

## 专题介绍 Special Topics

## 植物激素与细胞骨架的排向

周德宝\*

内蒙古科技大学生命科学院, 包头 014030

## Plant Hormones and Layout of Cytoskeleton

ZHOU De-Bao\*

College of Life Sciences, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014030

**提要** 就植物微管和纤维素微纤丝在细胞骨架构成和延展中的作用、植物激素在微管和纤维素微纤丝排向中的调节功能作了介绍, 并对细胞扩大和伸长的机制进行了分析和讨论。

**关键词** 植物激素; 细胞骨架; 微管; 纤维素微纤丝; 排向

一般认为, 植物细胞生长或扩张的驱动力是膨压, 它向四周的强度是均等的, 但导致细胞的不对称生长。迄今, 已有足够的证据证明, 细胞壁在维持细胞形态和细胞扩张中的作用是首要的。也正因为如此, 作为高等植物显著结构特点之一的细胞壁, 越来越吸引人们的注意力。

### 1 微管与微纤丝

成长细胞的细胞壁分为初生壁和次生壁。前者在细胞生长过程中形成; 后者则是细胞停止生长后, 沉积在初生壁里的那部分结构。构成细胞壁的物质以纤维素为主, 还有半纤维素、果胶、蛋白质、酚类和脂肪酸等几大类化合物。纤维素分子是线性 $\beta$ -1, 4键连接的葡聚糖, 其中可能还存在甘露糖残基。有30~100条纤维素链状分子“并肩”平行排列, 形成纤维素微纤丝(cellulose microfibril, CMF)<sup>[1]</sup>。细胞壁“经纬模型”假说认为, 初生壁中CMF以与细胞壁某一平面平行的方式, 一层一层地附着到细胞壁上, 它与伸展素(extensin)、膨胀素(expansin)等多种蛋白质交织形成复杂的网络结构, 悬浮在果胶和半纤维素组成的胶体中。纤维素分子之间存在大量的链间和链内氢键, 因而CMF高度致密和极端稳定。细胞的纵向伸长或横向扩张都受细胞壁的限制, 其主要的限制因素就是细胞壁中的CMF<sup>[2]</sup>。细胞壁的机械强度也主要来自于它。细胞壁最内层新合成的CMF紧靠质膜外侧, 承受着膨压产生的张力, 因此, 这些新合成CMF的排列方向参与对

细胞生长方式的调控。例如, 正在伸长的细胞中, 其CMF优先与伸长轴形成直角或近直角的方向<sup>[3]</sup>。

Fosket和Morejohn<sup>[1]</sup>进一步的研究发现, CMF在细胞壁中的沉积方向受微管(microtubule, MT)排向的影响。MT主要是由微管蛋白(tubule)组成的管状聚合体, 直径约24 nm, 基本结构单位是 $\alpha$ -与 $\beta$ -微管蛋白通过非共价键连结而成的异二聚体。在每根MT中, 异二聚体头尾相接形成直径为4~5 nm的细长原丝(protofilament), 通常再由13条这样的原丝纵列组成MT。植物MT除具有“骨架”功能外, 还有很多动态方面的功能, 包括细胞内囊泡和蛋白质颗粒的转运、细胞极性的确定、信号转导以及有丝分裂过程中染色体的运动等等。它始终处于组装(assembly)与去组装(disassembly)的过程中, 这也是MT表现出多种结构与功能的原因<sup>[4]</sup>。在正常的植物细胞中, 靠近细胞核有一个特异化的微管组织中心(mocks), 执行微管蛋白基因的表达过程。用显微注射法将荧光标记的微管蛋白引入活细胞后, 15 min就可分布到整个细胞MT中, 表明细胞内的MT处于极为活跃的动态转换过程之中<sup>[5]</sup>。微管一般是平行地排列于质膜下, 形成所谓的周质微管(cortical

收稿 2004-12-02 修定 2005-01-11

资助 国家自然科学基金(30170499)。

\*E-mail: debaozhou@163.com, Tel: 0472-3993334

microtubule)。在快速伸长的细胞中, 它的排列方向垂直于细胞的伸长轴, 与正在沉积的CMF方向相同<sup>[6]</sup>。由此可以看到, 微管的排列方向和新形成CMF的排向之间存在密切联系, 影响着细胞的生长方式。

