

ACS2参与拟南芥幼苗根生长响应低磷反应的机制

吕淑芳^{1,2}, 彭媛¹, 江静^{1,*}

¹河南大学生命科学学院, 棉花生物学国家重点实验室, 植物逆境生物学重点实验室, 河南开封475004; ²河南科技大学农学院, 河南洛阳471003

摘要: 磷元素是植物生长发育所必须的, 低磷不利于植物根生长发育。植物激素乙烯生物合成前体物质1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)调节植物根生长。ACC合酶(ACS)家族成员ACS2被证明与植物根生长有关。本研究的结果显示, 在低磷抑制拟南芥幼苗根生长过程中, 根部ACS2表达量和ACC含量增加, 但无机磷含量降低。其降低机制可能是ACC降低了磷吸收和运输因子PHO1活性, 因此改变了无机磷在根中的积累和再分配。因此推测, ACS2表达是低磷抑制拟南芥幼苗根生长的重要环节。

关键词: ACS2; ACC; 低磷; 根生长

磷是有机体重要的元素之一, 因为磷可以作为核糖核酸、脂膜、卵磷脂以及生物能量ATP等生物活性大分子的重要组成成分, 参与糖分代谢、酶促反应和光合作用等各种植物生长、代谢过程(Lynch和Beebe 1995)。研究证实, 磷供应不足可导致细胞分裂和增殖、代谢进程、新器官发生、生长发育进展等各种生命活动减缓或停滞(Schachtman等1998; Sánchez-Calderón等2010; Wang等2010)。植物生长发育过程中, 低磷能够抑制主根生长(王学敏2010), 促进侧根伸长, 并促进根毛密度增大和长度增加(Schachtman等1998; Ticconi和Abel 2004)。其可能的机制是, 这种代偿性生长增加磷吸收, 保障生命活动所需。在磷吸收过程中, 植物体分泌一些酸性磷酸酶, 催化磷酸单脂分解成相应的脂肪酸和磷酸根(Pi), 根际酸化便于土壤中有机磷被代谢为Pi, 后者可被植物细胞吸收、转运、利用(Muchhal等1996; Daniel等1998; Nagarajan和Smith 2012)。如低磷条件下油菜(*Brassica campestris*)、菜豆(*Phaseolus vulgaris*)、白羽扇豆(*Lupinus albus*)和苜蓿属(*Medicago*)等植物根系的苹果酸和柠檬酸的分泌明显增加(Hoffland等1992; Zhang等1997; Dong等2004)。大量有机酸的释放, 利于土壤难溶性无机磷的活化吸收。另外, 根中无机磷含量直接影响植株碳水化合物的积累和分配、根冠比以及相关酶的活性, 从而影响根生长(Rao等1987; Garcia和Ascencio 1992; Rychter和Randall 1994; 万惠燕等2007)。

近年积累的数据表明, 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)不仅是乙烯生物合成的前体物质, 也是一种不依赖乙

烯的信号分子(Poel和Straeten 2014), 调节很多生长发育过程。ACC生物合成过程的关键限速酶(ACC synthase, ACS)活性是控制植物组织中ACC含量关键因子。以模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为例, ACS家族成员能够在不同环境中调控各自的特异性表达, 进而改变植物体内ACC含量并影响植物的生长发育(Tsuchisaka和Theologis 2004)。其中, 拟南芥ACS2表达与根生长和侧根的发生有关(Rodrigues-Pousada等1993; Liang等1992, 1996)。

有意思的是, 乙烯或ACC参与植物低磷反应。比如: 低磷胁迫下, 长豇豆幼苗和大豆根系乙烯含量升高, 改变根系形态, 提高保护酶活性(刘厚诚等2006), 从而提高植物对低磷胁迫的适应; 番茄和矮牵牛根部的乙烯产生量下降以响应低磷胁迫(Kim等2008); ACC处理促进拟南芥根尖生长素过度产生和积累, 调节根细胞伸长的方向和幅度, 从而抑制根的伸长(Strader等2010), 初步说明ACC可能参与低磷控制的植物根形态形成。但是, 在ACC调节低磷抑制根生长过程中, ACC含量变化机制、及其参与根生长对低磷反应机制尚需研究。

另外, 在缺磷响应过程中, 一些磷饥饿响应基因表达升高, 植物根系磷转运蛋白(如: PHT和PHO家族成员)等活性增加, 从而增加磷吸收和运输(Rausch和Bucher 2002; Ticconi和Abel 2004; Su等2015)。但目前尚不知ACC是否影响有机酸的释放和无机磷吸收或转运过程。依据拟南芥ACS2表达

收稿 2017-02-20 修定 2017-07-06

资助 国家自然科学基金(31271510)。

* 通讯作者(E-mail: jiangjing@henu.edu.cn)。

影响根生长和侧根的发生有关(Rodrigues-Pousada等1993; Liang等1992, 1996), 本文探讨了低磷对拟南芥根部*ACS2*表达和ACC含量的影响, 初步发现, 低磷增加*ACS2*表达和根组织中ACC含量可能影响根系磷吸收和运输, 调节根生长。

