

伤口信号调节植物再生的研究进展

温绍廷^{1,2,#}, 顾泽玮^{1,3,#}, 喻杰^{1,*}, 张贵芳^{1,3,4,*}

¹中国科学院分子植物科学卓越创新中心, 植物分子遗传国家重点实验室, 上海200032

²上海师范大学生命科学学院, 上海200234

³中国科学院大学, 北京100049

⁴北京林业大学, 林木分子设计育种高精尖创新中心, 北京100083

摘要: 植物强大的再生能力使其在复杂的自然环境中得以生存。植物再生是植物对受损结构自我修复或替代的过程。例如, 离体的枝条或叶片掉落在湿润的土壤表面后, 能够在伤口处快速再生不定根, 从而顽强地生存下去。伤口信号是启动植物再生的第一项生物学事件。近年来, 有关伤口信号及其在植物再生过程中信号转导的研究取得了重要进展。本文综述了伤口信号参与植物再生的分子机制, 并对未来的研究方向进行了展望。

关键词: 伤口信号; 植物再生; 信号转导; 不定根; 不定芽; 组织修复

植物在生长发育的过程中, 往往会受到机械性伤害或食草动物啃食的损伤, 已有大量研究表明, 伤口释放的多种信号物质可以调节植物对于胁迫的整体性响应与防御(Hilleary和Gilroy 2018; Wasternack 2019), 从而提高植物的生存能力。由于植物无法通过细胞迁移的方式来修复损伤, 因而在伤口处实现再生成为植物生存的重要方式(Lup等2016)。

植物受到损伤后面临的首要问题是内部组织细胞直接暴露于外界环境以及维管运输系统的中断(Hilleary和Gilroy 2018), 因此修复受损部位抵抗微生物的入侵, 或者在伤口处引发器官从头再生从而重新连接维管系统极为重要。但伤口信号如何激发植物再生这一问题仍缺乏系统性的研究, 对这一问题的解答将为农业生产实践提供重要的指导作用。本文结合近年来的研究进展概述了伤口信号的物质基础, 重点分析了伤口信号促进植物再生的分子机制。同时, 对植物再生的伤口信号研究存在的问题以及今后的研究方向进行了简要讨论和展望。

1 植物的再生现象

植物再生(plant regeneration)是植物对受损结构的自我修复或替代的过程(Ikeuchi等2016; Sugimoto等2011)。高等植物的再生最终可以表现为完整新植株的建成或受损部位的组织修复(Xu和Huang 2014), 农业生产中的扦插与嫁接就是分

别以二者为基础的应用。完整新植株的建成可以通过器官从头发生或体细胞胚发生实现, 前者可以直接在伤口处再生出不定根或不定芽, 后者则需要一定条件下使体细胞脱分化回到体细胞胚阶段再进行器官的建成(Duclercq等2011; Fehér 2015); 组织修复则是指幼嫩的组织受损后恢复成原先状态的过程。植物的根尖区域被切除后可以再生出新的根尖, 嫁接过程中茎秆的伤口可以很快愈合等都是利用了植物具有组织修复的能力(Feldman 1976; Sena等2009)。

植物再生是由伤口或胁迫信号、转录因子以及表观遗传途径因子等有序协作调控完成的。无论是器官从头再生或者组织修复, 其本质都是伤口或胁迫诱导的细胞命运转变(Sun等2016)。伤口或胁迫信号最早产生的是一些物理或化学物质, 在这些物质的诱导下, 植物激素成为控制植物再生的重要因素(Su和Zhang 2014)。激素的调控对象往往是决定细胞命运转变的关键基因, 以转录因子和表观因子为主, 表观因子和转录因子相互作用或制约, 控制细胞分裂、细胞壁组分变化以及代谢水平变化等, 从而完成植物再生的过程。

收稿 2019-11-28 修定 2020-03-07

资助 中国博士后科学基金(2018M632179和2019M660506)。

并列第一作者。

* 共同通讯作者: 喻杰(yujie@cemaps.ac.cn)、张贵芳(gfzhang2019@sibs.ac.cn)。

2 伤口信号

伤口信号是启动植物再生过程中的第一项生物学事件(Chen等2016)。植物经由伤口释放出的信号物质进行信号转导,促进下游的细胞命运转变。已有的研究揭示了诸多关于伤口信号的候选物质。伤口可以引起植物细胞膜电势(Vm)变化、钙离子浓度波动与活性氧(reactive oxygen species, ROS)爆发,以及茉莉素、乙烯、水杨酸等植物激素的浓度大幅上升(Wasternack 2019)。因而这些物质可能作为伤口信号的一部分通过信号转导调节下游基因的转录水平,引发植物局部及整体的一些生理生化反应。按照响应损伤的速度可以将伤口信号分为两波(Hilleary和Gilroy 2018):第一波伤口信号在损伤后的几秒内开始产生,并在植物内快速传播,率先开启一些短期防御应激反应,主要包括Vm的变化、钙离子浓度波动、ROS浓度的

变化等;第二波则是以茉莉素、乙烯为代表的植物激素开启相应的信号通路,接替第一波伤口信号进一步引导植物损伤后的防御反应(图1)。

2.1 第一波伤口信号

第一波伤口信号包括Vm、钙离子、ROS等,其特点表现为产生和传播的速度较快,电信号在植物中的传播速度可达40 m·s⁻¹ (Wildon等1992),钙离子与过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)的传播速度分别可达396、1 400 μm·s⁻¹ (Evans等2016; Mittler和Blumwald 2015)。第一波伤口信号可能是由于损伤部位的组织丧失了细胞膜完整性,使得受损细胞的胞质内含物进入细胞间隙,从而改变了原先细胞间隙内的离子浓度和组分,进一步影响了细胞膜上各类离子通道的状态,引起了跨膜电势的改变及钙离子浓度波动。研究表明钙离子通道抑制剂GdCl₃及氯离子、钾离子通道抑制剂、

