

果实发育和成熟的调控机制

周 峰

(南京晓庄学院 生物化工与环境工程学院,江苏 南京 211171)

摘 要:果实是人类饮食中必不可少的一部分,研究果实发育和成熟的调控机制可为果实品质改良提供参考。文章首先介绍了果实的命名、演化和多样性,并对果实形成过程中的雌蕊发育、受精过程、果实发育、果实成熟后干果的裂开和肉果的颜色等方面的分子调控机制进行了概述。

关键词:果实;发育;成熟;调控

中图分类号:Q 944.59 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)02-0175-04

真正的果实只存在于被子植物或开花植物中。被子植物名称的含义就是隐藏的种子。开花植物约有 25 万~40 万种,其中大多数为热带、亚热带和温带植物。被子植物涵盖范围从小的草本植物到大的乔木植物,覆盖范围从陆地到海洋。几乎所有的农作物都来自被子植物,人类生活与被子植物密不可分,尤其是它们的果实和种子,是人类饮食中必不可少的一部分。果实常被定义为包含种子的成熟子房的衍生结构,而真正的果实是起源于花的雌蕊组织^[1]。目前,关于果实发育和成熟的研究主要集中在某些基因的功能或某些激素的作用方面,该研究则从果实形成过程中的雌蕊发育、受精过程、果实发育、果实成熟后的干果裂开和肉果颜色及保存期方面,对果实发育和成熟的分子调控机制进行了概述。

1 果实的命名、演化及多样性

被子植物果实种类很多,但都是根据以下原则组合命名的:果皮是否开裂、干果或肉质果、离生心皮或合生心皮。被子植物中 83% 都是合生心皮,离生心皮比较少,但木兰(magnolia)中有集群分离的心皮。合生心皮利于花粉管保护和竞争,通过促进果实发育和开裂来增加果实的适应性辐射^[2]。

被子植物化石可追溯到白垩纪早期,最早的被子植物化石存在于约 1 亿 3 千 2 百万年前。白垩纪早期被子植物的果实和种子都非常小,果实体积只有 0.1~8.3 mm³,种子体积只有 0.02~6.90 mm³。绝大多数果

实不开裂,为含有 1 粒种子的坚果或含有几粒种子的核果。但也发现一些开裂、离生心皮的果实。被子植物多样性发现于白垩纪中期,这说明被子植物的多样性和生态辐射发生在一个相对较短的时期内。很多果实有肉质外层,但并没有发现果实类型和被子植物分支之间存在联系,这说明在被子植物分支谱系中,果实类型的进化没有系统发育约束。果实和种子的体积都在第三纪发生明显增加,而肉质化的起源和进化可能与防止病原菌的侵入和生物扩散有关。大型食草动物如恐龙的灭绝,也使得果实和种子有变大的进化趋势。此外,果实的类型和生境也有关系,比如果实肉质化的进化就与植物生境从开放环境到相对封闭环境的转变有关^[3]。

2 雌蕊发育过程的调控

生长素(auxin)是拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)雌蕊不同极性轴向上的一个重要组成部分。因为柱头的需要,生长素是在顶端的基部合成的,通过转录因子 STYLISH1(STY1)、STY2 和 NGATHA3 的激活,诱导生长素合成基因 YUCCA 的表达。螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)结构是存在于所有真核中一个大的转录因子家族。这个家族的一些成员在雌蕊和果实的发育中具有重要作用,比如突变体 SPATULA (SPT)导致心皮边缘组织如柱头和隔膜等发育早期存在缺陷。对 bHLH 编码的基因 HECATE (HEC)突变体研究发现,其雌蕊组织发育表型缺陷与 SPT 突变体类似。SPT 和 HEC 蛋白相互作用的酵母双杂交的试验结果表明,它们共同调节下游目标^[4-5]。bHLH 编码的另外 1 个基因 INDEHISCENT(IND)的突变体研究发现,它能明显增强 *spt* 单突变体的表型。植物细胞的 IND 和 SPT 共同调控一系列目标基因,其中有一些直接参与生长素的极性运输。IND 属于拟南芥 bHLH 家

作者简介:周峰(1978-),男,山东淄博人,博士,副教授,现主要从事植物生理生化等研究工作。E-mail:zfbcas@163.com

基金项目:国家高技术研究发展“863”计划资助项目(2012AA021701);江苏省自然科学基金青年基金资助项目(BK2012073);江苏省生态学重点学科建设资助项目(2012)。