材料与方法

1 实验材料和试剂

拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)生态型Columbia-0 (WT)为本实验室自存, *ACS2* (At1G01480)的T-DNA插入突变体*acs2-1* (CS16564)和*acs2-2* (SALK.025672)从拟南芥生物资源中心购得, *ACS2*-OE1 (*ACS2* over-expression 1)和*ACS2*-OE2为*ACS2*表达量升高的其中2个株系, 通过转基因方法获得。*pACS2-GUS1*和*pACS2-GUS2*为观察*ACS2*组织表达的其中2个株系, 通过转基因方法获得。EBS:GUS/WT种子为本课题组保存, EBS:GUS/*ACS2*-OE1和EBS:GUS/*ACS2*-OE2杂交纯合体株系为课题组前期制备。

MS培养基(MS; MS盐+3%蔗糖+0.6%或0.8%琼脂, pH 5.8)、低磷培养基(LP; $H_2PO_4^-$ 含量为12.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 5.8)、低磷+ACC处理培养基(LP+ACC; LP+10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ACC, pH 5.8)和酸化显色培养基(MS或LP+0.006%溴甲酚紫, pH 5.8)配置参照雷凯建等(2016)方法。 β -葡萄糖苷酶(GUS)染液(GUS染液; 0.1% Tritox-100+0.05 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铁氰化钾溶液+0.05 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 亚铁氰化钾溶液+98 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液+0.1% X-Gluc)课题组配置。钼酸铵、盐酸、孔雀绿、Tween-20、甲醇(一级色谱纯)、X-Gluc、MCX固相萃取小柱、铁氰化钾溶液和亚铁氰化钾等各试剂公司购买。

2 拟南芥种植

用0.1%升汞溶液对拟南芥种子表面消毒3~5 min, 然后无菌水清洗5次, 将种子点播于MS固体培养基上, 4°C春化3 d后, 置于恒温培养室(光/暗为16 h/8 h, 温度18~23°C, 光照强度120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 相对湿度80%)中培养。萌发后3 d依据实验转移至各处理培养基生长7 d。

3 拟南芥无机磷含量测定

参照雷凯建等(2016)方法, 各材料称取0.02 g新鲜组织进行测定, 代入标准曲线算出磷浓度。

4 拟南芥ACC提取与测定

根据马莹莹等(2008)、Wang等(2013)和Pan等(2010)方法略有改动: 称取拟南芥幼苗0.1 g左右, 在液氮中快速研磨成粉末状, 用10倍体积去离子水超声提取30 min, 12 000 \times g离心20 min。取上清并将pH值调至4.0以下, 用等体积氯仿混匀, 洗涤1次, 取水相。分别用1 mL甲醇(色谱纯)和1 mL去离子水预处理MCX固相萃取小柱, 将提取上清液缓慢过MCX固相萃取小柱, 分别用2 mL甲醇和1 mL去离子水洗MCX小柱, 用1 mL 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氨水甲醇溶液洗脱, 收集并用氮气吹干, 流动相复溶后, 用HPLC-MS检测样品含量。

5 组织化学染色和GUS酶活性测定

分别选取在MS培养基和LP培养基上生长7 d的EBS:GUS、EBS:GUS/*ACS2*-OE1、EBS:GUS/*ACS2*-OE2、*pACS2-GUS1*和*pACS2-GUS2*转基因植株幼苗, 依据Han等(2015)进行染色和GUS酶活性的测定。取MS和LP培养基中幼苗各15棵置于GUS染液中, 37°C染色6 h。

6 RNA提取及RT-PCR和qRT-PCR

称取约100 mg植物材料, 用植物RNA小量提取试剂盒(上海莱风)提取。RT-PCR所用引物见表1 (F: forward primer; R: reverse primer)。

7 数据分析

所有数据至少3个重复, 3次生物学重复, *t*-测验分析(**: $P<0.01$, *: $P<0.05$)。

表1 基因名称及其引物序列

Table 1 The gene names and sequences of primers		
PCR	基因名称	引物序列(5'→3')
RT-PCR	<i>ACS2</i>	F GCGACTAACAATCAACACGGAG R ACATTATCCCTGGAGACGAGAGAC
	<i>PHT1;1</i>	F GCCAAGAATCAAAACAA R TCAGCAGGGACAATAAAA
		F AATGGCGTTGCCTTCTGT R CTGGCTCTATCTCCACTTGC
	<i>PHO1</i>	F GCAAGATCCATCGCCACC R CCGTAAATAACCCAACAAAGAA
	<i>ACTIN2</i>	F TTCCTCATGCCATCCTCCGTCTT R CAGCGATACCTGAGAACATAGTGG
		<i>ACTIN8</i>
qRT-PCR	<i>ACS2</i>	F AAGCCCAAGAGTCCAATA R TCTTCTCGTGACAAACC
	<i>ACTIN8</i>	F GCAGACCGTATGAGCAAAGA R GAGGGAAGCAAGGATAGAAC