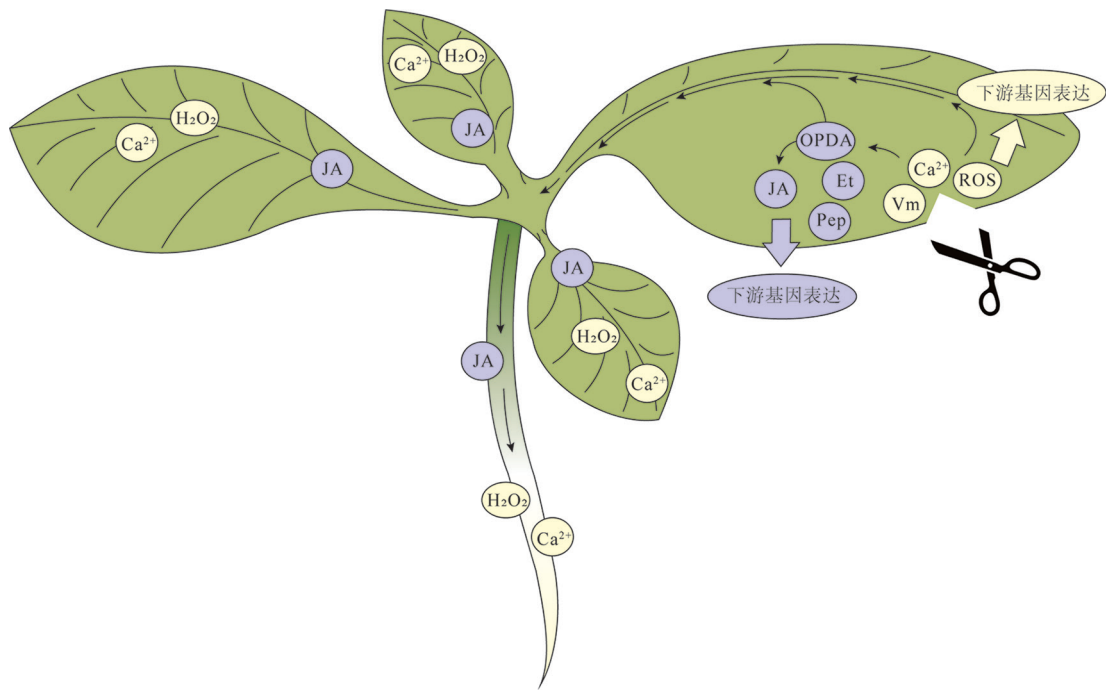


图1 伤口信号的级联与传播示意

Fig.1 Diagram of wound signaling cascade and propagation after injury

植物遭受机械损伤后以跨膜电势(Vm)、活性氧(ROS)、钙离子(Ca²⁺)为代表的第一波伤口信号在伤口周围迅速爆发,进而激发以茉莉素(JA)、乙烯(Et)、激发肽(Pep)为代表的第二波伤口信号在伤口附近的爆发(Hander等2019)。两波伤口信号分别开启下游的信号通路调控下游基因的表达,响应机械损伤。第一波伤口信号中的过氧化氢(H₂O₂)、Ca²⁺以较快传播速度到达未受损组织,引起相关防御基因的表达(Evans等2016; Mittler和Blumwald 2015)。长距离信号分子OPDA (*cis*-12-oxo-phytodienoic acid)及其衍生物可以从芽端伤口位置移动至未受伤的根部并开启JA信号途径以激活植物的防御反应(Schulze等2019)。

NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)抑制剂均可抑制单细胞损伤引起的质膜去极化, 编码NOX的*rbohD*、*rbohF*单突变及二者的双突变体均呈现出相同的现象(Marhavy等2019)。

钙离子信号在植物遭受昆虫啃食或机械损伤2 s后就能快速应答伤口, 2 min后传播至植物特定未受损的远端组织中。其传播一定程度上依赖于受谷氨酸盐浓度调控的GLR3.3/3.6 (GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE)蛋白, *glr3.3*/*glr3.6*双突变体背景下钙离子的长距离运输以及未受损部位的防御基因表达均受阻, 降低谷氨酸盐的含量也呈现出相似的现象(Toyota等2018)。除了担任长距离信号转导的信号分子外, 钙离子同样可以作为胞内的第二信使调节伤口附近细胞的生化状态。胞质中钙离子依赖的MC4 (metacaspase 4)由于损伤后胞质钙离子浓度升高而具备催化活性, 通过催化位于胞质侧液泡膜上的激发肽(elicitor peptide)前体成熟, 并被质膜定位的受体PEPRs (elicitor peptide receptors)识别开启防御反应(Hander等2019)。

快速响应伤口的ROS可能来源于受损细胞质膜上的NOX及细胞间隙中的各类氧化还原酶。ROS作为细胞新陈代谢的副产物之一, 其在低浓度下可起到信号分子的作用, 参与胞内外的信号转导并作为细胞命运转变的调控因子之一; 高浓度则可引起细胞内结构物质的氧化损伤或直接抵御经由伤口入侵的微生物(Tsukagoshi等2010)。在正常的生理条件下, 根尖与芽尖中的ROS通过超氧阴离子(superoxide anion, O_2^-)与 H_2O_2 拮抗分布共同维持干细胞的分裂与分化(Tsukagoshi等2010; Zeng等2017)。植物在修复受损部位或在器官从头发生过程中有可能也需要建立ROS的特异性分布来保障细胞命运的转变, ROS对于下游靶基因的激活可能是通过 H_2O_2 的胞内靶酶——甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases)来实现的, 其被氧化后通过与磷脂酶D的互作促进下游的磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)信号通路的转导(Guo等2012)。此外, 钙离子的长距离运输也依赖于NADPH氧化酶产生的ROS(Evans等2016), 说明第一波伤口信号的各类物质之间存在密切的交互。