收稿日期:2014-09-11

族中的 3 个 *HEC* 基因,若 3 个 *HEC* 基因丢失,将会出现分体式的无柱头表型,会与 *ind spt* 双突变体的雌蕊组织表型一样。这表明,*HEC* 蛋白直接与植物体内的 *SPT* 蛋白相互作用。

随着对生长素运输和拟南芥信号转导的研究,现在已清楚雌蕊发育过程中生长素的分布情况。柱头形成之前,雌蕊的远端会积累很强的生长素信号受体 DR5:GFP,形成绿色荧光蛋白 GFP 环(green fluorescent protein, GFP)。而在 *spt* 单突变体和 *ind spt* 双突变体中,没有 GFP 环。相反,GFP 信号在远端形成 2 个焦点,因为在那个区域 *IND* 和 *SPT* 是表达的,这说明它们很可能参与生长素横向运输,形成 1 个环保证雌蕊发育^[6]。

3 受精过程的调控

果实从一开始形成,就有植物激素的参与。受精后,源于种子的生长素信号启动,激活胚珠中的赤霉素(gibberellins,GA)信号转导途径,上调 GA 的表达,促进果实的生长。生长抑制 DELLA 蛋白的降解是 GA 信号转导的中心环节。DELLA 蛋白是核转录调节因子,负向调节 GA 信号途径,并抑制植物生长发育。GA 介导的 DELLA 蛋白降解途径可解除 DELLA 对植物生长发育的抑制。解除之后可明显促进干果和肉果的单性结实和果实生长^[7]。

生长素响应因子(auxin response factors,ARFs)和生长素/吲哚乙酸(Aux/IAA)蛋白在果实形成过程中也起作用。拟南芥和番茄(*Solanum lycopersicum*)中的 *ARF8* 异常表达会导致果实的单性结实。这可能是因为 *ARF8* 和 Aux/IAA 蛋白 IAA9 形成不稳定的转录阻遏复合物,从而使生长素应答基因进行转录。番茄中,授粉会导致 *ARF9* 蛋白的上调表达和 *ARF7* 蛋白的下调表达。番茄生长素响应因子 7(*Solanum lycopersicum* auxin response factor 7,SlARF7)的沉默可导致果实的单性结实,这表明 SlARF7 是结实的负调节因子。SlARF 的沉默还会导致番茄生长素氨基合成酶的显著上调表达。并且,SlARF7 的下调表达会导致细胞分裂的下调和细胞膨大的上调^[8]。

4 果实发育过程的调控

番茄果实的大小是由近 30 个数量性状位点控制,其中 1 个数量基因 *Fw2.2*(fruit weight 2.2)负责果实约 30% 的变化。它编码果实特殊蛋白质,参与有丝分裂的负调控,是细胞周期信号转导途径的一部分。番茄果皮细胞数与真核生物中重要转录调控因子 MADS(MCM1 AGAMOUS DEFICIENS SRF)-box 基因 *TOMATO AGAMOUS-LIKE1*(*TAGL1*)的表达有关,*TAGL1* 与拟南芥中的 *SHATTER-PROOF*(*SHP*)基因同源。

TAGL1 的表达在花器官形成以及番茄幼果逐渐成熟过程中也起重要作用,它是幼果组织中含最丰富的 MADS-box 基因^[9]。4 个控制番茄果实形状的基因已经克隆:*SUN* 和 *OVATE* 基因控制果实的伸长,*SUN* 编码的蛋白还可改变激素和次生代谢产物的水平。*OVATE* 基因编码负调节生长因子,阻遏转录,减少果实长度。*FASCIATED* 基因与扁平果实形状有关。*LOCULE NUMBER* 基因调节果实子房室数和编码调控植物茎细胞命运的蛋白^[10]。

5 干果成熟后的裂开调控

干果裂片边缘的形成依赖于很多转录因子的活性。*MADS-box* 基因 *SHP1*、*SHP2* 对 *IND* 和编码另外 1 个 bHLH 转录因子的基因 *ALCATRAZ*(*ALC*)都有正调控作用。*shp* 单突变体没有明显表型,但 *shp1 shp2* 双突变体植株裂片边缘没有分化,果实不开裂。尽管 *IND* 基因在雌蕊的形成过程中起重要作用,但 *ind* 突变体最显著的表型就是缺少裂片边缘,影响木质部和形成层的分化。而 *alc* 突变体中虽然裂片边缘的细胞会发生木质化,但形成层的发生受到阻碍。*FRUITFULL*(*FUL*)基因编码 MADS-box 基因转录因子,控制裂片细胞命运。*ful* 突变体表型为裂片细胞分化缺陷,外表皮气孔不分化,内表皮细胞分化失控产生更多的细胞,胎座发育成扭曲的拉链状。含有同源结构的转录因子 *REPLUMLESS*(*RPL*)是裂片边缘内侧胎座框组织发育的关键调控因子,*rpl* 突变体不能形成胎座框。此外,花同源基因 *APETALA2*(*AP2*)可抑制胎座框组织的发育^[11]。