实验结果

1 低磷对不同ACS2表达的拟南芥根生长的影响

为了探讨低磷条件下ACS表达是否影响植物根生长发育动态,我们获得了ACS2表达降低的突变体*acs2-1*和*acs2-2*以及表达升高的转基因株系ACS2-OE1和ACS2-OE2。与WT相比,*acs2-1*和*acs2-2*中ACS2表达下降约5倍,ACS2-OE1和ACS2-OE2中ACS2表达分别上升约11和13倍(图1-A)。观察结果显示,正常培养基上,突变体*acs2-1*和*acs2-2*以及过表达ACS2-OE1和ACS2-OE2植株根长与WT无明显差别。但是,生长在低磷培养基上的幼苗中,WT根长显著高于ACS2-OE1和ACS2-OE2根长。结果表明,低磷条件下,ACS2表达量升高抑制根生长(图1-B、C)。

2 低磷对拟南芥植株ACS2基因表达的影响

为了研究低磷对ACS2基因表达影响,我们检测了ACS2在幼苗根部和地上部分(茎)表达量。结果显示,正常条件下,ACS2在幼苗地上部分表达量高于其在根部组织中的表达量;但低磷处理下,根和茎中ACS2表达量都升高,根中增加显著(图2-A)。利用组织化学方法进一步验证分析,结果显示,正常条件下,*pACS2-GUS*植株染色生成的蓝色主要分布在幼苗的根和叶中;低磷条件下,蓝色在幼苗根组织中加深,且在根中柱部分加深显著(图2-B)。结果初步说明低磷诱导根中ACS2的表达量升高。

3 低磷对拟南芥根中ACC和乙烯含量的影响

利用HPLC-MS测定低磷对幼苗根部ACC含量的影响。结果显示,正常条件下,*acs2-1*和*acs2-2*根中ACC含量与WT根中无明显差别;ACS2-OE1和ACS2-OE2根中ACC含量约是WT的1.1倍。低磷条件下,*acs2-1*和*acs2-2*根中ACC含量与WT基本相同;ACS2-OE1和ACS2-OE2根中ACC含量约是WT的1.4和1.5倍,都显著高于WT(图3-A)。很明显,低磷诱导的ACS2表达量增加了ACC含量。

EBS可以标志乙烯积累情况,其原理是将5个串联的EBS(5×EBS:GUS)连接到GUS报告基因上游,从而监控植物组织中乙烯含量。对低磷条件下生长的EBS:GUS/WT、EBS:GUS/ACS2-OE1和EBS:GUS/ACS2-OE2幼苗GUS酶活性进行分析,结果显示,与WT植株相比,ACS2-OE1和ACS2-OE2幼苗根中GUS染色无明显不同(图3-B),与之对应,

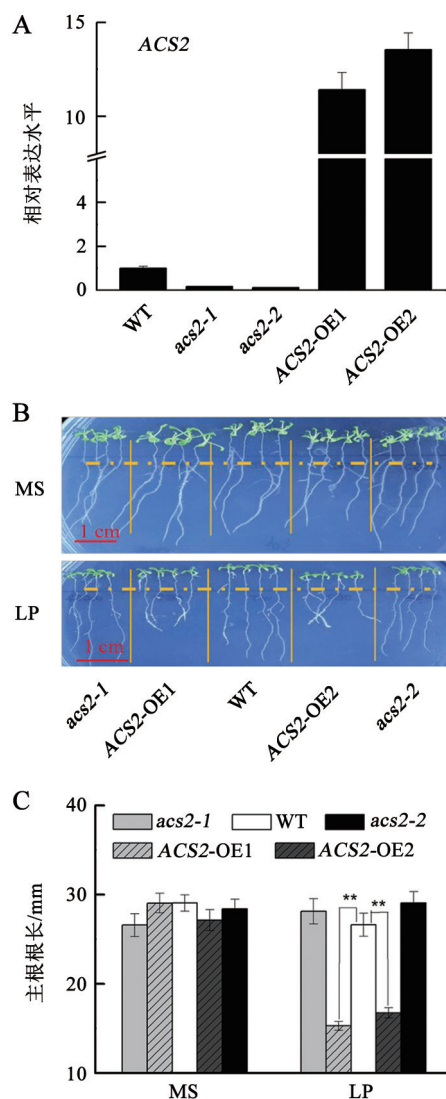


图1 低磷对不同ACS2表达的拟南芥幼苗根生长的影响
Fig.1 Effect of low phosphate on root morphogenesis in *Arabidopsis* seedlings with different ACS2 expression

A: qRT-PCR检测ACS2基因在WT、突变体和过表达转基因植株中表达水平; B: 不同ACS2表达的植株幼苗根的生长表型; C: 低磷条件下不同ACS2表达株系幼苗主根的根长。