2.2 第二波伤口信号

植物激素往往作为稍晚出现的伤口信号通过开启相应信号通路及信号通路间的交互, 对第一波伤口信号所引起的生理生化变化进一步调整, 并开启一些后续的防御反应。第二波伤口信号的产生也一定程度上依赖于第一波伤口信号, 例如, 对于钙离子信号的抑制可以削弱伤口响应茉莉酸(jasmonic acid, JA)与乙烯的产生(Marhavy等2019; Yan等2018)。

JA及其氨基酸衍生物统称为茉莉素, 已被广泛报道能够快速响应伤口, 并通过JA的前体OPDA (*cis*-12-oxo-phytodienoic acid)长距离移动到未受损的其他部位, 再转变为具备生物学活性的JA激活防御基因的转录(Schulze等2019)。

当植物未受损伤时, 负调控因子JAV1 (JASMONATE-ASSOCIATED VQ MOTIF GENE 1)通过与JAZ8 (JASMONATE-ZIM-DOMAIN PROTEIN 8)以及WRKY51 (ARABIDOPSIS THALIANA WRKY DNA-BINDING PROTEIN 51)形成JAV1-JAZ8-WRKY51 (JJW)复合体抑制JA合成基因的表达; 植物遭受损伤后, 钙离子浓度骤增, 使得钙调蛋白感应钙离子并与JAV1结合从而磷酸化JAV1, JJW复合体解聚, JA合成基因*LOX2* (*LIPOXYGENASE 2*)转录的抑制解除, 茉莉素大量积累从而响应植物损伤(Yan等2018)。

此外伤口诱导的一氧化氮也促进JA合成相关基因*LOX2*、*AOS* (*ALLENE OXIDE SYNTHASE*)和*OPR3* (*OXOPHYTODIENOATE-REDUCTASE 3*)的表达(Grun等2006)。

乙烯作为调控植物生长发育的重要激素之一, 同样可以快速响应损伤。研究发现乙烯合成相关基因*ACS2* (*1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase2*)、*ACS6*、*ACS7*及*ACS8*在拟南芥离体叶片受伤30 min内快速上调表达(Arteca和Arteca 1999; Kato等2000)。同时, 伤口可以快速激活促细胞分裂原活化蛋白激酶MPK (mitogen-activated protein kinase)和钙离子依赖型蛋白激酶CPK (calcium-dependent protein kinases)表达(Boudsocq和Sheen 2013; Seo等1995; Zhang和Klessig 1998)。在拟南芥中, 伤口通过MPK3/6上调*ACS2*/6/7/8的表达以

及CPK5/6上调ACS2/6/8的表达两种途径参与伤口诱导的乙烯的合成(Li等2018)。

3 伤口信号与植物再生的关系

3.1 伤口信号促进不定根从头再生

根器官从头发生以模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)离体叶片从头再生不定根的研究最为系统(Xu 2018)。叶片被剪下后,伤口产生的信号传递到叶片中的“转换器细胞”内,这些细胞通常是一些叶肉细胞、维管细胞或叶边缘细胞。最新的研究表明,茉莉素作为伤口信号促进不定根的从头再生。叶片受伤之前,植物处于随时“待命”状态,即生长素合成通路重要基因*ASA1* (*ANTHRANILATE SYNTHASE ALPHA SUBUNIT 1*)预先存在由组蛋白甲基化转移酶SDG8 (SET DOMAIN GROUP 8)介导的组蛋白H3第36位赖氨酸的三甲基化(H3K36me3)修饰。叶片受伤10 min内,离体叶片内茉莉素快速爆发,并在2 h内经由受体COI1 (*CORONATINE INSENSITIVE 1*)快速激活AP2/ERF家族转录因子基因*ERF109* (*ETHYLENE RESPONSE FACTOR 109*)的表达,继而转录因子ERF109协同H3K36me3修饰快速激活*ASA1*的表达。即茉莉素与组蛋白甲基化修饰协同开启了伤口信号转导,引发离体叶片中生长素的合成,从而促进了不定根的从头再生(图2-A)。此外,伤口信号的正确关闭也是植物再生过程中的重要一环。受伤2 h后,*ERF109*的转录水平先于茉莉素回到本底的水平,且其过表达植株呈现出从再生能力的缺陷,这说明*ERF109*的功能在再生过程中需要被抑制,进一步的实验已证明JA信号通路的负调控因子JAZ (*JASMONATE-ZIM-DOMAIN*)蛋白家族中的JAZ5/8/9均可与ERF109发生直接互作从而在蛋白水平上消除ERF109对于后续再生阶段中的不良影响,从而保障不定根的从头发发生(Zhang等2019)。

伤口引发合成的内源性生长素从叶肉细胞极性运输到伤口周围的再生潜能细胞中,激活基因表达促进再生潜能细胞进行细胞命运转变,依次变为*WOX11* (*WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 11*)标记的根创始细胞、*LBD16* (*LATERAL ORGAN BOUNDARIES-DOMAIN*)和*WOX5/7*标记的根原基

细胞(Hu和Xu 2016; Sheng等2017)。随后,在由不定根根尖顶出外植体的过程中需要*NAC1* (*petunia* NAM, *Arabidopsis* ATAF1、ATAF2和CUC2)及其同源基因发挥功能,*NAC1*的表达也受伤口的诱导,但响应较慢,它可以调控植物中一类编码蛋白酶基因*CEP*的表达,降解细胞壁中的结构蛋白,促进不定根根尖顶出叶片(Chen等2016)。

