

研究报告 Original Papers

拟南芥低磷诱导根构型重塑不敏感突变体*ipr1*的筛选和初步分析

隋立乾, 刘栋*

清华大学生命科学学院, 北京100084

摘要: 植物在缺磷条件下, 会做出一系列的应答反应以维持自身磷稳态, 其中一个重要的应答反应是根构型重塑。本文报道一个对低磷胁迫诱导的根构型重塑表现为不敏感的拟南芥突变体*ipr1*。对*ipr1*的生长和生理表型的分析表明, *IPR1*只参与了局部的低磷信号对植物生长发育的调控。*als3*是一个对低磷胁迫诱导根构型重塑超敏的突变体, 其突变表型是由于其根部表面超积累 Fe^{3+} 引起的。与之相反, *ipr1*根表面较野生型积累较少的 Fe^{3+} 。遗传分析表明, *IPR1*作用于*ALS3*下游, 通过调控根表面积累的 Fe^{3+} 水平来影响植物对低磷胁迫的敏感性。*ipr1*突变体为进一步解析低磷胁迫诱导根构型重塑的分子机制提供了理想的实验材料。

关键词: 低磷胁迫; 根构型重塑; *ipr1*; Fe^{3+} 积累

作为植物体内重要的营养元素之一, 磷对于植物的生长和发育起着至关重要的作用。磷是植物体内核酸、磷脂、蛋白质等生物大分子的重要组分, 并且参与呼吸作用、酶活调控、能量代谢、信号转导等重要的生理生化过程(Rausch和Bucher 2002)。在土壤中, 磷以无机磷酸根的形式被植物吸收。尽管土壤中的磷元素含量比较丰富, 但是由于绝大部分磷会与金属离子反应形成难溶的磷酸盐沉淀, 或被土壤中的微生物转化为有机磷, 因而无法被植物有效利用, 最终严重影响作物的产量和品质(Vance等2003)。

在长期的进化过程中, 植物形成了一系列响应低磷胁迫的应答反应, 以更好地在磷素缺乏的环境中生存和生长(López-Arredondo等2014)。这些应答反应包括根构型重塑, 以提高磷的吸收能力; 增加有机酸的合成及分泌, 进而释放出土壤中的无机磷(Jones 1998); 增加酸性磷酸酶(acid phosphatase, APase)和核酸酶的分泌, 以释放有机磷化合物中的磷酸根供植物利用; 高亲和性磷转运蛋白的表达增加, 提高植物对磷的吸收效率(Furhata等1992); 花青素和淀粉合成增加, 保护核酸和叶绿体不受到紫外线的伤害; 此外, 在低磷胁迫下, 大量的基因表达发生了变化。这些都有助于增加磷的吸收, 调整植物体内磷的分配, 促进磷的回收和利用(Wu等2003; Mission等2005)。

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)作为一种模式生物已被许多实验室用来研究植物应对低磷胁迫的分子机制。在低磷条件下, 拟南芥的主根生长受到

抑制, 而侧根生长和根毛形成则受到促进(Sanchez-Calderon等2005)。对拟南芥突变体和野生型的转录组研究发现, 在低磷胁迫下, 拟南芥主根变短主要受到局部信号调控, 而与植物体内的磷含量无关(Ticconi等2004; Thibaud等2010); 而且这种调控作用依赖于铁的存在(Hirsch等2006; Ward等2008)。有假说认为, 在低磷胁迫下, 植物根细胞积累较多的铁, 可能导致产生较多的活性氧(reactive oxygen species, ROS), 从而增强了细胞壁各组分的交联, 影响细胞的伸长(Müller等2015)。但目前对低磷胁迫诱导根构型重塑的分子机制还不十分清楚。

Svistoonoff等(2007)通过正向遗传学筛选到一个拟南芥突变体*lpr1* (*low phosphate root 1*)。拟南芥中*LPR1*及其同源蛋白*LPR2*具有亚铁氧化酶活性, 能够将组织中的 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} 。*lpr1 lpr2*双突变体的主根生长对低磷胁迫不敏感, 并且根部积累较少的 Fe^{3+} (Müller等2015)。本实验室之前通过遗传筛选, 得到一个对低磷胁迫诱导根构型超敏的突变体*hps10* (*hypersensitive to Pi starvation 10*) (Dong等2017)。基因克隆表明*HPS10*即为以前被报道过的参与调控植物耐铝过程的的*ALS3* (*ALUMINUM SENSITIVE 3*)基因(Larsen等2005)。*ALS3*编码一个ABC转运子。我们的研究发现*als3*在低

收稿 2017-06-15 修定 2017-07-20

资助 国家自然科学基金面上项目(31670256)。

* 通讯作者(E-mail: liu-d@mail.tsinghua.edu.cn)。

磷下积累过量的 Fe^{3+} , 并且其对低磷胁迫超敏的表型和根部 Fe^{3+} 的超积累呈直接的因果关系(Dong等2017)。遗传分析表明, *ALS3*与*LPR1/LPR2*作用于同一调控途径, 且*ALS3*位于*LPR1/LPR2*的上游。

为了进一步鉴定参与低磷胁迫诱导根构型重塑的关键基因, 我们继续进行了大规模的突变体筛选, 获得了一个低磷条件下其主根生长不受抑制的突变体*ipr1* (*insensitive phosphate root 1*), 并对其进行了初步分析, 结果报道如下。

材料与方法

1 植物材料

植物材料采用拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.) Columbia (Col-0)生态型。突变体*als3*为本实验室保存。

