

创刊30年
特邀综述

生长素在植物胚胎早期发育中的作用

宋丽珍^{1, 2}, 王逸², 杨青华^{1*}, 程佑发^{2*}

¹河南农业大学农学院, 郑州 450002

²中国科学院植物研究所, 中国科学院植物分子生理学重点实验室, 北京 100093

摘要 有性生殖是有花植物的一个重要特征, 胚胎则是实现有性生殖和世代交替的重要载体。植物胚胎从双受精开始, 经历了合子极性建立、顶基轴形成、细胞层分化和器官形成等过程, 这些过程都受到生长素的调控。近年来的研究表明, 生长素在生物合成、极性运输和信号转导3个层面上调控胚胎的发育过程。该文以双子叶植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为例, 综述了生长素对胚胎早期发育过程, 包括合子极性和顶基轴建立、表皮原特化和对称模式转变、胚根原特化和根尖分生组织形成及茎尖分生组织形成等发育的调控机制。

关键词 生长素, 胚胎发生, 模式建成, 极性建立

宋丽珍, 王逸, 杨青华, 程佑发 (2013). 生长素在植物胚胎早期发育中的作用. 植物学报 48, 371–380.

生长素在植物胚胎发育过程中起着非常重要的作用。在植物早期胚胎发育过程中, 合子极性和顶基轴(**apical-basal axis**)建立、表皮原(**dermatogen**)特化和对称模式转变、胚根原特化和根尖分生组织形成及茎尖分生组织形成等都依赖生长素。生长素对早期胚胎发育的调控作用主要通过本地合成(**local bio-synthesis**)、极性运输(**polar transport**)和信号转导(**signal transduction**)来实现。生长素在单、双子叶植物的胚胎发育中均起重要作用。近年来, 人们以双子叶植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)为材料, 对生长素调控胚胎发育机制进行了深入研究, 并取得了一些重要进展。

拟南芥早期胚胎发生过程中, 细胞分裂模式相对比较简单, 且胚胎大小、形状和分裂模式在各个时期都比较固定。合子(受精卵)沿顶基轴方向伸长约3倍后, 进行1次不对称横向分裂(**transverse division**), 产生1个小的顶细胞(**apical cell**)和1个大的基细胞(**basal cell**)。顶细胞经过连续2次纵向分裂(**longitudinal division**)和1次横向分裂形成8细胞原胚(**pro-embryo**), 之后经过平周分裂(**periclinal division**)形成辐射对称的包含16个细胞的原胚, 其外层的8个细胞为表皮原细胞; 基细胞则经过几次横向分裂形成具有

一列细胞的胚柄(**suspensor**)。当胚胎发育至32细胞期时, 位于胚柄最上端的胚根原细胞(**hypophysis**)横向分裂, 产生1个靠近胚体且体积较小的凸透镜形状的细胞, 该细胞和1个远离胚体的体积较大的细胞将分别发育为静止中心的4个细胞和根冠中央区细胞。过渡期(**transition stage**)之前的胚胎主要以顶基轴为中线辐射对称。从过渡期开始, 胚体上部的两侧开始形成2个子叶原基, 并在其间形成茎端分生组织, 胚胎由辐射对称逐渐转变成两侧对称。过去20多年的研究表明, 生长素在植物胚胎发育过程中起着至关重要的作用。本文将重点综述生长素如何调控胚胎的早期发育, 特别是生长素在合子极性建立、由辐射对称到两侧对称的转变及胚根原分化等过程中的作用(图1)。

1 生长素调控合子极性形成和顶基轴极性建立

精细胞和卵细胞融合形成合子, 合子的极性通常与细胞核及液泡的位置相关(Dumas and Rogowsky, 2008)。合子和胚胎在早期发育过程中, 基因组就已开始转录。在玉米(*Zea mays*)中, 来自父母双方的转录贡献相当。而在拟南芥合子中, 母本转录本占主

收稿日期: 2012-12-07; 接受日期: 2013-03-13

基金项目: 国家自然科学基金(No.31171389, No.91017008)

* 通讯作者。E-mail: yangqh2000@163.com; yfcheng@ibcas.ac.cn

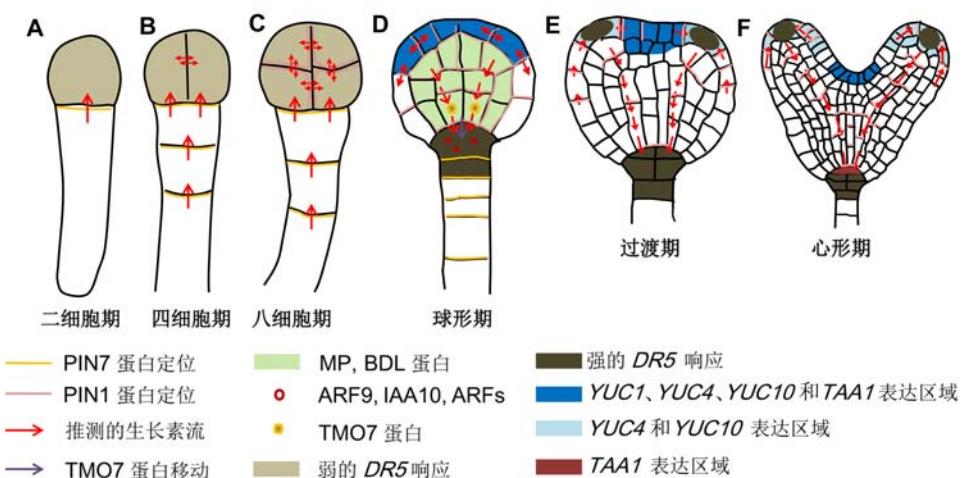


图1 生长素通过生物合成、极性运输及信号转导调控拟南芥早期胚胎发生(改自Lau et al., 2012)