## 2 植物激素对微管和微纤丝排向的调节

生长素类(IAA)、赤霉素类(GAs)、细胞分裂素类(CTKs)、脱落酸(ABA)和乙烯(ETH)、水杨酸(SA)、油菜素甾醇类(BRs)和茉莉酸类(JAs)都可通过调节周质微管的排向、促进或减缓微管的解聚, 间接控制CMF的沉积方向, 从而调控细胞的生长方式<sup>[1,6]</sup>。根据MT相对细胞伸长轴的排列角度, 可分成3种类型: T型(transverse, 60°~90°)、L型(longitudinal, 0°~30°)、O型(oblique, 30°~60°)。T型促使细胞易于纵向伸长, L型则促使细胞易于横向扩张, O型介于两者之间<sup>[6,7]</sup>。

通常, 凡能促进细胞伸长的激素, 例如GAs、Axons以及BRs配合GAs都可促进细胞中T型MT的数目增加; 而抑制细胞伸长的激素, 像ABA、CTKs和ETH则促进细胞中L型MT的数目增加; SA和JAs可促进微管解聚, 从而促进马铃薯块茎和洋葱鳞茎的膨大<sup>[8]</sup>。常用来进行MT和CMF研究的材料, 都是一些植物幼嫩组织中的细胞, 如胚芽鞘、上胚轴、中胚轴、叶鞘和根尖等的表皮或皮层细胞<sup>[7]</sup>。目前, 主要采用电子显微镜和免疫荧光技术相结合进行研究, 也有用微注射法的。

近年, 多数研究都认为, GA促进茎延长与细胞壁伸展性有关<sup>[8]</sup>。植物细胞壁的主要组成是纤维素, 呈晶型微纤丝, 埋藏于半纤维素和果胶基质中, 纤维素微纤丝是无伸展性的, 纤维素水解的例外。要使细胞伸展, 一定要把微纤丝拆开<sup>[8]</sup>。细胞伸展的形状和方向决定于细胞壁, 具体来说决定于与质膜结合的皮层微纤丝的取向, 无伸展能力的细胞的微管和纤维素微纤丝是随机取向的。当它们与细胞长轴呈横向排列时, 细胞就会延长<sup>[9]</sup>。这个过程似乎包括微管蛋白亚单位和(或)与微纤丝结合的蛋白质的变化。为了检验微管蛋白基因表达变化是否与细胞延长有关, 以GA<sub>3</sub>处理燕麦竹间切段6 h后,  $\beta$ -微管蛋白转录

水平比未作GA处理的增加5~6倍<sup>[10]</sup>。微管蛋白转录水平在处理24 h到达高峰, 以后就下降, 而切段延长一直到48 h。以不同浓度GA<sub>3</sub>处理燕麦切段, 其切段长度变化与相对微管蛋白转录水平变化是一致的<sup>[11]</sup>。因此, 认为节间延长程度和微管蛋白转录积累水平依赖于GA<sub>3</sub>处理浓度高低和时间长短<sup>[11]</sup>。当用6-二甲基氨基嘌呤(蛋白激酶抑制剂)阻止GA<sub>3</sub>引起的皮层微管横向排列时, 细胞延长即受抑制<sup>[11]</sup>。看来, GA<sub>3</sub>影响微管蛋白基因表达, 接着影响皮层微管排列, 最终表现出细胞膨大方向。

BR能促进生长素诱导的赤豆上胚轴的伸长, 而它的这一作用可为微管脱重合剂消除。这暗示BR即受到破坏而断裂的作用与微管有关。低温处理黄瓜下胚轴切段时, 表皮细胞内的微管BR可抑制和减少破坏, 由此提出BR的作用可能与保持微管稳定有关<sup>[12]</sup>。

