

王宏归,黄 晨,姜 雅,等. *CONSTANS LIKE 7* 参与调控拟南芥的向地性以及侧根、子叶的发育[J]. 江苏农业科学,2015,43(12):48-50.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.013

# *CONSTANS LIKE 7* 参与调控拟南芥的向地性以及侧根、子叶的发育

王宏归,黄 晨,姜 雅,严秋香,周春洪

(扬州大学环境科学与工程学院,江苏扬州 225127)

**摘要:**以拟南芥野生型(wild type, WT)、突变体 *col7*、以及 *CONSTANS LIKE 7* (*COL7*) 过量表达转基因株系 *COL7-OX-10* 和 *COL7-OX-11* 为材料,分别研究 *COL7* 对拟南芥向地性、侧根、子叶形状的影响。结果表明,*COL7* 参与调控拟南芥向地性、根、子叶的发育。

**关键词:***COL7*;侧根;子叶;向地性;拟南芥

**中图分类号:** Q945.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)12-0048-03

植物的茎总是向上朝着阳光生长,以便得到阳光来进行光合作用<sup>[1-3]</sup>。某些植物则具有“向触性”,它通过植物的某一部分碰到外界物体时能发生向性反应。如葡萄、豌豆等的卷须,当碰到树干、绳索等物体时,就能弯曲并缠绕上去<sup>[1,4]</sup>。植物的根还具有向水性,总是朝有水、潮湿的地方生长,这样植物不仅可以吸收水分,同时还可以吸收营养及矿物质<sup>[1,5]</sup>。植物的向地、向光、向触性、向水等运动,统称为“向性运动”,一般与生长素的作用有关<sup>[1,5]</sup>。当植物的茎或根受到重力刺激后,生长素不对称分布,引起不对称生长<sup>[1,5]</sup>。如将植物水平放置生长,由于重力的影响,靠近地面的一边的生长素浓度大,对于茎来说,靠近地面一侧生长快,从而导致植物弯曲向上生长<sup>[1,3,5]</sup>。

*COL7* 是 *CO* 基因家族的 17 个成员之一。*CO* 家族的所有基因都含有 B-box 类似的锌指结构域和 1 个 CCT [CO, COL, TIMING OF CAB1 EXPRESSION1 (TOC1)] 结构域<sup>[6-12]</sup>。B-box 可能参与蛋白之间的互作,而 CCT 结构域参与蛋白核定位及与 HAP3 和 HAP5 的互作<sup>[13]</sup>。*CO* 家族基因根据 B-box 结构差异被分为 3 类:第一类是含有 2 个 B-boxes 的 *CO*、*COL1~COL5*;第二类是含有 1 个 B-box 的 *COL6~COL8*、*COL16*;第三类是含有 1 个 B-box 和 1 个演化的锌指结构域的 *COL9~COL15*<sup>[6-7]</sup>。

光参与调控植物的向地性<sup>[3]</sup>;但是,关于单色光参与调控植物的向地性的机制目前还不是很清楚<sup>[3]</sup>。在本研究中我们发现 *COL7* 参与调控拟南芥的向地性,而其家族基因中目前还没有被报道参与调控向地性反应的基因。*COL7* 不仅参与调控向地性反应,而且还参与调控拟南芥侧根及子叶的发育。

本研究以拟南芥野生型、突变体 *col7*、*COL7* 过量表达转基因株系为材料,分析了不同单色光对 *COL7* 调控向地性的影响。利用这些材料分析了 *COL7* 对侧根、子叶发育的影响。

## 1 材料与方法

本研究所用野生型拟南芥(wild type, WT)为哥伦比亚 Col-4。突变体 *col7* (GABI-639C04)由 Bernd Weisshaar 提供(MPI for Plant Breeding Research; Cologne, Germany)<sup>[11]</sup>。*COL7* 过量表达转基因株系 *COL7-OX-10* 和 *COL7-OX-11* 是本实验室保存材料。拟南芥种子用 10% 的 NaClO 溶液浸泡 10 min,无菌水洗 5 次,然后播在 Murashige and Skoog medium (MS) 培养基上。4 ℃ 春化 72 h 后,转移到培养室培养,拟南芥培养温度为 (22 ± 2) ℃。