(A)–(C) 生长素参与合子极性及顶基轴极性建立, PIN7定位在胚柄细胞顶部, 由下向上运输生长素到胚胎顶细胞, PIN1在顶细胞中定位没有极性; (D) 生长素调控胚根原细胞分化, 生长素合成基因YUC1、YUC4、YUC10和TAA1在胚胎中表达, 合成生长素; PIN1运输生长素到胚根原细胞, 对胚根原中生长素峰值(auxin maximum)的形成至关重要; MP和BDL在胚胎内层区域表达, 生长素导致IAA10降解, 激活ARF9和其他的ARFs, 调控胚根原分化; bHLH转录因子TMO7移动到胚根原细胞调控其分化; (E), (F) 生长素调控子叶原基起始及子叶发育, YUC1、YUC4、YUC10和TAA1在子叶原基及顶端分生组织形成区域表达; TAA1在静止中心(QC)前体细胞中表达, 它们对子叶和静止中心的形成和发育不可缺少

Figure 1 Auxin controls early embryogenesis via biosynthesis, polar transport and signal transduction (modified from Lau et al., 2012)

(A)–(C) Auxin is involved in the establishment of apical-basal polarity of zygote, PIN7 is localized apically in the suspensor cells, transporting auxin upwards, PIN1 is non-polar localized in apical cell; (D) Auxin regulates differentiation of hypophysis, Auxin biosynthetic genes YUC1, YUC4, YUC10 and TAA1 are expressed in embryos, producing auxin; PIN1 transports auxin to hypophysis; Both auxin biosynthesis and transport are crucial for establishment of auxin maximum in hypophysis; The expression of MP and BDL in embryo, auxin-triggered degradation of IAA10, activation of ARF9 and other ARFs, movement of the bHLH transcription factor TMO7 to hypophysis, collectively regulate differentiation of hypophysis; (E), (F) Auxin controls the initiation and development of cotyledon primordia; The expression of YUC1, YUC4, YUC10 and TAA1 in cotyledon primordia and shoot apical meristem regions, as well as TAA1 in precursor cells of quiescent center (QC), plays indispensable role in the formation of cotyledon and QC

导地位, 但这种母本优势并不能说明合子的极性来自卵细胞极性, 相反合子转录不依赖于父母本而独立存在(Autran et al., 2011)。Nodine和Bartel (2012)的实验证明, 在拟南芥胚胎起始阶段, 即合子形成的过程中, 父、母本基因组对胚胎的转录本同等重要。

生长素在合子伸长过程中起着不可或缺的作用。受精后几小时内合子便沿着未来顶基轴方向伸长至原来的3倍左右, 合子伸长依赖小G蛋白ADP核糖基化因子的鸟苷酸交换因子(ARF-GEF)GNOM(GN)。GN编码一个调节囊泡运输(vesicle trafficking)的因子,

该因子参与早期胚胎发生过程中生长素输出载体PIN-FORMED1(PIN1)蛋白从内体(endosome)再循环到质膜, 并最终定位到质膜上的过程(Steinmann et al., 1999; Richter et al., 2010)。gn突变体中PIN1的囊泡运输和膜定位紊乱, 扰乱了生长素极性运输, 合子伸长及不对称分裂异常, 产生大小相近的顶细胞和基细胞(Mayer et al., 1993; Geldner et al., 2003)。由于基细胞参与胚根形成, 突变体中较小的基细胞可能丢失了形成胚根所必需的信号分子, 从而造成gn突变体胚根缺失(Richter et al., 2010)。

合子顶基轴建立需要生长素稳态(homeostasis)和生长素响应。生长素输出载体PIN7及其功能冗余蛋白PIN对生长素浓度建立和顶基轴形成起关键作用。在拟南芥早期胚胎中PIN7定位在胚柄细胞顶部, 由下向上运输生长素至顶细胞, 这也与在顶细胞中能检测到生长素报告基因 $DR5:GFP$ 的响应是一致的(Friml et al., 2003)(图1A, B)。*MONOPTEROS(MP)*和*BODENLOS/IAA12(BDL/IAA12)*在合子顶细胞中也有表达。*MP*属于生长素响应因子(auxin response factor, ARF)家族, 该家族在拟南芥基因组中有23个成员。*BDL/IAA12*是拟南芥29个AUX/IAA转录因子中的1个, 这2个基因都参与生长素的响应过程(Hamann et al., 2002)。顶细胞中由生长素转运蛋白PIN7运输产生的生长素峰值(auxin maximum)可能导致*MP*和*BDL*表达。同时敲除*PIN1*、*PIN3*、*PIN4*和*PIN7*的四突变体与*mp*、*bdl*和*bdl mp*突变体一样合子顶细胞分裂异常, 由纵向分裂变成横向分裂(Hardtke and Berleth, 1998; Hamann et al., 1999; Friml et al., 2003)。因此, 在合子极性建立过程中, 生长素极性运输和信号转导都起着重要作用。目前, 已知生长素合成基因YUC在花粉和胚囊形成过程中都有表达(Cheng et al., 2006; Pagnussat et al., 2009), 但是合子中的生长素是来自受精前的精细胞和卵细胞, 还是由受精后的合子新合成的, 目前尚不清楚。