对甘蓝型油菜(*Brassica napus*)的研究结果表明,果实开裂之前裂片边缘组织中的生长素含量迅速下降,细胞壁降解酶活性明显升高。这表明,生长素含量的下降可能是果实开裂的一个前提。在拟南芥研究中也发现,*IND* 蛋白通过控制生长素运输方向使得裂片中的生长素含量达到最低值。GA 参与拟南芥果实发育中的组织特异化过程,GA4 基因是 *IND* 蛋白的直接作用目标。GA4 突变体中裂片边缘组织形成层的特异化过程中存在缺陷,这与 *alc* 突变体表型相似。GA4 基因编码 GA3 氧化酶,调节活化的 GA 合成的最后一步。而 GA 的合成可在裂片边缘形成过程中降解 DELLA 蛋白^[12]。

6 肉果成熟过程的调控

6.1 激素调控

在番茄和葡萄等植物中,果实成熟前,自由生长素含量下降,束缚生长素如吲哚乙酸-天冬氨酸等含量升高。吲哚乙酸-天冬氨酸是由吲哚乙酸氨基合成酶催化形成,后者由 *GH3* 基因编码,果实成熟时 *GH3* 基因上调表达,并且其表达还受到脱落酸(abscisic acid,ABA)的调控。ABA 明显促进果实的成熟,编码 ABA 合成过

程关键酶 9-顺式-环氧类胡萝卜素加双氧酶的基因 *SINCE1* 抑制后,会导致很多与果实成熟有关的细胞壁酶转录水平的下调表达,如多聚半乳糖醛酸酶、果胶甲酯酶等,使果实软化过程变慢,延长果实保存期。目前,ABA 的作用机制尚不清楚,可能与促进 *GH3* 基因表达有关^[13]。通过反义基因技术对编码乙烯合成过程 2 个关键酶 ACC(1-aminocyclopropane-1-carboxylate)氧化酶和 ACC 合成酶的 *ACO1* 和 *ACS2* 基因研究表明,乙烯在呼吸跃变型肉果成熟中期关键作用。细胞膜上感受乙烯信号的受体如乙烯响应因子 4(ETHYLENE RESPONSE4, *LeETR4*)、*LeETR6* 和 *NR*(never ripe)也会明显上升表达。乙烯并不是单独起作用,34 肽重复序列结构域(tetratricopeptide repeat, *TPR*)蛋白 *SITPR1* 能与乙烯受体 *LeETR1* 和 *NR* 相互作用,过表达 *SITPR1* 能显著促进乙烯反应,而减少早期生长素基因 *IAA9* 的表达^[14]。*MADS-RIN*(ripening inhibitor)基因是番茄成熟所必需的调控基因,*rin* 突变体影响到所有的成熟调控路径,这表明它在果实成熟过程中起主要调节作用。染色质免疫沉淀试验结果表明,*MADS-RIN* 蛋白直接调控与果实成熟相关基因的表达,如乙烯生成相关基因、细胞代谢相关基因、类胡萝卜素形成基因、香气生成相关基因和醇脱氢酶基因等。此外,果实成熟过程中,*MADS-RIN* 蛋白还能抑制生长素 *ARF* 基因的表达^[15]。