Katsumi和Ishida<sup>[13]</sup>的研究结果表明, 细胞直径向的MT总是保持横向排列, MT的重新排向仅局限于靠外周的细胞切线向。他用玉米矮秆突变体*d<sub>5</sub>*(内源GA<sub>1</sub>亏缺, 细胞伸长受抑)为试材, 以芽鞘节为起点, 将中胚轴顺序依次划分为a、b、c、d 4个区(每区长度1 mm)后, 分别沿直径向和切线向制片, 用免疫荧光技术观察, 未见到各区中表皮细胞直径向的分布之间差异, 而切线向则差异明显。正常株和*d<sub>5</sub>*中表皮细胞的切线向, T、L和O型中MT都存在, 但正常株中T型MT的频率显著高于*d<sub>5</sub>*。GA<sub>3</sub>增加*d<sub>5</sub>*表皮细胞切线向的T型MT百分率。*d<sub>5</sub>*的伸长区原先仅限于a区, GA<sub>3</sub>不仅能增加a区表皮细胞切线向T型MT的数目, 而且也使原先非伸长的b和c区中T型MT的数目增加, 结果*d<sub>5</sub>*的中胚轴显著伸长。黄瓜下胚轴的伸长速度也与表皮细胞中T型MT的百分率呈正相关。

GAs可使MT从L型向T型转变。GAs生物合成的氧化抑制剂S<sub>3307</sub>(烯效唑), 在长日条件下可促使洋葱叶鞘细胞的MT由T型向L型和O型转变, 从而促进细胞横向扩张(细胞数目不增加); GAs则可逆转这种效应。切根处理由于阻断了根源性GAs的供应, 也使MT由T型向L型转变<sup>[3]</sup>。

而 Sakoda 等<sup>[14]</sup>观察到 GAs 只对 CMF 已经是 T 型排列的细胞起促进作用, 且 CMF 的沉积方向平行于细胞中 MT 的排向, 而对那些 CMF 已经是 O 型排列的细胞则无促进伸长的效应。

CTKs 对细胞的伸长则有阻碍作用, 它促进细胞的横向扩张。激动素可促进小红豆上胚轴切段表皮细胞中 L 型 MT 数目增加, 新合成的 CMF 的排向也呈现出同样的趋势<sup>[15]</sup>。乙烯也可抑制大多数植物的细胞伸长, 促进细胞的肥大。乙烯可使豌豆幼茎细胞中的 T 型 MT 转变为 L 型, 同时, 也能使细胞壁中的 CMF 排向发生改变, 因而有更多的 CMF 在纵向壁上沉积, 细胞伸长受抑后, 横向即容易延伸<sup>[16]</sup>。Geitmann 等<sup>[17]</sup>发现伤害会引起豌豆根中受伤表皮细胞的微管重新排向, 从而引起伸长方向和分裂平面的改变, 但用氨基乙烯基甘氨酸(AVG)可抑制伤害引起的乙烯合成, 并不改变伤害造成的微管重新排向。这提示可能有其它非乙烯的因素参与此时的微管重排。

一般来说, 细胞的伸长需要 GAs 和生长素同时存在, 两者之间有协同效应, 这种协同效应在 GAs 预先处理时更为明显; 生长素可辅助 GAs 促进细胞伸长, 使 T 型 MT 的数目增加<sup>[18]</sup>。生长素主要在茎尖合成, 切除茎尖端幼叶的鞘表皮细胞中 MT 比正常幼叶鞘中的 L 型多些, 外源 IAA 处理促进 T 型 MT 的数目增加。IAA 与激动素一起处理小红豆上胚轴切段表皮细胞时, 切线向 L 型 MT 的数目增加; 而 IAA 与 GAs 一起处理时, 则促进 T 型 MT 的数目增加。Mayumi 和 Shibaoka<sup>[19]</sup>、Takesue 和 Shibaoka<sup>[20]</sup>也发现生长素是 MT 从 L 型向 T 型转变所必需的, 但同时他们还观察到, 在生长素处理时 MT 从 L 型向 T 型转变, 随后又会由 T 型向 L 型转变, GA<sub>3</sub> 结合生长素处理则抑制 MT 从 T 型向 L 型转变。