2 实验方法

2.1 拟南芥的培养

适量的拟南芥种子用20% (V/V)漂白水浸泡, 并置于翻转摇床消毒10~15 min后转移到超净工作台中, 用无菌超纯水清洗3遍后加入无菌的0.15% (W/V)琼脂混匀。然后用1 mL移液枪头将种子逐粒点播在正常培养基(1/2MS培养基, 本文中称为P+培养基)或低磷培养基(1/2MS培养基, 其中的 K_2HPO_4 被 K_2SO_4 所替代, 本文中称为P-培养基)上, 用Parafilm膜对平皿封口。4°C避光处理2~3 d后, 将其竖直放置于植物培养间培养。培养间的生长条件为: 22~24°C、16 h/8 h昼夜交替、光照强度 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。平板上的苗7 d后可移栽于营养土和蛭石混匀的土壤中继续培养。

2.2 拟南芥突变体的筛选

以之前实验室用拟南芥Col-0生态型为背景构建的甲基磺酸乙酯(ethyl methanesulfonate, EMS)突变体库为材料, 进行突变体的筛选。将这些突变体库的 M_2 代种子与Col-0一同铺在P-培养基上, 生长8 d后挑选主根长度比野生型更长的突变体, 将得到的突变体与野生型连续回交3代后用于进一步实验。

2.3 拟南芥根系结构观察和分析

对生长3~8 d的植物每天进行拍照, 之后利用Digimizer软件测量主根长度。对根毛密度和长度进行统计时, 将生长8 d的植物置于体视镜(SZ61,

Olympus)下, 选取根尖向上第2到第3毫米之间的1 mm区域, 统计根毛数目, 并测量根毛长度。

2.4 根表面APase活性的分析

参照Wang等(2011)方法, 用吸管将浓度为0.01% (W/V)的APase底物5-溴-4-氯-3-吲哚基-磷酸盐(5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate, BCIP)均匀覆盖在第8天苗的根部, 室温放置约4~5 h, 之后用体视镜拍照记录根部蓝色程度, 越深表明根表面APase活性越高。

2.5 花青素含量测定

剪取第8天苗叶子, 称重后加入1 mL花青素提取液(丙醇:HCl:H₂O=18:1:81), 常温避光过夜。用分光光度计测定 A_{530} 和 A_{650} 。植物中的花青素含量= $(A_{530}-A_{650})/\text{鲜重}$ 。

2.6 细胞无机磷含量和总磷含量测定

参照Ames (1966)方法, 将第8天苗的根叶分开, 分别称重后各自加入1 mL 1% (V/V)冰醋酸, 在液氮和65°C反复冻融10次。取100 μL 冻融液, 按照Wang等(2011)方法测定细胞内无机磷和总磷含量。

2.7 拟南芥总RNA提取、反转录以及定量PCR分析

利用Magen公司常规植物样品总RNA小量抽提试剂盒(R4151)提取拟南芥的总RNA, 之后测定RNA浓度, 选取 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 在1.8~2.0之间, 同时 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{230}$ 大于2.0的RNA进行反转录。利用TaKaRa公司的M-MLV反转录酶, 按照提供的技术手册进行反转录。使用TaKaRa公司的SYBR Premix Ex Taq试剂盒进行实时荧光定量PCR实验, 仪器为Bio-Rad公司生产的CFX96 Real-time PCR仪, 拟南芥*ACTIN2*基因的表达量为内参, 每个样品设置3个生物学重复。实验所需引物见表1。

2.8 拟南芥根部铁的组织化学检测

参照Roschztardt等(2009)的方法, 取第8天苗根尖向上1 cm左右, 完全浸没在普鲁士蓝染色液[4% (V/V) HCl、4% (W/V)亚铁氰化钾]中30 min。之后吸掉染色液, 超纯水洗2遍。载玻片上滴加30 μL 透明液, 放上材料后制片, 显微镜下观察拍照。

实验结果

1 *ipr1*突变体的筛选及根系结构分析

为了鉴定参与低磷胁迫诱导根构型变化的关

表1 实时荧光定量PCR所用的引物

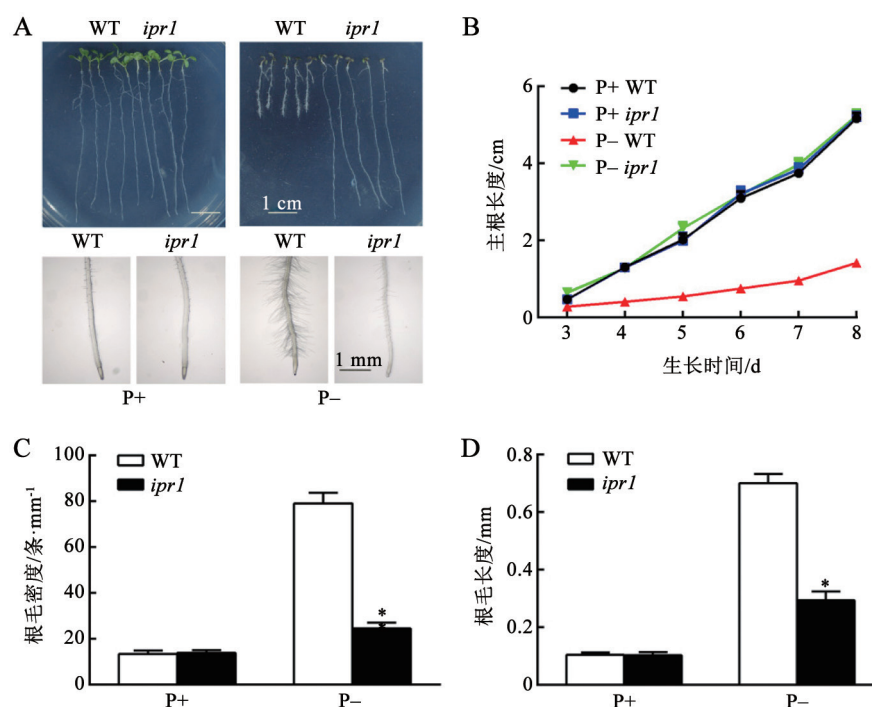
Table 1 Primers used for quantitative real-time PCR