伤口引发的生长素合成是促进不定根再生的重要因素之一,但是随着植物年龄增加,其再生能力逐步减弱。*miR156*作为年龄因子在植物发育中发挥着重要作用,控制了幼年期到成年期的转化(Xu等2016; Ye等2020b)。最新的研究表明,伤口信号与年龄因子协同调控了不定根的再生。离体叶片被剪下后,伤口迅速诱导一系列AP2/ERF转录因子基因的表达,开启生长素合成通路,促进不定根从头再生。但在年老的植物中,*miR156*的靶点转录因子SPL2/10/11 (*SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE*)通过直接结合在AP2/ERF转录因子的启动子上抑制其表达,阻碍伤口诱导的生长素的积累,从而使不定根再生能力降低(Ye等2020a)。

矮牵牛(*Petunia hybrida*)茎外植体再生不定根的研究中也同样发现,茉莉素能够在伤口处快速积累,茉莉素合成酶AOC的RNA干扰(*PhAOC-RNAi*)转基因植株茎再生不定根存在缺陷(Druege等2016; Lischweski等2015)。此外,乙烯也可以快速响应伤口,施加乙烯合成抑制剂AVG或者信号通路抑制剂STS,不定根的再生将出现明显缺陷(Druege等2014)。茉莉素信号通路的负调控因子JAZ蛋白以及转录因子MYC2都可以和乙烯信号通路的转录因子EIN3 (*ETHYLENE-INSENSITIVE3*)互作(Zhu等2011)。当植物面临病原体侵害时,乙烯和茉莉素可以诱导下游防御基因*ERF1*、*ORA59* (*OCTADECANOID-RESPONSIVE ARABIDOPSIS AP 2/ERF 59*)和*PDF1.2* (*PLANT DEFENSIN 1.2*)等快速上调,外源单独施加乙烯或茉莉素可使下游防御基因上调,协调施加则可使防御基因的表达达到峰值,从而减轻植物受损的程度(Lorenzo等2003; Zhu和Lee 2015),因此乙烯可能作为另一种伤口信号与茉莉素协同发挥作用。

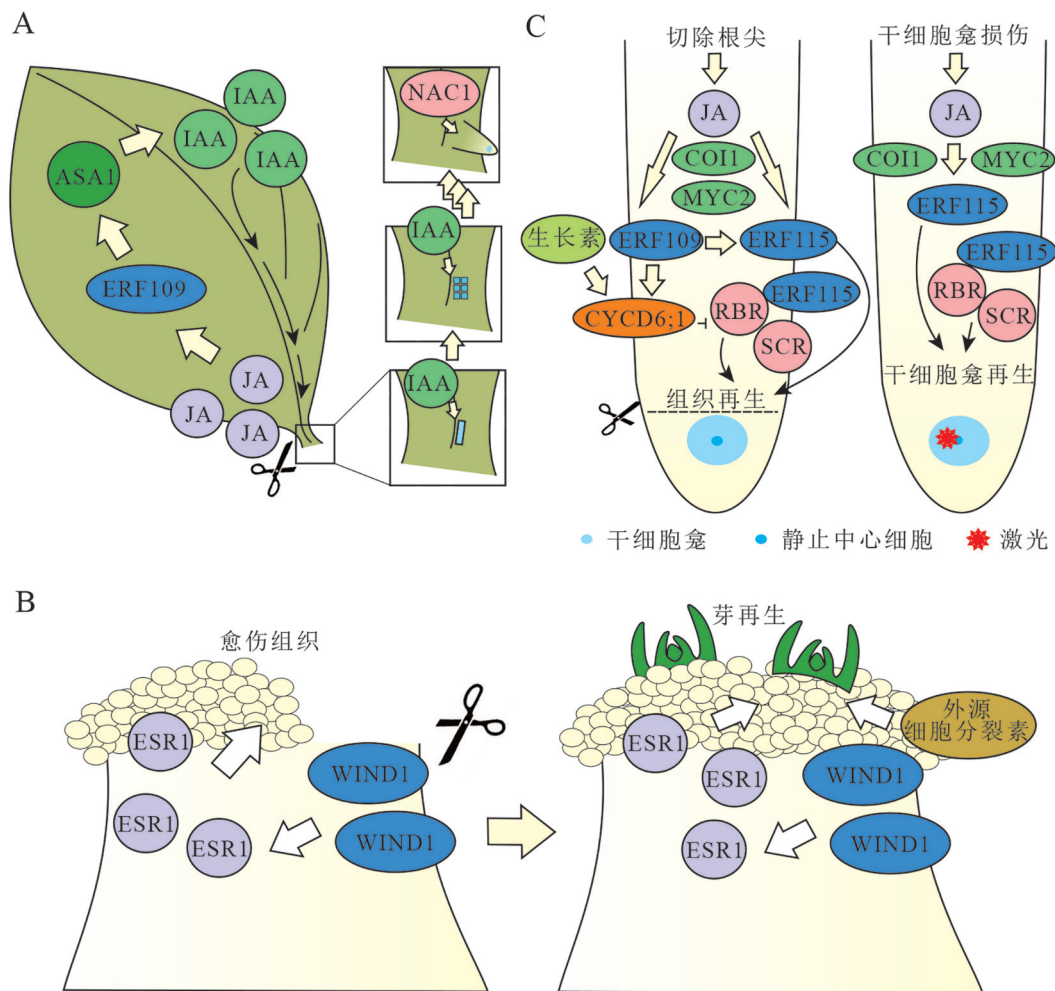


图2 伤口信号参与的拟南芥不同部位损伤后再生与修复过程示意

Fig.2 Wound signals contribute to regeneration and healing in injury tissues of *Arabidopsis thaliana*

