

油菜素甾醇及其抗逆性研究进展

石晓霞¹, 朱永兴², 许 兴³

(1. 宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏农林科学院 宁夏农业生物技术重点实验室, 宁夏 银川 750021;
3. 宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:油菜素甾醇类化合物(BRs)是一类新的植物激素,对植物生长发育与抗逆等有重要的调控作用。BRs 能增强植物对不同逆境的抗逆性,但作用机制研究尚不完全清楚,现就植物体内 BRs 生物合成及平衡的调节、BR 在抗逆方面的研究进展做以简单综述。

关键词:油菜素甾醇;生物合成;平衡调节;抗逆

中图分类号:S 482.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0187-04

油菜素甾醇(Brassinosteroid, BR)是最早在植物中发现的一类甾醇类激素,美国农业科学家 Mitchell 等^[1] 1970 年首次从油菜花粉中提取出的一种活性物质,因其能促进菜豆的生长而被称为油菜素。1979 年 Michael 等^[2] 确定了其分子结构是一种甾醇类化合物,命名为油菜素内酯。此后,油菜素内酯及许多与其结构相似的化合物在多种植物中得到分离和鉴定,这些以甾醇为基本结构的且具有生物活性的天然产物被统称为油菜素甾醇类化合物。不同结构的油菜素甾醇化合物表现出不同的生理活性,在所有已知的天然和合成的 BRs 中,活性最强的是油菜素内酯,其次是表油菜素内酯和高油菜素内酯。BRs 在农业生产中有广阔的应用前景,近年来,BRs 的各种功效均有报道,如增强植物耐旱、耐冷、抗病、抗盐等抗逆性,提高坐果率和结实率,促进果实肥大等。

1 BR 生物合成

在植物体内,BR 的活性水平在 BR 生物合成、代谢及去活化等层次上受到精细调控^[3-4],BR 的生物合成呈代谢网格状,其生物合成酶受到终产物和信号转导的一些中间组分的反馈抑制^[5-6]。从 BR 信号的产生,包括 BR 的合成、活性与水平的调节及运输,到与膜受体结合引起信号的感知和传递,并最终引起 BR 诱导基因的表

达和特定的生理反应,是一个连续且相互影响的过程,并且每一个环节都受到多种内外因子在多个层次上的调节。

已发现的 BR 合成途径有 C-6 氧化途径^[7] 和 C-23 羟基化途径^[8],C-23 羟基化途径较 C-6 氧化途径快捷。目前对 BR 合成途径的研究只是局限在一些少量的突变体上。为了深入广泛地研究 BR 的作用,寻找 BR 合成途径中的抑制剂(尤其是特定步骤的抑制剂)就非常重要。TCP1,一个被认为是参与花器官对称性的控制基因,被确认为一种基因抑制器,编码一个假定的控制一个基础的螺旋域的转录因子。在拟南芥中 TCP1 通过调控合成关键基因 DWARF 4 的表达调节油菜素甾醇的生物合成^[9]。玉米的 *brd1* 基因编码一种油菜素甾醇的 C-6 Oxidase。*brd1* 基因编码催化油菜素甾醇生物合成的最后一阶段的酶^[10]。

2 BR 平衡的调节

目前,BR 的生物合成途径及信号转导已有很多相关报道,但是植物体内 BR 平衡的调节及其参与的抗逆研究机制尚不完善,已研究的 BR 调节途径有以下几方面。

2.1 通过 BRI1 的活性维持 BR 平衡

水稻 RAVL1 基因通过调节 BRI1 的活性维持 BR 平衡。RAVL1 调节 BR 受体的表达,BR 生物合成基因 D2、D11 和 BRD1 的表达也需要 RAVL1 对 BR 进行平衡的负调控。RAVL1 通过与 E-box cis-elements 协作激活 BR 受体及其生物合成基因的活性。RAVL1 的主要功能是参与 BR 信号及 BR 的生物合成途径的调控^[11]。

2.2 BAHD 酰基转移酶家族调控

一些拟南芥的 BAHD 酰基转移酶家族可能对 BR 的失活扮演一个重要的角色。已经分离获得 2 个性功能

第一作者简介:石晓霞(1985-),女,宁夏隆德人,硕士研究生,现主要从事耐盐植物基因研究工作。E-mail:luckystar_668318@163.com.

责任作者:许兴(1959-),男,宁夏银川人,博士,教授,博士生导师,现主要从事植物逆境生理生态与分子生物学研究工作。E-mail:xuxingscience@126.com.

