

doi:10.11937/bfyy.20171777

高等植物根系边缘细胞的抗逆性研究进展

张永平, 付玲, 包颖, 乔永旭, 王继红, 张红心

(唐山师范学院 生命科学系, 河北 唐山 063000)

摘要:该研究综述了近年来根系边缘细胞(root border cells, RBCs)的产生和调控机制、抵御致病性细菌和真菌感染、抵御根结线虫危害、抵御金属阳离子毒害等的进展,概括了RBCs保护根尖的模式,以期增强植物根系、抵御生物和非生物胁迫提供参考。

关键词:根系边缘细胞;抗逆性;生物/非生物胁迫

中图分类号:Q 942 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)24-0189-05

根系边缘细胞(root border cells, RBCs),曾被学者称为“根冠脱落细胞”,指的是起源于高等植物根冠分生组织,由水溶性多糖将其和根尖表皮粘连,当根尖浸入水中时能快速脱离根尖表皮的一类细胞^[1-3]。这类细胞具有特殊的生理活性和生物学意义。过去,人们普遍认为RBCs没有活性,只把它作为根系的一个结构和功能的组分。造成这种误解的原因主要有:1)最初研究的菊科植物RBCs在脱离母体前已经死亡,所以人们认为RBCs是根冠新陈代谢过程中脱落下来的垂死副产物^[4]。2)RBCs在水中非常容易脱落,试验前为了去除泥沙,即使对根系进行非常轻柔的清洗也能将其大量去除。3)缺少自由水时,RBCs紧紧粘连在根表皮周围,如同根系本身的活体组织,即使很有经验的研究人员也很难发现它们的存在。研究发现,多数物种的RBCs脱离母体前的存活率超过90%,水培的玉米和豌豆的RBCs能存活3个月以上,大田中玉米的RBCs活力也不低于7 d^[5-6]。当RBCs脱离母体后,生理代谢活动发生了显著的改变,在mRNA表达和蛋白质

组合成上明显不同于普通的根系体细胞,并产生特异的代谢产物,如抗生素、花青素、根瘤菌诱导的过氧化物酶和低pH牛乳糖酶等,这些特异性的物质则存在于根系和土壤之间,起到帮助植物根系抵御生物和非生物胁迫的作用。

1 RBCs的产生

正常的植物根系每天产生大量的RBCs,其产生的数量和植物的物种密切相关,同一物种不同的植株间差异不明显,不同的物种间则差异明显;另外,对于同一植株的主根、侧根和须根来说,RBCs的发生过程也无差异。研究发现烟草每天产生十几个RBCs,黄瓜为几千个^[6],而棉花和松树则高达上万个^[1]。在植物的整个生长发育过程中,RBCs的形成受到严格的内源信号和外界环境因素的调节。前人研究发现豌豆根尖存在2种不同功能的分生组织:其一为根冠分生组织,其二为根尖顶端分生组织。根冠分生组织通过有丝分裂产生RBCs,并逐渐将其由组织内部推向根尖表面,最后形成多个独立的细胞,而根尖顶端分生组织则通过有丝分裂促进根系的生长^[8-9]。当豌豆根尖露白后24 h,胚根就产生了一套RBCs,这套细胞同时释放出一种胞外抑制因子,该因子特异性的抑制根冠分生组织进行有丝分裂而不抑制根尖顶端分生组织的分裂。因此RBCs和抑制因子之间相互促进和抑制,从而使RBCs的数量维持在4 000个左右。此时若将根系边缘细胞或者

第一作者简介:张永平(1978-),女,博士,副教授,现主要从事园艺植物逆境生理生化等研究工作。E-mail: zhyongping@163.com.