此外, 胚胎顶基轴的建立也受到不依赖于生长素的信号调控。*WUS-RELATED HOMEOBOX (WOX)*基因编码早期胚胎模式建成中的转录因子, 这些转录因子不依赖于生长素。*WOX2*和*WOX8*基因的mRNA在卵细胞及合子中都能检测到, 由于合子不对称分裂,*WOX2*和*WOX8*的表达被分别局限在顶细胞和基细胞中(Breuninger et al., 2008)。*WOX2*在顶细胞中促进*PIN1*表达, 诱导生长素运输和正常的生长素分布(Zhang and Laux, 2011)。合子伸长和不对称分裂同样依赖于白介素-1受体相关激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK)/Pelle-like kinase)SHORT SUSPENSOR (SSP), MAPKKK激酶YODA、MPK3、MPK6及RWP-RK家族蛋白RKD4。在气孔发育和模式建成中, SSP、YDA、MPK3、MPK6、MKK4和MKK5在同一条通路上(Wang et al., 2007);但在合子中这条蛋白激酶信号通路直接的靶基因还

不清楚(Lau et al., 2012)。

2 生长素调控表皮原形成和辐射轴确立

拟南芥辐射对称形成的标志是8细胞胚体切向分裂(tangential division)形成16细胞早球形胚。8个外层细胞分化成表皮和皮层细胞, 8个内层细胞分化成原维管束细胞和基本分生组织(Mansfield and Briarty, 1991)。内外层细胞命运不同主要由转录激活差异所致。GLABRA 2(GL2)转录因子家族的同源基因*ARABIDOPSIS THALIANA MERISTEM LAYER1 (ATM-L1)*和*PROTODERMAL FACTOR2 (PDF2)*在表皮原细胞内表达(Lu et al., 1996), 而*ZWILLE/ARGONAUTE10(ZLL/AGO10)*被限定在内层细胞中表达(Moussian et al., 1998)。目前尚不清楚这种表达模式是如何确立和维持的。*atm1 pdf2*双突变体的子叶缺少表皮细胞层, 在其内层细胞中可以检测到异位表达的外层细胞分子标记, 这进一步说明了胚胎发生的复杂性(Abe et al., 2003)。

与极性顶基轴建立相同, *WOX*基因和*MP/BDL*依赖的生长素信号通路也参与调控辐射对称的形成。*wox2 mp*、*wox2 wox8*及*wox1 wox2 wox3*突变体均不能形成切向分裂, 因此不能形成表皮层(Haecker et al., 2004; Breuninger et al., 2008)。

蛋白磷酸酶PP2A由A、B、C三个亚基组成, 其催化亚基的同源基因*PP2A-C3*和*PP2A-C4*的双突变体*pp2a-c3c4*具有很强的胚胎发育缺陷。从合子第1次分裂开始, 细胞的分裂就存在异常, 到表皮原阶段, 胚胎不能形成正常的辐射对称结构。在*pp2a-c3c4*双突变体中, PIN1-GFP的极性定位出现异常,*DR5-GFP*报告基因在子叶原基形成部位以外表达, 可能还有其它的生长素峰值(Ballesteros et al., 2012)。PP2A与PID及其同源基因的AGC蛋白激酶相互拮抗地调控PIN蛋白的磷酸化状态和极性定位(Michniewicz et al., 2007; Dhonukshe et al., 2010), 但是PID及其同源基因的多突变体*pid pid2 wag1 wag2*的胚胎发育缺陷主要表现在子叶缺失和幼苗根分生组织较短, 其表型较*pp2a-c3c4*和*pin1 pin3 pin4 pin7*弱, 因此推测可能还有其它的蛋白激酶参与胚胎表皮原形成的调控。

3 生长素调控由辐射对称到两侧对称的转变

拟南芥16细胞期，胚胎平周分裂形成外层8个表皮原细胞和8个内层细胞，由此形成辐射对称；心形期起始于胚胎顶端区域的子叶原基，是从辐射对称向两侧对称转变的标志。拟南芥胚胎发生过程中，子叶起始和茎分生组织形成相伴发生，但这两个过程似乎彼此独立。子叶缺失突变体 $pin1\ pid$ 和 $pid\ npy1$ 仍然可以形成茎分生组织，并长出真叶(Furutani et al., 2004; Cheng et al., 2008)。另一方面，茎分生组织缺失突变体 $shoot-meristemless (stm)$ 也可形成正常的子叶(Aida et al., 1999)。刘春明等(1993)发现生长素极性运输对胚胎两侧对称的建立是必需的。后来，Benková等(2003)发现PIN1蛋白介导生长素向子叶原基顶端极性运输，导致生长素在子叶原基积累，子叶起始由此发生。 gn 突变体产生子叶融合表型，说明GN基因在生长素极性运输介导的子叶发育中起作用(Geldner et al., 2004)。

丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PINOID(PID)是生长素极性运输中的重要因子，PID和蛋白磷酸酶Protein Phosphatase 2A(PP2A)通过磷酸化和去磷酸化作用调控PIN1蛋白的磷酸化状态，从而影响PIN1的极性定位和生长素极性运输(Michniewicz et al., 2007)。PID的同源基因WAG1和WAG2也能够对PIN1蛋白进行磷酸化修饰，调控其极性定位(Dhonukoshe et al., 2010)。PID在拟南芥子叶发育中起关键作用，同时失活PID及其3个亲缘关系最近的同源基因PID2、WAG1和WAG2，胚胎完全不能形成子叶(Cheng et al., 2008)。

YUCCA1(YUC1)、*YUC4*、*YUC10*和*YUC11*编码黄素单加氧酶，*TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE OF ARABIDOPSIS1(TAA1)*编码色氨酸氨基转移酶，这些基因是生长素合成的关键基因，在胚胎顶端分生区表达；另外，在子叶原基起始和随后的子叶发育中也能检测到*YUCs*基因的表达，说明生长素合成基因*YUCs*和*TAA1*共同调控拟南芥的子叶发育(图1E, F)(Zhao et al., 2001; Cheng et al., 2006, 2007a; Stepanova et al., 2008; Tao et al., 2008)。在*yuc1\ yuc4*背景下筛选得到其增强子*naked pins in yuc mutants (npy1)*。NPY1属于NPH3基因家族，编