本试验采用的白光光源为白色荧光灯(飞利浦) [100 μmol/(m<sup>2</sup> · s)], 蓝光光源为 LED-Blue (波长为 470 nm,半幅宽为 30 nm),红光光源为 LED-Red (波长为 660 nm,半幅宽为 20 nm),光照度用 Li-250 量子光度计测量。

## 2 结果与分析

### 2.1 *COL7* 参与调控向地性具有光特异性

为了研究 *COL7* 是否参与调控拟南芥向地性的反应,分别将 WT、*col7*、*COL7-OX-10*、*COL7-OX-11* 种在远红光、红光、蓝光下生长,并观察分析他们的下胚轴生长情况。结果表明,WT、*col7* 在远红光下其下胚轴是垂直向上生长(图 1-a、图 1-b)。然而,*COL7* 过表达株系其下胚轴贴近地面生长,且 95% 以上的植株与垂直方向的夹角大于 45°(图 1-c、图 1-d)。红光下生长的 WT、*col7*、*COL7-OX-10*、*COL7-OX-11* 植株,每个株系中 90% 以上的植株,它们的夹角都大于 45°(图 1-e 至图 1-h)。红光能抑制植物的向地性,*COL7* 的过表达或者缺失对红光抑制向地性没有任何作用,至少在表型上没显示出来(图 1-e 至图 1-h)。在蓝光下培养的 WT、*col7*、*COL7-OX-10*、*COL7-OX-11* 植株,他们的向地性基本上一致(图 1-i 至图 1-l)。因此,*COL7* 在远红光下抑制植物的向地性,即 *COL7* 抑制向地性具有光特异性。