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(C2015105091);唐山师范学院博士基金资助项目(2014A04);唐山师范学院科学研究基金资助项目(2013D06)。

收稿日期:2017-08-03

胞外抑制因子采用物理手段去除,5 min 内根冠分生组织就重新启动有丝分裂,直至 RBCs 的数量再次达到 4 000 个左右才停止。研究发现,RBCs 的产生和分离是同步进行的,这受 2 个基因 *psugt1* (尿苷二磷酸葡萄糖醛基转移酶) 和 *rcpme1* (根冠表达的果胶甲酯酶) 的调控^[10-11],前者调控根冠分生组织的细胞分裂,后者调控根冠表皮细胞的分离。在反义的 mRNA 突变体中,任何一个基因的表达受到抑制,RBCs 就不会形成。马伯军等^[12]研究认为大麦 RBCs 的形成过程中,边缘细胞的分离程度与根冠表达的果胶甲酯酶活性呈正相关。

土壤是一个复杂的生态环境,在其中生长的植物,因 RBCs 不能轻易脱离,所以研究它们的发生和调控机理更为困难。理论上认为,在干旱的土壤中,RBCs 紧紧的粘连在根尖组织上,不易脱落,因此也就不能形成新的 RBCs,有的根系一生可能只有一套 RBCs。当根系在半固态基质比如液态琼脂中生长时,由于受到外界的摩擦力,RBCs 不断的从根尖移走,也就源源不断的产生新的 RBCs。据此推测,在湿润的土壤中,由于自由水和土壤阻力的存在,胞外抑制因子和 RBCs 更容易扩散到土壤中,就会形成新的 RBCs^[1]。

2 RBCs 的调控

RBCs 的产生受到内源和外源信号的调控。近 10 年来,人们普遍认为外源信号对 RBCs 的调节作用大于内源信号^[13]。无逆境胁迫时 RBCs 会正常发生,当环境中的刺激信号发生改变时,RBCs 的发育可能停止,或者快速增加。比如增加豌豆根际环境中的 CO₂ 浓度,RBCs 的数量较正常条件下至少增加 1 倍。而用紫苜蓿进行同样处理,RBCs 的数量几乎无变化^[13],表明不同外源信号对不同物种 RBCs 的影响不同。另外,外界信号的强度对 RBCs 的数量和活性也有一定的影响。乔永旭^[7]研究发现,随着 NaCl 浓度的增加,RBCs 的数量和活性不断降低;CAI 等^[14]发现水稻受到 Al³⁺ 毒害后,RBCs 活性也大大降低。

根冠细胞分化成 RBCs 过程中,除受到内源和外源信号调节外,还受到相关基因的调控。RBCs 形成后,细胞中原有的 mRNA 和蛋白质被降解,并形成一套新的 mRNA 和蛋白质^[5-6]。这

些新的 mRNA 编码的蛋白质及其直接形成的蛋白质具有一定的抵御外界不良环境条件的功能,这些蛋白质基本上均属于应激酶类。目前已经知道的应激酶的种类有半乳糖苷酶(BGAL)、热激蛋白酶和微生物诱导产生的过氧化物酶(PAL)等^[1,5]。这类基因由于是在不良的外界环境刺激下产生的,因此在提高根系的耐逆性方面有一定的生物学意义。

3 RBCs 的生物学功能

长期以来,人们误认为 RBCs 及其外面的黏胶层在根尖伸长过程中起润滑剂的作用,减缓根尖在土壤中的穿行阻力,从而促进根系的生长发育^[15]。这种假设以前一直未得到试验的证实。事实上 RBCs 的有无并不影响根尖在土壤中的生长,因为有的物种自身就没有 RBCs。HAWES 等^[1]认为 RBCs 通过对土壤微生物特异性的识别及其它因子的调控,在根际周围建立一种稳定的生态平衡系统,以保证根系免受或少受外界不良因素的干扰,从而进行正常的生理活动。

3.1 抵御致病性细菌感染

在外界的逆境胁迫下,根系边缘细胞分泌一层厚厚的黏液来保护根尖免受危害,这层黏液称为黏胶层^[16-17]。黏胶层能够排斥或约束致病性细菌,将致病性细菌和根尖组织隔离开来^[18],此外还控制共生固氮细菌的生长和相关基因的表达^[19-20],防止根系受到致病细菌的侵染,以影响根系的正常生长。除大肠杆菌以外的病原菌与谷类或豆类 RBCs 共培养时,RBCs 均产生一层黏胶层以达到驱离病原菌的目的^[1]。同时,RBCs 也选择性地吸引、排斥和向致病性细菌提供生长所需的物质,以调节根际微生物群体的生长发育和基因表达,从而达到控制根际生态环境的作用^[21-22]。