基金项目:国家重点基础研究“973”计划资助项目(2012CB114204)。

收稿日期:2013-01-29

能突变体, Bial-1D 和 Bial-2D, BAHD 酰基转移酶家族 BIA1 编码的成员控制着 BR 的含量水平, 在黑暗条件下根和子叶下胚轴中的表现尤其明显^[12]。

2.3 BR 缺陷突变体及特定的 BR 生物合成抑制剂的调节作用

BR 缺陷突变体及特定的 BR 生物合成抑制剂在阐明 BR 在植物中的功能中具有很重要的作用。丙环唑(Pcz)是芸苔素唑(Brz)中一种可选择性的 BR 抑制剂。据研究, 拟南芥籽苗用 Pcz 处理后表现出 BR 生物合成缺陷突变体的性状, 但并不是赤霉素调控基因增加了 Pcz 浓度的比例。此外, 根抑制和 Pcz 诱导表达的 BR 生物合成基因被 24epi-芸苔素唑激活, 而不是 GA₃^[13]。

酪氨酸激酶受体控制着很多多细胞动物体内的关键过程, 但是这种酶在植物体重好像是缺失的。近年来, 2 种拟南芥受体激酶-BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1 (BRI1) 和 BRI1-ASSOCIATED KINASE1 (BAK1), 该甾醇的受体和辅助受体, 在酪氨酸的自磷酸化作用表现出来, 酪氨酸磷酸化作用刺激膜释放激酶抑制剂控制油菜素甾醇受体的活性。但是, 酪氨酸磷酸化在植物细胞中的研究还是很少的, 目前的研究揭示了酪氨酸磷酸化作用是控制所有高等生物蛋白定位的保守机制^[14]。

2.4 细胞色素 P450 单氧酶的负调控

细胞色素 P450 单氧酶通过打破 BR 信号而用于转基因植物异常生长的负筛选。细胞色素 P450 单氧酶是催化多种反应的一大超家族酶类。P450SU1 基因来自土壤链霉菌, 其编码的 CYP105A1 作用于各种底物包括磺酰脲类除草剂、维生素 D、香豆素类、油菜素甾醇类。P450SU1 在植物中通常被用作负选择标记物, 因为 CYP105A1 能将相对温和的黄酰基尿素蛋白除草剂 R7402 转化为高植物性毒素的产物。CYP105A1 能打乱油菜素甾醇信号, 很可能是将油菜素甾醇钝化。尽管 P450SU1 之前被用作基因工具, 但是在缺乏 R7402 的条件下的有毒生长目前还没有详细的研究, 但研究结果显示该基因能瓦解油菜素甾醇信号干扰内稳态从而导致生长异常^[15]。

3 BR 参与的植物抗逆研究

目前, 已有很多研究表明 BRs 可以通过改善植物的渗透调节、提高植物体内多种保护酶的活性以及提高植物光合速率等途径来增强植物的抗逆能力。

3.1 BR 诱导 H₂O₂ 的积累, 增强植物抗氧化性

Zhang 等^[16]研究发现, 油菜素甾醇(BR)具有诱导 hydrogen peroxide(H₂O₂) 积累的效应, 并且 BR 诱导的 H₂O₂ 具有调节植物地上部分抗氧化防御系统, 但是具体

机制还有待于进一步研究。在玉米中, BR 处理激活了 ZmMPK5, 一种细胞分裂素激活蛋白激酶, 诱导质体和叶绿体蛋白 H₂O₂ 的积累, 增强了总抗氧化酶的活性, 这种强化作用是发生在提前用细胞分裂素激活蛋白激酶抑制剂和 H₂O₂ 抑制剂阻塞的情况下。

BRs 能诱导植物增强胁迫的耐受性, 为了研究 BR 如何诱导耐受性, Xia 等^[17]通过化学和遗传学方法研究得出植物体内 BR 的水平与光氧化耐受性、冷胁迫以及黄瓜花叶病毒的侵害呈正相关。同时证明 BR 处理加强了 NADPH 氧化酶的活性、提高了质外体 H₂O₂ 的含量, BR 诱导 H₂O₂ 的积累过程伴随着对氧化胁迫耐受力的增强。