码1个BTB-NPH3类蛋白(Cheng et al., 2007b)。NPY1也在 pid 增强子筛选中被分离得到，故也被称为*ENHANCER OF PINOID (ENP)*和*MACCHI-BOU 4 (MAB4)*。在 pid 增强子筛选中还得到*macchi-bou 2(mab2)*，*MAB2*编码MED13同源蛋白，可能在生长素响应信号通路中起作用。*mab2*突变体对生长素响应削弱，4–8细胞期细胞分裂紊乱，后期子叶原基发育缺陷。在 pid 突变体背景下，分别失活*NPY1*、*MAB2*、*YUC1 YUC4*和*PIN1*同样产生子叶缺失表型，而在*npy1*、*pid*、*yuc1yuc4*、*pin1*和*mab2*突变体中并未观察到此表型(Cheng et al., 2007b, 2008; Ito et al., 2011)。这些结果说明，在拟南芥中*YUC*、*NPY1*和*PID*家族参与同一个生长素介导的器官发生信号通路(Cheng et al., 2007b)。

AP2类转录因子*DORNROESCHEN (DRN)*和*DRN-LIKE (DRNL)*功能冗余地调控子叶发育。*drn drnl*双突变体子叶缺失，胚胎中*DR5*表达和PIN1蛋白定位有所改变。*DRN*是生长素响应因子MP的一个靶基因，参与调控生长素的极性运输，该基因作用于生长素的下游，同时也作用于生长素极性运输的下游(Chandler et al., 2008)。在功能获得性*iaa18*突变体中，由于*iaa18*突变蛋白不能被正常降解，变得比野生型蛋白稳定，PIN1-GFP不对称表达，*mp iaa18*突变体表型比单突变体发育缺陷表型严重，过量表达MP可以部分恢复*iaa18*子叶发育缺陷。功能获得性突变体*bdl*及*mp bdl*胚胎也有子叶发育缺陷，说明MP不是IAA18唯一的靶蛋白，IAA18可能还作用于其它的ARFs(Ploense et al., 2009)。

除了生长素合成、极性运输和信号转导相关基因在拟南芥子叶发育和茎分生组织形成中起关键作用外，*CUP-SHAPED COTYLEDON(CUC)*基因*CUC1*、*CUC2*和*STM*相互作用共同调控分生组织的分裂和子叶起始。*CUC1*、*CUC2*和*STM*在球形期的子叶原基表达，弯子叶期*CUC1*和*CUC2*被限制在子叶边缘表达，而*STM*仅在茎尖分生组织中表达(Nardmann and Werr, 2007)。*pin1\ pid*双突变体的子叶完全缺失，*CUC1*、*CUC2*和*STM*的表达扩展到子叶外围，在*pin1\ pid*中去除*CUC1*、*CUC2*或*STM*的活性可以部分恢复子叶发育，说明*CUC1*、*CUC2*和*STM*负调控子叶的生长(Furutani et al., 2004)。

Luo等(2011)发现3个*D-myo-inositol-3-phosph-*

*ate synthase (MIPS)*基因在拟南芥胚胎发生过程中起关键作用。*MIPS*编码肌醇合成通路中关键酶肌醇-3-磷酸合成酶。尽管*mips*单突变体没有明显表型, 但*mips1 mips2*和*mips1 mips2 mips3*突变体胚胎致死, *mips1 mips3*和*mips1 mips2+/-*突变体胚胎发育异常、部分子叶融合、子叶数目改变且维管束系统混乱, 这些均与生长素相关突变体的表型相似。此外, 这些突变体的*DR5*表达异常, PIN1极性定位也发生了改变, 说明肌醇合成在拟南芥胚胎发生早期起关键作用(Luo et al., 2011)。

4 生长素调控胚根原分化和根分生组织形成

拟南芥胚胎发育至32细胞球形期时, 胚根原不对称分裂产生1个小的凸透镜形的细胞和1个大的基部细胞, 胚根原分化与生长素信号密切相关(Weijers et al., 2006)。胚胎早期PIN7定位在胚柄细胞顶部, PIN1并未极性地分布在胚体细胞; 到了球形期PIN1开始极性地定位在胚胎内层细胞基部, PIN7则定位于胚柄细胞基部, 生长素由顶部向底部运输, 在胚根原细胞和胚柄上层细胞中积累并达到峰值(maximum), 激活*DR5*表达(Friml et al., 2003)(图1B, C)。

*MP/ARF5*在原维管束和胚根原细胞中非自主性激活, *BDL/IAA12*是MP的转录抑制因子(Hamann et al., 2002)。在生长素浓度较低的情况下, *BDL/IAA12*和TOPLESS(TPL)相互作用, 进而抑制MP和BDL形成异源二聚体, 阻止MP形成同源二聚体(Osmont and Hardtke, 2008; Szemenyei et al., 2008)。在生长素浓度较高的情况下, *BDL*被SCF^{TIR1}E3泛素连接酶泛素化, 之后被26S蛋白酶体降解。MP从BDL-TPL异源二聚体中释放出来, 形成同源二聚体, 结合到生长素诱导基因的启动子上, 启动此类基因的表达(Parry and Estelle, 2006; Lau et al., 2012)。MP和BDL在早球形胚体内层表达, 在胚根原细胞中不表达, 而*mp*和*bdl*突变体却产生了没有胚根和胚轴的表型(Hamann et al., 2002), MP-BDL在内层胚体细胞产生的信号如何传递到胚根原细胞并调控其分化? 除了MP和BDL外, ARF9和IAA10是否也参与调控胚根原分化? 这些问题需进一步探明。Rademacher等(2012)的研究表明, 胚体内层细胞中MP和BDL促使