ABA 可拮抗 GAs 对细胞伸长的促进作用, ABA 可促进 L 型 MT 的数目显著增加, 并能消除 GAs 所诱导的 T 型 MT。GAs 与 ABA 同时处理黄瓜下胚轴时, ABA 促进皮层细胞 L 型 MT 数目增加的效应受抑制; GAs 处理后再施以 ABA, 则 GAs 促进伸长的效应降低, 部分 T 型 MT 转变为 L 型<sup>[6, 9]</sup>, GAs 促进光下生长的黄瓜下胚轴表皮细

胞的细胞切线向和径向 T 型 MT 的数目, 并降低 O 型和 L 型 MT 的数目, 而 ABA 则能增加 O 型和 L 型 MT 并减少 T 型 MT 的百分率。此外, 干旱胁迫下, 内源 ABA 含量大幅度上升, 此时黄瓜下胚轴生长受抑, 其表皮细胞中 L 型 MT 的数目增加<sup>[16, 21]</sup>。MT 在 0~4℃ 的低温下往往会发生解聚, ABA 处理后形成的 L 型 MT 对冷是稳定的, 而经 GAs 处理后形成的 T 型 MT 则是对冷敏感的。这种差异可能与 MT 的解聚与聚合有关。ABA 还能通过控制保卫细胞而非表皮细胞周质微管的解聚来调节气孔的开闭<sup>[22]</sup>。

### 3 细胞的生长与微管组合和排向的关系

如前所述, 植物激素可以通过改变微管的排向进而控制 CMF 在细胞壁中的排向, 排向上的差异决定着细胞的扩张或延伸方向。在伸长中的细胞内, 细胞壁里所沉积的 CMF 与伸长轴互相垂直, 而细胞壁中新形成的成圈的 CMF 则限制生长中细胞宽度的再增加, 而膨压则促进细胞长度的增加。JA 和 MeJA 则通过使微管解聚而促进鳞茎膨大<sup>[8]</sup>。

植物激素对微管重新排向的机制尚不清楚。用转录抑制剂放线菌素 D 可以抑制 GAs 对 MT 重新排向的作用, 因此 GAs 所诱导的 mRNA 合成过程可能参与微管的重新排向<sup>[12]</sup>。GA<sub>3</sub> 处理 6 h 后能使燕麦节间细胞中  $\beta$ -微管蛋白的转录量达到未经 GA<sub>3</sub> 处理的 5~6 倍, 这种变化发生在赤霉素促进细胞伸长之前<sup>[11]</sup>。GA<sub>3</sub> 还可诱导豌豆矮化突变体 (*Ie*) 茎秆的伸长, 使 MT 从 O 型和 L 型向 T 型转变, 同时伴随着  $\alpha$ -微管蛋白同型体 (isotype) 的增加, 生长停止后 MT 又转变为 O 型<sup>[23]</sup>。Huang 和 Lloyd<sup>[24]</sup>首次报导, GA<sub>3</sub> 在增加玉米悬浮细胞低温时微管冷稳定性的同时, 还促进  $\alpha$ -微管蛋白的乙酰化。ABA 明显降低玉米悬浮细胞  $\alpha$ - 和  $\beta$ - 微管蛋白 mRNA 的积累, 但对蛋白水平无影响; 加入 IAA 能逆转 mRNA 水平的下降<sup>[23]</sup>。BRs 在促进细胞伸长的同时, 也可促进玉米表皮细胞中 T 型 MT 数目的增加以及  $\beta$ -微管蛋白基因的表达<sup>[24]</sup>。因此认为, 微管蛋白基因的表达也可能参与微管的重新排向。此外, 可能还涉及到微管蛋白的翻译后修饰<sup>[25]</sup>。

Murchison和Kirsches<sup>[26]</sup>确认洋葱叶鞘细胞膨大导致鳞茎形成过程中包括MT的解聚。但Fujino等<sup>[27]</sup>研究马铃薯侧枝的近顶端区组织从伸长转为膨大时, 只看到MT从T型向L型的转变。Koda<sup>[28]</sup>用MeJA气体 $[2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot (300 \text{ mL})^{-1}]$ 处理马铃薯侧枝24 h后, 其伸长量下降42%, 尽管也可看到MT从T型转变为L型, 但却看不到预期中的细胞扩展以及结薯现象。这提示除了MT排向的改变之外, 还需有其他生理过程的配合, 才能引起细胞扩展。