3.2 抵御致病性真菌感染

RBCs 通过吸引真菌和游离孢子,以构造防御体系,并且诱导病原菌及共生菌所必需的基因表达。当豌豆幼苗和致病性真菌孢子共培养时,24 h 内根尖后部区域出现了肉眼可见的病变。将根剪下植入培养基后发现,根尖后部感染区域布满了大量的真菌菌丝组织,但根尖颜色白亮,生

长正常。将共培养后的根置于显微镜下,发现根尖后部感染区域外面有一层白色的“套膜”结构,该结构是由数以千计生长活跃的真菌菌丝和大量被真菌消化的 RBCs 组成的。由于套膜的保护作用,即使将根尖置于高浓度的孢子或热休克温度的环境中,几天后,根尖仍能生长正常,并且保持无菌状态^[1]。由此可见,当植物根尖面临致病性真菌攻击时,RBCs 就吸引了真菌的注意并且成为了真菌攻击的靶子,从而代替根尖成为了牺牲品,这就避免了对根尖顶端分生组织的伤害,保持了根尖的健康和活力。另外,黄瓜的 RBCs 和串珠状腐霉的孢子共培养时也出现了类似的效应^[3]。

3.3 抗根结线虫

RBCs 具有吸引根结线虫并使之僵化不动的能力。研究表明,在 RBCs 存在的情况下,豌豆根尖表面聚集了大量活跃的根结线虫,30 min 后,这些根结线虫就会变得行动迟钝,肢体僵硬,形如死状。根结线虫活性丧失的原因是由于根系分泌的一种可溶性的细胞外物质所致,该物质具有独特的热稳定性和极性。根结线虫的活性抑制是可以恢复的,恢复的时间由试验的条件决定,从几个小时到几天不等。在根结线虫活性恢复期间,生长在土壤中的根尖仍以 $1\text{ mm} \cdot \text{h}^{-1}$ 的速度生长,待根结线虫活性恢复后,能够侵染的部位已经位于易感染部位的后面,该部位已有足够抵御根结线虫侵染的能力^[1]。RBCs 的这种能力,能够为根尖在复杂的根际环境中提供一种较安全的保障,从而保证根系的健康生长。

3.4 抵御金属阳离子的毒害

由于工业的迅猛发展,环境污染程度越来越高,酸雨的覆盖面积也越来越大^[23]。大量酸雨降低了土壤的 pH,导致对植物有毒性的铝和铁盐逐渐释放出来,严重危害了作物的产量和品质。目前关于铝和铁盐毒害的防御机制,除了分子机制以外,RBCs 对它们的抵御也是目前的研究热点。RBCs 往往通过分泌黏胶层和提高果胶甲基酯酶的活性来增强对金属阳离子的抗性。HAWES 等^[1]研究表明, Al^{3+} 和 RBCs 共培养时能够产生黏胶层,其厚度和 Al^{3+} 的浓度呈正相关。黏胶层的厚度决定着 RBCs 的活性,在 Al^{3+} 的毒害下,拥有较薄黏胶层的 RBCs 死亡率较高,

待黏胶层完全形成后,RBCs 的死亡率就会快速下降到一个稳定的数量。周楠等^[24]研究铝毒对黄瓜根系影响时发现,铝毒条件下 RBCs 果胶甲基酯酶活性明显提高,使细胞壁的果胶去甲基化,使根表面带负电位点,增加了 Al^{3+} 的结合位点,使其结合的 Al^{3+} 的量增加,从而避免更多的铝进入细胞内,以减轻对植物根尖的毒害。对植物来说, Fe^{2+} 是微量元素,少量浓度的 Fe^{2+} 能够促进植物的正常生长,当 Fe^{2+} 浓度增加时,就会对植物的根尖细胞的活性产生抑制,影响根系的吸收功能^[17]。同铝毒对 RBCs 的影响一样,铁毒也引起了果胶甲基酯酶活性的提高,从而结合过多的 Fe^{2+} ,减轻其对根系组织的毒害。此外 RBCs 对 Na^{+} 、 Cu^{2+} 等也有一定的抗性。