A: 损伤后离体叶片中的茉莉酸(JA)大量爆发, 激活下游转录因子基因 $ERF109$ (*ETHYLENE RESPONSE FACTOR 109*)的表达, 进一步促进生长素合成通路基因 $ASA1$ (*ANTHRANILATE SYNTHASE ALPHA SUBUNIT 1*)的转录, 提高生长素(IAA)的含量并极性运输到伤口处(Zhang等2019)。随后, 生长素促使伤口周围的再生潜能细胞发生命运转变(Liu等2014), 最后根尖在 $NAC1$ (*petunia NAM*, *Arabidopsis* $ATAF1$ 、 $ATAF2$ 和 $CUC2$)的协助下顶出伤口组织(Chen等2016)。B: 响应伤口的转录因子基因 $WIND1$ (*WOUND INDUCED DEDIFFERENTIATION1*)通过激活 $ESR1$ (*ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1*)的表达, 促进愈伤组织的形成和随后不定芽的再生(Iwase等2017)。C: 伤口诱导的JA经由 $COI1$ (*CORONATINE INSENSITIVE 1*)- $MYC2$ 途径激活下游 $ERF109$ 、 $ERF115$ 的转录, 二者可直接参与组织的再生。此外, 伤口诱导的 $ERF115$ 也可以通过调控 RBR (*RETINOBLASTOMA-RELATED*)和 SCR (*SHORT ROOT*)分子网络以促进干细胞龛修复(Zhou等2019)。根据Zhang等(2019)、Iwase等(2017)和Zhou等(2019)改画。

3.2 伤口信号促进不定芽从头再生

不定芽的从头发生是指受伤或离体的植物器官上再生出不定芽的过程, 可以分为直接型(从伤口处直接再生不定芽)和间接型(从非胚性愈伤组织上再生不定芽)(Xu和Huang 2014)。AP2/ERF家族转录因子基因 $WIND1$ (*WOUND INDUCED DEDIFFERENTIATION1*)及其同源基因 $WIND2$ 、

$WIND3$ 、 $WIND4$ 在离体组织的伤口处和诱导产生的愈伤组织中高度表达, $WIND1$ 的异位高表达足以建立和维持没有外源生长素和细胞分裂素的体细胞去分化状态(Iwase等2011)。并且, $WIND1$ 可通过直接上调下游转录因子基因 $ESR1$ (*ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1*)的表达促进伤口处愈伤组织的形成和随后不定芽的再生, 同时 $WIND1$ 也

可以通过B型ARR (B-type *ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR*)间接激活*ESR1*从而促进不定芽的形成(图2-B) (Iwase等2017)。此外,在以拟南芥下胚轴为外植体通过诱导愈伤组织再生不定芽的过程中,外源施加JA预处理下胚轴,可以显著促进其愈伤组织再生不定芽的能力(Park等2019)。综上,在间接型芽从头再生过程中,伤口信号通过促进愈伤组织的形成间接地促进芽从头再生的过程。

3.3 伤口信号参与组织修复

植物将受损的组织修复到受伤前的状态称为组织修复。例如在农业生产中有着广泛作用的嫁接,通过将同一物种或不同物种的不同组织的接穗与根茎连接在一起从而再生出完整的植株。番茄(*Lycopersicon esculentum*)的下胚轴和拟南芥的茎秆的嫁接实验中发现,在嫁接2~3 d后,受到接穗底部高浓度生长素和根茎上方高浓度细胞分裂素的作用,伤口附近的维管细胞开始细胞分裂,接穗与根茎之间形成一种类似愈伤的组织帮助二者更快地粘合在一起(Flaishman等2008; Jeffree和Yeoman 1983; Yin等2012)。在韧皮部的重新连接过程中,首先观察到的是胞间连丝的形成,然后是接穗中木质部的重新形成,最后是根茎中木质部的形成(Melnyk等2015)。在新的维管束形成之前,接穗与根茎中的生长素浓度呈梯度分布,乙烯与茉莉素合成的相关基因在嫁接过程中都明显上调表达(Asahina等2011)。因此,在组织修复与器官从头再生过程中可能存在共同的伤口信号转导通路引发后续的细胞命运转变。

植物根尖分生组织是一种高度有序且分化程度较低的细胞集群,其核心为干细胞龛,它由位于中心的静止中心(quiescent center, QC)和围绕在周围的初始细胞组成。QC存在较低的增殖率进行自我更新,其干细胞长效性可能由RBR (RETINOBLASTOMA-RELATED)和SCR (SCARECROW)蛋白互作维持。RBR和生长素以及细胞周期调节因子CYCD6;1通过调节SHR-SCR的活性控制初始细胞的不对称分裂从而界定根尖内皮层和皮层的形成。当RBR-SCR蛋白互作被破坏后, QC细胞的分裂活性增加(Cruz-Ramirez等2012, 2013)。此外,在QC中特异性表达的转录因子WOX5通过结合

QC细胞中的CYCD3;3启动子区域抑制其转录,使该区域不表达周围分生组织中广泛存在的CYCD3;3,从而抑制QC细胞的分裂(Forzani等2014)。

利用激光特异性地消除QC带来的损伤可以引起局部的再生反应从而重新建成完整干细胞龛(van den Berg等1995, 1997; Xu等2016),在这一过程中,伤口诱导的JA可以激活*ERF115*的表达,转录因子ERF115通过调控RBR-SCR分子网络重新建成根尖干细胞组织中心。同时生长素作为维持干细胞干性的重要激素(Ding和Friml 2010; Tian等2014),可以与JA协同促进*ERF115*的表达,从而促进干细胞龛的再生(图2-C) (Zhou等2019)。

