

RNA 分子在植物韧皮部长距离运输的研究进展

李苹芳, 羊杏平*, 徐锦华, 刘 广, 姚协丰, 高长洲, 朱凌丽

(江苏省农业科学院蔬菜研究所, 南京 210014)

摘 要: RNA 分子存在于植物韧皮部筛分子中, 且能进行长距离运输, 这是植物界一个突破性的发现。现已发现有 3 类 RNA 存在于韧皮液内, 包括外源类病毒或 RNA 病毒, 植物内源 mRNA 和非编码小 RNA。韧皮液内 RNA 分子的长距离移动可作为系统信号分子介导植物生长发育的调控。本文就韧皮液的取样方法, 韧皮液内存在的 RNA 分子及其介导的信号调控和运输机制等进行了综述。

关键词: 长距离运输; 韧皮液; 病毒; mRNA; miRNA; siRNA

中图分类号: S 601

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 10-2058-09

Advances in Long Distance Transport of RNA Molecules in Plant Phloem

LI Ping-fang, YANG Xing-ping*, XU Jin-hua, LIU Guang, YAO Xie-feng, GAO Chang-zhou, and ZHU Ling-li

(*Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China*)

Abstract: The presence of RNA molecules in plant phloem sieve elements which can do long-distance transport is an important discovery in plant kingdom. And it has been discovered that there are three kinds of RNA molecules in phloem sap including exogenous viroids or virus RNA, plant endogenous mRNA and small non-protein-coding RNA (snRNA). Long-distance transport of RNAs in phloem sap can function as signal molecules in mediating plant growth and development. In this paper, the methods of how to collect phloem sap, the RNA molecules in plant phloem sap and the signaling pathways as well as the mechanisms by which how they are transported are discussed and summarized.

Key words: long-distance transport; phloem sap; virus; mRNA; miRNA; siRNA

植物韧皮部作为维管植物的运输组织, 主要负责将光合作用的产物, 由进行光合作用的源器官 (source) 运输到其他部位, 即库 (sink) 部位。韧皮部由筛分子 (sieve element, SE)、伴胞细胞 (companion cell, CC) 和薄壁组织细胞 (parenchyma cells) 构成。直接负责光合产物运输的是筛分子。筛分子是一类特殊的细胞, 在发育过程中筛分子会损失掉大部分细胞器, 仅剩下细胞膜、质体、内质网膜等。每个筛分子都会与 1 个至多个伴胞细胞相邻, 一般认为筛分子由伴胞细胞为其提供营养 (van Bel, 2003)。由于筛分子不存在细胞核、核糖体、叶绿体等细胞器, 因此长久以来植物内源 RNA 分子在韧皮液 (phloem sap, PS) 的发现一直被误认为来自采集韧皮液时周围组织的污染, 但嫁接等试验提供了强有力的证据, 证实植物内源 RNA 分子确实存在于流动的韧皮液内。现已发

收稿日期: 2013-04-09; **修回日期:** 2013-06-20

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-8); 江苏省农业科技自主创新基金项目 [cx (11) 1001]

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: Xingping@jaas.ac.cn)

现有 3 类 RNA 分子存在于韧皮液内, 包括外源类病毒或 RNA 病毒, 植物内源 mRNA 以及非编码小 RNA (Turgeon & Wolf, 2009; Dinant & Lemoine, 2010; Atkins et al., 2011)。本文中就韧皮液的取样方法, 韧皮液内存在的 RNA 分子及其介导的信号调控和运输机制等进行综合阐述。

1 韧皮液的取样方法

韧皮液中 RNA 分子的存在一直备受争议, 这主要是由于韧皮液取样困难造成的。由于韧皮部筛管位于组织内部且处在高渗透压下, 突然的压力释放会引起一系列细胞产生反应, 发生如胼胝质堵塞筛孔, P 蛋白 (PP1, PP2) 凝结、豆类作物中 forisome 蛋白由晶体态迅速释放并堵塞筛孔等现象, 这是限制韧皮部研究发展的重要原因 (Ehlers et al., 2000)。现在研究中常用的韧皮液收集方法主要有昆虫口器吻针法和切割渗出法。

昆虫口器吻针法主要是利用刺吸式昆虫通过口器吸取植物韧皮液为食的特点进行韧皮液采集。当昆虫吸取植物韧皮液后, 切断其吻针, 因正压力存在, 韧皮液可自动流出。目前最常用的昆虫是蚜虫, 还有稻飞虱等。运用此方法已成功获取了单子叶植物水稻 (Sasaki et al., 1998; Aki et al., 2008)、大麦 (Doering-Saad et al., 2002; Gaupels et al., 2008), 及双子叶植物苹果树 (Varkonyi-Gasic et al., 2010) 的韧皮液。昆虫口器吻针法最大的优点是不受周围细胞如伴胞细胞、薄壁细胞的污染, 能得到纯的韧皮液。但此方法有其局限性。Divol 等 (2005) 研究了芹菜韧皮部 RNA 在受到蚜虫刺入前后的变化, 结果表明部分 RNA 表达发生明显变化。另外, 不同的昆虫采食同一植物所获得的韧皮液也是有区别的 (Sandstrom et al., 2000)。可见昆虫口器刺入植物韧皮部时, 本身作为一种伤害, 会影响到韧皮液内蛋白组分、RNA 表达等。此外昆虫口器吻针法取样量特别少, 且只发生在某些有互作关系的昆虫与植物之间。