PIN1运输生长素到胚根原, 从而降解生长素抑制因子IAA10, 激活ARF9、ARF13及其它ARFs, 它们在胚柄细胞中相互作用调控胚根原分化。

*mp*和*bdl*突变体由于其胚根原细胞中DR5活性丧失, PIN1蛋白水平下降, 故产生了没有胚根和下胚轴的胚胎。外源生长素处理不能恢复*mp*或*bdl*胚根原细胞分化的缺陷, 说明生长素自身并不足以诱导胚根原分化(Weijers et al., 2006), 可能还有其它未知的不依赖于生长素的MP信号存在。利用基因芯片表达谱分析方法分离得到MP靶基因TARGET OF MP5(*TMO5*)和*TMO7*, 它们在胚根原相连的胚体内层区域表达。*TMO7*转录因子可以从其合成位点移动到未来的胚根原细胞中调控其分化, 说明在胚根原分化过程中确实存在2条途径, 一条是胚根原细胞接受生长素信号降解IAA10, 激活ARF9及其功能冗余ARFs; 一条是*TMO7*移动到胚根原细胞, 通过连续转录过程激活相关基因, 调控胚根原分化(Schlereth et al., 2010)(图1D)。

POPCORN(PCN)是一个含有WD-40结构域的蛋白, 可能与TPL一样为BDL的共抑制因子, 在MP-BDL信号通路中调控生长素介导的胚根原分化和分生组织形成。在*pcn*突变体胚胎中, *WUS*、*CLV3*和*WOX5*等基因的表达下降, 而*MP*、*STM*和*BDL*等基因表达异位; *DR5-GFP*生长素报告基因表达异常, 胚胎顶部的PIN1-GFP极性发生改变。*BDL*突变可以抑制*pcn*突变体胚胎致死的表型(Xiang et al., 2011)。

AP2类转录因子PLETHORA(PLT)基因也对胚根原分化和根发育起重要作用。PLT基因*PLT1*、*PLT2*、*PLT3*及*PLT4/BABY BOOM (BBM)*作用于生长素的下游, *PLT1/2*的表达依赖于生长素响应因子MP及其同源基因NON-PHOTOTROPIC HYPOCOTYL4/ARF7(*NPH4/ARF7*)的激活, PLT以依赖于MP/BDL的方式在胚根原起始分化过程中起作用(Aida et al., 2004)。Pinon等(2013)的研究表明, PLT转录因子调控生长素合成基因*YUC1*和*YUC4*的表达, 控制茎端分生组织中生长素的浓度梯度, 决定叶原基的形成部位和叶片的排列方式。PLT转录因子是否直接结合于*YUC*基因的启动子部位, 以及在胚根原中PLT是否有相似的功能, 目前尚不清楚。转录因子SCARECROW(SCR)和SHORTROOT(SHR)同样在根的组织形成中起作用。SHR在中柱组织中表达, 随后移动到周

围组织层,结合在 SCR 启动子上直接激活 SCR 表达。鉴于 scr 突变体胚根原分裂正常, SCR 对胚根原分化并不是必需的,但其在根尖分生组织形成过程中是必需的(Helariutta et al., 2000; Nakajima et al., 2001)。

由此可见,在胚根原细胞中生长素积累和响应对胚根分化和根分生组织形成至关重要。生长素合成、极性运输和信号转导突变体表型也证实了这一点。生长素合成基因YUCCAs(YUC)和TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE OF ARABIDOPSIS1/TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE RELATEDs(TAA1/TARS)在胚根原分化和根起始过程中起重要作用, $yuc1\ yuc4\ yuc10\ yuc11$ 和 $taa1\ tar1\ tar2$ 突变体苗期发育严重缺陷,不能形成下胚轴和根分生组织(Cheng et al., 2007b; Stepanova et al., 2008)。生长素运输突变体 $pin1\ pin3\ pin4\ pin7$ 、生长素响应突变体 mp 和生长素受体突变体 $tir1\ afb1\ afb\ afb3$ 表型基本一致,胚根原发育缺陷导致了幼苗根缺失(Friml et al., 2003; Dharmasiri et al., 2005)。

5 生长素调控茎端分生组织形成

胚胎发育到过渡期时,胚体顶部的两侧形成子叶原基,在子叶原基之间形成茎端分生组织。尽管茎端分生组织起始的机制还不十分清楚,但是第3类HD-Zip(Class III HD-Zip)转录因子家族基因是不可缺少的。该家族成员包括PHABULOSA(PHB)、PHAVOLUTA(PHV)、REVOLUTA(REV)、CORONA(CNA)/ATHB15和ATHB8,它们在拟南芥发育中的功能既有重叠,又相互拮抗。 $rev\ phb$ 双突变体的胚胎和幼苗均很少有茎端分生组织形成,而 $rev\ phv$ 双突变体则少有这种发育缺陷(Prigge et al., 2005)。这些基因在早球形胚体中持续表达,球形期仅在胚体顶端中心区域表达,心形期则在茎尖分生组织、子叶近轴区域和维管束区域表达, $phb\ phv\ rev$ 三突变体胚胎缺少两侧对称和茎尖分生组织(Grigg et al., 2009)。GARP转录因子家族成员KANADI基因(KAN1–4)和第3类HD-Zip转录因子基因胚胎表达模式相互补充,KAN1、KAN2在子叶和胚轴离轴区域表达,KAN3仅在子叶离轴区域表达。 $kan1\ kan2\ kan4$ 三突变体胚胎发育严重缺陷,从胚轴生出很多侧生的叶片。在第3类HD-Zip转录因子的突变体背景下失活KAN将减弱两侧对称缺陷,