6.2 颜色和保存期的调控

通过转录组学和代谢组学研究发现了番茄类胡萝卜素调节因子—*SlERF6* 基因, *RNAi* 抑制 *SlERF6* 基因表达会导致果实成熟过程中类胡萝卜素和乙烯含量的增加。并且,通过对番茄高色素突变体 *hp1* (high pigment 1) 和 *hp2* 研究发现, *hp1* 和 *hp2* 能够明显提高番茄红素的含量,二者都有调节光合色素信号转导的能力,但在光形态建成中的作用不同。*hp1* 能增加叶片的叶绿体数目和叶绿素含量,而 *hp2* 是增加根细胞中的叶绿体数量并使根变为绿色。此外,上调 *Golden 2-like* 转录因子也可增加番茄中叶绿素和类胡萝卜素含量,若此基因发生病变,果实的成熟表型就呈现完全一致^[16]。果实保存期也是果实发育和成熟研究中的一个重要方面。果实变质延缓系 *DFD* (*Delayed Fruit Deterioration*) 突变体能明显保持果实采后干燥,保持原有风味。对 α -甘露糖苷酶和 β -N-乙酰氨基糖苷酶修饰后,发现会降低果实的软化速率,延长果实的保存期。番茄成熟过程中,与细胞壁结构有关的约 50 个基因发生变化,纹理的变化也涉及复杂的数量性状位点。此外,果实保存期和其水分含量也有关,对角质层缺失突变体的研究发现,角质层中的蜡质对果实保存期有重要作用^[17]。

7 展望

果实是人类饮食中必不可少的一部分。近年来,被

子植物基因组学和表观遗传学的发展为作物改良奠定了基础。对于干果模式植物拟南芥和肉果模式植物番茄中的研究,提供了果实发育和成熟的代谢调控网络。未来,高通量测序技术将筛查更多的作物基因组,发现更多影响果实表型的表观遗传变异。此外,翻译生物学的发展将从模式植物推广到作物研究中去,通过作物野生突变体和作物直接遗传修饰相结合的方法,将为作物果实改良提供广阔应用前景^[14]。

参考文献

- [1] Martin C, Zhang Y, Tonelli C, et al. Plants, diet, and health[J]. Annual Review of Plant Biology, 2013, 64: 19-46.
- [2] Linkies A, Graeber K, Knight C, et al. The evolution of seeds [J]. New Phytologist, 2010, 186(4): 817-831.
- [3] Eriksson O, Friis E M, Lofgren P. Seed size, fruit size, and dispersal systems in angiosperms from the early Cretaceous to the late Tertiary [J]. American Naturalist, 2000, 156(1): 47-58.
- [4] 王洪峰, 王宏伟, 杨素欣, 等. 植物器官大小调控因子研究进展[J]. 植物生理学报, 2013, 49(5): 437-444.
- [5] 蒋励, 张小兰. 植物果实发育调控的分子机理研究进展[J]. 中国蔬菜, 2013(6): 9-16.
- [6] Girin T, Paicu T, Stephenson P, et al. Indehiscent and spatula interact to specify carpel and valve margin tissue and thus promote seed dispersal in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2011(23): 3641-3653.
- [7] 张彤, 赵琳, 赵建刚, 等. 植物 DELLA 蛋白的功能及其在大豆中的研究[J]. 大豆科学, 2011(5): 874-879.
- [8] Kumar R, Agarwal P, Tyagi A K, et al. Genome-wide investigation and expression analysis suggest diverse roles of auxin-responsive *GH3* genes during development and response to different stimuli in tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2012, 287(3): 221-235.
- [9] 刘强, 王晶珊, 乔利仙, 等. 花生 *fw2.2* 基因的克隆及遗传转化[J]. 核农学报, 2011(5): 1123-1128.
- [10] Endress P K. Angiosperm ovules: diversity, development, evolution [J]. Annals of Botany, 2011, 107(9): 1465-1489.
- [11] 褚婷婷, 谢华, 徐勇, 等. 植物 *MADS-box* 基因 *FRUITFULL* (*FUL*) 研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2010(30): 98-104.
- [12] Shih C F, Hsu W H, Peng Y J, et al. The *NAC-like* gene *ANTHER INDEHISCENCE FACTOR* acts as a repressor that controls anther dehiscence by regulating genes in the jasmonate biosynthesis pathway in *Arabidopsis* [J]. Journal Experimental Botany, 2014, 65(2): 621-639.
- [13] Yang R, Yang T, Zhang H, et al. Hormone profiling and transcription analysis reveal a major role of ABA in tomato salt tolerance [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 77: 23-34.
- [14] Seymour G B, Østergaard L, Chapman N H, et al. Fruit development and ripening [J]. Annual Review of Plant Biology, 2013, 64: 219-241.
- [15] Kumar R, Tyagi A K, Sharma A K. Genome-wide analysis of auxin response factor (*ARF*) gene family from tomato and analysis of their role in flower and fruit development [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2011, 285(3): 245-260.
- [16] 马金竹, 金凤媚, 王景安, 等. *hp-1* 和 *hp-2* 基因对番茄营养生长及色素积累的影响[J]. 华北农学报, 2008(23): 15-19.
- [17] Meng D, Song T, Shen L, et al. Postharvest application of methyl jasmonate for improving quality retention of *Agaricus bisporus* fruit bodies [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2012, 60(23): 6056-6062.