ACS2-OE1和ACS2-OE2幼苗根中GUS酶活性也无明显升高(图3-C)。这暗示,低磷对幼苗根部乙烯含量无明显影响,推测ACC可能并未全部转化为乙烯,本身作为信号分子对低磷条件下ACS2-OE1和ACS2-OE2植株根生长起作用。

4 低磷条件下拟南芥根中ACS2表达升高与无机磷含量的关系

为了明确ACC如何影响植株体内磷含量,分别检测了各幼苗根和茎中的无机磷含量。统计数

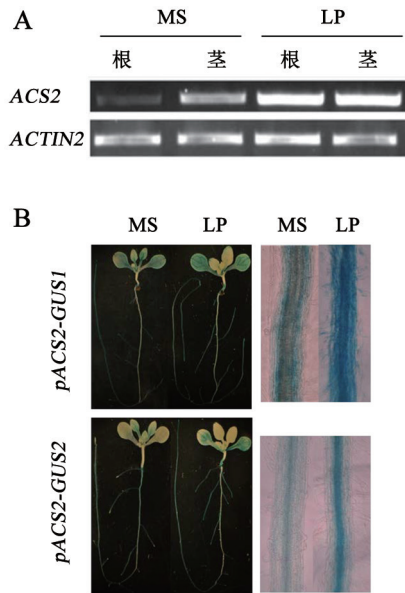


图2 低磷对拟南芥幼苗ACS2表达量的影响
Fig.2 Effect of low phosphate on expression of ACS2 in the *Arabidopsis* seedling
A: RT-PCR分析低磷条件下ACS2表达水平; B: 组织化学染色观察低磷条件下ACS2表达。

据显示, 正常和低磷条件下, *acs2-1*和*acs2-2*根和茎中无机磷含量都与WT无明显差异(数据未列出)。但低磷条件下, *ACS2-OE1*和*ACS2-OE2*幼苗根和茎中无机磷含量都较WT的无机磷含量降低, 且根中下降显著(图4-B)。正常条件下, *ACS2-OE1*和*ACS2-OE2*幼苗根和茎中无机磷含量与WT无明显区别(图4-A)。这暗示低磷诱导的ACC含量升高抑制磷在植株体内, 特别是根部的积累。

5 低磷条件下外源ACC对拟南芥根中无机磷含量的影响

进一步检测外施ACC对植株响应低磷刺激的影响。结果显示, 低磷条件下, 施加ACC植株主根伸长受到明显抑制(图5-A)。检测无机磷含量的结果显示, 低磷和ACC共同处理后, 植株根中磷含量比低磷条件的下降约 $3.66 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 比正常条件下根中磷含量下降约 $8.68 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW); 同样, 低磷和ACC共同处理后, 茎中磷含量比低磷条件的下降约 $1.31 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 比正常条件下的下降约 $2.47 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW) (图5-B)。这些结果表明, 低

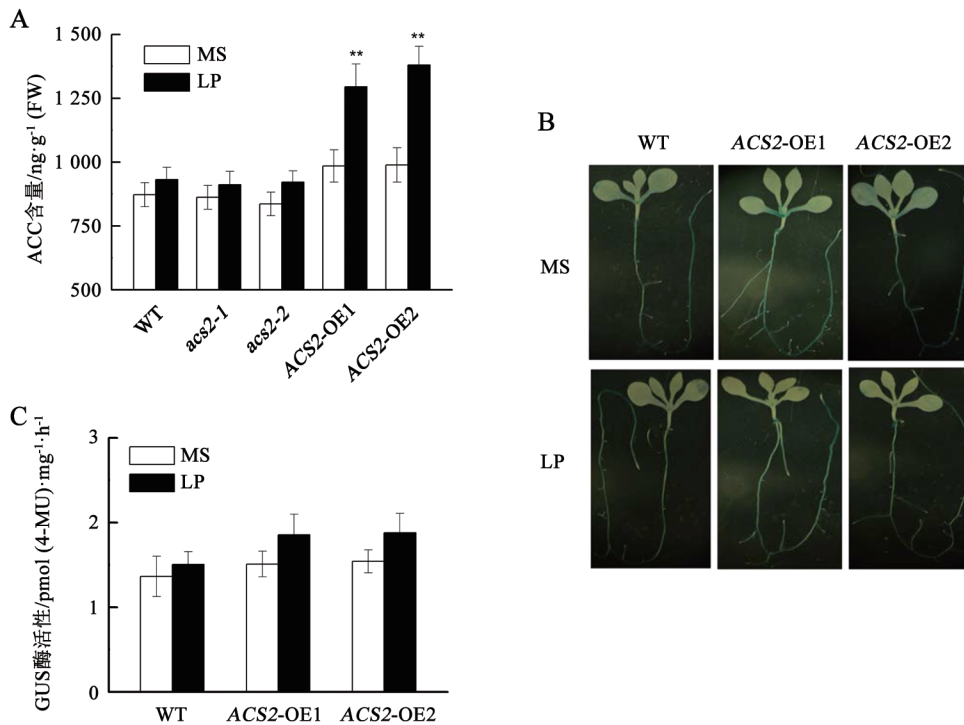


图3 低磷对拟南芥根中ACC和乙烯含量的影响
Fig.3 Effect of low phosphate on ACC and ethylene contents in *Arabidopsis* root
A: 低磷条件下不同ACS2表达植株中ACC含量; B: 组织化学染色分析低磷条件下过表达ACS2植株中乙烯含量; C: 荧光分析过表达ACS2植株中EBS:GUS酶活性。