切割渗出法适用于韧皮部和木质部相对独立的植物, 如木本植物、豆科植物 (Sharkey & Pate, 1976)、蓖麻 (Doering-Saad et al., 2006)、油菜 (Buhtz et al., 2008)、瓜类植物 (Yoo et al., 2004; Omid et al., 2007) 等。其具体方法是在植物茎部用注射器针头刺一小口, 或直接用刀片横切茎或叶柄, 然后用毛细管收集韧皮部汁液。这种方法取样方便, 取样量大, 但最明显的缺点是切割韧皮部时, 筛分子周围组织会破碎, 所获取的韧皮液会不可避免遭到来自周围组织如伴胞细胞、薄壁细胞等的污染。为克服这一缺点, 通常需将最初渗出的韧皮液弃去, 如在瓜类植物中进行韧皮液收集时一般用滤纸快速吸附掉最初的渗出液, 随后渗出的是较纯的韧皮液。通常将核酮糖 - 1,5 - 二磷酸羧化/加氧酶 (Ribulose biphosphate carboxylase oxygenase, Rubisco) 作为污染检测的对照, 若韧皮液内检测不到或只有极其微量的 Rubisco RNA 或蛋白, 则可认为所取样为较纯的韧皮液 (Ruiz-Medrano et al., 1999; Doering-Saad et al., 2006)。Lin 等 (2009) 运用切割渗出法获取南瓜韧皮液并建立了南瓜韧皮液蛋白质组, 运用液相串联质谱法共检测到 1 121 个蛋白, 但只有 3 个肽段为 Rubisco, 表明所取韧皮液是较纯的。也有许多质疑认为运用此法收集韧皮液时会受到木质部影响。最近有研究表明采用切割渗出法从葫芦科植物取得的韧皮液不仅来自韧皮部筛管, 还受到木质部影响, 且被木质液大量稀释 (Zhang et al., 2012)。Zimmermann 等 (2013) 也认为采用切割法获得的南瓜韧皮液含有木质液成分, 理由是当根压解除时获得的韧皮液蛋白浓度也随之降低。因此为尽可能减少根压的影响, 采用此法收集韧皮液时应避免靠近根部, 通常只在茎尖部位收集, 同时要在植物蒸腾作用旺盛时采集, 此时植物产生的根压最小。

某些植物在切口处常出现胼胝质的堵塞现象, 也有人依靠 EDTA 这类螯合剂的协助进行韧皮液的收集。因为胼胝质的合成需要 Ca^{2+} , 在 EDTA 存在下, Ca^{2+} 会被螯合掉, 从而可阻止胼胝质的形成。如模式作物拟南芥韧皮液的采集主要运用此法获得 (Deeken et al., 2008)。但是这种方法有一

定风险, 因为 EDTA 的处理会破坏组织细胞壁, 可能造成碳水化合物的泄露 (Hepler, 2005)。

综合而言, 由于植物韧皮部结构的特殊性, 目前没有任何一种完美的方法进行韧皮液的收集, 具体研究时只能根据植物的特点进行方法的选择和探索, 不论采取何种方法, 都要规避其缺点, 尽可能获得纯的韧皮液。

2 韧皮液中 RNA 的种类

2.1 外源类病毒 (Viroids) 或 RNA 病毒

病毒 RNA 最早证实可在植物韧皮部可进行长距离运输 (Carrington et al., 1996)。植物病毒侵入寄主细胞后, 通过 2 种不同的转运模式, 即经过叶肉细胞胞间连丝实现胞间转运 (cell to cell movement) 和经过维管系统的韧皮部筛管实现长距离转运 (long distance transport), 由此实现对植物的系统侵染 (Jorgensen et al., 1998)。其中类病毒不编码任何蛋白, 完全依赖宿主进行侵染与转运, 如马铃薯纺块茎类病毒 (*Potato spindle tuber viroid*, PSTVd) 被广泛用来研究 RNA 在韧皮部的运输; RNA 病毒自身具备编码复制或运输所需要的蛋白, 如运动蛋白 (movement protein, MP), 此类蛋白可与病毒 RNA 形成 RNA-蛋白复合体进行细胞间的运输, 并能扩大胞间连丝分子排阻限制 (size exclusion limit, SEL), 最终协助 RNA 病毒达到系统侵染 (Ding et al., 1992)。类病毒或病毒 RNA 在韧皮液的存在与运输机制为研究植物内源 RNA 提供了重要的启发与参考模型。

2.2 内源 mRNA

早在 40 年前研究者就发现植物内源 RNA 存在于韧皮液内, 但一直被误认为来自周围组织的污染, 直到最近研究发现植物内源 mRNA 不仅存在于筛分子, 还能作为信号分子进行长距离运输。编码蔗糖转运蛋白 (sucrose transporter 1, SUT1) 的基因是近年第 1 个有较充足证据证实存在于韧皮液内的 mRNA, 原位杂交显示 SUT1 的 mRNA 主要存在于筛分子及连接筛分子与伴胞细胞的胞间连丝, 通过伴胞细胞特异启动子表达发现其 mRNA 的合成局限于伴胞细胞, 暗示这一 mRNA 通过胞间连丝移动到了筛分子 (Kuhn et al., 1997)。随后, Sasaki 等 (1998) 利用稻飞虱成功获得了水稻韧皮液, 且通过 RT-PCR 检测到了硫氧还蛋白 (thioredoxin h), 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 (oryzacystatin-I), 以及肌动蛋白 (actin) 的 mRNAs。