植物的根尖被切除后可以再生出完整的根尖也是组织修复的一种。根尖被切除后JA含量快速升高, JA经其受体COI1、转录因子MYC2快速激活*ERF109*的表达, ERF109与生长素共同激活*CYCD6;1*的转录,同时, ERF109可以直接激活*ERF115*的表达, CYCD6;1和ERF115通过调控RBR-SCR分子网络促进根尖组织修复(图2-C)。*erf109*、*erf115*以及*coil-2*、*cycd6;1*突变体的根尖再生能力均存在显著缺陷,此外,研究也发现随着切除根尖的部位与QC的距离增加, *ERF109*被诱导表达的幅度降低,这可能与根尖被切除后的再生能力有关。因此, JA信号调控网络在根尖组织修复中起着重要作用(Zhou等2019)。

植物的根部在土壤中时刻面临着各种机械损伤以及虫害、微生物的侵蚀或寄生。与在培养基上无菌培养的植物相比,来自土壤中的植物根尖中有较高含量的JA,在从平板上转到土壤中较短时间内,响应JA的基因*ERF109*、*ERF115*、*CYCD6;1*均上调表达;利用线虫侵染植物的根尖后,通过GUS染色发现,在线虫侵染的周围,响应JA的基因*ERF109*、*ERF115*、*CYCD6;1*相比未侵染均上调表达。因此,当植物面临土壤中生物与非生物胁迫时, JA介导的再生响应对根尖组织修复也是非常重要的(Zhou等2019)。但是,利用激光特异性消除QC或者在根尖被切除后组织修复的过程中都需要重新建成完整的干细胞龛,而根尖在土壤中遭受环境或者微生物胁迫时根尖干细胞结构可能并没有损伤,因此JA介导两者的调控机制可能存在一定差异。

乙烯同样可以快速响应伤口,但相对于JA而言,乙烯可能是响应轻微损伤的一种伤口信号。拟南芥根部伸长区单细胞的损伤并不引起JA的积累,仅产生局部的第一波伤口信号及乙烯(Marhavy等2019),这说明植物对于不同程度的损伤有着不同的应对策略。伸长区单细胞损伤的修复也不同于组织再生的方式,伸长区各层单细胞损伤后均由相邻的内层细胞平周分裂产生的新细胞补充,如侧根冠损伤后依靠其内层的表皮细胞分裂填补,但是这种修复能力随细胞距离QC的距离增大而减弱,这可能与主根与PLT (PLETHORA)蛋白含量的梯度分布有关。其重新进入细胞周期则是借由对应来源于干细胞中的起始分裂方式,例如表皮细胞来源于侧根冠/表皮起始细胞(LRC/epidermis initials, LEIs),因此损伤后表皮细胞也是利用LEIs中FEZ (ARABIDOPSIS NAC DOMAIN CONTAINING PROTEIN 9)与SMB (SOMBRERO)之间的负反馈调节进入细胞周期进行平周分裂来修复受损的侧根冠细胞(Marhavy等2019)。但对于伸长区单细胞损伤产生的局部伤口信号是否贡献于该修复方式及其作用机理有待研究。

4 展望

经过多年的研究,人们已经认识到伤口释放的物质是复杂的混合物,伤口信号促进植物再生的过程存在多种早期信号和植物激素之间的协同配合。最新报道的茉莉素作为伤口信号促进不定根再生并且参与根尖修复过程是再生领域的一大突破,使我们对伤口信号的本质有了更深的理解。伤口虽然对外植体的存活产生了严重威胁,但伤口产生的物理屏障截断并捕获了足够浓度的生长素,激活伤口处干细胞命运转变最终完成了植物器官的再生。这些研究不断加深了我们对伤口信号的认知,但是仍然有很多问题亟待人们深入探索和解决。例如,除了茉莉素,其他植物激素或相应伤口的信号物质是否贡献于再生,它们又是如何促进植物再生的?这些伤口信号转导通路之间又存在怎样的交互作用?植物面对机械损伤和病虫害带来的损伤采取的再生策略有哪些不同?

植物再生的伤口信号转导是新兴领域,解析

伤口信号促进植物再生整体的调控网络,有助于我们全面地理解植物再生的生物学过程。我们在此基础上改进的植物再生技术能够为药用植物栽培、保护稀有品种、农业生产以及林木快繁等提供重要的理论指导。

参考文献(References)

- Arteca JM, Arteca RN (1999). A multi-responsive gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS6) in mature *Arabidopsis* leaves. *Plant Mol Biol*, 39: 209–219
- Asahina M, Azuma K, Pitaksaringkarnb W, et al (2011). Spatially selective hormonal control of RAP2.6L and ANAC071 transcription factors involved in tissue reunion in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (38): 16128–16132
- Boudsocq M, Sheen J (2013). CDPKs in immune and stress signaling. *Trends Plant Sci*, 18 (1): 30–40
- Chen L, Sun B, Xu L, et al (2016). Wound signaling: the missing link in plant regeneration. *Plant Signal Behav*, 11 (10): e1238548
- Chen X, Cheng J, Chen L, et al (2016). Auxin-independent NAC pathway acts in response to explant-specific wounding and promotes root tip emergence during *de novo* root organogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 170 (4): 2136–2145
- Cruz-Ramirez A, Diaz-Trivino S, Blilou I, et al (2012). A bistable circuit involving SCARECROW-RETINOBLASTOMA integrates cues to inform asymmetric stem cell division. *Cell*, 150 (5): 1002–1015
- Cruz-Ramirez A, Diaz-Trivino S, Wachsman G, et al (2013). A SCARECROW-RETINOBLASTOMA protein network controls protective quiescence in the *Arabidopsis* root stem cell organizer. *PLOS Biol*, 11 (11): e1001724
- Ding Z, Friml J (2010). Auxin regulates distal stem cell differentiation in *Arabidopsis* roots. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107: 12047–12051
- Druege U, Franken P, Hajirezaei MR (2016). Plant hormone homeostasis, signaling, and function during adventitious root formation in cuttings. *Front Plant Sci*, 7 (381): 1–14
- Druege U, Franken P, Lischewski S, et al (2014). Transcriptomic analysis reveals ethylene as stimulator and auxin as regulator of adventitious root formation in petunia cuttings. *Trends Plant Sci*, 5: 494
- Duclercq J, Sangwan-Norreel B, Catterou M, et al (2011). *De novo* shoot organogenesis: from art to science. *Trends Plant Sci*, 16 (11): 597–606
- Evans MJ, Choi WG, Gilroy S, et al (2016). A ROS-assisted calcium wave dependent on the AtRBOHD NADPH ox-