说明这两个基因家族在胚胎模式建成过程中起着相互拮抗的作用(Izhaki and Bowman, 2007)。

上述两类基因突变体胚胎茎端分生组织发育缺陷,至少部分原因是由于生长素极性运输异常所致。在 $kan1\ kan2\ kan4$ 三突变体胚胎中,生长素转运蛋白PIN1的极性定位在下胚轴形成部位出现部分逆转,导致生长素流(auxin flow)的方向相应地发生逆转,出现额外的 $DR5-GFP$ 高表达(代表新的生长素峰值),从而在下胚轴上发育出叶原基(Izhaki and Bowman, 2007)。

除了PIN生长素外向(efflux)转运蛋白介导的生长素流外,AUX1生长素内向(influx)转运蛋白和生长素本地合成对胚胎茎端分生组织的起始也具有不可缺少的作用。 $yuc1\ yuc2\ yuc4\ yuc6\ aux1$ 多突变体的幼苗不能形成正常的真叶,这种表型与 $yuc1\ yuc4\ pin1$ 三突变体的表型非常类似。 $yuc1\ yuc4\ pin1$ 三突变体幼苗的WUS和CLV3基因在茎端分生组织的表达除区域变小外,表达水平无明显变化。YUC1和YUC4在胚胎发育的球形期顶部均有表达,尤其在过渡期和早心形期的茎端分生组织形成部位有特异表达,说明生长素合成和极性运输在茎端分生组织形成过程中都起着不可或缺的作用(Cheng et al., 2007a)。

6 研究展望

自从生长素在胚胎发育中的作用被揭示以来,对这种重要植物激素控制胚胎发育的分子机制的理解越来越深入。生长素在生物合成、极性运输和信号转导等多个层次上控制着胚胎的发育过程。一般认为生长素在胚胎模式建成过程中,在器官发生的原基先形成一个峰值,与此同时信号被感知,引发下游信号途径,但是这些信号如何被进一步转化为细胞极性和器官发生的指令还不清楚。尽管已有一些转录因子得到鉴定,但是这些转录因子之间的相互关系如何?在胚胎模式建成过程中是否也存在一个类似于花器官特征决定的ABC模型?尚需进一步验证。已有的研究结果表明,生长素生物合成与极性运输之间存在着某种相互协调的关系,共同控制生长素峰值的形成,但是生长素合成与转运之间协调关系调控的分子机制是什么?胚胎的发育过程受到胚乳的影响,它们之间及其与生长素之间的关系如何?均有待深入探讨。可以肯

定的是,还有很多生长素介导的胚胎发育相关基因尚未被鉴定。新一代测序技术、高通量蛋白质组学和代谢组学技术可能为回答这些问题提供了新的手段。

参考文献

- Abe M, Katsumata H, Komeda Y, Takahashi T** (2003). Regulation of shoot epidermal cell differentiation by a pair of homeodomain proteins in *Arabidopsis*. *Development* **130**, 635–643.
- Aida M, Beis D, Heidstra R, Willemsen V, Blilou I, Galinha C, Nussaume L, Noh YS, Amasino R, Scheres B** (2004). The *PLETHORA* genes mediate patterning of the *Arabidopsis* root stem cell niche. *Cell* **119**, 109–120.
- Aida M, Ishida T, Tasaka M** (1999). Shoot apical meristem and cotyledon formation during *Arabidopsis* embryogenesis: interaction among the *CUP-SHAPED COTYLEDON* and *SHOOT MERISTEMLESS* genes. *Development* **126**, 1563–1570.
- Autran D, Baroux C, Raissig MT, Lenormand T, Wittig M, Grob S, Steimer A, Barann M, Klostermeier UC, Leblanc O, Vielle-Calzada JP, Rosenstiel P, Grimanelli D, Grossniklaus U** (2011). Maternal epigenetic pathways control parental contributions to *Arabidopsis* early embryogenesis. *Cell* **145**, 707–719.
- Ballesteros I, Dominguez T, Sauer M, Paredes P, Duprat A, Rojo E, Sanmartín M, Sánchez-Serrano JJ** (2012). Specialized functions of the PP2A subfamily II catalytic subunits PP2A-C3 and PP2A-C4 in the distribution of auxin fluxes and development in *Arabidopsis*. *Plant J* **73**, 862–872.
- Benková E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann T, Seifertová D, Jürgens G, Friml J** (2003). Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell* **115**, 591–602.
- Breuninger H, Rikirsch E, Hermann M, Ueda M, Laux T** (2008). Differential expression of *WOX* genes mediates apical-basal axis formation in the *Arabidopsis* embryo. *Dev Cell* **14**, 867–876.
- Chandler JW, Cole M, Werr W** (2008). The role of DORNROESCHEN (DRN) and DRN-LIKE (DRNL) in *Arabidopsis* embryonic patterning. *Plant Signal Behav* **3**, 49–51.
- Cheng YF, Dai XH, Zhao YD** (2006). Auxin biosynthesis by the *YUCCA* flavin monooxygenases controls the forma-
- tion of floral organs and vascular tissues in *Arabidopsis*. *Genes Dev* **20**, 1790–1799.
- Cheng YF, Dai XH, Zhao YD** (2007a). Auxin synthesized by the *YUCCA* flavin monooxygenases is essential for embryogenesis and leaf formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**, 2430–2439.
- Cheng YF, Qin GJ, Dai XH, Zhao YD** (2007b). NPY1, a BTB-NPH3-like protein, plays a critical role in auxin-regulated organogenesis in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 18825–18829.
- Cheng YF, Qin GJ, Dai XH, Zhao YD** (2008). NPY genes and AGC kinases define two key steps in auxin-mediated organogenesis in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 21017–21022.
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Weijers D, Lechner E, Yamada M, Hobbie L, Ehrismann JS, Jürgens G, Estelle M** (2005). Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. *Dev Cell* **9**, 109–119.
- Dhonukshe P, Huang F, Galvan-Ampudia CS, Mähönen AP, Kleine-Vehn J, Xu JA, Quint A, Prasad K, Friml J, Scheres B, Offringa R** (2010). Plasma membrane-bound AGC3 kinases phosphorylate PIN auxin carriers at TPRXS(N/S) motifs to direct apical PIN recycling. *Development* **137**, 3245–3255.
- Dumas C, Rogowsky P** (2008). Fertilization and early seed formation. *C R Biol* **331**, 715–725.
- Friml J, Vieten A, Sauer M, Weijers D, Schwarz H, Haumann T, Offringa R, Jürgens G** (2003). Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature* **426**, 147–153.
- Furutani M, Vernoux T, Traas J, Kato T, Tasaka M, Aida M** (2004). *PIN-FORMED1* and *PINOID* regulate boundary formation and cotyledon development in *Arabidopsis* embryogenesis. *Development* **131**, 5021–5030.
- Geldner N, Anders N, Wolters H, Keicher J, Kornberger W, Müller P, Delbarre A, Ueda T, Nakano A, Jürgens G** (2003). The *Arabidopsis* GNOM ARF-GEF mediates endosomal recycling, auxin transport, and auxin-dependent plant growth. *Cell* **112**, 219–230.
- Geldner N, Richter S, Vieten A, Marquardt S, Torres-Ruiz RA, Mayer U, Jürgens G** (2004). Partial loss-of-function alleles reveal a role for GNOM in auxin transport-related, post-embryonic development of *Arabidopsis*. *Development* **131**, 389–400.
- Grigg SP, Galinha C, Kornet N, Canales C, Scheres B,**