磷条件下, 施加ACC可以降低植株, 特别是根系中的无机磷含量。

6 低磷条件下拟南芥根中不同ACS2表达对磷吸收和运输的影响

一般认为, 根组织对磷的吸收和运输能力可以改变植株体内磷含量。植物在低磷胁迫时能够

分泌酸性物质使根际酸化, 增加磷吸收, 酸碱指示剂溴甲酚紫的颜色变化可以标示根际酸化的程度。观察ACS2表达与根际酸化的关系发现, 正常和低磷条件下, 不同ACS2表达的植株根际颜色都和WT无明显差异(图6)。这表示低磷诱导的ACC产生和积累不影响根际酸化水平。

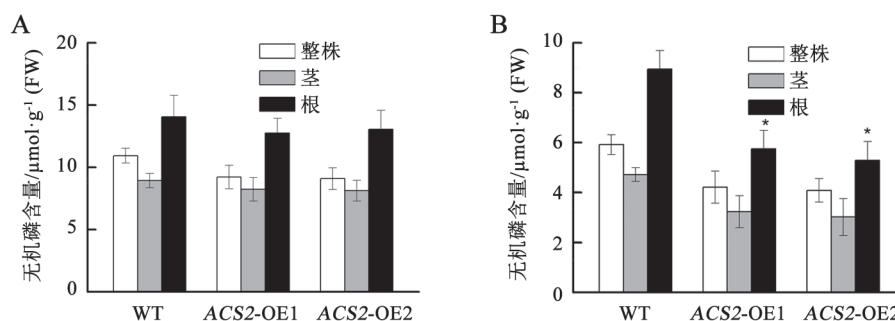


图4 正常和低磷条件下过表达ACS2植株中无机磷含量变化

Fig.4 Changes in Pi contents in ACS2-OE1 and ACS2-OE2 seedlings under normal and low phosphate

A: 正常条件; B: 低磷条件。

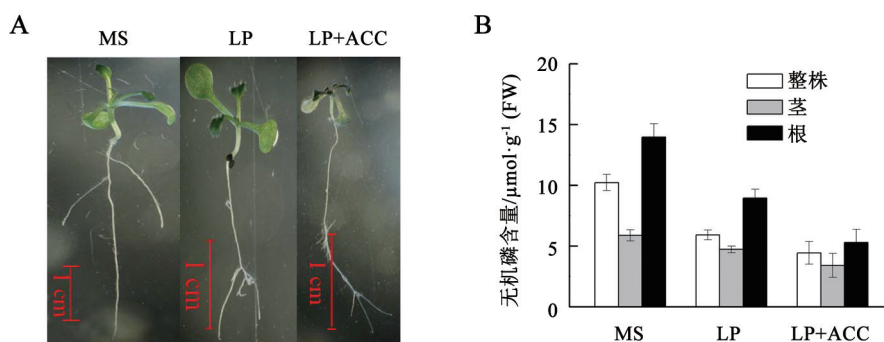


图5 低磷条件下外源ACC对拟南芥各组织中磷含量的影响

Fig.5 Effect of ACC on Pi contents in Arabidopsis organs under low phosphate

A: 拟南芥根生长表型; B: 拟南芥植株的无机磷含量。

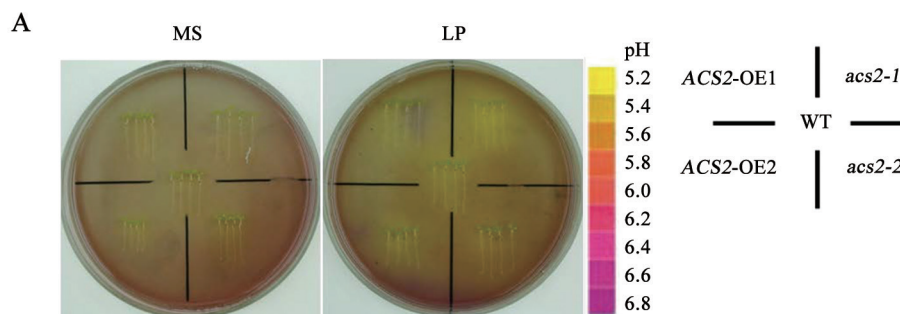


图6 低磷条件下不同ACS2表达拟南芥植株的根际酸化

Fig.6 Rhizosphere acidification in Arabidopsis plants with different ACS2 expressing under low phosphorus