#### 4 展望

综上所述可以确证, MT和CMF的排向是与细胞生长偶联在一起的。根尖中MT排向的改变发生在2 h内, 这是植物激素诱导的快速反应与MT排向相关的一个有力证据。用生长素处理萝卜下胚轴后, 表皮细胞的MT在15 min内就可以重新排向, 而生长素促进下胚轴伸长的效应要在30 min后才能发生。当用天然生长抑制剂萝卜宁(raphanusanin)抑制生长素促进细胞伸长作用时, MT在30 min内即由T型转变为L型, 而萝卜宁抑制伸长的效应则发生在60 min之后<sup>[28]</sup>。这种认为MT重新排向在细胞伸长出现改变之前的看法, 支持了Sakoda<sup>[14]</sup>的MT重新排向调节细胞伸长的看法。但MT和CMF在所有组织中排向的改变是否都发生在生长之前, 目前仍存在争论。甚至对MT与CMF排向之间的关系, 也有一些疑问<sup>[29]</sup>, 曾有人发现一些MT与CMF方向不一致的现象<sup>[30]</sup>。即MT与CMF方向相同, 也不能成为MT决定CMF排向的确证。根据已有的研究结果推测, 可能存在一种物质介导纤维素合成酶沿着MT移动, 从而在质膜外侧合成CMF, 但这仍有待证实。总之, 植物激素对MT和CMF排向的调节及其与细胞生长的关系仍有待深入研究。为此, 用微注射法和激光共聚焦扫描电镜检测等新技术, 对活细胞中植物激素所引起的MT排向改变的效应进行直接和三维的观察, 将会进一步推动MT作用机制的研究。许多环境因素, 如光照、伤害、外加场(电场、磁场、机械力场等)对微管排向的调节, 很难简单地用植物激素的作用来解释, 其中可能还涉及其它信号转导过程<sup>[31]</sup>。此外, 新近

兴起的植物微管结合蛋白和植物微管组织中心等研究, 也将可能有利于人们从另一个角度去阐明植物激素作用在其中的分子机制。

#### 参考文献

- 1 Fosket DE, Morejohn LC. Structural and functional organization of tubulin. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43:201~240
- 2 Lloyd CW. Towards a dynamic helical model for the influence of microtubules on wall patterns in plants. *Cytol*, 1984, 86:1~51
- 3 Margolis RL, Wilson L. Microtubule treadmills—possible molecular machinery. *Nature*, 1981, 293:705~711
- 4 Sackets DL, Lipoid RE. Thermodynamics of reversible monomer-dimer association of tubule. *Biochem*, 1991, 30:3511~3517
- 5 Hush JM, Overall RL. Electrical and mechanical fields orient cortical microtubules in higher plant tissues. *Cell Biol*, 1991, 15(7):551~560
- 6 Shibaoka H, Nagai R. The plant cytoskeleton. *Curr Opin Cell Biol*, 1994, 6(1):10~15
- 7 Stager CJ, Lloyd CW. The plant cytoskeleton. *Cell Biol*, 1991, 3:33~42
- 8 Sassed J, Vesicle M. Equilibrium of anionic and cationic surfactant mixture studied by surface tension, languor. In: Sakurai A, Yoked T, Clouse SD (eds). *Brassinosteroids—Steroidal Plant Hormones*. Tokyo: Springer, 1999. 137~161
- 9 Shibaoka H. Regulation by gibberellins of the orientation of cortical microtubules in plant cells. *Aust J Plant Physiol*, 1993, 20:461~470
- 10 Giddings TH, Stealing LA. Microtubule-mediated control of microfibril deposition a re-examination of the hypothesis. In: Lloyd CW (ed). *The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form*. London: Academic Press, 1991. 127~129
- 11 Mede N, Sallow CD. Elevated levels of tubule transcripts accompany the GA<sub>3</sub>-induced elongation of oat internodes segments. *Plant Cell Physiol*, 1993, 34(7): 973~983
- 12 Kaneta T. Actinomycin D inhibits the GA<sub>3</sub>-induced elongation of azuki bean epicotyls and the reorientation of cortical microtubules. *Plant Cell Physiol*, 1993, 34(7): 1125~1132
- 13 Katsumi M, Ishida K. Immunofluorescence microscopic observations of cortical microtubule arrangement as affected by gibberellins in d<sub>5</sub> mutant of *Zea mays* L. In: Takahashi N, Piney BO, Macmillan J (eds). *Gibberellins*. New York: Springer-Verlag, 1991. 211~219
- 14 Sakoda M, Hasegawa K, Ishizuka K. Mode of action of natural growth inhibitors in radish hypocotyl elongation—in-