基因名称	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
<i>ACTIN2</i>	GACCTTGCTGGACGTGACCTTAC	TAGTCAACAGCAACAAAGGAGAGC
<i>IPS1</i>	AGACTGCAGAAGGCTGATTCAGA	TTGCCCAATTTCTAGAGGGAGA
<i>ACP5</i>	CTTAAGTCCTATTGCAGGCTAGGT	TTGCTAAAAATGATAGGGATGCT
<i>RNS1</i>	TTGTTATCCAAATTCAGGCAAAA	AGTTAGGCCAAAGACCATGAAT
<i>AtPT1</i>	TGATGATCTTGTGCTCTGTCCG	ATGACACCCTTGGCTTCGT
<i>AtPT2</i>	CGAAGCTCCTCGGTCTGAT	GGAGAGTCCCAGGCTTTTGT
<i>miR399D</i>	AATACTCCTATGGCAGATCGCATTGG	TCCTTTGGCAGAGAAGCATTCTTACTTG

键调控因子, 我们对实验室之前构建的拟南芥 EMS突变体库进行了筛选。在P-培养基上筛选这些经EMS诱变的植株, 得到一个低磷条件下相对于野生型其主根生长抑制不敏感的突变体*ipr1*。在P+培养基上生长8 d后, *ipr1*突变体的根(包括主根长度、根毛的长度和密度)和叶的形态与野生型没有明显差别。但是, 在P-培养基上生长8 d后, *ipr1*突变体的主根长度和其在P+培养基上生长时相似, 而根毛长度和密度则明显低于野生型(图

1-A~D)。以上结果表明*ipr1*突变体对低磷胁迫诱导的根构型重塑不敏感。

将*ipr1*和野生型植物进行回交。所得到的F₁植株在P-培养基上生长, 都显示为野生型的表型。从F₁自交植株上, 收获F₂种子, 并点播于P-培养基上, 8 d后观察根系生长表型。结果显示其中野生型和突变体表现出153:58的分离。以上结果均表明*ipr1*的突变表型是由单个基因的隐性突变引起的。

图1 野生型和*ipr1*突变体的根系生长表型Fig. 1 Root development of wild type and *ipr1* seedlings

A: P+和P-培养基上生长8 d的野生型(WT)和*ipr1*突变体, 下方是放大后观察到的野生型和*ipr1*的根尖形态; B: P+和P-培养基上生长3~8 d的野生型和*ipr1*的主根长度变化; C和D: 对A的根毛密度和长度进行统计分析。B、C和D中显示的是3次生物学重复实验的统计结果, 每个样品每次统计15条根或根毛, 误差线代表s。*表示与同样条件下的野生型相比差异显著($P < 0.05$, *t*-test)。

2 *ipr1*在低磷胁迫下根表面APase活性降低

在低磷环境下,植物会诱导产生和分泌大量的APase到根表面或根周围,从而分解土壤中的有机磷得到植物可以吸收利用的无机磷(Duff等1994)。BCIP作为一种有机磷化合物,能够被根表面的APase分解,产物呈现蓝色,因而可以通过蓝色的深浅判断APase活性的高低。由图2-A可见,*ipr1*和野生型在P+下根部呈现为白色;在P-条件下,*ipr1*根部的蓝色相对于野生型较浅。这说明*ipr1*根表面APase活性在低磷胁迫下较野生型低,表现为对低磷胁迫不敏感。

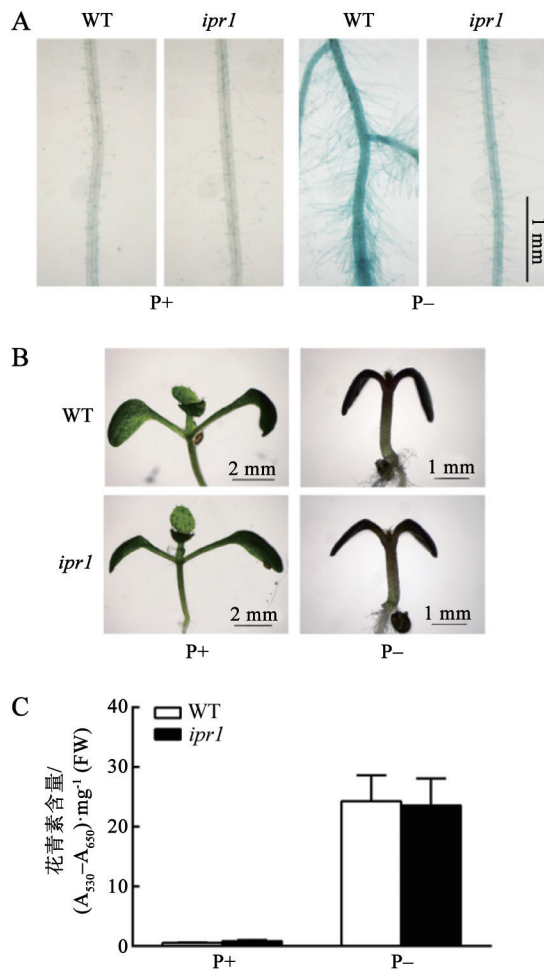


图2 野生型和*ipr1*根表面的APase活性及花青素的累积情况
Fig.2 Root-associated APase activity and anthocyanin accumulation in the wild type and *ipr1*