近年来研究者已获取了蓖麻 (Doering-Saad et al., 2006)、大麦 (Gaupels et al., 2008)、甜瓜 (Omid et al., 2007)、白羽扇豆 (Rodriguez-Medina et al., 2011)、拟南芥 (Deeken et al., 2008)、西瓜和黄瓜 (Guo et al., 2013) 等植物韧皮液转录组信息, 数据表明被子植物韧皮液内存在超过 1 000 个 mRNA, 且它们所编码的蛋白功能广泛, 涉及营养代谢、激素、信号转导、胁迫反应、DNA/RNA 结合等。尽管韧皮液内存在众多 RNA 分子, 然而并非所有韧皮液内发现的 RNA 均能进行长距离移动。嫁接作为园艺生产中广泛使用的作为克服连作障碍、土传病害等的一种方法, 在验证韧皮液物质长距离移动方面发挥了重要作用。

Xoconostle-Cázares 等 (1999) 在南瓜韧皮液内获得了第 1 个 RNA 结合蛋白 CmPP16 (pumpkin PHLOEM PROTEIN 16), 该蛋白作为病毒运动蛋白的同功异构蛋白, 具有结合 RNA 能力, 运用南瓜、黄瓜异源嫁接证实该蛋白自身 RNA 可从南瓜长距离移动至黄瓜接穗。同年 Ruiz-Medrano 等 (1999) 报道, 在南瓜的韧皮液内检测到了包括 *CmNACP*、*CmGAIP*、*CmWRKYP*、*CmSUCP1* 等多个 mRNA, 运用南瓜为砧木, 黄瓜为接穗的异源嫁接试验证实只有 *CmPP16*、*CmGAIP*、*CmNACP* 可以从南瓜砧木中移动到黄瓜接穗。Ham 等 (2009) 运用 RNA-蛋白免疫共沉淀方法发现 *CmPP16*、

CmGAIP、*CmSTMP*、*CmMybP* 可与蛋白 *CmRBP50* 一起移动至黄瓜接穗。其中 *CmPPI6* 和 *CmGAIP* 的长距离移动与 Ruiz-Medrano 等 (1999) 的结果一致。Omid 等 (2007) 对甜瓜韧皮液的 43 个 RNA 通过嫁接试验验证其运输情况, 发现 6 个 RNA 具有长距离运输功能, 其中 3 个是与生长素信号途径相关, 分别编码 AUX/IAA, small auxin-up RNA (SAUR) 蛋白, 另外 3 个功能不祥。值得指出的是, 用于验证南瓜韧皮液 RNA 移动性的嫁接试验并非生产上惯用的将黄瓜植株作接穗, 南瓜根作砧木。而是将黄瓜枝条嫁接在完整南瓜植株的茎上, 待黄瓜枝条成活并生长一段时间后, 去掉其自身的叶片, 令其成为依赖南瓜生长的库, 以此分别取砧木南瓜韧皮液、接穗黄瓜韧皮液来验证 mRNA 从南瓜到黄瓜的移动性。

韧皮液内存在的内源 mRNA 到底有何作用? 研究发现 mRNA 分子可作为系统信号分子介导植物生长发育的调控。Kim 等 (2001) 利用携带半显性叶黄素突变基因 (*Xanthophylllic*, *Xa*) 的番茄植株与显性鼠耳叶突变体 (*mouse ear*, *Me*) 进行嫁接试验, *Me* 突变体由一个 *PFP-LeT6* (焦磷酸依赖型磷酸酶基因 *PFP* 和番茄 *KNI* 相似同源基因 *LET6*) 的融合基因引发, 当 *Xa* 嫁接到 *Me* 植株上后, *Xa* 出现 *Me* 的鼠耳叶叶片形态, 进一步在 *Xa* 植株中检测到了 *PFP-LeT6* 的 RNA, 证实该 RNA 通过长距离运输改变接穗叶片发育形态。南瓜韧皮液 RNA *CmGAIP* (*GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE*) 是又一个证实可进行长距离移动并具有功能的 RNA, 当野生型番茄嫁接到含南瓜功能缺失突变基因 (*Cmgaip*) 或 拟南芥 *ΔDELLA-gai* 的转基因番茄植株上, 其叶片形态也随之改变 (Haywood et al., 2005)。以上 2 例证实韧皮部 mRNA 的长距离移动可远程改变叶片形态发育。mRNA 从地上部至地下部的移动还可调节地下茎的形成。如来自马铃薯的 *BEL5* (*BEL1-like transcription factor*) 基因, *BEL5* 过表达可诱导马铃薯地下块茎形成, 当将该过表达植株嫁接到野生型植株后, 发现野生型植株块茎产量也得到提高 (Banerjee et al., 2006)。最近在马铃薯中又发现了一个可移动的 mRNA, 马铃薯 *POTH1* (*Potato Homeobox1*) 基因, 利用 *POTH1* 过表达的植株与野生植株的嫁接试验表明 *POTH1* 从转基因植株移动到野生植株, 且可改变野生植株叶片形态, 调节地下块茎形成 (Mahajan et al., 2012)。目前控制 *GAI* 与 *BEL5* 长距离运输的 RNA 基序已分别鉴定到, 非编码区域在控制 RNA 移动方面起了重要作用, 此外, RNA 的结构也起关键作用 (Banerjee et al., 2009; Huang & Yu, 2009)。最近, Notaguchi 等 (2012) 在拟南芥中发现并证明生长素相关基因 *IAA18* 与 *IAA28* 经成熟叶片可长距离移动至根部, 并调控侧根发育。