3.2 BR 能诱导 ABA 的积累, 增强植物抗逆性

ABA 与植物逆境生理有多方面的联系, Saneoka 等^[18]研究表明, BADH 的表达受盐和 ABA 的诱导, 施用外源 ABA 的植株中 BADH 的 mRNA 水平增高, BADH 表达水平上升, 从而降低盐胁迫对植株造成的伤害, 增加抗盐性。内源 ABA 水平可能会抑制 BRs 在高温胁迫时发挥作用^[19], 但是 BR 处理可以显著地诱导 ABA 的积累, 进而激活植物的抗氧化防御系统, 抑制活性氧积累, 从而提高植物的耐冷性^[20]。郝格格等^[21]研究认为, 在干旱、高盐或低温等逆境胁迫条件下, 可能存在的机制是: 逆境胁迫条件促使植物体内 ABA 的积累, 诱导 ABA 响应元件基因表达, 从而产生抗逆境胁迫生理效应。

3.3 BR 与泛素蛋白 UBC32 互作, 增强植物抗逆性

拟南芥泛素蛋白 UBC32 参与油菜素甾醇的抗逆调节。植物通过触动一系列的信号途径修改它们的生长发育而使其在逆境中得到保护, 包括活化的泛素调节的蛋白质降解(ERAD)过程。内质网降解蛋白是泛素蛋白酶系统的一个重要方向。但是在其中只发现了很少的内质网降解蛋白组件, 拟南芥泛素结合酶 UBC32, 一种位于内质网膜上的具有抗逆功能的泛素结合酶(E2), 与泛素调节的蛋白质降解、油菜素甾醇调节的促进生长和抗盐胁迫有关。活细胞研究显示 UBC32 是 1 个 ERAD 的功能元件影响着已知 ERAD 基质的稳定。UBC32 突变体可导致 Bri1-5 和 Bri1-9 的积累, 这种突变形式激活了 BR 信号的转导。进一步的遗传学和生理学研究结果显示, UBC32 在 BR 调节的盐胁迫应激和 BR 信号介导的植物耐盐过程中具有至关重要的作用^[22]。

3.4 BR 调控 CESA 基因的表达能调控纤维素的生物合成, 与抗逆相关

植物细胞壁在植物生长中主要起结构支持、物质运输和抵御逆境的作用。植物生长在受到各种环境信号

影响后,细胞壁特性会发生很大改变。这些环境信号也会改变细胞壁组分的含量和结构,从而改变细胞壁机械特性。这种细胞壁的改变可以认为是植物对环境胁迫的响应。裴惠娟等^[23]综述了在多种非生物胁迫下细胞壁结构及组分的变化,表明细胞壁在植物的抗逆境生理中也是有很大作用的。

植物激素 BR 在调控细胞壁的伸长和生长方面具有非常重要的作用,纤维素是一种生物聚合物,它在细胞增殖和生长过程中对细胞壁的构建起主要的作用。Xie 等^[24]研究发现,在突变体以及野生型中均能检测到纤维素的含量和纤维素合酶基因(CESAs)的表达水平与 BR 相关,染色质免疫共沉淀(CHIP)试验和遗传分析证明 BRs 调控 CESA 基因的表达。研究发现 BR 缺陷型和 BR 感知型突变体包含的纤维素比野生型的少。CESA 基因的表达,尤其这些主要合成细胞壁相关的,在突变体 *det2-1* 和 *br1-301* 中都有减少。并且在 BR 缺陷型突变体 *det2-1* 中仅能被 BR 诱导。CHIP 试验表明,BR 活化转录因子 BES1 能与上游大多数 CESA 基因尤其与细胞壁合成相关的主要基因联合。此外,在 CESA1、3、6 突变体中超表达 BR 受体 BRI1 只能挽救部分矮表型。BRs 具有调控纤维素生物合成功能,但是 BR 诱导细胞壁伸长潜在的机制至今还没有确切的解释。

4 展望

近年来,对 BR 的研究已有了一些成果,但是由于 BR 在植物体内的含量非常少,导致对 BR 的研究仍有一定的局限性。BR 在植物抵抗非生物胁迫逆境生理方面已有很多的研究和应用,但是其抗逆机制以及与其它激素互作的机理还有待于深入研究,随着方法的不断更新,对 BR 各方面的深入研究,对于作物的抗逆、高产以及推动 BR 在农、林业的广泛应用具有十分重要的作用。