A: P+和P-培养基上生长8 d的野生型(WT)和*ipr1*的BCIP染色情况; B: 野生型和*ipr1*在P+和P-培养基上生长8 d后,将叶片置于体视镜下观察拍照; C: 对B的花青素含量进行测定。图中数据是3次生物学重复实验的统计结果,误差线代表s。

3 在低磷胁迫下*ipr1*叶片中花青素的积累与野生型相似

低磷胁迫下,植物会积累较多的花青素来防止紫外线对体内核酸的损伤,并减弱光照对叶绿体膜的破坏(Stewart等2001)。如图2-B所示,在P+和P-条件下,*ipr1*和野生型在叶片中的花青素积累并没有显著差别。二者在P-条件下,叶片都呈相似程度的紫红色。花青素定量测定也证实了这一结果(图2-C)。这表明*ipr1*在花青素积累方面与野生型表现出对低磷胁迫相似的敏感性。

4 在低磷胁迫下*ipr1*无机磷及总磷含量与野生型相似

在缺磷环境下,植物需要重新调整体内磷的分配从而保持磷的稳态,保证自身生长发育。为了确定*ipr1*突变体磷含量是否发生变化,我们对*ipr1*和野生型根及叶中的无机磷和总磷含量进行测定。如图3-A和B所示,在P+和P-下,*ipr1*根和叶中无机磷以及总磷含量与野生型相比并没有显著

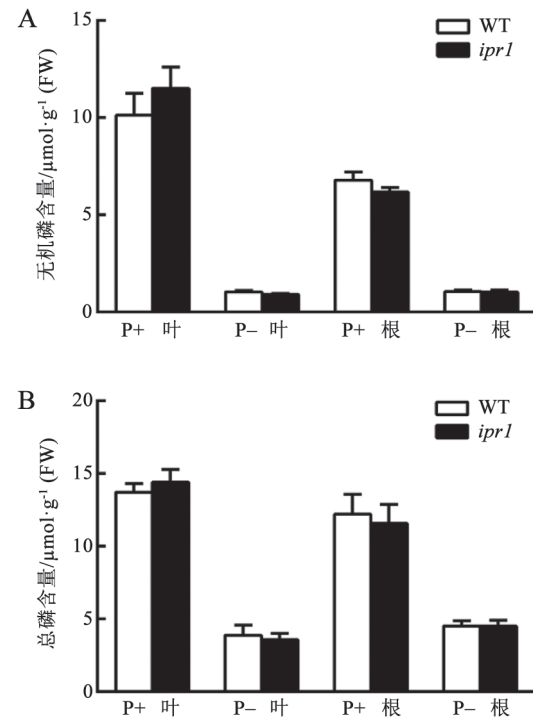


图3 野生型和*ipr1*的无机磷和总磷水平
Fig.3 Cellular Pi and total phosphorus contents in the wild type and *ipr1*

P+与P-培养基上生长8 d的野生型(WT)和*ipr1*根和叶中的无机磷含量(A)和总磷含量(B)。图中数据是3次生物学重复实验的统计结果,误差线代表s。

性差别,表明*ipr1*突变并没有影响植物体内磷的稳态平衡。

5 低磷胁迫诱导的标志基因表达在*ipr1*中未发生显著变化

低磷环境下,植物体内一些受低磷胁迫诱导(phosphate starvation-induced, *PSI*)的基因表达显著升高。这些*PSI*基因表达的高低能够在一定程度上反映植物对低磷胁迫的响应程度。我们在本研究中利用实时荧光定量PCR技术对6个典型的*PSI*基因表达量进行了测定。这些受检测的*PSI*基因包括:高亲和性磷转运蛋白基因*PHT1;1* (*AtPT1*)和*PHT1;4* (*AtPT2*)、APase基因*ACP5*、核酸酶基因*RNS1*、*microRNA*基因*miR399D*和非编码基因

IPS1。实验结果表明,P-条件下,*ipr1*和野生型根中的这6个*PSI*基因都受到了不同程度的诱导。*IPS1*、*AtPT1*和*AtPT2*这3个基因的诱导程度在突变体和野生型中没有明显差异,*miR399D*在*ipr1*中的诱导程度略高于野生型,而*ACP5*和*RNS1*的诱导程度略低于野生型。但总体来说,*ipr1*在低磷胁迫诱导基因的表达方面与野生型相比并没有很显著的差异(图4)。

6 *ipr1*在低磷胁迫下根部 Fe^{3+} 积累降低

之前,Müller等(2015)的研究表明,对低磷胁迫不敏感的突变体*lpr1*根部积累较少的 Fe^{3+} ,而我们实验室的研究发现对低磷胁迫超敏的*als3*突变体根部积累较多的 Fe^{3+} (Dong等2017)。因此,我们