以上研究结果表明植物内源 mRNA 分子不仅存在于流动的韧皮液内, 部分 mRNA 还能进行长距离移动, 并可系统调控叶片形态发育、侧根发育、地下块茎形成等。未来研究将重点阐明哪些 mRNA 作用于当地, 而哪些 mRNA 可进行长距离移动。葫芦科作物黄瓜 (Huang et al., 2009)、甜瓜 (Garcia-Mas et al., 2012)、西瓜 (Guo et al., 2013) 基因组测序的相继完成, 为研究瓜类作物韧皮液内 RNA 的长距离移动提供了必要的信息。如可采用不同瓜类组合进行嫁接实验, 利用二代测序技术鉴定长距离移动 RNA 分子。

2.3 内源非编码小 RNA

在对多种植物韧皮液 RNA 分子进行分析的过程中发现, 韧皮液内不仅存在着编码 RNA, 还存在许多非编码 RNA。Yoo 等 (2004) 在南瓜韧皮液内获得了多个长度为 18 ~ 25 核苷酸的非编码 RNA, 包括 microRNAs (miRNAs) 和小干扰 RNA (small interfering RNAs, siRNAs)。

siRNAs 介导的过程叫转录后基因沉默 (PTGS), 是植物内在抵御胁迫的机制之一。近年诸多证据证实 siRNA 诱导产生的系统性 RNA 沉默与 siRNA 在维管组织中的移动有关, 这是一个非细胞自主行为。例如, 将野生型黄瓜与自发型 RNA 沉默的南瓜嫁接, 能在黄瓜接穗的韧皮液中检测到 siRNA, 即是 siRNA 信号依赖筛管在韧皮部移动的有力佐证 (Yoo et al., 2004)。又如, 在模式作物

拟南芥中, Molnar 等 (2010) 利用 siRNA 合成阻断的突变体通过嫁接试验发现, 由转基因产生的 siRNA 和大量内源 siRNA 能够穿越嫁接结合体在维管组织中长距离移动, 且 24 核苷酸的移动 siRNA 可作为系统信号对受体细胞进行表观遗传学修饰。

在多种作物韧皮液内, 如油菜 (Buhtz et al., 2008)、羽扇豆 (Yoo et al., 2004; Atkins & Smith, 2007) 等均发现了 miRNAs 的存在。Varkonyi-Gasic 等 (2010) 分析了 21 个 miRNA 在苹果不同组织中的表达, 在苹果韧皮液中检测到了部分 miRNA, 其中大部分 miRNA 在草本植物韧皮液中丰度也相当高。Buhtz 等 (2008) 在油菜中发现韧皮液内 miR395、miR398 和 miR399 与植物营养胁迫相关联, 它们的表达分别能在植物感受到硫 (S)、铜 (Cu) 或无机磷 (Pi) 匮乏时升高。进一步研究发现植物地上部可通过韧皮部 miR399 的长距离移动调控地下部 Pi 响应关键因子 *PHO2* 的表达, 从而对环境中的 Pi 水平作出响应 (Lin et al., 2008; Pant et al., 2008)。利用野生型拟南芥作接穗与 miRNA 合成突变体 *hen-1* 作砧木的嫁接试验证实 miR395 和 miR399 能够从接穗转移到砧木, 并导致砧木相应靶标基因转录物水平的降低 (Buhtz et al., 2010)。miR399 参与调控的植物响应根部磷素缺失机理涉及了木质部、韧皮部二者相互协调的信号调控过程, 即植物根部在感受到磷素匮乏时首先信号由木质部传导至地上部叶片, 进而叶片通过移动信号如 miR399 调控地下部 Pi 响应关键基因 *PHO2* 来应对 Pi 匮乏这一逆境。

另外, miR172 一直以来作为调节开花的重要因子 (Aukerman & Sakai, 2003; Jung et al., 2007), 最近发现它可能作为长距离移动的信号调节马铃薯块茎的形成, 利用 *P_{35S}: MIR172* 过表达植株与野生型的嫁接试验为此提供了有力证据 (Martin et al., 2009)。

除 miRNAs 和 siRNAs 外, Zhang 等 (2009) 在南瓜韧皮液内通过分析 30 ~ 90 bp 长度的 RNA 获得了不少 tRNAs, 核糖体 RNAs (ribosomal RNAs) 和剪切 RNAs (spliceosomal RNAs)。利用人工合成的 tRNA 片段证实韧皮液特异 tRNA 可干扰核糖体功能, 暗示韧皮液 RNA 具有干扰并抑制蛋白翻译的作用。