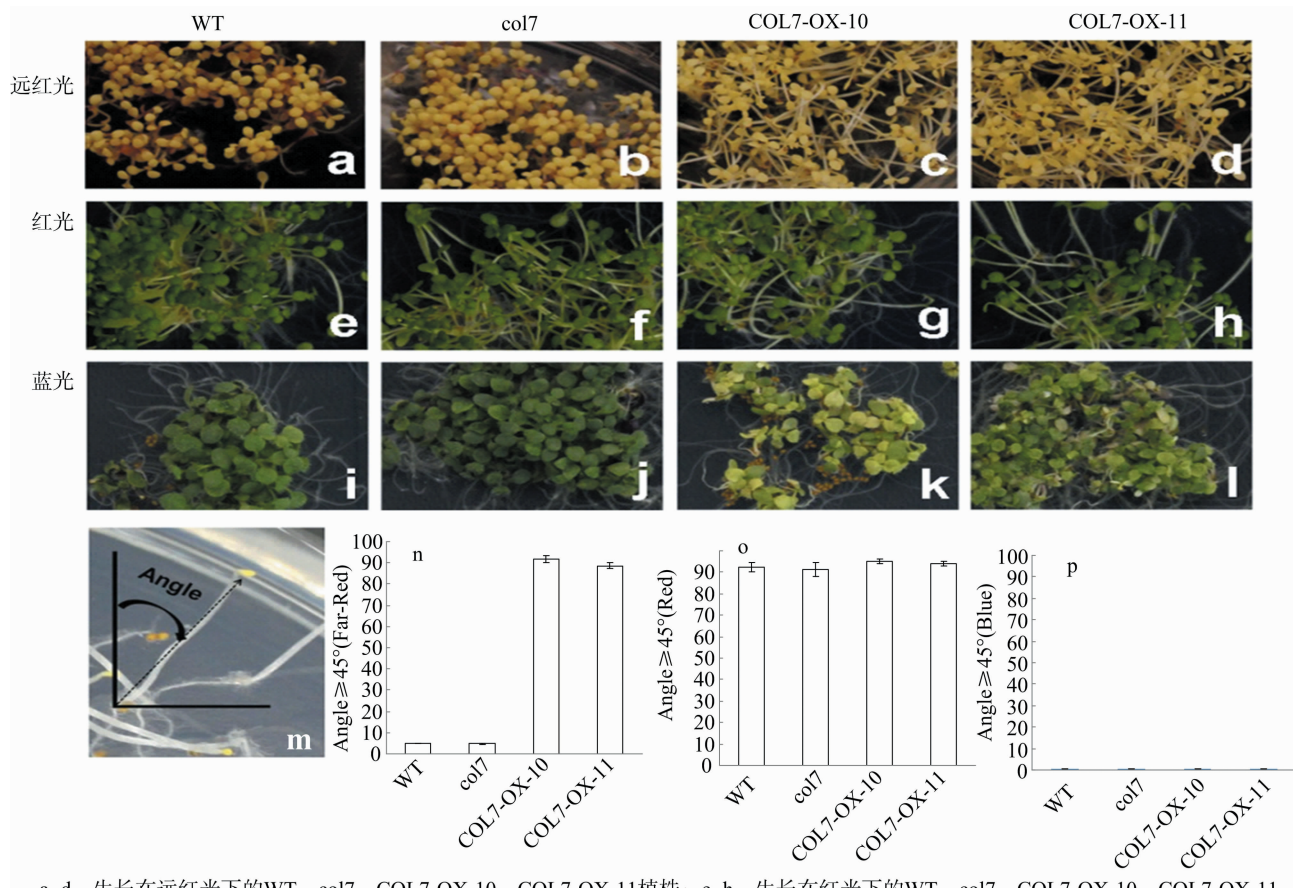
### 2.2 *COL7* 影响侧根的形成及生长

*COL7* 影响拟南芥的向地性,但是否还影响拟南芥根的发育,为了解 *COL7* 是否参与调控根的生长发育,将 WT、*col7*、

收稿日期:2015-07-02

基金项目:江苏省高校自然科学基金(编号:14KJB180025)。

作者简介:王宏归(1980—),男,湖南衡阳人,博士,讲师,主要从事环境生物、环境微生物等研究。E-mail:wanghg@yzu.edu.cn。



a~d: 生长在远红光下的WT、*col7*、COL7-OX-10、COL7-OX-11植株; e~h: 生长在红光下的WT、*col7*、COL7-OX-10、COL7-OX-11植株; i~l: 生长在蓝光下的WT、*col7*、COL7-OX-10、COL7-OX-11植株; m: 夹角, 幼苗下胚轴与竖直方向的夹角; n~p: WT、*col7*、COL7-OX-10、COL7-OX-11植株分别在远红光、红光、蓝光下的夹角统计。

图1 COL7参与调控向地性的表型

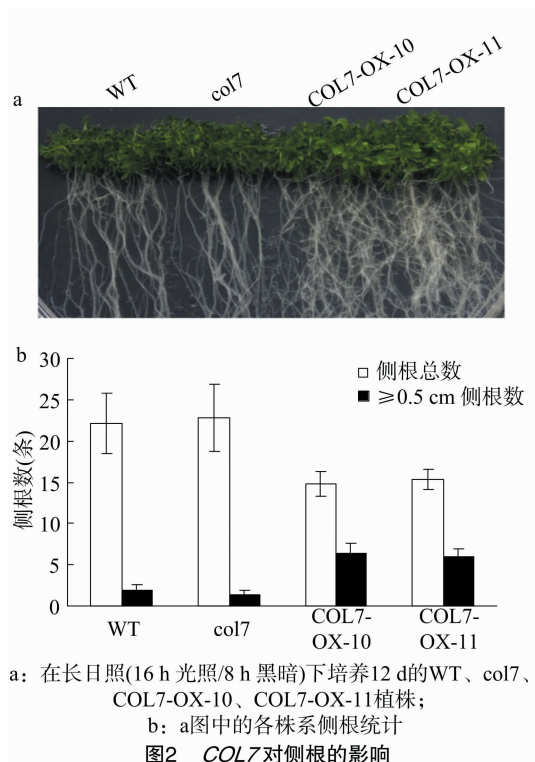
COL7 - OX - 10、COL7 - OX - 11 种子经消毒以后,播种在 MS 培养基上,4 ℃ 春化以后,将 MS 培养基与地面垂直放置,在长日条件下培养 12 d(图 2 - a)。然后统计各株系的侧根数目以及侧根长度大于 0.5 cm 的侧根数。结果表明,过表达 COL7 的 COL7 - OX - 10、COL7 - OX - 11 株系中其侧根数明显减少,但是却促进侧根的生长,因为在 COL7 过表达株系中侧根长度大于 0.5 cm 的多于 WT、*col7*(图 2 - b)。