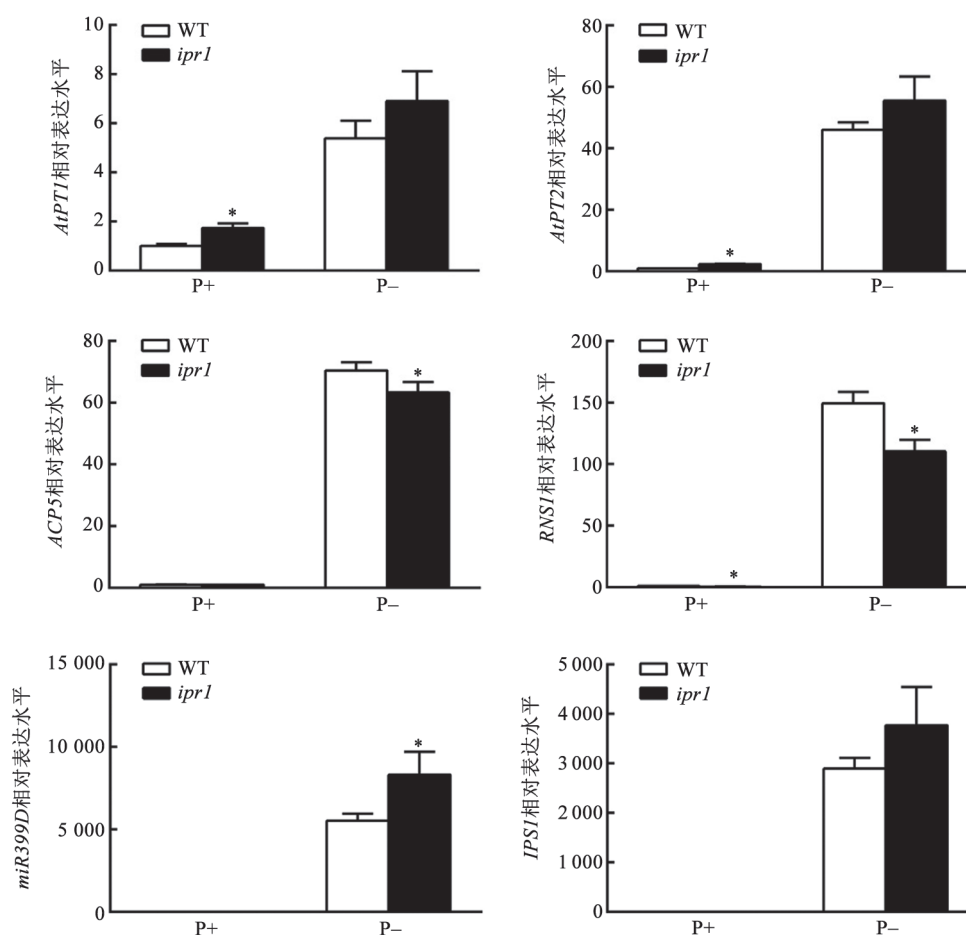


图4 野生型和*ipr1*中6个*PSI*基因的相对表达水平

Fig.4 Analyses of expression of six *PSI* genes in the wild type and *ipr1*

野生型(WT)和*ipr1*在P+和P-培养基上生长8 d后,提取根部总RNA,反转录后利用实时荧光定量PCR对根中的*PSI*基因表达进行测定。分析数据时,将P+条件下野生型中*PSI*基因的表达值设为1。图中数据是3次生物学重复实验的统计结果,误差线代表s。*表示与同样条件下的野生型相比差异显著($P < 0.05$, *t*-test)。

想了解*ipr1*根部积累 Fe^{3+} 的情况是否也发生了改变。通过Perls染色实验,我们发现P+下,*ipr1*和野生型根部的 Fe^{3+} 积累并没有显著差别,染色均出现在静止中心以及周围的干细胞区域,与之前我们报

道的结果一致(Dong等2017)。P-条件下,二者根尖分生区均检测不到 Fe^{3+} 。野生型的Perls染色主要显示在成熟区,然而*ipr1*成熟区的染色相对于野生型明显较浅,说明其根表面 Fe^{3+} 积累较少(图5)。