- Tsiantis M** (2009). Repression of apical homeobox genes is required for embryonic root development in *Arabidopsis*. *Curr Biol* **19**, 1485–1490.
- Haecker A, Gross-Hardt R, Geiges B, Sarkar A, Breuninger H, Herrmann M, Laux T** (2004). Expression dynamics of *WOX* genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **131**, 657–668.
- Hamann T, Benkova E, Bäurle I, Kientz M, Jürgens G** (2002). The *Arabidopsis BODENLOS* gene encodes an auxin response protein inhibiting *MONOPTEROS*-mediated embryo patterning. *Genes Dev* **16**, 1610–1615.
- Hamann T, Mayer U, Jürgens G** (1999). The auxin-insensitive *bodenlos* mutation affects primary root formation and apical-basal patterning in the *Arabidopsis* embryo. *Development* **126**, 1387–1395.
- Hardtke CS, Berleth T** (1998). The *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development. *EMBO J* **17**, 1405–1411.
- Helariutta Y, Fukaki H, Wysocka-Diller J, Nakajima K, Jung J, Sena G, Hauser MT, Benfey PN** (2000). The *SHORTROOT* gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling. *Cell* **101**, 555–567.
- Ito J, Sono T, Tasaka M, Furutani M** (2011). *MACCHI-BOU 2* is required for early embryo patterning and cotyledon organogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* **52**, 539–552.
- Izhaki A, Bowman JL** (2007). KANADI and class III HD-Zip gene families regulate embryo patterning and modulate auxin flow during embryogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**, 495–508.
- Lau S, Slane D, Herud O, Kong JX, Jürgens G** (2012). Early embryogenesis in flowering plants: setting up the basic body pattern. *Annu Rev Plant Biol* **63**, 483–506.
- Liu CM, Xu ZH, Chua NH** (1993). Auxin polar transport is essential for the establishment of bilateral symmetry during early plant embryogenesis. *Plant Cell* **5**, 621–630.
- Lu PZ, Porat R, Nadeau JA, O'Neill SD** (1996). Identification of a meristem L1 layer-specific gene in *Arabidopsis* that is expressed during embryonic pattern formation and defines a new class of homeobox genes. *Plant Cell* **8**, 2155–2168.
- Luo Y, Qin GJ, Zhang J, Liang Y, Song YQ, Zhao MP, Tsuge T, Aoyama T, Liu JJ, Gu HY, Qu LJ** (2011). *D-myo-inositol-3-phosphate* affects phosphatidylinositol-mediated endomembrane function in *Arabidopsis* and is essential for auxin-regulated embryogenesis. *Plant Cell* **23**, 1352–1372.
- Mansfield SG, Briarty LG** (1991). Early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. 2. The developing embryo. *Can J Bot-Rev Can Bot* **69**, 461–476.
- Mayer U, Büttner G, Jürgens G** (1993). Apical-basal pattern formation in the *Arabidopsis* embryo: studies on the role of the *GNOM* gene. *Development* **117**, 149–162.
- Michniewicz M, Zago MK, Abas L, Weijers D, Schweighofer A, Meskiene I, Heisler MG, Ohno C, Zhang J, Huang F, Schwab R, Weigel D, Meyerowitz EM, Luschnig C, Offringa R, Friml J** (2007). Antagonistic regulation of PIN phosphorylation by PP2A and PINOID directs auxin flux. *Cell* **130**, 1044–1056.
- Moussian B, Schoof H, Haecker A, Jürgens G, Laux T** (1998). Role of the *ZWILLE* gene in the regulation of central shoot meristem cell fate during *Arabidopsis* embryogenesis. *EMBO J* **17**, 1799–1809.
- Nakajima K, Sena G, Nawy T, Benfey PN** (2001). Intercellular movement of the putative transcription factor *SHR* in root patterning. *Nature* **413**, 307–311.
- Nardmann J, Werr W** (2007). The evolution of plant regulatory networks: what *Arabidopsis* cannot say for itself. *Curr Opin Plant Biol* **10**, 653–659.
- Nodine MD, Bartel DP** (2012). Maternal and paternal genomes contribute equally to the transcriptome of early plant embryos. *Nature* **482**, 94–97.
- Osmont KS, Hardtke CS** (2008). The topless plant developmental phenotype explained! *Genome Biol* **9**, 219–219.
- Pagnussat GC, Alandete-Saez M, Bowman JL, Sundaresan V** (2009). Auxin-dependent patterning and gamete specification in the *Arabidopsis* female gametophyte. *Science* **324**, 1684–1689.
- Parry G, Estelle M** (2006). Auxin receptors: a new role for F-box proteins. *Curr Opin Cell Biol* **18**, 152–156.
- Pinon V, Prasad K, Grigg SP, Sanchez-Perez GF, Scheres B** (2013). Local auxin biosynthesis regulation by PLETHORA transcription factors controls phyllotaxis in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 1107–1112.
- Ploense SE, Wu MF, Nagpal P, Reed JW** (2009). A gain-of-function mutation in *IAA18* alters *Arabidopsis* embryonic apical patterning. *Development* **136**, 1509–

