. *Curr Opin Plant Biol*, 10 (5): 442–446
- Lakehal A, Bellini C (2019). Control of adventitious root formation: insights into synergistic and antagonistic hormonal interactions. *Physiol Plantarum*, 165: 90–100
- Lakehal A, Chaabouni S, Cavel E, et al (2019). A molecular framework for the control of adventitious rooting by TIR1/AFB2-Aux/IAA-dependent auxin signaling in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 12 (11): 1499–1514
- Lavy M, Estelle M (2016). Mechanisms of auxin signaling. *Development*, 143 (18): 3226–3229
- Li X, Mo X, Shou H, et al (2006). Cytokinin-mediated cell cycling arrest of pericycle founder cells in lateral root initiation of *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 47 (8): 1112–1123
- Lin C, Sauter M (2019). Polar auxin transport determines adventitious root emergence and growth in rice. *Front Plant Sci*, 10: 444
- Liu CJ, Zhao Y, Zhang K (2019). Cytokinin transporters: multisite players in cytokinin homeostasis and signal distribution. *Front Plant Sci*, 10: 693
- Liu DT, Jing YP, Li DL, et al (2013). Research advances in plant lateral root development. *Plant Physiol J*, 49 (11): 1127–1137 (in Chinese with English abstract) [刘大同, 荆彦平, 李栋梁等(2013). 植物侧根发育的研究进展. *植物生理学报*, 49 (11): 1127–1137]
- Liu S, Wang J, Wang L, et al (2009). Adventitious root formation in rice requires OsGNOM1 and is mediated by the OsPINs family. *Cell Res*, 19: 1110–1119
- Luo J, Zhou JJ, Zhang JZ (2018). *Aux/IAA* gene family in plants: molecular structure, regulation, and function. *Int J Mol Sci*, 19: 259
- Lv B, Yu Q, Liu J, et al (2019). Non-canonical AUX/IAA protein IAA33 competes with canonical AUX/IAA repressor IAA5 to negatively regulate auxin signaling. *EMBO J*, 39