3.5 对其它不良环境因子的抵御

温度是影响植物生长的重要因子,而低温则限制了众多作物的地理分布和产量的提高^[13]。低温可诱导 RBCs 产生草酸氧化酶、CAT 等活性氧清除剂,其活性和含量均较正常条件下大幅度增加,以清除植株体内因逆境胁迫产生的活性氧,从而减缓甚至避免了活性氧对植株的伤害^[25]。与低温相似,高温对 RBCs 的影响也较小,PAN 等^[26]研究了 10、15、35 $^{\circ}\text{C}$ 对大麦根尖和 RBCs 的影响,发现低温和高温均明显抑制大麦根尖的伸长,35 $^{\circ}\text{C}$ 下大麦的根尖几乎停止了生长,而 RBCs 的数量继续稳定的增加,可见,RBCs 对温度不太敏感。因此,在极端天气下(低温或者高温),由于 RBCs 对极端温度的延缓或阻止作用,使根尖在短时间内避免受到伤害。潘建伟等^[27]和马伯军等^[28]也发现大豆 RBCs 具有明显的抗高温胁迫的能力,并且总结了 RBCs 抵御高温的 2 个机理。其一,大豆通过增加 RBCs 的数量和黏胶层的厚度产生隔热作用,将根尖和高温隔离开来,从而起到保护根尖的作用;其二,高温增强了大豆根系的代谢活动,促使根冠分生组织产生更多的 RBCs,以更好的发挥其生物学防御的作用^[3]。

较高浓度的 CO_2 也能促使 RBCs 的数量增加,ZHAO^[13]在豌豆 RBCs 的研究中发现,主根出现后,小区域范围内增加豌豆根际的 CO_2 浓度,RBCs 的数量会成倍的增加。然而同样的处理对紫苜蓿的 RBCs 则无明显的影响。说明环境条件对不同种类作物的 RBCs 的影响不同。

4 RBCs 保护根尖的模式

植物生长过程中,根冠分生组织产生大量的RBCs对根尖提供保护,原因是多方面的。当植物根系受到外界胁迫时,引起了根尖细胞潜伏基因的表达,合成了特异性的蛋白质。指导着植物的根系避开胁迫因子,向营养丰富和水分充足的土壤中生长。同时根尖细胞也将感知的胁迫因子以信号转导和信息传递的方式传递给地上部,引起植株地上部生长模式发生改变,来应对外界胁迫以保护自己少受或免受伤害。无论植株高大还是矮小,高度进化还是原始生物,它们的日常生理活动均遵循这一模式^[29]。植物感知地下信号的主要部位是根尖端几毫米的部位,这些部位是新生成的组织。它们通过感知光照、电荷、水分、触摸、离子和其它可溶性的小分子,调节根尖的生长速度和生长方向来规避未向,并向适宜的地方生长。这些新生成的根尖组织容易遭受生物和非生物的胁迫,因此迫切需要一套完善的防御系统来保护根尖免受外界的伤害。

一般情况下,植物在受到生物和非生物胁迫时,植物都会改变表面结构,产生有毒物质,并活化一些基因,以合成一些抗病菌感染的蛋白质和其它物质^[30]。比如植物的“过敏性反应”就是通过少数植物细胞死亡来抑制病原菌的继续侵袭。包括根尖后部区域细胞在内的大多数植物组织均属于这种途径。然而,对于根尖来说,没有多余的细胞通过过敏性坏死来保护根尖组织细胞。研究证明,即使是根尖末端2 mm部位的细胞出现坏死均会导致根系停止生长^[1]。虽然还有其它途径能够防止根尖细胞过敏性死亡,但是代价巨大。这条途径通过下调其它途径来抵御病原菌入侵,尤其是关闭和细胞有丝分裂有关的基因,使大多数根系的分生组织停止有丝分裂,最终导致细胞死亡^[31]。因此,植物采用RBCs保护根尖的模式来抵御外界胁迫,就成为植物防御系统中最合理和最科学的方式。