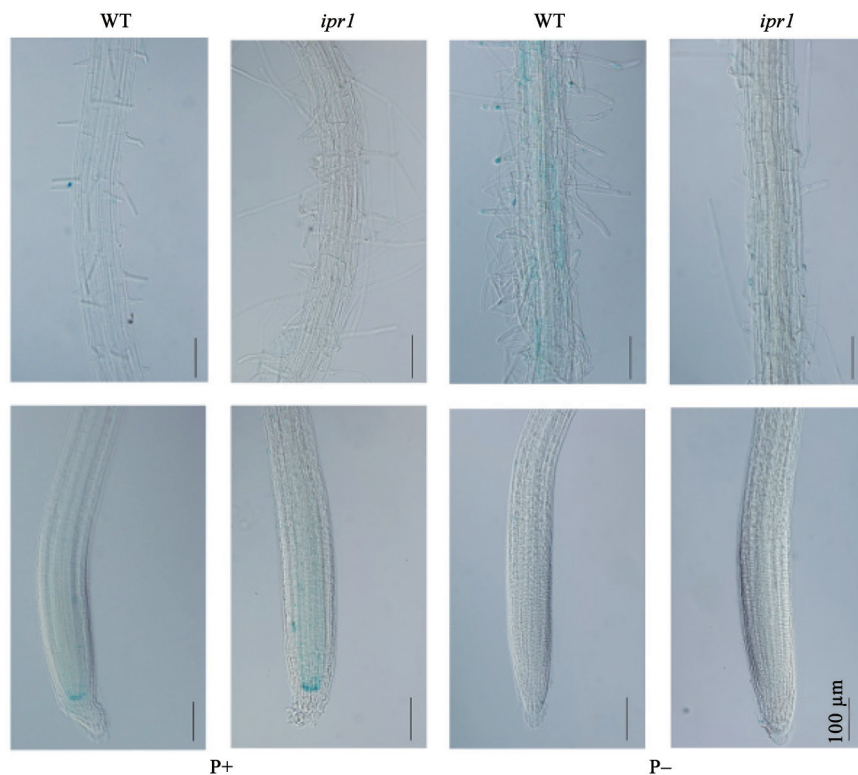


图5 野生型和*ipr1*根表面 Fe^{3+} 积累情况

Fig.5 Accumulation of Fe^{3+} on the root surface of the wild type and *ipr1*

野生型(WT)和*ipr1*在P+和P-培养基上生长8 d后,切取根部进行Perls染色。图中上排和下排分别为根成熟区和根尖。标尺=100 μm 。

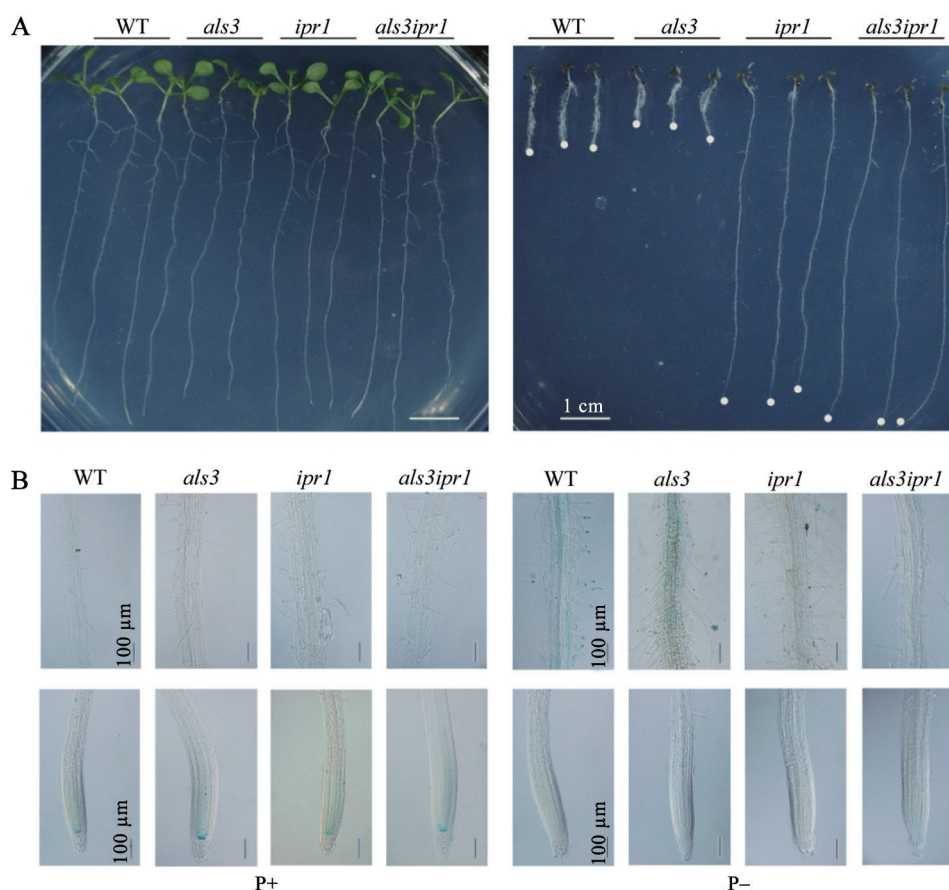
7 *IPR1*作用于*ALS3*的下游调控根部 Fe^{3+} 的积累

由于*IPR1*和*ALS3*都影响植物根部 Fe^{3+} 的积累和低磷胁迫对根构型的重塑,我们希望确定二者是否作用于同一调控途径及其上下游之间的关系。为此,我们将两个突变体进行杂交来构建双突变体*als3ipr1*。从图6-A中可以看出,在P+条件下,野生型、*als3*、*ipr1*和*als3ipr1*的根系表型基本没有差异;在P-条件下,*als3*的主根较野生型短且根毛较多,*ipr1*的主根生长则不受抑制,且根毛较少。而*als3ipr1*双突变体则具有与*ipr1*相似的主根长度,根毛也明显较野生型少,说明*ipr1*的突变能够完全抑制*als3*对低磷胁迫的超敏表型。图6-B中的Perls染色显示,在P-条件下,这4种植物的 Fe^{3+} 主要分布在成熟区。其中,*als3*染色最深,说明其 Fe^{3+}

积累过量,而*ipr1*和*als3ipr1*成熟区的蓝色相似,且相对野生型较浅,说明其 Fe^{3+} 积累较少。以上实验结果表明,*ALS3*和*IPR1*作用于同一调控途径,且*ALS3*在遗传学上作用于*IPR1*的下游。

讨 论

根构型重塑是植物对低磷胁迫所做的一个主要的形态发育反应,包括主根生长的抑制、侧根数目的增加和根毛形成的增强。这一适应性应答反应被认为能增加植物根系接触土壤的表面积,提高对表层土壤中磷素的吸收能力。过去大量的遗传学证据表明,低磷下根系发育的改变并非是由于营养缺乏所造成的一种被动伤害,而是植物对营养逆境所做出的一种主动的细胞生物学反应。这一过

图6 野生型和不同突变体幼苗的生长表型及根部Fe³⁺积累情况Fig.6 Growth behaviors and Fe³⁺ accumulation in roots of the wild type and various mutants

A: P+和P-培养基上生长8 d的野生型(WT)、*als3*、*ipr1*和*als3ipr1*的幼苗生长表型。右图中的白色圆点表示主根根尖的位置。标尺=1 cm。
B: 对A中各类植物切取根部进行Perls染色。图中上排和下排分别为根成熟区和根尖。标尺=100 μm。

程牵涉到植物是如何感知外界磷浓度的变化,并将这种信号传递到细胞核,引起基因表达的改变,从而最终导致根构型重塑。但是目前对于调控这一过程的分子机制还缺乏深入的了解。