### 2.3 COL7 影响子叶的形状

COL7 参与调控拟南芥的遮阴反应<sup>[11]</sup>,那么 COL7 是否会影响拟南芥叶片的形状? 在实验室里我们发现 COL7 过表达植株子叶的形状与野生型相比有明显的变化。为量化 COL7 对子叶的影响,以在长日条件下生长 10 d 的 WT、*col7*、COL7 - OX - 10、COL7 - OX - 11 植株为材料(图 3 - a),测定各植株子叶的长度与宽度,然后求得子叶的长宽比值。结果表明,过表达 COL7 会导致子叶的长宽比变大,相比于野生型,COL7 - OX - 10、COL7 - OX - 11 的子叶的形状更加趋近椭圆形,与野生型有着明显的差别(图 3 - a)。然而 *col7* 突变体的子叶长宽比在数值上与野生型相比略小,但是差异不明显(图 3 - a、图 3 - b)。

## 3 讨论

COL7 在调控植物生长发育过程中具有光特异性,如 COL7 增强了拟南芥的遮阴反应<sup>[11]</sup>;COL7 在白光、蓝光下抑

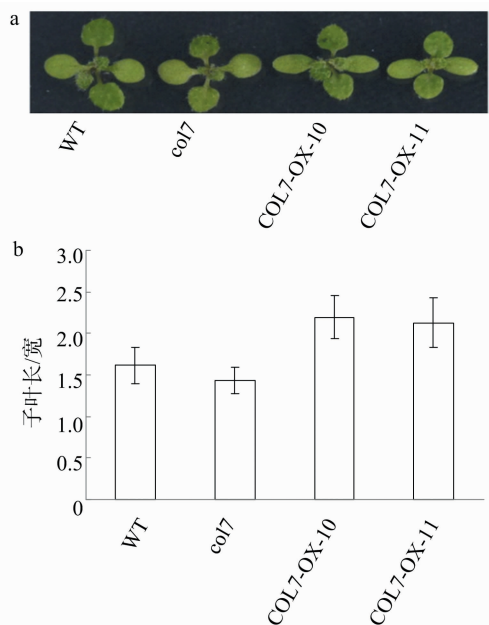


a: 在长日照(16 h 光照/8 h 黑暗)下培养 12 d 的 WT、*col7*、COL7-OX-10、COL7-OX-11 植株;