5 展望

随着RBCs生理功能研究的逐步深入,其在设施农业生产中的应用也将随之进行。由于RBCs在保护植物根系免受或少受伤害、平衡根

际微环境及抵抗外界极端气候等方面有着出色的作用,其研究和应用前景越来越被看好。而自毒作用是设施农业生产中最常见的问题之一^[32],由于自毒物质对植物的毒害机制较为复杂,现在还未完全研究清楚,因此自毒作用的防治一直都是难以真正解决的顽疾。随着RBCs在抵御各种逆境胁迫的功能被人们越来越多的发现,研究RBCs与自毒作用之间的关系也成为科学的问题。同时,在不远的将来,随着RBCs内抗自毒物质特异性表达基因的克隆和由RBCs培育出完整植株技术的出现,真正解决在农业生产领域广泛存在的自毒作用,就成为可能。除自毒作用外,对植物其它胁迫基因的研究也是重要的研究方向。目前,有关RBCs在发生发育的调控机理、自我遗传机制和诱导根际微环境中特殊微生物基因表达等方面还存在许多问题,也将成为今后的研究热点。

(该文作者还有陈超,单位同第一作者。)

参考文献

- [1] HAWES M C, PUEPPKE S G. Sloughed peripheral root cap cells: Yield from different species and callus formation from single cells[J]. American Journal of Botany, 1986, 73: 1466-1473.
- [2] 喻敏, 崔志新, 温海洋, 等. 根际新发现的一类活细胞群: 根边缘细胞[J]. 华中农业大学学报, 2004, 23(2): 275-280.
- [3] 李荣峰, 蔡妙珍, 刘鹏, 等. 植物根边缘细胞的抗逆性研究进展[J]. 广西植物, 2007, 27(3): 497-502.
- [4] ROGERS H T, PEARSON R W, PIERRE W H. The source and phosphatase activity of exoenzyme systems of corn and tomato roots[J]. Soil Science, 1942, 54: 353-365.
- [5] BRIGHAM L A, WOO H H, HAWES M C. Differential expression of proteins and mRNA from border cells and root tips of pea[J]. Plant Physiology, 1995, 109: 457-463.
- [6] 禹艳红, 宾金华. 根缘细胞的发生和生物学作用[J]. 植物学通报, 2002, 19(6): 756-762.
- [7] 乔永旭. NaCl胁迫对黄瓜根系边缘细胞发生的影响[J]. 植物生理学报, 2011, 47(1): 97-101.
- [8] BRIGHAM L A, WOO H H, WEN F. Meristem-specific suppression of mitosis and a global switch in gene expression in the root cap of pea by endogenous signals[J]. Plant Physiology, 1998, 118: 1223-1231.
- [9] PAN J W, ZHU M Y, PENG H Z, et al. Developmental regulation and biological functions of root border cells in higher plants[J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44: 1-8.
- [10] WOO H H, ORBACH M J, HIRSCH A M, et al. Meristem-localized inducible expression of a UDP-glycosyltransferase gene is essential for plant growth and development in pea and alfalfa