提高蛹虫草中的虫草素产量的研究进展

段 鸿 斌, 乔 新 荣, 殷 东 林, 王 瑞 丽

(信阳农林学院 生物技术系, 河南 信阳 464000)

摘 要:虫草素是一种具有广泛生物活性和药理作用的核苷类物质,其药用价值及生物活性的多样性已众所周知。现从菌种选育、培养条件优化及提取工艺 3 方面综述了提高蛹虫草中虫草素产量的措施,以期对今后的研究方向进行展望。

关键词:蛹虫草;虫草素;优化

中图分类号:S 567.3⁺5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)02-0178-04

蛹虫草(*Cordyceps militaris* (L.) Link)分类学上属于真菌门(Eumycota),子囊菌亚门(Ascomycotina),核菌纲(Pyrenomycetes),球壳目(Sphaeriales),麦角菌科(Clavicipitales),虫草属(*Cordyceps*)。又名北冬虫夏草、北虫草、蛹草。它是蛹虫草真菌寄生在鳞翅目、鞘翅目、双翅目等夜蛾科昆虫蛹体及幼虫上形成的虫菌复合体^[1-2]。蛹虫草菌与被推荐为中国的“国菌”的异种冬虫夏草菌有着相似的生物活性成分和药理作用^[3],而且蛹虫草生长较快,容易人工培养,因此,人们常把蛹虫草作为冬虫夏草的替代品进行开发利用。

虫草素(cordycepin)又称虫草菌素或 3'-脱氧腺苷(3'-deoxyadenosine),是第一个从蛹虫草菌中分离出来的核苷类抗生素。具有抗癌、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、抗病毒、免疫调节、抗衰老、扩张支气管等多种药理作用^[4]。因此,虫草素的研究现已成为药物化学、抗衰老、美容、保健品领域中一个极其活跃的领域。现从菌株选育、培

养条件优化及提取工艺 3 方面综述了提高蛹虫草中虫草素产量的研究进展。

1 高产菌种选育

获得稳定遗传的高产菌株是提高蛹虫草中虫草素含量的一项重要措施。李文等^[5]采用低能离子束诱变蛹虫草菌株,选育出了 15 株虫草素含量较高的菌株,比原始菌株增长了近 30%。Das 等^[6]利用高能离子束诱变蛹虫草,获得了虫草素含量比对照提高了 72%的突变菌株。周洪英等^[7]采用灭活原生质体融合技术,获得了 5 个稳定融合子虫草素含量高的稳定菌株。周礼红等^[8]通过对蛹虫草原生质体进行紫外诱变,筛选到 1 株虫草菌素含量高于初始菌株 2 倍的优良菌株,并经连续 15 代传代培养,虫草菌素和腺苷的含量保持稳定。周晓东等^[9]对液体培养的蛹虫草菌丝体进行 20 W 紫外灯下 32 cm 处照射 100 s 的紫外诱变,也筛选到虫草素含量较高的突变菌株。此外,航天搭载蛹虫草诱变后,虫草素含量较原始菌株也提高了 2.5 倍^[10]。

2 培养条件优化

培养条件是影响微生物生长及代谢的重要因素。培养基的碳源、氮源及碳氮比是影响虫草素产生的基本

第一作者简介:段鸿斌(1970-),男,河南罗山人,硕士,副教授,现主要从事生物技术等研究工作。E-mail:dhb19700102@163.com.

基金项目:河南省科技攻关资助项目(132102110047)。

收稿日期:2014-09-22

The Regulation Mechanism of Fruits Development and Ripening

ZHOU Feng

(School of Biochemical and Environmental Engineering, Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing, Jiangsu 211171)

Abstract: The fruit is an essential part of human diet. It is important to study regulation mechanism of fruit development and ripening, which is the base of improving fruit quality. The nomenclature, evolution and diversity of fruits were firstly introduced in this paper. The molecular regulation mechanism of the gynoecium development, fertilization, fruits development, dry fruits dehiscence and fleshy fruits color in fruits formation process were also summarized present.

Keywords: fruits; development; ripening; regulation