参考文献

- [1] Mitchell J W, Mandava N, Worley J F, et al. Brassins; a new family of plant hormones from rape pollen[J]. *Nature*, 1970, 225: 1065-1066.
- [2] Michael D, Grove, Gayland F, et al. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen [J]. *Nature*, 1979, 281: 216-217.
- [3] Bishop G J, Yokota T. Plants steroid hormones, brassinosteroids; Current highlights of molecular aspects on their synthesis/ metabolism, transport, perception and response[J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42(2): 114-120.
- [4] Schumacher K, Chory J. Brassinosteroid signal transduction; Still casting the actors[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2000(3): 79-84.
- [5] Shimada Y, Fujioka S, Miyauchi N, et al. Brassinosteroid-oxi-6-dases from *Arabidopsis* and tomato catalyze multiple C-6 oxidations in Brassinosteroid biosynthesis[J]. *Plant Physiol*, 2001, 126: 770-779.
- [6] Bishop G, Nomura T, Yokota T, et al. The tomato DWARF enzyme catalyses C-6 oxidation in Brassinosteroid biosynthesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 1761-1766.
- [7] 储昭庆,李李,宋丽,等. 油菜素内酯生物合成与功能的研究进展[J]. *植物学通报*, 2006, 23(5): 543-555.
- [8] Toshiyuki O, Anna-Maria S, Bunta W, et al. C-23 hydroxylation by *Arabidopsis* CYP90C1 and CYP90D1 reveals a novel shortcut in brassinosteroid biosynthesis[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18: 3275-3288.
- [9] Guo Z X, Shozo F, Elison, et al. TCP1 modulates brassinosteroid biosynthesis by regulating the expression of the key biosynthetic gene DWARF 4 in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Cell*, 2010, 22: 1161-1173.
- [10] Irina M, Addie T. Brd1 gene in maize encodes a brassinosteroid C-6 oxidase [J]. *Anuay*, 2012, 7(1): 307-398.
- [11] Byoung I J, Hai L P, Soon J P, et al. RAV-Like1 maintains brassinosteroid homeostasis via the coordinated activation of BRI1 and biosynthetic genes in rice[J]. *The Plant Cell*, 2010, 22: 1777-1791.
- [12] Hyungmin R, Cheol W J, Shozo F, et al. Genetic evidence for the reduction of brassinosteroid levels by a BAH1 acyl transferase-like protein in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2012, 159: 696-709.
- [13] Thomas H, Claudia C, Norman B B, et al. Propiconazole is a specific and accessible brassinosteroid (BR) biosynthesis inhibitor for *Arabidopsis* and Maize [J]. *Plos One*, 2012, 7(5): 36625.
- [14] Yvon J, Michael H, Youssef B, et al. Tyrosine phosphorylation controls brassinosteroid receptor activation by triggering membrane release of its kinase inhibitor [J]. *Genes and Development* 2011, 25: 232-237.
- [15] Dasgupta K, Ganesan S, Manivasaqam S, et al. A cytochrome P450 monooxygenase commonly used for negative selection in transgenic plants causes growth anomalies by disrupting brassinosteroid signaling [J]. *BMC Plant Biology* 2011, 11: 67.
- [16] Zhang A Y, Zhang J, Ye N H, et al. ZmMPK5 is required for the NADPH oxidase-mediated self-propagation of apoplastic H₂O₂ in brassinosteroid-induced antioxidant defence in leaves of maize [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61, 15: 4399-4411.
- [17] Xia X J, Wang Y J, Zhou Y H, et al. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber [J]. *Plant Physiology*, 2009, 150: 801-814.
- [18] Saneoka H, Ishiguro S, Moghaieb J. Effect of salinity and abscisic acid on accumulation of glycinebetaine and betainealdehyde dehydrogenase mRNA in sorghum leaves (*Sorghum bicolor*) [J]. *Plant Physiol*, 2001, 158: 853-859.
- [19] Divi U K, Rahman T, Krishna P. Brassinosteroid-mediated stress tolerance in *Arabidopsis* shows interactions with abscisic acid, ethylene and salicylic acid pathways [J]. *BMC Plant Biology*, 2010(10): 151.
- [20] Liu Y J, Jiang H F, Zhao Z G. Abscisic acid is involved in brassinosteroid-induced chilling tolerance in the suspension cultured cells from *Chorispora bungeana* [J]. *Plant Physiol*, 2011, 168: 853-862.
- [21] 郝格格, 孙忠富, 张录强, 等. 脱落酸在植物逆境胁迫研究中的进展 [J]. *中国农学通报*, 2009, 25(18): 212-215.
- [22] Cui F, Liu L J, Zhao Q Z, et al. *Arabidopsis* ubiquitin conjugase UBC32 is an ERAD component that functions in brassinosteroid-mediated salt stress tolerance [J]. *The Plant Cell*, 2012, 24: 233-244.
- [23] 裴惠娟, 张满效, 安黎哲. 非生物胁迫下植物细胞壁组分变化 [J]. *生态学杂志*, 2011, 30(6): 1279-1286.
- [24] Xie L Q, Yang C J, Wang X L. Brassinosteroids can regulate cellulose biosynthesis by controlling the expression of CESA genes in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(13): 4495-4506.