3 韧皮液 RNA 分子系统运输的机制

已知植物韧皮液内含有上千 RNA, 但只有部分 RNA 能进行长距离移动。这些 RNA 如何受到选择性调控进入韧皮液, 又如何在韧皮液内运输以及如何输出韧皮液, 是重要的生物学问题。在酵母和动物中的研究发现, RNA 的长距离运输是通过 RNA 结合蛋白来完成的, 从识别、运输再到卸载到靶位这一系列过程形成了稳定的 RNA-蛋白复合物, 即核糖核蛋白 (ribonucleoprotein, RNP) 复合物 (St Johnston, 2005; Martin & Ephrussi, 2009)。基于动物的模式, Lucas 等 (2001) 提出韧皮液内 RNA 可能通过特定的识别机制结合蛋白形成核糖核蛋白复合物来进行运输。在植物韧皮部可能存在具有特异识别这些 RNA 的蛋白, 如能特异结合具有“邮编” (zip code) RNA 的蛋白, 或自身具有 RNA 识别基序 (RNA recognition motif, RRM), 能特异识别具有 RRM RNA 的蛋白。同时, 为进入筛分子, 其他伴侣蛋白 (chaperones) 可能结合这一复合物, 协助其运输与输出 (Aoki et al., 2002)。

Lucas 实验室在南瓜韧皮液内获得了多个 mRNA 结合蛋白, 为上述假说提供了有力的证据。CmPP16 是首个发现的与 RNA 运动相关的蛋白, 它与红三叶草坏死花叶病毒 (*Red clover necrotic mosaic virus, RCNMV*) MP 为同功异构蛋白, 与 MP 功能类似, 此蛋白亦能非特异结合韧皮液 RNA, 并能携带自身 mRNA 进行长距离运输 (Xoconostle-Cazares et al., 1999)。Aoki 等 (2005) 还发现 CmPP16 向地下的长距离移动因蛋白互作而受到选择性调控。CmPSRP1 (pumpkin Phloem SMALL RNA BINDING PROTEIN1) 是最近发现的南瓜韧皮液内具有结合小 RNA 能力的一个蛋白, 还能介

导单链小 RNA 分子的胞间运输 (Yoo et al., 2004)。而 CmRBP50 (pumpkin RNA-binding protein 50) 是在南瓜韧皮液中发现的依靠 RNA 识别基序识别并特异结合 mRNA 的一个 RNA 结合蛋白 (Ham et al., 2009)。以 CmRBP50 抗体作为诱饵 (Bait), 运用免疫共沉淀方法在韧皮液中鉴定得到其结合 RNA, 包括 *CmPPI6*, *CmGAIP*, *CmSCL14P* (SCARECROW-LIKE), *CmSTMP* (SHOOT MERISTEMLESS), *CmERFP* (ETHYLENE RESPONSE FACTOR), *CmMybP*。进而 Li 等 (2011) 揭示磷酸化修饰调控基于 CmRBP50 核糖核蛋白复合体的形成, 磷酸化修饰可能在调控 RNA 进入特定靶位过程中发挥“开关”作用。黄瓜中 CsPP2 (cucumber PHLOEM PROTEIN 2) 被发现可以结合类病毒 RNA, 且嫁接试验证实 CsPP2 和类病毒可一起移动到接穗 (Gomez & Pallas, 2004)。随着这些 RNA 结合蛋白的发现, RNA 分子在植物韧皮液内的系统运输机制也将被逐步揭示。

4 展望

植物韧皮液内 RNA 分子长距离移动的发现作为植物新的信号调控模式, 具有重要的意义, 这也成为植物界研究的新热点。目前虽然已知韧皮液内存在上千种 RNA, 但是能进行长距离移动的只有一小部分被验证 (表 1), 且明确功能的更少, 对于其运输调控机制也仅停留在假说阶段。

表 1 近年来运用嫁接试验证实的植物韧皮液内具有长距离移动能力的植物内源 RNA 分子
Table 1 Endogenous RNA molecules which were demonstrated to be long-distance transported by grafting in plant phloem sap in recent years

RNA 类型 RNA Species	基因 Gene	涉及功能 Related functions	植物种类 Plant species	参考文献 References	
mRNA	<i>CmPPI6</i>	RNA 运输 RNA movement	南瓜 Pumpkin	Xoconostle-Cazares et al., 1999; Ham et al., 2009	
	<i>CmNACP</i>	茎尖分生组织、花发育 Meristem, floral development	南瓜 Pumpkin	Ruiz-Medrano et al., 1999	
	<i>PFP-LeT6</i>	叶片发育 Leaf development	番茄 Tomato	Kim et al., 2001	
	<i>CmGAIP</i>	叶片发育 Leaf development	南瓜 Pumpkin	Haywood et al., 2005; Ham et al., 2009; Huang & Yu, 2009	
	<i>DELLA-GAI</i>	叶片发育 Leaf development	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	Haywood et al., 2005	
	<i>StBEL5</i>	块茎发育 Tuber development	马铃薯 Potato	Banerjee et al., 2006, 2009	
	<i>AUX/IAA14</i>	生长素信号转导 Auxin signaling	甜瓜 Melon	Omid et al., 2007	
	<i>SAUR</i>	生长素信号转导 Auxin signaling	甜瓜 Melon	Omid et al., 2007	
	<i>CmSTMP</i>	茎尖分生组织发育 Apical meristem development	南瓜 Pumpkin	Ham et al., 2009	
	<i>CmMybP</i>	发育、胁迫信号转导 Development and stress signaling	南瓜 Pumpkin	Ham et al., 2009	
	<i>POTH1</i>	块茎发育 Tuber development	马铃薯 Potato	Mahajan et al., 2012	
	<i>IAA18</i>	生长素信号转导 Auxin signaling	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	Notaguchi et al., 2012	
	<i>IAA28</i>	生长素信号转导 Auxin signaling	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	Notaguchi et al., 2012	
	miRNA	miR395	调控硫平衡 Regulate sulfate homeostasis	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	Buhtz et al., 2010
		miR399	调控无机磷平衡 Regulate inorganic phosphate homeostasis	拟南芥 <i>Arabidopsis</i>	Aukerman & Sakai, 2003; Jung et al., 2007; Buhtz et al., 2010
miR172		块茎发育 Tuber development	马铃薯 Potato	Martin et al., 2009	