- (1): e101515
- Ma QH, Liu YC (2009). Expression of isopentenyl transferase gene (*ipt*) in leaf and stem delayed leaf senescence without affecting root growth. *Plant Cell Rep*, 28 (11): 1759–1765
- Mao C, He J, Liu L, et al (2020). OsNAC2 integrates auxin and cytokinin pathways to modulate rice root development. *Plant Biotechnol J*, 18 (2): 429–442
- Marhavý P, Duclercq J, Weller B, et al (2014). Cytokinin controls polarity of PIN1-dependent auxin transport during lateral root organogenesis. *Curr Biol*, 24 (9): 1031–1037
- Meng F, Xiang D, Zhu J, et al (2019). Molecular mechanisms of root development in rice. *Rice*, 12: 1
- Mok DW, Mok MC (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annu Rev Plant Biol*, 52: 89–118
- Mutte SK, Kato H, Rothfels C, et al (2018). Origin and evolution of the nuclear auxin response system. *eLife*, 7: e33399
- Ni WM, Chen XY, Xu ZH, et al (2000). Advances in study of polar auxin transport. *Acta Bot Sin*, 42 (3): 221–228 (in Chinese with English abstract) [倪为民, 陈晓亚, 许智宏等(2000). 生长素极性运输研究进展. *植物学报*, 42 (3): 221–228]
- Olatunji D, Geelen D, Verstraeten I (2017). Control of endogenous auxin levels in plant root development. *Int J Mol Sci*, 18 (12): 2587
- Petrásek J, Friml J (2009). Auxin transport routes in plant development. *Development*, 136 (16): 2675–2688
- Qi YH, Wang SK, Shen CJ, et al (2012). OsARF12, a transcription activator on auxin response gene, regulates root elongation and affects iron accumulation in rice (*Oryza sativa*). *New Phytol*, 193: 109–120
- Qi Z, Xiong L (2013). Characterization of a purine permease family gene *OsPUP7* involved in growth and development control in rice. *J Integr Plant Biol*, 55 (11): 1119–1135
- Raines T, Blakley IC, Tsai YC, et al (2016). Characterization of the cytokinin-responsive transcriptome in rice. *BMC Plant Biol*, 16: 260
- Raven JA (1975). Transport of indoleacetic acid in plant-cells in relation to pH and electrical potential gradients, and its significance for polar IAA transport. *New Phytol*, 74 (2): 163–172
- Ren H, Gray WM (2015). SAUR proteins as effectors of hormonal and environmental signals in plant growth. *Mol Plant*, 8: 1153–1164
- Rouse D, Mackay P, Stirnberg P, et al (1998). Changes in auxin response from mutations in an *AUX/IAA* gene. *Science*, 279 (5355): 1371–1373
- Ruegger M, Dewey E, Gray WM, et al (1998). The TIR1 protein of *Arabidopsis* functions in auxin response and is related to human SKP2 and yeast Grr1p. *Genes Dev*, 12 (2): 198–207
- Saini S, Sharma I, Kaur N, et al (2013). Auxin: a master regulator in plant root development. *Plant Cell Rep*, 32 (6): 741–757
- Schmülling T (2001). CREAM of cytokinin signalling: receptor identified. *Trends Plant Sci*, 6 (7): 281–284
- Schmülling T, Werner T, Riefler M, et al (2003). Structure and function of cytokinin oxidase/dehydrogenase genes of maize, rice, *Arabidopsis* and other species. *J Plant Res*, 116 (3): 241–252
- Shen C, Yue R, Yang Y, et al (2014). OsARF16 is involved in cytokinin-mediated inhibition of phosphate transport and phosphate signaling in rice (*Oryza sativa* L.). *PLOS One*, 9 (11): e112906
- Song M, Fan X, Chen J, et al (2020). OsNAR2.1 interaction with OsNIT1 and OsNIT2 functions in root-growth responses to nitrate and ammonium. *Plant Physiol*, 183 (1): 289–303
- Song Y, You J, Xiong L (2009). Characterization of *OsIAA1* gene, a member of rice Aux/IAA family involved in auxin and brassinosteroid hormone responses and plant morphogenesis. *Plant Mol Biol*, 70 (3): 297–309
- Stolz A, Riefler M, Lomin SN, et al (2011). The specificity of cytokinin signalling in *Arabidopsis thaliana* is mediated by differing ligand affinities and expression profiles of the receptors. *Plant J*, 67: 157–168
- Sun L, Zhang Q, Wu J, et al (2014). Two rice authentic histidine phosphotransfer proteins, OsAHP1 and OsAHP2, mediate cytokinin signaling and stress responses in rice. *Plant Physiol*, 165: 335–345
- Swarup R, Bhosale R (2019). Developmental roles of AUX1/LAX auxin influx carriers in plants. *Front Plant Sci*, 10: 1306
- Swarup R, Péret B (2012). AUX/LAX family of auxin influx carriers—an overview. *Front Plant Sci*, 3: 225
- Tanaka H, Dhonukshe P, Brewer PB, et al (2006). Spatio-temporal asymmetric auxin distribution: a means to coordinate plant development. *Cell Mol Life Sci*, 63 (23): 2738–2754
- Teixeira JAS, ten Tusscher KH (2019). The systems biology of lateral root formation: connecting the dots. *Mol Plant*, 12: 784–803
- Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle T (2003). The roles of auxin response factor domains in auxin-responsive transcription. *Plant Cell*, 15 (2): 533–543
- To JPC, Deruère J, Maxwell BB, et al (2007). Cytokinin regulates type-A *Arabidopsis* response regulator activity and protein stability via two-component phosphorelay. *Plant*