杀虫式气调对害虫控制和果蔬保鲜的研究进展

李 玲, 郭 衍 银

(山东理工大学 农业工程与食品科学学院, 山东 淄博 255049)

摘 要:在介绍杀虫式气调(Insecticidal Controlled Atmospheres, ICA)概念的基础上,深入探讨了 ICA 控制害虫的生理生化机理和 ICA 对果蔬贮藏特性的影响,介绍了其它因素诸如温度、湿度、处理时间及气体比例在 ICA 对害虫控制和果蔬保鲜的影响。最后,就 ICA 研究中存在的问题和以后的发展方向作了探讨和展望。

关键词:杀虫式气调(ICA);保鲜;果蔬;害虫;进展

中图分类号:TS 205 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0190-04

果蔬是人类重要的副食品之一,因其富含人体所需的矿物质、维生素及营养物质而日益受到消费者青睐。由于具有旺盛的生命活动,果蔬采后易出现软化、腐烂、劣变等现象,造成巨大的经济损失^[1]。

研究和实践证明,气调贮藏是国际上最先进有效的果蔬保鲜方法,并在很多果蔬上成功应用^[2-3]。一般气调贮藏是利用适当的低 O₂ 和高 CO₂ 抑制果蔬的生理生化活动,进而达到果蔬保鲜和延长保鲜期的目的,但这种气调对果蔬贮藏期间害虫的控制作用很小。为此,杀虫式气调(Insecticidal Controlled Atmospheres, ICA)应运而生。现就 ICA 对害虫控制、果蔬保鲜以及其它因素对 ICA 的影响等方面进行综述,以期对果蔬的 ICA 技术提供理论参考。

第一作者简介:李玲(1987-),女,硕士,现主要从事农产品贮藏与加工等研究工作。E-mail:limeiling.666@163.com.

责任作者:郭衍银(1976-),男,副教授,硕士生导师,现主要从事农产品贮藏与加工等研究工作。E-mail:guoyy@sdu.edu.cn.

收稿日期:2013-01-26

1 ICA 概念

所谓 ICA,就是采用高 CO₂ (≥20%) 或低 O₂ (≤1%) 的气体成分,进行果蔬保鲜和害虫控制的一种气调方式^[4-5]。因 ICA 具有无化学残留、无毒、不污染环境等优势,近几年得以迅速发展并成为研究热点,现已发展有高 CO₂ 气调、高 O₂ 气调、超低 O₂ 气调、CO 气调等^[6]等多种方式。

2 ICA 对果蔬贮期害虫的影响

ICA 对害虫的控制,在谷物上已应用多年,如蒋德云等^[7]研究指出,100% CO₂ 在常温下 10~48 h 能 100% 致死粮食害虫,当浓度低于 40% 时,则需要 14 d 以上的时间才能达到 100% 的致死率。鉴于采后果蔬的生命活动能力强、易于腐烂、不耐高 CO₂ 等特性,ICA 在果蔬贮期害虫的控制方面研究较少。

2.1 高 CO₂ 控制果蔬贮期害虫的生理生化机制

从呼吸角度分析,高 CO₂ 扰乱了害虫的呼吸机能,刺激害虫气门肌肉的神经系统,使闭肌松弛,迫使气门开启,因对氧的需求而被动吸入过多的 CO₂,造成神经

Research Progress of Brassinosteroid and the Related Resistance of BRs

SHI Xiao-xia¹, ZHU Yong-xing², XU Xing¹

(1. Department of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021; 2. Ningxia Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan, Ningxia 750021; 3. Department of Agronomy, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: Brassinosteroids (BRs) are a class of new plant hormones and play a very important role in the growth and development as well as stress resistance of plants. BRs can enhance the plants for different adversity resistance, but the mechanism research is not complete known. This review focuses on recent progresses in the studies of the BR biosynthesis and the regulation of BRs balance, the development of BR in stress-tolerance were simply summed up.

Key words: Brassinosteroid; biosynthesis; balance regulate; stress tolerance