- 1517.
- Prigge MJ, Otsuga D, Alonso JM, Ecker JR, Drews GN, Clark SE** (2005). Class III homeodomain-leucine zipper gene family members have overlapping, antagonistic, and distinct roles in Arabidopsis development. *Plant Cell* **17**, 61–76.
- Rademacher EH, Lokerse AS, Schlereth A, Llavata-Peris CI, Bayer M, Kientz M, Freire Rios A, Borst JW, Lukowitz W, Jürgens G, Weijers D** (2012). Different auxin response machineries control distinct cell fates in the early plant embryo. *Dev Cell* **22**, 211–222.
- Richter S, Anders N, Wolters H, Beckmann H, Thomann A, Heinrich R, Schrader J, Singh MK, Geldner N, Mayer U, Jürgens G** (2010). Role of the *GNOM* gene in Arabidopsis apical-basal patterning—from mutant phenotype to cellular mechanism of protein action. *Eur J Cell Biol* **89**, 138–144.
- Schlereth A, Möller B, Liu WL, Kientz M, Flipse J, Rademacher EH, Schmid M, Jürgens G, Weijers D** (2010). MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor. *Nature* **464**, 913–916.
- Steinmann T, Geldner N, Grebe M, Mangold S, Jackson CL, Paris S, Gälweiler L, Palme K, Jürgens G** (1999). Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by *GNOM* ARF GEF. *Science* **286**, 316–318.
- Stepanova AN, Robertson-Hoyt J, Yun J, Benavente LM, Xie DY, Doležal K, Schlereth A, Jürgens G, Alonso JM** (2008). TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell* **133**, 177–191.
- Szemenyei H, Hannon M, Long JA** (2008). TOPLESS mediates auxin-dependent transcriptional repression during Arabidopsis embryogenesis. *Science* **319**, 1384–1386.
- Tao Y, Ferrer JL, Ljung K, Pojer F, Hong FX, Long JA, Li L, Moreno JE, Bowman ME, Ivans LJ, Cheng YF, Lim J, Zhao YD, Ballaré L, Sandberg G, Noel JP, Chory J** (2008). Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell* **133**, 164–176.
- Wang HC, Ngwenyama N, Liu YD, Walker JC, Zhang SQ** (2007). Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in Arabidopsis. *Plant Cell* **19**, 63–73.
- Weijers D, Schlereth A, Ehrismann JS, Schwank G, Kientz M, Jürgens G** (2006). Auxin triggers transient local signaling for cell specification in Arabidopsis embryogenesis. *Dev Cell* **10**, 265–270.
- Xiang DQ, Yang H, Venglat P, Cao YG, Wen R, Ren MZ, Stone S, Wang E, Wang H, Xiao W, Weijers D, Berleth T, Laux T, Selvaraj G, Datla R** (2011). POPCORN functions in the auxin pathway to regulate embryonic body plan and meristem organization in Arabidopsis. *Plant Cell* **23**, 4348–4367.
- Zhang ZJ, Laux T** (2011). The asymmetric division of the Arabidopsis zygote: from cell polarity to an embryo axis. *Sex Plant Reprod* **24**, 161–169.
- Zhao YD, Christensen SK, Fankhauser C, Cashman JR, Cohen JD, Weigel D, Chory J** (2001). A role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science* **291**, 306–309.

Role of Auxin in Early Embryogenesis of Plants

Lizhen Song^{1,2}, Yi Wang², Qinghua Yang^{1*}, Youfa Cheng^{2*}

¹Agronomy College of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; ²Key Laboratory of Plant Molecular Physiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract A hallmark of flowering plants is sexual reproduction, with the embryo a key player. In double fertilization, the zygote (fertilized egg) first establishes its apical-basal polarity within the single cell. With cell division and differentiation, the proembryo forms a apical-basal axis and develops through pattern formation and organogenesis. Recent advances have shown that the whole process of embryogenesis is regulated by auxin at levels of biosynthesis, polar transport and signal transduction. In this review, we highlight our current understanding, mainly from studies in *Arabidopsis*, of the molecular mechanisms by which auxin controls embryogenesis. These mechanisms include the establishment of polarity of zygotes, apical-basal axis of embryos, differentiation of protoderm, transition of radial symmetry to bilateral symmetry, formation of hypophysis, shoot apical meristem and root apical meristem. In addition, we briefly introduce the embryogenesis process not regulated by auxin.

Key words auxin, embryogenesis, pattern formation, polarity establishment

Song LZ, Wang Y, Yang QH, Cheng YF (2013). Role of auxin in early embryogenesis of plants. *Chin Bull Bot* **48, 371–380.**

* Authors for correspondence. E-mail: yangqh2000@163.com; yfcheng@ibcas.ac.cn

(责任编辑: 孙冬花)