- idase and TPC1 cation channel propagates the systemic response to salt stress. *Plant Physiol*, 171 (3): 1771–1784
- Fehér A (2015). Somatic embryogenesis-stress-induced remodeling of plant cell fate. *Biochim Biophys Acta*, 1849 (4): 385–402
- Feldman L (1976). The *de novo* origin of the quiescent center regenerating root apices of *Zea mays*. *Planta*, 128 (3): 207–212
- Flaishman MA, Loginovsky K, Golobowich S, et al (2008). *Arabidopsis thaliana* as a model system for graft union development in homografts and heterografts. *J Plant Growth Regul*, 27 (3): 231–239
- Forzani C, Aichinger E, Sornay E, et al (2014). WOX5 suppresses *CYCLIN D* activity to establish quiescence at the center of the root stem cell niche. *Curr Biol*, 24 (16): 1939–1944
- Grün S, Lindermayr C, Sell S, et al (2006). Nitric oxide and gene regulation in plants. *J Exp Bot*, 57 (3): 507–516
- Guo L, Devaiah SP, Narasimhan R, et al (2012). Cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases interact with phospholipase D δ to transduce hydrogen peroxide signals in the *Arabidopsis* response to stress. *Plant Cell*, 24 (5): 2200–2212
- Hander T, Fernández-Fernández ÁD, Kumpf RP, et al (2019). Damage on plants activates Ca²⁺-dependent metacaspases for release of immunomodulatory peptides. *Science*, 363 (6433): 7486–7496
- Hilleary R, Gilroy S (2018). Systemic signaling in response to wounding and pathogens. *Curr Opin Plant Biol*, 43: 57–62
- Hu X, Xu L (2016). Transcription factors WOX11/12 directly activate *WOX5/7* to promote root primordia initiation and organogenesis. *Plant Physiol*, 172 (4): 2363–2373
- Ikeuchi M, Ogawa Y, Iwase A, et al (2016). Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms. *Development*, 143 (9): 1442–1451
- Iwase A, Harashima H, Ikeuchi M, et al (2017). WIND1 promotes shoot regeneration through transcriptional activation of *ENHANCER OF SHOOT REGENERATION1* in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 29 (1): 54–69
- Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, et al (2011). The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 21 (6): 508–514
- Jeffree CE, Yeoman MM (1983). Development of intercellular connections between opposing cells in a graft union. *New Phytol*, 93 (4): 491–509
- Kato M, Hayakawa Y, Hyodo H, et al (2000). Wound-induced ethylene synthesis and expression and formation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase, ACC oxidase, phenylalanine ammonia-lyase, and peroxidase in wounded mesocarp tissue of *Cucurbita maxima*. *Plant Cell Environ*, 41 (4): 440–447
- Li S, Han X, Yang L, et al (2018). Mitogen-activated protein kinases and calcium-dependent protein kinases are involved in wounding-induced ethylene biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*, 41 (1): 134–147
- Lischweski S, Muchow A, Guthorl D, et al (2015). Jasmonates act positively in adventitious root formation in petunia cuttings. *BMC Plant Biol*, 15: 229
- Liu J, Sheng L, Xu Y, et al (2014). *WOX11* and *12* are involved in the first-step cell fate transition during *de novo* root organogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 26 (3): 1081–1093
- Lorenzo O, Piqueras R, Sanchez-Serrano JJ, et al (2003). ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. *Plant Cell*, 15 (1): 165–178
- Lup SD, Tian X, Xu J, et al (2016). Wound signaling of regenerative cell reprogramming. *Plant Sci*, 250: 178–187
- Marhava P, Hoermayer L, Yoshida S, et al (2019). Re-activation of stem cell pathways for pattern restoration in plant wound healing. *Cell*, 177 (4): 957–969
- Marhavy P, Kurenda A, Siddique S, et al (2019). Single-cell damage elicits regional, nematode-restricting ethylene responses in roots. *EMBO J*, 38 (10): e100972
- Melnik CW, Schuster C, Leyser O, et al (2015). A developmental framework for graft formation and vascular reconnection in *Arabidopsis thaliana*. *Curr Biol*, 25 (10): 1036–1318
- Mittler R, Blumwald E (2015). The roles of ROS and ABA in systemic acquired acclimation. *Plant Cell*, 27 (1): 64–70
- Park OS, Bae SH, Kim SG, et al (2019). JA-pretreated hypocotyl explants potentiate *de novo* shoot regeneration in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav*, 14 (8): 1559–2334
- Schulze A, Zimmer M, Mielke S, et al (2019). Wound-induced shoot-to-root relocation of JA-Ile precursors coordinates *Arabidopsis* growth. *Mol Plant*, 12 (10): 1383–1394
- Sena G, Wang X, Liu HY, et al (2009). Organ regeneration does not require a functional stem cell niche in plants. *Nature*, 457 (7233): 1150–1153
- Seo S, Okamoto M, Seto H, et al (1995). Tobacco MAP kinase: a possible mediator in wound signal transduction pathways. *Science*, 270: 1988–1992
- Sheng L, Hu X, Du Y, et al (2017). Non-canonical *WOX11*-mediated root branching contributes to plasticity in *Arabidopsis* root system architecture. *Development*, 144 (17): 3126–3133
- Su YH, Zhang XS (2014). The hormonal control of regeneration in plants. *Curr Top Dev Biol*, 108: 35–69
- Sugimoto K, Gordon SP, Meyerowitz EM (2011). Regenera-