- [J]. Plant Cell, 1999(11):2303-2315.
- [11] WEN F, ZHU Y, HAWES M C. Effect of pectin methylesterase gene expression on pea root development[J]. Plant Cell, 1999(11):1129-1140.
- [12] 马伯军, 潘建伟, 顾青, 等. 大麦根边缘细胞发育的生物学特性[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(2):159-164.
- [13] ZHAO X. Stimulation of border cell production in response to increased CO₂ levels[J]. Plant Physiology, 2000, 122:181-188.
- [14] CAI M Z, ZHANG S N, XING C H, et al. Developmental characteristics and aluminum resistance of root border cells in rice seedlings[J]. Plant Science, 2011, 180:702-708.
- [15] GUINEL F C, MCCULLY M E. Some water-related physical properties of maize root cap mucilage[J]. Plant Cell and Environment, 1986(9):657-666.
- [16] CANNESAN M A, GANGNEUX C, LANOUE A, et al. Association between border cell responses and localized root infection by pathogenic *Aphanomyces euteiches*[J]. Annals of Botany, 2011, 108:459-469.
- [17] ZHANG Y, WANG Y P, LIU P, et al. Effect of toxic Fe²⁺ levels on the biological characteristics of rice root border cells[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2012, 59(6):766-771.
- [18] HAWES M C, PUEPPKE S G. Correlation between binding of *Agrobacterium tumefaciens* by root cap cells and susceptibility of plants to crown gall[J]. Plant Cell Reports, 1987(6):287-290.
- [19] ZHU Y, PIERSON L S, HAWES M C. Induction of microbial genes for pathogenesis and symbiosis by chemicals from root border cells[J]. Physiologia Plantarum, 1997, 115:1691-1698.
- [20] PETERS N K, LONG S R. Alfalfa root exudates and compounds which promote or inhibit induction of *Rhizobium meliloti* Nodulation genes[J]. Plant Physiology, 1998, 88:396-400.
- [21] HAWES M C, BRIGHAM L A, WOO H H. Root border cells[J]. Biology Plant-Microbe Interaction, 1996(8):509-514.
- [22] ZHU M Y, AHN S, MATSUMOTO H. Inhibition of growth and development of root border cells in wheat by Al[J]. Physiologia Plantarum, 2003, 117:359-367.
- [23] 冯英明, 喻敏, 王昌全, 等. 铝毒诱导植物细胞反应研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(3):32-324.
- [24] 周楠, 陈文荣, 刘鹏, 等. 黄瓜根边缘细胞生物学特性及其对铝的响应[J]. 园艺学报, 2006, 33(5):1117-1120.
- [25] TAMÁS L, BUD Í KOVÁ S, HUTTOVÁJ, et al. Aluminum induced cell death of barley root border cells is correlated with peroxidase and oxalate oxidase-mediated hydrogen peroxide production[J]. Plant Cell Reports, 2005, 24:189-194.
- [26] PAN J W, YE D, WANG L L, et al. Root border cell development is a temperature insensitive and Al sensitive process in barley[J]. Plant and Cell Physiology, 2004, 45:751-760.
- [27] 潘建伟, 朱睦元, 彭华正, 等. 高等植物根边缘细胞的发育调控及其生物学功能[J]. 植物学报, 2002, 44(1):1-8.
- [28] 马伯军, 潘建伟, 傅昭娟, 等. 大豆根边缘细胞的发育及其影响因子[J]. 作物学报, 2005, 31(2):165-169.
- [29] AIKEN R M, SMUCKER A J M. Root system regulation of whole plant growth[J]. Annual Review of Phytopathology, 1996, 34:325-346.
- [30] SOMSSICH I E, HAHNBROCK K. Pathogen defense in plants: A paradigm of biological complexity[J]. Trends in Plant Science, 1998(3):86-90.
- [31] LOGEMANN E, WU S C, SCHRODER, et al. Gene activation by UV light, fungal elicitor or fungal infection in *Petroselinum crispum* is correlated with repression of cell cycle-related genes[J]. Plant Journal, 1995(8):865-876.
- [32] QIAO Y X, ZHANG Y P, ZHANG H X, et al. Developmental characteristics and cinnamic acid resistance of root border cells in cucumber and figleaf gourd seedlings[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2013, 12(11):2065-2073.

Research on Stress Response and Resistance of Root Border Cells in Higher Plants

ZHANG Yongping, FU Ling, BAO Ying, QIAO Yongxu, WANG Jihong, ZHANAG Hongxin, CHEN Chao
(Department of Life Science, Tangshan Normal University, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract: Studies on root border cells (RBCs) in recent years, including RBCs generation and regulation mechanisms, repelling or binding pathogenic fungal and bacteria, attracting and immobilizing nematodes, decreasing sensitivity to the metal cation, and model for protecting root tips, were reviewed. Advices were expected to get to improve ability of plant roots against biological and abiotic stresses in agricultural cultivation.

Keywords: root border cells; resistance; biological or abiotic stress