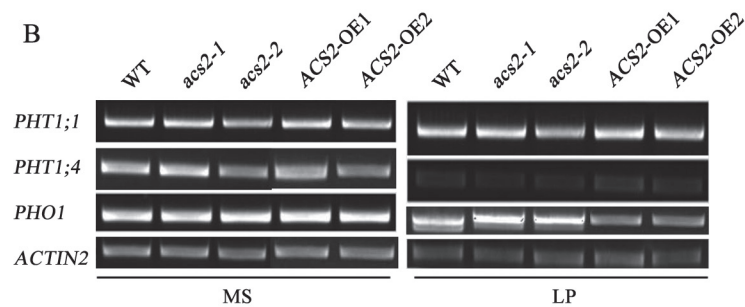


图7 低磷条件下不同*ACS2*表达拟南芥的磷吸收和运输相关因子的表达
Fig.7 Expression of phosphorus uptake and transport related factors in *Arabidopsis* with different *ACS2* expressing under low phosphorus

为了研究根中*ACS2*表达和磷吸收与运输的关系,我们利用RT-PCR技术分析了正常和低磷条件下根中磷吸收和转运相关因子*PHT1;1*、*PHT1;4*和*PHO1*基因表达。结果发现,正常条件下,*ACS2*表达不同植株根中*PHT1;1*、*PHT1;4*和*PHO1*表达与WT没有明显不同(图7);而在低磷条件下,*ACS2*-OE1和*ACS2*-OE2根中*PHO1*转录水平下降。暗示*PHO1*可能参与了低磷条件下ACC对磷的吸收和运输,从而抑制根生长。

讨 论

土壤中总磷的含量虽然很高,但能被植物吸收利用的有效磷浓度往往很低,磷易被铁、铝、钙等离子或有机物固定,因此有效磷缺乏是限制作物增产的重要因素。根系是植物吸收矿质营养元素的主要器官,其性状决定了植株对土壤磷的吸收利用效率(Lynch 1995),解析根系对低磷胁迫的响应机制是进行作物磷效率遗传改良的基础。

低磷条件下,拟南芥主根生长会受到抑制(Chevalier等2003;王学敏2010)。生长素、细胞分裂素、ACC或乙烯等也参与了拟南芥主根生长对低磷胁迫的响应(Chiou和Lin 2011;Liang等2014)。本研究发现,低磷条件下*ACS2*表达升高植株主根生长显著受到抑制,幼苗根中ACC含量明显升高。磷含量测定结果显示,低磷导致植株根中磷积累增加,地下部分与地上部分磷比值升高,外源ACC处理也证明了这一结果。表明ACC可以增加磷在根中的积累,影响植株体内磷的分配,暗示ACC可能响应低磷对根生长的调控。可能机制还

包括:ACC处理使得IAA过度积累,从而抑制根生长(Strader等2010;Poel和Straeten 2014)。

磷在根中的积累受根系对磷的吸收和磷在植物体内的运输所影响。磷吸收和转运体*PHT1;1*、*PHT1;4*和*PHO1*能够在低磷条件下被强烈诱导,提高植物对磷的吸收(Remy等2012;Lapis-Gaza等2014)。同时低磷胁迫下,植物根系通过主动或被动的方式释放大量有机酸,参与土壤难溶性无机磷的活化和利用,磷吸收增强(Lü等2012;Wang等2013)。本文中,根际酸化检测和RT-PCR分析显示不同*ACS*表达并不影响根际酸度和磷吸收转运体*PHT1;1*、*PHT1;4*的表达,暗示ACS活性增加并不影响根系环境酸度。*PHO1*突变体中磷不能有效地从根部运输到地上部分,也参与将低磷信号从根中传向地上部分的信号传递(Rouached等2011)。

本研究显示,过ACS表达的拟南芥植株*ACS2*-OE1和*ACS2*-OE2在低磷条件下,根生长被显著抑制。低磷条件下,*ACS2*-OE1和*ACS2*-OE2根中ACC含量高于WT,磷含量明显低于WT,根部磷吸收和运输相关基因*PHO1*转录活性下降。暗示了低磷条件下,ACC含量增加,影响了磷在根中的积累,从而抑制了根的生长。机制可能涉及ACC降低了根对磷的吸收,阻碍了磷从地下部分向地上部分的运输,植株碳水化合物的含量和分配,根冠比或者相关酶活性的变化。同时*PHO1*表达量降低也暗示了低磷胁迫下ACC含量升高可能影响了低磷信号从根中向地上部分的传递,使植物不能对低磷做出适应反应,最终影响植物的正常生长。