b: a 图中的各株系侧根统计

图2 COL7对侧根的影响

制花青素的合成,并使叶绿素的含量降低<sup>[14]</sup>。本研究中我们



a: 在长日下生长10 d的WT、col7、COL7-OX-10、COL7-OX-11植株; b: 图a中各株系的子叶长宽比的统计结果, 测量株数不少于15株

图3 COL7对子叶形状的影响

进一步发现 *COL7* 参与调控向地性而且具有光特异性, 过表达 *COL7* 只在远红光下表现出抑制拟南芥的向地性。目前试验数据还无法判断红光是否增强 *COL7* 对拟南芥向地性的抑制作用, 因为在红光下所有的基因型的向地性都受到强烈的抑制, 红光是否增强 *COL7* 对向地性的抑制还需进一步研究。在 *CO* 家族中目前报道的与根发育相关的基因只有 *COL3*<sup>[8]</sup>。本研究中, 过表达 *COL7* 的侧根数目明显少于野生型及 *col7* 突变体, 因此, *COL7* 抑制侧根的形成, 但是在 *COL7* 过表达株系中侧根长度大于0.5 cm, 多于野生型以及 *col7* 突变体, 表明 *COL7* 在抑制侧根形成的同时, 又促进侧根的生长。*COL7* 影响子叶的形状, 在 *CO* 家族目前还没有报道相关基因参与调控子叶形状。本研究中过表达 *COL7* 的株系其子叶的长宽比较野生型发生了改变, 过表达 *COL7* 的株系子叶长宽比变大, 子叶更趋近于椭圆形。*col7* 突变体的子叶与野生型相比却没有明显的差异, 而且 *col7* 对拟南芥向地性以及侧根的影响与野生相比也是没有多大差别, 这可能是由于其他 *COL* 基因家族成员与 *COL7* 之间在调控向地性、侧根、子叶形状中存在功能冗余现象。

#### 参考文献:

[1] Masson P H, Tasaka M, Morita M T, et al. *Arabidopsis thaliana*; a

- model for the study of root and shoot gravitropism[J]. The American Society of Plant Biologists, 2002, 1: e0043.
- [2] Vitha S, Zhao L, Sack F D. Interaction of root gravitropism and phototropism in *Arabidopsis* wild - type and starchless mutants[J]. Plant Physiology, 2000, 122(2): 453 - 462.
- [3] Sato A, Sasaki S, Matsuzaki J, et al. Light - dependent gravitropism and negative phototropism of inflorescence stems in a dominant Aux/IAA mutant of *Arabidopsis thaliana*, *axr2* [J]. Journal of Plant Research, 2014, 127(5): 627 - 639.
- [4] Meroz Y, Bastien R. Stochastic processes in gravitropism[J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 674.
- [5] Göttig M, Galland P. Gravitropism in phycomyces: violation of the so - called resultant law - evidence for two response components [J]. Plant Biology (Stuttgart, Germany), 2014, 16(Suppl 1): 158 - 166.
- [6] Griffiths S, Dunford R P, Coupland G, et al. The evolution of *CONSTANS* - like gene families in barley, rice, and *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2003, 131(4): 1855 - 1867.
- [7] Robson F, Costa M M, Hepworth S R, et al. Functional importance of conserved domains in the flowering - time gene *CONSTANS* demonstrated by analysis of mutant alleles and transgenic plants [J]. The Plant Journal, 2001, 28(6): 619 - 631.
- [8] Datta S, Hettiarachchi G H, Deng X W, et al. *Arabidopsis* *CONSTANS - LIKE3* is a positive regulator of red light signaling and root growth [J]. The Plant Cell, 2006, 18(1): 70 - 84.
- [9] Cheng X F, Wang Z Y. Overexpression of *COL9*, a *CONSTANS - LIKE* gene, delays flowering by reducing expression of *CO* and *FT* in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2003, 43(5): 758 - 768.
- [10] Hassidim M, Harir Y, Yakir E, et al. Over - expression of *CONSTANS - LIKE 5* can induce flowering in short - day grown *Arabidopsis* [J]. Planta, 2009, 230(3): 481 - 491.
- [11] Wang H, Zhang Z, Li H, et al. *CONSTANS - LIKE 7* regulates branching and shade avoidance response in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(4): 1017 - 1024.
- [12] Kim S K, Park H Y, Jang Y H, et al. The sequence variation responsible for the functional difference between the *CONSTANS* protein, and the *CONSTANS - like* (*COL*) 1 and *COL2* proteins, resides mostly in the region encoded by their first exons [J]. Plant Science, 2013, 199/200: 71 - 78.
- [13] Cai X, Ballif J, Endo S, et al. A putative CCAAT - binding transcription factor is a regulator of flowering timing in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2007, 145(1): 98 - 105.
- [14] 王宏归, 赵小英, 唐冬英, 等. *CONSTANS - LIKE 7* 过量表达降低白光和蓝光下拟南芥幼苗花青素及叶绿素的含量 [J]. 激光生物学报, 2012, 21(3): 214 - 218.