- Cell, 19 (12): 3901–3914
- To JPC, Haberer G, Ferreira FJ, et al (2004). Type-A *Arabidopsis* response regulators are partially redundant negative regulators of cytokinin signaling. *Plant Cell*, 16 (3): 658–671
- Tsai YC, Weir NR, Hill K, et al (2012). Characterization of genes involved in cytokinin signaling and metabolism from rice. *Plant Physiol*, 158 (4): 1666–1684
- Ulmasov T, Murfett J, Hagen G, et al (1997). Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell*, 9 (11): 1963–1971
- Verrier PJ, Bird D, Burla B, et al (2008). Plant ABC proteins – a unified nomenclature and updated inventory. *Trends Plant Sci*, 13 (4): 151–159
- Wang C, Wang G, Gao Y, et al (2020b). A cytokinin-activation enzyme-like gene improves grain yield under various field conditions in rice. *Plant Mol Biol*, 102: 373–388
- Wang CP, Chen JW, Qiao GX (2017). Proline inhibits plant root growth through signal of auxin pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol J*, 53 (8): 1428–1434 (in Chinese with English abstract) [王翠平, 陈建伟, 乔改霞 (2017). 脯氨酸通过影响生长素途径相关信号抑制拟南芥根的生长. *植物生理学报*, 53 (8): 1428–1434]
- Wang D, Pei K, Fu Y, et al (2007). Genome-wide analysis of the *auxin response factors* (ARF) gene family in rice (*Oryza sativa*). *Gene*, 394 (1–2): 13–24
- Wang L, Guo M, Li Y, et al (2017). *LARGE ROOT ANGLE1*, encoding OsPIN2, is involved in root system architecture in rice. *J Exp Bot*, 69 (3): 385–397
- Wang Q, Qin G, Cao M, et al (2020a). A phosphorylation-based switch controls TAA1-mediated auxin biosynthesis in plants. *Nat Commun*, 11: 679
- Wang SK, Zhang SN, Sun CD, et al (2014). Auxin response factor (OsARF12), a novel regulator for phosphate homeostasis in rice (*Oryza sativa*). *New Phytol*, 201: 91–103
- Wang XF, He FF, Ma XX, et al (2011). OsCAND1 is required for crown root emergence in rice. *Mol Plant*, 4 (2): 289–299
- Wang Y, Zhang T, Wang R, et al (2018). Recent advances in auxin research in rice and their implications for crop improvement. *J Exp Bot*, 69 (2): 255–263
- Werner T, Köllmer I, Bartrina I, et al (2006). New insights into the biology of cytokinin degradation. *Plant Biol*, 8 (3): 371–381
- Wu W, Cheng S (2014). Root genetic research, an opportunity and challenge to rice improvement. *Field Crops Res*, 165: 111–124
- Xiao Y, Liu D, Zhang G, et al (2019). *Big Grain3*, encoding a purine permease, regulates grain size via modulating cytokinin transport in rice. *J Integr Plant Biol*, 61 (5): 581–597
- Xu M, Zhu L, Shou H, et al (2005). A *PIN1* family gene, *OsPIN1*, involved in auxin-dependent adventitious root emergence and tillering in rice. *Plant Cell Physiol*, 46 (10): 1674–1681
- Xu YX, Xiao MZ, Liu Y, et al (2017). The small auxin-up RNA OsSAUR45 affects auxin synthesis and transport in rice. *Plant Mol Biol*, 94: 97–107
- Yamamoto Y, Kamiya N, Morinaka Y, et al (2007). Auxin biosynthesis by the *YUCCA* genes in rice. *Plant Physiol*, 143 (3): 1362–1371
- Yamauchi T, Tanaka A, Inahashi H, et al (2019). Fine control of aerenchyma and lateral root development through AUX/IAA- and ARF-dependent auxin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116 (41): 20770–20775
- Yang Y, Hammes UZ, Taylor CG, et al (2006). High-affinity auxin transport by the AUX1 influx carrier protein. *Curr Biol*, 16 (1160): 1123–1127
- Yoo SC, Cho SH, Paek NC (2013). Rice WUSCHEL-related homeobox 3A (OsWOX3A) modulates auxin-transport gene expression in lateral root and root hair development. *Plant Signal Behav*, 8 (10): e25929
- Yoshikawa T, Ito M, Sumikura T, et al (2014). The rice *FISH BONE* gene encodes a tryptophan aminotransferase, which affects pleiotropic auxin-related processes. *Plant J*, 78 (6): 927–936
- Zhang G, Xu N, Chen H, et al (2018a). *OsMADS25* regulates root system development via auxin signalling in rice. *Plant J*, 95: 1004–1022
- Zhang T, Li R, Xing J, et al (2018b). The YUCCA-Auxin-WOX11 module controls crown root development in rice. *Front Plant Sci*, 9: 523
- Zhao H, Duan KX, Ma B, et al (2020). Histidine kinase MHZ1/OsHK1 interacts with ethylene receptors to regulate root growth in rice. *Nat Commun*, 11: 518
- Zhao H, Ma T, Wang X, et al (2015a). OsAUX1 controls lateral root initiation in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Environ*, 38 (11): 2208–2222
- Zhao J, Yu N, Ju M, et al (2019). ABC transporter OsABCG18 controls the shootward transport of cytokinins and grain yield in rice. *J Exp Bot*, 70 (21): 6277–6291
- Zhao Y (2018). Essential roles of local auxin biosynthesis in plant development and in adaptation to environmental changes. *Annu Rev Plant Biol*, 69: 417–435
- Zhao Y, Cheng S, Song Y, et al (2015b). The interaction between rice ERF3 and WOX11 promotes crown root development by regulating gene expression involved in cytokinin signaling. *Plant Cell*, 27 (9): 2469–2483
- Zhao Y, Hu Y, Dai M, et al (2009). The WUSCHEL-related