参考文献

- Chevalier F, Pata M, Nacry P (2003). Effects of phosphate availability on the root system architecture: large-scale analysis of the natural variation between *Arabidopsis* accessions. *Plant Cell Environ*, 26 (11): 1839–1850
- Chiou TJ, Lin SI (2011). Signaling network in sensing phosphate availability in plants. *Plant Biol*, 62 (1): 185–206
- Daniel P, Schachtman RJ, Ayling SM (1998). Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol*, 116 (2): 447–453
- Dong D, Peng XX, Yan XX (2004). Organic acid exudation induced by phosphorus deficiency and/or aluminium toxicity in two contrasting soybean genotypes. *Physiol Plant*, 122 (2): 190–199
- Garcia M, Ascencio J (1992). Root morphology and acid phosphorus activity in tomato plants during development and recovery from phosphorus stress. *J Plant Nutr*, 15 (11): 2491–2503
- Han S, Fang L, Ren XJ, Wang WL, Jiang J (2015). MPK6 controls H₂O₂-induced root elongation by mediating Ca²⁺ influx across the plasma membrane of root cells in *Arabidopsis* seedlings. *New Phytol*, 205: 695–706
- Hoffland E, Boogaard RVD, Nelemans J, Findenegg G (1992). Biosynthesis and root exudation of citric and malic acids in phosphate-starved rape plants. *New Phytol*, 122 (4): 675–680
- Kim HJ, Lynch JP, Brown KM (2008). Ethylene insensitivity impedes a subset of responses to phosphorus deficiency in tomato and petunia. *Plant Cell Environ*, 31: 1744–1755
- Lapis-Gaza HR, Jost R, Finnegan PM (2014). *Arabidopsis* PHOSPHATE TRANSPORTER1 genes *PHT1;8* and *PHT1;9* are involved in root-to-shoot translocation of orthophosphate. *BMC Plant Biol*, 14 (1): 1–19
- Lei KJ, Ren J, Zhu YY, An GY (2016). *SPL1* is involved in the regulation of rhizosphere acidification reaction under low phosphate condition in *Arabidopsis*. *Acta Bot Sin*, 51 (2): 184–193 (in Chinese with English abstract) [雷凯建, 任晶, 朱园园, 安国勇 (2016). 拟南芥 *SPL1* 基因参与调节低磷条件下的根际酸化反应. *植物学报*, 51 (2): 184–193]
- Liang C, Wang J, Jing Z, Jiang T, Hong L (2014). Control of phosphate homeostasis through gene regulation in crops. *Curr Opin Plant Biol*, 21: 59–66
- Liang X, Abel S, Keller JA, Shen NF, Theologis A (1992). The 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family of *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89 (22): 11046–11050.
- Liang X, Shen NF, Theologis A (1996). Li⁺-regulated 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 10 (6): 1027–1036
- Liu HC, Kuang YH, Chen RY (2006). Effects of phosphorus-deficiency stress on ethylene emission in asparagus bean seedlings. *Sci Agric Sin*, 39 (4): 855–859 (in Chinese with English abstract) [刘厚诚, 邝炎华, 陈日远 (2006). 低磷胁迫对长豇豆幼苗乙烯产生量的影响. *中国农业科学*, 39 (4): 855–859]
- Lü J, Gao X, Dong Z, Yi J, An L (2012). Improved phosphorus acquisition by tobacco through transgenic expression of mitochondrial malate dehydrogenase from *Penicillium oxalicum*. *Plant Cell Rep*, 31 (1): 49–56
- Lynch JP (1995). Root architecture and plant productivity. *Plant Physiol*, 109 (1): 7–13
- Lynch JP, Beebe SE (1995). Adaptation of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to low phosphorus availability. *Hort Sci*, 30 (6): 1165–1171
- Ma YY, Gai Y, Chen WQ, Jiang XN (2008). Quantitative determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content in trace of plant tissues by high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-ES/MSn). *Plant Physiol Commun*, 44 (4): 754–758 (in Chinese with English abstract) [马莹莹, 盖颖, 陈伟奇, 蒋湘宁 (2008). 一种用高效液相色谱-电喷雾/串联质谱(HPLC-ES/MSn)定量检测植物组织中微量1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)含量的方法. *植物生理学通讯*, 44 (4): 754–758]
- Muchhal US, Pardo JM, Raghothama KG (1996). Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93 (19): 10519–10523
- Nagarajan VK, Smith AP (2012). Ethylene's role in phosphate starvation signaling: more than just a root growth regulator. *Plant Cell Physiol*, 53 (2): 277–286
- Pan X, Welti R, Wang X (2010). Quantitative analysis of major plant hormones in crude plant extracts by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Nat Protoc*, 5 (6): 986–992
- Poel BVD, Straeten DVD (2014). 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: more than just the precursor of ethylene. *Front Plant Sci*, 5: 640–640
- Rao IM, Fredeen AL, Terry N (1989). Leaf phosphate status, photosynthesis and carbon partitioning in sugar beet III. Diurnal changes in carbon partitioning and carbon export. *Plant Physiol*, 90 (3): 814–819
- Rausch C, Bucher M (2002). Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta*, 216 (1): 23–37
- Remy E, Cabrito TR, Batista RA, Teixeira MC, Sácorreia I, Duque P (2012). The PHT1;9 and PHT1;8 transporters mediate inorganic phosphate acquisition by the *Arabidopsis thaliana* root during phosphorus starvation. *New Phytol*, 195 (2): 356–371
- Rodrigues-Pousada RA, De Rycke R, Dedonder A, Van Caeneghem