为了鉴定参与低磷胁迫诱导根构型重塑的关键分子组分,过去许多实验室利用拟南芥为模式植物,通过正向遗传学筛选获得了大量对低磷胁迫响应异常的突变体。对这些突变体进行分子遗传学分析,发现植物激素如生长素、赤霉素和乙烯等及一些转录因子都对植物的根构型重塑有影响(López-Bucio等2002; Jiang等2007; Mayzlish-Gati等2012; Devaiah等2009)。但由于这些突变体在正常生长条件下,其生长发育也表现为异常,因而所鉴定到的这些影响根构型重塑的基因,其作用并非是非低磷胁迫专一性的。而*ipr1*在P+条件下,其生

长发育和野生型并无明显区别,只在P-条件下才表现出脱敏反应,说明*IPR1*的作用是低磷胁迫专一性的。因而这一突变体为研究低磷胁迫诱导根构型重塑的分子机制提供了一个非常理想的实验材料。

我们对*ipr1*的分析表明,在缺磷条件下,其主根生长的抑制和根毛的形成并没有受到低磷胁迫的明显影响。另外,其根表面的APase活性也较野生型低。这些结果说明*ipr1*根部细胞对低磷胁迫表现出不敏感。相反,我们注意到,在P-条件下,*ipr1*的地上部分生长和野生型一样,受到了严重的抑制,并积累大量的花青素,表明*ipr1*地上部分的生长发育对低磷胁迫仍表现出和野生型一样的敏感性。这一结果首次从遗传上证明了植物根部和地上部分采用不同的分子机制来应答环境中的低

磷胁迫。以前的研究还指出,低磷胁迫下,植物的根构型重塑是由根周围局部环境中的磷浓度决定的,和植物组织中的磷含量高低无关。或者说,低磷胁迫下,植物根构型重塑是由局部的低磷信号途径来调控的。我们的研究结果也表明,*ipr1*根部组织中,无论是细胞内的无机磷含量还是总磷含量,在P+和P-条件下与野生型都无明显区别,说明*ipr1*根部生长发育对低磷胁迫的不敏感性和其细胞内的磷素水平无关。这一结果也进一步支持了低磷条件下植物根构型重塑是由外部磷素水平决定的假说。和根构型重塑反应相反,许多受低磷诱导的基因表达被认为是由系统信号调控的,包括本研究中所检测的6个低磷诱导标志基因。我们的研究结果表明,这6个基因的诱导水平在野生型和*ipr1*之间无明显区别,说明在*ipr1*突变体中,系统信号的转导途径可能并没有受到影响。因此,我们认为*IPRI*只参与了局部低磷信号,而没有参与系统的低磷信号对植物低磷胁迫反应的调控。

那么,*IPRI*基因的突变究竟是如何导致植物对低磷胁迫诱导的根构型重塑发生脱敏呢?过去的研究表明,铁的存在对低磷胁迫诱导根构型重塑是必需的。对低磷胁迫脱敏的拟南芥突变体*lpr1*,在其根组织表面积累较少的 Fe^{3+} (Müller等2015),而对低磷胁迫表现出超敏反应的*als3*突变体在根部积累超量的 Fe^{3+} (Dong等2017)。我们发现,*ipr1*和*lpr1*类似,根组织中也较野生型积累较少的 Fe^{3+} ,这暗示可能是*ipr1*对低磷胁迫脱敏的原因。我们进一步通过遗传杂交,构建了*ipr1als3*双突变体,发现双突变体的根构型重塑反应类似于*ipr1*单突变体,而且其根部像*ipr1*一样,积累较野生型少的 Fe^{3+} 。这一结果表明,*IPRI*和*ALS3*可能作用于同一途径,并在*ALS3*的下游通过影响植物根部 Fe^{3+} 的积累水平,来调控其根构型重塑的程度。但目前由于*IPRI*基因还未被克隆,我们尚无法知道*IPRI*是直接还是间接地和*ALS3*发生相互作用。

总之,*ipr1*突变体为我们深入研究低磷胁迫调控植物根构型重塑的分子机制提供了一个理想的遗传材料。下一步,我们将采用图位克隆结合基因组测序的方法,来克隆造成突变表型的*IPRI*基因。*IPRI*基因的克隆将为我们进一步阐明低磷胁迫调控根构型重塑的分子机制提供重要线索。