- tion in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation? *Trends Cell Biol*, 21 (4): 212–218
- Sun BB, Liu J, Ge YC, et al (2016). Recent progress on plant regeneration. *Chin Sci Bull*, 61 (36): 3887–3902 (in Chinese with English abstract) [孙贝贝, 刘杰, 葛亚超等(2016). 植物再生的研究进展. *科学通报*, 61 (36): 3887–3902]
- Tian H, Wabnick K, Niu T, et al (2014). WOX5-IAA17 feedback circuit-mediated cellular auxin response is crucial for the patterning of root stem cell niches in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 7 (2): 277–289
- Toyota M, Spencer D, Toyota S, et al (2018). Glutamate triggers long-distance calcium-based plant defense signaling. *Science*, 361 (6407): 1112–1115
- Tsukagoshi H, Busch W, Benfey PN (2010). Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root. *Cell*, 143 (4): 606–616
- van den Berg C, Willemsen V, Hage W, et al (1995). Cell fate in the *Arabidopsis* root meristem determined by directional signalling. *Nature*, 378 (6552): 62–65
- van den Berg C, Willemsen V, Hendriks G, et al (1997). Short-range control of cell differentiation in the *Arabidopsis* root meristem. *Nature*, 390 (6657): 287–289
- Wasternack C (2019). New light on local and systemic wound signaling. *Trends Plant Sci*, 24 (2): 102–105
- Wildon DC, Thain JF, Minchint PEH, et al (1992). Electrical signalling and systemic proteinase inhibitor induction in the wounded plant. *Nature*, 360 (5): 62–65
- Xu M, Hu T, Zhao J, et al (2016). Developmental functions of miR156-regulated *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)* genes in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS Genet*, 12 (8): e1006263
- Xu J, Hofhuis H, Heidstra R, et al (2016). A molecular framework for plant regeneration. *Science*, 311: 385–388
- Xu L (2018). *De novo* root regeneration from leaf explants: wounding, auxin, and cell fate transition. *Curr Opin Plant Biol*, 41: 39–45
- Xu L, Huang H (2014). Genetic and epigenetic controls of plant regeneration. *Curr Top Dev Biol*, 108: 1–33
- Yan C, Fan M, Yang M, et al (2018). Injury activates Ca^{2+} /calmodulin-dependent phosphorylation of JAV1-JAZ8-WRKY51 complex for jasmonate biosynthesis. *Mol Cell*, 70 (1): 136–149
- Ye B, Shang G, Pan Y, et al (2020a). AP2/ERF transcription factors integrate age and wound signals for root regeneration. *Plant Cell*, 32 (1): 226–241
- Ye B, Zhang K, Wang JW (2020b). The role of miR156 in rejuvenation in *Arabidopsis thaliana*. *J Integr Plant Biol*, 62 (5): 550–555
- Yin H, Yan B, Sun J, et al (2012). Graft-union development: a delicate process that involves cell-cell communication between scion and stock for local auxin accumulation. *J Exp Bot*, 63 (11): 4219–4232
- Zeng J, Dong Z, Wu H, et al (2017). Redox regulation of plant stem cell fate. *EMBO J*, 36 (19): 2844–2855
- Zhang G, Zhao F, Chen L, et al (2019). Jasmonate-mediated wound signalling promotes plant regeneration. *Nat Plants*, 5 (5): 491–497
- Zhang S, Klessig D (1998). The tobacco wounding-activated mitogen-activated protein kinase is encoded by SIPK. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 (12): 7225–7230
- Zhou W, Lozano-Torres JL, Blilou I, et al (2019). A jasmonate signaling network activates root stem cells and promotes regeneration. *Cell*, 177 (4): 942–956
- Zhu Z, An F, Feng Y, et al (2011). Derepression of ethylene-stabilized transcription factors (EIN3/EIL1) mediates jasmonate and ethylene signaling synergy in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (30): 12539–12544
- Zhu Z, Lee B (2015). Friends or foes: new insights in jasmonate and ethylene co-actions. *Plant Cell Environ*, 56 (3): 414–420

Research progresses on wound signaling in regulation of plant regeneration

WEN Shaoting^{1,2,#}, GU Zewei^{1,3,#}, YU Jie^{1,*}, ZHANG Guifang^{1,3,4,*}

¹National Key Laboratory of Plant Molecular Genetics, CAS Center for Excellence in Molecular Plant Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China

²College of Life Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China

³University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

⁴Beijing Advanced Innovation Center for Tree Breeding by Molecular Design, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Abstract: Plants have evolved powerful strategies to survive in severe natural environment. Regeneration is a process in which plants repair or replace damaged tissues or organs. For example, adventitious roots could be formed around the wound site directly from detached branches or leaves under proper conditions. Wounding is the first event triggering regeneration. In recent years, important progresses have been made in the study of the nature of wound and the signal transduction pathway in promoting plant regeneration. In this paper, the type of wound signals in plants and the molecular transduction pathway in promotion of plant regeneration are reviewed, and the future research direction is prospected.

Key words: wound signal; plant regeneration; signal transduction; adventitious roots; adventitious shoots; tissue repair

Received 2019-11-28 Accepted 2020-03-07

This work was supported by China Postdoctoral Science Foundation (2018M632179 and 2019M660506).

#Co-first authors.

*Co-corresponding authors: Yu J (yujie@cemps.ac.cn), Zhang GF (gfzhang2019@sibs.ac.cn).