- homeobox gene *WOX11* is required to activate shoot-borne crown root development in rice. *Plant Cell*, 21 (3): 736–748
- Zhu ZX, Liu Y, Liu SJ, et al (2012). A gain-of-function mutation in *OsIAA11* affects lateral root development in rice. *Mol Plant*, 5: 154–161
- Zou Y, Liu X, Wang Q, et al (2014). OsRPK1, a novel leucine-rich repeat receptor-like kinase, negatively regulates polar auxin transport and root development in rice. *BBA Gen Subjects*, 1840 (6): 1676–1685

Recent advances in auxin–cytokinin interactions involved in shaping architecture of rice root system

CHEN Kai¹, TANG Tang², ZHANG Dongping¹, CHEN Yun¹, LÜ Bing^{1,*}

¹Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-product Safety, Ministry of Education, College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China

²School of Life Science, Huaiyin Normal University, Huaian, Jiangsu 223300, China

Abstract: Plant root systems not only play important roles in anchoring the plant and absorbing water and nutrients, but also act as signal sources to regulate the growth and development of whole plant. For crops, such as rice (*Oryza sativa*), the development of roots affects rice production and stress resistance directly. The root architecture of rice is regulated by internal and external factors including phytohormones, among which, auxin and cytokinin are the most two important ones. This review focuses on the synthesis, transport and signal transduction of auxin and cytokinin, and their molecular mechanisms by which two hormones coordinate the architecture of rice roots (mainly adventitious roots and lateral roots).

Key words: auxin; cytokinin; hormone interaction; rice; root architecture

Received 2020-09-22 Accepted 2020-10-23

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31471574), Jiangsu Students Training Program of Innovation and Entrepreneurship (201911117099Y), and Jiangsu Key Laboratory for Eco-agricultural Biotechnology around Hongze Lake (HZHLAB1702).

*Corresponding author (lubing@yzu.edu.cn).