- fluence of raphanusanin on auxin-mediated microtubule orientation. *Physiol Plant*, 1992, 84(4):509~513
- 15 Sauter M, Seagull RW, Kende H. Internodes elongation and orientation of cellulose microfibrils and microtubules in deep-water rice. *Planta*, 1993, 190(3):354~362
- 16 Shibaoka H. Plant hormone-induced changes in the orientation of cortical microtubules: alterations in the cross-linking between microtubules and the plasma membrane. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1994, 45:527~544
- 17 Geitmann A, Hush JM, Overall RL. Inhibition of ethylene biosynthesis does not block microtubule re-orientation in wounded pea roots. *Protoplasma*, 1997, 198:135~142
- 18 Zandomeni K, Schopfer P. Reorientation of microtubules at the outer epidermal wall of maize coleoptiles by phytochrome, blue-light photoreceptor and auxin. *Protoplasma*, 1993, 173:103~112
- 19 Mayumi K, Shibaoka H. The cyclic reorientation of cortical microtubules on walls with a crossed polylamellate structure: effects of plant hormones and an inhibitor of protein kinases on the progression of the cycle. *Protoplasma*, 1996, 195:112~122
- 20 Takesue K, Shibaoka H. The cyclic reorientation of cortical microtubules in epidermal cells of azuki bean epicotyls: the role of actin filaments in the progression of the cycle. *Planta*, 1998, 205:539~546
- 21 Sakiyama-Sogo M, Shibaoka H. Gibberellin A<sub>3</sub> and abscisic acid cause the reorientation of cortical microtubules in epicotyl cells of the decapitated dwarf pea. *Plant Cell Physiol*, 1993, 34:431~437
- 22 Jiang CJ, Nakajima N, Kondo N. Disruption of microtubules by abscisic acid in guard cells of *Vicia faba* L. *Plant Cell Physiol*, 1996, 37(5):697~701
- 23 Duckett CM, Lloyd CW. Gibberellin acid-induced microtubule reorientation in dwarf peas is accompanied by rapid modification of an  $\alpha$ -tubulin isotype. *Plant J*, 1994, 5(3):363~372
- 24 Huang RF, Lloyd CW. Gibberellin acid stabilises microtubules in maize suspension cells to cold and stimulates acetylation of  $\alpha$ -tubulin. *FEBS Lett*, 1999, 443:317~320
- 25 Giani S, Qin XQ, Faoro F. In rice, oryzalin and abscisic acid differentially affect tubulin mRNA and protein levels. *Planta*, 1998, 205:334~341
- 26 Murchison T, Kirsches M. Dynamic instability of microtubule growth. *Nature*, 1984, 312:237~242
- 27 Fujino K, Koda Y, Kikuta Y. Reorientation of cortical microtubules in the sub-apical region during tuberization in single-node stem segments of potato in culture. *Plant Cell Physiol*, 1995, 36:891~895
- 28 Koda Y. Possible involvement of jasmonates in various morphogenic events. *Physiol Plant*, 1997, 100:639~646
- 29 Yuan M, Shaw PJ, Warn RM et al. Dynamic reorientation of cortical microtubules, from transverse to longitudinal, in living plant cells. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91:6050~6053
- 30 Williamson RE. Orientation of cortical microtubules in interphase plant cell. *Int Rev Cytol*, 1991, 129:135~205
- 31 Hush JM, Overall RL. Electrical and mechanical fields orient cortical microtubules in wounded pea roots. *J. Cell Sci*, 1991, 96:47~61