未来以下几个方向值得研究: 1. 进一步发现与鉴定可进行长距离移动的 mRNA 与小 RNA; 2. 对调节 RNA 运输蛋白的阐明; 3. RNA 分子介导的信号调控过程, 尤其与外界环境刺激之间的关系; 4. RNA 分子长距离运输作用的靶位等。

植物维管系统长距离运输的研究, 对于揭示植物响应营养元素平衡机理、植物与病原物互作机理, 以及远距离调控植物器官形态建成, 如系统调控新生叶片气孔密度信号分子等机制具有重要意义。此外, 嫁接技术在园艺作物的生产过程中已广泛使用, 但具体嫁接机理, 如嫁接提高抗逆性, 嫁接改变植物品质等尚需进一步揭晓, 植物维管系统长距离运输的研究对于丰富这些机理具有重要理论指导性。一旦揭示清楚维管系统长距离介导的信号调控, 则可利用这种远程信号调控进行有目的改造植物, 从而改变诸如开花、碳水化合物分配、矿质元素利用等农艺性状, 这对于农业生产具有重大意义。

References

- Aki T, Shigyo M, Nakano R, Yoneyama T, Yanagisawa S. 2008. Nano scale proteomics revealed the presence of regulatory proteins including three FT-Like proteins in phloem and xylem saps from rice. *Plant Cell Physiology*, 49: 767 - 790.
- Aoki K, Kragler F, Xoconostle-Cazares B, Lucas W J. 2002. A subclass of plant heat shock cognate 70 chaperones carries a motif that facilitates trafficking through plasmodesmata. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99: 16342 - 16347.
- Aoki K, Suzui N, Fujimaki S, Dohmae N, Yonekura-Sakakibara K, Fujiwara T, Hayashi H, Yamaya T, Sakakibara H. 2005. Destination-selective long-distance movement of phloem proteins. *Plant Cell*, 17: 1801 - 1814.
- Atkins C A, Smith P M. 2007. Translocation in legumes: Assimilates, nutrients and signaling molecules. *Plant Physiology*, 144: 550 - 561.
- Atkins C A, Smith P M, Rodriguez-Medina C. 2011. Macromolecules in phloem exudates - a review. *Protoplasma*, 248: 165 - 172.
- Aukerman M J, Sakai H. 2003. Regulation of flowering time and floral organ identity by a MicroRNA and its APETALA2-like target genes. *Plant Cell*, 15: 2730 - 2741.
- Banerjee A K, Chatterjee M, Yu Y, Suh S G, Miller W A, Hannapel D J. 2006. Dynamics of a mobile RNA of potato involved in a long-distance signaling pathway. *Plant Cell*, 18: 3443 - 3457.
- Banerjee A K, Lin T, Hannapel D J. 2009. Untranslated regions of a mobile transcript mediate RNA metabolism. *Plant Physiology*, 151: 1831 - 1843.
- Buhtz A, Pieritz J, Springer F, Kehr J. 2010. Phloem small RNAs, nutrient stress responses, and systemic mobility. *BMC Plant Biology*, 10: 64.
- Buhtz A, Springer F, Chappell L, Baulcombe D C, Kehr J. 2008. Identification and characterization of small RNAs from the phloem of *Brassica napus*. *Plant Journal*, 53: 739 - 749.
- Carrington J C, Kasschau K D, Mahajan S K, Schaad M C. 1996. Cell-to-cell and long-distance transport of viruses in plants. *Plant Cell*, 8: 1669 - 1681.
- Deeken R, Ache P, Kajahn I, Klinkenberg J, Bringmann G, Hedrich R. 2008. Identification of *Arabidopsis thaliana* phloem RNAs provides a search criterion for phloem-based transcripts hidden in complex datasets of microarray experiments. *Plant Journal*, 55: 746 - 759.
- Dinant S, Lemoine R. 2010. The phloem pathway: New issues and old debates. *Current Biology*, 333: 307 - 319.
- Ding B, Haudenshield J S, Hull R J, Wolf S, Beachy R N, Lucas W J. 1992. Secondary plasmodesmata are specific sites of localization of the tobacco mosaic-virus movement protein in transgenic tobacco plants. *Plant Cell*, 4: 915 - 928.
- Divol F, Vilaine F, Thibivilliers S, Amselem J, Palauqui J C, Kusiak C, Dinant S. 2005. Systemic response to aphid infestation by *Myzus persicae* in the phloem of *Apium graveolens*. *Plant Molecular Biology*, 57: 517 - 540.
- Doering-Saad C, Newbury H J, Bale J S, Pritchard J. 2002. Use of aphid stylectomy and RT-PCR for the detection of transporter mRNAs in sieve elements. *Journal of Experimental Botany*, 53: 631 - 637.
- Doering-Saad C, Newbury H J, Couldridge C E, Bale J S, Pritchard J. 2006. A phloem-enriched cDNA library from *Ricinus*: Insights into phloem function. *Journal of Experimental Botany*, 57: 3183 - 3193.