参考文献

- Ames BN (1966). Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatases. *Methods Enzymol*, 8: 115–118
- Devaiah BN, Madhuvanathi R, Karthikeyan AS, Raghothama KG (2009). Phosphate starvation responses and gibberellic acid biosynthesis are regulated by the MYB62 transcription factor in *Arabidopsis*. *Mol Plant*, 2: 43–58
- Dong JS, Pineros MA, Li XX, Yang HB, Liu Y, Murphy AS, Kochian LV, Liu D (2017). An *Arabidopsis* ABC transporter mediates phosphate deficiency-induced remodeling of root architecture by modulating iron homeostasis in roots. *Mol Plant*, 10: 244–259
- Duff SMG, Sarath G, Plaxton WC (1994). The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. *Physiol Plant*, 90: 791–800
- Furihata T, Suzuki M, Sakurai H (1992). Kinetic characterization of two phosphate uptake systems with different affinities in suspension-cultured *Catharanthus roseus* protoplasts. *Plant Cell Physiol*, 33: 1151–1157
- Hirsch J, Marin E, Floriani M, Chiarenza S, Richaud P, Nussaume L, Thibaud MC (2006). Phosphate deficiency promotes modification of iron distribution in *Arabidopsis* plants. *Biochimie*, 88: 1767–1771
- Jiang CF, Gao XH, Liao LL, Harberd NP, Fu XD (2007). Phosphate starvation root architecture and anthocyanin accumulation responses are modulated by the gibberellin-DELLA signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 145: 1460–1470
- Jones DL (1998). Organic acids in the rhizosphere—a critical review. *Plant Soil*, 205: 25–44
- Larsen PB, Geisler MJ, Jones CA, Williams KM, Cancel JD (2005). *ALS3* encodes a phloem-localized ABC transporter-like protein that is required for aluminum tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 41: 353–363
- López-Arredondo DL, Leyva-González MA, González-Morales SI, López-Bucio J, Herrera-Estrella L (2014). Phosphate nutrition: improving low-phosphate tolerance in crops. *Annu Rev Plant Biol*, 65: 95–123
- López-Bucio J, Hernández-Abreu E, Sánchez-Calderón L, Nieto-Jacobo MF, Simpson J, Herrera-Estrella L (2002). Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiol*, 129: 244–256
- Mayzlish-Gati E, De-Cuyper C, Goormachtig S, Beeckman T, Vuytsteke M, Brewer PB, Beveridge CA, Yermiyahu U, Kaplan Y, Enzer Y, et al (2012). Strigolactones are involved in root response to low phosphate conditions in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 160: 1329–1341
- Misson J, Raghothama KG, Jain A, Jouhet J, Block MA, Bligny R, Ortet P, Creff A, Somerville S, Rolland N, et al (2005). A genome-wide transcriptional analysis using *Arabidopsis thaliana* Affymetrix gene chips determined plant responses to phosphate deprivation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 11934–11939
- Müller J, Toev T, Heisters M, Teller J, Moore KL, Hause G, Dinesh DC, Burstenbinder K, Abel S (2015). Iron-dependent callose deposition adjusts root meristem maintenance to phosphate

- availability. *Dev Cell*, 33: 216–230
- Rausch C, Bucher M (2002). Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta*, 216: 23–37
- Roschttardt H, Conejero G, Curie C, Mari S (2009). Identification of the endodermal vacuole as the iron storage compartment in the *Arabidopsis* embryo. *Plant Physiol*, 151: 1329–1338
- Sanchez-Calderon L, Lopez-Bucio J, Chacon-Lopez A, Cruz-Ramirez A, Nieto-Jacobo F, Dubrovsky JG, Herrera-Estrella L (2005). Phosphate starvation induces a determinate developmental program in the roots of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 46: 174–184
- Stewart AJ, Chapman W, Jenkins GI, Graham I, Martin T, Crozier A (2001). The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissues. *Plant Cell Environ*, 24: 1189–1197
- Svistoonoff S, Creff A, Reymond M, Sigoillot-Claude C, Ricaud L, Blanchet A, Nussaume L, Desnos T (2007). Root tip contact with low-phosphate media reprograms plant root architecture. *Nat Genet*, 39: 792–796
- Thibaud MC, Arrighi JF, Bayle V, Chiarenza S, Creff A, Bustos R, Paz-Ares J, Poirier Y, Nussaume L (2010). Dissection of local and systemic transcriptional responses to phosphate starvation in *Arabidopsis*. *Plant J*, 64: 775–789
- Ticconi CA, Delatorre CA, Lahner B, Salt DE, Abel S (2004). *Arabidopsis pdr2* reveals a phosphate-sensitive checkpoint in root development. *Plant J*, 37: 801–814
- Vance CP, Uhde-Stone C, Allan DL (2003). Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytol*, 157: 423–447
- Wang LS, Li Z, Qian WQ, Guo WL, Gao X, Huang LL, Wang H, Zhu HF, Wu JW, Wang DW, et al (2011). The *Arabidopsis* purple acid phosphatase AtPAP10 is predominantly associated with the root surface and plays an important role in plant tolerance to phosphate limitation. *Plant Physiol*, 157: 1283–1299
- Ward JT, Lahner B, Yakubova E, Salt DE, Raghothama KG (2008). The effect of iron on the primary root elongation of *Arabidopsis* during phosphate deficiency. *Plant Physiol*, 147: 1181–1191
- Wu P, Ma LG, Hou XL, Wang MY, Wu YR, Liu FY, Deng XW (2003). Phosphate starvation triggers distinct alterations of genome expression in *Arabidopsis* roots and leaves. *Plant Physiol*, 132: 1260–1271

Identification and characterization of an *Arabidopsis* mutant which is insensitive to low phosphate induced-remodeling of root architecture

SUI Li-Qian, LIU Dong*

School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract: Plants respond to phosphate (Pi) deficiency by triggering a suite of adaptive responses to maintain Pi homeostasis. One major response is the remodeling of root architecture. Here, we report the characterization of an *Arabidopsis* mutant *ipr1* (*insensitive phosphate root 1*). *ipr1* is insensitive to Pi deficiency-induced remodeling of root architecture. Phenotypic analyses indicated that *IPR1* only functions in local Pi signaling to regulate plant growth and development. *Arabidopsis als3* (*aluminum sensitive 3*) mutant is hypersensitive to Pi deficiency-induced remodeling of root architecture. Its mutant phenotypes are resulted from the overaccumulation of Fe³⁺ on its root surface. In contrast, *ipr1* accumulates less Fe³⁺ on its root surface than wild type plants. Genetic analyses showed that *IPR1* acts downstream of *ALS3* to regulate plant Pi sensitivity by modulating Fe³⁺ level in roots. Thus, *ipr1* will be an ideal material for investigating the molecular mechanism of Pi deficiency-induced remodeling of root architecture.

Key words: low-phosphate stress; remodeling of root architecture; *ipr1*; accumulation of Fe³⁺

Received 2017-06-15 Accepted 2017-07-20

This work was supported by the National Natural Science of China (Grant No. 31670256).

*Corresponding author (E-mail: liu-d@mail.tsinghua.edu.cn).