- W, Engler G, Van Montagu M, Straeten DVD (1993). The *Arabidopsis* 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene 1 is expressed during early development. *Plant Cell*, 5 (8): 897–911
- Rouached H, Stefanovic A, Secco D, Bulak AA, Gout E, Bligny R, Poirier Y (2011). Uncoupling phosphate deficiency from its major effects on growth and transcriptome via pH o1 expression in *Arabidopsis*. *Plant J*, 65 (4): 557–570
- Rychter AM, Randall DD (1994). The effect of phosphate deficiency carbohydrate metabolism in bean roots. *Physiol Plant*, 91 (3): 383–388
- Sánchez-Calderón L, Chacón-López A, Pérez-Torres CA, Herrera-Estrella L (2010). Phosphorus: Plant Strategies to Cope with Its Scarcity. In: Hell R, Mendel R-R (Eds). *Cell Biology of Metals and Nutrients*. Springer Berlin Heidelberg, 131–137
- Schachtman DP, Reid RJ, Ayling SM (1998). Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol*, 116 (2): 447–453
- Strader LC, Chen GL, Bartel B (2010). Ethylene directs auxin to control root cell expansion. *Plant J*, 64 (5): 874–884
- Su T, Xu Q, Zhang FC, Chen Y, Li LQ, Wu WH, Chen YF (2015). WRKY42 modulates phosphate homeostasis through regulating phosphate translocation and acquisition in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 167 (4): 1579–1591
- Ticconi CA, Abel S (2004). Short on phosphate: plant surveillance and countermeasures. *Trends Plant Sci*, 9 (9): 548–555
- Tsuchisaka A, Theologis A (2004). Unique and overlapping expression patterns among the *Arabidopsis* 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase gene family members. *Plant Physiol*, 136 (20): 2982–3000
- Wan HJ, Liu JJ, Wang JX, Yan XL, Liao H (2007). Effects of phosphorus spatial availability on root morphology and architecture in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Physiol Commun*, 43 (3): 425–429 (in Chinese with English abstract) [万惠燕, 刘嘉杰, 王金祥, 严小龙, 廖红(2007). 磷空间有效性对拟南芥根形态构型的影响. *植物生理学通讯*, 43 (3): 425–429]
- Wang XM (2010). Effect of low-phosphate supply on the root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. *Bull Bot Res*, 30 (4): 496–502 (in Chinese with English abstract) [王学敏(2010). 低磷供应对拟南芥根系构型的影响. *植物研究*, 30 (4): 496–502]
- Wang Y, Xu H, Kou J, Shi L, Zhang C, Xu F (2013). Dual effects of transgenic *Brassica napus*, overexpressing *CS* gene on tolerances to aluminum toxicity and phosphorus deficiency. *Plant Soil*, 362 (1-20): 231–246
- Zhang FS, Ma J, Cao YP (1997). Phosphorus deficiency enhances root exudation of low-molecular weight organic acids and utilization of sparingly soluble inorganic phosphates by radish (*Raphanus sativus* L.) and rape (*Brassica napus* L.) plants. *Plant Soil*, 196 (2): 261–264

The involvement of *ACS2* in low phosphate-mediated root growth of *Arabidopsis* seedling

LÜ Shu-Fang^{1,2}, PENG Yuan¹, JIANG Jing^{1,*}

¹State Key Laboratory of Cotton Biology, Key Laboratory of Plant Stress Biology, College of Life Sciences, Henan University, Kaifeng, Henan 475004, China; ²College of Agricultural, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China

Abstract: Phosphorus is essential for plant growth and development, and low phosphate (Pi) changes the plant vital process and morphology. The ethylene biosynthesis precursor 1-aminocyclopropane-1-carboxylate acid (ACC) regulated the root growth of plant, and ACC synthase (ACS) family member *ACS2* was also proved to be related with plant root growth. In this paper, we found that overexpression of *ACS2* gene significantly decreased the root length under low Pi, compared with wild type (WT). Further study results showed that the root growth were inhibited in *Arabidopsis* seedlings, when the expression of *ACS2* increased and the content of ACC in roots raised. Whereas the content of Pi decreased significantly, especially in roots. These phenomenons might indicate that the expression of phosphate uptake and transport factor *PHO1* were inhibited by ACC, which reduced and changed the Pi accumulation and redistribution in root under low Pi. These results, together with above findings, suggested that the inhibition of *Arabidopsis thaliana* root growth maybe dependent on the expression of *ACS2* under low phosphate.

Key words: *ACS2*; ACC; low phosphate; root growth

Received 2017-02-20 Accepted 2017-07-06

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31271510).

*Corresponding author (E-mail: jiangjing@henu.edu.cn).