- Ehlers K, Knoblauch M, van Bel A J E. 2000. Ultrastructural features of well-preserved and injured sieve elements: Minute clamps keep the phloem transport conduits free for mass flow. *Protoplasma*, 214: 80 - 92.
- Garcia-Mas J, Benjak A, Sanseverino W, Bourgeois M, Mir G, Gonzalez V M, Henaff E, Camara F, Cozzuto L, Lowy E, Alioto T, Capella-Gutierrez S, Blanca J, Canizares J, Ziarolo P, Gonzalez-Ibeas D, Rodriguez-Moreno L, Droegge M, Du L, Alvarez-Tejado M, Lorente-Galdos B, Mele M, Yang L, Weng Y, Navarro A, Marques-Bonet T, Aranda M A, Nuez F, Pico B, Gabaldon T, Roma G, Guigo R, Casacuberta J M, Arus P, Puigdomenech P. 2012. The genome of melon (*Cucumis melo* L.). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109: 11872 - 11877.
- Gaupels F, Buhtz A, Knauer T, Deshmukh S, Waller F, van Bel A J, Kogel K H, Kehr J. 2008. Adaptation of aphid stylectomy for analyses of proteins and mRNAs in barley phloem sap. *Journal of Experimental Botany*, 59: 3297 - 3306.
- Gomez G, Pallas V. 2004. A long-distance translocatable phloem protein from cucumber forms a ribonucleoprotein complex in vivo with Hop stunt viroid RNA. *Journal of Virology*, 78: 10104 - 10110.
- Guo S, Zhang J, Sun H, Salse J, Lucas W J, Zhang H, Zheng Y, Mao L, Ren Y, Wang Z, Min J, Guo X, Murat F, Ham B K, Zhang Z, Gao S, Huang M, Xu Y, Zhong S, Bombarely A, Mueller L A, Zhao H, He H, Zhang Y, Huang S, Tan T, Pang E, Lin K, Hu Q, Kuang H, Ni P, Wang B, Liu J, Kou Q, Hou W, Zou X, Jiang J, Gong G, Klee K, Schoof H, Huang Y, Hu X, Dong S, Liang D, Wang J, Wu K, Xia Y, Zhao X, Zheng Z, Xing M, Liang X, Huang B, Lv T, Yin Y, Yi H, Li R, Wu M, Levi A, Zhang X, Giovannoni J J, Li Y, Fei Z. 2013. The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus*) and resequencing of 20 diverse accessions. *Nature Genetics*, 45: 51 - 58.
- Ham B K, Brandom J L, Xoconostle-Cazares B, Ringgold V, Lough T J, Lucas W J. 2009. A polypyrimidine tract binding protein pumpkin RBP50, forms the basis of a phloem-mobile ribonucleoprotein complex. *Plant Cell*, 21: 197 - 215.
- Haywood V, Yu T S, Huang N C, Lucas W J. 2005. Phloem long-distance trafficking of gibberellic acid-insensitive RNA regulates leaf development. *Plant Journal*, 42: 49 - 68.
- Hepler P K. 2005. Calcium: A central regulator of plant growth and development. *Plant Cell*, 17: 2142 - 2155.
- Huang N C, Yu T S. 2009. The sequences of *Arabidopsis* GA-INSENSITIVE RNA constitute the motifs that are necessary and sufficient for RNA long-distance trafficking. *Plant Journal*, 59: 921 - 929.
- Huang S, Li R, Zhang Z, Li L, Gu X, Fan W, Lucas W J, Wang X, Xie B, Ni P, Ren Y, Zhu H, Li J, Lin K, Jin W, Fei Z, Li G, Staub J, Kilian A, van der Vossen E A, Wu Y, Guo J, He J, Jia Z, Tian G, Lu Y, Ruan J, Qian W, Wang M, Huang Q, Li B, Xuan Z, Cao J, Asan, Wu Z, Zhang J, Cai Q, Bai Y, Zhao B, Han Y, Li Y, Li X, Wang S, Shi Q, Liu S, Cho W K, Kim J Y, Xu Y, Heller-Uszynska K, Miao H, Cheng Z, Zhang S, Wu J, Yang Y, Kang H, Li M, Liang H, Ren X, Shi Z, Wen M, Jian M, Yang H, Zhang G, Yang Z, Chen R, Ma L, Liu H, Zhou Y, Zhao J, Fang X, Fang L, Liu D, Zheng H, Zhang Y, Qin N, Li Z, Yang G, Yang S, Bolund L, Kristiansen K, Li S, Zhang X, Wang J, Sun R, Zhang B, Jiang S, Wang J, Du Y, Li S. 2009. The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. *Nature Genetics*, 41: 1275 - 1281.
- Jorgensen R A, Atkinson R G, Forster R L, Lucas W J. 1998. An RNA-based information superhighway in plants. *Science*, 279: 1486 - 1487.
- Jung J H, Seo Y H, Seo P J, Reyes J L, Yun J, Chua N H, Park C M. 2007. The *GIGANTEA*-regulated microRNA172 mediates photoperiodic flowering independent of *CONSTANS* in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 2736 - 2748.
- Kim M, Canio W, Kessler S, Sinha N. 2001. Developmental changes due to long-distance movement of a homeobox fusion transcript in tomato. *Science*, 293: 287 - 289.
- Kuhn C, Franceschi V R, Schulz A, Lemoine R, Frommer W B. 1997. Macromolecular trafficking indicated by localization and turnover of sucrose transporters in enucleate sieve elements. *Science*, 275: 1298 - 1300.
- Li P, Ham B K, Lucas W J. 2011. CmRBP50 protein phosphorylation is essential for assembly of a stable phloem-mobile high-affinity ribonucleoprotein complex. *Journal of Biological Chemistry*, 286: 23142 - 23149.
- Lin M K, Lee Y J, Lough T J, Phinney B S, Lucas W J. 2009. Analysis of the pumpkin phloem proteome provides insights into angiosperm sieve tube function. *Molecular and Cell Proteomics*, 8: 343 - 356.
- Lin S I, Chiang S F, Lin W Y, Chen J W, Tseng C Y, Wu P C, Chiou T J. 2008. Regulatory network of microRNA399 and PHO2 by systemic signaling. *Plant Physiology*, 147: 732 - 746.

- Lucas W J, Yoo B C, Kragler F. 2001. RNA as a long-distance information macromolecule in plants. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2: 849 - 857.
- Mahajan A, Bhogale S, Kang I H, Hannapel D J, Banerjee A K. 2012. The mRNA of a Knotted1-like transcription factor of potato is phloem mobile. *Plant Molecular Biology*, 79: 595 - 608.
- Martin A, Adam H, Diaz-Mendoza M, Zurczak M, Gonzalez-Schain N D, Suarez-Lopez P. 2009. Graft-transmissible induction of potato tuberization by the microRNA miR172. *Development*, 136: 2873 - 2881.
- Martin K C, Ephrussi A. 2009. mRNA localization: Gene expression in the spatial dimension. *Cell*, 136: 719 - 730.
- Molnar A, Melnyk C W, Bassett A, Hardcastle T J, Dunn R, Baulcombe D C. 2010. Small silencing RNAs in plants are mobile and direct epigenetic modification in recipient cells. *Science*, 328: 872 - 875.
- Notaguchi M, Wolf S, Lucas W J. 2012. Phloem-mobile Aux/IAA transcripts target to the root tip and modify root architecture. *Journal of Integrative Plant Biology*, 54: 760 - 772.
- Omid A, Keilin T, Glass A, Leshkowitz D, Wolf S. 2007. Characterization of phloem-sap transcription profile in melon plants. *Journal of Experimental Botany*, 58: 3645 - 3656.
- Pant B D, Buhtz A, Kehr J, Scheible W R. 2008. MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis. *Plant Journal*, 53: 731 - 738.
- Rodriguez-Medina C, Atkins C A, Mann A J, Jordan M E, Smith P M. 2011. Macromolecular composition of phloem exudate from white lupin (*Lupinus albus* L). *BMC Plant Biology*, 11: 36.
- Ruiz-Medrano R, Xoconostle-Cazares B, Lucas W J. 1999. Phloem long-distance transport of CmNACP mRNA: Implications for supracellular regulation in plants. *Development*, 126: 4405 - 4419.
- Sandstrom J, Telang A, Moran N A. 2000. Nutritional enhancement of host plants by aphids - a comparison of three aphid species on grasses. *Journal of Insect Physiology*, 46: 33 - 40.
- Sasaki T, Chino M, Hayashi H, Fujiwara T. 1998. Detection of several mRNA species in rice phloem sap. *Plant and Cell Physiology*, 39: 895 - 897.
- Sharkey P J, Pate J S. 1976. Translocation from leaves of fruits of a legume, study by a phloem bleeding technique-diurnal changes and effects of continuous darkness. *Planta*, 128: 63 - 72.
- St Johnston D. 2005. Moving messages: The intracellular localization of mRNAs. *Nature Review of Molecular Cell Biology*, 6: 363 - 375.
- Turgeon R, Wolf S. 2009. Phloem transport: Cellular pathways and molecular trafficking. *Annual Review of Plant Biology*, 60: 207 - 221.
- van Bel A J E. 2003. The phloem, a miracle of ingenuity. *Plant Cell Environment*, 26: 125 - 149.
- Varkonyi-Gasic E, Gould N, Sandanayaka M, Sutherl P, MacDiarmid R M. 2010. Characterisation of microRNAs from apple (*Malus domestica* 'Royal Gala') vascular tissue and phloem sap. *BMC Plant Biology*, 10: 159.
- Xoconostle-Cázares B, Xiang Y, Ruiz-Medrano R, Wang H L, Monzer J, Yoo B C, McFarl K C, Franceschi V R, Lucas W J. 1999. Plant paralog to viral movement protein that potentiates transport of mRNA into the phloem. *Science*, 283 (5398): 94 - 98.
- Yoo B C, Kragler F, Varkonyi-Gasic E, Haywood V, Archer-Evans S, Lee Y M, Lough T J, Lucas W J. 2004. A systemic small RNA signaling system in plants. *Plant Cell*, 16: 1979 - 2000.
- Zhang C, Yu X, Ayre B G, Turgeon R. 2012. The origin and composition of cucurbit "phloem" exudate. *Plant Physiology*, 158: 1873 - 1882.
- Zhang S, Sun L, Kragler F. 2009. The phloem-delivered RNA pool contains small noncoding RNAs and interferes with translation. *Plant Physiology*, 150: 378 - 387.
- Zimmermann M R, Hafke J B, van Bel A J E, Furch A C U. 2013. Interaction of xylem and phloem during exudation and wound occlusion in *Cucurbita maxima*. *Plant Cell Environment*, 36: 237 - 247.